

3.4. Efeitos da interação de TPPS₄ e TMPyP com micelas e células ghost nas características do estado tripleto das porfirinas.

3.4.1. Interação de TPPS₄ com CTAB e de TMPyP com SDS na ausência e na presença de NaCl.

Dando continuidade ao estudo das interações das porfirinas TPPS₄ e TMPyP com micelas e células ghost, tendo em vista a importância destes sistemas no processo de agregação/desagregação das porfirinas, estudamos os efeitos desta interação sobre as características do estado tripleto da TPPS₄ e TMPyP na presença de CTAB, SDS e frações de membrana, na ausência e na presença de NaCl.

Como visto anteriormente, a adição de NaCl na solução aquosa de TPPS₄ em pH 4.0 induz a formação de agregados J. Como consequência desta agregação, a absorção do estado tripleto de TPPS₄ na presença de NaCl é reduzida (Figura 3.68).

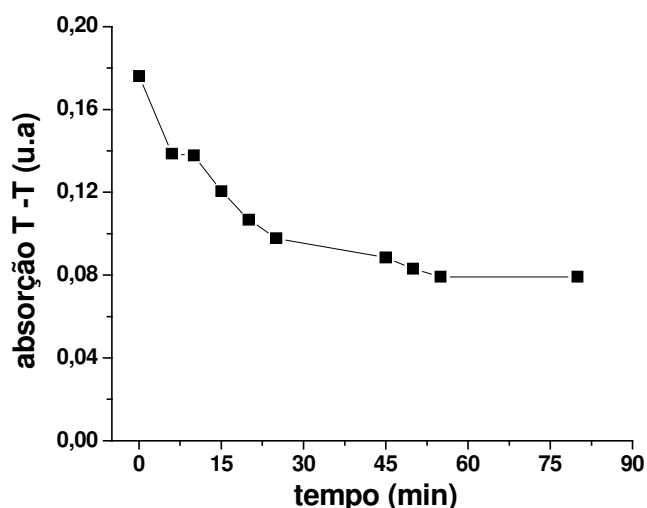


Figura 3.68) Mudanças na absorção T-T em 470 nm de [TPPS₄] = 28 μM em pH 4.0 na presença de [NaCl] = 0.1 M em função do tempo na ausência de oxigênio.

As características temporais deste processo estão de acordo com a dinâmica de formação dos agregados obtida por absorção óptica apresentada na seção 3.1.1.

Em todos os casos analisados neste trabalho, a cinética de decaimento do estado tripleto é monoexponencial

$$[T] = [T_0] e^{-t/\tau} \quad (3.19)$$

em que τ é o tempo de vida do estado tripleto.

Além de reduzir a intensidade de absorção T-T na ausência de oxigênio, a presença de NaCl leva à redução do tempo de vida do estado tripleto de 54 μs (na ausência de oxigênio e NaCl) para 7 μs na presença de NaCl.

Por outro lado, a adição de CTAB nesta solução após a completa agregação da porfirina pelo sal, numa razão $2:1 < [\text{CTAB}]/[\text{TPPS}_4] < 10:1$, reduz ainda mais a absorção T-T da porfirina (Figura 3.75). Nós atribuímos esse fato à substituição dos agregados J pela formação de um novo tipo de agregado, o qual definimos como agregados H. A estequiometria de formação do conteúdo máximo dos agregados H observada nestes experimentos, $[\text{CTAB}]/[\text{TPPS}_4] = 4.5:1$ está em boa concordância com os resultados de absorção ótica e fluorescência, apresentados anteriormente. Um posterior aumento no conteúdo de CTAB estimula a total desagregação da porfirina e conseqüentemente aumenta a absorção T-T (Figura 3.69). No final do processo a porfirina encontra-se na forma monomérica desprotonada e ligada à micela.

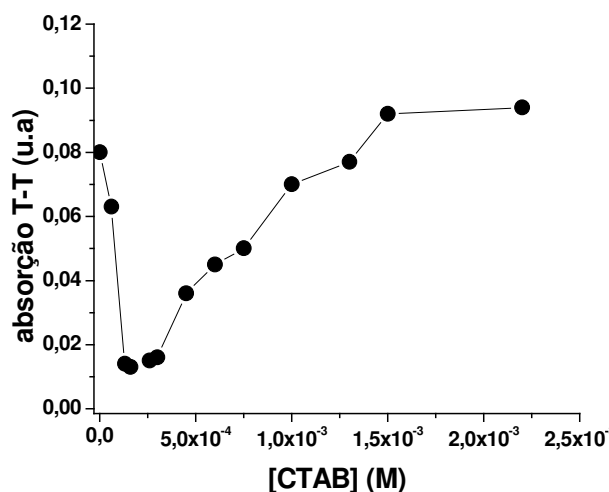


Figura 3.69) Mudanças na absorção T-T de $[\text{TPPS}_4] = 28 \mu\text{M}$ em pH 4.0 na presença de $[\text{NaCl}] = 0.1 \text{ M}$ em função da concentração de CTAB na ausência de oxigênio.

O tempo de vida do estado tripleto (τ_T) desta forma da TPPS_4 , numa alta concentração de CTAB, na ausência de oxigênio é de 350 μs , tanto na ausência como na presença de NaCl. Este tempo é característico para a forma desprotonada da TPPS_4 .

Entretanto, em pH 4.0 na presença de O₂ e na ausência de NaCl, a porfirina monomérica ligada possui o tempo de vida do tripleto $\tau_T = 3.6 \mu\text{s}$, que é superior àquele encontrado na ausência do tensoativo, $\tau_T = 2.1 \mu\text{s}$, conforme mostra a Figura 3.70.

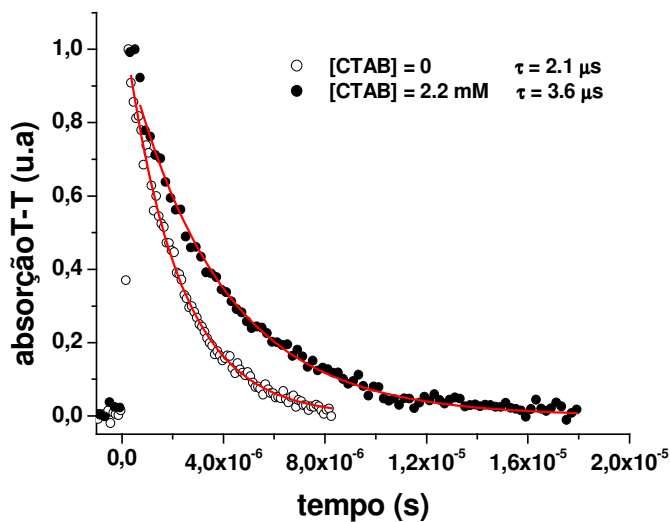


Figura 3.70) Perfil de decaimento do estado tripleto de $[\text{TPPS}_4] = 28 \mu\text{M}$ pH 4.0 na ausência e na presença $[\text{CTAB}] = 2.2 \text{ mM}$.

Isso significa que a ligação da molécula de porfirina com o tensoativo reduz a probabilidade de supressão do seu estado tripleto pelo O₂ (a ligação diminui a probabilidade de contato entre eles). Quantitativamente este efeito pode ser determinado pela equação

$$k_1 = k_0 + k_{q1}[Q] \quad (3.20)$$

em que k_{q1} é a constante bimolecular de supressão, $[Q]$ é a concentração do supressor, k_1 é a constante de decaimento do tripleto na presença do supressor ($k_1 = 1/\tau_{T1}$) e k_0 é a constante de decaimento do tripleto na ausência do supressor ($k_0 = 1/\tau_{T0}$). Determinamos, então, as constantes de supressão do tripleto das porfirinas pelo supressor calculando a constante bimolecular da supressão do tripleto pelo supressor (O₂, neste caso).

Sabendo que em soluções saturadas e à pressão atmosférica, a concentração de oxigênio molecular $[\text{O}_2] = 0.26 \text{ mM}$, obtivemos $k_q = 1.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Na Tabela 3.8 são

apresentados os tempos de vida do estado tripleto na presença e na ausência de O₂ e as constantes k_q do estado tripleto da TPPS₄ e TMPyP pelo O₂ e NaCl.

Tabela 3.8: Tempos de vida do estado tripleto da porfirina TPPS₄ e TMPyP na sua interação com micelas e constantes de supressão pelo oxigênio molecular e NaCl.

[TPPS ₄] pH	NaCl (M)	CTAB (mM)	τ_T (μ s) com O ₂	τ_T (μ s) sem O ₂	k_{qO_2} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{qNaCl} (M ⁻¹ s ⁻¹)
4.0	0	0	2.0	54	1.8×10^9	---
4.0	0.4	0	1.6	7.0	1.8×10^9	1.2×10^6
4.0	0	2	3.6	350	9.0×10^8	---
4.0	0.4	2	6.3	350	6.0×10^8	$<10^4$
7.0	0	0	2.1	360	1.7×10^9	---
7.0	0.4	0	2.1	254	1.8×10^9	1.16×10^6
7.0	0	2	1.9	200	2.0×10^9	---
7.0	0.4	2	4.9	414	7.8×10^8	---
[TMPyP] pH	NaCl (M)	SDS (mM)	τ_T (μ s) com O ₂	τ_T (μ s) sem O ₂	k_{qO_2} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{qNaCl} (M ⁻¹ s ⁻¹)
5.8	0	0	2.3	75	1.7×10^9	---
5.8	0.4	0	2.2	117	1.7×10^9	---
5.8	0	7	1.5	280	2.5×10^9	---
5.8	0.4 M	7	5.2	320	7.2×10^8	$<10^4$

Pode-se observar que na ausência de tensoativos, NaCl suprime o tripleto da TPPS₄ com uma constante de $1.2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Associamos essa supressão, em pH 4.0 e 7.0, à formação da nuvem de contra-íons ao redor das moléculas de TPPS₄. Na presença das micelas de CTAB a supressão não é observada. Isso significa que a ligação com as micelas protege a TPPS₄ do contato com os íons Na⁺, provavelmente devido à repulsão eletrostática entre Na⁺ e a micela, que também possui carga positiva e destrói as nuvens de contra-íons. Não observamos a supressão do tripleto da TMPyP pelo sal, tanto na presença como na ausência de SDS.

Em solução homogênea o O₂ suprime os tripletos da TPPS₄ e TMPyP com a mesma constante $k_q = 1.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, independente do pH e da presença de NaCl. Entretanto, como mostrado anteriormente, na presença das micelas de CTAB em pH 4.0 k_q da TPPS₄ diminui 2 vezes. O efeito é mais pronunciado na presença de NaCl, quando k_q é reduzido em 3 vezes (até $k_q = 6.0 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Em pH 7.0 o efeito da proteção pelas micelas de

CTAB na ausência de NaCl não foi observado. O mesmo ocorre com TMPyP e SDS. Entretanto, na presença de NaCl e micelas em ambos os casos k_q é reduzido: 2.5 vezes para TPPS₄ + CTAB + NaCl e 2.3 vezes para TMPyP + SDS + NaCl.

Estes resultados estão em concordância com a nossa sugestão de que a presença de NaCl aumenta a afinidade de porfirinas com micelas e facilita a penetração das porfirinas dentro das micelas, o que as protege do contato com o O₂.

3.4.2. Interação de TPPS₄ e TMPyP com células ghost na ausência e na presença de NaCl.

Efeitos similares àqueles observados na interação das porfirinas com as micelas foram obtidos na interação entre TPPS₄ e TMPyP e células ghost de eritrócitos. A Figura 3.71 mostra o perfil de decaimento do estado tripleto de TMPyP na presença de células ghost na ausência e na presença de NaCl.

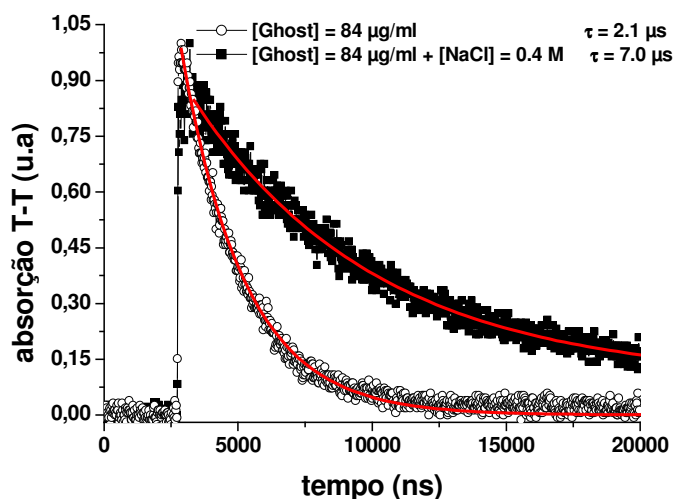


Figura 3.71) Perfil de decaimento do estado tripleto, na presença de O₂, de [TMPyP] = 22 µM na presença de [Ghost] = 84 µg/ml e na presença de Ghost + [NaCl] = 0.4 M.

A Tabela 3.9 mostra os tempos de vida τ_T e as constantes de supressão obtidos para TPPS₄ e TMPyP em na presença e na ausência de NaCl na solução.

Tabela 3.9 Tempos de vida do estado excitado tripleto das porfirinas TPPS₄ e TMPyP na sua interação com células ghost e constantes de supressão pelo oxigênio molecular.

Porfirina	pH	NaCl (M)	Ghost (µg/ml)	τ_T (µs) com O ₂	τ_T (µs) sem O ₂	k_{qO_2} (M ⁻¹ s ⁻¹)
TPPS ₄	4.0	0	84	2.2	350	1.7 x 10 ⁹
	4.0	0.4	84	2.5	350	1.5 x 10 ⁹
	6.85	0	84	2.1	270	1.8 x 10 ⁹
	6.85	0.4	84	12	270	3.0 x 10 ⁸
TMPyP	6.85	0	84	2.1	90	1.8 x 10 ⁹
	6.85	0.4	84	7.0	190	5.5 x 10 ⁸

Podemos observar que para TMPyP e TPPS₄ em pH 6.85 a presença de NaCl aumenta o tempo de vida do estado tripleto das porfirinas na sua interação com as células ghost (~4.5 vezes para TMPyP e 6 vezes para TPPS₄). Estes resultados concordam com as sugestões baseadas nos estudos de fluorescência em que NaCl facilita a penetração das porfirinas dentro da membrana e assim dificulta seu contato com O₂.

Discussão:

Baseados nos dados obtidos acima e comparando-os com os estudos de absorção, fluorescência e espalhamento da luz, nós podemos concluir que a formação de agregados da TPPS₄ na sua forma protonada na presença de NaCl, reduz a intensidade de absorção do seu estado tripleto.

A presença das micelas e células ghost na solução aumenta o tempo de vida do estado tripleto das porfirinas TPPS₄ e TMPyP. As constantes de supressão mostram que a supressão do tripleto das porfirinas pelo oxigênio molecular é reduzida quando NaCl está presente na solução juntamente com as micelas ou com células ghost.

Nos atribuímos esta redução na supressão do tripleto a uma modificação na estrutura da micela ou membrana provocada pela presença de NaCl, atuando de modo a facilitar a entrada da porfirina num ambiente mais apolar. Isto impediria o contato entre as moléculas de porfirina e o oxigênio molecular, diminuindo assim a supressão das moléculas de porfirina no estado tripleto.

3.5 Determinação da intensidade e do tempo de vida do oxigênio singlete (1O_2) produzido pela porfirina TPPS₄ em função das condições externas: pH, força iônica, presença de micelas e células ghost de eritrócitos.

Em pH 4.0 após a completa agregação da porfirina induzida pela presença de NaCl, foi adicionado na solução o tensoativo CTAB (Figura 3.72). Inicialmente, em baixas concentrações de CTAB, nós observamos uma diminuição ainda maior na intensidade de emissão do oxigênio singlete que atinge um valor nulo na razão $2:1 < [CTAB]/[TPPS_4] \leq 4:1$. Um posterior aumento na concentração de CTAB faz com que a intensidade de emissão aumente, atingindo o máximo na razão $[CTAB]/[TPPS_4] = 7:1$. A intensidade permanece constante a um posterior aumento na concentração de CTAB.

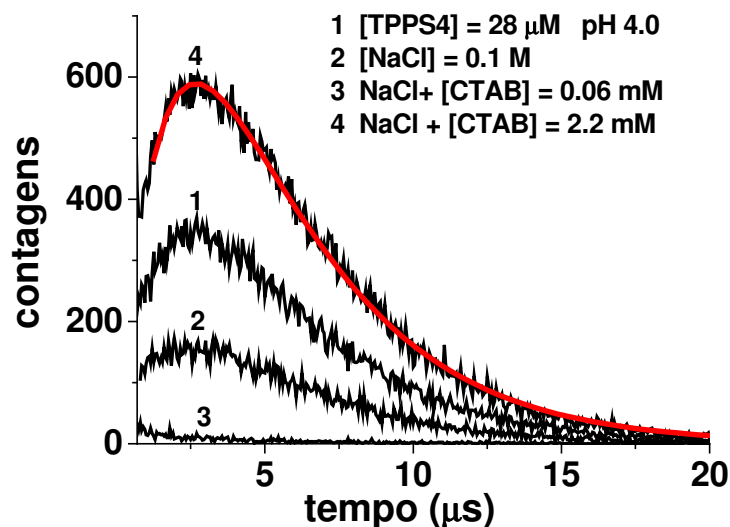


Figura 3.72) Perfil de decaimento da fosforescência do oxigênio singlete em solução de [TPPS₄] = 28 μM em pH 4.0 na presença de NaCl em função da concentração de CTAB.

As mudanças na intensidade de fosforescência do 1O_2 ocorreram de modo similar aos resultados obtidos com o estado tripleto (Figura 3.73).

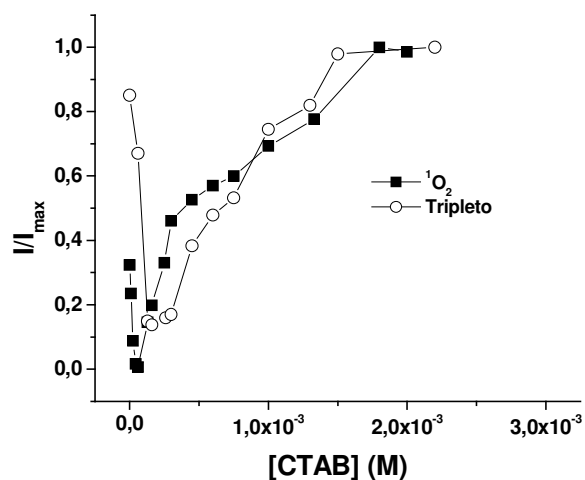


Figura 3.73) Mudanças na intensidade da absorção T-T da [TPPS₄] = 28 μM em pH 4.0 e da fosforescência do oxigênio singleto na presença de [NaCl] = 0.1 M em função da concentração de CTAB.

Atribuímos estas mudanças na intensidade de emissão de oxigênio singleto à desagregação da porfirina acompanhada pela sua desprotonação devido à ligação com as micelas de CTAB e pelo aumento, devido a este fato, da produção de estados tripletos. Podemos observar que a intensidade de emissão do oxigênio singleto após a desagregação da porfirina induzida pelo CTAB, é aproximadamente duas vezes maior que aquela da porfirina livre, conforme mostra a Tabela 3.10.

Tabela 3.10 Mudanças nas intensidades de absorção T-T e de produção de oxigênio singleto na ausência e na presença de NaCl em função da concentração de CTAB.

[NaCl] M	[CTAB] mM	Intensidade T-T	Intensidade 1O_2
0	0	0.18	327
0.1	0	0.08	169
0.1	0.06	0.01	10
0.1	2	0.094	602

Este fato indica que a ligação da porfirina desprotonada com a micela aumenta a produção de oxigênio singleto, devido ao aumento do rendimento quântico do tripleto de $\phi_T = 0.36$ para forma biprotonada até 0.75 para a forma desprotonada.

A Figura 3.74 mostra como varia o perfil de decaimento do oxigênio singleto para TPPS₄ em pH 4.0 na presença de CTAB, na ausência de NaCl.

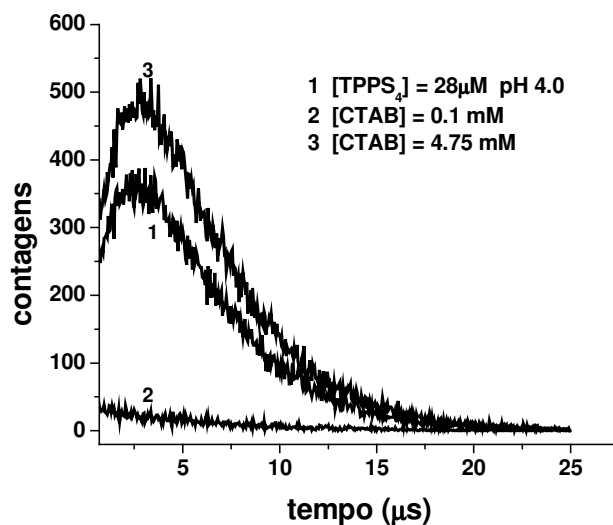


Figura 3.74) Cinética de decaimento da fosforescência do oxigênio singleto em solução de [TPPS₄] = 28 μM em pH 4.0 em função da concentração de CTAB.

Inicialmente nós observamos uma redução na intensidade de emissão do oxigênio singleto de modo similar à encontrada na presença do sal (Figura 3.72), provocada pela formação dos agregados da porfirina. Entretanto, na ausência do sal, o conteúdo máximo de formação da porfirina desagregada ligada às micelas de CTAB ocorre numa razão [CTAB]/[TPPS₄] ≅ 17:1, que é aproximadamente 2.5 vezes maior que na presença de NaCl (Figura 3.75).

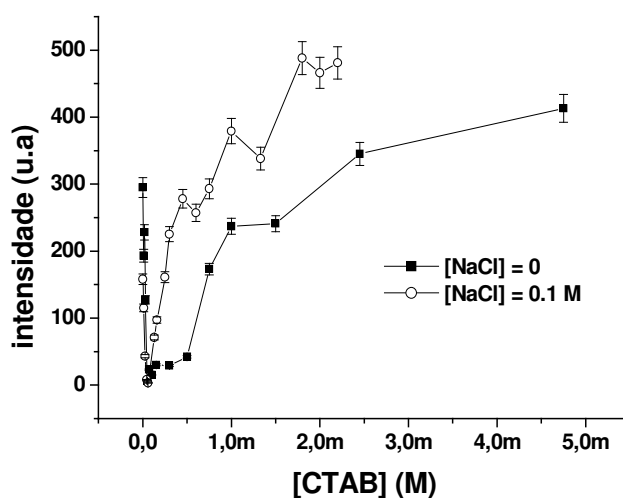


Figura 3.75) Mudanças na intensidade da fosforescência do oxigênio singleto na ausência e na presença de [NaCl] = 0.1 M em função da concentração de CTAB, em pH 4.0.

Em pH 7.0 a adição de CTAB em pequenas quantidades na solução leva a uma redução na intensidade de emissão do oxigênio singleto que atinge seu mínimo na razão $[CTAB]/[TPPS_4] = 4:1$. Relacionamos essa mudança à formação de agregados H da porfirina $TPPS_4$ ligados às micelas de CTAB. A razão tensoativo/porfirina obtida para o conteúdo máximo desta espécie coincide com aquela encontrada nos experimentos de absorção ótica.

Em seguida, a um posterior aumento no conteúdo de CTAB observamos o aumento na intensidade de emissão do 1O_2 em função da concentração de CTAB. O máximo de emissão é atingido na razão $[CTAB]/[TPPS_4] = 7:1$. Nós atribuímos este aumento na intensidade de emissão à desagregação da porfirina numa alta concentração do tensoativo. Novamente, estes dados estão em boa concordância com o resultados dos experimentos de absorção ótica. Os mesmos efeitos foram observados na presença de NaCl, entretanto a razão onde o máximo de agregados ocorre desta vez é $[CTAB]/[TPPS_4] = 2:1$ (Figura 3.76).

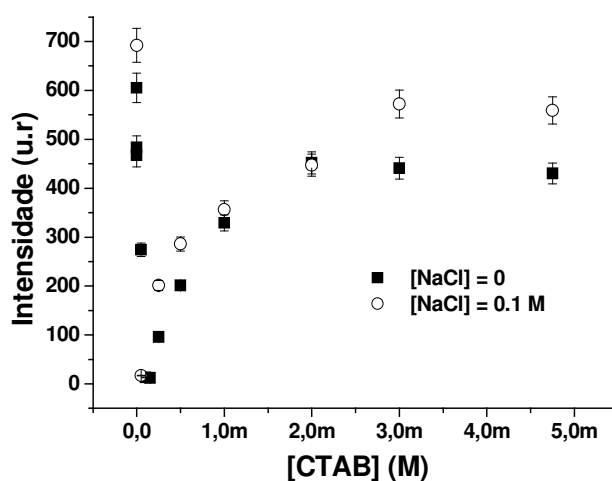


Figura 3.76) Mudanças na intensidade da fosforescência do oxigênio singleto na ausência e na presença de $[NaCl] = 0.1 M$ em função da concentração de CTAB.

Notamos que em pH 7.0 a intensidade da fosforescência do oxigênio singleto é reduzida na presença de altas concentrações de CTAB. Este fato ocorre devido ao rendimento quântico do estado tripleto ser maior ($\phi_T = 0.75$) para a porfirina desprotonada que para a porfirina ligada.

Discussão

Formação de 1O_2

A taxa de formação de 1O_2 através de transferência de energia do estado tripleto do fotossensibilizador pode ser expressa por

$$\frac{d[^1O_2]}{dt} = k_q [T][O_2] - k_{1O_2} [^1O_2] \quad (3.21)$$

em que k_q é a constante de supressão do tripleto das porfirinas pelo oxigênio molecular, k_{1O_2} é a constante de decaimento monomolecular do 1O_2 e

$$[T] = [T]_0 \exp[-(k_0 + k_q[O_2])t] \quad (3.22)$$

é a concentração de fotossensibilizador no estado tripleto.

Visto que a concentração de oxigênio molecular $[O_2]$ é aproximadamente 10 vezes maior que a de porfirina, $[O_2]$ é muito maior que $[T]$. Portanto podemos supor que $[O_2]$ na equação (3.21) é constante.

Nesta aproximação a concentração de oxigênio singleto pode ser escrita como:

$$[^1O_2] = \frac{k_q[O_2][T_0]}{k_{1O_2} - (k_0 + k_q[O_2])} \left\{ \exp[-(k_0 + k_q[O_2])t] - \exp(-k_{1O_2}t) \right\} \quad (3.23)$$

onde a primeira exponencial está relacionada à acumulação de 1O_2 devido à transferência de energia e a segunda representa o decaimento do 1O_2 (Figura 3.77).

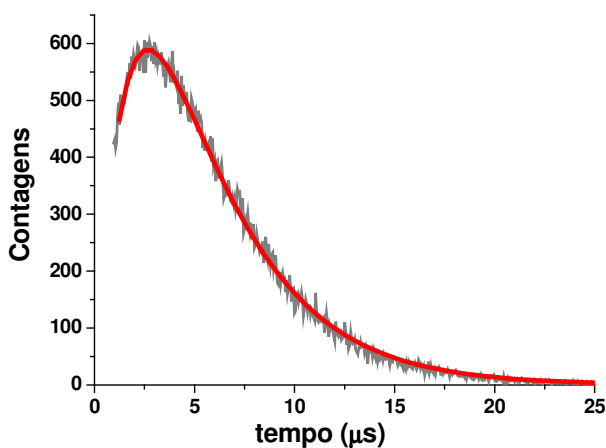


Figura 3.77) Perfil de decaimento da fosforescência do oxigênio singleto em solução aquosa de $[TPPS_4] = 28 \mu M$ em pH 4.0.

O tempo de vida relacionado à acumulação de 1O_2 devido à transferência de energia, τ_1 , obtido para a porfirina na ausência e na presença de micelas e células ghost é equivalente ao tempo de vida da porfirina no estado tripleto. Por outro lado, o tempo de vida τ_2 (tempo de decaimento do 1O_2) não sofreu mudanças em função das variações de pH, força iônica, presença de micelas de CTAB, permanecendo praticamente constante ($\tau_2 = 3.5 \pm 0.1 \mu s$, como em solução aquosa homogênea). É conhecido que o tempo de vida do oxigênio singleto depende do ambiente em que ele se encontra. Em água τ_2 é aproximadamente $4 \mu s$ e na maioria dos solventes orgânicos 4-50 vezes maior [110]. Portanto, podemos afirmar que o oxigênio molecular, assim como o oxigênio singleto, se localiza na fase aquosa da solução. Isso explica a redução da constante de supressão do estado tripleto em sistemas porfirina + tensoativo + sal onde a porfirina penetra dentro da membrana, separando-se do oxigênio, que permanece na fase aquosa.

Apesar de o tempo de vida do oxigênio singleto não ter sofrido influência dos fatores externos, a intensidade de emissão foi fortemente influenciada por estes parâmetros. A formação de agregados induzida pela presença de NaCl no pH 4.0 leva à redução da intensidade de produção de porfirina no estado tripleto, reduzindo conseqüentemente a produção de oxigênio singleto.

Realmente, a concentração de 1O_2 atinge o máximo em

$$t_{\max} = \frac{1}{k_{1O_2} - (k_0 + k_q[O_2])} \ln \left(\frac{k_{1O_2}}{k_0 + k_q[O_2]} \right) \quad (3.24)$$

e

$$[^1O_2]_{\max} = \frac{k_q[O_2][T_0]}{k_0 + k_q[O_2] - k_{1O_2}} \left(B^{\frac{k_0 + k_q[O_2]}{k_{1O_2} - (k_0 + k_q[O_2])}} - B^{\frac{k_{1O_2}}{k_{1O_2} - (k_0 + k_q[O_2])}} \right) \quad (3.25)$$

em que $B = \frac{k_{1O_2}}{k_0 + k_q[O_2]}$.

Pode-se ver que quando $[O_2]$, k_q , k_0 , k_{1O_2} são constantes, $[^1O_2]_{\max}$ é diretamente proporcional à $[T_0]$.

Por isso, inicialmente quando o sal e o tensoativo em baixas concentrações induzem a formação de agregados, eles provocam uma redução da intensidade de emissão do oxigênio singleto. Entretanto, um posterior aumento na concentração de CTAB induz a desagregação e a desprotonação da porfirina, o que leva a um aumento na intensidade de produção de tripleto da TPPS₄ e de oxigênio singleto.

Baseados nestes resultados podemos concluir que os fatores externos (presença de NaCl, pH, presença de micelas e membranas) não influenciam no tempo de vida do oxigênio singleto, indicando sua localização na fase aquosa da solução, porém esses fatores são importantes para a produção de ¹O₂.