Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Estudo da interação entre sistemas luminescentes e α e β -ciclodextrina em solução aquosa

Anderson Orzari Ribeiro

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências. Área: **Química**

Ribeirão Preto

2004

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Estudo da interação entre sistemas luminescentes e α e β -ciclodextrina em solução aquosa

Aluno: Anderson Orzari Ribeiro

Orientador: Osvaldo Antonio Serra

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências. Área: **Química**

Ribeirão Preto

2004

Dedico e Agradeço

- ✓ Ao professor Serra, pela amizade e por sempre acreditar em mim. Nestes 8 anos de convivência foram muitos os momentos de aprendizado, troca de opiniões e de experiência. Foram excelentes todas as viagens, festas, aulas, correções de textos, de procedimentos, conversas informais, etc... Enfim, é uma amizade que vale muito mais e que vai durar por muito mais tempo que esta Tese.

- ✓ Aos amigos do Laboratório de Terras Raras, por todos os trabalhos, festas, conversas e congressos que participamos juntos.

- ✓ A todos os professores do departamento que contribuíram de algum modo. Agradeço especialmente aos professores Vitor F. Ferreira, de Niterói-RJ, e José A. S. Cavaleiro, de Aveiro-Pt, que me receberam de braços abertos em seus laboratórios.

- ✓ A professora Yassuko, pela ajuda em meus trabalhos, e a todos os amigos do laboratório de Bioinorgânica.

- ✓ A FAPESP pela bolsa de doutorado concedida, e a CAPES pela bolsa sanduíche concedida para estágio de seis meses em Portugal.

- ✓ Aos técnicos do Departamento de Química pelas análises realizadas. Ao Dias pelas cópias, e as meninas da secretaria, pelo excelente trabalho. A Virgínia pelos vários espectros de RMN e pela paciência e atenção.

- ✓ Em especial ao meu grande amigo Kleber, do LSO, por dispor do seu conhecimento e tempo para me ajudar, sempre com enorme atenção, a qualquer momento.

“Não existe nada além de átomos e espaços vazios.

O resto não passa de opinião.”

Demócrito

ÍNDICE

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Interação entre β -dicetonatos de Terras Raras e α -Ciclodextrina.....	9
I – Introdução.....	9
I.1 – Ciclodextrinas.....	9
I.2 – Terras Raras.....	14
I.3 – β -dicetonatos.....	18
II – Objetivos.....	21
III – Experimental.....	22
III.1 – Materiais.....	22
III.2 – Obtenção de β -dicetonatos de Terras Raras.....	23
III.3 – Obtenção de compostos de inclusão em α -Ciclodextrina.....	23
III.4 – Análises e Instrumentos.....	24
III.5 – Rendimento Quântico de Emissão.....	25
III.6 – Obtenção de Parâmetros de Intensidade Ω_2 e Ω_4	27
III.7 – Tempo de Vida do estado emissor.....	28
III.8 – Determinação do Estado Triplete dos ligantes.....	29
III.9 – Cálculo da Estequiometria de Associação.....	30
IV – Resultados e Discussões.....	31
IV.1 – $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$	32
IV.2 – $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{phen})]$	42
IV.3 – $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$	51
IV.4 – $[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$	52
IV.5 – $[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$	53
IV.6 – $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$	54
IV.7 – $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{phen})]$	58
IV.8 – Discussão Geral.....	60
V – Conclusões.....	64
VI – Referências.....	65

Síntese de Derivados Porfirínicos ligados a β -Ciclodextrina.....	68
I – Introdução.....	68
I.1 – Porfirinas.....	68
I.2 – Terapia Fotodinâmica.....	70
I.2.1 – Histórico.....	71
I.2.2 – Princípio de Utilização.....	73
II – Objetivos.....	77
III – Experimental.....	77
III.1 – Reagentes.....	77
III.2 – Ligação de β -Ciclodextrina nos Macrocíclis.....	78
III.3 – Atividade Fotodinâmica dos Fotossensibilizadores.....	79
III.3.1 – Atividade Fotodinâmica Relativa.....	79
III.3.2 – Fotodegradação.....	81
III.3.3 – Rendimento Quântico de Geração de Oxigênio Singlete...	82
IV – Resultados e Discussões.....	83
IV.1 – Síntese da TPFPPH ₂ substituída com β -Ciclodextrina.....	83
IV.2 – Síntese da Clorina-TPFPPH ₂ substituída com β -Ciclodextrina...	84
IV.3 – Caracterização Espectroscópica.....	85
IV.4 – Atividade Fotodinâmica.....	87
V – Conclusões.....	91
VI – Referências.....	91

ABREVIações

CD = Ciclodextrina

TR = íons Terras Raras

TPFPPH₂ = 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina

TFD = Terapia Fotodinâmica

FS = Fotossensibilizador

RESUMO

O grande interesse no estudo de materiais fotoluminescentes em solução aquosa é devido à possibilidade de aplicação destes sistemas em imunoensaios, na produção de lasers líquidos e como sondas estruturais de biomoléculas. Neste contexto, íons de Terras Raras (TR) e as ciclodextrinas são muito importantes, já que algumas TRs – como o európio e o térbio – apresentam a propriedade da luminescência, enquanto que as ciclodextrinas possuem uma cavidade apolar que pode incorporar moléculas (ou partes delas) em seu interior e protegê-las das moléculas do solvente.

Neste projeto desenvolvemos principalmente a síntese de novos complexos luminescentes de európio e térbio com β -dicetonas, e o estudo de seus compostos de inclusão em α -ciclodextrina em solução aquosa.

Foram estudados também compostos obtidos através da ligação covalente entre derivados da tetrakis(pentafluorofenil)porfirina e a β -ciclodextrina. Derivados de macrocíclos porfirínicos fotossensíveis vêm sendo empregados com muito sucesso no tratamento do câncer através terapia fotodinâmica. A ligação destes agentes em β -ciclodextrina propicia uma melhor solubilidade no meio fisiológico, característica esta que é um dos requisitos para uma melhor eficiência do tratamento.

Todos os materiais obtidos foram caracterizados química e foto-fisicamente, relacionando-se a eficiência destes novos sistemas com outros já relatados na literatura.

ABSTRACT

In recent years, there has been considerable research on the study of energy transfer process by active optically ions due to their great importance in solid state devices, e.g., lasers and optic-electronic materials. These luminescent materials in aqueous solution can also be very useful as sensors or probe in biomaterials analysis.

In this context, the interest on rare earth ion (RE) and cyclodextrins (CD) in the same systems are increasing, due to their compatibility with solid state and aqueous media. Some RE, like europium and terbium, present luminescent properties, while the CD's have an apolar hydrophobic cavity that can incorporate molecules, protecting them from solvent entities and resulting in a rigid hydrophobic matrix in solution.

In a part of this present work, it was performed the study of the RE complexes in aqueous solution incorporated into α -CD hydrophobic cavity. Rare Earth complexes with β -diketones were synthesized and characterized, and their solubilization in water was achieved by incorporation in α -CD.

We also studied the porphyrin-type macrocycles linked to β -CD. Macrocycle tetrapyrroles are very promising molecules to be used as photosensitizer in Photodynamic Therapy. This therapy is an emergent treatment for cancer that requires a combination of oxygen, visible light and a photosensitizer, which causes damage to living tissue. The linkage of porphyrins in cyclodextrins can increase their solubility in water, making them suitable for intravenous administration and widens the possibilities of their use in medicine.

Chemical and photochemical properties of all prepared compounds were performed and compared with similar results recorded for well know commercial products.

INTERAÇÃO entre β -DICETONATOS de TERRAS RARAS e α -CICLODEXTRINA

I – INTRODUÇÃO

I.1 – Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos cíclicos formados pela união de moléculas de α -(D)-glicopirranose, com estrutura semelhante a um tronco de cone [1]. A primeira referência sobre substâncias que mais tarde seriam classificadas em ciclodextrinas foi publicada por Villiers em 1891 [2], num estudo sobre a digestão do amido com o *Bacillus amylobacter*. Após a degradação, Villiers observou a formação de um composto cristalino, em pequena quantidade (3,0 g/Kg), com composição representada por um múltiplo de $(C_6H_{10}O_3).3H_2O$, e nomeou-o "celulosine", já que possuía propriedades semelhantes à celulose.

No início dos anos 30, K. Freudenberg, através de investigações em seu laboratório e de observações publicadas por F. Schardinger e F. Cramer, concluiu que o sólido cristalino isolado por Villiers era uma mistura de oligossacarídeos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações $\alpha(1-4)$, e nomeou-as ciclodextrinas [3]. Nos anos posteriores, diversos grupos trabalharam na caracterização física, química e na obtenção em larga escala das ciclodextrinas, bem como no estudo de seus compostos de inclusão [4-6].

As CD mais amplamente empregadas para fins comerciais e científicos são as α , β e γ -CD, formadas por seis, sete e oito unidades de D-glicose, respectivamente [7,8] (Figura 1). No estado natural são moléculas rígidas, cristalinas e homogêneas, que oferecem inúmeras utilidades em função do seu tamanho, forma e grupos funcionais livres [9]. Sua estrutura física foi estabelecida em 1942, por estudos de raios-X [10,11], através dos quais foi determinado que estas moléculas anulares possuem os grupos

hidroxilas primários na parte mais estreita do tronco, ao passo que os grupos hidroxilas secundários encontram-se na parte mais larga deste tronco (Figura 1).

Assim, as hidroxilas das extremidades tornam as ciclodextrinas solúveis em água, devido à possibilidade de formação de pontes de hidrogênio com o solvente. Por outro lado, o interior da cavidade é delimitado pelo alinhamento dos hidrogênios C(3)-H e C(5)-H e pelo oxigênio da ligação éter C(1)-O-C(4), o que lhe confere um caráter hidrofóbico [12].

Figura 1: Estrutura das α , β e γ -ciclodextrinas e a representação tridimensional do tronco de cone formado pelo alinhamento dos átomos.

Em meio aquoso, as cavidades das CD proporcionam uma matriz hidrofóbica em um ambiente hidrofílico, podendo formar compostos de inclusão com uma ampla variedade de moléculas, dependendo apenas de restrições estereoquímicas e de polaridade [13]. As dimensões da cavidade interna variam de acordo com o número de unidades de D-glicose que as formam (Figura 2).

	d_1 (Å)	d_2 (Å)	D_3 (Å)	h (Å)	Solubilidade g/100mL H ₂ O
α	5,6	4,2	8,8	7,8	14,5
β	6,8	5,6	10,8	7,8	1,85
γ	8,0	6,8	12,0	7,8	23,2

Figura 2: Representação dos diâmetros internos e altura do tronco das CD e sua solubilidade em água a 25 °C [10].

A formação de complexos de inclusão nas ciclodextrinas pode ser realizada em meio aquoso ou no estado sólido. Em meio aquoso, a cavidade interior das CDs é ocupada por moléculas de água através de uma interação fraca e energeticamente desfavorável (interação polar - apolar), o que facilita a inclusão de moléculas menos polares que a água, como mostrado no esquema abaixo (Figura 3).

Figura 3: Exemplo da inclusão de uma molécula (p-xileno) na CD em água.

A inclusão na matriz rígida das CD geralmente proporciona às moléculas inseridas algumas mudanças em suas propriedades físico-químicas, como aumento da estabilidade e biocompatibilidade.

Alterações nas propriedades espectroscópicas, como a modificação de intensidades ou posições de bandas de absorção, excitação e emissão, também podem ser notadas após a inclusão [14,15].

Devido a possibilidade de formação dos compostos de inclusão, as CD são muito utilizadas em produtos farmacêuticos, alimentícios e agrícolas. Nesses produtos, as CD agem principalmente como veículos de solubilização, sendo incorporados em seu interior substâncias apolares que utilizam a parte exterior polar do tronco para a solubilização em água [16]. A β -ciclodextrina é a mais utilizada nas formulações comerciais devido a sua baixa toxicidade e menor custo em relação às outras ciclodextrinas, proporcionando, além de um aumento da solubilização, realce no sabor, diminuição de irritação e aumento de adesão cutânea de várias moléculas [17-19]. Ciclodextrinas com mais de 8 unidades de D-glicose não possuem cavidade com estrutura rígida definida, e por isso seu uso comercial é bem mais limitado [3].

Devido à baixa hidrofobicidade da α , β e δ -CD, a interação dos seus compostos de inclusão com a superfície das células é pequena, o que diminui bastante seu uso em formulações de drogas e alimentos em sua forma natural. Um aumento na hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade pode ser alcançado com alterações em nos grupos $-OH$ externos, possibilitando assim o uso de CD nestes produtos [20]. Por exemplo, se a procura por uma CD modificada altamente solúvel em água é desejada para utilização em drogas, os grupos $-OH$ poderão ser convertidos para grupos sulfato. Similarmente, se uma CD altamente solúvel em meio orgânico é necessária, pode-se sintetizar uma CD com grupos alquila na superfície exterior. Deve-se lembrar que é difícil a produção de CD com número e posição exata de substituintes e ainda de isômeros bem definidos [21].

Os métodos de modificação de CDs podem ser divididos em dois tipos: o primeiro é o chamado “método direto”, onde são utilizadas rotas curtas e a CD é modificada indiscriminadamente, formando uma mistura de produtos que são separados posteriormente por cromatografia. O segundo é mais elaborado, com várias etapas, e é necessário para produção de CDs com modificações em posições específicas [22].

Como os grupos $-OH$ são grupos nucleofílicos, a reação de modificação da CD começa com um ataque eletrofílico nas posições 2, 3 ou 6. Dos grupos hidroxilas presentes na CD, os da posição 6 são os mais básicos, e portanto, mais nucleofílicos, e os da posição 2 e 3 mais ácidos. Além deste fato, a rotação dos grupos 2 e 3 (hidroxilas secundárias) é muito restrita, enquanto que a rotação das hidroxilas da posição 6 (primárias) é livre. Então, sob circunstâncias normais, um reagente eletrofílico ataca a posição 6 preferencialmente. Para uma modificação direcionada à posição 2 ou 3, primeiramente é necessária uma desprotonação do grupo, deixando assim o oxianion formado mais nucleofílico que os da posição 6. Um outro modo de direcionar esta reação é proteger a posição não desejada com uma alquilação, direcionando o ataque à outra posição.

Recentemente Bittman e colaboradores [23] descreveram uma rota sintética simples, com apenas uma etapa, para a obtenção do derivado 6-deoxi-6(*p*-toluenosulfonil)- β -ciclodextrina em grande pureza e bom rendimento (61%). Este composto é o precursor na obtenção de diversos 6-mono-derivados de β -ciclodextrina, como 6-mono-amina (β -CD- NH_2), 6-mono-azida (β -CD- N_3) ou 6-mono-bromo (β -CD- Br), que por sua vez são utilizados para a ligação do oligossacarídeo nos mais variados sistemas.

Esses derivados estão sendo utilizados em cromatografia, em catálise ou ainda como precursores para a ligação das CDs em superfícies sólidas [24-26].

I.2 - Terras Raras

As Terras Raras (TR) são os elementos químicos dispostos na tabela periódica com número atômico variando de 57 a 71 (do lantânio ao lutécio), além do escândio (21) e do ítrio (39) [27]. O termo Terra Rara foi atribuído devido à sua descoberta tardia, na Suécia, no final do século 18, e pelas dificuldades iniciais na sua separação. Estes elementos não são escassos quando considerados em termos da abundância na crosta terrestre, já que o mais raro, o túlio (Tm), está presente no mesmo nível que a prata [28]. Monazita, bastnazita e xenotímia são os minerais mais utilizados para obtenção industrial de TR, gerando um consumo de aproximadamente 85000 toneladas dos respectivos óxidos por ano. Durante os anos 1970, os EUA e a Austrália monopolizaram a produção e o comércio mundial das Terras Raras. Contudo, a partir dos anos 80, a China se tornou o maior produtor destes elementos [29].

As TR possuem uma estrutura eletrônica muito particular. Apesar da presença de três elétrons nas camadas mais externas, no decorrer da série ocorre o preenchimento das orbitais internas 4f, obtendo-se a configuração eletrônica (Xe) $4f^n 5d^1 6s^2$ ($0 < n < 14$). Tal preenchimento resulta numa contração progressiva dos raios iônicos ao longo da série, chamada contração lantanídica. Sendo assim, nesses íons o número de oxidação é usualmente 3+, com números de coordenação entre 6 e 12. Por serem ácidos duros, os íons TR tem maior afinidade por átomos doadores de elétrons, ligando-se preferencialmente no oxigênio, nitrogênio ou enxofre ($O > N > S$) [30].

Algumas TR apresentam a propriedade da luminescência, como por exemplo o Eu^{3+} , que apresenta bandas de emissão na região do vermelho, o Tb^{3+} na região verde e o Eu^{2+} na região do azul. Estas propriedades determinam importantes aplicações, dentre elas, destacam-se a televisão a cores, lâmpadas fosforescentes e lasers [31].

A maioria das emissões dos íons TR observadas na região do infravermelho próximo e visível podem ser atribuídas à transições radiativas interconfiguracionais $4f^n \rightarrow 4f^n$. Como estes orbitais internos apresentam-se blindados da influência de forças externas pelos orbitais $5s^2$ e $5p^6$, a perturbação oferecida pelo campo cristalino é consideravelmente reduzida. Assim, as bandas dos espectros de emissão e absorção dos íons TR são extremamente finas, proporcionando cores características aos seus complexos [32].

Estas configurações eletrônicas do orbital $4f^n$ possuem vários níveis energéticos, com energias determinadas pela combinação de repulsão intereletrônica, acoplamento spin-orbita e o meio coordenante (campo cristalino) [33]. Os diferentes níveis energéticos são caracterizados pelo número quântico L (0, 1, 2, 3... – representados por – S, P, D, F...), momento angular total de spin S e momento angular total J, resultando nos termos espectroscópicos $^{2S+1}L_J$. A Figura 4 mostra uma representação esquemática dos principais níveis de energia dos íons Eu^{3+} , Tb^{3+} e Gd^{3+} .

A relaxação de um estado excitado para um estado de menor energia pode ocorrer por decaimentos radiativos e/ou não radiativos. O decaimento radiativo ocorre com uma transição eletrônica de um nível de maior energia para um de menor energia com emissão de radiação eletromagnética. Decaimentos não radiativos ocorrem através de transições vibracionais, com a energia perdida para a vizinhança do íon. A eficiência do processo de emissão eletromagnética na região do visível pelos íons TR está associada a vizinhança ao redor do centro emissor e a uma grande absorção de radiação com frequência semelhante à diferença energética entre seus estados energéticos [34].

Figura 4: Representação dos níveis de energia dos íons Eu^{3+} , Tb^{3+} e Gd^{3+} .

A intensidade das transições eletrônicas entre estados excitados e os de menor energia depende diretamente do mecanismo envolvido nessas transições, que podem ser basicamente de dois tipos: dipolo magnético e dipolo elétrico. As transições por dipolo magnético são permitidas pela teoria de grupos, devendo satisfazer as regras de seleção $\Delta J = 0, \pm 1$; $\Delta S = 0$ e $\Delta L = 0$, sendo geralmente pouco perturbadas pelo campo cristalino. As transições do tipo dipolo elétrico entre orbitais $4f^n$ são proibidas pela Regra de Laporte, por terem a mesma paridade [36]. Porém, a presença de acoplamentos spin-orbita e a ação do campo cristalino fazem com que estas transições sejam permitidas por um mecanismo denominado dipolo elétrico

forçado (relaxação da Regra de Laporte). As transições oriundas deste mecanismo devem satisfazer as regras $\Delta J \leq 2I$; $\Delta I \pm 1$; $\Delta S = 0$ e $\Delta L = 0$ e apresentam-se geralmente como as mais intensas nos espectros de emissão dos complexos de TR no estado sólido.

Para o íon Eu^{3+} , as principais emissões observadas na região do visível ocorrem a partir do estado excitado $^5\text{D}_0$ para os de menor energia $^7\text{F}_{0-6}$, podendo ser observadas também as transições a partir do estado $^5\text{D}_{1,2,3}$ (Figura 4). Com $J = 0$ no estado excitado, pode-se observar as bandas de emissão por dipolo elétrico forçado com $\Delta J=0,2,4,6$. Dentre elas, a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ é geralmente a mais intensa nos complexos sólidos (região de 610 nm). Sua intensidade, porém, pode ser alterada em até 100 vezes devido a diferentes interações químicas ao redor do centro metálico. A transição com $\Delta J=1$ ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$) é permitida por dipolo magnético e está presente no espectro na região de 580 nm, sendo praticamente independente do campo ligante formado. Assim, estabelecendo-se uma relação entre a intensidade destas duas bandas na emissão do sistema é possível prever o ambiente químico em que o íon Eu^{3+} está associado, bem como a simetria existente [36].

Outro aspecto importante da espectroscopia do európio é seu uso como sonda analítico-estrutural. Através do espectro de excitação pode-se prever quais átomos ou grupos estão ligados ao íon metálico. Uma mudança na intensidade das bandas de emissão, assim como uma supressão na emissão de uma molécula orgânica, provê informações sobre a distância e a estequiometria de ligação formada no complexo [37]. Com medidas de tempo de vida de emissão em H_2O e D_2O pode-se saber o número de moléculas de água ao redor do Eu^{3+} . Como a multiplicidade da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ é igual a 1, pode-se saber a quantidade de centros emissores diferentes pela quantidade de picos na região espectral referente a esta transição. Devido a estas propriedades, o íon Eu^{3+} vem sendo muito

utilizado na determinação e identificação de moléculas com diferentes importâncias biológicas [38,39].

Para o Tb^{3+} as principais emissões na região do visível decorrem do estado $^5\text{D}_4$ para o $^7\text{F}_{6-0}$. A mais intensa é a transição $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$, em 545 nm, proporcionando uma coloração verde aos seus complexos. A alta degenerescência dos níveis emissores, porém, tornam mais difícil a interpretação dos seus espectros de emissão, absorção e excitação. Devido a este fato, o estudo das propriedades espectroscópicas do Tb^{3+} tem atraído menor atenção quando comparado ao Eu^{3+} [40].

I.3 – β -*Dicetonatos*

Os íons TR absorvem pouco na região espectral do visível e ultravioleta, mas em quelatos a eficiência de absorção é aumentada. Quando um ligante orgânico absorve radiação, há uma transição eletrônica do seu estado singlete fundamental para um estado singlete excitado, seguido de uma perda energética para um estado triplete excitado. Esta energia é transferida para o íon metálico (efeito antena) ou perdida através de decaimentos não radiativos (Figura 5). A eficiência deste processo de conversão de energia, ou seja, a seqüência absorção $\rightarrow$ transferência $\rightarrow$ emissão, depende da absortividade molar do ligante (ϵ) e da eficiência da transferência de energia ligante-metal [34].

Os compostos de coordenação mais estudados são aqueles envolvendo ligantes β -dicetonas, já que sua coordenação em íons TR é favorecida pela presença dos átomos de oxigênios carbonílicos, além de formar-se um arranjo espacial que proporciona uma eficiente transferência de energia da molécula orgânica para o centro emissor [41,42]. Sendo assim, normalmente estes complexos apresentam forte luminescência e um bom rendimento quântico de emissão, ainda mais quando adutos como a 1,10-fenantrolina ou a 2,2'-bipiridina são adicionadas à esfera de coordenação.

estudos dos complexos de terras raras em solução aquosa. Como as moléculas de água são fortes coordenantes aos íons TR^{3+} , em solução somente moléculas com grupos contendo oxigênios carregados negativamente são capazes de formar uma ligação estável com esses íons. Mesmo compostos polidentados de oxigênio ou nitrogênio só mantêm íons TR^{3+} com certa estabilidade em seu sítio de coordenação quando apresentam pelo menos um oxigênio carregado negativamente [45]. No *design* de eficientes sistemas, deve-se considerar ainda que na estrutura, por causa da dependência da distância para uma melhor transferência de energia, os átomos coordenantes devem ser justapostos no ligante macrocíclico de tal modo a permanecerem adequadamente próximos ao centro emissor. Como alternativa, a inclusão de tris-dicetonatos de TR neutros (ou partes deles) no interior da cavidade apolar das ciclodextrinas pode proteger o íon emissor das moléculas do solvente e proporcionar um bom rendimento de emissão.

Mesmo com um menor rendimento quântico de emissão em solução aquosa, a utilização do Eu^{3+} como sonda de detecção (quantificação) ou para determinação estrutural do centro de ligação metálica de um substrato biológico (por meio da caracterização do ambiente ao redor do íon emissor), apresenta algumas vantagens: i) alta sensibilidade de detecção do íon (até 10^{-10} mol.L⁻¹) e simplicidade na obtenção de medidas; ii) raio iônico aproximadamente igual ao do Ca^{2+} ; iii) estabilidade de ligação nos grupos –OH de aminoácidos, hormônios e enzimas; iv) baixa toxicidade [46].

O complemento da esfera de coordenação do íon Eu^{3+} em tris- β -dicetonatos por diferentes substratos biológicos neutros pode provocar variações no arranjo geométrico final do complexo e, conseqüentemente, alterar suas propriedades espectroscópicas. Tais complexos podem, então, serem muito úteis na identificação da estrutura e da função biológica de diversos sistemas, ou ainda serem sintetizados de modo a coordenarem

especificamente a um determinado substrato, possibilitando assim sua quantificação no meio investigado [47].

O longo tempo de vida de emissão do íon Eu^{3+} (ms) e o grande deslocamento de Stokes, que permitem diferenciar sem dificuldades a luz utilizada para excitação e a luz emitida pelo sistema, são vantagens adicionais para a utilização preferencial de quelatos de Eu^{3+} em relação à moléculas orgânicas na identificação de sistemas biológicos.

II – OBJETIVOS

Neste trabalho foram realizados estudos de β -dicetonatos de Eu^{3+} e Tb^{3+} incorporados na cavidade da α -ciclodextrina. Os compostos foram preparados pela agitação dos complexos sólidos de TR em uma solução aquosa de α -CD. Foi estudado o comportamento e a transferência de energia de diferentes β -dicetonas para os íons TR no novo composto formado com α -CD em solução aquosa. Os materiais foram analisados por espectroscopia de UV-Vis, luminescência, ^1H e ^{19}F RMN, absorção no infravermelho e análises térmica e elementar.

Foram sintetizados e estudados os complexos de Eu^{3+} e Tb^{3+} com a β -dicetona 3-fenil-2,4-pentanodiona (fpa, **1**) e moléculas de água e de 1,10-fenantrolina (phen, **2**) completando a esfera de coordenação, e publicados na literatura pelo grupo [48], e seus compostos de inclusão com α -CD em solução aquosa. Foram estudados também compostos de inclusão de alguns complexos de Eu^{3+} cuja caracterização no estado sólido está bem descrita na literatura, para efeito de comparação com os resultados obtidos dos novos complexos. As β -dicetonas usadas nestes complexos foram a 1-benzoilacetona (bac, **3**), a 1-benzoil-4,4,4-trifluoroacetona (bfa, **4**) e a 1-(2-tienil)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanodiona (tta,**5**), apresentadas na Figura 6.

Figura 6: Estrutura dos ligantes utilizados.

III – EXPERIMENTAL

III.1 – Materiais

- Óxido de Európio (Eu_2O_3) – Aldrich 99,99%
- Óxido de Térbio (Tb_4O_7) – Aldrich 99,99%
- Óxido de Gadolínio (Gd_2O_3) – Aldrich 99,99%
- α -ciclodextrina ($\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{30} \cdot \text{H}_2\text{O}$) – Acros 98+%
- 1-benzoilacetona – Aldrich 99%
- 1-benzoil-4,4,4-trifluoroacetona – Acros 99%
- 1-(2-tienil)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanodiona – Acros 99%
- 3-fenil-2,4-pentanodiona – Parish 98%
- 1,10-fenantrolina – Mallinckrodt 99%
- óxido de magnésio – Carlo Erba 99%
- D_2O – Acros 99,8% D
- $\text{Ru}(\text{bip})_3(\text{Cl})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – Aldrich 99,99%
- Sulfato de quinina ($\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – Acros 99+%

III.2 - Obtenção de β -dicetonatos de Terras Raras

Os cloretos de terras raras ($\text{TRCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) foram obtidos pela reação entre o respectivo óxido e HCl em excesso. Para eliminação do excesso de ácido, foram efetuadas sucessivas adições de água e secagens.

Os β -dicetonatos foram preparados pela adição de 20,0 mL da solução aquosa de TRCl_3 — $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (0,2 mmol) a aproximadamente 20 mL de uma solução água:metanol (1:1) contendo 1mmol de β -dicetona. O pH foi mantido entre 6,5 e 7,5 (com HCl ou NH_4OH) durante a adição. Resultaram compostos $[\text{TR}(\beta\text{-dicetona})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$. O complexo formado entre TR e fpa, com 1,10-fenantrolina (phen) completando a esfera de coordenação, foi obtido adicionando-se 0,2 mmol de phen durante o procedimento.

A formação dos complexos foi confirmada por absorção no infravermelho, análise elementar, TOF-ESI, ^1H e ^{19}F RMN, e termogravimetria. Foram obtidos espectros de excitação, emissão e tempo de vida dos complexos sólidos sintetizados para comparação com os espectros dos compostos de inclusão formados com α -ciclodextrina (α -CD) em solução aquosa.

III.3 - Obtenção dos compostos de inclusão em Ciclodextrina

Os compostos de inclusão foram obtidos em solução aquosa. Em 5,0 mL de solução aquosa de α -CD ($5,0 \text{ mmol.L}^{-1}$) foram adicionados os complexos sólidos de TR^{3+} na proporção molar de 1:5 (complexo: α -CD). Após uma semana de agitação obteve-se uma solução homogênea, com os complexos hospedados na cavidade da α -CD.

Os compostos de inclusão em solução aquosa foram estudados por RMN (D_2O), espectroscopia UV/Vis e de luminescência. Foram obtidos espectros de excitação, emissão e tempo de vida para todos os compostos sintetizados.

Para o estudo de absorção no infravermelho e da estabilidade térmica do composto de inclusão, parte da solução aquosa foi deixada secar, em repouso, a aproximadamente 50 °C.

Foram obtidos também os compostos de inclusão em solução aquosa formados pelos ligantes sólidos puros (fpa, tta, bac, bfa e phen) e a α -CD, para estudo da absorção no UV/Vis das soluções destes em pHs variados.

III.4 - Análises e instrumentos

O comportamento térmico das amostras foi estudado a partir de curvas DTG e TGA obtidas utilizando-se um sistema de termoanálise STD 2960 Simultaneous DTA-TGA com fluxo de ar sintético de 150,0 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 10,0 °C.min⁻¹. Os espectros de excitação e de emissão na região do UV/VIS das amostras foram obtidos utilizando-se o espectrofluorímetro FLUOROLOG-III TRIAX 550 ISA/Jobin-Yvon, lâmpada 450 W ozone free, fotomultiplicadora Hamamatsu RP928, não refrigerada. Os espectros de absorção no IV foram obtidos utilizando-se o aparelho Perkin Elmer FT-IR 1600, em pastilhas de KBr. Os espectros de absorção no UV/Vis das soluções aquosas foram realizados em uma cubeta de quartzo de 1,00 cm de caminho óptico no espectrofotômetro Hewlett Packard 8453 Diode Array UV-Vis. Os espectros dos sólidos foram realizados em emulsão com Fluorolube[®] em placas de quartzo de 0,1 mm de caminho óptico. Os espectros de RMN foram obtidos solventes deuterados nos aparelhos DPX 300MHz e DRX 400MHz da BRUKER. As análises de massa TOF-ESI foram obtidas em um aparelho Q-TOF-II MICRO MASS UK, do Laboratório Thomson de Espectroscopia de Massas da UNICAMP.

III.5 - Rendimento Quântico de Emissão

III.5.1 – No estado sólido

A razão entre o número de fótons emitidos pelo íon TR^{3+} e o número de fótons absorvidos pelo ligante é denominado rendimento quântico de emissão (ϕ). O rendimento pode ser classificado em rendimento quântico relativo (ϕ_r), quando a medida é realizada por comparação com rendimentos conhecidos de fósforos padrões, ou em rendimento quântico absoluto (ϕ_{abs}), com a utilização de óxido de magnésio como padrão de reflexão da luz. Este último método, descrito inicialmente por Vavilov [50] foi utilizado para o cálculo dos rendimentos quânticos absolutos apresentados nesta tese.

O princípio da metodologia resume-se na medida das intensidades de luz absorvida e emitida pela amostra. A quantidade de luz absorvida é determinada pela diferença entre a intensidade de luz refletida por uma placa coberta com MgO e outra placa coberta com a amostra, ambas com mesmo tamanho e espessura de pó (~2mm), orientação geométrica no suporte, sob mesma intensidade de luz e comprimento de onda de excitação. A Intensidade de emissão é determinada pela integral do espectro de emissão da amostra, mantida nas mesmas condições instrumentais e de geometria da medida de absorção. Sendo assim, o rendimento quântico absoluto é dado pela equação 1 [51]:

$$\phi_{abs} = \frac{Luz_{emitida}}{Luz_{absorvida}} = \frac{S_{em}}{R_{MgO} - R_a} \quad \text{(equação 1)}$$

onde:

R_{MgO} e R_a = áreas sob as curvas de reflectância do óxido de magnésio e da amostra no comprimento de onda de excitação do complexo;

S_{em} = área do espectro de emissão do complexo.

Experimentalmente, as placas de MgO e dos complexos de TR foram obtidas nas mesmas condições de granulometria e geometria através de repetidas medidas de reflectância sob excitação de luz com comprimento de onda igual a 730 nm, variando-se a espessura do pó e a posição das placas. Foi utilizado excitação de 730 nm já nenhum dos sólidos possui absorção nesta região. O momento em que ambas as placas possuíam a mesma intensidade de reflexão (diferença < 2%) foi considerado estarem em mesmas condições. Foram realizadas medidas do rendimento quântico de emissão para os complexos de Eu³⁺ e Tb³⁺.

III.5.2 – Em solução aquosa

Foram obtidos também os rendimentos quânticos de emissão em solução aquosa para todos os compostos de inclusão formados com α -CD, para efeito de comparação.

O rendimento quântico de emissão em solução (ϕ) foi determinado através da equação 2, que utiliza uma solução padrão com rendimento quântico de emissão conhecido para o cálculo [51]:

$$\phi = \phi_p \frac{A_p}{S_p} \frac{S_a}{A_a} \quad \text{(equação 2)}$$

onde

ϕ_p = rendimento quântico do padrão;

A_p e A_a = absorbância do padrão e da amostra no comprimento de onda de excitação utilizado;

S_p e S_a = área da banda de emissão do padrão e dos complexos.

Para os cálculos, foram obtidas soluções com mesma concentração do padrão e do composto de inclusão em meio aquoso. O rendimento quântico foi determinado através dos valores retirados dos espectros de absorção,

excitação e emissão das amostras. Os padrões utilizados foram o sulfato de quinina para os compostos de Tb^{3+} e o complexo e $Ru(bip)_3.(Cl)_2.6H_2O$ para os compostos de Eu^{3+} .

III.6 – Obtenção dos Parâmetros de Intensidade Ω_2 e Ω_4

O parâmetro de intensidade Ω_2 foi calculado experimentalmente pela relação entre as intensidades das bandas $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0,1 \text{ e } 2}$ nos espectros de emissão dos complexos sólidos obtidos com Eu^{3+} (eq. 3) [52]:

$$A_{0-2} = 2,33.10^8.(\sigma_2)^3.[\eta(\eta^2+2)^2/9].\Omega_2 \quad \textbf{(equação 3)}$$

onde σ_2 = energia média da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ (baricentro, em cm^{-1});

η = índice de refração do composto ($\eta = 1,5$);

A_{0-2} = probabilidade de emissão espontânea da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, que pode ser obtida pela equação 4:

$$A_{0-2} = (S_{0-2}/S_{0-1}).(\sigma_{0-j}/\sigma_{0-i}).A_{0-1} \quad \textbf{(equação 4)}$$

onde S_{i-j} = área sob a banda de emissão do complexo;

σ_{0-j} = energia do baricentro da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_j$;

A_{0-1} = probabilidade de emissão espontânea da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$

A probabilidade de emissão espontânea A_{0-1} pode ser calculada com exatidão (equação 5), já que a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ é permitida por dipolo magnético, e sua energia sofre pouca influência do campo cristalino formado.

$$A_{0-1} = 0,31.10^{-11}.(\eta)^3.(\sigma_{0-1})^3 \quad \textbf{(equação 5)}$$

O parâmetro de intensidade Ω_4 foi calculado pela mesma metodologia, utilizando-se a equação 6:

$$A_{0-4} = 2,4 \cdot 10^8 \cdot (\sigma_4)^3 \cdot [\eta(\eta^2 + 2)^2 / 9] \cdot \Omega_4 \quad \text{(equação 6)}$$

O parâmetro Ω_2 pode ser correlacionado com a hipersensibilidade ao redor do íon Eu^{3+} , pois depende diretamente do grau de covalência sofrido pelo íon no campo ligante. Assim, maiores valores de Ω_2 são obtidos em vizinhanças mais covalentes. O parâmetro Ω_4 é bastante influenciado pela distância da ligação formada entre o íon metálico e o ligante. Como é inversamente proporcional a esta distância, tende a ser menor quanto menor for a simetria.

III.7 – Tempo de Vida do Estado Emissor

O tempo de vida (τ) do estado excitado depende da velocidade de relaxação radiativa total do estado excitado e da velocidade de todos os processos não radiativos.

A intensidade de emissão (I) é diretamente proporcional ao número de átomos no estado excitado. Assim, a equação 7 é usada para ajustar a curva de decaimento exponencial da excitação, através da qual o tempo de vida pode ser determinado experimentalmente.

$$I_{(t)} = I_o \cdot e^{-t/\tau} \quad \text{(equação 7)}$$

onde $I_{(t)}$ é a intensidade da emissão num determinado tempo t , I_o é a intensidade inicial da emissão e τ é o tempo de vida médio do estado excitado, que represente o tempo necessário para a população de um estado excitado decair de $1/e$ da população original.

Foram obtidos os tempos de vida médios para todos os complexos de európio e térbio sintetizados, assim como o de seus compostos de inclusão com α -CD em solução aquosa e em D₂O.

III.8 – Determinação do nível triplete dos ligantes

Os estados excitados mais baixos dos ligantes nos complexos de TR podem ser obtidos através da análise do espectro de emissão do respectivo complexo com Gd³⁺. Nestes complexos, a emissão observada é a do ligante, já que a energia dos estados excitados do íon Gd³⁺ é geralmente maior que a dos estados excitados dos ligantes. Além disso, não é possível excitar diretamente o íon Gd³⁺ com radiação ultravioleta, pois os ligantes possuem uma força de oscilador de absorção bem maior e absorvem na mesma região espectral [53].

Através do diagrama de coordenadas configuracionais apresentado na Figura 7, podemos propor que o estado triplete de menor energia dos ligantes (aproximado) é determinado pelo início da banda de emissão do complexo, já que a posição exata do triplete, dada pela energia da transição 0 → 0 a baixas temperaturas, em geral não é observada.

Figura 7: Diagrama de coordenadas configuracionais.

Neste trabalho é apresentada a determinação do estado triplete do ligante 3-fenil-2,4-pentanodiona através da síntese dos complexos $[\text{Gd}(\text{fpa})_3(\text{L})_2]$ ($\text{L} = \text{H}_2\text{O}$ e phen), sendo que os resultados obtidos para estes complexos já foram publicados pelo grupo [42,48,49].

III.9 – Cálculo da Estequiometria de Associação

A determinação da estequiometria de associação em equilíbrios químicos ($\text{A} + \text{B} \rightleftharpoons \text{C}$) é de fundamental importância para o entendimento do processo. Quando A (hospedeiro) e B (hospedado) formam um complexo que é mantido por fracas interações moleculares (por ex: ligações de hidrogênio ou forças de Van der Waals), a espécie C pode ser escrita na forma A:B, indicando que o produto final tem propriedades químicas diferentes das moléculas não-associadas iniciais [54].

Na maioria das reações a velocidade de formação é tal que não é possível acompanhar o processo por absorção de cada espécie presente, e só poderão ser observados os espectros das espécies iniciais e do complexo de associação formado (não das espécies intermediárias). Neste caso, uma mudança na fração molar (X) de cada espécie provoca mudanças observáveis na intensidade de absorção da mistura.

Através do método da variação contínua de concentração, proposto por Job [55,56], é possível determinar a estequiometria de formação do complexo A:B (m:n). Neste método, as concentrações das espécies iniciais são variadas, sempre com a razão molar satisfazendo a condição $0 < [\text{A}]_0 / ([\text{A}]_0 + [\text{B}]_0) < 1$, sendo que a soma das concentrações iniciais ($[\text{A}]_0 + [\text{B}]_0$) tem que ser igual para todas as soluções. A mudança na intensidade de absorção da mistura é sensível a formação do complexo, sendo que a maior variação será observada quando a fração molar da mistura for exatamente igual a fração molar presente no complexo.

Após a obtenção da intensidade de absorção das soluções, plota-se um gráfico da concentração inicial do hospedado na mistura vezes a variação de intensidade obtida versus a fração molar deste hospedado, obtendo-se a razão estequiométrica de formação do complexo através de métodos matemáticos.

Figura 8: Ilustração de determinação de estequiometria de formação pelo método de Job. O pico máximo indica a estequiometria do composto

Foram obtidas as estequiometrias de formação dos compostos de inclusão em α -CD para todos os complexos de TR estudados, através do método de variação contínua, com medidas de intensidade de absorção das misturas.

IV – RESULTADOS e DISCUSSÕES

Foram sintetizados neste trabalho sete complexos de Eu^{3+} e Tb^{3+} com as β -dicetonas citadas. Serão apresentados e discutidos detalhadamente os resultados obtidos para alguns destes complexos e dos seus compostos de inclusão em α -CD, sendo que para os demais os resultados são apresentados de modo resumido.

IV.1 - [Eu(tta)₃.(H₂O)₂]

O complexo foi sintetizado pela adição lenta de 20,0 mL de EuCl₃·1.10⁻² mol.L⁻¹ a uma solução água:metanol (1:1) com 219 mg de Htta, com pH mantido entre 6,5 e 7,0. O estudo do complexo no estado sólido já é bastante conhecido na literatura [30,57], mas sua caracterização foi necessária para uma comparação – e entendimento – das mudanças advindas do encapsulamento em ciclodextrina.

A análise de TOF-ESI do tenoiltrifluoroacetato de európio apresentou picos equivalentes a massas de 852, 834 e 816 m/z, referentes à fórmula molecular de [Eu(tta)₃.(H₂O)₂.H]⁺, e as respectivas perdas das moléculas de água presentes no complexo. A análise termogravimétrica indicou a presença de 17,37% de európio no complexo, o que está de acordo com a estequiometria proposta (calculada: Eu=17,49%). O espectro de ¹H e o de ¹⁹F RMN do complexo, obtidos em DMSO-d₆, apresentam os picos referentes aos hidrogênios do anel tienil (δ6,50 ppm, t, 1H; δ7,30 ppm, dd, 1H; δ7,45 ppm, dd, 1H) e do grupamento –CF₃ (δ–15,77 ppm, s, 3F) deslocados em relação ao ligante puro (δ7,32 ppm, t, 1H; δ8,20 ppm, dd, 1H; δ8,34 ppm, dd, 1H; e δ–11,60 ppm, s, 3F), confirmando a formação da ligação ao európio. O espectro de absorção na região do infravermelho apresenta um deslocamento na banda relativa ao estiramento C=O [58], confirmando que a ligação entre o európio e o tta ocorre pela carbonila. O estiramento observado em 1660 cm⁻¹ no Htta apresentou-se deslocado para 1604 cm⁻¹ no complexo [Eu(tta)₃.(H₂O)₂]. Este deslocamento para um número de onda menor é esperado, e se deve à dependência direta da frequência do estiramento com a constante de força de ligação entre os átomos. A constante de força em ligações simples é aproximadamente a metade da constante em ligações duplas. Sendo assim, como na interação da tta com o íon metálico os dois grupos C=O estão em ressonância devido à carga negativa, permanecendo numa alternância entre ligações duplas e

simples, a frequência do estiramento C=O nos complexos é menor do que quando na tta pura.

O complexo sintetizado é solúvel em metanol, acetona, clorofórmio e DMSO. É possível também obter uma solução aquosa com uma pequena quantidade do complexo dissolvido (máximo de 1,0 mg em 25,0 mL; $M < 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$). O espectro de excitação do complexo apresenta máximo em 378 nm, tanto no estado sólido com em solução aquosa. No espectro de emissão do sólido observa-se as transições características do európio bastante desdobradas, com máximo referente à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ em 610 nm (Figura 9).

Figura 9: Espectros de excitação e emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 378 \text{ nm}$) do $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ sólido.

Pode-se observar no espectro de emissão do complexo $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ a presença de uma degenerescência maior que a esperada nas bandas de emissão do Eu^{3+} , indicada pela maior quantidade de picos que os esperados teoricamente ($2S+1$). Este fato indica a presença de dois centros de simetria no complexo, que podem ser devidos a algumas diferenças na geometria de coordenação do ligante ao íon terra rara. Uma outra evidência da formação de duas simetrias diferentes é a presença de

dois picos na região da banda referente a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ (578 nm). As emissões radiativas originadas em 5D_0 no complexo, porém, apresentam uma curva de decaimento monoexponencial (Figura 14), o que indica que os dois sítios de coordenação do Eu^{3+} presentes no complexo apresentam simetria semelhante.

O rendimento quântico experimental de emissão para o complexo, sob excitação na banda do ligante (378 nm), calculado utilizando o MgO como padrão de reflectância, foi de 21%, o que está de acordo com dados publicados na literatura [59]. A relação entre as áreas das bandas de emissão, referentes às transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0,1e2}$, foi utilizada para o entendimento das mudanças na primeira esfera de coordenação do Eu^{3+} advindas do encapsulamento do complexo na cavidade da α -CD. Sendo assim, não foram necessários os cálculos dos parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4 , que já são conhecidos na literatura [59].

O composto de inclusão foi obtido agitando-se 4,3 mg do complexo sólido em 5,0 mL de solução aquosa de α -CD – 5,0 mmol.L⁻¹ (1:5 em mols), durante uma semana, a temperatura ambiente. Após a inclusão do complexo (de coloração amarelada) em α -CD, a solução ficou transparente. Para obtenção de espectros de RMN da solução, a inclusão foi realizada diretamente em D₂O, com quantidades menores de material. Para estudo do composto de inclusão no estado sólido a solução foi deixada evaporar a aproximadamente 50 °C, em repouso.

O espectro de ^1H RMN da solução (Figura 10) apresentou os picos referentes ao anel aromático do ligante (δ 7,20 ppm, t, 1H (H-b); δ 7,82 ppm, dd, 1H (H-a); δ 7,89 ppm, dd, 1H (H-c)) e dos hidrogênios da α -CD (δ 3,5 m, H_{2,4- α CD}; 3,75 ppm, m, H_{3,5,6- α CD}); 4,94 ppm, d, H_{1- α CD}). A formação do composto de inclusão foi confirmada pela alteração nos sinais dos hidrogênios internos da cavidade da α -CD (H-3 e H-5), devido à nova interação espacial formada.

Pode-se notar um deslocamento nos sinais do H-3 e H-5 da α -CD no composto de inclusão em relação ao sinal destes hidrogênios no espectro da α -CD pura (Figura 10). Na análise da interação entre hidrogênios no composto de inclusão, através dos experimentos NOE-DIF (1D) e ROESY (2D), constata-se a interação espacial entre o H-a, H-b e o H-c do ligante tta e os hidrogênios H-3 e H-5 da α -ciclodextrina. A interação entre os três hidrogênios aromáticos da tta com os dois hidrogênios internos da α -CD evidencia que a inclusão do complexo se dá tanto através da cavidade maior como através da cavidade menor do oligossacarídeo (Figura 11).

Como foi determinado que a estequiometria de formação do composto de inclusão é 1:1 (Figura 12), ou seja, que a inclusão do complexo se dá em apenas uma ciclodextrina, pode-se concluir que as espécies com o complexo incluso através da cavidade maior e as com inclusão através da cavidade menor estejam em equilíbrio na solução (Figura 11).

Não se observa nos experimentos NOE-DIF e ROESY nenhuma evidência de interação do complexo de Európio com os hidrogênios externos (H-2, H-4 e H-6_{a,b}) da α -CD.

Figura 10: Espectro de ^1H RMN do composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{tta})_3.(\text{H}_2\text{O})_2]:\alpha\text{-CD}$ em D_2O (—) e da $\alpha\text{-CD}$ pura em D_2O (—).

Figura 11: Espectro 2D ROESY do composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$ em D_2O ($t = 11\text{h}$; mixing time = 250 ms; 500 MHz); e a representação da inclusão do ligante tta do complexo através da cavidade maior e menor da $\alpha\text{-CD}$.

O espectro na região do infravermelho do composto de inclusão no estado sólido apresenta uma diminuição na intensidade e um pequeno deslocamento das bandas relativas aos estiramentos $\text{C}=\text{C}$ ($1300\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$) e $\text{C}-\text{S}-\text{C}$ ($550\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ [58]) em relação ao complexo precursor, indicando a formação do composto através da inclusão do anel tenoil do ligante na cavidade da $\alpha\text{-CD}$ (para a comparação de áreas a banda relativa ao estiramento $-\text{CH}_3$ da Htta foi igualada nos dois espectros, já que sofre pouca alteração após a inclusão). O espectro do composto de inclusão apresenta ainda uma diminuição da área da banda em 1638 cm^{-1} , referente a um dos modos de vibração das moléculas de água presentes na cavidade da CD pura [60]. Tal fato evidencia a substituição dessas moléculas pelo complexo na cavidade da $\alpha\text{-CD}$.

Através do método de Job [56], utilizando-se a variação de intensidade dos máximos de absorção e excitação em diferentes soluções do composto de inclusão, foi possível calcular a estequiometria de formação da inclusão. Foram obtidos espectros de absorção e excitação de soluções com frações molares variadas de complexo e α -CD, mantendo-se a soma das concentrações de ambos sempre constante. As soluções com diferentes frações molares foram obtidas misturando-se volumes diferentes de soluções aquosas do complexo puro e da α -CD com concentrações iguais ($M = 4,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$).

A Figura 12 apresenta o gráfico da variação de intensidade no máximo de absorção e excitação da solução em função da fração molar do hospedado. Pode-se constatar a formação de um composto de inclusão com estequiometria 1:1 pelo máximo da curva.

Figura 12: a) Gráfico de Job para variação no máximo de absorção e excitação na formação do composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$; b) Análise termogravimétrica do $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$, $\alpha\text{-CD}$ pura e do composto de inclusão.

Através da diferença de massas na decomposição térmica do composto de inclusão no estado sólido (Figura 12), confirmou-se a formação da estequiometria 1:1, já que o novo composto decompõe-se num intervalo de temperatura diferente da $\alpha\text{-CD}$ e do complexo quando puros.

Na curva de decomposição térmica observa-se uma perda de massa equivalente a 24% da mistura entre 250 e 300 °C. Esta porcentagem de massa decompõe-se numa temperatura menor que a α -CD pura (300 a 330 °C) que está em excesso na mistura, e pode ser atribuída ao composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$. Sendo assim, a relação entre as massas de ambos nos leva a uma estequiometria 1:1 no composto de inclusão (como o composto foi obtido numa solução com proporção de 1:5 em mols tem-se, na mistura, 4 mols de α -CD em excesso para cada mol de $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$).

Comprovada a inclusão, pode-se concluir que é vantajoso utilizar α -CD para a solubilização do referido complexo de európio em água relação a sua dissolução quando puro, sendo possivelmente esta dissolução bastante aumentada pela solubilidade da α -CD em meio aquoso, que é de 145 g/L quando pura. A formação de um composto com estequiometria 1:1 torna viável ainda a obtenção de soluções com maiores e diferentes concentrações do complexo estudado. Além deste fato, diferentes propriedades espectroscópicas foram observadas após a formação da inclusão.

O espectro de excitação do composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$ em solução aquosa apresenta máximo em 350 nm, valor deslocado em aproximadamente 28 nm para o UV (maior energia) em relação ao complexo sólido precursor.

No espectro de emissão (Figura 13) são detectadas bandas características do íon Eu^{3+} , relativas as transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{0-4}$, com máximos em 577, 590, 614, 650 e 697 nm, respectivamente. No entanto, nessas transições não há a definição dos desdobramentos característicos da quebra de degenerescência em J. Em D_2O é possível observar a mesma variação do máximo de excitação após a inclusão do complexo em α -CD, com as bandas de emissão apresentando-se bem mais definidas do que em água.

Observa-se também no espectro de emissão do composto de inclusão em H₂O e D₂O uma mudança na intensidade relativa das bandas 0→0 e 0→1 em relação ao complexo precursor. A divisão da área da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ pela área da $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ é igual a 0,05 no complexo sólido e 0,21 e 0,25 no composto de inclusão em água e D₂O.

Figura 13: Espectros de excitação e emissão do [Eu(tta)₃.(H₂O)₂] sólido (—) e dissolvido em água (—) e do composto de inclusão formado com α -CD em meio aquoso (—) e em D₂O (—).

O aumento na razão entre as áreas das bandas pode indicar uma diminuição na simetria do complexo após a inclusão em α -CD, já que a intensidade da transição 0→0 (dipolo elétrico forçado) é diretamente relacionada com o arranjo dos átomos ao redor do íon emissor, sendo mais permitida quanto menor for a simetria.

A diminuição da simetria pode ser atribuída a pequenas distorções provocadas pela inclusão de um dos ligantes tta na cavidade da α -CD, além do ambiente distinto vivenciado pelos dois outros ligantes não incluídos. Um outro fator contribuinte para a redução da simetria é a presença de um maior

número de moléculas de água ao redor do centro emissor. A maior presença de moléculas de solvente é evidenciado pela redução no tempo de vida de emissão do európio após o encapsulamento, quando comparado ao tempo de vida de emissão no estado sólido (Figura 14).

Figura 14: Decaimentos radiativos das emissões originadas em 5D_0 no complexo sólido $[Eu(tta)_3.(H_2O)_2]$ **(a)**; e do seu composto de inclusão formado com α -CD em solução aquosa **(b)**.

O tempo de vida no composto de inclusão em solução aquosa é 0,35 ms e em D_2O é 0,44 ms. Estes valores são menores que o tempo de vida do complexo $[Eu(tta)_3.(H_2O)_2]$ sólido (0,68 ms), o que mostra que a inclusão na cavidade na α -CD não proporciona um completo isolamento do íon Eu^{3+} das moléculas do solvente. O tempo de vida nos compostos de inclusão, porém, são maiores que o do complexo puro dissolvido em água (0,16 ms), evidenciando uma pequena proteção do centro emissor das moléculas de água após a inclusão.

O rendimento quântico de emissão (ϕ) do composto de inclusão em solução aquosa foi calculado através da relação com o rendimento quântico de uma amostra padrão, de $Ru(bip)_3.(Cl)_2.6H_2O$, utilizando a fórmula:

$$\phi = \phi_p \cdot (A/S)_p \cdot (S/A)_a$$

Para a medida, foram obtidas soluções dos dois compostos na mesma concentração (1.10^{-3} mol.L⁻¹), de modo que a absorção de ambas no comprimento de onda de excitação estivesse entre 0,05 e 0,3. A partir das soluções foram obtidos os espectros de absorção e emissão (560 nm a 720 nm), sob mesmas condições de temperatura, quantidade de incidência de luz (mesma fenda) e faixa espectral.

Para o composto de inclusão obteve-se os seguintes dados:

- $\lambda_{exc} = 350$ nm (Absorção da solução em 350 nm = 0,114)
- Área sob o espectro de emissão $6,18.10^4$

e para o composto padrão:

- $\lambda_{exc} = 290$ nm (Absorção da solução em 290 nm = 0,294)
- Área sob o espectro de emissão $9,3.10^6$
- Rendimento quântico (ϕ_p) = 2,8 [61]

O rendimento quântico foi obtido através do cálculo:

$$\phi = 2,8.(0,294/9,3.10^6)(6,18.10^4/0,114), \text{ sendo igual a } 4,8\%.$$

O rendimento quântico do composto de inclusão em solução apresentou-se menor que o rendimento do complexo no estado sólido. Esta redução na eficiência de emissão era esperada, já que, através de medidas do tempo de vida, foi constatada a presença de um maior número de moléculas de água ao redor do centro emissor, e estas aumentam as perdas de energia por processos não radiativos.

De modo geral, a utilização da α -CD pode ser considerada promissora para o emprego das propriedades espectroscópicas do $[\text{Eu}(\text{tta})_3.(\text{H}_2\text{O})_2]$ em solução aquosa, pois o encapsulamento permite que os processos de transferência de energia do ligante para o íon metálico ocorram no meio, e que as bandas características do Eu^{3+} estejam presentes no espectro de emissão. A baixa eficiência na emissão do complexo em água pode ser contornada com o emprego de uma maior quantidade de material, já que um aumento na solubilidade é propiciado pela α -ciclodextrina.

A tabela 1 apresenta os dados obtidos para o tenoiltrifluoroacetato de európio e seu composto de inclusão em α -CD.

Tabela 1: Dados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H_2O)	τ (D_2O)	ϕ_{em}
$[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ (s)	378	610	0,68	0,16	0,24	21%
$[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$	350	610	0,56	0,35	0,44	4,8%

IV.2 - $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{phen})]$

O complexo foi sintetizado pela adição de 20,0 mL de $\text{EuCl}_3 \cdot 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,2 mmol) a uma solução água/metanol com 175 mg de fpa (1,0 mmol) e 40 mg de phen (0,2 mmol), para completar a esfera de coordenação. A proporção de 1:5 em mols, com excesso de ligante fpa, foi utilizada para a garantia da formação do complexo com 3 moléculas do ligante para cada íon metálico ($[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{phen})]$). Foram preparados ainda, com o mesmo ligante, os complexos de Tb^{3+} , Tm^{3+} e Gd^{3+} , sendo a esfera de coordenação completada com moléculas de água ou phen. A síntese e caracterização espectroscópica destes novos sólidos foram publicadas pelo grupo [42,48,49].

A formação do complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{phen})]$ foi confirmada através de análise elementar do material e pelo deslocamento da banda no infravermelho relativa ao estiramento C=O da fpa. A banda de absorção original da Hfpa em 1600 cm^{-1} apresentou-se deslocada para 1586 cm^{-1} , evidenciando a ligação através do oxigênio. A análise elementar mostrou uma quantidade de carbono (62,80%), hidrogênio (4,63%) e nitrogênio (3,33%) que confirmam a fórmula molecular $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot \text{phen}]$ (C=63,08%, H=4,80%, N=3,32% e Eu=17,7%). A análise termogravimétrica (18,2%) e de massa TOF-ESI ($[\text{EuC}_{45}\text{H}_{42}\text{O}_6\text{N}_2]^+ = 858 \text{ m/z}$) estão de acordo com a estequiometria proposta.

Os espectros de luminescência apresentaram as transições características do Eu^{3+} ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{0-4}$), com picos máximos em 351 nm e 611 nm para excitação e emissão (Figura 15).

O espectro de emissão apresenta uma quantidade de picos em cada banda de emissão que está de acordo com o esperado para um único sítio de simetria no complexo. Pode-se observar no espectro uma maior intensidade relativa da banda da transição $0 \rightarrow 0$ que a da $0 \rightarrow 1$. Este fato indica uma baixa simetria na primeira esfera de coordenação do Eu^{3+} devido a presença da molécula de 1,10-fenantrolina.

Figura 15: Espectro de excitação e emissão ($\lambda_{\text{em}} = 350\text{nm}$) do $[\text{Eu}(\text{fpa})_3.(\text{phen})]$ sólido.

Deste novo complexo, foram obtidos o rendimento quântico de emissão e os parâmetros de intensidade, que refletem o caráter da ligação formada entre o íon e a molécula orgânica. Os parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4 , calculados experimentalmente através da relação entre as áreas das bandas referentes às transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{1,2}$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$, são iguais a $24,6 \cdot 10^{-20}$ e $11,4 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$, respectivamente.

Para o complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3.(\text{H}_2\text{O})_2]$ os valores obtidos foram $23,7 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$ para Ω_2 e $8,4 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$ para Ω_4 .

Os valores dos parâmetros de intensidade destes dois novos complexos são equivalentes à valores obtidos para outros complexos de Eu^{3+} com β -dicetonas e para o $\text{LaF}_3:\text{Eu}$ ($1,2 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$) [59], sendo portanto comparáveis a valores para o Eu^{3+} em sistemas covalentes.

Para a obtenção do rendimento quântico de emissão do $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ no estado sólido, foi obtida uma placa coberta com MgO e outra placa coberta com o complexo, ambas com mesmo tamanho e espessura de pó ($\sim 2\text{mm}$). Para as medidas espectroscópicas, as placas foram colocadas em orientação geométrica no suporte até estarem sob mesma intensidade de luz incidente.

Na determinação, foram obtidos espectros de emissão na faixa de 720 a 740 nm das duas placas, com excitação em 730 nm. Como nenhum dos sólidos possui absorção nesta região, o espectro é na verdade a medida da reflexão da luz, ou seja, a medida da intensidade de luz incidente. O momento em que ambas as placas possuíam a mesma intensidade de reflexão (diferença menor que 5%) foi considerado estarem em mesmas condições.

Com as placas sob mesma incidência de luz, foram obtidos os espectros de emissão (reflectância) do padrão MgO e do complexo no comprimento de onda igual a 351 nm, numa faixa de 345 a 355 nm. Através da diferença entre a intensidade do espectro do padrão (reflexão total) e a do espectro do complexo (absorção e reflexão parcial) foi possível determinar a intensidade de luz absorvida pelo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ no experimento ($4,3 \cdot 10^6$). Sem alterar a posição, foi obtido um espectro de emissão do complexo na região de 500 a 750nm, com $\lambda_{\text{exc}} = 351 \text{ nm}$. A integral do espectro foi igual a $3,0 \cdot 10^5$.

Sendo assim, o rendimento quântico de emissão (ϕ_{em}) foi calculado por:

$$\phi_{\text{em}} = \text{LUZ}_{\text{emitida}} / \text{LUZ}_{\text{absorvida}} = 3,0 \cdot 10^5 / 4,3 \cdot 10^6 = 7,2\%$$

O valor do rendimento quântico de emissão para o complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$, excitando-se na banda do ligante (351 nm), está aquém de valores de rendimentos quânticos encontrados na literatura para complexos de Eu^{3+} com β -dicetonas [32,59], principalmente com adutos com alto coeficiente de absorção no complemento da esfera de coordenação [44], como é o caso da 1,10-fenantrolina.

Este baixo rendimento de emissão pode ser atribuído ao nível de energia do estado triplete dos ligantes coordenados ao európio (Figura 17), que não são muito favoráveis à transferência de energia para o estado emissor $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} .

O nível triplete de menor energia dos ligantes fpa e phen no complexo foi determinado através dos espectros de emissão (fosforescência do ligante orgânico) dos complexos $[\text{Gd}(\text{fpa})_3(\text{L})_n]$, a 77 K, considerando-se que o estado triplete (aproximado) é determinado pelo início da banda de emissão do complexo. A figura 16 apresenta a determinação do início da banda de emissão do $[\text{Gd}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$ no seu espectro de emissão, e a Figura 17 apresenta o diagrama com o nível de energia dos ligantes em relação ao Eu^{3+} e Tb^{3+} .

Figura 16: Espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}}=344\text{nm}$, 77K) do complexo $[\text{Gd}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$.

O nível de energia do ligante fpa em 22400 cm^{-1} não é favorável para uma transferência eficiente de energia para o íon Eu^{3+} em complexos, já que fica muito acima do nível emissor $^5\text{D}_0$ e facilita as perdas por processos não radiativos. Este fato fica evidente no baixo rendimento quântico de emissão obtido para o complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$, que é de 7,2%, e no do complexo sem o aduto phen, $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$, que é da ordem de 0,7%.

Figura 17: Diagrama de níveis de energia dos estados excitados dos ligantes (fpa e phen) e dos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} .

A presença da 1,10-fenantrolina na esfera de coordenação do complexo misto propicia um aumento no rendimento de emissão, pois, a diferença de energia entre seu nível triplete (18800 cm^{-1}) e o do nível $^5\text{D}_0$ do Eu^{3+} (17200 cm^{-1}) é pequena, o que favorece a transferência de energia entre estes dois níveis. O baixo rendimento de emissão, porém, indica que

provavelmente a emissão do íon Eu^{3+} no complexo se deva principalmente a energia provinda da transferência da energia absorvida pela molécula de 1,10-fenantrolina, sendo que os outros processos, como a transferência do ligante fpa para o európio ou para a phen, sejam muito pouco eficientes.

O composto de inclusão formado entre o $[\text{Eu}(\text{fpa})_3\text{phen}]$ α -CD foi obtido agitando-se 4,3 mg do complexo em 5,0 mL de solução aquosa de α -CD – 5,0 mmol.L⁻¹ (1:5 em mols). O espectro de ¹H RMN do composto formado em D₂O apresenta os picos referentes ao anel aromático do fpa (δ 7,15 (2H); 7,25 (1H); 7,42 (2H) ppm) e da fenantrolina (δ 7,60 (2H); 7,82 (2H); 8,20 (2H); 8,30 (2H) ppm), e os picos referentes aos hidrogênios da α -CD (δ 3,5 a 4,93 ppm). O espectro apresenta ainda uma alteração nos sinais dos hidrogênios internos da α -CD (H-3 e H-5) após a inclusão, e uma correlação entre os hidrogênios do anel aromático da fpa e o hidrogênios da cavidade da α -CD nos espectros de NOE-DIF, o que comprova a entrada do complexo na cavidade através do ligante fpa.

O espectro de absorção no infravermelho do composto no estado sólido apresenta uma diminuição na área das bandas de absorção relativa aos modos vibracionais –OH ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$; [58]), o que evidencia a saída de água da cavidade do hospedeiro devido à inclusão do complexo nesta. Pôde-se observar também uma diminuição na intensidade dos modos vibracionais do anel aromático da fpa ($1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) como consequência da interação com a α -CD.

Através do método de Job, da variação da absorção em função da fração molar das espécies, pôde-se concluir que a estequiometria de formação do composto de inclusão é de 1:1 (Figura 18). A análise termogravimétrica comprovou os dados obtidos.

Como o observado para o complexo de Eu^{3+} com tta, a α -CD proporciona ao complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ uma maior solubilidade em água, além de algumas alterações em suas propriedades espectroscópicas.

Figura 18: Gráfico de Job para variação no máximo de absorção com a formação do composto de inclusão $[\text{Eu(fpa)}_3\text{.(phen)}]:\alpha\text{-CD}$.

Os espectros de excitação dos compostos de inclusão em solução aquosa apresentaram um máximo em 327 nm, observando-se assim um deslocamento de 24 nm com relação ao máximo de excitação do complexo sólido (Figura 19). O espectro de emissão mostra as transições do Eu^{3+} bem definidas.

Figura 19: Espectros de excitação e emissão do $[\text{Eu(fpa)}_3\text{.(phen)}]$ sólido (—) e dissolvido em água (—) e do composto de inclusão formado com $\alpha\text{-CD}$ em meio aquoso (—) e em D_2O (—).

No espectro de emissão do composto de inclusão observa-se uma mudança pequena na intensidade relativa das bandas $0 \rightarrow 0$ e $0 \rightarrow 1$ em relação ao complexo precursor. A divisão da área da transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ pela área da ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ é igual a 0,35 no complexo sólido e 0,41 e 0,42 no composto de inclusão em água e D_2O , indicando que a inclusão em α -CD provoca pouca alteração na geometria da primeira esfera de coordenação do Eu^{3+} . Outra evidência deste fato é que a relação entre as áreas das transições $0 \rightarrow 2$ e $0 \rightarrow 1$ também é pouco alterada após a inclusão, sendo igual a 8,3 no complexo sólido e 7,1 em solução aquosa. A relação entre estas transições reflete a hipersensibilidade ao redor do íon európio, e como são pouco alteradas após a inclusão, indicam que a presença da α -CD protege o centro emissor das moléculas de água e mantém a rigidez do complexo, não modificando a configuração da primeira esfera de coordenação do Eu^{3+} . Os valores de tempo de vida da emissão do európio, obtidos em solução, estão de acordo com estas observações.

Figura 20: Decaimentos radiativos das emissões originadas em 5D_0 no complexo sólido $[Eu(fpa)_3.(phen)]$ **(a)** e do seu composto de inclusão formado com α -CD em solução aquosa **(b)**.

O tempo de vida no composto de inclusão sofre uma pequena redução em relação ao do complexo sólido precursor (Tabela 2). No complexo sólido, o tempo de vida obtido é igual a 0,66 ms e nos compostos de inclusão, em

água e água deuterada, são iguais a 0,56 e 0,58, respectivamente. Estes dados também evidenciam que a relação entre o convidado e o hospedeiro isole de maneira eficiente o Eu^{3+} das moléculas de água.

Para o cálculo do rendimento quântico de emissão (ϕ) do composto de inclusão $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]:\alpha\text{-CD}$ em solução aquosa, foram obtidos os seguintes dados das soluções (concentração = $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$):

Composto de inclusão:	Composto padrão:
- Absorção em 327 nm = 0,194	- Absorção em 290 nm = 0,294
- Área espectro de emissão = $3,8.10^4$	- Área espectro de emissão = $9,3.10^6$

O rendimento quântico foi obtido através do cálculo:

$$\phi = 2,8.(0,294/9,3.10^6)(3,8.10^4/0,194), \text{ sendo igual a } 1,8\%.$$

O rendimento quântico do composto de inclusão em solução apresentou-se menor que o rendimento do complexo no estado sólido, porém a diferença observada é menos acentuada que no complexo de Eu^{3+} com tta. Este fato é mais uma evidência de uma eficiente proteção – mas não total – do complexo de európio das moléculas de água proporcionada pela inclusão na cavidade da $\alpha\text{-CD}$.

Tabela 2: Dados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H_2O)	τ (D_2O)	ϕ_{em}
$[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ (s)	351	610	0,66	0,31	0,44	7,2%
$[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{phen})]:\alpha\text{-CD}$	327	610	0,60	0,56	0,58	1,8%

IV.3) $[Eu(fpa)_3.(H_2O)_2]$

A formação do complexo foi confirmada pelo deslocamento da banda relativa ao estiramento C=O da fpa no infravermelho de 1600 cm^{-1} para 1570 cm^{-1} . A análise elementar do composto mostrou uma quantidade de carbono (55,02%) e hidrogênio (6,03%) que nos leva a fórmula $[Eu(fpa)_3.(H_2O)_2]$ (calculada: C = 55,44% e H = 5,3%).

A decomposição termogravimétrica (TGA) indicou 20,9% de Eu (calculada: Eu = 21,32%). Os espectros de luminescência do complexo apresentaram as transições características do Eu^{3+} , com máximo de excitação em 355 nm e emissão 611 nm ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$), respectivamente. O composto de inclusão foi obtido agitando-se 3,5 mg (5,0 mmol) do complexo em 5,0 mL de uma solução de α -CD $5.10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ por uma semana. A Figura 21 apresenta os espectros de excitação do complexo sólido e do composto de inclusão em solução aquosa, e a Tabela 3 apresenta os dados obtidos para este complexo.

Figura 21: Espectros de excitação e emissão do $[Eu(fpa)_3.(H_2O)_2]$ sólido (—) e do composto de inclusão com α -CD em meio aquoso (---).

Tabela 3: Dados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H_2O)	ϕ_{em}	Estequiom. Inclusão
$[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ (s)	355	610	0,48	0,12	0,7%	—
$[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$	340	614	0,40	0,23	<0,05%	1:1

O baixo rendimento quântico de emissão do complexo pode ser atribuído ao nível de energia do estado tripleto do ligante, que não é favorável à transferência de energia para o íon Eu^{3+} (Figura 17).

IV.4 - $[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$

A formação do complexo foi confirmada pelo espectro de absorção no infravermelho, que apresentou a banda relativa ao estiramento do anel aromático ($1460\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$) e do grupo carbonílico (1580 cm^{-1}). A fórmula $[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (teórico: C=52,25%, H=4,64% e Eu = 19,1%) foi definida através dos resultados obtidos nas análises elementar e térmica (carbono - 52,99%, Hidrogênio - 4,91% e Európio = 18,70%) do composto. A caracterização espectroscópica completa do ligante e do complexo formado com Eu^{3+} pode ser encontrada na literatura [62]

O benzoilacetato de európio sintetizado apresentou máximo de excitação em 368 nm e de emissão em 612 nm (Figura 26). Em solução aquosa, após a formação do composto de inclusão, o máximo de excitação foi em 346 nm, deslocado, portanto, em aproximadamente 20 nm para a região de maior energia do espectro eletromagnético. O espectro de emissão em solução apresentou as transições características do Eu^{3+} , porém bem menos definidas que no complexo original.

Figura 26: Espectros de excitação e emissão do $[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ sólido (—) e do composto de inclusão com $\alpha\text{-CD}$ em meio aquoso (---).

Tabela 4: Dados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H_2O)	Estequiometria de Inclusão
$[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ (s)	368	610	0,53	0,19	—
$[\text{Eu}(\text{bac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$	346	612	0,47	0,26	1:1

III.5- $[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

Os dados obtidos com análise elementar, termogravimétrica e absorção no infravermelho confirmam a formação do complexo e a estequiometria proposta. A caracterização espectroscópica mais detalhada pode ser encontrada na literatura [62].

O espectro de emissão do complexo apresentou as bandas referentes as transições do Eu^{3+} ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{0-4}$) bem definidas e desdobradas, com pico máximo em 612 nm (Figura 27). O composto de inclusão formado apresentou um máximo de excitação em 360 nm. Apesar de ser bem próximo ao máximo de excitação do complexo sólido (371 nm), o pico

encontra-se, como nos demais compostos de $\text{Eu}^{3+}/\beta\text{-dicetona}/\alpha\text{-CD}$, deslocado para a região do UV/Vis. O espectro de emissão apresentou as bandas características do európio com menor definição dos desdobramentos dos picos.

Figura 27: Espectros de excitação e emissão do $[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ sólido (—) e do composto de inclusão em meio aquoso (---).

Tabela 5: Dados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H ₂ O)	Estequiom. Inclusão
$[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ (s)	371	612	0,36	0,19	—
$[\text{Eu}(\text{bfa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]:\alpha\text{-CD}$	360	612	0,32	0,22	1:1

IV.6 – $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

O β -dicetonato de térbio foi sintetizado pela adição de 20,0 mL de $\text{TbCl}_3 \cdot 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,2 mmol) a uma solução água/metanol (1:1) com 175 mg de fpa (1,5 mmol). O complexo $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ foi filtrado e seco à baixa pressão. O infravermelho confirmou a formação do complexo com a

presença do estiramento C=O em 1580 cm^{-1} e do anel aromático em $1366\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ [58]. A análise elementar mostrou uma porcentagem de carbono de 55,85% e hidrogênio 5,30%, compatível com a fórmula $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ (Calculada: C = 55,25%, H = 5,18% e Tb=21,75%). A decomposição termogravimétrica (Tb=20,9%) e a análise de massa TOF-ESI ($[\text{TbC}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_8]^+ = 718\text{ m/z}$) confirmaram a estequiometria proposta.

O complexo apresentou máximo de excitação em 345 nm. O espectro de emissão apresentou as transições característica do Tb^{3+} ($^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_{6,5,4,3}$), com máximo em 545 nm (Figura 22).

Figura 22: Espectros de excitação ($\lambda_{\text{em}} = 545\text{ nm}$) e emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 345\text{ nm}$) do $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ sólido.

Observa-se no espectro de emissão do complexo sólido uma pequena definição na degenerescência das bandas de emissão do Tb^{3+} . Como o nível emissor é o $^5\text{D}_4$, é esperado uma grande quantidade de picos em cada região de emissão, o que neste complexo não ocorreu. O rendimento quântico da emissão, calculado com o MgO como padrão de reflexão, é alto (39%), sendo maior do que em complexos com outras β -cetonas, como por exemplo o $[\text{Tb}(\text{acac})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ [63]. O alto rendimento de emissão se deve a

energia do nível tripleto do ligante fpa, que é bastante favorável a uma transfência eficiente para o Tb^{3+} (Figura 17).

O composto de inclusão foi preparado pela mistura de 3,5 mg de $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ em 5,0 mL de solução de $\alpha\text{-CD}$ 5,0 mmol.L^{-1} . A inclusão foi confirmada por ^1H RMN e por absorção no infravermelho, pela diminuição das bandas relativas ao anel aromático. Através do método de Job confirmou-se a formação de um composto de inclusão com estequiometria 1:1.

O máximo de excitação do composto em solução aquosa foi 324 nm. Esse máximo está deslocado em aproximadamente 20 nm em relação ao complexo sólido, semelhante ao observado para o complexo de Eu^{3+} com o mesmo ligante. O espectro de emissão apresentou as transições características do Tb^{3+} um pouco alargadas, com máximo em 544 nm, referente à transição $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$ (Figura 23).

Figura 23: Espectros de excitação ($\lambda_{\text{em}} = 544 \text{ nm}$) e emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 324 \text{ nm}$) do $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$ em meio aquoso.

O comportamento observado para o complexo de Tb/fpa é semelhante ao comportamento dos complexos de Eu com fpa. Nestes casos, após a inclusão do complexo em $\alpha\text{-CD}$, observou-se um deslocamento no máximo

de excitação, em solução aquosa, de aproximadamente 20 nm para a região do UV/vis, quando comparado com o complexo original.

O tempo de vida da emissão do composto de inclusão em solução (0,51 ms) é pouco menor que o tempo de vida no estado sólido (0,64 ms), evidenciando uma presença de um número pequeno de moléculas de água na esfera de coordenação após a inclusão. Para o complexo do mesmo ligante com Eu^{3+} , o tempo de vida em solução aquosa foi quase a metade que o tempo de vida do complexo sólido.

Figura 24: Decaimentos radiativos das emissões originadas em $^5\text{D}_4$ no complexo sólido $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$ **(a)** e do seu composto de inclusão formado com α -CD em solução aquosa **(b)**.

O rendimento quântico de emissão (ϕ) do composto de inclusão em solução aquosa foi calculado através da relação com o rendimento quântico de uma amostra padrão, o sulfato de quinina hexa-hidratado. Na medida, as duas soluções foram obtidas na mesma concentração, de modo que a absorção de ambas no comprimento de onda de excitação estivesse entre 0,05 e 0,3. A partir das soluções foram obtidos os espectros de absorção e emissão (450 nm a 650 nm), sob mesmas condições de temperatura, quantidade de incidência de luz (mesma fenda) e faixa espectral.

Para o composto de inclusão obteve-se os seguintes dados:

- $\lambda_{\text{exc}} = 324 \text{ nm}$ (Absorção da solução em 324 nm = 0,266)
- Área sob o espectro de emissão $1,3 \cdot 10^5$

e para o composto padrão:

- $\lambda_{\text{exc}} = 342 \text{ nm}$ (Absorção da solução em $342 \text{ nm} = 0,169$)
- Área sob o espectro de emissão $3,7 \cdot 10^7$ ($\lambda_{\text{max-em}} = 420 \text{ nm}$)
- Rendimento quântico (ϕ_p) = 55 [61]

O rendimento quântico foi obtido através do cálculo:

$$\phi = 55 \cdot (0,169 / 3,7 \cdot 10^7) (1,3 \cdot 10^5 / 0,266), \text{ sendo igual a } 12,2\%.$$

O baixo rendimento quântico obtido em solução indica que, mesmo isolando o centro emissor da maioria das moléculas de água do meio, a presença de um número pequeno destas moléculas na esfera de coordenação é capaz suprimir eficientemente a emissão do íon Tb^{3+} .

Tabela 6: Dados obtidos para o $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$

	λ_{exc}	λ_{em}	$\tau \text{ (s)}$	$\tau \text{ (H}_2\text{O)}$	ϕ_{em}	Estequiôm. Inclusão
$[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] \text{ (s)}$	345	545	0,64	0,48	39,0%	—
$[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2] : \alpha\text{-CD}$	324	545	0,61	0,51	12,2%	1:1

IV.7 - $\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot \text{phen}$

A formação foi confirmada pela presença das bandas relativas aos estiramentos C=N (phen) e do anel aromático da fpa no espectro de infravermelho. A análise elementar do complexo sintetizado mostrou uma porcentagem de carbono (62,57%), hidrogênio (5,51%) e nitrogênio (3,23%) que leva a fórmula $[\text{Tb}(\text{fpa})_3 \cdot \text{phen}]$ (Calculada: C = 62,04%, H = 4,70% e N=3,29%). O composto de inclusão foi obtido pela adição de 4,3 mg do complexo sólido a 5,0 mL de uma solução aquosa de $\alpha\text{-CD} \cdot 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

A Figura 25 apresenta os espectros de excitação e emissão para o complexo sólido e do composto de inclusão em solução aquosa, e a Tabela 5 apresenta os outros dados obtidos.

Figura 25: Espectros de excitação e emissão do $[Tb(fpa)_3.(phen)]$ sólido (—) e do composto de inclusão em meio aquoso (—).

A adição da molécula 1,10-fenantrolina nos complexos de Tb^{3+} não auxilia na transferência de energia do ligante fpa para o íon metálico, já que seu nível de energia do estado tripleto (18800 cm^{-1}) é menor que o nível emissor 5D_4 (20400 cm^{-1}) do Tb^{3+} . Assim, a eficiência de emissão no novo complexo (12%) é bem menor que a do $[Tb(fpa)_3.(H_2O)_2]$ (39,0 %). Esta diminuição se deve a transferência de uma parte da energia absorvida pelo ligante fpa para a molécula de 1,10-fenantrona, diminuindo assim consideravelmente a quantidade de energia transferida para o íon Tb^{3+} . Menores rendimentos de emissão em β -dicetonatos de térbio após a adição de 1,10-fenantrolina na esfera de coordenação já foram relatados na literatura [63].

A presença do aduto na esfera de coordenação, porém, elimina a presença das moléculas de água, diminuindo a supressão de emissão ocasionada por estas moléculas. Devido a este fato, as bandas no espectro

de emissão aparecem bastante desdobradas, com quantidade de picos em cada transição equivalente aos teóricos $2S+1$ esperados.

A diminuição no rendimento quântico de emissão do composto de inclusão em solução aquosa formado pelo complexo $[\text{Tb}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ é equivalente a diminuição observada para o $[\text{Tb}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]:\alpha\text{-CD}$.

Tabela 7: Dados obtidos para o $[\text{Tb}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$

	λ_{exc}	λ_{em}	τ (s)	τ (H_2O)	ϕ_{em}	Estequiôm.
$[\text{Tb}(\text{fpa})_3(\text{phen})]$ (s)	362	545	0,69	0,24	12%	—
$[\text{Tb}(\text{fpa})_3(\text{phen})]:\alpha\text{-CD}$	330	545	0,54	0,41	2,3%	1:1

IV.8 – Discussão Geral

A inclusão completa dos complexos tipo $\text{Eu}(\text{L}')_3\text{L}''$ na cavidade da $\alpha\text{-CD}$ é impossibilitada devido às restrições estéricas impostas pelo diâmetro e altura da cavidade hidrofóbica do oligossacarídeo. Através de estudos computacionais foi possível determinar os comprimentos das ligações existentes no complexo de Eu^{3+} com fpa. As distâncias foram calculadas para as estruturas de menor energia do complexo, através da mecânica molecular, utilizando o campo de força MMX. Como as estruturas espaciais das β -dicetonas utilizadas são semelhantes, foi possível generalizar as conclusões advindas dos resultados obtidos para o $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$, não sendo necessário o estudo dos demais complexos.

Através dos cálculos, apresentados na Figura 26, pôde-se notar a impossibilidade estereoquímica de inclusão total do complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$ na cavidade de uma α -ciclodextrina, já que a distância entre os átomos de duas β -dicetonas ligadas ao európio (diâmetro do complexo) é superior a 14,0 Å, e a maior cavidade da $\alpha\text{-CD}$ tem diâmetro igual a 8,8 Å. A inclusão, portanto, só poderia ocorrer através da molécula do ligante (ou parte dele), que tem tamanho igual a 6,55 Å.

Figura 26: a) Uma das estruturas de menor energia para o complexo $[\text{Eu}(\text{fpa})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$; (b-e) distâncias de ligação entre os átomos da β -dicetona.

Os espectros de ^1H RMN e de absorção na região do infravermelho dos compostos evidenciaram que a inclusão dos complexos ocorreu através de partes dos ligantes. No complexo $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$, por exemplo, é observada uma modificação na intensidade das bandas relativas às vibrações do anel “tienil”, o que indica uma interação destes grupos com a cavidade. Foi possível observar também que os grupos polares ($-\text{CF}_3$) dos complexos de TR com tta e bfa não apresentaram modificação espectral no infravermelho, indicando que a parte da β -dicetona que contém os grupos carbonilas não interagem diretamente com a CD, ficando assim fora da cavidade.

A inclusão parcial dos ligantes fpa, tta, bac e bfa na cavidade da α -CD é também evidenciada pelo estudo de absorção dos seus compostos de inclusão em solução aquosa. Nestes estudos foram obtidos os espectros de absorção dos compostos de inclusão formados entre os ligantes puros e a α -CD em pHs variados, com a adição de HCl e NH_4OH diluídos. Observou-se que, com a mudança do pH de ácido para básico, o máximo de absorção dos ligantes inclusos em ciclodextrina sofre uma variação de aproximadamente 30 nm, com comprimento de onda de absorção maiores em pHs mais básicos. Essa variação evidencia que a inclusão em ciclodextrina não impossibilita a protonação/desprotonação desses ligantes. Estes dados levam à conclusão de que as carbonilas da β -dicetona permanecem fora da cavidade após a inclusão, estando, portanto, só a parte aromática no interior desta.

Então, de acordo com o observado nas análises, temos apenas a inclusão parcial dos complexos de TR^{3+} na cavidade da ciclodextrina. Sendo assim, podemos considerar que a inclusão se dá por uma região do ligante que não aquela de ligação com o TR^{3+} , pouco modificando portanto o ambiente ao redor do cátion.

Em cada complexo estudado, poderia ocorrer a inclusão de uma, duas ou três α -CD (ou uma mistura destes compostos), já que cada cavidade

pode interagir com um dos ligantes de modo independente. Através do método de Job, porém, foi constatado que a estequiometria de inclusão em todos os complexos é de 1:1. Este fato pode ser explicado pelo aumento das restrições estéricas impostas as demais ciclodextrinas devido a torções na geometria do complexo advindas da entrada da primeira ciclodextrina.

A solubilização em água dos complexos de TR é bastante aumentada após a inclusão em α -CD em relação ao complexo puro, sendo que a formação de compostos com estequiometria 1:1 torna possível a obtenção de soluções com maiores concentrações dos complexos.

A presença da α -CD não provocou modificações relevantes na primeira esfera de coordenação dos íons, possibilitando assim o emprego de suas propriedades espectroscópicas características em solução aquosa. Os espectros de excitação indicaram que, após a inclusão, os ligantes tiveram sempre participação nos processos fotofísicos, apesar de se constatar no meio aquoso a presença de um maior número de moléculas de água ao redor do centro emissor (tempo de vida menor) e uma pequena mudança nas interações eletrônicas entre a β -dicetona e o íon TR^{3+} (deslocamento da excitação).

A redução no tempo de vida da emissão em solução aquosa foi menor nos complexos com a presença da molécula de 1,10-fenantrolina que nos complexos formados com duas moléculas de água. Este fato pode ser atribuído a maior rigidez estrutural dos complexos com o aduto phen. Tal rigidez não é alterada pela inclusão de parte do ligante fpa em α -CD, e impede mais eficientemente a aproximação das moléculas de água do íon emissor em relação aos demais complexos.

A mudança na interação eletrônica entre o íon TR e a β -dicetona após a inclusão em α -CD, constatada na alteração do máximo de excitação do complexo, pode ser resultante de uma leve torção do ligante para uma melhor acomodação no interior da cavidade da α -CD, o que alteraria seu sistema de conjugação. A esse novo arranjo geométrico, soma-se o fato da

mudança de ambiente de sólido para aquoso, que também provoca uma alteração nos níveis energéticos do ligante orgânico.

Como em todos os complexos observou-se uma variação no máximo de excitação em aproximadamente 20 nm para uma região de maior energia após a inclusão, conclui-se que a mudança no arranjo geométrico e de ambiente contribuem para uma diminuição na conjugação eletrônica do ligante, aumentando a diferença entre os níveis energéticos π e π^* .

Sendo assim, além de proporcionar a solubilização e manutenção das propriedades espectroscópicas dos complexos de TR em meio aquoso, a inclusão em ciclodextrina provoca um aumento na diferença entre o comprimento de luz absorvido e o comprimento de luz emitido pelo sistema (deslocamento de Stokes), o que pode ser muito útil para o emprego destes compostos em análises de sistemas biológicos.

V – CONCLUSÃO

A formação de um composto de inclusão com α -ciclodextrina proporcionou um aumento na solubilização em solução aquosa nos sete β -dicetonatos de TR estudados neste trabalho, sendo que, em geral, sua presença não provocou modificações relevantes na primeira esfera de coordenação do íon no complexo.

Os espectros de excitação indicaram que os ligantes mantiveram sempre a participação nos processos fotofísicos e, mesmo em solução, os compostos apresentaram as bandas de emissão características dos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} , com uma diminuição da ordem de cinco vezes no rendimento quântico de emissão em relação ao estado sólido.

O emprego de α -CD mostrou-se, portanto, uma promissora ferramenta para o estudo e utilização das propriedades dos íons TR em solução aquosa.

VI – REFERÊNCIAS

- [1]. Connors, K. A.; *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325.
- [2]. Villiers, A.; *Compt. Rend.* **1891**, 112, 536.
- [3]. Szejtli, J.; *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743.
- [4]. Stella, V. J.; Rajewski, R. A.; *Pharm. Res.* **1997**, 14, 556.
- [5]. Buschmann, H. J.; Schollmeyer, E.; *J. Cosmet. Sci* **2002**, 53, 575.
- [6]. Martin Del Valle, E. M.; *Proc. Biochem.* **2004**, 39, 1033.
- [7]. Hedges, A.; *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2035.
- [8]. Singh, M.; Sharma, R.; Banerjee, U. C.; *Biotech. Adv.* **2002**, 20, 341.
- [9]. Li, S.; Purdy, W. C.; *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1457.
- [10]. Ferreira, L. F. V.; Lemos, M.; *Química Nova* **1999**, 22, 522.
- [11]. Lindner, K.; Saenger, W.; *Carbohydrate Res.* **1982**, 99, 103.
- [12]. Engeldinger, E., Armspach, D., Matt, D., *Chem. Rev.* **2003**, 103, 4148.
- [13]. Loftsson, T.; Brewster, M. E.; *J. Pharm. Sci.* **1996**, 85, 1017.
- [14]. Braga, S. S.; Ferreira, R. A. S.; Gonçalves, I. S.; Pillinger, M.; Rocha, J.; Dias, J. J. C. T.; Carlos, L. D.; *J. Phys. Chem. B* **2002**, 105, 1430.
- [15]. Brito, H.F.; Carvalho C.A.A.; Malta, O.L.; Passos; J.J.; Menezes, J. F. S.; Sinisterra, R.D.; *Spec. Acta A – Mol. Biomol. Spec*, **1999**, 55, 2403.
- [16]. Loftsson, T.; Masson, M.; *Intern. J. of Pharmaceutics*, **2001**, 225, 15.
- [17]. Schmid, G.; *Trends Biotech.* **1989**, 7, 244.
- [18]. Bhardwaj, R.; Dorr, R.T.; Blanchard, J.; *Pharm.Sci. Tec.* **2000**, 54, 233.
- [19]. Lezcano, M.; Ai-Soufi, W.; Novo, M.; Rodriguez-Nunez, E.; Tato, J. V.; *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 108.
- [20]. Irie, T.; Uekama, K.; *J. Pharm. Sci.* **1997**, 86, 147.
- [21]. Croft, A. P.; Bartsch, R. A.; *Tetrahedron* **1983**, 39, 1417.
- [22]. Khan, A. R.; Forgo, P.; Stine, K. J.; D'Souza, V. T.; *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1977.
- [23]. Bittman, R., Zhong, N., Byun, H. S., *Tetrahedron Lett*, **1998**, 39, 2919.
- [24]. Jicsinszky, L., Ivanyi, R., *Carbohydr. Polym.*, **2001**, 45, 139.

- [25]. Yoon, J., Hong, S., Martin, K. A., Czarnik, A. W., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 2792.
- [26]. Charbonnier, F.; Humbert, T.; Marsura, A.; *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4047.
- [27]. Tsukube, H.; Shinoda, S.; *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2389.
- [28]. Maestro, P.; *Materials Today and Tomorrow*, Rhône-Poulenc Ed., Paris **1991**, 301.
- [29]. Hedrick, J. B.; *J. Alloys Comp.* **1997**, 250, 471.
- [30]. Brito, H.F.; Malta, O.L.; Menezes, J.F.S.; *J. Alloys Comp.* **2000**, 303, 336.
- [31]. Maestro, P. Huguenin, D.; *J. Alloys Comp.* **1995**, 225, 520.
- [32]. Sá, G.F., Malta, O.L., Donegá, C.M., Simas, A.M., Longo, R.L., Santa-Cruz, Silva Jr., E.F., *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 196, 165.
- [33]. Dejneka, M.; Snitzer, E.; Riman, R. E.; *J. Lumin.* **1995**, 65, 227.
- [34]. Sabatini, N.; Guardigli, M.; Lehn, J. M.; *Coord. Chem. Rev.* **1993**, 123, 201.
- [35]. Blasse, G.; Grabmaier, B. C.; *Luminescent Materials*, Springer-Verlag, Berlim **1994**, 26.
- [36]. Reisfeld, R.; *Structure and Bonding* 22, Springer-Verlag: New York, **1975**, 123.
- [37]. Richardson, F. S.; *Chem. Rev.* **1982**, 82, 542.
- [38]. Hemmilä, I.; *J. Alloys Compd.* **1995**, 225, 480.
- [39]. Lis, S.; Elbanowski, M.; Makowska, B.; Hnatejko, Z.; *J. Photochem. Photobio. A: Chem.* **2002**, 150, 233.
- [40]. Brito, H. F.; Liu, G. K.; *J. Chem. Phys.* **2000**, 112, 4334.
- [41]. Bunzli, J. C. G.; Moret, E.; Foiret, V.; *J. Alloys Comp.* **1994**, 207, 107.
- [42]. Serra, O. A.; Nassar, E. J.; Calefi, P. S.; Rosa, I. L. V.; *J. Alloys Comp.* **1998**, 275, 838.
- [43]. Prata, M. I. M.; Santos, A. C.; Geraldies, C. F. G. C.; Lima, J. J. P.; *J. Inorg Biochem* **2000**, 79, 359.
- [44]. Sá, G. F.; Alves Jr., S.; Silva, B. J. P.; Silva Jr., E. F.; *Optical Mat.* **1998**, 11, 23.

- [45]. Sharma, P. K.; Doorn, A. R.; Staring, A. G. J.; *J. Lumin.* **1994**, 62, 219.
- [46]. Elbanowski, M.; Makowska, B.; *J. Photochem. Photobio. A: Chem.* **1996**, 99, 85.
- [47]. Wu, F. B.; Zhang, C.; *Anal. Biochem.* **2002**, 311, 57.
- [48]. Ribeiro, A. O; Pires, A. M.; Calefi, P. S.; Serra, O. A.; *J. Alloys Comp* **2004**, 374, 151.
- [49]. Serra, O. A.; Rosa, I. L. V.; Nassar, E. J.; Calefi, P. S.; Cardoso, P. C.; *J. Alloys Comp.* **1997**, 249, 178.
- [50]. Vavilov, S. I.; *Z. Phys* **1924**, 22, 266.
- [51]. Demas, J. N.; Crosby, G. A.; *J. Phys. Chem.* **1971**, 75, 991.
- [52]. Malta, O. L.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, 88, 353.
- [53]. Alves Jr., S.; Almeida, F. V.; Sá, G. F.; Donegá, C. M.; *J. Lumin.* **1997**, 72, 478.
- [54]. Fielding, L.; *Tetrahedron* **2000**, 56, 6151.
- [55]. Job, P.; *Ann. Chim.* **1928**, 9, 113.
- [56]. Gil, V. M. S.; Oliveira, N. C.; *J. Chem. Ed.* **1990**, 67, 473.
- [57]. Li, H. R.; Zhang, H. J.; Lin, J.; Wang, S. B.; Yang, K. Y.; *J. Non-Cryst. Solids* **2000**, 278, 218.
- [58]. Nakamoto, K., *Infrared e Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 4th ed., Wiley, New York, **1986**, 254.
- [59]. Araújo, A. A. S.; Brito, H. F.; Malta, O. L.; Matos, J. R.; Teotonio, E. E. S.; Storpirtis, S.; Izumi, C. M. S.; *J. Inorg. Biochem.* **2001**, 88, 87.
- [60]. Egyed, O.; *Vibrat. Spec.* **1990**, 1 (2), 225.
- [61]. Nova, S. P. V.; Pereira, G. A. L.; Sá, G. F.; Alves Jr., S.; Bazin, H.; Autiero, H.; Mathis, G.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 709.
- [62]. Frey, S. T.; Gong, M. L.; Horrocks Jr., W. W.; *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 3229.
- [63]. Zheng, Y.; Lin, J.; Liang, Y.; Lin, Q.; Yu, Y.; Guo, C.; Wang, S.; Zhang, H.; *Mat. Lett.* **2002**, 54, 424.

I. INTRODUÇÃO

I.1 – Porphirinas

As porfirinas compreendem uma classe de moléculas constituídas por quatro anéis pirrólicos ligados por pontes meso-metino (Figura 1). São macromoléculas de geometria quadrado planar com onze duplas ligações alternadas, formando assim um sistema altamente conjugado, com 18 elétrons π envolvidos na aromaticidade [1,2]. Como consequência da conjugação, as porfirinas e derivados possuem uma intensa absorção próxima a 400 nm (banda Soret), além de outras bandas Q menos intensas na região do visível.

As porfirinas se diferem pelo arranjo das cadeias ligadas nos anéis pirrólicos e nas posições metílicas [3,4]. A nomenclatura oficial, recomendada pela IUPAC [5], numera os carbonos do anel seqüencialmente de 1 a 20, e os nitrogênios internos de 21 a 24. Na nomenclatura usual, proposta por Fisher [6], as posições metílicas do anel macrocíclico são denominadas por α , β , δ e γ (ou 5, 10, 15 e 20; ou simplesmente *meso*) e os carbonos pirrólicos secundários numerados de 1 a 8.

Figura 1: a) Representação esquemática do anel porfirínico; **b)** Espectro de absorção na região do visível típico de um macrociclo porfirínico.

O primeiro método de síntese de porfirinas foi desenvolvido por Rothemund em 1935 [7], no qual pirrol e o benzaldeído reagiram em meio de piridina ou ácido acético, obtendo-se rendimentos menores que 10%. Em 1967, Adler, Longo e colaboradores [8] demonstraram que os rendimentos de síntese de porfirinas poderiam ser aumentados em mais de 30% utilizando o ácido acético sob condições aeróbicas (Figura 2), e propiciaram uma grande avanço na síntese e estudo destas macromoléculas. No final dos anos 80, Lindsey e colaboradores publicaram uma metodologia em que a porfirina é sintetizada em condições mais brandas, num processo de duas etapas (Figura 2), com rendimentos finais de até 50%.

A escolha de um dos métodos para a síntese de novas porfirinas leva em consideração a quantidade, posição e natureza dos substituintes pretendidos nas posições *meso* do produto final.

Figura 2: Esquema da síntese de porfirinas pelos métodos de Adler-Longo [8] e Lindsey [9].

As porfirinas têm a propriedade de formar complexos com a maioria dos íons metálicos, constituindo assim uma importante classe de pigmentos cíclicos. As porfirinas e metaloporfirinas têm sido utilizadas como

catalisadores eficientes na hidroxilação de hidrocarbonetos saturados, na epoxidação de olefinas, em estudos de transferência de energia [10], além da utilização na terapia fotodinâmica de câncer [11,12].

A redução dos anéis pirrólicos da porfirina altera seu sistema de conjugação eletrônica e leva a mudanças na simetria da molécula, resultando em diferentes subclasses de derivados com bandas Q com altos coeficientes de extinção. Os macrociclos originados da redução de uma ou duas duplas ligações da porfirina são classificados em clorinas e bacterioclorinas, respectivamente (Figura 3), e apresentam alta absorção na região de 650 e 750 nm, o que os torna promissores agentes fotossensibilizadores para uso na Terapia Fotodinâmica [13].

Figura 3: Representação da estrutura e aromaticidade dos macrociclos tetrapirrólicos.

I.2 – Terapia Fotodinâmica (TFD)

A TFD é uma técnica de tratamento de câncer que utiliza a luz como agente terapêutico. Após a injeção intravenosa de um fotossensibilizador (FS), a região afetada é irradiada com laser de comprimentos de onda próximos ao máximo de absorção do corante. A energia absorvida pelo FS é transferida ao oxigênio presente no meio, que passa ao estado singlete excitado e reage, então, diretamente com proteínas, lipídeos e ácidos

nucleicos das células, gerando produtos que traduzem a necrose celular [14].

Macrocíclos tipo clorinas e bacterioclorinas são ótimos candidatos a FS por possibilitarem o tratamento com irradiação de luz na região de 650 nm a 750 nm, que são os comprimentos de onda de maior penetração tecidual e de menor interferência de cromóforos endógenos e das moléculas de água.

Estes macrocíclos se tornam ainda mais promissores quando ligados a carboidratos, já que esta combinação pode viabilizar um balanço favorável entre o caráter hidrofóbico e hidrofílico do novo candidato, proporcionando assim uma melhor seletividade às células cancerígenas e maior facilidade na aplicação do medicamento [15]. Além disso, a estereo-química da ligação entre as moléculas pode propiciar uma baixa agregação em solução e uma baixa toxicidade, devido dificuldade de penetração em órgãos sadios, o que são requisitos básicos a novos fármacos.

Sendo assim, novas clorinas e bacterioclorinas ligadas a β -ciclodextrina, com comprimentos de ondas de absorção favoráveis e boa solubilidade em água, são ótimas candidatas a fotossensibilizadores em TFD.

I.2.1 – Histórico

Tumor é um crescimento anormal de tecidos. Células doentes, com um distúrbio genético, passam a se reproduzir mais rapidamente do que as células normais levando à formação do tumor. Câncer é a designação genérica de qualquer tumor maligno, cujo crescimento é muito acelerado, desorganizado, prejudicial e com tendência a se alastrar a outros órgãos. A palavra câncer é derivada do latim e significa caranguejo, devido à analogia com a facilidade com que este crustáceo tem de se aderir firmemente a qualquer lugar [16].

Os tipos de câncer mais comuns são os de pele, mama feminina, próstata, pulmão e estômago. Dentre estes, o câncer de pele é o de menor letalidade, sendo que os demais compõem a segunda maior causa de mortes por doenças no Brasil [17]. Diante dos graves efeitos colaterais e da eficiência limitada das terapias tradicionais (cirurgia, quimioterapia e radioterapia), outras alternativas estão sendo constantemente propostas na área de oncologia (cancerologia).

Dentre as novas terapias, destaca-se a terapia fotodinâmica (TFD), uma modalidade que começou a ser empregada com sistemática científica bem recentemente. Trappeiner, em 1903, foi o primeiro a descrever o tratamento de um câncer de pele com a utilização tópica de um corante (eosina) e posterior exposição à luz [18]. Em 1913, Meyer-Betz fez uma auto-injeção de 200 mg do que ele pensava ser hematoporfirina pura e não sentiu nenhum efeito. Porém, ao se expor à luz, teve fotossensibilidade na pele por vários meses [19]. Em 1924, foi observado, por Policard, que porfirinas podiam ser encontradas em elevadas concentrações em tumores malignos, sendo completamente atóxicas até serem excitadas pela luz em presença de oxigênio, quando se tornavam altamente tóxicas ao tecido celular.

No início da década de 50 Schwartz mostrou que nos experimentos de Meyer-Betz, o princípio ativo não era a hematoporfirina (pois esse composto é facilmente eliminado do organismo), mas na realidade tratava-se de uma mistura de diversas substâncias oligoméricas provenientes do método original de síntese e isolamento da mesma. Schwartz enriqueceu a mistura de oligômeros (chamou o preparado de HpD) e investigou o acúmulo preferencial deles em tumores implantados em camundongos e ratos, e observou que a incidência de luz proporcionava regressão da doença [20]. Como resultado desses estudos, no final da década de 60, Schwartz obteve sucesso no tratamento de uma mulher que possuía câncer de mama usando HpD, marcando assim, o início da TFD como terapia clínica para câncer.

Em 1976, Weishaupt e colaboradores postularam que o oxigênio singlete, gerado por transferência de energia do agente fototerapêutico no estado triplete excitado para o oxigênio molecular no estado fundamental, era o agente tóxico responsável pela desativação de células tumorais. A partir dos trabalhos de Dougherty e colaboradores em 1978, a TFD passou a ser reconhecida como uma alternativa para o tratamento de neoplasias [21,22].

I.2.2 – Princípio de Utilização

A TFD utiliza-se da administração endovenosa de compostos fotossensibilizadores (FS) seguida de irradiação luminosa do tecido afetado, com banda de absorção máxima do corante injetado. Estes compostos absorvem a energia luminosa e a transferem para o oxigênio molecular, excitando-o do estado triplete ($^3\text{O}_2$) ao estado singlete ($^1\text{O}_2$), e este reage diretamente com proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, levando a auto-oxidação e morte celulares [23,24]. Também poderá haver a formação de radicais superóxidos a partir do estado triplete do fotossensibilizador, causando igualmente a necrose celular. O diagrama de Jablonski (Figura 4) apresenta um resumo dos processos envolvidos após a absorção de luz pelo FS.

Figura 4: Representação esquemática do diagrama de Jablonski [25] e da geração de espécies reativas de oxigênio.

O processo de reação direta da molécula de oxigênio no estado singlete com substratos biológicos é chamado de TFD do tipo II, enquanto que as reações via estado triplete do FS com os substratos são chamadas de TFD tipo I (Figura 5). No tratamento, é difícil distinguir entre os mecanismos de reação envolvidos, já que provavelmente há uma contribuição dos dois processos, indicando que a destruição do tecido depende da quantidade de espécies ativas de oxigênio singlete geradas e da concentração do fotossensibilizador [25].

Figura 5: Mecanismos tipos I e II de geração de espécies reativas de O₂.

O rendimento quântico de geração do estado triplete em um fotossensibilizador é a probabilidade de formação deste estado excitado por cada fóton absorvido. Um alto rendimento quântico em determinado composto significa maior quantidade de moléculas energéticas que podem transferir energia a substratos biológicos ou ao oxigênio, sendo, portanto, condição essencial para sua utilização como fotossensibilizador.

Além desta importante propriedade, novos FS devem atender a um conjunto de outras características para terem eficácia terapêutica e serem considerados comercialmente viáveis:

- i) estar puro e ter reprodutibilidade sintética;
- ii) alta absortividade molar na região de 650 a 750 nm;
- iii) balanço apropriado entre caráter hidrofóbico e hidrofílico que proporcione rápida eliminação pelo organismo;
- iv) alta afinidade ao tecido doente em relação a tecidos saudáveis;
- v) baixa toxicidade na ausência de luz;
- vi) baixa agregação em solução, já que esta reduz drasticamente a capacidade do composto de gerar oxigênio singlete;
- vii) facilidade de obtenção em escala industrial a custos reduzidos;

No desenvolvimento de novos compostos fotossensibilizadores para uso em Terapia Fotodinâmica, são almejadas moléculas que agreguem o maior número de propriedades ideais para o tratamento.

Atualmente, alguns fotossensibilizadores encontram-se em fase final de testes clínicos, sendo que alguns já estão disponíveis comercialmente. A figura 6 apresenta a estrutura e o nome comercial de alguns destes [16].

<p style="text-align: center;">PHOTOFRIN® (♦) QLT Phototherapeutics – <i>Canadá</i></p> <p style="text-align: center;">PHOTOFRIN®</p>	<p style="text-align: center;"><i>m</i>-THPC - FOSCAN® (●) Scotia Pharm. – <i>Inglaterra</i></p>
<p style="text-align: center;">BPDMA – Visudyne® (♦) QLT Phototherapeutics – <i>Canadá</i></p>	<p style="text-align: center;">Lu-Tex (●) Pharmacyclics – <i>USA</i></p> <p style="text-align: center;">1: Ln = Lu(III) 2: Ln = Gd(III)</p>

Figura 6: Fotossensibilizadores comerciais (♦) ou em fase final de testes clínicos (●).

Na busca de novas drogas, o “design” e a síntese de porfirinas e compostos análogos tem recebido grande importância principalmente por dois motivos:

1º) a possibilidade de modificar suas estruturas químicas em diferentes pontos, com vários níveis de complexidade, incluindo o tamanho do anel macrocíclico, a coordenação de íons metálicos e a natureza dos substituintes periféricos, propiciando alteração na solubilidade e/ou em suas propriedades fotofísicas.

2º) A presença de bandas de absorção com alto coeficiente de extinção molar em comprimentos de onda entre 650-800 nm, que corresponde a

penetração máxima de luz nos tecidos, possibilitando a injeção de pequenas doses da droga.

A presença de substituintes hidrofóbicos e da β -ciclodextrina ligados nas posições *meso* de macrocilcos porfirínicos, torna o novo fotossensibilizador uma espécie anfifílica ainda mais promissora. Assim, o derivado porfirínico torna-se suficientemente solúvel em água, o que para permite a sua injeção *in vivo*, mantendo sua tendência a atravessar a barreira de lipídeos da membrana citoplasmática das células tumorosas e localizar-se dentro do citoplasma.

Novas porfirinas, clorinas e bacterioclorinas, ligadas a β -ciclodextrina, com comprimentos de ondas de absorção favoráveis e boa solubilidade em água são, portanto, ótimas candidatas a fotossensibilizadoras em TFD.

II – OBJETIVOS

O objetivo do trabalho é à obtenção de derivados porfirínicos e clorínicos covalentemente ligados a β -ciclodextrina para utilização destes compostos como fotossensibilizadores no tratamento de câncer através da Terapia Fotodinâmica. Os compostos foram sintetizados, purificados e caracterizados por absorção no UV-Vis e no infravermelho, ^1H e ^{19}F RMN e análise por espectroscopia de massa. Foram avaliadas também as propriedades fotofísicas e fotoquímicas dos novos compostos em solução aquosa.

III – EXPERIMENTAL

III.1 - Reagentes:

- β -ciclodextrina – Aldrich 99%
- DMSO, ácido acético, nitrobenzeno, pirrol, pentafluorobenzaldeído.

- A 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (TPFPPH₂) foi sintetizada pela reação do pentafluorobenzaldeído com pirrol, em ácido acético e nitrobenzeno, e purificada em cromatografia de coluna (rend: ~8%). Esta porfirina pode ser adquirida comercialmente da Aldrich, porém não sendo sua síntese de grande dificuldade, optamos por sintetizá-la.
- O derivado tipo clorina da TPFPPH₂ (ClorTPFPP) foi obtido através da cicloadição 1,3-dipolar *in situ* da nitrona resultante da reação de paraformaldeído com N-benzilhidroxilamina, com rendimento de 74 % [26].

III.2 – Ligação de β -ciclodextrina nos macrociclos

A ligação da porfirina e de seu derivado clorina em β -ciclodextrina foi realizada em DMSO seco, na presença de carbonato de potássio (K₂CO₃). A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 5 dias, em ausência de umidade (tubo secante). Os produtos foram purificados através de cromatografia em coluna, com Sephadex[®] LH20.

Foi obtido o derivado tetra-substituído com β -ciclodextrina da TPFPPH₂ (**1**, Figura 7) e o derivado tri-substituído da clorina (**2**, Figura 7).

Figura 7: Representação da tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (TPFPP- β CD₄, **1**) e de sua clorina (ClorTPFPP- β CD₃, **2**) ligadas à β -ciclodextrina.

III.3 – Atividade Fotodinâmica dos fotossensibilizadores

Um dos primeiros testes efetuados em novas drogas candidatas a fotossensibilizadores é investigar a sua habilidade em formar oxigênio singlete. Além de possuir um alto rendimento quântico de geração de oxigênio singlete, a droga deve ter um baixo índice de foto-degradação, que são modificações em sua estrutura (ou destruição completa) causadas por reações paralelas durante o processo, que formam produtos que não mais absorvem luz no comprimento de onda de incidência, e que diminuem a ação terapêutica da droga.

Dessa forma, as primeiras propriedades fotofísicas *in vitro* investigadas em moléculas candidatas para a TFD são:

- i) absorvidade molar na região acima de 650 nm;
- ii) rendimento quântico de estado triplete;
- iii) rendimento quântico de geração de oxigênio singlete e
- iv) rendimento da reação de foto-degradação (fotobleaching).

III.3.1 – Atividade Fotodinâmica Relativa dos fotossensibilizadores

A atividade fotodinâmica relativa dos compostos foi medida através do teste com ácido úrico [27]. O ácido úrico (Figura 8) é um composto não tóxico, encontrado a baixas concentrações no organismo (900 $\mu\text{mol/L}$) e que reage rapidamente com o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), sendo transformado em tiureto e oxanato de sódio, dentre outros.

Em uma solução contendo o ácido úrico e a nova droga candidata a fotossensibilizador, pode-se monitorar a diminuição da banda de absorção do ácido (293 nm), conseqüente de sua destruição pelo $^1\text{O}_2$ gerado pela droga após irradiação de luz. Sendo assim, o ácido úrico pode ser utilizado com um ótimo dosímetro químico para medição da atividade fotodinâmica da referida droga.

Figura 8: a) Equilíbrio entre as formas cetônica e enólica do ácido úrico e seu espectro de absorção em água; **b)** Produtos da degradação pelo $^1\text{O}_2$.

Para as medidas com os novos compostos sintetizados, foram preparadas soluções contendo ácido úrico e o fotossensibilizador em concentração aproximada de $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. As soluções foram continuamente irradiadas, numa cela de quartzo, por um Laser “Twin Laser” da MMOptics, de potência 100,0 mW, irradiância igual a $2,0 \text{ mW/cm}^2$, $\lambda = 661 \text{ nm}$, sob agitação constante a 25°C . Os espectros de absorbância foram registrados em um espectrofotômetro HP 8453 (diode array) a cada 5 segundos.

A atividade fotodinâmica dos FS foi calculada através da expressão descrita por Fischer [27]:

$$AF = \Delta A_{\text{AU}} \cdot 10^5 / I \cdot t \cdot A_{\text{FS}\lambda\text{irr.}}$$

onde: ΔA_{AU} = variação de absorbância do AU em 293nm.

$I = 2,0 \text{ mW/cm}^2$ (irradiância do laser)

t = tempo de irradiação em segundos.

$A_{\text{FS}\lambda\text{irr.}}$ = absorbância do FS no λ de irradiação (661 nm).

III.3.2 – Fotodegradação dos fotossensibilizadores

O termo foto-degradação pode ser definido como a diminuição na intensidade de absorção ou de emissão de determinado composto causado por sua destruição ou modificação após a incidência de luz [28].

O procedimento experimental utilizado para determinação do rendimento quântico de foto-degradação consiste no monitoramento das alterações no espectro de absorção UV-Vis da droga em função do tempo e da quantidade total de energia utilizada. Nestes cálculos, são levadas em consideração, a variação de absorvidade no comprimento de onda máximo de absorção, as absorções médias da droga no comprimento de onda de excitação e a energia total de radiação laser utilizada. A quantidade total de energia utilizada é calculada com base no procedimento experimental de actinometria do ferrioxalato de potássio, conforme descrito em Bunce [29].

O rendimento quântico de foto-degradação pode ser definido como o número de moléculas que sofrem foto-branqueamento pelo número de fótons absorvido pela amostra, descrito pela equação [30]:

$$\phi_{FB} = \frac{n}{I_s \cdot t \cdot (1 - 10^{-A_0})}$$

onde: - **n** é número de moles de moléculas que sofreram fotodegradação

($n = [(A_0 - A_t)/\epsilon]V$);

- **I_s** é o número de fótons por segundo emitidos pela fonte de irradiação (determinado experimentalmente por actinometria de ferrioxalato de potássio);

- **t** é o tempo da irradiação em segundos e;

- **(1-10^{-A₀})** traduz a quantidade de luz absorvida pela amostra.

As medidas de absorção foram realizadas em um espectrofotômetro, UV-Vis modelo U 3000 Hitachi, com controle de agitação e temperatura. A

fonte de irradiação utilizada foi um sistema laser Nd-YAG Continuum, modelo SURELITE I-10. Para a excitação dos compostos estudados, foram utilizados pulsos do terceiro harmônicos do laser Nd-YAG (355 nm). Para a excitação da amostra, a energia média foi da ordem de 20,0 mJ por pulso, com uma fenda no compartimento da amostra de 8,0 mm de diâmetro.

A uma distância de 10,0 cm da fenda do laser foi posicionado um suporte termo-estável para celas com agitação magnética (Hellma CUV-O-Stir). A intensidade de luz foi determinada antes e após o conjunto de pulsos, através de um “Powemeter” (Field Master da Coherent), usando uma cabeça de detecção LM-30 V posicionando 5,0 cm a partir do suporte da cela. O mesmo sistema de irradiação foi utilizado nos estudos de actinometria de ferrioxalato de potássio.

III.3.3 – Rendimento Quântico de geração de Oxigênio Singlete

O rendimento quântico de geração de oxigênio singlete é a medida direta da quantidade de espécies $^1\text{O}_2$ geradas por mol de fotossensibilizador após a incidência de luz em comprimento de onda adequado.

A medida é baseada na determinação direta da luminescência gerada pelo oxigênio singlete em 1270 nm, utilizando-se para excitação uma das harmônicas do laser Nd-YAG (355 nm), com detector de Germânio.

Para a excitação da amostra, a energia média foi de 30,0 mJ por pulso, com um pulso a cada 8 ns e fenda no compartimento da amostra de 6,0 mm de diâmetro. Um filtro de silicone é utilizado para medir unicamente a emissão do $^1\text{O}_2$ [31].

IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES

IV.1- Síntese da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (TPFPPH₂) substituída com β-ciclodextrina.

Em 3,0 mL de DMSO seco foram adicionados 25,0 mg de TPFPPH₂, 466,0 mg de β-ciclodextrina (excesso de 16 vezes) e 90,0 mg de K₂CO₃. A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 5 dias, em ausência de umidade (tubo secante). O excesso de ciclodextrina foi utilizado para a obtenção preferencial do derivado tetra-substituído. Os produtos e o excesso de reagentes foram precipitados pela adição de acetona ao meio reacional. O sólido foi então dissolvido em água e colocado em uma manga de diálise (2000 Da) por 48 h para retirar o excesso de K₂CO₃ e de ciclodextrina presentes. A purificação final dos produtos formados foi realizada através de cromatografia em coluna, com Sephadex[®] LH-20 e solução água:metanol (4:1) como eluente. O derivado tetra-substituído (**1**, Figura 7) foi obtido com rendimento de 73%, com pequena formação de outros derivados (<10%).

Análises: ¹H RMN em DMSO-d₆ δ (ppm): 3,32 (m, 56H, H_{2,4-βCD}); 3,61 (m, 112H, H_{3,5,6-βCD}); 4,41 (t, 24H, OH_{6-βCD}); 4,66 (d, 28H, H_{1-βCD}); 5,66 (dd, 56H, OH_{2,3-βCD}); -3,18 (s, 2H, NH); 9,23 (s, 8H, H-β): ¹⁹F RMN em DMSO-d₆ δ (ppm): -165 (s, 8F, F_{orto-Ø}); -179 (s, 8F, F_{meta-Ø}); ¹³C RMN em DMSO-d₆ δ (ppm): 36,42; 57,94; 63,30; 69,91; 70,08, 71,02; 79,24; 99,9; 160,23; análise por espectrometria de massa TOF LD = 5.430Da (C₂₁₂H₂₈₆O₁₄₀N₄F₁₆).

O espectro de ¹⁹F RMN do composto sintetizado apresenta dois picos bem definidos, em δ -165 e -179 ppm, referentes aos átomos de flúor nas posições *orto* e *meta*, indicando a substituição na posição *para* do anel benzênico da porfirina, sem degradação em nenhuma outra posição. O espectro de ¹H RMN apresenta os sinais relativos aos hidrogênios da β-ciclodextrina (δ3,32 - 5,66 ppm) e dos hidrogênios da porfirina (δ9,23 e 3,18

ppm), cuja relação das integrais confirma a presença de 4 moléculas de β -ciclodextrina ligadas ao macrociclo (**1**, Figura 7).

IV.2 – Síntese da clorina da TPFPPH₂ substituída com β -ciclodextrina

O derivado tipo clorina da TPFPPH₂ (ClorTPFPP) foi obtido através da cicloadição 1,3-dipolar da nitrona resultante da reação de paraformaldeído com N-benzilhidroxilamina, com rendimento de 74% [26]. Em 3,0 mL de DMSO seco foram adicionados 25,0 mg da clorina sintetizada e excesso de β -ciclodextrina e de K₂CO₃. O procedimento de purificação foi o mesmo adotado para a porfirina. Foi verificada a formação dos derivados tri-substituídos como sendo os produtos majoritários, 42% (**2**, Figura 7).

Análises: ¹H RMN em DMSO-d₆ δ (ppm): 3,43 (m, 42H, H_{2,4- β CD}); 3,63 (m, 84H, H_{3,5,6- β CD}); 4,51 (t, 18H, OH_{6- β CD}); 4,83 (d, 21H, H_{1- β CD}); 5,70 (dd, 42H, OH_{2,3- β CD}); -2,08 (s, 2H, NH); 3,50 (m, 4H, CH₂-C₆H₅); 5,50 (m, 1H, H₃); 6,70 (m, 6H, H₂ e -C₆H₅); 8,75 (m, 6H, H- β): ¹⁹F RMN em DMSO δ (ppm): -161 a -164 (m, 8F, F_{orto- $\emptyset$}); -175 (dd, 1F, F_{para- $\emptyset$}); -177 a -179 (m, 8F, F_{meta- $\emptyset$}); ¹³C RMN em D₂O δ (ppm): 30,31; 39,04; 59,53; 60,82; 71,65; 72,01; 72,66; 76,36; 81,14; 101,56; 206,35; TOF LD= 4412 Da (C₁₇₈H₂₁₇O₁₀₅N₄F₁₇), UV _{λ max} = 412 nm (ϵ = 4,6.10⁴ L.Mol⁻¹.cm⁻¹).

Na reação entre a ClorTPFPP e a β -ciclodextrina foi observada a formação preferencial do derivado tri-substituído, o que pode ser atribuído a um impedimento estérico causado pela presença do grupo N-benzilhidroxilamina em um dos anéis pirrólicos, dificultando a entrada de duas β -CD adjacentes a este. A formação do composto foi confirmada pela integral dos sinais no espectro de ¹H RMN e pela análise de massa. Não foi possível separar através de cromatografia os dois isômeros formados pela ligação da ciclodextrina em um ou outro grupo pentafluorofenil adjacente ao anel pirrólico reduzido após a formação da clorina (**2**, Figura 7).

O espectro de ^1H e ^{19}F RMN indica a formação de ambos os isômeros. Como produto final observou-se também a formação de pequena quantidade do derivado tetra-substituído da porfirina TPFPPH₂. A porfirina é provavelmente gerada no meio reacional pela oxidação da clorina, e reage então com a β -CD presente.

IV.3 – Caracterização Espectroscópica

O espectro de UV-Vis da TPFPPH₂ ligada a β -CD em solução aquosa apresenta banda mais intensa em 414 nm, além de outras menos intensas em 514 e 586 nm, características de derivados porfirínicos (Figura 9).

O composto apresenta duas bandas largas de excitação, na região de 420 nm e 510 nm, com intensidade relativa entre ambas diferente das observadas na porfirina de partida. O espectro de emissão apresenta duas bandas de intensidade semelhante em 650 nm e 715 nm [32].

Figura 9: Espectro no UV-VIS de absorção (—), de excitação (—) e emissão (—) da TPFPP- β CD₄ (**1**, Figura 6) em solução aquosa.

O derivado clorina tri-substituído apresentou espectro no UV-Vis (Figura 10) em solução aquosa típico de clorinas, com banda em 645 nm

($\varepsilon = 4,18 \cdot 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) mais intensa que as bandas em 510 nm e 590 nm, mas menos intensa que a Soret em 412 nm.

O espectro de excitação é semelhante ao da porfirina tetra-substituída, com duas bandas largas na região de 420 nm e 500 nm, relativas às bandas de absorção do composto nesta região. O espectro de emissão, porém, apresentou a banda em 650 nm bem mais intensa que a banda em 710 nm.

Figura 10: Espectro no UV-VIS de absorção (—), de excitação (—) e emissão (—) da ClorTPFPP- β CD₃ (**2**, Figura 6) em solução aquosa.

A tetrakis(pentafluorofenil)porfirina ligada a β -ciclodextrina apresentou uma pequena absorção na região de 650 a 750 nm, não sendo portanto um bom composto para uso TFD. O derivado clorina tri-substituído obtido apresenta uma banda de absorção que apesar de estar numa região propícia para uso em TFD (650 nm), apresenta um coeficiente de absortividade molar ($\varepsilon = 4,18 \cdot 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) abaixo do ideal. Este fato impõe a necessidade da utilização de uma maior quantidade do fotossensibilizador no tratamento, o que torna mais lenta a eliminação da droga pelo organismo e aumenta a toxicidade, além de tornar mais caro o procedimento.

IV.4 – Atividade Fotodinâmica

A atividade fotodinâmica relativa dos compostos (AF), medida através do teste com ácido úrico, oferece um parâmetro da geração de oxigênio singlete do novo fotossensibilizador (FS) em relação às drogas já conhecidas e empregadas em tratamentos. Neste método, as soluções contendo o ácido úrico e o FS são continuamente irradiadas com laser numa cela de quartzo, medindo-se a absorção da solução à medida que o ácido é destruído pelo oxigênio singlete formado. A Figura 11 apresenta os espectros obtidos da solução da clorina ligada a β -ciclodextrina em água e em DMSO (1,0 mg/10 mL), após cada 10 s de irradiação, na presença de ácido úrico.

Figura 11: Degradação do ácido úrico na presença da ClorTPFPP- β CD₃ em solução aquosa (a) e em DMSO (b).

A atividade fotodinâmica calculada para a clorina- β CD₃ foi de $102,0 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ em solução aquosa e $64,0 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ em DMSO, com decomposição de aproximadamente 32% e 16% do ácido úrico nas soluções após 150 segundos de irradiação (661 nm, 100 mW). Para a clorina precursora, sem substituintes β -ciclodextrina (insolúvel em água), o valor

obtido em DMSO foi de $77,1 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Foi observada uma degradação muito pequena da droga em solução aquosa após a incidência de irradiação. Em DMSO, porém, constata-se uma grande degradação - e o desaparecimento da banda de absorção em 650 nm - tanto para a clorina precursora como para o derivado tri-substituído sintetizado.

Pode-se observar um maior valor de atividade fotodinâmica relativa da clorina em solução aquosa do que quando dissolvida em DMSO. Este valor também é maior que o da clorina precursora, o que evidencia um melhor ajuste dos estados eletrônicos do macrociclo para geração de $^1\text{O}_2$ após a entrada da β -ciclodextrina. Pode-se constatar também uma maior estabilidade do macrociclo em solução aquosa, já que em DMSO os compostos são facilmente transformados na porfirina de partida pela ação do laser. Provavelmente, em meio aquoso o tempo de vida do oxigênio singlete é menor, o que favorece a degradação do ácido úrico e não da clorina, diferentemente do que acontece em DMSO.

Para a porfirina ligada a β -ciclodextrina, a atividade fotodinâmica relativa em solução aquosa foi $28,0 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, com degradação de 14% do ácido após 150s de irradiação. Este baixo valor para a porfirina se deve a fraca absorção do composto no comprimento de onda de irradiação utilizado.

Os resultados obtidos para a clorina mostram-se bons quando comparados aos resultados de compostos já utilizados comercialmente no tratamento do câncer, como para a Photofrin[®], e os de compostos em fase final de testes, como o FOSCAN[®].

A Photofrin[®] apresenta AF relativa ao ácido úrico igual a $24,0 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ e decompõe 7,5% do ácido úrico presente na solução após 300 segundos [27]. A tetrakis(3-hidroxifenil)clorina (m-THPC – FOSCAN[®]) apresenta atividade igual a $45,0 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ em DMSO, degradando 17% do ácido úrico presente na solução. O valor da atividade fotodinâmica relativa, porém, não pode ser utilizado como indicação única de melhor agente sensibilizador, já

que o laser utilizado não tem comprimento de onda igual às bandas de absorção dos compostos, diminuindo assim a eficiência da geração de oxigênio singlete.

Um outro parâmetro de avaliação de novas drogas é a determinação do seu rendimento quântico de fotodegradação, que pode ser interpretada como a medida da porcentagem de degradação do fotossensibilizador durante o processo de absorção de luz e geração de oxigênio singlete. O procedimento experimental utilizado para essa determinação consiste no monitoramento das alterações no espectro de absorção UV-Vis da droga em função do tempo e da quantidade total de energia utilizada. A quantidade total de energia utilizada é calculada com base no procedimento experimental de actinometria do ferrioxalato de potássio [29].

Para a excitação dos compostos estudados, foram utilizados pulsos do terceiro harmônico do laser Nd-YAG (355 nm), com energia média de 20 mJ por pulso. O gráfico da Figura 12 apresenta a variação da absorção da solução aquosa da clorina- β CD₃, ocasionada pela degradação do composto após a incidência da radiação.

Figura 12: Espectros de absorção da clorina- β CD₃ em solução aquosa após irradiação com laser (355 nm, 20 mJ/pulso, 10 pulsos/seg).

O rendimento quântico de fotodegradação (ϕ_{Fd}) em solução aquosa apresentado pela clorina tri-substituída foi de $1,1 \cdot 10^{-4}$, sendo observado uma degradação de 5,1% da droga após 200 segundos. A Photofrin[®] e o FOSCAN[®] apresentam valores de ϕ_{Fd} iguais a $5,4 \cdot 10^{-5}$ e $1,54 \cdot 10^{-5}$, respectivamente [28, 33]. Baixos valores de foto-degradação estão associados a uma baixa agregação da droga em solução, característica esta desejável a um fotossensibilizador, já que uma maior agregação reduz a atividade fotofísica da molécula.

Não é possível afirmar apenas com a degradação da droga que esta será ou não um bom agente fotossensibilizador. O rendimento quântico de foto-degradação deve ser interpretado em conjunto com os dados de agregação, toxicidade e velocidade de eliminação da droga pelo organismo. Em fotossensibilizadores com grande tempo de retenção nas células, uma rápida e maior degradação é necessária para sejam eliminados antes de causarem danos aos tecidos sadios. Essa degradação, porém, não deve ser tão rápida a ponto de diminuir a eficiência da geração do oxigênio singlete. Pelo contrário, em fotossensibilizadores com baixo tempo de retenção no organismo, uma grande porcentagem degradação não é estritamente necessária.

Uma medida direta da eficiência de um novo fotossensibilizador é a medida da geração de oxigênio singlete (ϕ_{Δ}) desta nova droga, que deve ser feita preferencialmente no meio em que vai ser empregada. A medida é baseada na determinação direta por luminescência do oxigênio singlete em 1270 nm, utilizando-se para excitação uma das harmônicas do laser Nd-YAG, com detector de Germânio substituindo a fotomultiplicadora.

A clorina tri-substituída apresentou, em D₂O, um rendimento quântico de geração de oxigênio singlete igual a 0,11. Este valor é bastante baixo quando comparado ao rendimento de outras formulações, como o FOSCAN[®], que apresenta ϕ_{Δ} igual a 0,48 em metanol.

Para a TPFPP- β CD₄ o rendimento quântico de geração de $^1\text{O}_2$ foi igual a 0,085, enquanto que para sua precursora, a TPFPPH₂ em clorofórmio, o valor é igual a 0,80 [34].

Os baixos rendimentos quânticos de geração de oxigênio singlete das drogas ligadas a β -ciclodextrina pode ser atribuído à estrutura dos novos compostos e ao meio de dissolução destes, que favorecem as perdas vibracionais e diminuem a transferência da energia ao oxigênio.

V – CONCLUSÕES

Sintetizou-se e caracterizou-se a TPFPPH₂ - e seu derivado clorina - substituída nas posições *para* do anel aromático por β -ciclodextrina, obtendo-se novos derivados com bandas de absorção, excitação e emissão características de sistemas porfirínicos em solução aquosa. A presença da β -ciclodextrina propicia uma maior solubilidade ao derivado em solução aquosa, além de possivelmente alterar a toxicidade e seletividade às células cancerígenas do macrocíclico porfirínico.

Os resultados demonstram que os novos fotossensibilizadores são promissores candidatos para utilização no tratamento do câncer através da Terapia Fotodinâmica.

VI – REFERÊNCIAS

- [1]. K. M. Smith; *“Porphyrins and Metalloporphyrins”*, Elsevier Scientific Publication: Amsterdam, **1975**, cap. 1, p. 9.
- [2]. Milgron, L. R., *“The Colours of Life”*, Oxford University Press, New York, **1997**, cap. 3, p. 65.
- [3]. Bonnett, R.; em *“The Porphyrins”*, Dolphin, D. (Ed), Academic Press, New York, **1978**, vol 1, cap. 1, p. 2.

- [4]. Lindsey, J. S.; em “*The Porphyrin Handbook*”, K. M. Kadish, K. M. Smith e R. Guillard (Editores), Academic Press, New York, **2000**, vol. 1, cap.2, pg 58.
- [5]. IUPAC - IUB (International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry): Nomenclature of Tetrapyrroles; G.B. Moss, *Pure App. Chem.*, vol. 59, **1987**, p. 779.
- [6]. Moss, G. P.; *Eur. J. Biochem.* **1998**, 178, 277.
- [7]. Rothmund, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, 58, 625.
- [8]. Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J.D., *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 476.
- [9]. Lindsey, J.S.; Schreiman, I.C.; HSU, H.C.; Kearney, P.C.; Margueretz, A.M., *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 827.
- [10]. Li, Z.; Xia, C. G.; *Prog. Chem.* **2002**, 14, 384.
- [11]. Chen, Y. H.; Li, G. L.; Pandey, R. K.; *Cur. Org. Chem.* **2004**, 8, 1105.
- [12]. Nyman, E. S.; Hynninen, P. H.; *J. Photochem. Photobio. B: Biology* **2004**, 73, 1.
- [13]. Milanesi C.; Biolo R.; Reddi E.; Jori G.; *Photochem. Photobiol.* **1987**, 46, 675.
- [14]. Bonnett, R.; *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 24, 19.
- [15]. a) Aksenova, A. A.; Sebyakin, Y. L.; Mironov, A. F.; *Russian J. Bioorg. Chem.* **2003**, 29, 201; b) Sol, V.; Blais, J. C.; Carré, V.; Granet, R.; Guilloton, M.; Spiro, M.; Krausz, P.; *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 4431.
- [16]. Ferreira, A.B.H.; *Novo Dicionário Aurélio*, 1a ed., Ed. Nova Fronteira S.A.: Rio de Janeiro, **1975**.
- [17]. Simplício, F. I.; Maionchi, F.; Noboru, H.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 801.
- [18]. Von Tappeiner, H.; *Muench. Med. Wochenschr.* **1903**, 47, 2024.
- [19]. Sternberg, E.D.; Dolphin, D.; Brückner, C.; *Tetrahedron* **1998**, 54, 4151.
- [20]. Bonnett, R.; *Rev. Contemp. Pharmacother.* **1999**, 10, 1.
- [21]. Dougherty, T.J.; Mang, T.S.; *Photochem. Photobiol.* **1987**, 46, 67.
- [22]. Weishaupt, K. R.; Gomer, C. J.; Dougherty, T. J.; *Cancer Res.* **1976**, 36, 2326.

- [23]. DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J.; *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 233, 351.
- [24]. Pandey, R. K., Zheng, G.; em *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith e R. Guillard (Editores), Academic Press, New York, **2000**, vol. 6, cap 43, pg 58.
- [25]. Bonnett, R.; *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*, Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, vol. 1, **2000**, cap. 4, p. 57.
- [26]. Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Perrone, D.; Dondoni, A.; *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 603.
- [27]. Fischer, F.; Grashew, G.; Sinn, H. J.; Maier-Bort, W.; Lorenz, W. J.; Schlag, P. M.; *Clin. Chim. Acta* **1998**, 274, 89.
- [28]. Bonnett, R.; Martinez, G.; *Tetrahedron* **2001**, 57, 9513.
- [29]. Bunce, N. J.; *Actinometry In: Handbook of Organic Photochemistry*, Ed. R. Scaiano 9, 1990, p 241.
- [30]. Sibata, M.N.; Tedesco, A.C.; Marchetti, J.M.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2004**, 23, 131.
- [31]. A.C. Tedesco, J.C.R. Rotta, C.N. Lunardi, *Current Org. Chem.* **2003**, 7, 187.
- [32]. Ribeiro, A. O., Serra, O. A., Iamamoto, Y., Cavaleiro, J. A. S., *Livro de Resumos do XIX Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química*, Coimbra - Pt, **2004**, p 344.
- [33]. Hadjur, C.; Lange, N.; Rebstein, J.; Monnier, P.; Bergh, H.; Wagnières, G.; *J. Photochem. Photobio.* **1998**, 45, 170.
- [34]. Cavaleiro, J. A. S.; Gerner, H.; Lacerda, P. S. S.; MacDonald, J. G.; Mark, G.; Neves, M. G. P.; Nohr, R. S.; Schuchmann, H. P.; Sonntag, C.; Tomé, A. C.; *J. Photochem. Photobio. A: Chem.* **2001**, 144, 131.