



UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Me. Eli Silveira Alves Ducas

Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser Flash-Fotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas.

Goiânia

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☐ Dissertação ☒ Tese ☐ Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Eli Silveira Alves Ducas

3. Título do trabalho

Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser Flash-Fotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas.

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Pablo Jose Goncalves, Professor do Magistério Superior**, em 02/04/2024, às 18:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eli Silveira Alves Ducas, Usuário Externo**, em 03/04/2024, às 19:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4486905** e o código CRC **D5434462**.

Me. Eli Silveira Alves Ducas

Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser Flash-Fotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química, da Universidade Federal de Goiás como exigência parcial, para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química.

Orientador: Dr. Pablo José Gonçalves.

Goiânia

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Ducas, Eli Silveira Alves

Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser FlashFotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas. [manuscrito] / Eli Silveira Alves Ducas. - 2024.

210 f.: il.

Orientador: Prof. Pablo José Gonçalves.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Química, Goiânia, 2024.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. laser flash-fotólise. 2. oxigênio singlete. 3. terapia fotodinâmica. 4. biomoléculas. 5. nanoestruturas. I. Gonçalves, Pablo José, orient. II. Título.

CDU 54



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA IQ 165/2024

Ata nº 165 da sessão da Defesa de Doutorado de **Eli Silveira Alves Ducas**, que confere o título de **Doutor em Química**, na área de concentração em **Química**.

Aos **14 (quatorze) dias do mês de dezembro de 2023 (dois mil e vinte e três)**, a partir das **08h00m**, na sala **233 do Instituto de Física (Laboratório de Mídias / Auditório)**, realizou-se a sessão pública da Defesa de Doutorado intitulada "**Estudo fotofísico de porfirinas e seus complexos na presença de biomoléculas e nanoestruturas**". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Prof. Dr. Pablo José Gonçalves (UFG)**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Prof. Dr. Felipe Lange Coelho (UFG)**, **Profª. Drª. Danielle Cangussu de Castro Gomes (UFG)**, **Prof. Dr. Jefferson Marcio Sanches Lopes (UFG)** e **Prof. Dr. Antônio Otávio de Toledo Patrocínio (UFU)**. Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de **alteração** do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Doutorado, tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Prof. Dr. Pablo José Gonçalves, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 14 (quatorze) dias do mês de dezembro de 2023 (dois mil e vinte e três).

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser Flash-Fotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas.



Documento assinado eletronicamente por **Pablo Jose Goncalves, Professor do Magistério Superior**, em 20/03/2024, às 13:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Danielle Cangussu De Castro Gomes, Professora do Magistério Superior**, em 22/03/2024, às 15:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Felipe Lange Coelho, Professor do Magistério**



Superior, em 25/03/2024, às 09:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jefferson Marcio Sanches Lopes, Professor do Magistério Superior**, em 26/03/2024, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 4409855 e o código CRC 23C233EA.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

DESPACHO

Atesto, na condição de presidente da banca examinadora, conforme o item 04 da instrução normativa da PRPG nº 001, de 27 de março de 2020, que o professor doutor **Antônio Otávio de Toledo Patrocínio (UFU)** participou como membro avaliador da banca examinadora de defesa de doutorado intitulada "**Implantação das técnicas espectroscópicas de Laser Flash-Fotólise e de fosforescência para estudos fotofísicos de sistemas porfirínicos e suas interações com biomoléculas e nanoestruturas.**", ocorrida ao dia 14 (quatorze) do mês de dezembro de 2023 (dois mil e vinte três). Essa declaração se fez necessária em virtude da indisponibilidade da assinatura do professor supracitado no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da UFG.

Prof. Dr. Pablo José Gonçalves (UFG)
Presidente da Banca Examinadora



Documento assinado eletronicamente por **Pablo Jose Goncalves, Professor do Magistério Superior**, em 02/04/2024, às 18:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 4486792 e o código CRC 313A41F9.

Dedico esta tese à minha mochila vermelha, que simbolicamente me representa. Iniciamos e terminamos este doutorado, juntos, cada qual com suas marcas e desgastes. Percorremos milhares quilômetros, atravessamos as regiões brasileiras e enfrentamos horas infinitas no Laboratório de Biofotônica, somente com a luz vermelha acesa e um ar-condicionado gelado ao extremo. O interessante é que apesar dos pesares, dos sofrimentos, das bagagens descartadas e adquiridas, estamos prontos para próxima jornada.

“Chamamos “explicação” o que nos distingue dos graus de conhecimento e de ciência mais antigos, mas isso não passa de “descrição”. Sabemos descrever melhor — explicamos igualmente pouco aos nossos antecessores. Descobrimos sucessões múltiplas nos pontos em que o homem ingênuo e o sábio de civilizações mais antigas só viam duas coisas: *causa e efeito*; aperfeiçoamos a imagem do devir, mas não fomos além dessa imagem. A sequência das “causas” se apresenta em todos os casos mais completa diante de nós; deduzimos: é preciso que esta ou aquela coisa tenha sido precedida para que outra se siga — mas não *compreendemos nada* “

(Friedrich Nietzsche — A Gaia Ciência)

Abram os caminhos!
Abram os caminhos!
Abram os caminhos!
Abram-se os caminhos!

A flecha atirei
Onde caiu, bradei
O céu relampeou
A chuva vai chegar
Meu corpo foi ao chão
Na palha pra curar
Lavei a alma e então.

Me refiz na lama
Vi pedra rolar
Dancei com a correnteza
Me deixei pro mar.

Cantar e dançar pra saudar
O tempo que virá
Que foi! Que está!
Tocar pra marcar
O rito de passá
O rito de passá...

(Rito de Passá de MC Tha)

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o ato de “dar honra a quem merece honra”, portanto não vai ser aqui que vou economizar nas palavras. Em primícia, brado minha gratidão a *Olódùmarè*, o Criador, que me criou tão apaixonado por sua Criação, me fez cientista, me instigou a querer compreender profundamente a estrutura e as propriedades da matéria, e também ao grande Rei *Obàtálá*, Senhor do Branco. Depois, reverencio e bato cabeça *Epi Epi Bàbá mi Òṣà Ògìnyán*, que foi o grande Orixá regente deste período da minha vida, que me ensinou a ser o guerreiro invencível, o construtor perfeccionista e em fazer com calma e excelência tudo que faço.

A toda egrégora espiritual que me acompanha: a Pai Jacó dos Mangues, meu mentor espiritual, por sempre me dar calma e fazer as escolhas pautadas pela sensatez; ao Miguelzinho por me banhar com sua gargalhada com som do romper das quedas d’água; à Dona Cigana das Almas por me ensinar que, as vezes, não temos o que queremos mas sim, o que precisamos; a Exu Marabô por me obrigar a sempre ser correto e andar na linha, pois um caráter justo é um bem imprecificável; ao Exú Gira-mundo que me ensina a ter paciência de esperar o tempo das translações da Terra para que ocorram as finalizações de meus ciclos. A todos mentores que me acompanham e ensinam diariamente na Sagrada Umbanda. Ao Pai João de Aruanda, por ter me “sacaneado” ao dizer, lá em 2017, que não adiantaria eu correr de Goiânia fazendo concursos, pois eu não passaria, pois a minha “missão” era sair de Goiânia “doutor”; agora, vamos ver quais portas serão abertas com este título.

Aos meus pais, Eli e Rosirene... O filho do pintor e da confeitadeira virou doutor e esse título vem coberto do pó das paredes lixadas e lambuzado com brigadeiro e chocolate. Obrigado por terem sonhado, lutado e investido no meu sonho, acreditando em meu potencial. Eu sei o quantos vocês devem ter ouvido por precisarem ainda ajudar financeiramente um filho de 30 anos mas agora esse tempo se findou. À minha irmã Elissa, que foi meu suporte e companhia neste doutorado, dividimos a casa, as contas, o tempo e as inseguranças... Peruca, eu

não sei como lidaria com isso tudo sem você. À minha irmã Eloísa por ser tão afetuosa e trazer sempre leveza à minha vida.

Reverencio também a toda a minha ancestralidade, que abriu o caminho que trilho hoje. Em especial minha avó materna Maria Amélia que fez sua passagem de forma abrupta devido a um câncer de pâncreas; ao seu marido e meu avô postigo Gerson, uma das vítimas do negacionismo na pandemia. E à minha bisavó materna, Isabel, que viveu honradamente seus longos 97 anos. Ainda é muito estranho não ter o almoço de domingo ao redor do fogão a lenha e as conversas sentados no banco de madeira. Também se foram minha avó paterna Joventina e meu avô materno Sebastião, deixo o meu eterno de pedido de “bença” e a reverência por suas passagens em minha vida.

Ao Prof. Pablo Gonçalves, um grande homem que eu tive o privilégio de ser seu orientando. Primeiramente, obrigado por ter se recusado 3 vezes em assinar as minhas cartas de desistência; obrigado por ser compreensivo, mas ao mesmo tempo, me instigar a romper com tudo que me limitava. O que me chamou a atenção, desde o início, é que o senhor sempre me tratou como um colega, sem hierarquia, sempre consultando e considerando a minha opinião, seja na discussão dos experimentos, seja no que precisávamos adquirir para o laboratório e de como faríamos para colocar um laboratório todo encaixotado em plena operação, como está hoje. O senhor sempre foi um orientador muito presente, confesso que às vezes isso me irritava, mas hoje enxergo isso com muita gratidão. Quero deixar aqui registrado alguns números que expressam isso, pois nestes quase 6 anos foram acumulados em nossa conversa de Whatsapp: 1338 fotos de experimentos, 62 vídeos do senhor explicando alguma coisa, 102 documentos pdfs e arquivos do Origin, 162 links (grande parte de videoconferências que fizemos) e quase 800 Mb em conversas de áudio. Então, mais uma vez te agradeço por ter confiado no meu trabalho.

Agradeço aos meus antigos orientadores, Prof. Lauro Maia que me abriu as portas para o mundo da pesquisa, que me repassou os primeiros conhecimentos sobre espectroscopia e método científico. A Profa. Patrícia Sartoratto que me ensinou a meticulosidade da arte da escrita científica e na necessidade de sempre executar meu trabalho com perfeccionismo e, depois de alguns anos, em nossas reflexões, dizer que tá tudo bem não ser perfeito desde que esteja feito.

Aos meus amigos do IQ-UFG, que se fazem presentes desde a graduação: Ramon, Lucas, Karlla e Gabriela. Vocês foram meu suporte nessa jornada, foram companhia do cafezinho depois do almoço, foram companheiros de farras e comilanças, foram consultores de alta qualificação quando os meus conhecimentos químicos falhavam, foram tudo isso e mais um pouco. Afinal, com vocês tenho orgulho de dizer que construí 15 anos de amizade, é estranho pensar de que na metade das experiências marcantes da minha vida, pelo menos um de vocês estava presente.

Aos meus bruxos do coração Ísis, Natércia, Marco Antônio, Robson, Edson e Heleniel. De verdade, eu não sei do que seria de mim sem vocês, eu não teria forças pra enfrentar o transtorno de pânico. Cada café, cada copo de Coca-cola, cada banho de ervas, cada sessão de reiki, cada ritual magístico que fizemos, cada madrugada virada, cada viagem pra Caldas Novas, cada ebó, cada bori, foram remédio para minha alma e espírito. Com vocês eu não me sinto um ser só e alheio a este planeta.

Outro amigo que muito esteve presente nesse período, até arriscaria dizer que foi o mais presente, foi o Arthur Henrique. O mais curioso é que nos vimos pessoalmente apenas uma vez, em Curitiba, numa das minhas viagens para fazer concursos, em 2018. Engraçado como o tempo passou diferente para cada um, lhe conheci no início do meu doutorado e você todo empolgado com a sua primeira iniciação científica; hoje, você já tá no doutorado. Obrigado por me ajudar a construir o muro das lamentações acadêmicas, por ter ouvido todos os meus desgostos com a carreira acadêmica e por revisar meu inglês no abstract da tese e num punhado de artigos que escrevi. E de tudo isso, o mais interessante é que ainda conseguimos costurar uma colaboração acadêmica e se “maria passa na frente” a gente publica um artigo sobre o projeto das chalconas.

Ao meu grande amigo Adriano, que dividimos juntos as angústias e incertezas de um doutorado em plena pandemia. Seu exemplo de persistência e indesejabilidade foi para mim inspiração pra também permanecer firme. E como a sua companhia no período que dividimos casa, durante a escrita da qualificação, foi essencial para eu avançar. Muito obrigado por todos os “Bicha, acorda, toma o teu café e vai sentar na cadeira e escrever!”.

Às minhas amigas distantes geograficamente, porém sempre presentes, Simone, Mariana (Maya) e Luciana. Feliz o dia que encontrei vocês naquela sala do *Clubhouse*. Maya, obrigado por sempre ser generosa e abrir os seus oráculos

para que eu pudesse me acalmar. Simone, obrigado por olhar pra estrelas e me dizer que num futuro próximo todo esforço valeria a pena e sofrimento passaria.

No transcorrer deste doutorado, eu recebi o título mais importante da minha vida, o de Sacerdote de Umbanda Sagrada. Peço a benção para a Mãe Patrícia Franco, sacerdotisa que me iniciou e muito me ensinou... Dinda, o copo esvaziou, se encheu, mas agora está sem fundo... Socorro! Agradeço aos anjos colocados para me acompanhar nessa jornada, Odete e Maria; foi uma correria danada entre aulas, compras na flora, hotel, estrada pra Brasília, mas vocês deixaram tudo isso leve. Gratidão plena a querida Maga Helô que além de ter-me iniciado em um grau da Magia Divina, fez todo um reboição para eu entrar no sacerdócio. E aos queridos magos e sacerdotes Samara, Murilo, Conceição, Inês, Henrique e Jansen pela amizade e carinho que sempre me trataram.

Ao Pai Chrisley *ty Obaluaye* por ter recentemente me acolhido no Centro Espiritualista Filhos da Terra, pela sua amizade, ensinamentos e ter-me mostrado que eu não preciso desfazer de tudo que conquistei em uma jornada, para começar outra. Viva à Espiritualidade e Orixá que concederam esse nosso reencontro! E não poderia deixar de agradecer por você ser o escolhido a me introduzir em minha jornada no candomblé, por me apresentar o Pai Kerley *ty Obàtálá*, que me acolheu na família do *Àse Ojusun Ákotun* e me iniciou para o *Grande Senhor do Branco*. Agradeço também a todos os meus irmãos do Centro Espiritualista Filhos da Terra pelo carinho desmedido e suporte incondicional.

Ao programa Saudavelmente da PRAE-UFG, que me socorreu de minhas crises de pânico, em plena pandemia, e até a defesa desta tese me deu suporte psiquiátrico gratuito. A Dra. Maria Amélia, psiquiatra que coordena este projeto e que me acompanhou diretamente por um tempo. A todos os residentes que prestaram a mim atendimento de excelência: Victor Araújo, Andrey Rocca, Igor Ferreira; em especial, ao João Victor Bomtempo pelo atendimento humanizado, pela sensibilidade de me atender em tantos momentos excepcionais e por sempre colocar em primeiro lugar o meu bem-estar, antes de realizar apenas uma simples prescrição de receita.

À minha psicanalista Bruna Magalhães pelo suporte e tratamento psicológico desde 2020. Começamos, eu um doutorando em surto e você, uma estagiária; hoje, você é uma psicanalista e mãe incrível, e eu uma pessoa mais segura de si, que vem deixando de sustentar o desprazer e aprendendo a fazer o que dou conta e me contentar com o que tenho a oferecer. Ahhh... esqueci de

mentonar que virei doutor também e que nesse título também tem muito de seu esforço, competência e trabalho. Preciso mencionar também a psicóloga Nina Pintan que me acompanhou no ano de 2019, cujo trabalho me auxiliou na organização de uma rotina produtiva no laboratório e contornar a minha excessiva procrastinação e escapismo.

Ao Prof. Iouri Borissevitch, um cientista brilhante, um homem extraordinário e que foi um coorientador extraoficial desta tese. Pela sua gentileza sempre ao ensinar, por me enriquecer apresentando a cultura russa, pela montagem do equipamento de *flash*-fotólise e estabelecimento dos primeiros protocolos de medida que puderam ser aprimorados neste trabalho.

Agradeço também ao Prof. Sérgio Zílio por me introduzir ao mundo da óptica não-linear, ensinar o pouquinho que sei de óptica geométrica e das dificuldades de “ser um físico experimental que monta equipamentos como se fosse peças de lego”.

Quando cheguei no Grupo de Biofotônica éramos apenas dois pós-graduandos, e com a pandemia ficou somente eu. Por um acaso do destino só foram chegar novos alunos após a minha contratação na Saneago. Quero agradecer à técnica Jaqueline por ter sido meus braços no laboratório acionados remotamente; sem o seu auxílio e companhia na execução dos experimentos finais, este trabalho não haveria chegado à este patamar. Agradeço à Ariane por repetir algumas análises de oxigênio singlete e ao Lucas por ter sido minha companhia nos últimos dois meses que fiquei no laboratório. Minha gratidão ao meu colega de SISFóton, Alisson, que foi companheiro fiel no meu último ano de dedicação exclusiva ao laboratório. Aos demais alunos do Grupo de Biofotônica, desejo que o produto desta tese abra os caminhos para novos projetos e de maior complexidade.

Agradeço a Supervisão de Apoio Técnico (GR17T), da Saneago - Regional Inhumas, em especial ao meu chefe Arthur Gobi que desde a minha admissão flexibilizou os meus horários e minha rotina de trabalho para que eu pudesse concluir o doutorado. À minha colega Thaíza, que por ter enfrentado também a trajetória da vida acadêmica, muitas vezes “quebrou um galho” para que eu pudesse escrever o documento da tese. Minha gratidão à Luanna e ao Rogério por tornarem nosso ambiente de trabalho tão leve e prazeroso.

Agradeço a Capes pela bolsa concedida no período de 2018-2021 (Processo 88882.386417/2019-01) que passou por 10 anos sem reajuste, que ocorrera

infelizmente só após o meu usufruto, comprometendo assim, não só a minha saúde financeira, mas também a minha saúde mental. Ao CNPq pela bolsa DTI B (Processo 382236/2021-1) concedida no período de 2021-2022 no âmbito do projeto do SISFóton-MCTI.

*“Para chegar aqui atravessei um mar de fogo,
Pisei no fogo o fogo não me queimou,
Pisei na pedra e a pedra balanceou,
Para chegar aqui atravessei um mar de fogo!”*

SUMÁRIO

SUMÁRIO	17
LISTA DE FIGURAS	20
LISTA DE TABELAS	25
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	26
RESUMO	30
ABSTRACT	31
1. Introdução e Justificativa	33
2. Objetivos.....	39
3. Fundamentação Teórica.....	41
3.1 Processos Fotofísicos:.....	41
3.2 Técnicas Espectroscópicas:.....	51
3.2.1 Espectros de Absorção de luz e determinação do coeficiente de absortividade molar: 51	
3.2.2 Espectros de emissão fluorescente e determinação do rendimento quântico de fluorescência:	52
3.2.3 Espectroscopia de Absorção Transiente (Laser Flash-Fotólise) e seu uso para monitoramento de estados tripletos (T_n):	54
3.2.4 Métodos espectroscópicos para Detecção de Oxigênio Singleto:.....	56
4 Material e Métodos	61
4.1 Preparo das amostras:.....	61
4.2 Espectroscopia de Absorção Molecular UV-Vis:.....	61
4.3 Espectroscopia de Fluorescência:	62
4.4 Determinação do tempo de vida de tripleto e rendimento de tripleto:	62
4.5 Determinação de rendimento de formação de oxigênio singleto:	63
4.5.1 Método Indireto:	63
4.5.2 Método Direto:	65
5 Método alternativo para obtenção do rendimento quântico de estados tripletos (ΦT)	68
5.1 Introdução:.....	68
5.2 Modelo teórico:	70
5.3 Validação do método:.....	75

5.3.1	<i>Efeito da incidência das luzes de bombeio e análise na estabilidade da amostra:</i>	76
5.3.2	<i>Efeito do alinhamento das luzes de análise e bombeio:</i>	81
5.3.3	<i>Efeito da supressão dos estados tripleto pelo oxigênio dissolvido na solução:</i>	86
5.3.4	<i>Determinação de ΦT conhecidos de porfirinas e seus complexos pelo método de variação da energia de luz de bombeio:</i>	89
5.4	Conclusão	96
6	Monitoramento do decaimento do estado tripleto por laser flash fotólise (LFF) e geração de oxigênio singleto (1O_2), pelo método indireto, de compostos supramoleculares derivados da meso-tetra(4-piridil)porfirina de zinco II :	98
6.1	Introdução:	98
6.2	Materiais e Métodos:	102
6.3	Resultados e Discussões:	103
6.4	Conclusão:	106
7	Implantação da técnica de espectroscopia de fosforescência para determinação direta do rendimento de formação de oxigênio singleto ($\Phi\Delta$) de diferentes sistemas porfirínicos.	108
7.1	Determinação do $\Phi\Delta$ de porfirinas catiônicas e aniônicas:	108
7.2	Determinação do $\Phi\Delta$ de porfirinas sulfonadas-halogenadas:	109
7.3	Estudo do efeito do pH e da agregação da porfirina 5,10,15,20-Tetrakis(4-sulfonatofenil)-21H,23H-porfirina (TPPS₄).	113
7.4	Comparação dos $\Phi\Delta$ obtidos pelos métodos indireto e direto de complexos de paládio derivados da meso-tetrapiridil porfirina:	120
7.4	Conclusão	127
8	Estudo da fotofísica de interação entre porfirinas e seus complexos de zinco II e a albumina de soro bovino (BSA)	129
8.1	Introdução:	129
8.2	Materiais e Métodos:	134
8.3	Resultados e Discussões:	135
8.4	Conclusão	145
9	Influência da interação entre porfirinas catiônicas e ferrofluidos aniônicas de nanopartículas de ferrita de manganês ($FeMn_2O_4$) nos seus rendimentos de formação de oxigênio singleto ($\Phi\Delta$)	148
9.1	Introdução:	148
9.2	Materiais e Métodos:	151
9.3	Resultados e discussões:	154

9.4	Conclusões.....	167
10	Considerações Finais e perspectivas futuras.....	169
11	ANEXOS	172
12	Referências Bibliográficas	177
13	Projetos desenvolvidos e relação de publicações no período do doutorado (2018-2023).....	197
13.1	Propriedades ópticas lineares e não-lineares de bromo-chalconas e acetamido-chalconas.	197
13.2	Ação fotodinâmica de alquil porfirinas catiônicas para o controle do carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i> (Acari:Ixodidae).....	203
13.3	Avaliação de diferentes técnicas de clareamento dentário ativado por led violeta: estudo in vitro	204
13.4	Rede de Laboratórios Integrados em Fotônica - LIFóton	205
13.5	Relação de Publicações no período do doutorado (2018-2023).....	207

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estruturas moleculares do anel pirrólico (1), porfirina (2), clorina (3), bacterioclorina (4), ftalocianina (5) e metalo-ftalocianina (6).....	34
Figura 2 - Diagrama de Jabłoński dos níveis de energia presentes em uma molécula FSs e os seus processos fotofísicos e fotoquímicos que podem ser desencadeados.	41
Figura 3 - Representação do diagrama de energias dos estados singlete e tripleto com o cálculo de suas respectivas multiplicidades (M).	43
Figura 4 - a) Diagrama de orbital molecular do estado fundamental ($^3\Sigma_g^-$) do O_2 e de seus estados excitados de menor ($^1\Delta_g$) e maior energia ($^1\Sigma_g^+$); b) Diagrama de Jablonski simplificados dos estados tripleto($^3\Sigma_g^-$) e singletos ($^1\Delta_g$, $^1\Sigma_g^+$) do O_2	46
Figura 5 - Diferença entre os níveis de energia dos orbitais HOMO das espécies $^3\Sigma_g^-$, $^1\Delta_g$ e $^1\Sigma_g^+$ da molécula de oxigênio.	47
Figura 6 – Representação dos mecanismos de morte celular.	49
Figura 7- a) Espectro do FS meso-tetra(fenil)porfirina (TPP), em diferentes concentrações, na região de 450 a 720 nm; b) valores de absorvância em 513 nm em função da concentração para determinação do $\epsilon(\lambda)$	52
Figura 8 - a) Espectro de emissão de fluorescência da porfirina TPP; b) curva de decaimento temporal da intensidade de fluorescência da TPP.	54
Figura 9 - a) Representação esquemática do aparato experimental da técnica de LFF com o sistema de bombeio (Laser Brilliant, Quantel) e de análise (Lâmpada de Xe) ortogonais entre si, o monocromador (MC) acoplado a fotomultiplicadora (FM); b) Diagramas de níveis de energia dos processos fotofísicos monitorados pela técnica.	56
Figura 10 – Reações de equilíbrio ácido-base do ácido úrico (7) e formação do ácido parabânico (10) com o produto de reação com 1O_2	58
Figura 11 – Representação esquemática do aparato experimental de detecção de 1O_2 pelo método direto. Na figura apresentamos uma fonte de luz laser (Brillant, Quantel, emitindo em segundo harmônico, 532 nm a 10 Hz), o monocromador (MC), o detector (InGasAs), sua fonte DSS e a interface do computador é feita por meio do Spectraq.	59
Figura 12 - Variação da intensidade do pulso de LFF para determinação da absorção transiente.	73
Figura 13 - Estrutura da porfirina TMPyP.	76
Figura 14 - Curva da variação da absorção transiente da TMPyP, em PBS, com a variação da energia do pulso laser.	77
Figura 15 - Estudo de fotodegradação da TMPyP, em PBS, em diferentes condições de análise pela técnica LFF.	78

Figura 16 - Espectros de Absorção UV-Vis da TMPyP (a) Condição (i) e (b) Condição (ii) antes e depois do experimento de fotodegradação e curvas de ΔA da TMPyP (c) condição (i) e (d) condição (ii) em função do tempo de fotodegradação.....	80
Figura 17 - Fotografia da câmara de acondicionamento da amostra no equipamento de LFF demonstrando a superposição ortogonal dos feixes de luz	82
Figura 18 - Efeito da otimização do alinhamento entre os feixes de análise e bombeio na amplitude de ΔA	83
Figura 19 – (a) Reprodutibilidade das medidas de ΔA utilizando-se uma íris móvel; (b) Fotografias do sistema de íris móvel confeccionado em plástico cartonado.	84
Figura 20 - (a) Reprodutibilidade das medidas de ΔA utilizando-se uma íris fixa; (b) Fotografias do sistema de íris móvel confeccionado em suporte metálico	85
Figura 21 - Sistema de aeração/deaeração das amostras na posição vertical (a) e levemente inclinada (b).	86
Figura 22 – Influência do processo de deaeração: (a) na amplitude do sinal da curva de ΔA versus energia; (b) no tempo de vida e amplitude da curva de ΔA e (c) no incremento de τT com o transcorrer do processo.	88
Figura 23 - Estrutura das porfirinas TPPS ₄ , ZnTMPyP e ZnTPPS ₄	90
Figura 24 - Curvas de Cinética de Decaimento do estado tripleto T_1 da TMPyP, para diferentes energias de pulso de excitação (comprimento de onda de análise 470 nm).....	91
Figura 25 - Absorção transiente (ΔA) em função da energia do pulso de excitação da luz de bombeio: (a) TMPyP; (b) TPPS ₄ , (c) ZnTMPyP e (d) TPPS ₄ . Os insets apresentam a variação de ΔA da amostra com o ΔA^s do padrão.....	93
Figura 26 - Ligantes dppb e PPH ₃ que serão inseridos na porfirina ZnTPyP.....	99
Figura 27 - Complexos de Ru II precursores das estruturas supramoleculares a base da metaloporfirina ZnTPyP.....	100
Figura 28 – Compostos de coordenação ZnTPyP(Ru-PPH ₃) e ZnTPyP(Ru-dppb) em estudo neste trabalho.....	101
Figura 29 - Estrutura molecular do padrão de rendimento de oxigênio singlete, TPP.....	102
Figura 30 - Fotografia do aparato de determinação do rendimento de oxigênio singlete (1O_2) pelo método indireto.	103
Figura 31- a) Espectros de absorção do AU, ZnTPyP, ZnTPyP(Ru-PPH ₃) e ZnTPyP(Ru-dppb) e de emissão do laser verde; b) Curva de variação da absorvância do AU em função do tempo de irradiação; c) Curva de n_{abs} versus k.	104

Figura 32 - Decaimento de tempo de vida de estados tripletos dos compostos supramoleculares estudados.....	106
Figura 33 - Espectros de absorção molecular das porfirinas TPPS , TMPyP e ZnTMPyP (a) e o respectivo espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ produzido por elas	108
Figura 34 - Estruturas moleculares do fenol e clorofenol.	110
Figura 35 - Estruturas moleculares das porfirinas sulfonadas-halogenadas: TC, TDC, TF e TDF.	111
Figura 36 - Espectros de absorção molecular das porfirinas TC, TDC, TF e TDF (a) e o respectivo espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ produzido por elas.	112
Figura 37 - Diferentes espécies formadas a partir da protonação da TPPS_4 formadas em meio ácido.....	114
Figura 38 - Representação esquemática dos agregados de tipo H (a) e tipo J (b) da TPPS_4	116
Figura 39 - Espectros de absorção das formas não-protonada e biprotonada da TPPS_4 e do agregado do tipo J.....	118
Figura 40 - Espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelas espécies não-protonada e biprotonada da TPSS_4 e do agregado J.....	119
Figura 41 - Estruturas moleculares da porfirina TPyP e dos ligantes dppp, dppb e dppf.....	120
Figura 42 – Estruturas moleculares dos complexos $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppp})]$, $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppb})]$ e $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppf})]$	121
Figura 43 - Espectros de absorção dos compostos $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppp})]$, $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppb})]$ e $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppf})]$	122
Figura 44 - Fotografia do espectrômetro de fosforescência para detecção direta do $^1\text{O}_2$, instalado no Grupo de Biofotônica.	123
Figura 45 - Espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelos compostos $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppp})]$, $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppb})]$ e $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppf})]$	124
Figura 46 - Efeito do tempo de oxigenação da solução de TPP no aumento da fosforescência do $^1\text{O}_2$	125
Figura 47 – Espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelos compostos $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppp})]$, $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppb})]$ e $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppf})]$, após 30 min. de oxigenação de suas soluções.	126
Figura 48 - Divisão dos domínios e subdomínios da estrutura da BSA: subdomínio I (azul); subdomínio II (magenta); subdomínio III (ciano).....	130
Figura 49 - Estruturas tridimensionais da HSA e BSA, contendo os resíduos triptofano opticamente ativos destacados em verde.	132
Figura 50 - Espectros UV-Vis, em PBS, das porfirinas: (a) TPPS_4 ($43 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e TPPS_4 ($43 \mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($86 \mu\text{mol.L}^{-1}$); (b) TMPyP ($25 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e TMPyP (25	

$\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($50 \mu\text{mol.L}^{-1}$); (c) ZnTMPyP($59 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e ZnTMPyP ($59 \mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($118 \mu\text{mol.L}^{-1}$).....	136
Figura 51 - Espectros de fluorescência, em PBS, das porfirinas: (a) TPPS ₄ ($11 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e TPPS ₄ ($11 \mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($\mu\text{mol.L}^{-1}$); (b) TMPyP($7 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e TMPyP ($7 \mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($14 \mu\text{mol.L}^{-1}$); e (c) ZnTMPyP($15 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e ZnTMPyP ($15 \mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($30 \mu\text{mol.L}^{-1}$).	137
Figura 52 – a) Curva de ΔA da TMPyP na presença e ausência de BSA; b) curva de ΔA em função da energia do laser da TMPyP na presença e ausência de BSA; c) dependência de ΔA da TMPyP na presença e ausência de BSA na mesma energia do laser; d) espectro de absorção da TMPyP antes e depois do experimento de LFF; e) espectro de absorção da TMPyP+BSA antes e depois do experimento de LFF.....	139
Figura 53 - Espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ gerado pela TMPyP e pela TMPyP ligada à BSA, em PBS.....	141
Figura 54 - Estruturas moleculares das porfirinas TMPyP (a), ZnTMPyP (b) e dos surfactantes aniônicos citrato (c), dimercaptosuccinato (d) e tripolifosfato (e).....	149
Figura 55 - a) Difratoogramas de Raios X das NPs e Microscopias de Transmissão de Alta Resolução das NPs recobertas com: (b) CA (b), DMSA (c) e (d) TPP.	154
Figura 56 - Histogramas de distribuição dos raios hidrodinâmicos dos ferrofluidos. Inset: variação do potencial ζ com pH.....	157
Figura 57 – Efeito da adição de NPs funcionalizadas com citrato nos espectros de absorção da TMPyP (a) e ZnTMPyP (b), cujos insets destacam mudanças nas bandas Q e nos espectros de emissão da TMPyP (c) e ZnTMPyP (d), cujos insets apresentam a variação do rendimento quântico de fluorescência.	159
Figura 58 – Gráficos da variação da supressão de fluorescência da TMPyP (a) e da ZnTMPyP (b) na presença das NPs (AC, DMSA, TPF)	160
Figura 59 - Representação esquemática da interações: TMPyP com NPs com CA (a), DMSA (b) e TPF (c); ZnTMPyP com NPs com CA (d), DMSA (e) e TPF (f).	163
Figura 60 - a) Termofotografias do complexo TMPyP/AC-NPs em diferentes tempos de irradiação (808nm); b) curva de variação de temperatura da amostra no decorrer do experimento de fototermia; c) espectros de fluorescência e d) espectros de fosforescência do oxigênio singlete gerado antes e após o experimento de fototermia.	165
Figura 61 - Diagrama esquemático ilustrando a otimização da coleta do sinal do $^1\text{O}_2$: (a) configuração de fábrica e (b) arranjo para otimizar coleta do sinal.	170
Figura 62 - Determinação do ϵ das bandas Q da TMPyP em água ultrapura.	172
Figura 63 - Determinação do ϵ das bandas Q da TMPyP em PBS.....	172
Figura 64 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPPS ₄ em água ultrapura.	173

Figura 65 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPPS ₄ em PBS.....	173
Figura 66 - Determinação do ϵ da banda de Soret da TPP em DMSO.....	174
Figura 67 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPP em DMSO.....	174
Figura 68 - Efeito do tempo de oxigenação na geração de $^1\text{O}_2$ da TMPyP em água.....	175
Figura 69 - Espectros de absorção linear das bromochalconas.	201
Figura 70 -Espectros de absorção linear das aceto-amido chalconas.....	202

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais mecanismos de morte celular ativados via TFD.....	50
Tabela 2 - Parâmetros usados para o cálculo do rendimento de tripleto (ΦT^*) determinado por LFF, de acordo com a Eq.36 por este estudo, sua comparação com análises cinéticas da técnica de VZTP (ΦT^{**}) e com a média de valores obtidos na literatura (ΦT^{***}).	95
Tabela 3 -Rendimento quântico de fluorescência (Φfl), Eficiência ($\gamma \Delta$), rendimento de geração ($\Phi \Delta$) de 1O_2 e tempo de vida de estados tripletos (τT) dos compostos ZnTPyP, ZnTPyP(Ru-PPH ₃) e ZnTPyP(Ru-dppb).....	104
Tabela 4 - Comparação determinados $\Phi \Delta$ por este trabalho com os disponíveis na literatura.	109
Tabela 5 – Apresentação do rendimento de tripleto das porfirinas sulfonadas-halogenadas e comparação entre obtidos neste trabalho e com alguns disponíveis na literatura.	112
Tabela 6 - Rendimentos de formação de oxigênio singlete dos complexos supramoleculares obtidos pelo método indireto ($\Phi \Delta Met. Ind.$) e direto ($\Phi \Delta Met. Dir.$).....	126
Tabela 7 - Parâmetros fotofísicos de rendimento quântico de fluorescência (Φfl), rendimento de formação tripleto na solução saturada em ar (ΦT), rendimento de formação tripleto na solução com ausência de oxigênio ΦT (N ₂), tempo de vida de tripleto na ausência (τT) e presença de oxigênio τT (N ₂) e rendimento de formação de oxigênio singlete das $\Phi \Delta$ porfirinas livres e na presença de BSA, em PBS, contendo a comparação com alguns dados disponíveis na literatura.	140
Tabela 8 - Parâmetros de caracterização estrutural das nanopartículas e de estabilidade coloidal dos ferrofluidos.	155
Tabela 9 - Parâmetros de interação entre as porfirinas e as NPs: constante de ligação fluorescente (K_b) e tempo de vida de fluorescência (τ).....	161
Tabela 10 - Lista das bromochalconas e acetamido-chalconas sintetizadas.....	198

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A	<i>Absorvância</i>
AU	<i>Ácido úrico</i>
A_{em}	<i>Absorvância nos comprimentos de onda de emissão</i>
A_{exc}	<i>Absorvância nos comprimentos de onda de excitação</i>
A_T•	<i>Absorvância das espécies no estado tripleto</i>
A_{ex}	<i>Absorvância da amostra no comprimento de onda de excitação</i>
A_{ex}^s	<i>Absorvância de um composto padrão no comprimento de onda de excitação</i>
A_S	<i>Absorvância das espécies no estado singlete</i>
A₀	<i>Absorvância da solução da amostra antes da incidência do pulso de excitação</i>
BSA	<i>Albumina sérica bovina</i>
c	<i>Concentração da espécie absorvedora de luz</i>
C_S	<i>Concentração das espécies no estado singlete</i>
C_T	<i>Concentração das espécies no estado tripleto</i>
C_T	<i>Concentração das espécies no estado tripleto</i>
C₀	<i>Concentração inicial da amostra</i>
C₀^s	<i>Concentração inicial do composto padrão</i>
D_{DLS}	<i>Diâmetro hidrodinâmico</i>
DLS	<i>Espalhamento dinâmico de luz</i>
DMSO	<i>Dimetilsulfóxido</i>
dppb	<i>1,4-bis(difenilfosfina)butano</i>
dppb	<i>1,4-bis(difenilfosfino)butano</i>
dppf	<i>1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno</i>
dppp	<i>1,3-bis(difenilfosfino)propano</i>
EFA	<i>Espectroscopia fotoacústica</i>
EROs	<i>Espécies reativas de oxigênio</i>
F	<i>Fluorescência na presença do agente supressor</i>
f	<i>Força de oscilador</i>
F₀	<i>Fluorescência na ausência do agente supressor</i>
F_{corr}	<i>Fluorescência corrigida</i>
Fe₃O₄	<i>Magnetita</i>
γ-Fe₂O₃	<i>Maghemita</i>
F_m	<i>Intensidade de fluorescência medida experimentalmente</i>
FS	<i>Fotossensibilizador</i>
FTP	<i>Fluorescência com trem de pulsos</i>
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i>
HSA	<i>Albumina sérica humana</i>
IFD	<i>Inativação fotodinâmica</i>
I_{fl}	<i>Integral ou área do espectro de emissão fluorescente</i>
I_{fos}	<i>Integral ou área do espectro de emissão fosforescente</i>
I₁	<i>Intensidade do sinal antes do pulso de bombeio</i>
I₂	<i>Intensidade do sinal após o pulso de bombeio</i>
k	<i>Constante de velocidade de degradação</i>
k_{ci}	<i>Constante cinética de conversão interna</i>

k_{cis}	<i>Constante cinética de cruzamento intersistemas</i>
k_r	<i>Constante cinética de decaimento radiativo</i>
k_T	<i>Constante de decaimento do estado tripleto</i>
K_b	<i>Constante de ligação fluorescente</i>
K_{SV}	<i>Constante de Stern-Volner</i>
l	<i>Caminho óptico da amostra</i>
LFF	<i>Laser flash-fotólise</i>
mJ	<i>Milejoules</i>
mm	<i>Milímetros</i>
M	<i>Multiplicidades totais dos spins eletrônicos</i>
MET	<i>Microscopia eletrônica de transmissão</i>
MHz	<i>Mega-hertz</i>
MnFe₂O₃	<i>Ferrita de manganês</i>
n	<i>Índice de refração do solvente</i>
nm	<i>Nanômetros</i>
n₀	<i>Número total de fótons presentes no pulso de excitação</i>
n₁₀₂	<i>Número de moléculas de ¹O₂ geradas</i>
n_{abs}	<i>Número de moléculas absorvedoras</i>
n_{abs}^{fótons}	<i>Número de fótons absorvidos</i>
n_{fl}	<i>Número de fótons emitidos pela molécula via fluorescência</i>
N_a	<i>Constante de avogadro</i>
NPs	<i>Nanopartículas</i>
O₂	<i>Gás oxigênio</i>
P(λ)	<i>Variação da potência de uma fonte de luz com o comprimento de onda</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PDi	<i>Índice de polidispersão</i>
pH	<i>Potencial hidrogeniônico</i>
pK_a	<i>Potencial de dissociação ácida</i>
PPH₃	<i>Trifenilfosfina</i>
RP	<i>Radiólise de pulso</i>
S	<i>Momentos angulares totais de spin dos elétrons</i>
S_n	<i>Estados eletrônicos singletos</i>
t	<i>Tempo</i>
tg θ	<i>Coefficiente angular ou inclinação de uma reta</i>
T_n	<i>Estados eletrônicos tripletos</i>
TC	<i>5,10,15,20-tetrakis(2-cloro-5-sulfofenil)porfirina</i>
TCSPC	<i>Time-correlated single-photon counting method</i>
TDC	<i>5,10,15,20-tetrakis(2,6-dicloro-3-sulfofenil)porfirina</i>
TDF	<i>5,10,15,20-tetrakis(2,6-difluoro-3-sulfofenil)porfirina</i>
TF	<i>5,10,15,20-tetrakis(2-fluoro-5-sulfofenil)porfirina</i>
TFD	<i>Terapia fotodinâmica</i>
TG	<i>Análise termogravimétrica</i>
TMPyP	<i>5,10,15,20-tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21h,23h-porfirina</i>
TPP	<i>5,10,15,20-tetrafenil-21h,23h-porfirina</i>
TPPS₄	<i>5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenil)-21h,23h-porfirina</i>
TPyP	<i>5,10,15,20-meso-(4-piridil)porfirina</i>

V	<i>Volume de amostra irradiada pelo pulso de excitação</i>
VZLBC	<i>Varredura z com luz branca contínua</i>
VZTP	<i>Varredura-z com trem de pulsos</i>
Xe	<i>Xenônio</i>
ZnTMPyP	<i>5,10,15,20-tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21h,23h-porfirina de zinco ii</i>
ZnTMPyP	<i>5,10,15,20-meso-(4-piridil)porfirina de zinco ii</i>
ZnTPPS₄	<i>5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatofenil)-21h,23h-porfirina de zinco ii</i>
γ_{Δ}	<i>Eficiência de geração de oxigênio singlete</i>
ϵ	<i>Coefficiente de absortividade molar</i>
ϵ_S	<i>Coefficiente de absortividade molar do estado singlete</i>
ϵ_T	<i>Coefficiente de absortividade molar do estado tripleto</i>
λ	<i>Comprimento de onda da radiação</i>
ξ	<i>Coefficiente de recobrimento</i>
ζ	<i>Potencial zeta</i>
$\zeta_{pH=7}$	<i>Potencial zeta em pH fisiológico</i>
λ_{an}	<i>Comprimento de onda da luz de análise</i>
τ_{S_1}	<i>Tempo de vida do estado singlete excitado s_1</i>
τ_T	<i>Tempo de vida do estado tripleto</i>
$\tau_T(N_2)$	<i>Tempo de vida do estado tripleto na ausência de oxigênio</i>
τ_n	<i>Tempo de vida de transições entre estados excitados</i>
ΔA	<i>Absorção transiente</i>
ΔA^s	<i>Absorção transiente de um padrão</i>
ΔA_0	<i>Amplitude da curva de absorção transiente imediatamente no instante após ao pulso de excitação da amostra.</i>
ΔA_0^s	<i>Amplitude da curva de absorção transiente imediatamente no instante após ao pulso de excitação de um composto padrão</i>
ΔA_f	<i>Absorção transiente no final do experimento</i>
ΔA_i	<i>Absorção transiente no início do experimento</i>
ΔA_{max}	<i>Absorção transiente máxima</i>
ΔA_{max}^s	<i>Absorção transiente máxima de um composto padrão</i>
Φ	<i>Rendimento quântico</i>
Φ_T	<i>Rendimento quântico de formação de estados tripleto</i>
Φ_T	<i>Rendimento quântico de formação de oxigênio singlete</i>
Φ_{fl}	<i>Rendimento quântico de fluorescência</i>
Φ_{fl0}	<i>Rendimento quântico de fluorescência de composto padrão</i>
$\Phi_T(N_2)$	<i>Rendimento quântico de formação de estados tripletos na ausência de oxigênio</i>
Φ_T^*	<i>Rendimento de formação de tripletos obtido por lff através do método alternativo proposto neste trabalho</i>
Φ_T^{**}	<i>Rendimento de formação de tripletos obtido pela técnica de vztp</i>
Φ_T^{***}	<i>Média do rendimento de formação de tripletos obtidos da literatura.</i>
Φ_T^s	<i>Rendimento quântico de tripleto de um composto padrão</i>
1O_2	<i>Oxigênio singlete</i>
$^1\Delta_g$	<i>Estado singlete delta g</i>
$^1\Sigma_g^+$	<i>Estado singlete sigma g mais</i>

$^3\text{O}_2$ *Oxigênio tripleto* $^3\Sigma_g^-$ *Estado tripleto sigma g menos* $[\text{Q}]$ *Concentração do agente supressor*

RESUMO

A caracterização fotofísica permite avaliar os processos subsequentes ao fenômeno de absorção da luz, o que é de interesse para diversas aplicações, tanto na área de química de materiais, quanto para a fotomedicina. Este trabalho teve como objetivos gerais a caracterização fotofísica de potenciais agentes fotossensibilizadores porfirínicos e sua interação com biomoléculas e nanoestruturas. Para isso, as técnicas espectroscópicas de Absorção Transiente (ou Laser Flash-Fotólise) e um Espectrofotômetro foram implantados e seus protocolos de uso estabelecidos. Com tais técnicas em operação, foi proposto um método alternativo para determinação do rendimento de formação de estados tripleto e a obtenção do rendimento de formação de oxigênio singleto, propriedades fundamentais para caracterização de fotossensibilizadores. Foi possível investigar a interação de porfirinas hidrossolúveis com a albumina de soro bovino e verificar que essa interação afeta os tempos de vida de estados tripleto e os rendimentos de oxigênio singleto. Tais parâmetros se mostraram fortemente influenciados pela presença de oxigênio e localização das porfirinas dos sítios de interação na estrutura da proteína. Outro estudo realizado foi a de interação de porfirinas catiônicas com ferrofluidos aniônicos de ferrita de manganês (FeMn_2O_4) no qual a interação leva a supressão da fluorescência e da geração de oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) dos fotossensibilizadores e, curiosamente, esta interação não é governada majoritariamente por interações do tipo eletrostáticas, mas, principalmente, via interações quimiossортivas e fisissортivas. Além disso, foi demonstrado que o aquecimento fototérmico quebra a interação com a nanoestrutura, restaurando as propriedades fotofísicas do fotossensibilizador, tornando assim este sistema uma nanoestrutura multifuncional com propriedades luminescentes e teranósticas.

Palavras Chave: *laser flash-fotólise; oxigênio singleto; terapia fotodinâmica; biomoléculas; nanoestruturas.*

ABSTRACT

The photophysical characterization allows the assessment of processes following the phenomenon of light absorption, which is of interest for various applications, both in the field of materials chemistry and in photomedicine. This work aimed at the photophysical characterization of potential porphyrinic photosensitizers and their interaction with biomolecular systems and nanostructures. To achieve this, the spectroscopic techniques of Transient Absorption (or Laser Flash-Photolysis) and a Spectrophosphorimeter were implemented, and their usage protocols were established. With these techniques in operation, an alternative method for determining the triplet state formation yield and obtaining the singlet oxygen formation yield was proposed, fundamental properties for the characterization of photosensitizers. It was possible to investigate the interaction of water-soluble porphyrins with bovine serum albumin and verify that this interaction affects the triplet states lifetimes and singlet oxygen yields. These parameters were strongly influenced by the presence of oxygen and the porphyrin's location at the interaction sites in the protein structure. Another study conducted was the interaction of cationic porphyrins with manganese ferrite (FeMn_2O_4) anionic ferrofluids in which the interaction leads to the suppression of fluorescence and singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) generation of the photosensitizers. Interestingly, this interaction is not predominantly governed by electrostatic interactions but mainly through chemisorptives and physisorptives interactions. Additionally, it was demonstrated that photothermal heating breaks the interaction with the nanostructure, restoring the photophysical properties of the photosensitizer, making this system a multifunctional nanostructure with luminescent and theranostics properties.

Key words: *laser flash photolysis; singlet oxygen; photodynamic therapy; biomolecules; nanostructures.*

Capítulo I

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS

*Neste capítulo serão discutidas as definições gerais
a respeito da terapia fotodinâmica, suas aplicações
e de seu estado da arte.*

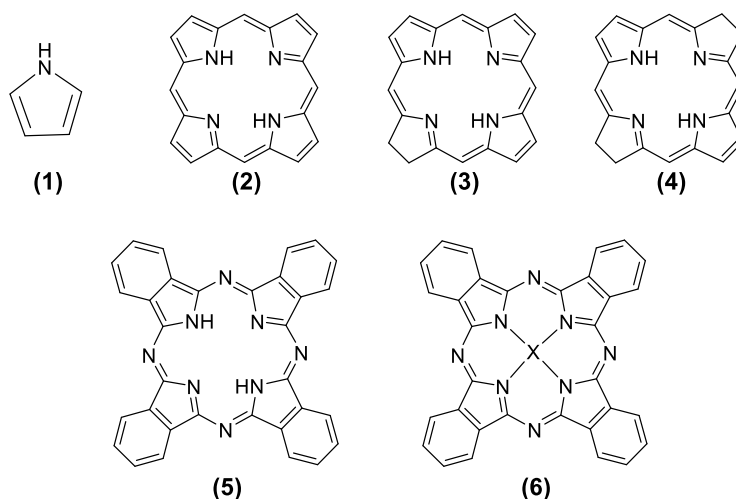
1. Introdução e Justificativa

Nos últimos anos a Terapia Fotodinâmica (TFD) tem se apresentado como um método terapêutico promissor para o tratamento de doenças oncológicas e infecciosas. A ação terapêutica fotodinâmica se baseia na administração de um *um composto fotoativo ou molécula fotossensibilizador* (FS), ativado pela luz, e principalmente na presença de *oxigênio molecular gera espécies reativas de oxigênio* (EROS) para a destruição de alvos biológicos.

Diversos estudos têm demonstrado a aplicabilidade e eficácia da TFD com uso complementar às técnicas tradicionais de tratamento de cânceres (remoção cirúrgica, quimioterapia e radioterapia) podendo, também, aumentar a expectativa de sobrevida em pacientes terminais. O grande sucesso da TFD advém da baixa toxicidade apresentada pelos FSs na ausência de luz, uso de radiações não-ionizantes, além de sua boa seletividade e especificidade frente ao alvo biológico a ser tratado, evitando mecanismos de resistências intrínsecos ou adquiridos (AGOSTINIS *et al.*, 2011), e prolongando o tempo de sobrevida de pacientes inoperáveis (ABRAHAMSE; TYNGA, 2018).

Deste modo, a busca por desenvolvimento de FSs de maior eficiência reúne esforços de pesquisadores das áreas da Química, Física, Biologia e Ciências da Saúde. De um modo geral, os FSs devem apresentar: absorção na região do visível (400-800 nm), contudo a absorção entre 600-800 nm é mais desejável devido à sua maior penetrabilidade e menor absortividade em tecidos biológicos; capacidade de formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs); mecanismos favoráveis de farmacocinética e farmacodinâmica quando administrados no corpo humano (CALORI; TEDESCO, 2016). As principais classes de moléculas que satisfazem esses requisitos são os derivados de ciclos pirrólicos (1), tais como as porfirinas (2), as clorinas (3) e bacterioclorinas (4), as ftalocianinas (5) e metalo-ftalocianinas (6) (TAMPA *et al.*, 2019), dentre outros, conforme ilustrado na *Figura 1*.

Figura 1- Estruturas moleculares do anel pirrólico (1), porfirina (2), clorina (3), bacterioclorina (4), ftalocianina (5) e metalo-ftalocianina (6).



Fonte: Autoria Própria

O sucesso da TFD vem sendo verificado no tratamento dos mais diversos tipos de neoplasias malignas, como as de pele (WANG *et al.*, 2008), de pulmões (BANERJEE *et al.*, 2017), aparelho gastrointestinal e outras (YANO; WANG, 2020). Recentemente, a ação fotodinâmica explorada no combate a microrganismos patogênicos, onde passa a ser denominada *Inativação Fotodinâmica (IFD)* (GONÇALVES *et al.*, 2021; PERUSSI, 2007). Neste sentido, nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido alguns trabalhos que demonstraram a eficácia da IFD frente ao fungo *Paracoccidioides brasiliensis* (ALMEIDA *et al.*, 2012), às bactérias do gênero *Salmonella Typhimurium* (GONÇALVES *et al.*, 2020a) e ao Alfaherpesvirus bovino I (BoHV-1) (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Uma outra possibilidade a ser explorada é a possível inativação fotodinâmica do coronavírus SARS-COV-2, responsável pela pandemia de Covid-19, cujo até meados de 2023, matou 6,9 milhões de pessoas em todo mundo, sendo quase 700 mil óbitos registrados no Brasil (NUZZO *et al.*, 2023). Alguns pesquisadores tem reforçado que a IFD possui potencial aplicabilidade na síndrome Covid-19 em virtude de já existirem protocolos estabelecidos de TFD para outras doenças pulmonares (DIAS; BAGNATO, 2020; MOGHISSI *et al.*, 2020). Estudos de *docking molecular* demonstraram uma alta afinidade do vírus SARS-COV-2 ao grupo heme da hemoglobina, sendo este

o motivo causador de hipóxia nos indivíduos infectados. Sendo assim, os FSs porfirínicos, que possuem estrutura química muito similar à hemoglobina, são aptos a serem usados de ‘moléculas de sacrifício’ para interagirem com a estrutura viral e posteriormente, sob irradiação, fotoinativá-los (KIPSHIDZE *et al.*, 2020).

Para que sejam desenvolvidos novos métodos terapêuticos baseados em TFD e IFD se faz necessária a compreensão da natureza da interação de FSs com estruturas biológicas (proteínas, enzimas, ácidos nucleicos) e de como essas interações modificam as propriedades fotofísicas, e conseqüentemente, a formação de espécies reativas que vão ocasionar a morte celular ou à inativação do microrganismo. Além disso, os processos de interação envolvidos influenciam nos processos de biotransporte e bioacumulação dos FSs em seus alvos terapêuticos.

No sangue, as proteínas mais abundantes são a hemoglobina e a albumina sérica; sabe-se que essas biomoléculas são as grandes responsáveis pelo transporte de nutrientes e de drogas (MAKARSKA-BIALOKOZ, 2018). O estudo da interação de FSs com a albumina sérica bovina (BSA) é um sistema-modelo amplamente utilizado para avaliação do comportamento destes no corpo humano, uma vez que a BSA possui grande similaridade estrutural com a albumina sérica humana (HSA) (BELATIK *et al.*, 2012); devido às suas características estruturais, a BSA consegue interagir com os FSs através de interações de Van der Waals, ligações de hidrogênio e atrações eletrostáticas (SANTOS *et al.*, 2020).

Os processos de interação alteram as conformações estruturais do FS e da proteína, causando modificações em suas propriedades fotofísicas. Na BSA, a formação de interações com o FS leva a supressão da fluorescência da banda de emissão em 347 nm, associada a dois resíduos de triptofano (Trp-134 e Trp-212), situados em dois domínios proteicos de interações hidrofóbicas (BELATIK *et al.*, 2012) e a eventual formação de agregados (LEBEDEVA *et al.*, 2021). Para os fotossensibilizadores, em destaque as porfirinas e seus complexos, as principais

mudanças observadas, em decorrência desta interação, são o deslocamento das bandas de absorção (CHATTERJEE; SRIVASTAVA, 2000), agregação molecular, alteração dos tempos de vida de estado tripleto (BORISSEVITCH *et al.*, 1998) e rendimento de formação de oxigênio singleto (HIRAKAWA *et al.*, 2015; KOŘÍNEK *et al.*, 2006).

Ademais, pensando no processo de biodistribuição de fármacos, nas últimas décadas o advento da nanotecnologia apresentou diversos sistemas de liberação-entrega (*drug-delivery*) como as nanoemulsões a base de micelas (HARI *et al.*, 2023), lipossomas (LIU *et al.*, 2022), nanocápsulas (IDLAS *et al.*, 2023) e nanopartículas (CHANDRAKALA *et al.*, 2022). Dentre estas, destacam-se como umas das opções promissoras, as nanopartículas a base de óxido de ferro (ferritas).

As nanopartículas ferritas podem ser sintetizadas por diversas metodologias químicas com alto grau de homogeneidade química, controle de tamanho e morfologia (LEE *et al.*, 1998; PRASAD *et al.*, 1998; TOURINHO *et al.*, 1990). Uma das propriedades das nanopartículas de ferrita, quando se encontram em escala nanométrica, é a passagem do regime de *ferromagnetismo* para o regime *superparamagnetismo*, no qual as nanopartículas apresentam ordenamento spins somente na presença de campo magnético externo (COEY, 2010; CULLITY; GRAHAM, 2007; JEONG *et al.*, 2007). Além disso, a superfície destas nanopartículas pode ser funcionalizada com diferentes tipos de moléculas e biomoléculas fazendo com que seu preparo seja focado no alvo terapêutico ou na aplicação aos quais serão designados (AHMAD *et al.*, 2022; COMANESCU, 2023).

Do ponto de vista das propriedades fotofísicas existem alguns estudos de interação entre porfirinas e nanoestruturas. Quando combinadas com nanopartículas magnéticas o sistema resultante apresentam maior biodisponibilidade e desenvolvem propriedades *teranósticas*, isto é, *terapêuticas* e *diagnósticas* (LIANG *et al.*, 2021), uma vez que a afinidade destas plataformas com tecidos neoplásicos é maior e as propriedades fluorescentes das porfirinas é utilizada para o mapeamento e o imageamento da área

afetada; em adição, uma vez que elas são desligadas das nanopartículas, na localidade do tumor, é utilizada a sua tradicional ação fotodinâmica para destruição do tecido. Há também contribuições na Química Ambiental de que porfirinas ligadas às nanopartículas catalisam a degradação de pesticidas (SANTOS *et al.*, 2012). Além disso, os sistemas conjugados podem apresentar propriedades fototérmicas que atuam em sinergismo com às teranósticas (OVERCHUK *et al.*, 2023).

Deste modo, podemos elencar que o estado da arte da pesquisa em TFD e IFD, nos tempos atuais, concentra-se em: i) desenvolver novas moléculas FSs e aperfeiçoar as metodologias sintéticas já estabelecidas; ii) caracterização fotofísica de FSs; iii) estudo de interação com biomoléculas e estruturas biológicas; iv) estudo de interação com nanoestruturas e plataformas de *drug delivery*; v) ensaios *in vitro*, *in vivo* dos FSs frente a diferentes patologias e demais aplicações biológicas.

Para realização destes estudos se faz necessário o uso de técnicas espectroscópicas específicas para monitoramento das propriedades fotofísicas nos diferentes estágios. Nos últimos anos, o Grupo de Biofotônica da UFG tem se dedicado para aquisição de tais técnicas.

Neste sentido, o presente trabalho teve como principais focos a implantação de técnicas experimentais e estabelecimento de protocolos metodológicos para a caracterização fotofísica de potenciais agentes FSs, com ênfase nas técnicas de Laser *flash*-fotólise e detecção de $^1\text{O}_2$ tanto pelo método indireto, utilizando o ácido úrico como sonda molecular, quanto pelo método direto, através da Espectroscopia de fosforescência. Uma vez implantadas as técnicas, elas foram utilizadas para o estudo de interação entre porfirinas com biomoléculas e nanoestruturas.

Capítulo II

OBJETIVOS

Neste capítulo serão apresentadas os objetivos gerais e específicos selecionados para o escopo do trabalho desta tese

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivos gerais o estudo da caracterização fotofísica de potenciais agentes fotossensibilizadores porfirínicos e sua interação com sistemas biológicos e nanoestruturas. Para isso, um conjunto de técnicas espectroscópicas teve de ser implantada no Grupo de Biofotônica da UFG e seus protocolos de uso estabelecidos. Tais técnicas permitem a completa caracterização fotofísica de compostos fotossensibilizadores, o monitoramento de seus estados excitados e produção de espécies reativas de oxigênio. Para isso, destacamos os seguintes objetivos específicos:

- i. Implantar a técnicas de Espectroscopia de Absorção Transiente (Laser *Flash*-Fotólise), propondo e validando um método alternativo de determinação do rendimento de formação de estados tripletos.
- ii. Implantar a técnica de detecção direta de $^1\text{O}_2$ com a instalação de espectrômetro de fosforescência e estabelecer os protocolos necessários para determinação do rendimento de formação de $^1\text{O}_2$;
- iii. Avaliar as propriedades fotofísicas de diferentes porfirinas;
- iv. Estudo de interação de porfirinas catiônicas e aniônicas com a albumina sérica bovina (BSA);
- v. Estudo da interação de porfirinas catiônicas com ferrofluidos aniônicos de nanopartículas de ferrita de manganês (MnFe_2O_4).

Capítulo III

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo serão abordados conceitos teóricos sobre fotofísica e de seus fenômenos associados.

Além disso, serão apresentados e discutidos aspectos gerais das técnicas espectroscópicas utilizadas neste trabalho.

elétrons podem ser promovidos para níveis vibracionais dos estados excitados S_1 ($S_0 \rightarrow S_1$) ou S_2 ($S_0 \rightarrow S_2$).

Uma vez nesses estados, os elétrons podem dissipar a energia absorvida por *relaxação não-radiativa*, representados pelas setas curvilíneas, que pode ocorrer via *processos vibracionais*, através de perdas térmicas ou colisões moleculares, ou podem transicionar entre diferentes níveis eletrônicos, através de um processo denominado por *conversão interna*; a conversão interna é uma transição não-radiativa que ocorre entre estados de mesma multiplicidade, em virtude da sobreposição entre níveis vibracionais de diferentes níveis eletrônicos.

A dissipação de energia radiativa ocorre através da emissão de luz, resultando no fenômeno de *fluorescência* ($S_1 \rightarrow S_0$). De acordo com a Regra de Kasha, a fluorescência ocorre preferencialmente através da relaxação do estado excitado de menor energia (S_1) para o estado fundamental (S_0) (LAKOWICZ, Joseph R, 2006).

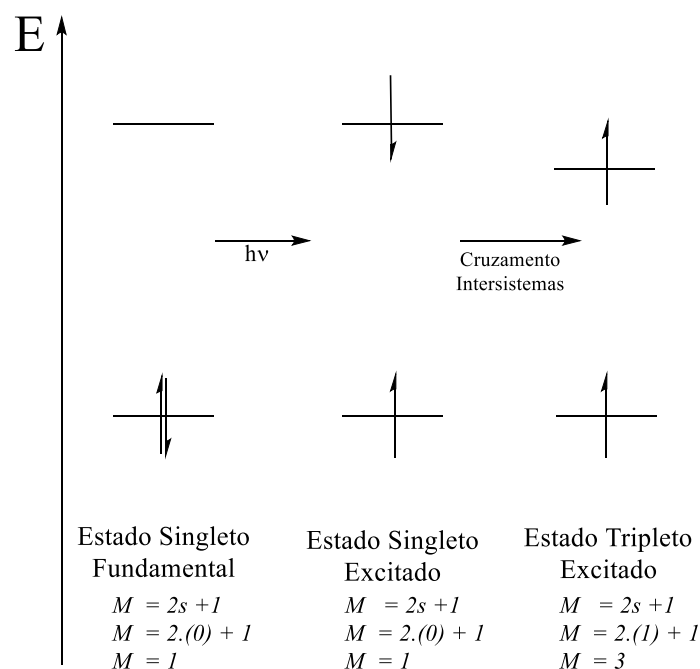
Outro processo fotofísico que ocorre quando o elétron se encontra em um estado singlete excitado é o *cruzamento intersistemas*. Neste fenômeno ocorrerá uma mudança da configuração de spin de um elétron, convertendo um estado eletrônico singlete (S_1) para um estado eletrônico estado tripleto (T_1). No estado T_1 , o elétron poderá relaxar-se não-radiativamente, através de cruzamento intersistemas e processos vibracionais, ou relaxará radiativamente através de fenômeno conhecido por *fosforescência* ($T_1 \rightarrow S_0$). Além disso, os termos τ_n representam o tempo de vida das respectivas transições. Uma vez que a observação destes processos possui uma dependência temporal, os tempos de vida representam os intervalos de tempo nos quais os elétrons permanecem em determinado estado excitado.

O que difere os estados singlete e tripleto são as multiplicidades totais dos *spins* eletrônicos (M). A multiplicidade total é dada pela relação entre os momentos angulares totais de *spin* dos elétrons (S):

$$M = 2S + 1 \text{ (Eq. 1)}$$

Em um mesmo nível de energia, os elétrons podem apresentar-se com orientações de *spins* paralela ou antiparalelas, sendo que, de acordo com a Regra de Hund, a configuração antiparalela entre os *spins* apresenta menor energia. O estado singlete (Figura 3) é descrito por uma configuração eletrônica com a orientação dos spins antiparalela, e de acordo com a (Eq.1), os dois momentos magnéticos dos *spins* cancelam-se, resultando em uma multiplicidade do estado eletrônico total igual a 1. No estado tripleto, por sua vez, a orientação dos *spins* é paralela, fazendo com que os momentos magnéticos individuais de spins se somem, resultando assim, em uma multiplicidade total do estado eletrônico igual a 3 (ATKINS; PAULA, 2008).

Figura 3 - Representação do diagrama de energias dos estados singlete e tripleto com o cálculo de suas respectivas multiplicidades (M).



Fonte: Autoria Própria

As diferenças de multiplicidades, entre os estados eletrônicos, refletem-se em seus tempos de vida dos estados. Enquanto os tempos de vida da fluorescência são da ordem de 10^{-10} a 10^{-7} s, no processo da fosforescência os

tempos de vida são relativamente mais longos, na ordem de 10^{-6} a 10 s. Os maiores tempos de vida se devem a baixa probabilidade de ocorrência desta transição $T_n \rightarrow S_0$, conforme a regra de seleção denominada *Regra de Spin*, e pelo maior tempo requerido para ocorrência dos processos fotofísicos, apresentados no Digrama de Jabłoński, que culminam na formação do estado tripleto: absorção e excitação de S_0 para S_1 , seguida da ocorrência de cruzamento intersistemas gerando o estado T_1 , que finalmente poderá ser relaxado através de processos radiativos e não-radiativos para S_0 .

Em termos energéticos, o estado tripleto possui menor energia que o estado singleto. Esse fenômeno é previsto pela Regra de Hund e está associado ao efeito de correlação de spins. Quando os elétrons em T_1 estão com spins paralelos, existe uma tendência de se afastarem, diminuindo a repulsão eletrostática; em consequência disso, ocorre uma contração da nuvem eletrônica, devido ao aumento da atração elétron-núcleo, diminuindo a energia deste estado (ATKINS; PAULA, 2008).

No caso das moléculas FSs, uma vez que estas assumem estado tripleto, elas possuem energia necessária para reagirem com outras moléculas, através de reações de foto-oxidação, cujos produtos ocasionam a morte celular, conforme demonstrado na *Figura 2*.

As reações de foto-oxidação são originadas a partir de dois mecanismos competidores entre si: i) processos de transferência eletrônica (reações do tipo I) e processos de transferência de energia para a molécula de oxigênio no estado tripleto (reações do tipo II).

O mecanismo do tipo I envolve a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), termo designado para elencar o grupo de moléculas reativas e de radicais derivados do oxigênio molecular. A grande maioria dos produtos do mecanismo das reações de tipo I, já são naturalmente formadas por processos

mitocondriais de transporte de elétrons, sendo a sua geração catalisada pelos FSs (HELD, 2021).

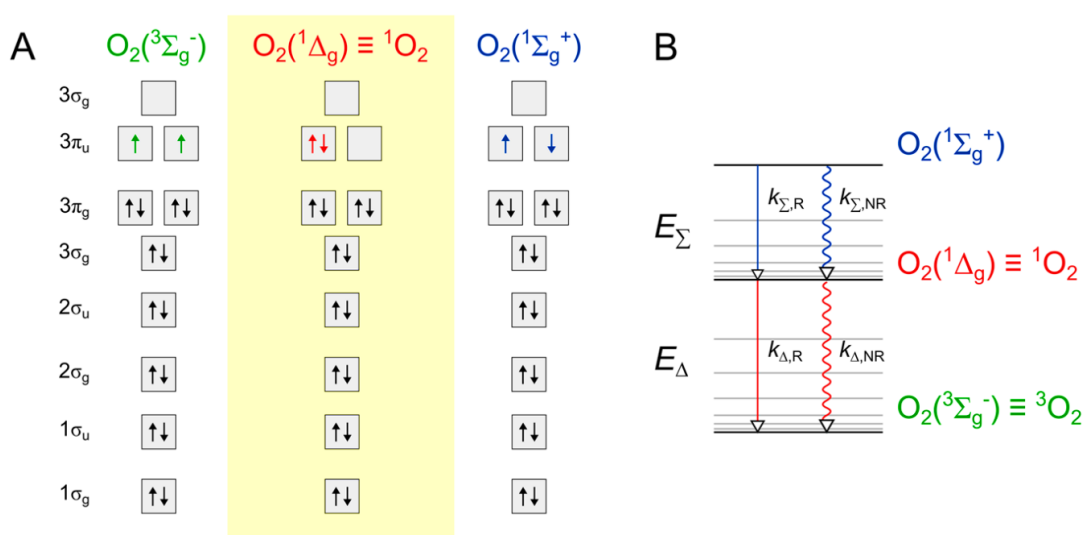
As principais espécies formadas pelas reações de tipo I são os ânions peróxidos (O_2^{2-}) e radicais superóxidos ($\cdot O_2^-$), além dos radicais hidroxilas ($\cdot OH$). Dentre essas, o radical hidroxila é a espécie mais agressiva, por sua habilidade reativa frente a quase todas as classes de biomoléculas; ele é formado como produto das reações com o ânion superóxido ou através da foto-oxidação da água. Em TFD, a utilização de FSs com altos índices de rendimento de EROs aniônicas e/ou radicalares são a escolha mais adequada para o tratamento de tumores com baixa taxa de irrigação sanguínea (ZHUANG *et al.*, 2020).

O principal produto formado por reações com mecanismo do tipo II é o oxigênio singlete (1O_2), que é a espécie mais importante para aplicações em TFD e IFD. Este mecanismo é favorecido em condições reacionais com alta concentração de oxigênio resultando na transferência de energia entre o FS, em seu estado tripleto, para o oxigênio molecular presente no meio (BAPTISTA *et al.*, 2017).

A configuração eletrônica do O_2 em seu estado fundamental é $(1\sigma_g)^2(1\sigma_u)^2(2\sigma_g)^2(2\sigma_u)^2(3\sigma_g)^2(3\sigma_u)^2(3\pi_g)^4(3\pi_u)^2$. Diferentemente das demais moléculas homonucleares, o O_2 em seu estado fundamental apresenta configuração eletrônica de camada aberta com dois elétrons desemparelhados que, de acordo com a regra de Hund, ocupam orbitais moleculares diferentes (*Figura 4*). Esta configuração eletrônica é comumente designada com a terminologia $O_2 (^3\Sigma_g^-)$ ou simplificada 3O_2 : o sobrescrito “3” indica que o estado eletrônico corresponde a um estado tripleto, e o símbolo “ Σ ”, que seu momento angular orbital (M_L) é igual a 0; o subscrito “g” indica que o orbital molecular é simétrico em relação ao eixo da ligação química. Os dois estados excitados de menor e maior energia do O_2 são estados singlete e os seus orbitais moleculares também são simétricos (g) em relação ao eixo da ligação; contudo,

possuem M_L distintos (*Figura 4.a*). O estado excitado singleto de menor energia, $O_2(^1\Delta_g)$ ou 1O_2 , possui M_L igual a 2, sendo representado pela notação Δ . Por outro lado, o M_L do estado singleto excitado de maior energia é 0, sendo este um outro estado Σ , representado pela notação $O_2(^1\Sigma_g^+)$ (BOIX-GARRIGA *et al.*, 2016).

Figura 4 - a) Diagrama de orbital molecular do estado fundamental ($^3\Sigma_g^-$) do O_2 e de seus estados excitados de menor ($^1\Delta_g$) e maior energia ($^1\Sigma_g^+$); b) Diagrama de Jablonski simplificados dos estados tripleto($^3\Sigma_g^-$) e singletos ($^1\Delta_g$, $^1\Sigma_g^+$) do O_2 .



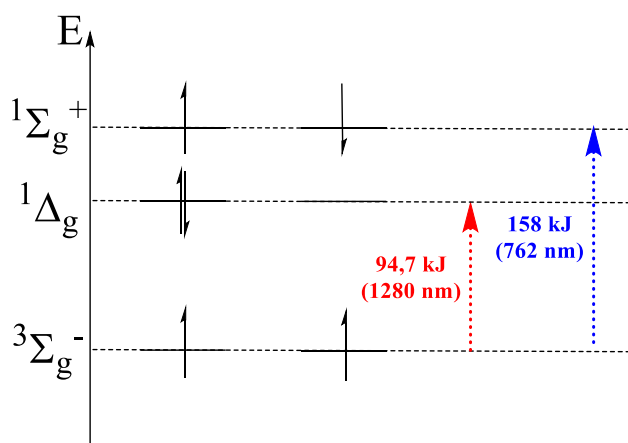
Fonte: Reproduzido de Boix-Garriga et al. (2016) com a autorização do Royal Chemical Society © 2016.

Em termos energéticos, a energia envolvida na transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ corresponde a $94,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ($\approx 1280 \text{ nm}$) e a diferença de energia envolvida na transição $^1\Sigma_g^+ \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ corresponde a 158 kJ.mol^{-1} ($\approx 762 \text{ nm}$), conforme representado na *Figura 5*. A transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ é proibida pela regra de seleção de spin, o que resulta em seu alto tempo de vida de relaxação (10^{-6} - 10^{-3} s) que propicia a reação desta espécie com outras estruturas biológicas, resultando na ação fotodinâmica. Além disso, vale ressaltar que, sendo a transição $^3\Sigma_g^- \rightarrow ^1\Delta_g$ proibida pela regra de seleção de spin, a forma mais eficiente de produzir a forma

excitada do oxigênio, o oxigênio singlete $O_2(^1\Delta_g)$, é através do processo de transferência de energia a partir de um composto FS.

O estado $^1\Sigma_g^+$, por sua vez, é relaxado através da transição $^1\Sigma_g^+ \rightarrow ^1\Delta_g$, permitida por spin, que apresenta um curto tempo de vida (10^{-11} - 10^{-9} s). Experimentalmente, a primeira transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ é facilmente observada em espectros de emissão fosforescente, na região próxima de 1280 nm, devido à metaestabilidade do estado $^1\Delta_g$ e à relaxação das regras de seleção em virtude do acoplamento *spin-órbita* (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002).

Figura 5 - Diferença entre os níveis de energia dos orbitais HOMO das espécies $^3\Sigma_g^-$, $^1\Delta_g$ e $^1\Sigma_g^+$ da molécula de oxigênio.



Fonte: Autoria Própria

A grande importância da espécie 1O_2 vem de sua alta toxicidade e reatividade com estruturas biológicas, pois a sua degradação conduz à formação de novas espécies radiculares.

Considerando a classe de aminoácidos, os mais reativos frente ao 1O_2 , em pH fisiológico, são o triptofano e a tirosina; em geral, eles são oxidados aos seus respectivos hidroperóxidos, através de ciclo-adições do tipo [3+2] e [4+2]. A reação com proteínas, comumente, gera hidroperóxidos que serão degradados por decomposição térmica, além de também gerarem radicais peroxila ($ROO\cdot$), na presença de íons metálicos. Para ambos caminhos reacionais, a formação de

hidroperóxidos resulta danos a outras proteínas celulares que levarão a morte celular por processos de apoptose (RONSEIN *et al.*, 2006).

Os lipídeos (LH) degradam-se aos seus respectivos hidroperóxidos; nessa classe de biomoléculas, destaca-se o processo de foto-oxidação dos fosfolipídios, cujos hidroperóxidos (LOOH), na ausência de enzimas antioxidantes, reagem com íons metálicos formando ácido hipocloroso (HClO) e outra molécula de $^1\text{O}_2$, gerando um conjunto de reações em cadeia. Devido a essa característica específica, comumente, são utilizados análogos sintéticos do colesterol e de fosfolipídios para o desenvolvimento de estudos de stress oxidativo em “membranas modelo” (DI MASCIO *et al.*, 2019).

A morte celular causada pela ação fotodinâmica pode acontecer por três mecanismos:

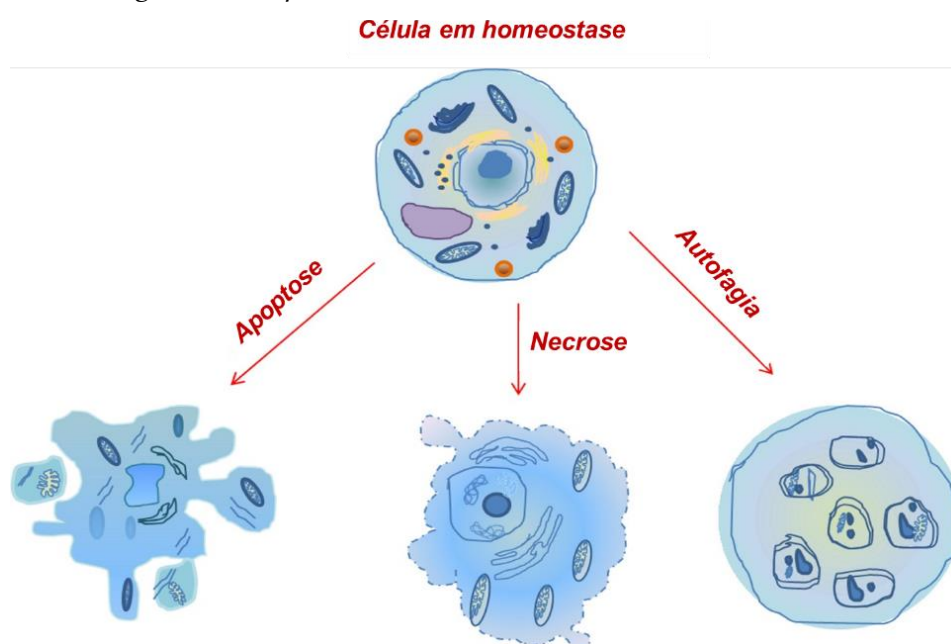
- i. Apoptose: é um tipo de morte celular programada, que ocorre de forma controlada e ordenada, geralmente para eliminar células danificadas, envelhecidas ou indesejadas. Durante a apoptose, as células encolhem e se fragmentam em pequenas vesículas, chamados corpos apoptóticos, evitando a liberação de substâncias prejudiciais ao ambiente.
- ii. Necrose: é um tipo de morte celular não programada, que ocorre devido a lesões ou condições extremas, como falta de oxigênio, infecções ou traumas. Ao contrário do apoptose, a necrose é um processo desorganizado e pode levar à inflamação e danos aos tecidos circundantes.
- iii. Autofagia: processo celular pelo qual as células reciclam seus próprios componentes internos, como organelas danificadas ou proteínas não funcionais. Durante a autofagia, as células formam vesículas chamadas autossomos, que englobam os materiais celulares indesejados e os direcionam para a degradação e reciclagem (ALBERTS *et al.*, 2017).

A compreensão do mecanismo de morte causado por um FS sob ação fotodinâmica é um processo complexo e de difícil generalização por serem

mecanismos ativados por distintas vias que dependem do tipo de FS utilizado, o protocolo de administração, a dosagem e localização do FS na célula, os níveis de oxigenação na região a ser tratada e a fonte de luz empregada. Sendo que um mesmo FS, em diferentes condições, pode levar a morte por dois mecanismos distintos, ou até mesmo desencadear múltiplos mecanismos simultaneamente em diferentes estágios da morte celular (CHILAKAMARTHI; GIRIBABU, 2017).

Na *Figura 6* são representados esquematicamente os mecanismos de morte celular aqui mencionados:

Figura 6 – Representação dos mecanismos de morte celular.



Fonte: Adaptado de Chilakamarthi & Giribabu (2017) com permissão da John Wiley and Sons. © 2017.

De acordo com MROZ e colaboradores (2011) “os dados presentes na literatura, até o momento, demonstram claramente que não é um único mecanismo que leva a morte celular através da TFD”, porém ele sinaliza os principais fatores que controlam a morte celular causada pela TFD. A *Tabela 1* elenca os principais fatores elencados, correlacionando com os danos estruturais e o mecanismo de morte celular envolvido:

Tabela 1: Principais mecanismos de morte celular ativados via TFD.

Mecanismos Anti-Tumorais e Terapia Fotodinâmica		
<i>Efeito pós TFD</i>	<i>Estruturas Biológicas Envolvidas</i>	<i>Mecanismos</i>
<i>Dano celular direto</i>	Mitocôndria	Apoptose
	Citoplasma	
	Retículo endoplasmático	Autofagia
	Desintegração da Membrana Celular	Necrose
<i>Oclusão ou rompimento vascular</i>	Depleção do suprimento de Oxigênio e nutrientes	Apoptose Necrose Autofagia
<i>Ativação de resposta Imunológica</i>	Células T citotóxicas	Apoptose via granzimas

Fonte: Adaptado de Mroz et al. (2011) com a autorização do Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) © Creative Commons Attribution 4.0 Unported License. 2013.

3.2 Técnicas Espectroscópicas:

3.2.1 *Espectros de Absorção de luz e determinação do coeficiente de absortividade molar:*

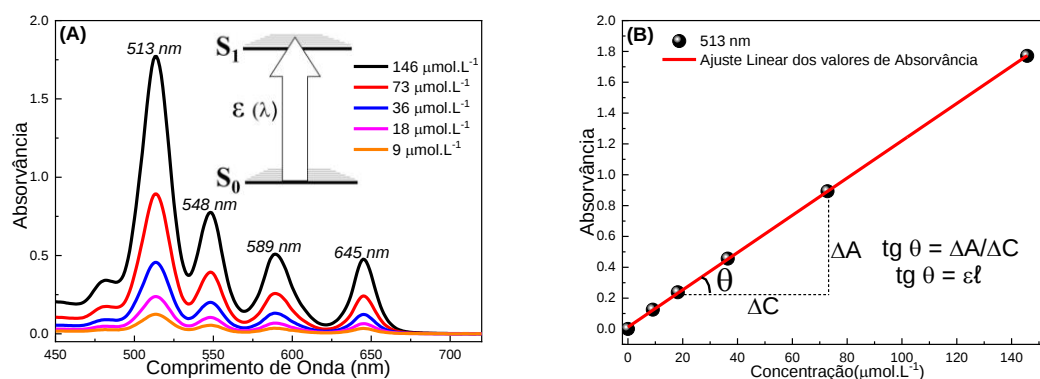
A técnica de absorção molecular na região do ultravioleta e visível permite avaliar as regiões em que os compostos absorvem luz; nesta técnica, são observadas as transições $S_0 \rightarrow S_1$ dos compostos estudados.

De acordo com a Lei de Beer, a *absorvância* (A) é uma grandeza experimental associada a quantidade de fótons absorvidos, em função do comprimento de onda da radiação incidente (λ) e o seu valor, para uma dada amostra é dado pelo produto da concentração da espécie absorvedora de luz (c), o caminho óptico da amostra (l), que é espessura da coluna de amostra analisada, e o *coeficiente de absortividade molar* (ϵ).

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda) c l \text{ (Eq. 2)}$$

O coeficiente de absortividade molar (ϵ) representa a probabilidade de absorção da radiação de uma amostra em função do comprimento de onda da radiação utilizada, ou seja, em função da sua energia (BORISSEVITCH *et al.*, 2015). A determinação experimental do ϵ é facilmente obtida em um experimento que coleta os espectros de absorção em diferentes concentrações (*Figura 7a*). Em um gráfico $A(\lambda) \times C$ (*Figura 7b*), a inclinação da reta ($tg \theta$) é dada pelo produto $\epsilon(\lambda)l$. Conhecendo o caminho óptico da amostra, calcula-se assim, o valor de ϵ para um determinado comprimento de onda.

Figura 7- a) Espectro do FS meso-tetra(fenil)porfirina (TPP), em diferentes concentrações, na região de 450 a 720 nm; b) valores de absorvância em 513 nm em função da concentração para determinação do $\epsilon(\lambda)$.



Fonte: Autoria Própria

Os espectros de absorção são de suma importância para a compreensão das propriedades fotofísicas e fotoquímicas de moléculas. Quando estes apresentam variações, tais como, estreitamento, alargamento, deslocamento, aparecimento ou desaparecimento de bandas, são indícios de mudanças estruturais (formação de agregados), interações e reações químicas ou, até mesmo, decomposição das moléculas do sistema em estudo; sendo que todos estes eventos têm repercussão nas demais propriedades fotofísicas.

3.2.2 Espectros de emissão fluorescente e determinação do rendimento quântico de fluorescência:

A Espectroscopia Fluorescência baseia-se na avaliação da emissão espontânea de luz, pela matéria quando esta é excitada por fótons. Através dessa técnica, é possível avaliar os processos de decaimento associados às transições $S_n \rightarrow S_0$.

Conforme mencionado previamente na seção 3.2.1, no estado S_1 a molécula pode relaxar pelos processos radiativos (emitindo um fóton) ou não-radiativos (conversão interna e cruzamento intersistemas), que podem ser descritos em termos das taxas ou constantes de velocidade em que as moléculas sofrem

desativação: k_r , k_{ci} e k_{cis} , respectivamente, representadas no quadro interno da *Figura 8.a*. A eficiência de um composto converter a luz absorvida em um determinado processo é caracterizada pelo rendimento quântico (Φ) (LAKOWICZ, Joseph R, 2006). Por exemplo, o rendimento quântico de fluorescência (Φ_{fl}) é definido pela razão entre o número de fótons emitidos pela molécula via fluorescência (n_{fl}) e o número de fótons absorvidos (n_{abs}):

$$\Phi_{fl} = \frac{n_{fl}}{n_{abs}} \text{ (Eq. 3)}$$

Este parâmetro também pode ser expresso em termos das taxas de ocorrência dos processos, para o caso da emissão de fluorescência, que é o processo radiativo (r):

$$\Phi_{fl} = \frac{k_r}{k_r + k_{ci} + k_{cis}} \text{ (Eq. 4)}$$

Através da combinação dos espectros de absorção UV-Vis e de emissão fluorescente, o rendimento quântico de fluorescência pode ser obtido através da relação (LAKOWICZ, Joseph R, 2006):

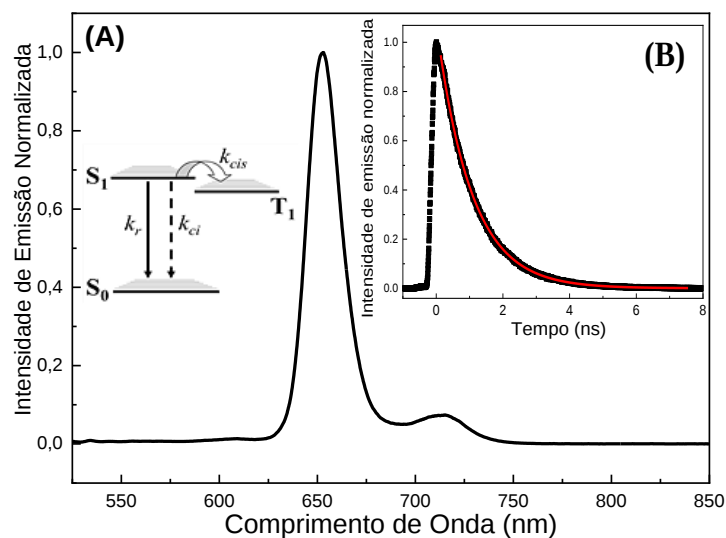
$$\Phi_{fl} = \frac{I_{fl}}{A} \frac{A_0}{I_{fl0}} \frac{n^2}{n_0^2} \Phi_{fl0} \text{ (Eq. 5)}$$

sendo I_{fl} e I_{fl0} são as integrais da curva do espectro de emissão fluorescente da amostra e do composto padrão previamente caracterizado, respectivamente. A e A_0 , os valores das respectivas absorções no comprimento de onda de excitação, n e n_0 os índices de refração dos solventes da amostra e do padrão e Φ_{fl0} o rendimento quântico do padrão.

Os processos de relaxação competem entre si e seu efeito em conjunto determinam o tempo de vida do estado excitado S_1 . A emissão de fluorescência pode ser analisada monitorando o espectro de emissão da fluorescência através de um espectrofluorímetro (*Figura 8.a*), ou a evolução temporal da intensidade de sua emissão utilizando um espectrofluorímetro resolvido no tempo, que permite obter o tempo de vida do estado S_1 (*Figura 8.b*). O tempo de vida do estado excitado é inversamente proporcional à soma das taxas de relaxação, para o estado S_1 , o tempo de vida τ_{S_1} será (BORISSEVITCH *et al.*, 2015):

$$\frac{1}{\tau_{S_1}} = k_r + k_{ci} + k_{cis} = \frac{1}{\tau_r} + \frac{1}{\tau_{ci}} + \frac{1}{\tau_{cis}} \quad (Eq. 6)$$

Figura 8 - a) Espectro de emissão de fluorescência da porfirina TPP; b) curva de decaimento temporal da intensidade de fluorescência da TPP.



Fonte: Autoria Própria

3.2.3 Espectroscopia de Absorção Transiente (Laser Flash-Fotólise) e seu uso para monitoramento de estados tripleto (T_n):

A Espectroscopia de Absorção Transiente, modernamente conhecida por *Laser Flash-Fotólise (LFF)*, é uma técnica que permite a observação direta das constantes de velocidade de espécies transientes, sejam elas de primeira ou pseudo-primeira ordem, associadas às reações fotoquímicas (HURLEY *et al.*, 1983).

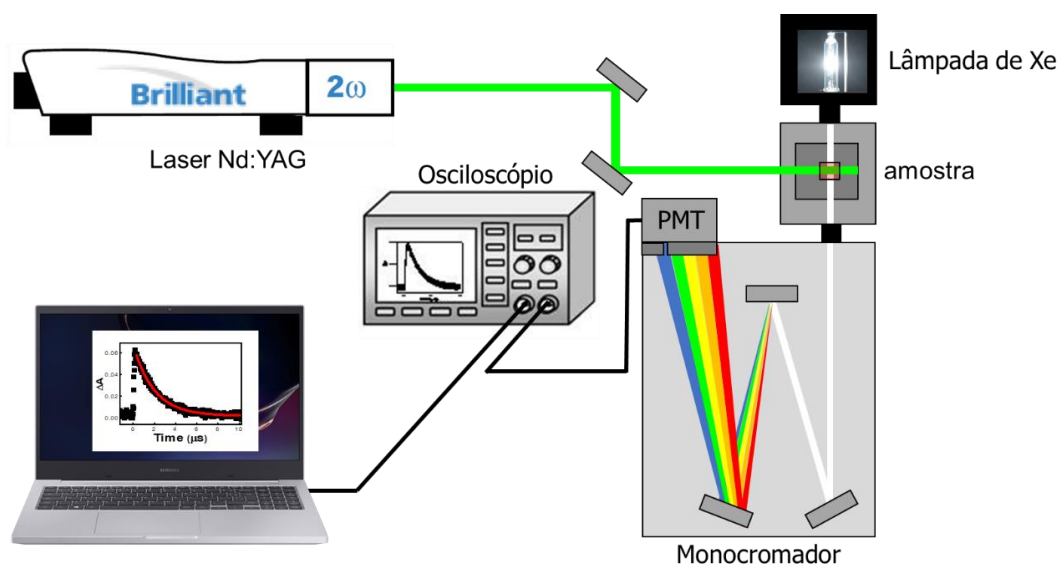
Essa técnica foi descoberta e desenvolvida em 1948, pelo químico britânico George Porter (*Lord Porter of Luddenham*) ao realizar experimentos com tubos de *flashes* de alta intensidade desenvolvidos para captura de fotografias noturnas de aviões da Segunda Guerra Mundial. Nestes experimentos, ele percebeu que esses *flashes* eram capazes de gerar espécies transientes (radicais

livres, estados tripletos) passíveis de detecção espectroscópica (PORTER, 1950). Devido a esse fenômeno de quebra de ligações químicas por pulsos de luz, surgiu o nome mais difundido e simplificado da técnica: *flash*-fotólise. Em 1967, George Porter, juntamente com Ronald Norish e Manfred Eigen, que contribuíram para o aprimoramento e estudo de aplicações da técnica, foram laureados com o Prêmio Nobel de Química (CHIZHOV, 2013).

O princípio experimental da técnica de LFF consiste na incidência de dois feixes luminosos, ortogonais entre si, em um arranjo de excitação conhecido como bombeio-prova (*pump-probe*), representado na *Figura 9.a* (BORISSEVITCH *et al.*, 2015). O bombeio (*pump*) é realizado por um intenso pulso de laser que irá produzir uma significativa população eletrônica no estado S_1 . Ao relaxar, uma fração dessa população eletrônica irá sofrer o cruzamento intersistemas ($S_1 \rightarrow T_1$) produzindo o estado tripleto T_1 (*Figura 9.b*). O sistema de prova (*probe*) é uma lâmpada contínua de xenônio que irá monitorar o decaimento da população de T_1 ao relaxar ao estado fundamental no cruzamento intersistemas ($T_1 \rightarrow S_0$). Um monocromador (MC) é utilizado para selecionar o comprimento de onda da luz de análise, a qual é detectada por uma fotomultiplicadora (FM). O sinal é então digitalizado por um osciloscópio que envia os dados a um computador para posterior análise. O sistema é disposto de forma que o feixe laser de bombeio se superponha ortogonalmente ao feixe de prova exatamente sobre a amostra, na forma de uma excitação transversal.

O primeiro parâmetro fotofísico obtido pela técnica de LFF é o tempo de vida do estado tripleto (τ_T). Este valor se relaciona à estabilidade do FS em seu estado tripleto excitado, que influencia o processo de transferência de energia para molécula de oxigênio e, conseqüentemente, à formação da espécie 1O_2 . O rendimento de formação de tripleto (Φ_T), por sua vez, refere-se à eficiência com que as espécies no estado tripleto são geradas.

Figura 9 - a) Representação esquemática do aparato experimental da técnica de LFF com o sistema de bombeio (Laser Brilliant, Quantel) e de análise (Lâmpada de Xe) ortogonais entre si, o monocromador (MC) acoplado a fotomultiplicadora (FM); b) Diagramas de níveis de energia dos processos fotofísicos monitorados pela técnica.



Fonte: Autoria Própria

3.2.4 Métodos espectroscópicos para Detecção de Oxigênio Singlete:

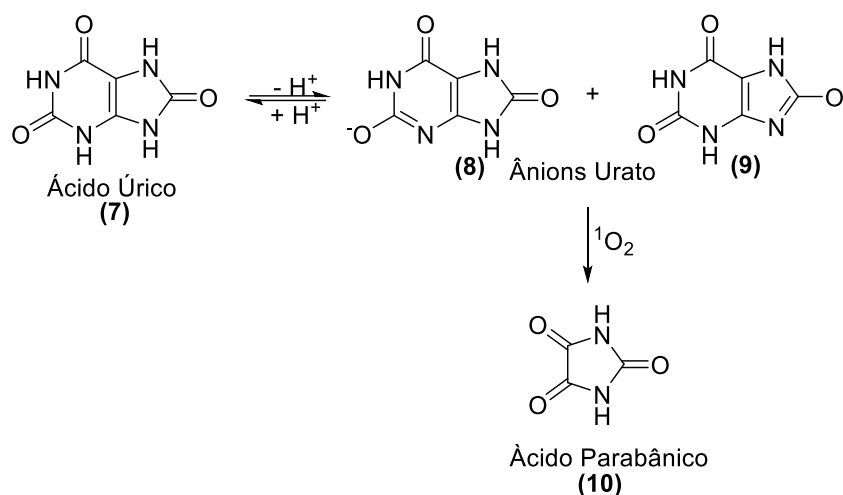
O processo de detecção do oxigênio singlete é uma das etapas cruciais para a consolidação e uso de uma nova molécula orgânica como um futuro FS. O processo de detecção e posterior determinação do *rendimento quântico de oxigênio singlete* (Φ_{Δ}) pode ser executada monitorando-se a banda de emissão fosforescente associada a transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ próximo de 1280 nm. Para isso, se faz necessário o uso de um espectrômetro de fosforescência, com detector refrigerado. Embora seja o método mais preciso, ele é bastante dispendioso e é denominado o *método direto de detecção de oxigênio singlete*.

Uma alternativa de mais baixo custo é o *método indireto* de detecção que monitora a reação entre o $^1\text{O}_2$ e uma molécula sonda. A geração de oxigênio singlete é avaliada pela variação de concentração do sensor, por absorvância ou emissão fluorescente, e devido a esta simplicidade metodológica, a detecção indireta é o mais comumente utilizada.

Tem sido reportado que espécies de caráter mais nucleofílicas são normalmente mais reativas com o $^1\text{O}_2$ (BREGNHØJ *et al.*, 2019) e têm maior potencial de uso como sondas. Nos últimos anos, uma das moléculas mais promissoras utilizadas para detecção de $^1\text{O}_2$ originado de porfirinas é o ácido úrico (GEROLA *et al.*, 2012). Sua grande vantagem está em sua moderada solubilidade em água (6 mg / 100 mL) e em solventes orgânicos como o dimetilsulfóxido (DMSO), além de sua relativa estabilidade. O ácido úrico devido ao seu pK_a (5,7) é adequado para realização de ensaios em condições biológicas ($\text{pH} \approx 6,8-7,4$) (RABELLO *et al.*, 2012a).

Em condições fisiológicas, o ácido úrico (**7**) se encontra desprotonado na forma de dois mono-ânions urato (**8** e **9**); essas espécies reagem com o oxigênio singlete tendo como o produto principal formado o ácido parabânico (**10**), conforme reação apresentada na *Figura 10* (BREGNHØJ *et al.*, 2019). Essa mudança estrutural leva a alteração do espectro de absorção do ácido úrico em consequência da presença o oxigênio singlete.

Figura 10 – Reações de equilíbrio ácido-base do ácido úrico (7) e formação do ácido parabânico (10) com o produto de reação com $^1\text{O}_2$



Fonte: Autoria Própria

As desvantagens na escolha do ácido úrico se dão pelo fato de que, em determinadas condições experimentais, ele pode reagir com outras EROS formadas, além do $^1\text{O}_2$, sendo que a variação observada na absorvância é sensivelmente afetada pela composição entre o sensor e FS (MONTAÑA *et al.*, 2008). Ademais, o ácido úrico também pode interagir e suprimir com outros tipos de estados excitados, como por exemplo o estado tripleto (FISCHER *et al.*, 1998).

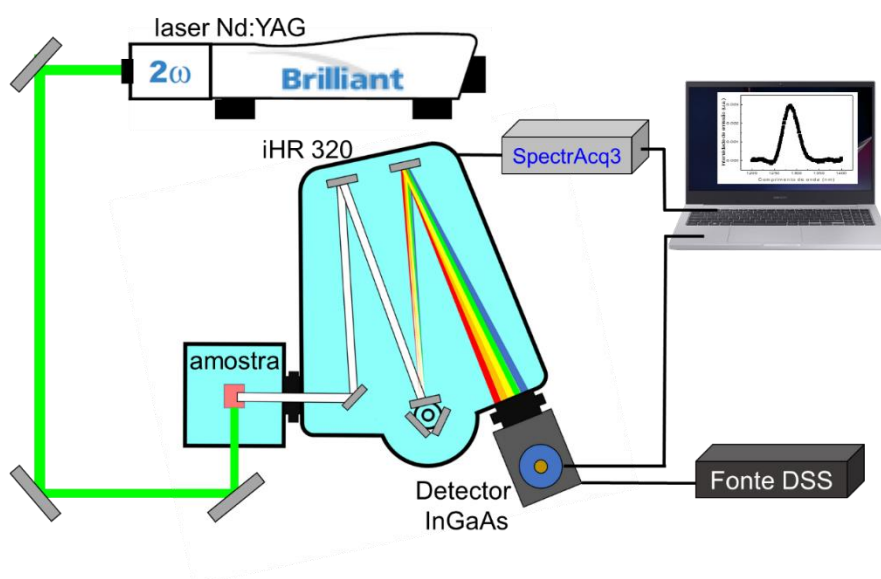
Outra limitação, apresentada pelo método indireto, é a quantificação do oxigênio singlete em sistemas complexos, como por exemplo, nos estudos de interação com biomoléculas; isso se deve à grande multiplicidade de mecanismos envolvidos na geração de espécies reativas e na degradação do sensor.

Para o estudo de interação com proteínas e sua influência no rendimento de formação de oxigênio singlete, a técnica de detecção mais apropriada consiste no método direto (Figura 11), uma vez que o uso do sensor no método indireto pode propiciar reações cruzadas com outras moléculas presentes no meio, além do FS. No caso específico do sensor ácido úrico foi determinado, por métodos espectroscópicos, que o seu transporte, no plasma sanguíneo, ocorre através de interações com os sítios hidrofóbicos da BSA nos resíduos contendo tirosina e

triptofano, causando, em altas concentrações, alterações na estrutura terciária proteica (MAKARSKA-BIALOKOZ; LIPKE, 2019). Deste modo, o ácido úrico poderia atuar como uma espécie competidora, com os FSs, frente a interação com os diferentes sítios da BSA.

No método direto, um espectrômetro é projetado de modo que possa captar a fosforescência da emissão do oxigênio singlete associada à relaxação do oxigênio singlete para o oxigênio em seu estado tripleto ($^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g$), usando como fonte de excitação um laser contínuo. A grande vantagem deste método é a alta seletividade e ausência de interferência no valor do rendimento pela produção de outras espécies. A sua desvantagem advém do alto custo de seu equipamento e a necessidade de um módulo de detecção na região do infravermelho que precisa ser continuamente resfriado com nitrogênio líquido no decorrer das análises.

Figura 11 – Representação esquemática do aparato experimental de detecção de $^1\text{O}_2$ pelo método direto. Na figura apresentamos uma fonte de luz laser (Brilliant, Quantel, emitindo em segundo harmônico, 532 nm a 10 Hz), o monocromador (MC), o detector (InGaAs), sua fonte DSS e a interface do computador é feita por meio do Spectraq.



Fonte: Autoria Própria

Capítulo IV

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos o processo de preparo das amostras e as condições experimentais gerais empregadas nas análises espectroscópicas.

4 Material e Métodos

4.1 Preparo das amostras:

Todas as porfirinas utilizadas neste trabalho tiveram suas soluções preparadas em tampão fosfato (PBS) ou dimetilsulfóxido (DMSO), conforme suas respectivas solubilidades. O tampão fosfato (PBS), com força iônica $7,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH} = 7,4$ foi preparado de acordo com a metodologia de COSTA E SILVA (2018) através diluição de 1,44 g de hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4) e 0,24 g de dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) em 800 mL de água deionizada. Em seguida, o pH foi ajustado para 7,4 através da adição de solução de HCl (2 mol.L^{-1}). Finalmente, o volume foi completado para 1 L de solução tampão.

A concentração das soluções estoque das amostras foi ajustada por meio da lei de Lambert-Beer, a partir dos respectivos coeficientes de absortividade molar dos compostos, obtidos seja a partir da literatura ou a partir de sua determinação empírica (vide Anexos).

4.2 Espectroscopia de Absorção Molecular UV-Vis:

Os espectros de absorção, deste trabalho, foram coletados em um Espectrofotômetro UV-Vis da marca *Hitachi*TM, modelo U2900, disponível no Laboratório de Biofotônica do IF-UFG. Os espectros foram obtidos realizando-se varredura na janela espectral compreendida entre 260-750 nm, com resolução espectral de 1 nm, através de medidas de absorvância das soluções das amostras, em cubeta de quartzo com caminho óptico (l) igual a 1 ou 0,2 cm. Posteriormente, estes espectros foram processados no software *OriginPro 2018*[®], versão 9.5. (ORIGINLAB CORPORATION, 2017).

4.3 Espectroscopia de Fluorescência:

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro da marca *Hitachi*TM, modelo FL F-7000, localizado no Laboratório de Biofísica do Instituto de Física da UFG. As soluções das amostras tiveram sua concentração ajustada para que a absorvância no comprimento de onda de excitação da molécula fosse menor que 0,05; esse procedimento se faz necessário afim de evitar-se processos de auto-absorção (*efeito de filtro interno*), que levam à redução da intensidade de luz emitida detectada (PANIGRAHI; MISHRA, 2019). A emissão fluorescente foi observada através da excitação nos comprimentos de ondas adequados, com fendas de excitação e emissão de 5 nm, e velocidade de varredura de 240 nm.min⁻¹. Posteriormente, estes foram processados no software *OriginPro 2018*[®], versão 9.5. (ORIGINLAB CORPORATION, 2017).

As curvas de decaimento de tempo de vida de fluorescência foram medidas através da excitação com uma fonte pulsada NanoLed, operando numa frequência de oscilação de 100 Khz e largura de pulsos de $\approx 1,2$ ns. As características emissões das porfirinas foram discriminadas por duplos-monocromadores na região entre 230 e 850 nm, instalados em um espectrofluorímetro Fluorolog FL3-221 da marca Horiba-Jobin Yvon).

4.4 Determinação do tempo de vida de tripleto e rendimento de tripleto:

As medidas de LFF foram realizadas em um espectrômetro de absorção transiente *ScienceTech Inc.* Para a realização das análises as concentrações das soluções analisadas foram ajustadas para absorvância igual a 0,2, no comprimento de onda da fonte de bombeio. A fonte de bombeio utilizada foi um laser *Brilliant*[®] da marca *Quantel*TM, operando em 532 nm, taxa de repetição de 10 Hz, largura de pulso de 4 - 6 nanossegundos.

O feixe de luz de análise foi produzido por uma Lâmpada de bulbo de sílica fundida, do tipo arco xenônio (XE075), não geradora de ozônio, com colimador de lente plano-convexa de quartzo e monocromador controlado por computador da Sciencetech Inc (9055) acoplado a um tubo fotomultiplicador Hamamatsu (R928). A direção do feixe de luz de análise com raio $l = 0,25$ mm é ortogonal ao feixe da bombeio. A absorção transiente ΔA foi registrada em $\lambda_{an} = 470$ nm, onde o espectro de absorção óptica do estado tripleto (T_1) da porfirina é mais intenso.

A energia da fonte de bombeio foi variada de 0,6 a 30 mJ para estimativa da dependência da absorção diferencial, sendo a energia determinada através do uso de um medidor de potência da ThorLabs. Como fonte de análise foi utilizada uma lâmpada de Xe. Os sinais da fotomultiplicadora foram coletados e processados em osciloscópio 500 MHz da marca Teknotrix® modelo DPO 3052. E todos os dados foram processados no software *OriginPro 2018*®, versão 9.5. (ORIGINLAB CORPORATION, 2017). No presente trabalho, uma forma alternativa de obter o rendimento quântico de formação de estados tripletos será apresentada no Capítulo 5.

4.5 Determinação de rendimento de formação de oxigênio singleto:

4.5.1 Método Indireto:

Com o intuito de se contornarem algumas das limitações mencionadas do método indireto, os experimentos foram executados com os valores fixos de absorção. A absorvância do sensor AU foi fixada em 1,0 e a absorvância do FS, no comprimento de onda de excitação, foram variadas até 0,2. Como fonte de excitação foi utilizado um módulo laser (iZI-LaserLine) com emissão em 532 nm (50mW, largura pico $\Delta\lambda_{1/2} = 9$ nm) com irradiações durante o período de 0-30 s, em intervalos 5 s.

A geração de oxigênio $^1\text{O}_2$ é determinada monitorando-se a banda de absorção do AU em 288 nm, sendo os espectros coletados em um Espectrofotômetro UV-Vis da marca *Hitach*TM, modelo U2900, disponível no Grupo de Biofotônica do IF-UFG. Os espectros foram obtidos realizando-se varredura na janela espectral compreendida entre 260-750 nm, com resolução espectral de 1 nm, através de medidas de absorvância das soluções das amostras em DMSO, em uma cubeta de quartzo com caminho óptico (l) igual a 1 cm. Posteriormente, estes espectros foram processados no software *OriginPro 2018*[®], versão 9.5. (ORIGINLAB CORPORATION, 2017)

O rendimento de oxigênio singlete (Φ_Δ) foi estimado pelo método proposto por RABELLO et al. (2012b) no qual o Φ_Δ é calculado através da relação (Eq. 7) entre o rendimento de oxigênio singlete de um FS padrão (ϕ_Δ^0) e as eficiências de geração de oxigênio singlete do FS padrão (γ_Δ^0) e do FS em estudo (γ_Δ).

$$\Phi_\Delta = \phi_\Delta^0 \frac{\gamma_\Delta}{\gamma_\Delta^0} \quad (\text{Eq. 7})$$

A eficiência de geração de oxigênio singlete se correlaciona com a constante de velocidade de degradação (k) do sensor e o número de fótons absorvidos por segundo $n_{abs}^{fótons}$ pela solução, conforme a equação 8:

$$\gamma_\Delta \propto \frac{k}{n_{abs}^{fótons}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Experimentalmente, k é determinado pelo coeficiente angular da curva da variação da absorção do sensor em função do tempo de irradiação, em diferentes concentrações da amostra. O $n_{abs}^{fótons}$ por segundo é determinado pela integral de sobreposição entre os espectros de absorção do FS e o de emissão da fonte de luz (GONÇALVES et al., 2020b):

$$n_{abs}^{fótons} = \frac{1}{hc} \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} (1 - 10^{-A(\lambda)}) P(\lambda) d\lambda \quad (\text{Eq. 9})$$

Onde h é a constante de Planck, c é a constante de velocidade da luz, $A(\lambda)$ é o espectro de absorção do FS e $P(\lambda)$ é a variação da potência da fonte de luz incidente com o λ . O intervalo de integração corresponde ao início (λ_1) e ao fim (λ_2), respectivamente, do intervalo de irradiação espectral da fonte de luz utilizada.

De posse dos parâmetros de rendimento quântico de oxigênio singlete e o número de fótons absorvidos, podemos estimar o *número de moléculas de $^1\text{O}_2$ geradas $n_{1\text{O}_2}$* através da relação:

$$\phi_{\Delta} = \frac{n_{1\text{O}_2}}{n_{\text{fótons}}^{\text{abs}}} \quad (\text{Eq. 10})$$

4.5.2 Método Direto:

O método direto consiste na detecção da emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ que ocorre durante sua relaxação. Ao relaxar, o $^1\text{O}_2$ emite fosforescência na região do infravermelho com o máximo de emissão localizado aproximadamente em 1280 nm e o Φ_{Δ} pode ser determinado de forma análoga ao procedimento de obtenção do Φ_{fl} , na Eq.5, conforme a relação:

$$\Phi_{\Delta} = \frac{I_{fos}}{A} \frac{A_0}{I_{fos0}} \Phi_{\Delta 0} \quad (\text{Eq. 11})$$

onde I_{fos} e I_{fos0} representam as integrais da curva de emissão da fosforescência da amostra e do padrão, respectivamente; A e A_0 , são as absorvâncias no comprimento de onda de excitação e $\Phi_{\Delta 0}$ corresponde ao rendimento de oxigênio singlete do padrão.

Os espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ foram medidos em um espectrômetro IHR320, da Horiba™, e uma fonte de excitação laser contínuo iZI-LaserLine (532 nm, 50mW, largura pico $\Delta\lambda_{1/2} = 9$ nm) cuja representação esquemática está ilustrada na *Figura 10*. O espectrômetro de fosforescência consiste em um conjunto que contém uma câmara para alocação da amostra, um

monocromador para discriminar a emissão em função do comprimento de onda, um detector de estado sólido refrigerado (InGaAs) para detecção na região do infravermelho e um *console* de controle e processamento de dados (*SpectrAcq*). As medidas foram realizadas em temperatura ambiente, em solução saturada de ar atmosférico, com janela espectral no intervalo de 1200 a 1400 nm, utilizando fendas de abertura frontal e lateral de 2,0 mm, tempo de integração de 1 s e realizando três varreduras para cada amostra. Posteriormente, os espectros de fosforescência foram processados no software *OriginPro 2018*[®], versão 9.5. (ORIGINLAB CORPORATION, 2017)

Capítulo V

MÉTODO ALTERNATIVO PARA OBTENÇÃO DO RENDIMENTO QUÂNTICO DE ESTADOS TRIPLETOS (Φ_T)

Neste capítulo será proposto e validado um novo método para determinação de rendimento de formação de estados tripletos (Φ_T) através da técnica de laser flash-fotólise. Este novo método tem como princípio a variação de amplitude das curvas cinéticas de decaimento dos estados tripleto com a variação da energia do pulso laser.

Os resultados deste capítulo estão parcialmente publicados no seguinte artigo: BORISSEVITCH, I. E.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; ALMEIDA, C. G. L.; SOUZA, G. R. L.; SOKOLOV, S. S.; GONÇALVES, P. J. An Alternative Method to Determine the Quantum Yield of the Excited Triplet State Using Laser Flash Photolysis. **Photonics**, v. 10, n. 4, 1 abr. 2023.

5 Método alternativo para obtenção do rendimento quântico de estados tripletos (Φ_T)

5.1 Introdução:

O estudo de estados tripletos é de suma importância para compreensão de processos fotoquímicos, fotocatalíticos e sobretudo em terapia fotodinâmica, uma vez que é a interação entres estados com o oxigênio molecular gerará a espécie reativa *oxigênio singlete* ($^1\text{O}_2$).

A avaliação e detecção de estados tripletos podem ser feitas através de várias técnicas, como a radiólise de pulso (RP) (BONNET *et al.*, 1982), espectroscopia fotoacústica (EFA) (PINEIRO *et al.*, 1998), laser *flash*-fotólise (LFF) (CARMICHAEL; HUG, 1986), fluorescência com trem de pulso (FTP) (DE BONI *et al.*, 2011) e varredura-Z com trem de pulsos (VZTP) (MENDONÇA *et al.*, 2000). Essas técnicas baseiam-se efeitos ionizantes, termoacústicos e ópticos; entretanto, efeitos indesejáveis podem ocorrer, tais como, a decomposição dos compostos em virtude da alta energia de radiação utilizada, além de outros efeitos térmicos que podem reduzir a precisão do rendimento quântico de tripleto obtido por elas.

Dentre as técnicas mencionadas, a técnica de Varredura-Z com trem de pulsos é uma das mais completas. A VZTP se baseia em fenômenos de óptica não-linear, que são induzidos através da excitação da amostra com uma sequência de pulsos ultraintensos, em escala temporal de picossegundos. Esta técnica não só propicia a determinação do Φ_T mas possibilita a avaliação de todos os fenômenos de absorção óptica e determinação de todas as constantes de decaimento de estados excitados. Ela se mostrou efetiva na caracterização fotofísica de distintos FSs, tais como, ftalocianinas (COCCA *et al.*, 2017), porfirinas (COCCA *et al.*, 2018), sendo útil também na avaliação de efeitos de agregação (GONÇALVES *et al.*, 2013), de alterações de solvente (GONÇALVES *et al.*, 2011), além do estudo da interação dos FSs com nanoestruturas e macromoléculas (GONÇALVES *et al.*, 2013, 2019).

Contudo, o aparato experimental da VZTP é extremamente complexo e específico, requerendo o uso de uma fonte laser de picossegundos, que apresenta valor muito mais alto que outros tipos de fonte laser; além disso, sua operação por parte do usuário não-familiarizado pode ser extremamente complexa.

Já a técnica de LFF, também conhecida por Espectroscopia de absorção transiente, baseia-se na excitação da amostra por intensos pulsos de luz e no monitoramento das espécies transientes formadas através da incidência de uma luz contínua. Esta técnica é extremamente mais simples que a VZTP, do ponto de vista do aparato experimental, e possibilita o estudo de alguns parâmetros fotofísicos, como o Φ_T , espectros de absorção transiente com seus respectivos tempos de vida e constantes de velocidade bimoleculares.

Quando comparamos os dados de Φ_T obtidos por essas diferentes técnicas são constatadas algumas discrepâncias entre os valores, que estão associadas a diversos parâmetros experimentais. No caso da LFF inhomogeneidades na intensidade do pulso laser podem ser um fator decisivo na variabilidade dos dados (BAZIN; EBBESEN, 1983; DÓKA; LENTE, 2017; GOEZ *et al.*, 2013). O perfil de distribuição espacial do pulso laser repercute em inhomogeneidades na concentração de moléculas em estados excitados ao longo do corpo da amostra e, conseqüentemente, afetará a intensidade do sinal da luz de análise.

Deste modo, se faz necessário encontrar uma alternativa que possibilite corrigir a absorção transiente da amostra através da intensidade do pulso de excitação. Nesta seção, proporemos um novo método de determinação Φ_T pela técnica de LFF, na qual analisaremos o efeito da intensidade do pulso laser de excitação no cálculo do Φ_T de porfirinas conhecidas. Foram identificados os efeitos das condições experimentais de análise que interferem na precisão e na reprodutibilidade das análises. Posteriormente, realizou-se a validação do método confrontando os Φ_T obtidos com os já determinados para as mesmas moléculas através de outros métodos.

5.2 Modelo teórico:

O rendimento de formação de tripleto (Φ_T), refere-se à eficiência com que as espécies no estado tripleto são geradas e o Φ_T pode ser estimado pela relação:

$$\Phi_T = \frac{n_{T_1}}{n_{abs}} \quad (Eq. 12)$$

Onde n_{T_1} é o número de espécies no estado tripleto, formadas através do pulso de luz de excitação; n_{abs} é o número de moléculas que absorvem os fótons.

Este valor pode ser determinado através de duas formas: (i) utilizando a análise das características cinéticas de dissipação de energia do estado S_1 ; ou, (ii) usando as características espectroscópicas do sistema após a excitação da luz. Conforme demonstramos em (BORISSEVITCH *et al.*, 2023), considerando o modelo de diagrama de cinco níveis de energia, descrito na *Figura 2* da seção 3.1, o método (i) utiliza de equações de taxa de decaimento, que evocam a necessidade de formalismos matemáticos complexos e resultam na mesma equação obtida no método (ii). Deste modo, por conveniência e simplicidade, utilizaremos o método (ii) para descrição, nesta tese, do método alternativo de determinação do Φ_T que estamos propondo.

Podemos considerar que o número de espécies no estado tripleto é calculado por:

$$n_T = C_T N_a V \quad (Eq. 13)$$

Sendo que C_T corresponde à concentração das espécies no estado tripleto; N_a corresponde a constante de Avogadro e V é o volume de amostra irradiado pelo pulso de excitação.

Por outro lado, o número de moléculas absorvedoras é determinado através:

$$n_{abs} = n_0(1 - 10^{-A_{ex}}) \quad (Eq. 14)$$

no qual n_0 são o número total de fótons presentes no pulso de excitação e A_{ex} é a absorvância da amostra no comprimento de onda da excitação. Aplicando a Série de Maclaurin (Eq.15) (LEITHOLD, 1994), com o objetivo de modificar a dependência exponencial da Eq.14, temos que

$$e^x = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{x^n}{n!} = 1 + x + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^3}{3!} + \frac{x^4}{4!} + \dots \quad (Eq. 15)$$

Mas a Eq.14 encontra-se na base 10, e para aplicarmos a série de Maclaurin temos que,

$$10^x = e^{(\ln 10)x} = \ln 10 e^x = \ln 10 \sum_{n=0}^{\infty} \frac{x^n}{n!} \quad (Eq. 16)$$

Substituindo Eq.16 na Eq.14 e utilizando a série de Maclaurin em função da base 10, o número de espécies absorvedoras é dado pela Eq.17, e sabendo que $\ln 10 \cong 2,3$, temos que

$$n_{abs} = n_0 2,3 \left[1 - 10^{-A_{ex}} - \frac{(10^{-A_{ex}})^2}{2!} - \frac{(10^{-A_{ex}})^3}{3!} - \frac{(10^{-A_{ex}})^4}{4!} - \dots \right] \quad (Eq. 17)$$

Por simplificação, quando $A_{ex} \ll 1$ o número de espécies absorvedoras pode ser expresso por:

$$n_{abs} = 2,3 n_0 A_{ex} \quad (Eq. 18)$$

Deste modo, o rendimento de formação de tripleto pode ser reescrito:

$$\Phi_T = \frac{C_T N_a V}{2,3 n_0 A_{ex}} \quad (Eq. 19)$$

A absorvância observada na amostra é dada pela soma da absorvância das espécies no estado singlete (A_S) e a absorvância das espécies no estado tripleto (A_T). As absorvâncias dessas espécies é dada pelos soma dos produtos de suas respectivas concentrações (C_S e C_T) e coeficientes de absorvabilidade molar (ε_S e ε_T), conforme a Eq. 20 abaixo:

$$A = A_S + A_T = \varepsilon_S C_S + \varepsilon_T C_T \quad (Eq. 20)$$

Considerando que durante a análise a soma das concentrações das espécies nos estados singleto e tripleto ($C_S + C_T$) é igual a concentração inicial da amostra C_0 , a Eq. 20 pode ser reescrita como

$$A = \varepsilon_S(C_0 - C_T) + \varepsilon_T C_T = \varepsilon_S C_0 + (\varepsilon_T - \varepsilon_S)C_T = A_0 + (\varepsilon_T - \varepsilon_S)C_T \quad (Eq. 21)$$

onde A_0 corresponde a absorvância da solução da amostra antes da incidência do pulso de excitação.

Após a exposição da amostra ao pulso de excitação ocorrem modificações na absorção da amostra. Essa modificação, denominada *absorção diferencial* ou *absorção transiente* (ΔA), é expressa por:

$$\Delta A = A_0 - A = (\varepsilon_S - \varepsilon_T)C_T \quad (Eq. 22)$$

A absorção transiente é consequência da variação das concentrações de espécies em estado tripleto com o tempo; a partir do ajuste temporal de ΔA é possível determinar os tempos de vida de decaimento de estado tripleto.

Considerando que o decaimento obedece a uma cinética de primeira ordem, temos que

$$C_T = C_{T_0} e^{-k_T t} \quad (Eq. 23)$$

$$\Delta A = \Delta A_0 e^{-k_T t} \quad (Eq. 24)$$

Deste modo, rearranjando a Eq.24, obtemos que a constante (k_T) de decaimento do estado tripleto é dada pela Eq.28 (BORISSEVITCH *et al.*, 2015):

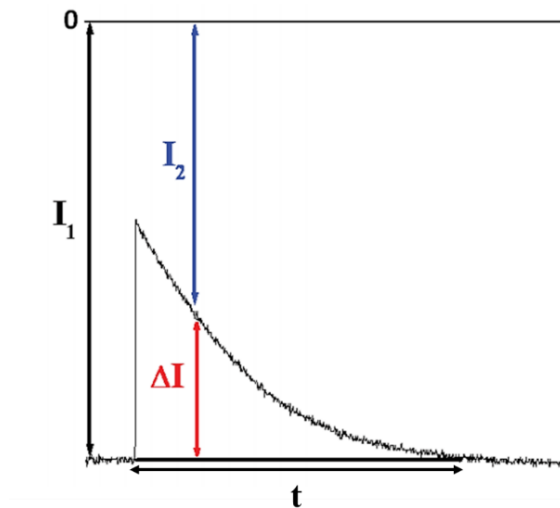
$$k_T = \frac{\ln\left(\frac{\Delta A_0}{\Delta A}\right)}{t} \quad (Eq. 28)$$

Experimentalmente, a absorção diferencial é estimada através das diferenças de intensidade do sinal antes do pulso de bombeio (I_1) e da intensidade transiente após o pulso (I_2), através da equação

$$\log\left(1 - \frac{\Delta I}{I_1}\right) = \Delta A \quad (Eq. 29)$$

Na *Figura 12* é apresentada a variação do sinal da curva de decaimento para a determinação da absorção transiente.

Figura 12 - Variação da intensidade do pulso de LFF para determinação da absorção transiente.



Fonte: Reproduzido de BORISSEVITCH et al. (2016)

Sendo assim, de acordo com Eq.22 a concentração de moléculas no estado tripleto é dada por

$$C_T = \frac{\Delta A}{\varepsilon_S - \varepsilon_T} \quad (Eq. 30)$$

E o rendimento de formação de tripleto e a absorção transiente podem ser reescritos da seguinte maneira

$$\Phi_T = \frac{\Delta A N_a V}{2,3 n_0 A_{ex} (\varepsilon_S - \varepsilon_T)} \quad (Eq. 31)$$

$$\Delta A = \Phi_T \frac{2,3 n_0 A_{ex} (\varepsilon_S - \varepsilon_T)}{N_a V} \quad (Eq. 32)$$

O número de fótons do pulso de excitação (n_0) pode ser elevado aumentando-se a energia do pulso, fazendo assim que todas as moléculas saiam do estado singleto (S_1) para o estado tripleto (T_1). Neste caso a variação da absorção transiente máxima (ΔA_{max}) é expressa por

$$\Delta A_{max} = (\varepsilon_S - \varepsilon_T)C_0 \quad (\varepsilon_S - \varepsilon_T) = \frac{\Delta A_{max}}{C_0}$$

E nesta condição a absorção transiente da amostra (ΔA_0) (Eq.32) pode ser reformulada de acordo com a relação:

$$\Delta A_0 = \Phi_T \frac{2,3 n_0 A_{ex} \Delta A_{max}}{N_a V C_0} \quad (Eq. 33)$$

Desde que as condições de excitação utilizadas para determinação da absorção diferencial da amostra forem as mesmas utilizadas durante a medida de um padrão, a absorção diferencial deste padrão será dada por

$$\Delta A^s = \Phi_T^s \frac{2,3 n_0 A_{ex}^s \Delta A_{max}^s}{N_a V C_0^s} \quad (Eq. 34)$$

Combinando as equações 33 e 34 de absorção diferencial da amostra e do padrão obtemos que

$$\frac{\Delta A_0}{\Delta A^s} = \frac{\Phi_T A_{ex} C_0^s \Delta A_{max}}{\Phi_T^s A_{ex}^s C_0 \Delta A_{max}^s} \quad (Eq. 35)$$

$$\Phi_T = \frac{\Delta A_0 A_{ex}^s C_0 \Delta A_{max}^s}{\Delta A_0^s A_{ex} C_0^s \Delta A_{max}} \Phi_T^s \quad (Eq. 36)$$

Onde ΔA_0 e ΔA_0^s são as amplitudes das curvas de absorção transiente imediatamente no instante após ao pulso de excitação. Para estas equações todos os termos são independentes da energia do pulso, exceto ΔA_0 e ΔA_0^s . Portanto, variando-se a energia do pulso obtemos a dependência dos valores de absorção diferencial da amostra (ΔA_0) em função da absorção diferencial do padrão (ΔA_0^s) após o pulso de excitação. O rendimento de formação de tripleto (Φ_T), é determinado pela dependência da absorção diferencial da amostra (ΔA_0) em relação ao padrão (ΔA_0^s)

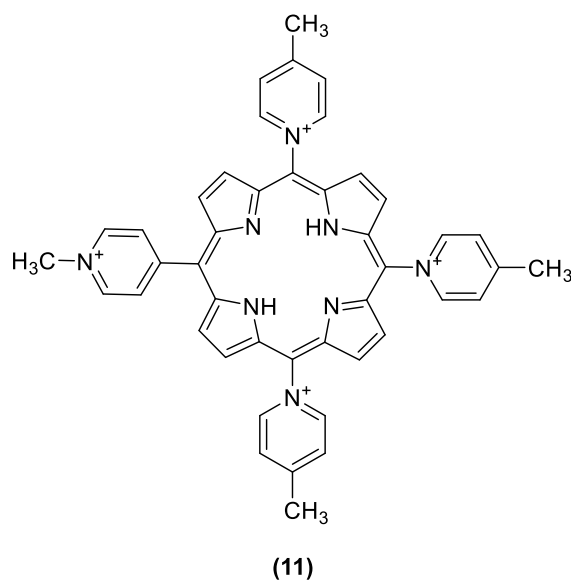
Em resumo, o procedimento de determinação do Φ_T consiste basicamente em quatro passos:

- i. Medir a amplitude das curvas de cinética de decaimento (ΔA_0 e ΔA_0^s) de tripleto (T_1) em função da energia da fonte de bombeio da amostra e do padrão;
- ii. A dependência de ΔA e ΔA^s com a energia são ajustadas de acordo com uma função exponencial. A partir desse ajuste são obtidos os parâmetros ΔA_{max}^s e ΔA_{max}
- iii. A partir da relação de dependência de ΔA e ΔA^s , para os mesmos valores de energia de pulso excitação, é o obtido através de ajuste linear o parâmetro $\Delta A_0 / \Delta A_0^s$;
- iv. Os demais parâmetros C, C^s, A_{ex}, A_{ex}^s são determinados por medidas de absorção UV-Vis das amostras e do padrão.

5.3 Validação do método:

Apesar da robustez apresentada pela técnica de LFF muitos parâmetros interferem de maneira significativa na reprodutibilidade das análises obtidas, tais como: estabilidade fotoquímica da amostra; reações com as espécies transientes; reprodutibilidade do alinhamento entre os feixes, além dos demais ajustes ópticos no aparato experimental. Para isso, foi realizado um estudo avaliando o efeito destes parâmetros nos perfis das curvas de absorção transiente, de modo que as condições de medida fossem otimizadas. Os ensaios de validação foram realizados utilizando a porfirina 5,10,15,20-Tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21H,23H-porfirina (**11**), **TMPyP**.

Figura 13 - Estrutura da porfirina TMPyP.

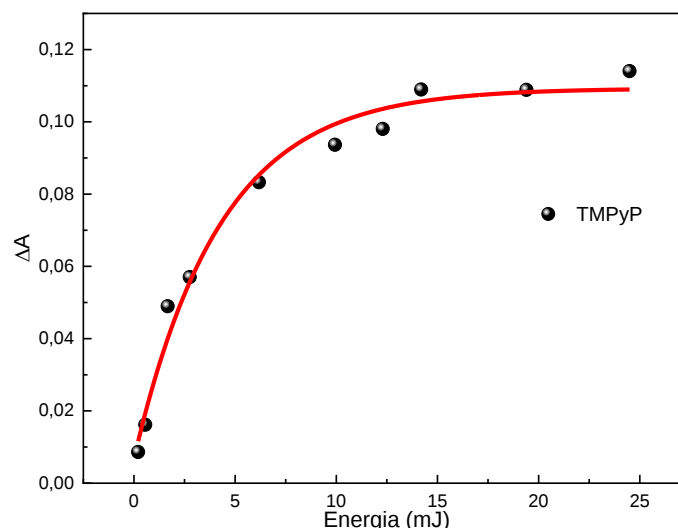


Fonte: Autoria Própria

5.3.1 Efeito da incidência das luzes de bombeio e análise na estabilidade da amostra:

O fundamento da técnica de LFF é o monitoramento de um feixe de prova (luz de análise) que gera estados excitados que serão perturbados por um feixe laser de alta potência (luz de bombeio). O novo método proposto de determinação do Φ_T consiste na obtenção de uma curva de ΔA em função da energia do laser apresentada abaixo na *Figura 14*. Como já mencionado anteriormente, a luz de análise apresenta potência de 75 W, enquanto que a luz de bombeio apresenta energia variável entre 0,6-30mJ.

Figura 14 - Curva da variação da absorção transiente da TMPyP, em PBS, com a variação da energia do pulso laser.



Fonte: Autoria Própria

Em virtude da alta energia do laser empregada no processo de excitação, a foto-estabilidade é uma variável crítica e determinante para a determinação com acurácia das propriedades fotofísicas. Considerando isso, foi desenhado um experimento de fotodegradação, usando como referência a porfirina **TMPyP**, no qual avaliou-se a sua fotoestabilidade em solução de tampão PBS. As condições de energia da luz de bombeio selecionadas foram na faixa de $4,0 \pm 0,2$ mJ que se encontra na região de início do crescimento da curva exponencial; e também, a energia de $10,5 \pm 0,4$ mJ que, para essa amostra, já é o início da saturação da curva.

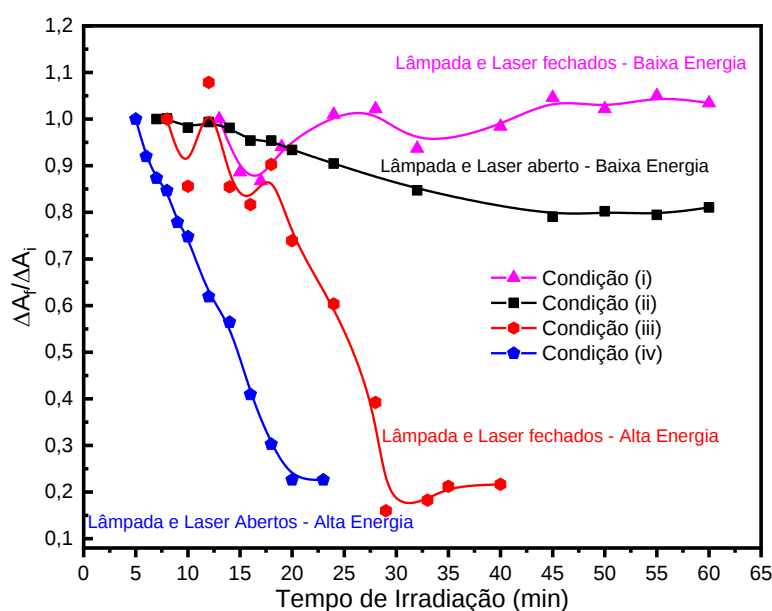
Deste modo, foram empregadas as seguintes condições para fotodegradação:

- i) luz de análise e bombeio ($4,0 \pm 0,2$ mJ) bloqueadas, nos quais os feixes de luz são desbloqueados somente no tempo compreendido para a aquisição dos dados, entre 40 a 200 s, aproximadamente;
- ii) somente a luz de análise bloqueada e a luz de bombeio ($4,0 \pm 0,2$ mJ) com a incidência contínua;

- iii) luz de análise e bombeio bloqueadas, sendo a incidência da luz de bombeio ($10,5 \pm 0,4$ mJ) realizada apenas no instante da medida, análogo à condição (i);
- iv) luz de análise desbloqueada e luz de bombeio ($10,5 \pm 0,4$ mJ) com a incidência contínua.

Na *Figura 15* está apresentada a fotodegradação das amostras em função do tempo nas condições supracitadas e normalizando-as pela absorção transiente observada no final do experimento (ΔA_f) pela absorção transiente no início do ensaio (ΔA_i).

Figura 15 - Estudo de fotodegradação da TMPyP, em PBS, em diferentes condições de análise pela técnica LFF.



Fonte: Autoria Própria

Podemos observar que a fotodegradação varia sensivelmente de acordo com a condição empregada. Quando ambos os feixes são bloqueados durante o intervalo de tempo entre uma medida e outra, condição (i), não foi observada degradação significativa, uma vez que o sinal normalizado ($\Delta A_f/\Delta A_i$) não variou significativamente com o tempo. Neste caso, as flutuações observadas

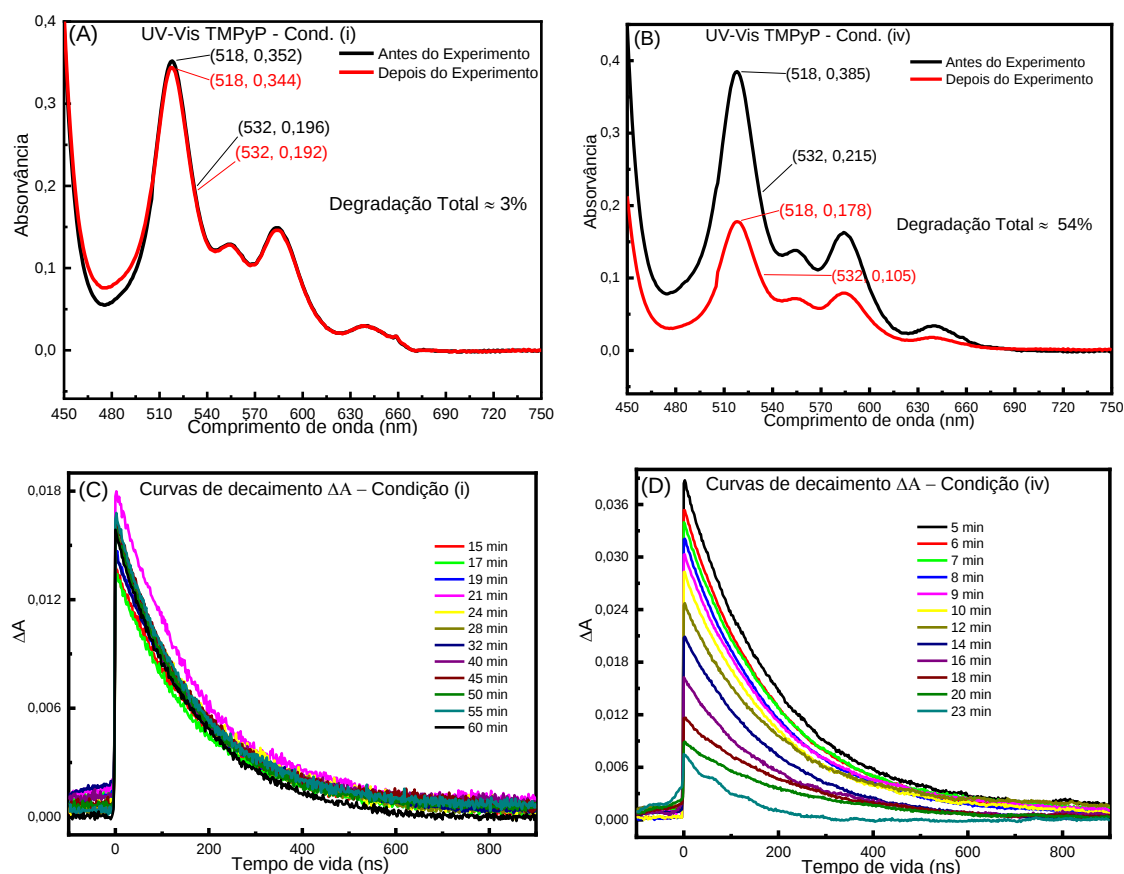
possivelmente estão associadas à pequenas flutuações da energia do laser e lâmpada de análise.

Na condição (ii), verificamos que a irradiação contínua da luz de análise e de bombeio com energia de 4,0 mJ, não provoca alterações significativas até uma exposição de 20 minutos. Entretanto, para maiores exposições, se inicia um processo de fotodegradação que em 60 minutos de irradiação atinge de 20%.

Na condição (iii), foi avaliada um regime de incidência intermitente da lâmpada e do laser em 10,5 mJ. Pode-se observar a degradação total em apenas 30 minutos. Para incidência contínua da lâmpada e do laser em 10,5 mJ, a degradação quase que completa da amostra ocorre em vinte minutos, condição (iv).

Na *Figura 16* são apresentados os espectros de absorção UV-Vis antes e após 60 minutos de exposição e o perfil das curvas de absorção transiente nas condições (i) e (iv). Os resultados demonstram que o bloqueio dos feixes de luz no intervalo entre duas medidas sucessivas é uma condição necessária para minimizar a fotodegradação da amostra analisada. Além disso, a comparação dos espectros de absorção UV-Vis antes e após, a análise de LFF, irão determinar a validade dos dados obtidos.

Figura 16 - Espectros de Absorção UV-Vis da TMPyP, em PBS: (a) Condição (i) e (b) Condição (ii) antes e depois do experimento de fotodegradação e curvas de ΔA da TMPyP (c) condição (i) e (d) condição (ii) em função do tempo de fotodegradação



Fonte: Autoria Própria

Nestes experimentos, podemos verificar a importância de preservar a amostra da fotodegradação durante a realização das medidas utilizando a técnica de LFF. Foi possível observar que o bloqueio dos feixes de bombeio e da luz de análise no intervalo de tempo entre os ajustes da configuração do sistema ajuda a preservar consideravelmente a amostra em estudo.

O processo de medida de cada ponto é demorado, uma vez que é necessário o reajuste de várias condições experimentais, tais como, o ajuste da tensão na fotomultiplicadora, que refina a intensidade do sinal da curva de decaimento de absorção transiente, o ajuste das configurações do osciloscópio para aumento de sensibilidade do sinal coletado. Além disso, uma vez que o ajuste da energia do feixe laser é feito através da mudança entre o atraso da

lâmpada pulsada do laser e *Q-switching*, observamos que é necessário um intervalo de no mínimo 15 minutos para estabilização da energia na nova configuração. Vale a pena salientar que a utilização de um polarizador para modulação da energia do laser não é adequada para LFF devido a mudança de alinhamento entre os feixes a cada modulação.

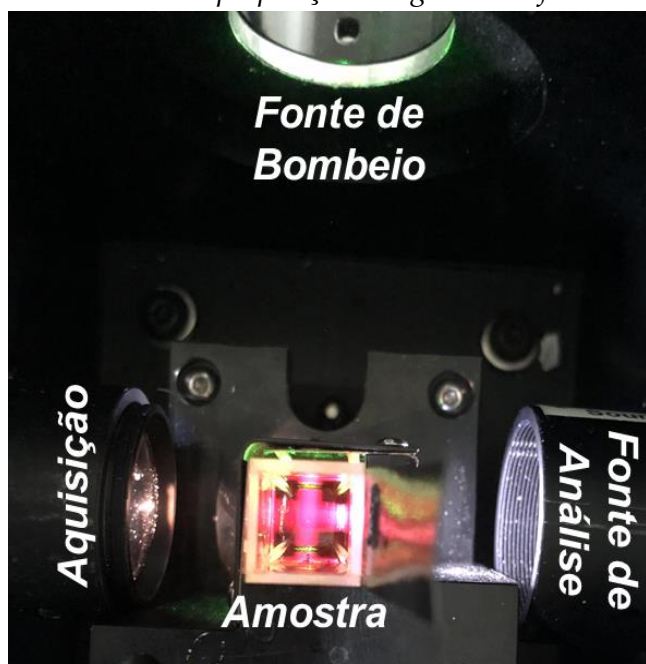
Considerando que mesmo com o bloqueio dos feixes no intervalo entre as medidas, podemos afirmar que a amostra, mesmo assim, permanece sob à incidência dos feixes de análise e bombeio por um tempo médio de 20 minutos, podendo então, eventualmente, sofrer fotodegradação durante a construção da curva completa de ΔA vs E.

Vale a pena salientar que este estudo foi realizado para a porfirina **TMPyP**, que é reconhecidamente uma amostra considerada fotoestável nas condições usuais de testes fotofísicos e clínicos em TFD. Deste modo, ao realizarem-se medidas com amostras pouco conhecidas é importante a realização deste mesmo mapeamento da fotodegradação. Além disso, o monitoramento do espectro de absorção antes e depois da análise de LFF é imprescindível para validação dos resultados obtidos.

5.3.2 *Efeito do alinhamento das luzes de análise e bombeio:*

O alinhamento ortogonal entre as luzes de análise e de bombeio é uma condição essencial para ocorrência da absorção de espécies transientes, pois somente nesta condição, a taxa de cruzamento intersistemas é máxima, fazendo com que o estado singleto S_1 transicione para o estado tripleto T_1 . De acordo com BAZIN e colaboradores (1983) a sobreposição ortogonal (Figura 17) maximiza a área de sobreposição dos dois feixes, garantindo que toda a população seja duplamente excitada.

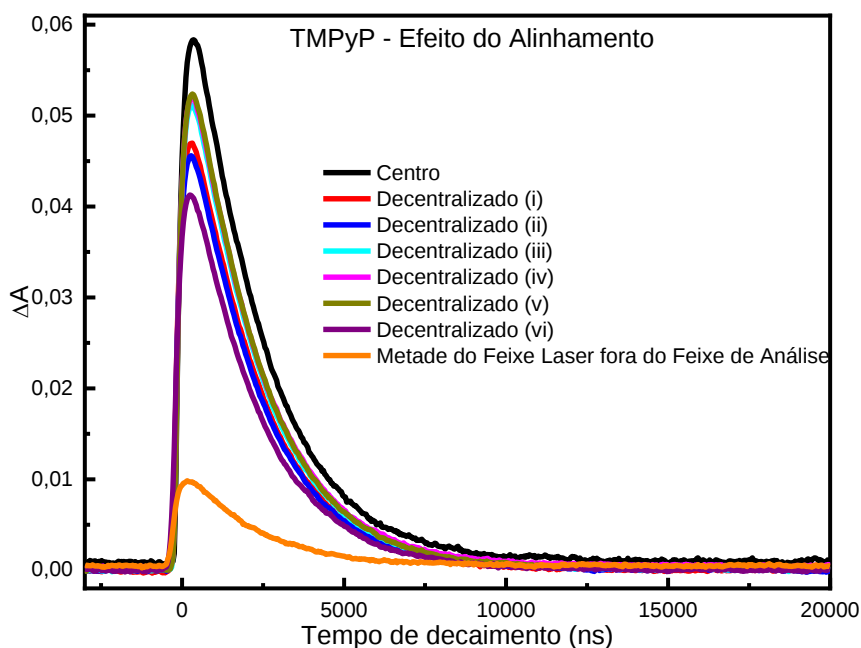
Figura 17 - Fotografia da câmara de acondicionamento da amostra no equipamento de LFF demonstrando a superposição ortogonal dos feixes de luz



Fonte: Autoria Própria

Para ilustrar a significância desta condição, realizamos um experimento demonstrando a influência do alinhamento dos feixes de análise e bombeio nas intensidades das curvas de absorção transiente, apresentada na *Figura 18*. As curvas de absorção transiente mostram que pequenas alterações no alinhamento levam a reduções no sinal obtido. Em condição de desalinhamento drástica, onde aproximadamente metade do feixe laser não se sobrepõe ao feixe de análise, a absorção transiente cai 83% em relação à absorção transiente no alinhamento otimizado. Deste modo, fica evidente a importância do cuidadoso alinhamento para obtenção do máximo sinal, bem como, o cuidado para não se alterar a configuração do sistema durante a medida da amostra em estudo e do composto padrão.

Figura 18 - Efeito da otimização do alinhamento entre os feixes de análise e bombeio na amplitude de ΔA .



Fonte: Autoria Própria

Para tornar o controle deste alinhamento mais efetivo, se fez necessário a construção de uma íris na entrada da luz de análise na amostra, de modo que seu feixe seja colimado a um diâmetro próximo do feixe de bombeio. Inicialmente foi utilizado uma íris móvel de 4 mm (*Figura 19.b*), confeccionada em plástico cartonado, na qual o feixe de análise era verticalmente alinhado e ajustado visualmente em relação ao feixe laser. Com o decorrer dos experimentos foi observado que a reprodutibilidade das medidas considerando amostras idênticas, re-substituídas e realinhadas, era insatisfatório (*Figura 19.a*).

Para contornar este problema confeccionamos uma íris com orifício menor de 2,55 mm em uma placa de metal (*Figura 20.b*), que se fixa ao porta-amostra; deste modo, a posição do feixe de análise foi fixada e o feixe de bombeio é ajustado de tal modo a maximizar o sinal. Ao adotar-se essa geometria, constatou-se que a reprodutibilidade da análise se mantém constante com a troca

da alíquota da amostra (Figura 20.a), em virtude de o ato retirar e retornar a cubeta ao porta-amostra não interferir no alinhamento dos feixes.

Figura 19 – (a) Reprodutibilidade das medidas de ΔA utilizando-se uma íris móvel; (b) Fotografias do sistema de íris móvel confeccionado em plástico cartonado.

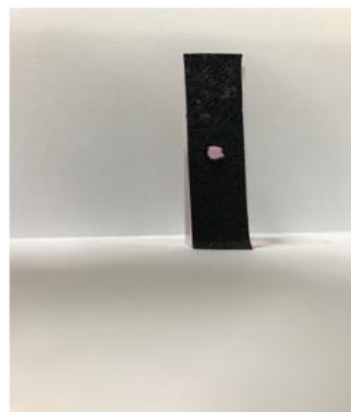
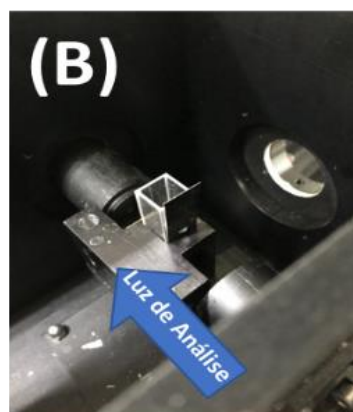
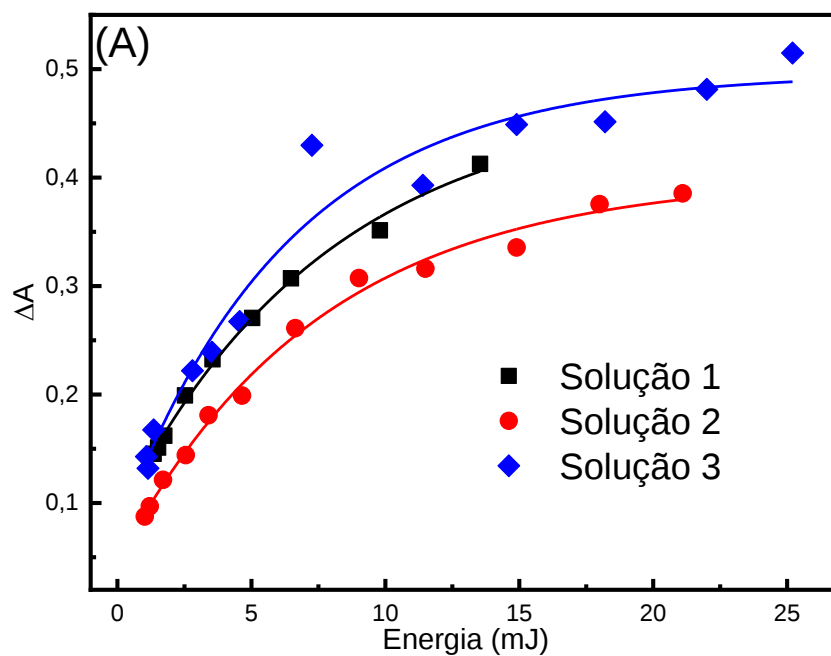
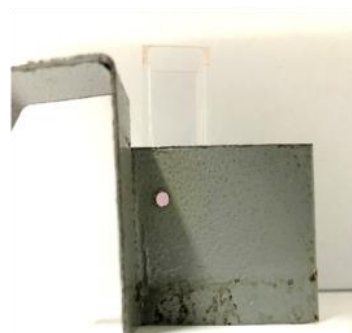
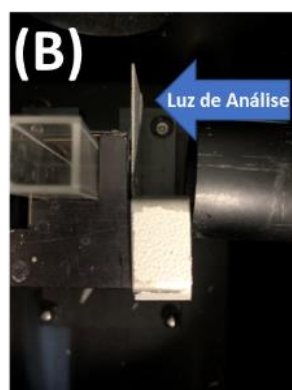
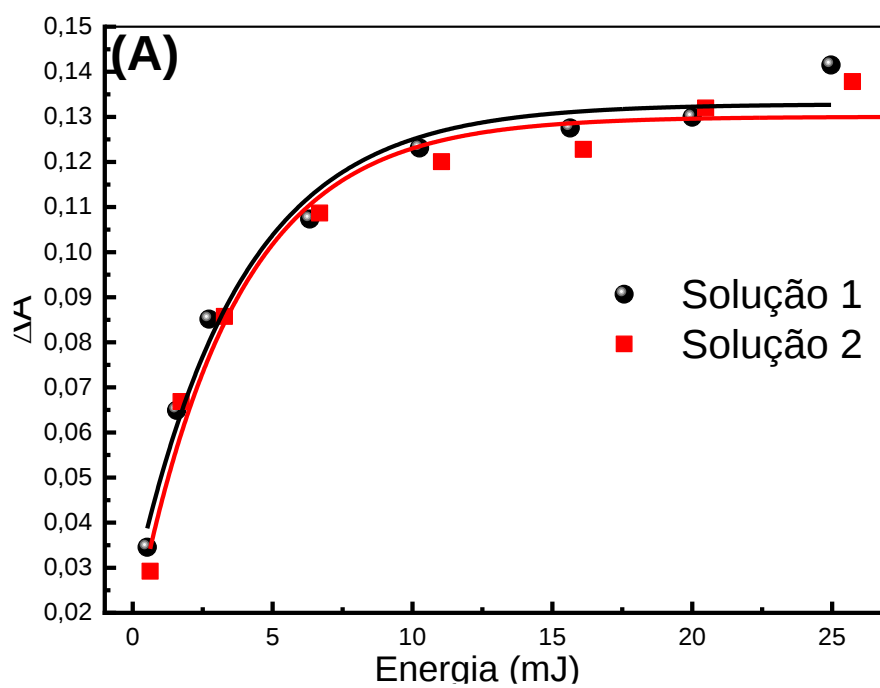


Figura 20 - (a) Reprodutibilidade das medidas de ΔA utilizando-se uma íris fixa; (b) Fotografias do sistema de íris móvel confeccionado em suporte metálico



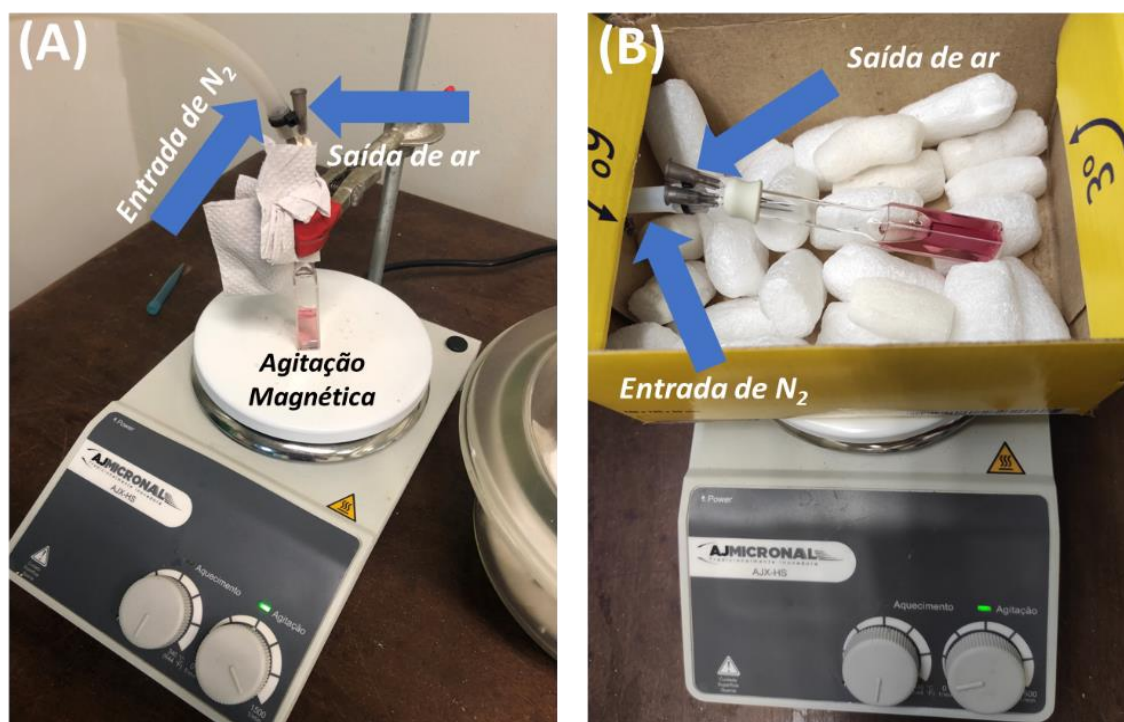
Fonte: Autoria Própria

5.3.3 Efeito da supressão dos estados tripletos pelo oxigênio dissolvido na solução:

Existe uma proximidade nos valores dos níveis de energia dos estados tripletos dos FSs e do $^1\text{O}_2$, que propicia a transferência de energia entre esses estados; contudo, quando se pretende determinar o rendimento quântico de tripleto de um FSs a presença de oxigênio dissolvido na solução pode levar a valores de Φ_T subestimados justamente em decorrência desta transferência, observada na técnica de LFF pela redução da amplitude do sinal de ΔA .

Para isso um aparato experimental foi montado para aeração/deaeração das amostras, para retirada total do oxigênio molecular dissolvido, na solução do FS (*Figura 21.a*). Durante os experimentos de otimização do processo de deaeração com gás N_2 constatou-se que ao se inclinar levemente a cubeta (*Figura 21.b*) melhorava-se a eficiência do processo de demover o O_2 dissolvido, uma vez que área de interface líquido/gás, que favorece as trocas gasosas, é aumentada (ATKINS; PAULA, 2008).

Figura 21 - Sistema de aeração/deaeração das amostras na posição vertical (a) e levemente inclinada (b).

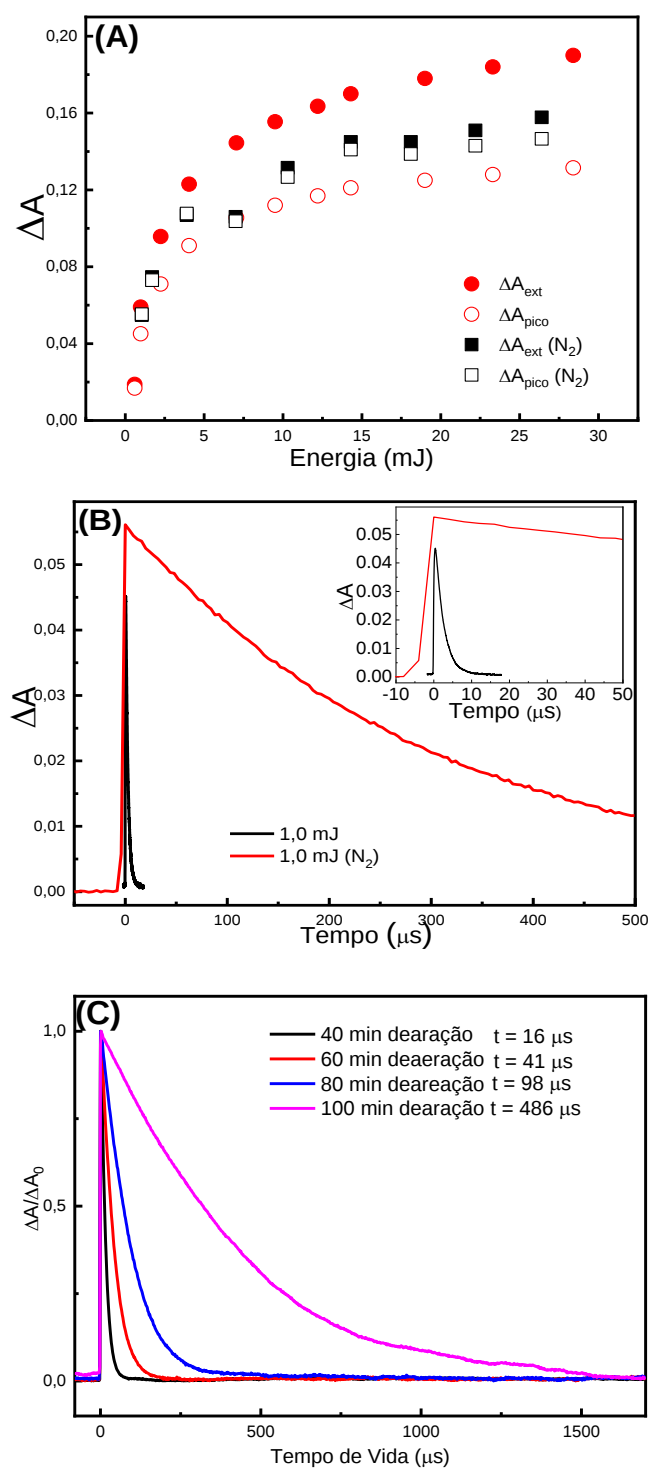


Fonte: Autoria Própria

O sistema consiste em uma cubeta de quartzo ($l = 1$ cm) com um tubo de vidro acoplado de diâmetro de 8 mm; o tubo é vedado com septo de borracha e o gás é injetado através de mangueira de silicone contendo uma agulha de seringa conectada na ponta. Além disso, são colocadas mais duas agulhas de seringa para extravasamento do ar, a fim de evitar-se o aumento da pressão do sistema. A solução no interior da cubeta é vigorosamente agitada por agitação magnética.

A remoção de O_2 leva a um aumento significativo da amplitude de ΔA e τ_T . Este comportamento confirma que o oxigênio dissolvido suprime a formação dos estados tripletos formados e, conseqüentemente, subestima os seus Φ_T pelo método em estudo. Na Figura 22.a vemos que para amostra **TMPyP** há um incremento de no mínimo 20 % no sinal de ΔA , observando um maior incremento no sinal nas regiões da curva de alta energia, das quais é obtido o fator $\Delta A_{\max}$ da Eq.36. Na Figura 22.c vemos a variação do tempo de vida do tripleto em função do tempo de deareção.

Figura 22 – Influência do processo de deaeração: (a) na amplitude do sinal da curva de ΔA versus energia; (b) no tempo de vida e amplitude da curva de ΔA e (c) no incremento de τ_T com o transcorrer do processo.

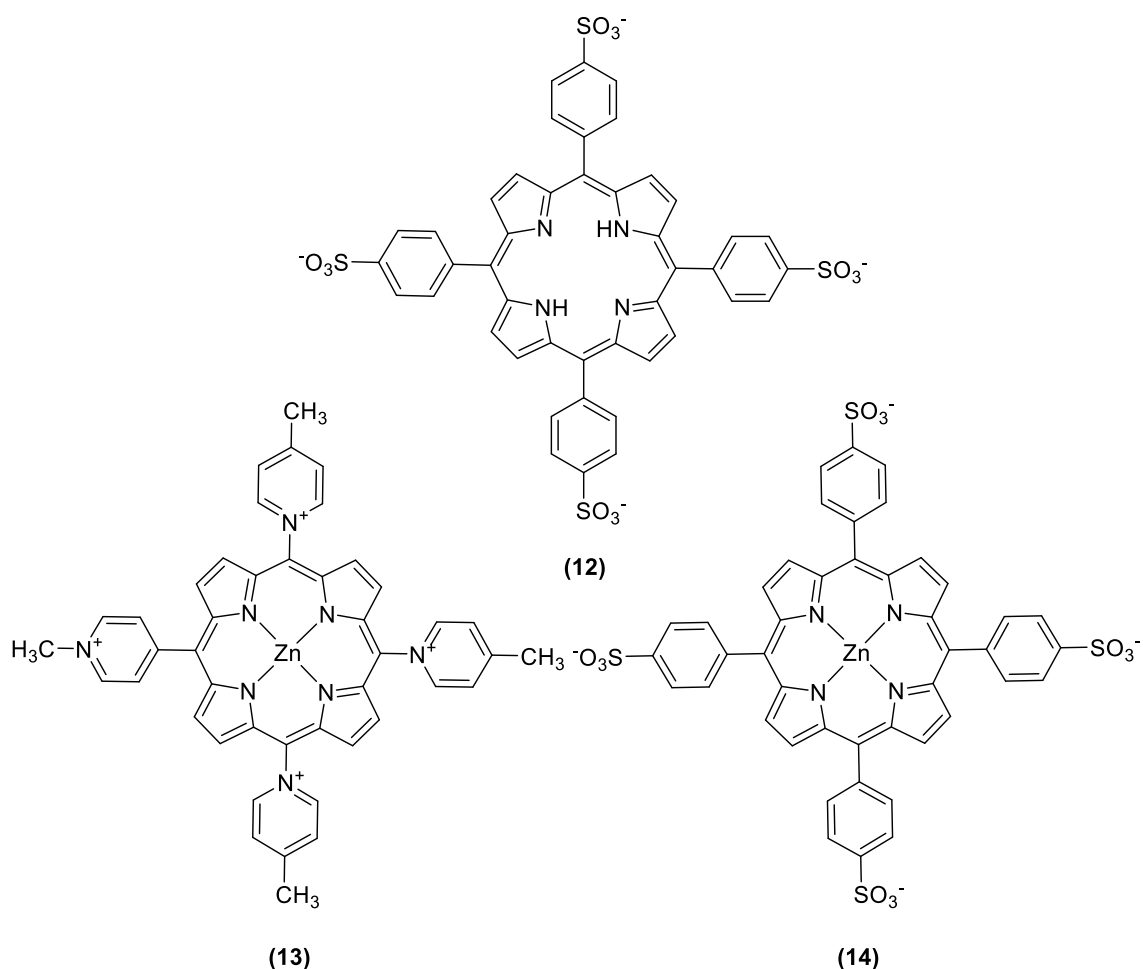


Fonte: Autoria Própria

5.3.4 *Determinação de Φ_T conhecidos de porfirinas e seus complexos pelo método de variação da energia de luz de bombeio:*

Baseado nos resultados dos experimentos descritos nas seções anteriores foram selecionadas as condições experimentais otimizadas para validação do método aqui proposto, utilizando a LFF e comparação com os dados presentes na literatura, obtidos por outros métodos. Para isso foi selecionada a porfirina **TMPyP** como padrão de referência de análise e como amostras foram escolhidas a porfirina 5,10,15,20-Tetrakis(4-sulfonatofenil)-21*H*,23*H*-porfirina (**12**), **TPPS₄** e os complexos 5,10,15,20-Tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21*H*,23*H*-porfirina de zinco II (**13**), **ZnTMPyP** ($\geq 94\%$, Porphyrin Products) e a 5,10,15,20-Tetrakis(4-sulfonatofenil)-21*H*,23*H*-porfirina de zinco II (**14**), **ZnTPPS₄**. ($\geq 96\%$, Porphyrin Products). As porfirinas foram obtidas comercialmente sendo que sua utilização foi realizada sem prévias etapas de purificação.

Figura 23 - Estrutura das porfirinas TPPS4, ZnTMPyP e ZnTPPS4



Fonte: Autoria Própria

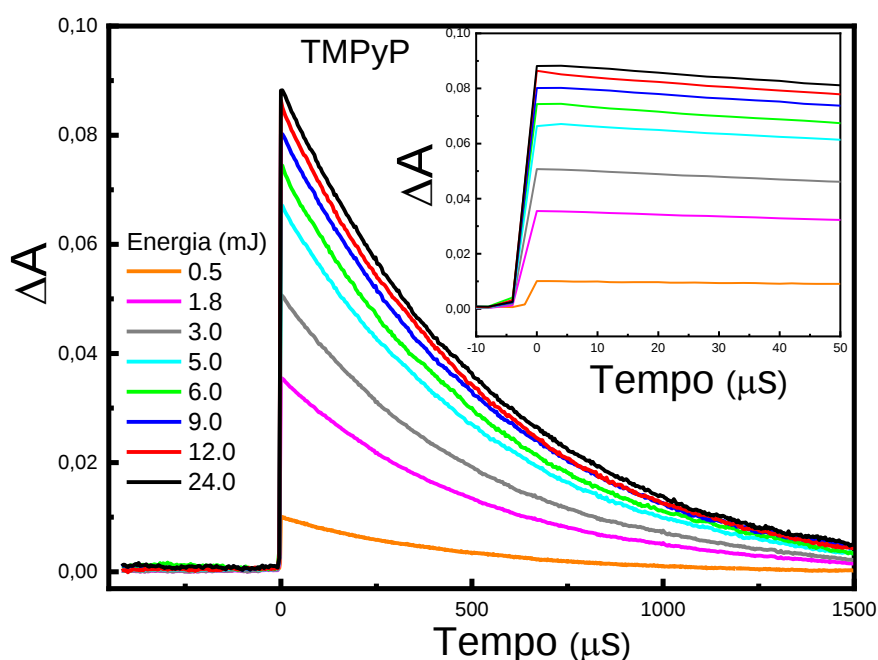
As porfirinas foram solubilizadas em tampão fosfato (PBS, pH = 7,4) e suas concentrações foram ajustadas espectrofotometricamente considerando que a absorvância no comprimento de onda de bombeio do laser ($\lambda = 532 \text{ nm}$) estivesse sempre próxima à 0,2 para satisfazer a condição na Eq.18 e a fim de evitar-se processos bifotônicos e fenômenos de auto-absorção.

As soluções foram submetidas ao processo de dearação com gás N_2 por um período entre 40 e 60 min., para total remoção do oxigênio dissolvido, monitorando-se para que os τ_T , das amostras, fossem superiores a 100 μs . Durante o intervalo das medidas, entre os diferentes pontos das curvas, os feixes de análise e bombeio foram bloqueados para minimização do efeito

destes na degradação das amostras. Além disso, foi utilizada a íris acoplada ao compartimento de amostra, que mantém fixa o feixe de análise e o feixe de bombeio foi alinhado de tal maneira que o sinal de ΔA fosse maximizado no osciloscópio. Todos experimentos foram conduzidos em temperatura controlada (18 °C) e espectros de absorção UV-Vis das amostras foram coletados antes e depois da análise de LFF, sendo consideradas apenas medidas cujas degradações observadas fossem $\leq 5\%$.

Na Figura 24 podemos ver os perfis decaimento das curvas de ΔA da **TMPyP** em diferentes energias do pulso laser. No *inset* da mesma vemos a ampliação da escala horizontal (Tempo de Decaimento).

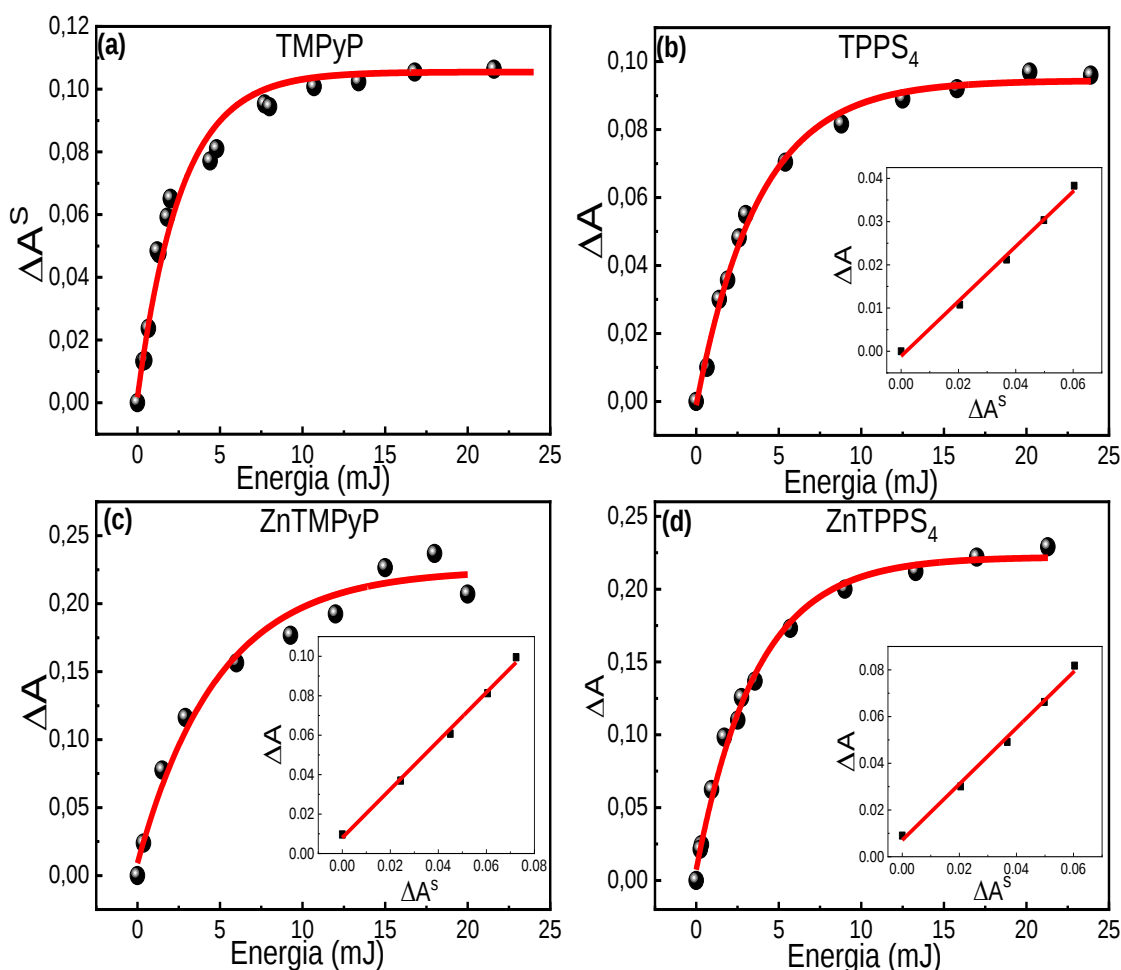
Figura 24 - Curvas de Cinética de Decaimento do estado tripleto T_1 da TMPyP, em PBS, para diferentes energias de pulso de excitação (comprimento de onda de análise 470 nm)



Fonte: Autoria Própria e reproduzido de Borissevitch et al. (2023) com a autorização do Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) © Creative Commons Attribution 4.0 Unported License. 2013.

Na *Figura 25* são apresentadas as curvas de absorção transiente (ΔA) em função da energia do laser da molécula padrão de referência (**TMPyP**) e das amostras estudadas (**TPPS₄**, **ZnTMPyP** e **ZnTPPS₄**) cujo das quais o ajuste exponencial fornecem os parâmetros ΔA_{max}^s e ΔA_{max} ; nos *insets* das curvas (*Figura 25.b-d*), são apresentadas as variações das absorções transientes das amostras (ΔA_0) em função da absorção transiente do padrão (ΔA_0^s), nas regiões da curva de energias mais baixas. Ao proceder o ajuste linear dessas curvas, o coeficiente angular obtido fornece o parâmetro $\Delta A_0 / \Delta A_0^s$ da *Eq.36*. Vale a pena salientar que o uso de cinco pontos se mostrou suficiente para obtenção de resultados com significância estatística.

Figura 25 - Absorção transiente (ΔA) em função da energia do pulso de excitação da luz de bombeio: (a) TMPyP; (b) TPPS₄; (c) ZnTMPyP e (d) TPPS₄. Os insets apresentam a variação de ΔA da amostra com o ΔA^s do padrão. As amostras solubilizadas em PBS.



Fonte: Autoria Própria e reproduzido de Borissevitch et al. (2023) com a autorização do Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) © Creative Commons Attribution 4.0 Unported License. 2023.

Os valores de rendimento de tripleto (Φ_T^*) obtidos, pelo método alternativo aqui proposto, estão enumerados na Tabela 2. Quando comparamos os rendimentos médios (Φ_T^{**}) obtidos pela técnica de Radiólise de Pulso (BONNET *et al.*, 1982) e por diferentes modificações da técnica de LFF (HARRIMAN *et al.*, 1981; KALYANASUNDARAM, 1984; MOSINGER; MIČKA, 1997), apresentados na última coluna da Tabela 2, vemos que há uma

concordância com os rendimentos obtidos pelo novo método proposto para as amostras em estudo.

Ao considerarmos a amostra **ZnTMPyP** notamos que há uma certa discrepância entre os valores determinados pelo método alternativo (Φ_T^*) e os determinados pela técnica de Varredura-Z utilizando Trem de Pulsos (Φ_T^{**}). Isso se dá em virtude de a técnica VZTP utilizar soluções de altas concentrações, o que favorece a agregação molecular, reduzindo a estimativa do Φ_T . Por outro lado, a técnica de LFF utiliza baixas concentrações de amostra, o que reduz significativamente a probabilidade de agregação molecular, propiciando uma quantificação do Φ_T mais realística e correspondente a forma monomérica das moléculas em estudo. Além disso, em condições de altas concentrações existe um aumento significativo do espalhamento de luz pela amostra, repercutindo, também, em discrepâncias nos valores Φ_T determinados.

Tabela 2 - Parâmetros usados para o cálculo do rendimento de tripleto (Φ_T^*) determinado por LFF, de acordo com a Eq.36 por este estudo, sua comparação com análises cinéticas da técnica de VZTP (Φ_T^{**}) e com a média de valores obtidos na literatura (Φ_T^{***}).

Amostra	C_s (μM)	C (μM)	A_{ex}^s	A_{ex}	ΔA_{max}	ΔA_{max}^s	$\Delta A/\Delta A^s$	Φ_T^*	Φ_T^{**}	Φ_T^{***}
TPPS ₄	25.0	37.2	0.194	0.195	0.094	0.101	0.574	0.75 (± 0.02)	0.77 ^a (± 0.05)	0.77 ^c (± 0.02)
ZnTMPyP	28.9	64.0	0.234	0.245	0.225	0.108	1.087	0.90 (± 0.03)	0.7 ^b (± 0.2)	0.90 ^d (± 0.00)
ZnTPPS ₄	25.0	49.1	0.194	0.182	0.221	0.101	1.132	0.89 (± 0.03)	0.8 ^b (± 0.2)	0.86 ^e (± 0.01)

Φ_T^* - Rendimento de formação de tripletos, obtidos neste trabalho usando TMPyP como padrão de referência com valor médio $\Delta A_0^s = 0.82 \pm 0.08$ obtido das referências: (BONNET *et al.*, 1982; CHIRVONY *et al.*, 1997; DE BONI *et al.*, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2011; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982)

Φ_T^{**} - Rendimento de formação de tripletos obtido pela técnica de VZTP: ^a(GONÇALVES *et al.*, 2005); ^b(GONÇALVES *et al.*, 2013).

Φ_T^{***} - Média do rendimento de formação de tripletos obtidos da literatura: ^c(BONNET *et al.*, 1982; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982)

^d(HARRIMAN *et al.*, 1981; KALYANASUNDARAM, 1984; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982); ^e(HARRIMAN *et al.*, 1981; KALYANASUNDARAM, 1984; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982; KUBÁT; MOSINGER, 1996; MOSINGER *et al.*, 2002; MOSINGER; MIČKA, 1997)

Fonte: Autoria Própria e reproduzido de Borissevitch *et al.* (2023) com a autorização do Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)
© Creative Commons Attribution 4.0 Unported License. 2013.

5.4 Conclusão

Neste capítulo foi demonstrada a importância do perfil intensidade do pulso laser de excitação para a acurácia na determinação de rendimento quântico de tripleto (Φ_T) através da técnica de LFF. Foi proposto um método alternativo de obtenção do Φ_T baseado na variação da absorção transiente com a energia do pulso laser.

A equação final, com exceção das absorções transientes da amostra (ΔA_0) e do padrão (ΔA_0^s), inclui apenas parâmetros que não dependem da energia do pulso de excitação, e que podem ser determinados de forma independente. Um aspecto importante do método proposto é que a razão $\Delta A_0 / \Delta A_0^s$ é calculada a partir de aproximações exponenciais das dependências ΔA e ΔA^s com a energia de pulso de excitação. Isto exclui a possibilidade interferência advinda de diferenças nas energias excitação tanto para o ΔA_0 e ΔA_0^s , como também exclui a necessidade de determinar ΔA_0 e ΔA_0^s em uma alta energia de pulso (saturação), que pode levar a degradação da amostra, reduzindo assim, o desvio no processo de cálculo de Φ_T . A viabilidade do método proposto é confirmada pelo fato de que os valores de Φ_T^* obtidos coincidirem com os valores médios Φ_T^{***} , calculados a partir dos dados publicados na literatura.

Além disso, foram avaliadas a influência de alguns parâmetros experimentais que são decisivos para acurácia e validação do método, tais como: garantir a preservação da amostra frente a degradação causada pelos feixes de análise e bombeio; otimização da geometria de alinhamento ortogonal entre os feixes de análise e bombeio; e, a remoção do oxigênio do dissolvido na solução que tem capacidade de suprimir os estados tripletos formados.

Capítulo VI

MONITORAMENTO DO DECAIMENTO DO ESTADO TRIPLETO POR LASER FLASH FOTÓLISE E GERAÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE ($^1\text{O}_2$), PELO MÉTODO INDIRETO, DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO DERIVADOS DA MESO-TETRA(4-PIRIDIL)PORFIRINA DE ZINCO II

Neste capítulo será apresentada a determinação dos tempos de vida de estado tripleto (τ_T) por laser flash-fotólise e de rendimento de formação de oxigênio singlete (Φ_Δ), pelo método indireto, de compostos supramoleculares a base de zinco.

Os resultados deste capítulo compreendem parte dos resultados publicados no artigo: LOPES, J. M. S.; COSTA, S. N.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; BATISTA, A. A.; DINELLI, L. R.; GONÇALVES, P. J.; ARAUJO, P. T.; BARBOSA NETO, N. M. Singlet Oxygen Generation and Spectroscopic Properties of Supramolecular Zinc Meso-tetra(4-pyridyl) Porphyrin Bearing Outlying Ruthenium Groups. **Brazilian Journal of Physics**, v. 52, n. 5, 1 out. 2022.

6 Monitoramento do decaimento do estado tripleto por laser flash fotólise (LFF) e geração de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), pelo método indireto, de compostos de coordenação derivados da meso-tetra(4-piridil)porfirina de zinco II :

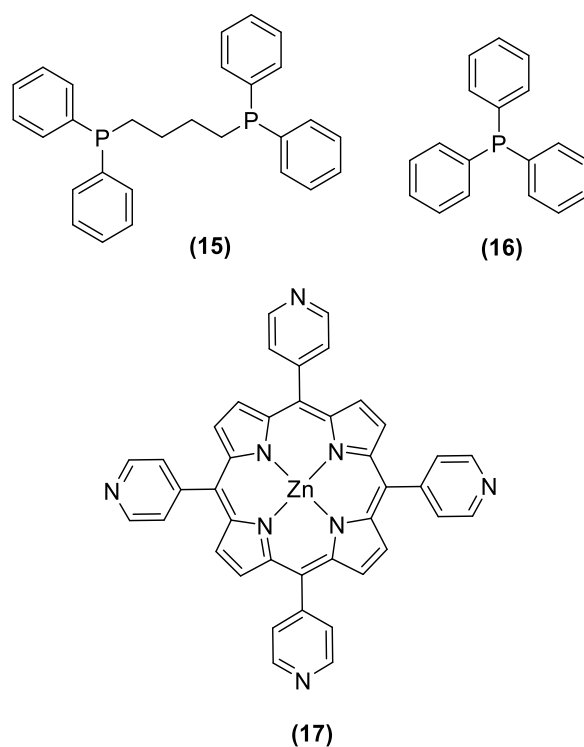
6.1 Introdução:

Compostos de coordenação oriundos da junção entre metaloporfirinas e com complexos metálicos apresentam as mais diversas aplicações tais como em dispositivos ópticos, sistemas farmacológicos e em terapia fotodinâmica (BIREL *et al.*, 2017; BOYLE *et al.*, 2010; DODZIUK, 2002; TOMA; ARAKI, 2000; YANO *et al.*, 2011).

Os complexos a base rutênio são conhecidos por sua grande atividade biológica contra o câncer (LEE *et al.*, 2020), e quando ligados às estruturas de porfirinas alteram os rendimentos quânticos de fluorescência e as taxas de cruzamento intersistemas, possibilitando em seus derivados supramoleculares novos mecanismos de relaxação e de transferência de energia (SCHMITT *et al.*, 2008).

Nesta seção serão avaliados os efeitos da inserção dos complexos de rutênio, contendo os ligantes 1,4-bis(difenilfosfina)butano (**dppb**) (**15**) e trifenilfosfina (**PPH₃**) (**16**), à 5,10,15,20-meso-(4-piridil)porfirina de zinco II (**ZnTPyP**) (**17**) na geração de $^1\text{O}_2$ e nos tempos de decaimento dos estados tripletos.

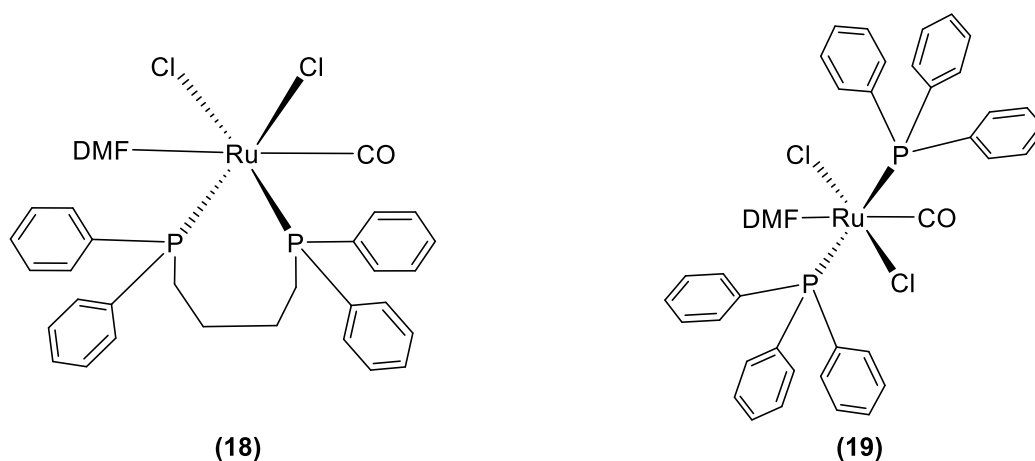
Figura 26 - Ligantes *dppb* e PPh_3 que serão inseridos na porfirina ZnTPyP .



Fonte: Autoria Própria

Os compostos foram sintetizados conforme metodologia de BARBOSA NETO et al., 2005; LOPES et al., 2022) que obtiveram isoladamente, em uma primeira etapa, a porfirina ZnTPyP (17). e os complexos $[\text{Ru}_2\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})(\text{DMF})]$ (18) e $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3(\text{CO})_2]$ (19).

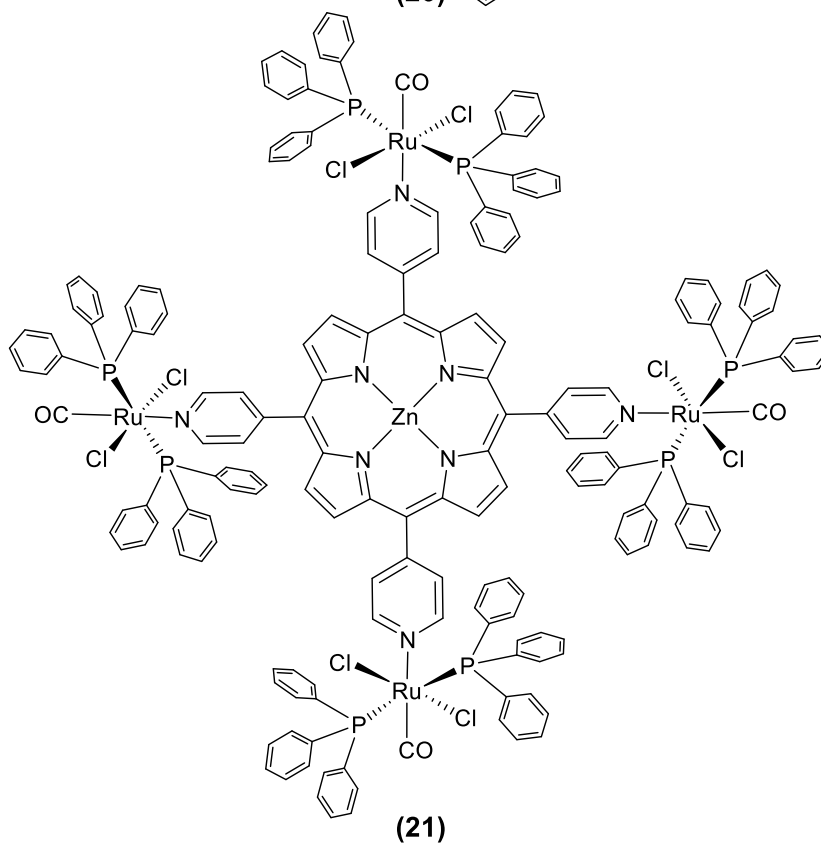
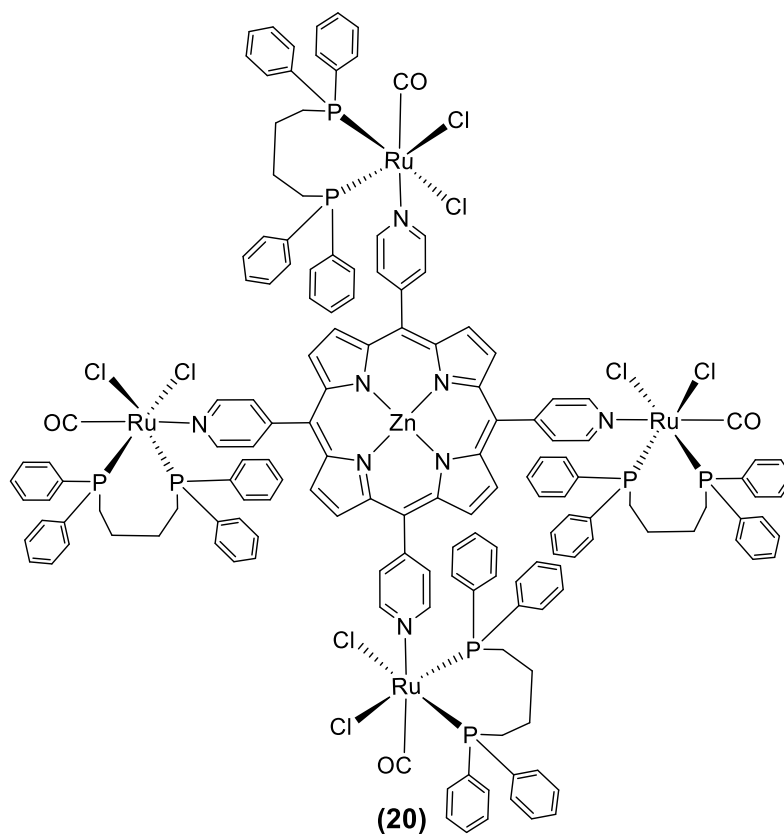
Figura 27 - Complexos de Ru II precursores das estruturas supramoleculares a base da metaloporfirina ZnTPyP.



Fonte: Autoria Própria

Posteriormente, os complexos reagiram com a metaloporfirina **ZnTPyP**, em diclorometano, sob agitação em atmosfera de argônio; após 4 horas de reação, os produtos foram precipitados e lavados com éter dietílico, resultando nos compostos supramoleculares **ZnTPyP[RuCl₂(PPh₃)₂(CO)]₄** e **ZnTPyP[RuCl₂(dppb)(CO)]₄**, doravante denominados **ZnTPyP(Ru-PPh₃) (20)** e **ZnTPyP(Ru-dppb) (21)**, respectivamente.

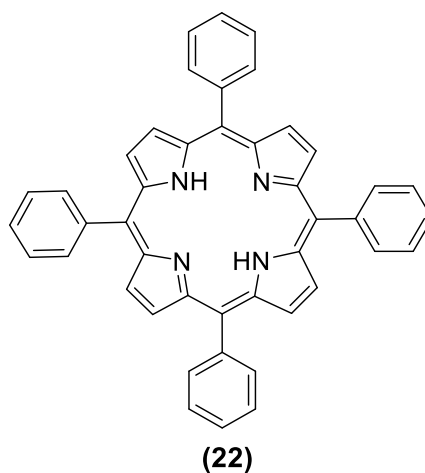
Figura 28 – Compostos de coordenação $\text{ZnTPyP}(\text{Ru-PPH}_3)$ e $\text{ZnTPyP}(\text{Ru-dppb})$ em estudo neste trabalho.



6.2 Materiais e Métodos:

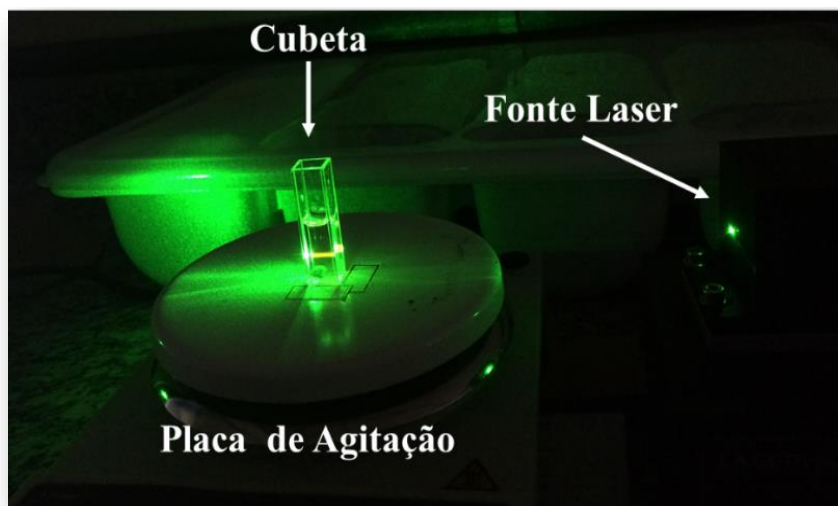
O rendimento de oxigênio singlete (Φ_{Δ}) dos compostos de coordenação sintetizados foram determinados pelo método indireto, utilizando como molécula sonda o ácido úrico (AU) e como solvente o DMSO. A porfirina escolhida como padrão foi a 5,10,15,20-Tetrafenil-21*H*,23*H*-porfirina (**22**), TPP, que apresenta $\Phi_{\Delta} = 0,52$ em DMSO (SILVA *et al.*, 2008). As demais condições experimentais das análises estão descritas na seção 4.5.1. Na Figura 29 é apresentada uma fotografia do aparato experimental da fotodegradação do AU, que consiste numa cubeta de quartzo ($l = 1$ cm) contendo as soluções dos FSs e da molécula sonda que são irradiadas, sob agitação, por uma fonte de luz laser verde ($\lambda = 532$ nm).

Figura 29 - Estrutura molecular do padrão de rendimento de oxigênio singlete, TPP.



Fonte: Autoria Própria

Figura 30 - Fotografia do aparato de determinação do rendimento de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) pelo método indireto.

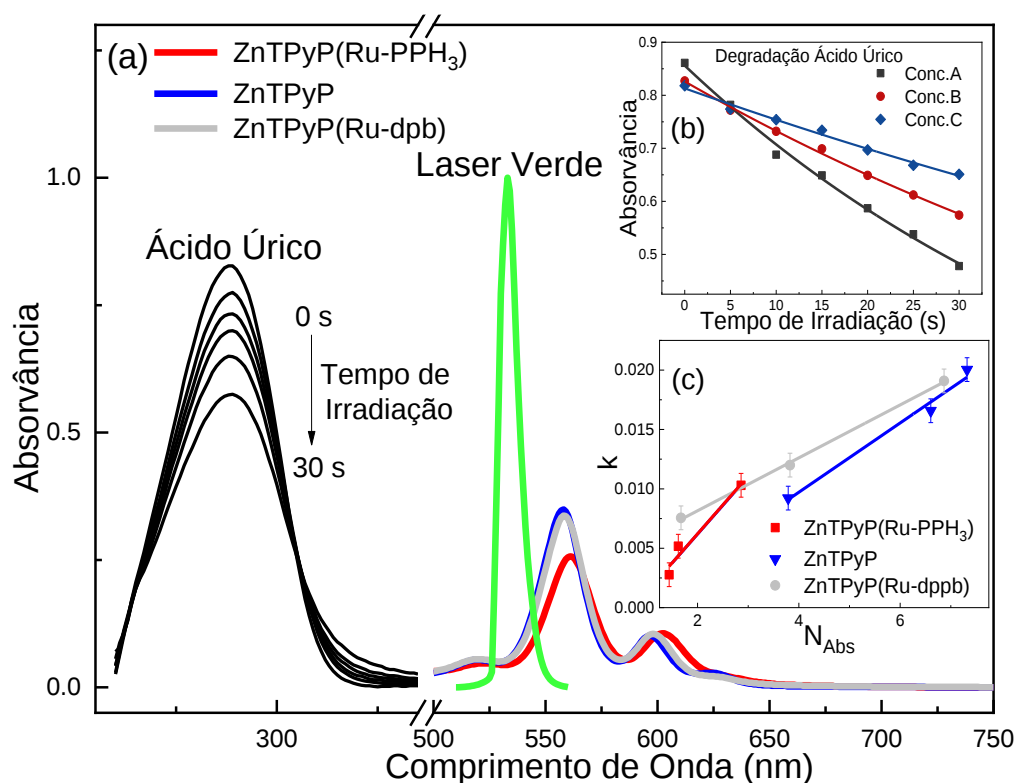


Fonte: Autoria Própria

6.3 Resultados e Discussões:

A reação entre os compostos de coordenação e a luz, leva à formação de $^1\text{O}_2$ que degrada o sensor AU. Na *Figura 31.a* observamos um decréscimo da banda de absorção associada ao ácido úrico, situada em 289 nm. Este decréscimo apresenta dependência linear com o tempo (*inset b*); o coeficiente angular dessa curva fornece a constante de velocidade de degradação k do ácido úrico, que foi determinada em três diferentes concentrações dos compostos, fixando-se a concentração do sensor. O parâmetro $n_{abs}^{fótons}$ foi calculado a partir das integrais de sobreposição dos espectros de absorção dos compostos supramoleculares, em cada concentração, com o espectro de emissão do laser. O coeficiente angular da curva de n_{abs} em função de k (*inset c*) dá a eficiência de geração de oxigênio singlete (γ_Δ) e o Φ_Δ é calculado a partir da *Eq.10*, sendo estes apresentados na *Tabela 3*.

Figura 31- a) Espectros de absorção do AU, ZnTPyP, ZnTPyP(Ru-PPH₃) e ZnTPyP(Ru-dppb) e de emissão do laser verde, em DMSO; b) Curva de variação da absorvância do AU em função do tempo de irradiação; c) Curva de n_{abs} versus k .



Fonte: Autoria Própria e reproduzido de LOPES et al. (2022) com a permissão de Springer-Nature. © 2022.

Tabela 3 -Rendimento quântico de fluorescência (Φ_{fl}), Eficiência (γ_{Δ}), rendimento de geração (Φ_{Δ}) de 1O_2 e tempo de vida de estados tripletos (τ_T) dos compostos ZnTPyP, ZnTPyP(Ru-PPH₃) e ZnTPyP(Ru-dppb), em DMSO.

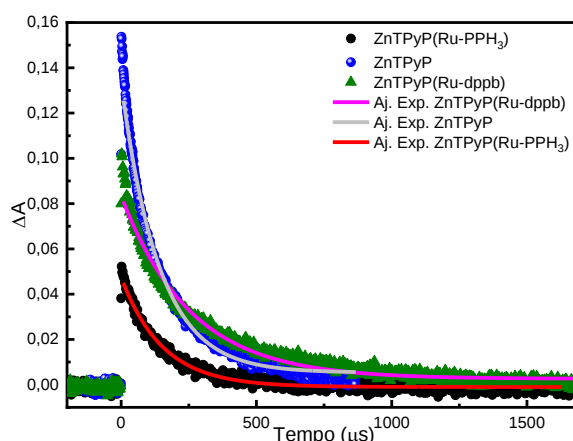
	ZnTPyP	ZnTPyP(Ru-dppb)	ZnTPyP(Ru-PPH ₃)
Φ_{fl}^*	0,042*	0,042*	0,035*
γ_{Δ}	$2,9 \cdot 10^{-5}$	$2,2 \cdot 10^{-5}$	$4,9 \cdot 10^{-5}$
Φ_{Δ}	0,09	0,07	0,16
$\tau_T(\mu s)$	153	252	162

Fonte: Autoria Própria e reproduzido de LOPES et al. (2022) com a permissão de Springer-Nature. © 2022. * Φ_{fl}^* determinado por J. M. S. Lopes.

O oxigênio singlete é formado através de um processo de transferência de energia entre o FS em seu estado tripleto excitado para uma molécula de oxigênio em seu estado fundamental. O valor de rendimento de oxigênio singlete, portanto, é afetado pela competição com todos os processos radiativos e não-radiativos, descritos no diagrama de Jablonski (*Figura 2*), previstos para a molécula. Nota-se, que para o composto supramolecular **ZnTPyP(Ru-PPH₃)** o Φ_{Δ} é maior do que o observado para o composto **ZnTPyP**, ao passo que o composto **ZnTPyP(Ru-dpp)** apresentou-se valor levemente menor. O aumento observado para **ZnTPyP(Ru-PPH₃)** é explicado pela redução dos rendimentos de fluorescência e de conversão interna favorecendo o cruzamento intersistemas.

Na *Figura 32* podemos observar a curva do decaimento de tempo de vida do estado tripleto de todos os compostos. O ajuste monoexponencial desta curva fornece o τ_T , listado também na *Tabela 3*. Podemos afirmar que a inserção dos complexos de rutênio à estrutura da metaloporfirina estudada também levam ao aumento do tempo de vida das espécies tripleto; isso está possivelmente associado ao aumento da estrutura molecular do FS, alterando mecanismos de relaxação vibracional, variações nas interações intermoleculares com o solvente, e outras espécies presentes, como o oxigênio molecular, estabilizando o estado excitado tripleto por mais tempo.

Figura 32 - Decaimento de tempo de vida de estados tripletos dos compostos de coordenação estudados, em DMSO.



Fonte: Autoria Própria e reproduzido de LOPES et al. (2022) com a permissão de Springer-Nature. © 2022.

6.4 Conclusão:

A estratégia de inserção dos complexos de **[Ru₂Cl(PPh₃)₂(CO)(DMF)]** e **[Ru₂Cl₄(dppb)₃(CO)₂]** a metaloporfirina **ZnTPyP** resultou em compostos de coordenação com novos mecanismos de relaxação vibracional, o que ficou explicitado nas variações do τ_T . Entretanto, ao considerar Φ_Δ somente o composto **[Ru₂Cl(PPh₃)₂(CO)(DMF)]** sofreu alteração, indicando que a inserção do grupo trifenilfosfina aumenta em 77% a geração de oxigênio singlete quando comparada a metaloporfirina isolada. Estes resultados tornando estes compostos de coordenação candidatos promissores à utilização como agentes FSs.

Capítulo VII

IMPLANTAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE FOSFORESCÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DIRETA DO RENDIMENTO DE FORMAÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE (Φ_{Δ}) EM DIFERENTES SISTEMAS PORFIRÍNICOS.

Neste capítulo serão apresentados os resultados de rendimento de formação de oxigênio singlete oriundos da implantação do método direto de detecção. Foram avaliados sistemas porfirínicos cujos os rendimentos já eram conhecidos e sistemas cuja tal determinação era ainda inédita. Além disso, para alguns sistemas foram confrontados resultados obtidos pelo método indireto com os determinados pelo método direto.

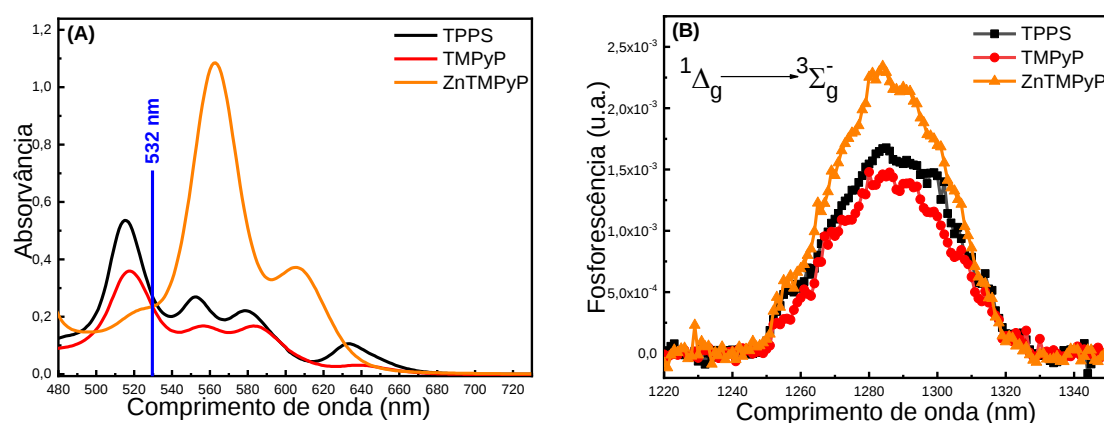
Os resultados deste capítulo foram parcialmente publicados no artigo: PARRA, G. G.; CORREA, D. S.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; ALMEIDA, L. M.; SOUZA, M. A. R.; DE BONI, L.; MISOGUTI, L.; MENDONÇA, C. R.; ZÍLIO, S. C.; BARBOSA NETO, N. M.; BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J. Effects of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin (TPPS4) aggregation on its spectral and kinetic characteristics and singlet oxygen production. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 261, p. 120063, Nov. 2021.

7 Implantação da técnica de espectroscopia de fosforescência para determinação direta do rendimento de formação de oxigênio singlete (ϕ_{Δ}) de diferentes sistemas porfirínicos.

7.1 Determinação do ϕ_{Δ} de porfirinas catiônicas e aniônicas:

Para validação das medidas de detecção direta de oxigênio singlete, obtidas com o aparato experimental instalado no Grupo de Biofotônica, foram selecionadas as porfirinas **TMPyP**, **ZnTMPyP** e **TPPS** cujas os seus rendimentos de oxigênio singlete foram compilados por REDMOND & GAMLIN (1999). Esse grupo de porfirinas é chamado de FSs de segunda-geração por apresentarem modificação nas cadeias laterais do anel macrocíclico, que repercutem num aumento significativo em seus ϕ_{Δ} . Conforme apresentado no espectro de absorção dos compostos (*Figura 33.a*) e descrito na seção 4.5.1, a absorvância foi ajustada para 0,2. Os espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelos compostos são apresentados na *Figura 33.b* e podemos ver o uma banda de perfil gaussiano, próxima a 1280 nm, característica da transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$.

Figura 33 - Espectros de absorção molecular das porfirinas TPPS, TMPyP e ZnTMPyP, em PBS, (a) e o respectivo espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ produzido por elas



Fonte: Autoria Própria.

Os espectros de fosforescência apresentaram uma moderada razão sinal-ruído, que permitiu a determinação da área da banda de emissão com razoabilidade. Os Φ_{Δ} foram calculados de acordo com a Eq.11 utilizando a **TPPS₄** como padrão e estão elencados na *Tabela 4* e observa-se uma certa concordância com os resultados da literatura. O maior desvio foi observado para a amostra **TMPyP**, fato este que pode estar relacionado a razão sinal-ruído do espectro, uma vez que a banda de fosforescência apresentou baixa intensidade. Além disso, o $\Phi_{\Delta}^{Literatura}$ usado na comparação foi determinado pelo método indireto, fator este que também pode contribuir para tal discrepância.

Tabela 4 - Comparação determinados Φ_{Δ} por este trabalho com os disponíveis na literatura.

Amostra	Φ_{Δ}	$\Phi_{\Delta}^{Literatura}$
TPPS₄	0,62 [§]	0,62 ^a
TMPyP	0,67 ($\pm 0,03$)	0,74 ^b
ZnTMPyP	0,88 ($\pm 0,02$)	0,88 ^b

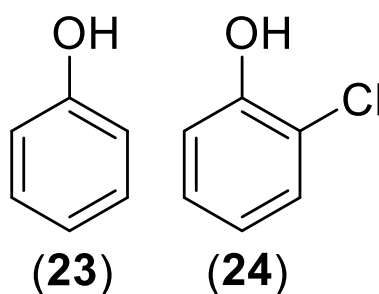
Fonte: Autoria Própria. [§]Padrão de Referência; ^a(REDMOND; GAMLIN, 1999); ^b(PRASEUTH *et al.*, 1986); ^c

7.2 Determinação do Φ_{Δ} de porfirinas sulfonadas-halogenadas:

Dentre os FSs de segunda-geração as porfirinas sulfonadas, como a **TPPS₄**, se destacaram por possuírem alta solubilidade em meios aquosos e condições fisiológicas, devido à presença dos grupos aniônicos sulfônicos (SO_3^-). Neste contexto, verificou-se também a inserção de átomos de halogênios em posição *orto*, dos anéis fenílicos *meso* ligados ao anel macrocíclico, promovem o cruzamento intersistemas das porfirinas sulfonadas, aumentando consequentemente o Φ_{Δ} (DĄBROWSKI *et al.*, 2007). Além disso, MONTEIRO e

colaboradores (2005) demonstraram que a dupla inserção de átomos halogênicos propicia um ligeiro aumento do Φ_{Δ} e torna estas moléculas hábeis para fotodegradação da classe de poluentes mais abundantes na água, os fenóis (**23**) e clorofenóis (**24**).

Figura 34 - Estruturas moleculares do fenol e clorofenol.



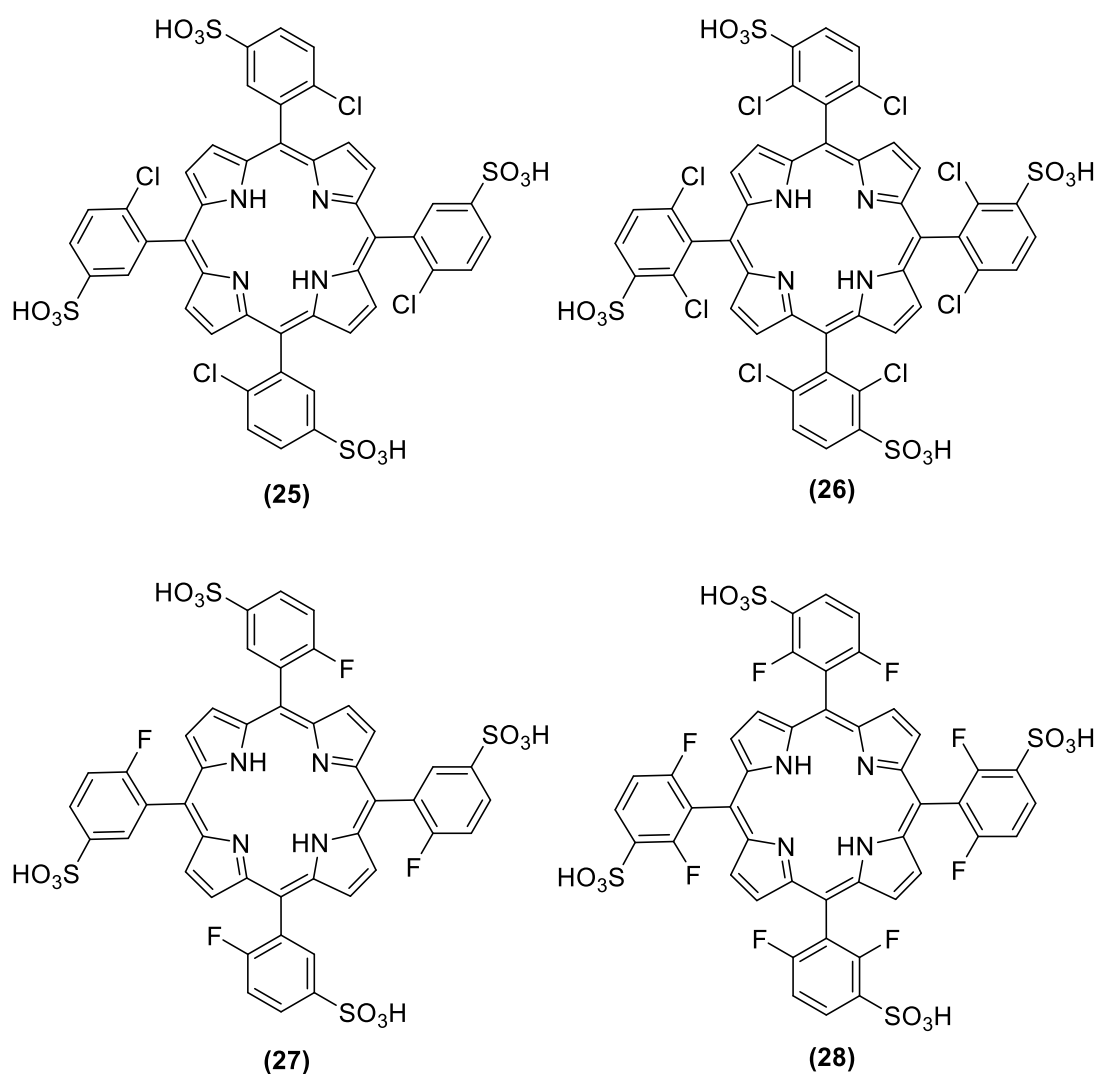
Fonte: Autoria Própria.

A partir disso, nosso grupo de pesquisa se dedicou ao estudo fotofísico de porfirinas sulfonadas mono e di-halogenadas, contendo átomos de Cl e F. Foram determinados, através da técnica VZTP, os τ_T e Φ_T (DE BONI *et al.*, 2015) e estudados os efeitos da variação de pH, que causam a protonação/desprotonação das moléculas, interferindo em suas propriedades fotofísicas (RODRIGUES *et al.*, 2015).

Nesta seção avaliaremos os Φ_{Δ} obtidos através do método de detecção direta das soluções em água ultra-pura de quatro porfirinas sulfonadas e halogenadas (*Figura 35*): 5,10,15,20-tetrakis(2-cloro-5-sulfofenil)porfirina (**25**), **TC**; 5,10,15,20-tetrakis(2,6-dicloro-3-sulfofenil)porfirina (**26**); **TDC**; 5,10,15,20-tetrakis(2-fluoro-5-sulfofenil)porfirina (**27**); **TF**; e 5,10,15,20-tetrakis(2,6-difluoro-3-sulfofenil)porfirina (**28**), **TDF**. As porfirinas foram fornecidas pela Profa. Mariette M. Pereira (Universidade de Coimbra) e sintetizadas de acordo com a metodologia descrita por MONTEIRO *et al.* (2008) e RODRIGUES *et al.* (2015).

Para este grupo de compostos a **TPPS₄** ($\Phi_{\Delta} = 0,62$) foi utilizado como padrão de comparação (REDMOND; GAMLIN, 1999).

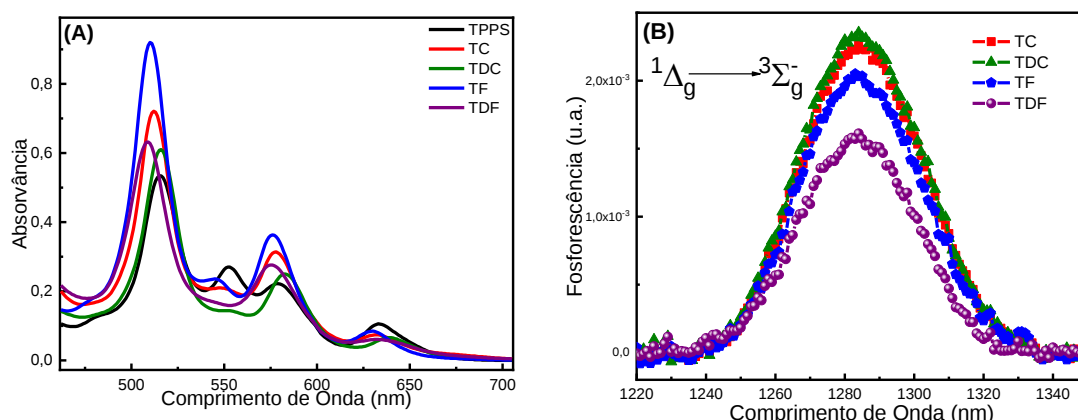
Figura 35 - Estruturas moleculares das porfirinas sulfonadas-halogenadas: TC, TDC, TF e TDF.



Fonte: Autoria Própria.

Na *Figura 36.a* vemos os espectros de absorção dos compostos e na *Figura 36.b* o espectro de emissão do $^1\text{O}_2$ gerado. Na *Tabela 5* são apresentados os rendimentos de formação de $^1\text{O}_2$, obtidos por este trabalho, e de formação de Φ_{T} obtidos em um trabalho prévio de nosso grupo com a técnica de VZTP.

Figura 36 - Espectros de absorção molecular das porfirinas TC, TDC, TF e TDF, em água ultrapura, (a) e o respectivo espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ produzido por elas.



Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5 – Apresentação do rendimento de tripleto das porfirinas sulfonadas-halogenadas, em água ultrapura, e comparação entre obtidos neste trabalho e com alguns disponíveis na literatura.

Composto	Φ_T	Φ_Δ	$\Phi_\Delta^{\text{Literatura}}$
TPPS	0.77	0.62	-
TC	0.85	0.75 (± 0.05)	0.74 ^a
TDC	0.91	0.84 (± 0.06)	0.76 ^b
TF	0.70	0.75 (± 0.05)	-
TDF	0.84	0.73 (± 0.06)	-

Fonte: Autoria Própria. Φ_T : (DE BONI *et al.*, 2015); ^a (DĄBROWSKI *et al.*, 2007); ^b (MONTEIRO *et al.*, 2005).

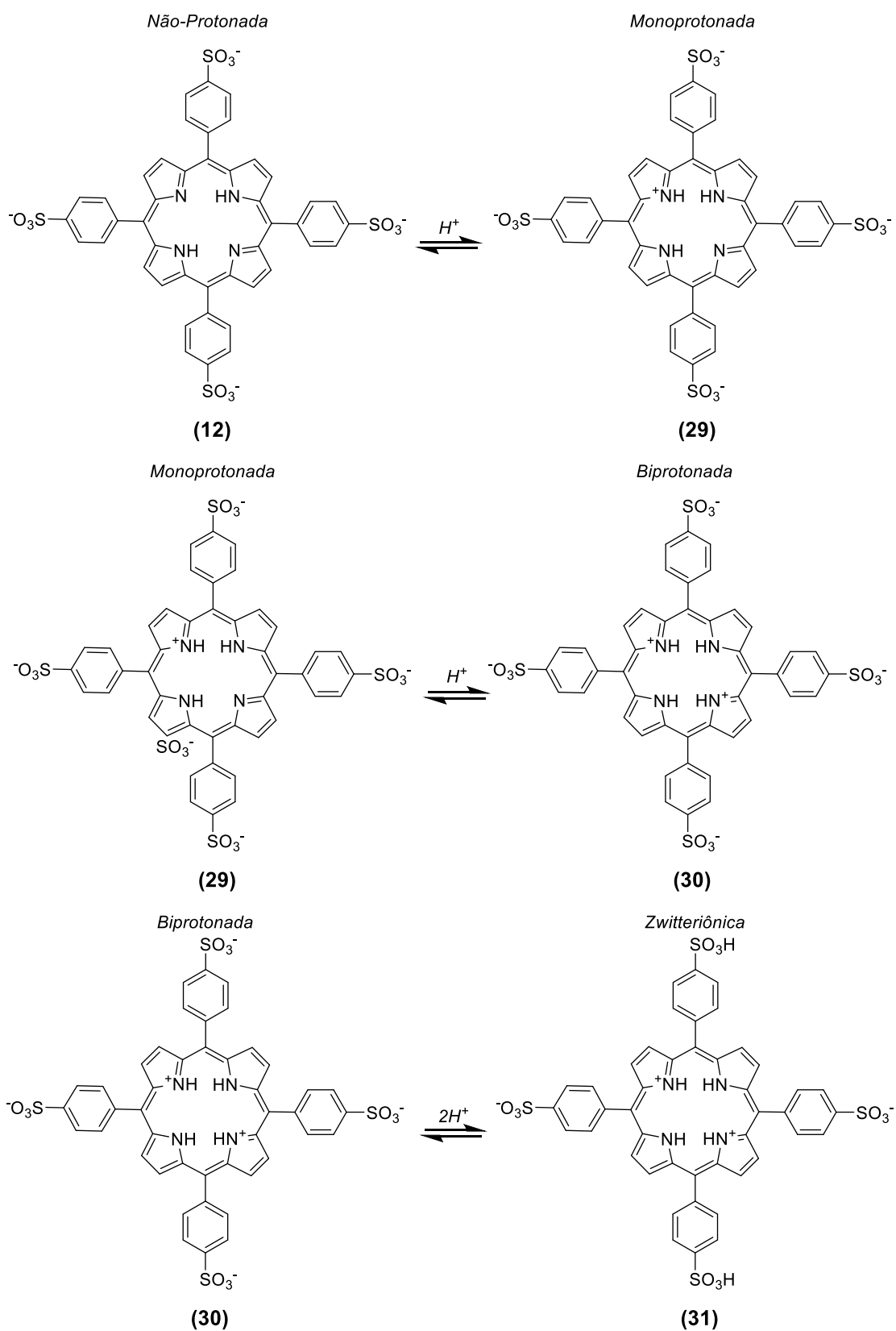
A tendência dos resultados de rendimentos de Φ_Δ ($\text{TDC} > \text{TC} \geq \text{TDF} \approx \text{TF}$) foram coerentes com a tendência rendimentos de Φ_T ($\text{TDC} > \text{TC} \approx \text{TDF} > \text{TF}$) na qual o composto **TDC** apresentou maior eficiência de formação de oxigênio singleto. De acordo com DE BONI (2015) e colaboradores o aumento dos rendimentos Φ_T está associado pelo favorecimento do cruzamento intersistemas com a introdução dos átomos de halogênios em posição *orto*. Além disso, o alto acoplamento spin-órbita dos átomos halogênios também contribui para este

aumento. Ao compararmos os Φ_{Δ} obtidos pelo método direto das porfirinas TC e TDC vemos uma certa concordância com os obtidos na literatura.

7.3 Estudo do efeito do pH e da agregação da porfirina 5,10,15,20-Tetrakis(4-sulfonatofenil)-21H,23H-porfirina (TPPS₄).

A porfirina **TPPS₄** é uma porfirina aniônica cujas propriedades fotofísicas variam significativamente com variações no pH e na força iônica do meio aquoso, no qual ela está presente. Essa molécula apresenta duas constantes de dissociação ácida, $pK_{a1} = 4,8$ e $pK_{a2} = 5,7$ (OKUMURA *et al.*, 1996). Deste modo, em intervalos de pH neutro a porfirina se encontra em sua forma não-protonada (**H₂TPPS₄⁴⁻**, **12**); na faixa $4,6 < \text{pH} < 5,5$ ela se encontra monoprotionada (**H₃TPPS₄³⁻**, **29**); quando $3 < \text{pH} < 4,6$ ela se encontra majoritariamente na forma biprotionada (**H₄TPPS₄²⁻**, **30**); a forma zwitteriônica (**H₆TPPS₄**, **31**), por sua vez, é assumida quando $\text{pH} < 3$ (KIM *et al.*, 2018) conforme representado na *Figura 37*, a seguir.

Figura 37 - Diferentes espécies formadas a partir da protonação da TPPS₄ formadas em meio ácido.



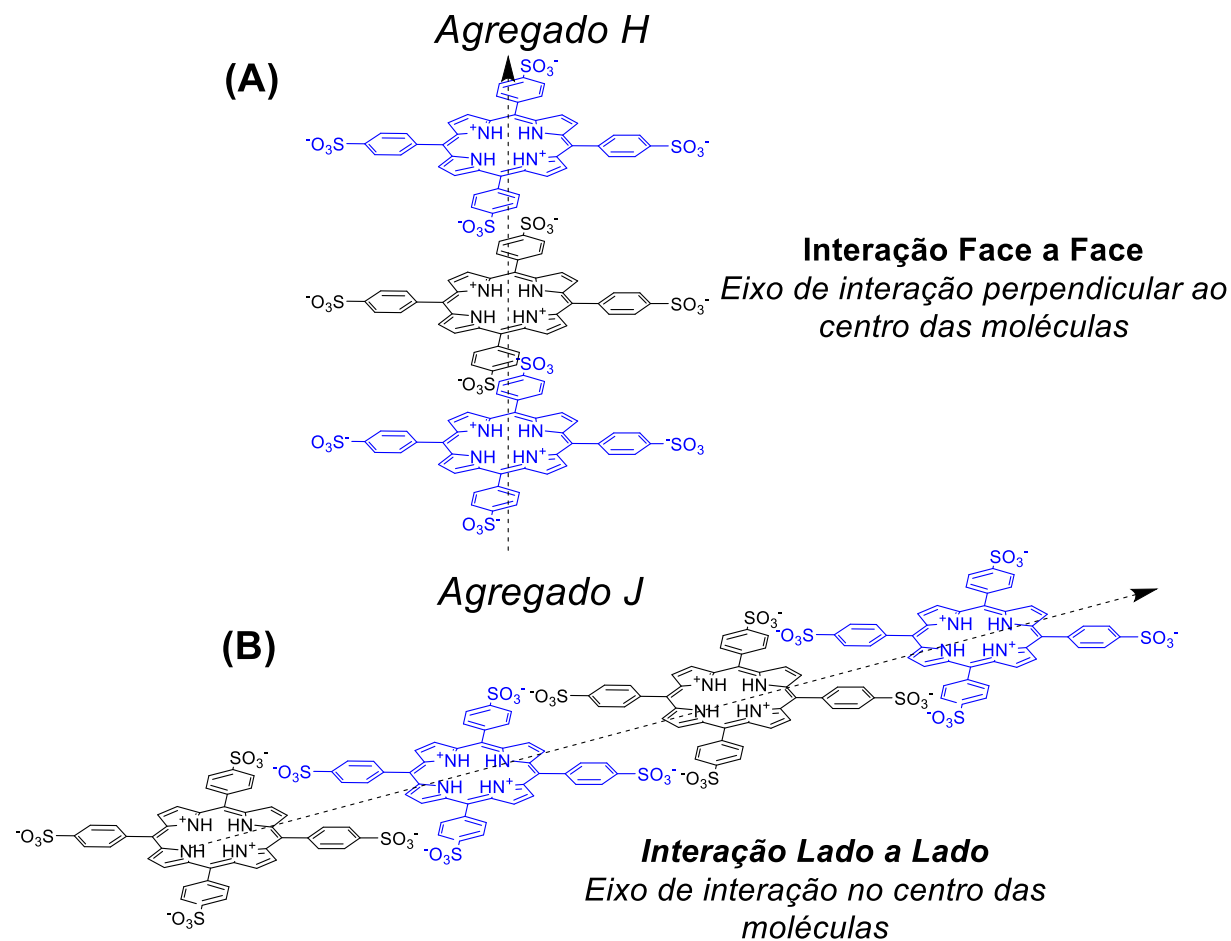
Fonte: Autoria Própria.

O espectro de absorção da forma monomérica é caracterizado pela banda de Soret próxima a 414 nm e as bandas Q com máximo em 515 nm; a espécie biprotonada apresenta um deslocamento batocrômico da banda de Soret para 434 nm e das bandas Q para o máximo em 645 nm. Através desta técnica, a forma zwitteriônica não é distinguível da forma biprotonada (ZAGAMI *et al.*, 2023).

Devido as variações eletrostáticas ao longo dos processos de desprotonação/protonação da estrutura da **TPPS₄** tanto as variações no pH, quanto alterações na força iônica do meio podem induzir a formação de agregados supramoleculares do FS. A forma não-protonada, por possuir todos os grupos sulfônicos (SO_3^-) desprotonados, apresenta-se na forma monomérica, devido a repulsão eletrostática causada por estes. Já a forma biprotonada pode levar a formação de agregados supramoleculares de dois tipos: os agregados *H* e os agregados *J*. A agregação é um processo reversível em virtude de ser governado por interações intermoleculares (Ligações de H, dipolo-dipolo e π - π stacking) e, em alguns casos, eletrostáticas. No caso das porfirinas, em geral, a agregação é governada pela interação do tipo π - π stacking, com a sobreposição dos anéis pirrólicos, que apresentam caráter nucleofílico, e sua interação com os centros eletrofílicos da molécula adjacente (STEFANELLI *et al.*, 2022).

Os agregados do tipo *J* (*side-by-side* – “lado a lado”) são formados por interações polarizadas paralelamente ao longo eixo central do monômero, enquanto o agregado do tipo *H* (*face-to-tail* – “da face a cauda”) as interações são polarizadas perpendicularmente a ele (*Figura 38*).

Figura 38 - Representação esquemática dos agregados de tipo H (a) e tipo J (b) da TPPS₄.



Fonte: Autoria Própria.

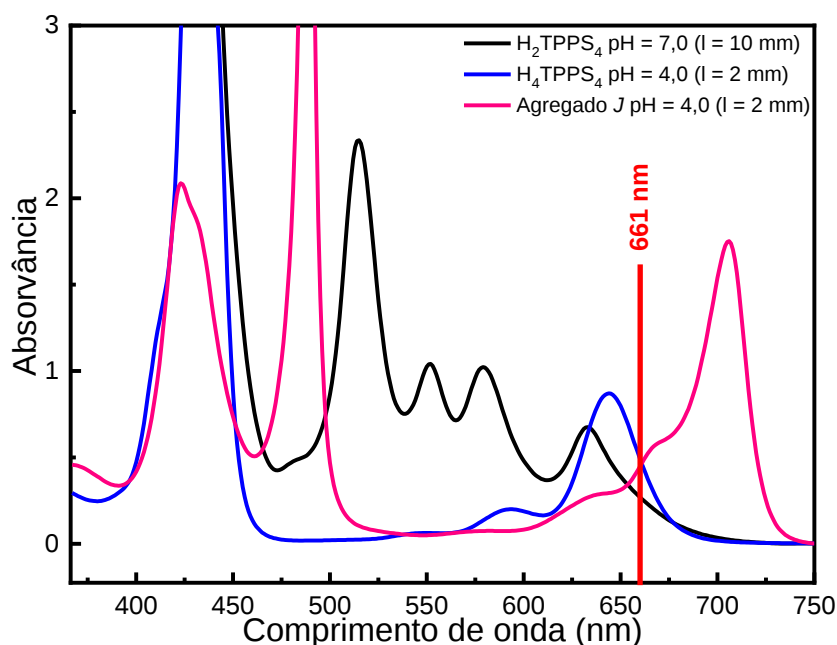
De acordo com Giovannetti (2012) “os agregados J são formados a partir do agrupamento de moléculas monoméricas dispostas em uma dimensão, de modo que o momento de dipolo da interação e da transição eletrônica entre monômeros seja paralelo; ademais, o ângulo entre os momentos de dipolo e de transição eletrônica com os eixos da interação que une os centros moleculares é zero. Deste modo, o forte acoplamento entre os monômeros resulta em uma excitação coerente, apresentando um deslocamento batocrômico em relação à banda monomérica. Os agregados H, por sua vez, são também um arranjo unidimensional de monômeros fortemente acoplados, mas os momentos de dipolo e de transição eletrônica dos monômeros são perpendiculares (caso ideal) ao eixo de interação que se situa no centro das moléculas. [...] Neste caso, o acoplamento dipolar entre monômeros leva, normalmente, a um deslocamento hipsocrômico da banda de absorção”.

Os agregados do tipo J, devido ao seu forte acoplamento eletrônico, têm atraído bastante interesse por apresentarem altas respostas de efeitos de óptica não-linear (BISWAS *et al.*, 2012), possibilitando suas aplicações em fotônica e células solares (MCHALE, 2012) e em química supramolecular, dado a potencialidade e diversidade de formação de supraestruturas (SHORT *et al.*, 2013), por exemplo. Uma das maneiras mais eficientes de favorecer a formação dos agregados J se dá pelo aumento da força iônica do meio, através da adição de NaCl, uma solução da TPPS₄ na forma biprotonada em pH = 4 (Aggarwal; Baptista; Borissevitch, 2007).

Nesta seção avaliaremos o efeito da protonação e da agregação da porfirina TPPS₄ no rendimento de formação de oxigênio singlete (Φ_{Δ}). Para preparação das amostras a porfirina **TPPS₄** foi solubilizada em água ultrapura (pH = 7) e uma alíquota foi acidificada adicionando-se solução de HCl 1 mol.L⁻¹ até a redução do pH para 4; o agregado J foi obtido adicionando-se NaCl à solução em pH = 4, em quantidade suficiente para saturação dos picos de absorção do agregado (490 e 710 nm), conforme apresentado na Figura 39. No

espectros de absorção vemos as bandas características de cada espécie. Nas espécies biprotonada ($\text{pH} = 4$) e do agregado *J* foi utilizado uma cubeta de menor caminho óptico ($l = 2 \text{ mm}$) em virtude de suas elevadas absortividades molares, em relação molécula não-protonada.

Figura 39 - Espectros de absorção das formas não-protonada e biprotonada da TPPS_4 e do agregado do tipo *J*, em água ultrapura.

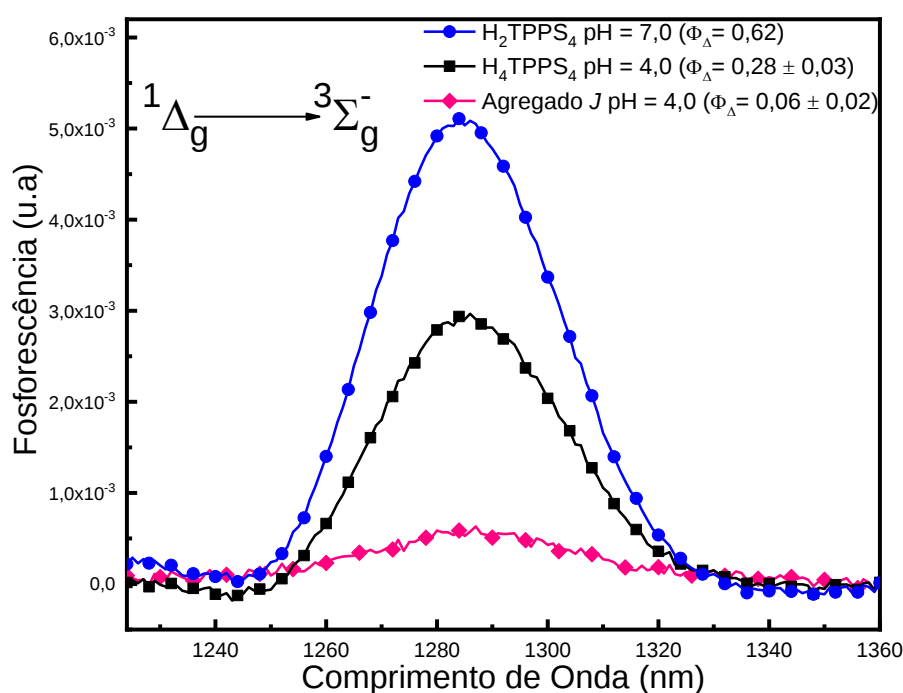


Fonte: Autoria Própria e adaptado de PARRA et al. (2021) com a permissão de Elsevier. © 2021.

Os espectros de fosforescência do oxigênio singlete (*Figura 40*) foram medidos utilizando uma fonte de luz laser vermelha iZi – LASERLine, com emissão centrada em 661 nm e potência de 100 mW. Foi observada uma redução drástica da produção de oxigênio singlete da forma biprotonada ($\Phi_{\Delta} = 0,28 \pm 0,03$) e do agregado *J* ($\Phi_{\Delta} = 0,06 \pm 0,02$) em relação a forma monomérica não-protonada ($\Phi_{\Delta} = 0,62$), que foi utilizada como padrão para aplicação da *Eq.11*. Além disso, paralelamente, nós provamos através da técnica de Varredura Z com

Luz Branca Contínua (VZLBC) que a razão ϕ_{Δ}/ϕ_T entre os rendimentos de oxigênio singleto e de tripleto para a forma monomérica, biprotonada e agregado *J* é praticamente constante, indicando que o processo de agregação não interfere no processo de transferência de energia entre as espécies tripleto e as moléculas de oxigênio (PARRA et al. 2021).

Figura 40 - Espectros de fosforescência do 1O_2 gerado pelas espécies não-protonada e biprotonada da TPSS₄ e do agregado *J*, em água ultrapura.



Fonte: Autoria Própria e adaptado de PARRA et al. (2021) com a permissão de Elsevier. © 2021.

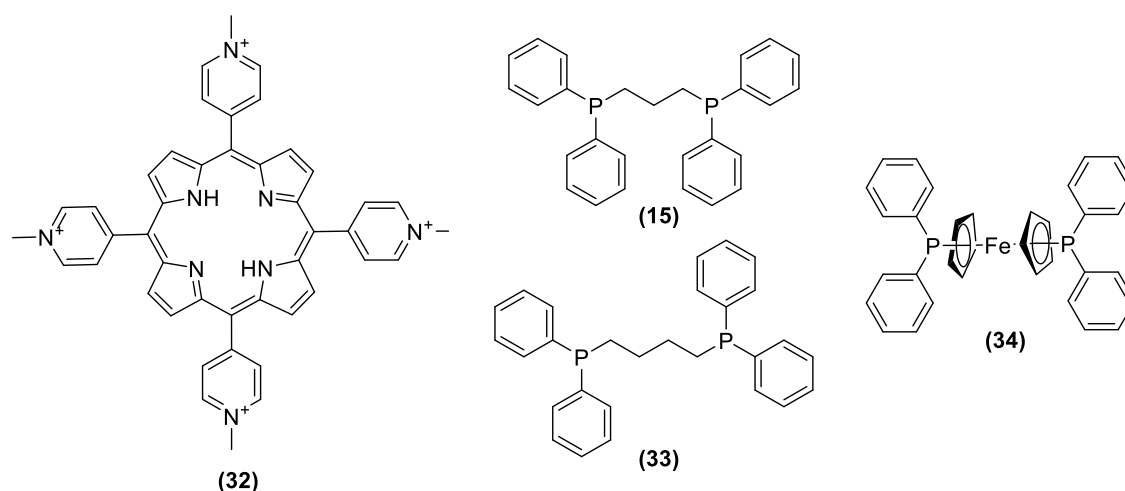
Além disso, embora o Φ_{Δ} dos agregados *J* seja considerado baixo, a sua intensa absorção em 707 nm ($\epsilon^{707\text{ nm}} = 5,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$) é de maior magnitude da observada para demais FSs porfirínicos; este pico de absorção encontra-se dentro da janela terapêutica da TFD (650-850 nm), região na qual a penetrabilidade da luz em tecidos biológicos é mais profunda, tornando assim o uso do agregado *J* extremamente favorável em TFD. Vale a pena salientar

também que seu alto rendimento de conversão interna, $\Phi_{ic} = 0,92$ (GONÇALVES *et al.*, 2012), demonstra sua capacidade de converter a luz absorvida em calor, tornando também essa espécie candidata promissora para aplicação em terapias fototérmicas.

7.4 Comparação dos Φ_{Δ} obtidos pelos métodos indireto e direto de complexos de paládio derivados da meso-tetrapiridil porfirina:

Nesta seção serão estudada os Φ_{Δ} de compostos derivados da porfirina contendo a 5,10,15,20-*meso*-(4-piridil)porfirina (**32**), **TPyP**, contendo como grupos periféricos 4 complexos de Pd II contendo grupos difenilfosfina. Estes complexos possuem propriedades dependentes do tipo de coordenação do metal, deste modo, foram selecionados os seguintes ligantes como blocos construtores: 1,3-bis(difenilfosfino)propano (**33**, **dppp**), 1,4-bis(difenilfosfino)butano (**15**, **dppb**), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (**34**, **dppf**)

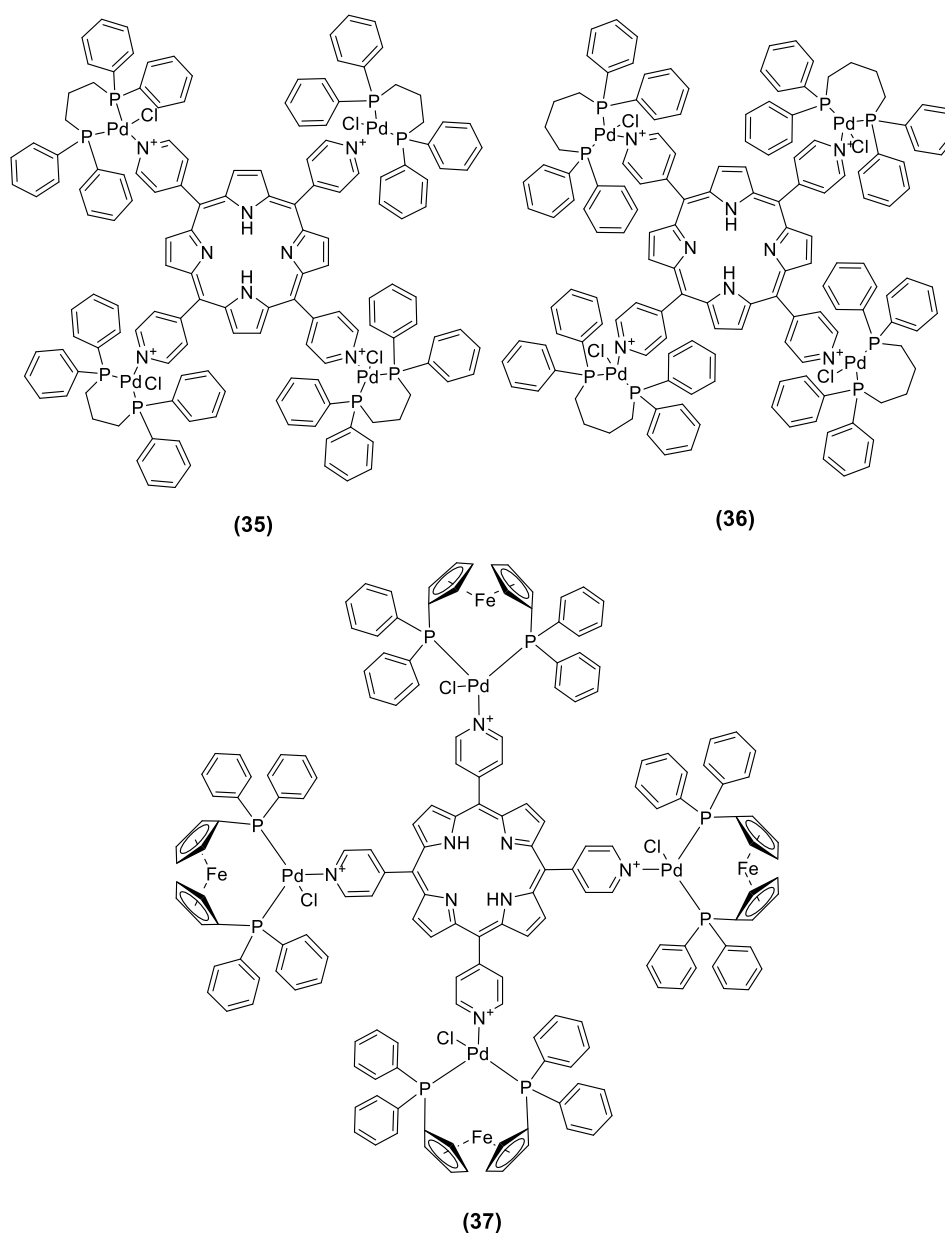
Figura 41 - Estruturas moleculares da porfirina TPyP e dos ligantes dppp, dppb e dppf.



Fonte: Autoria Própria.

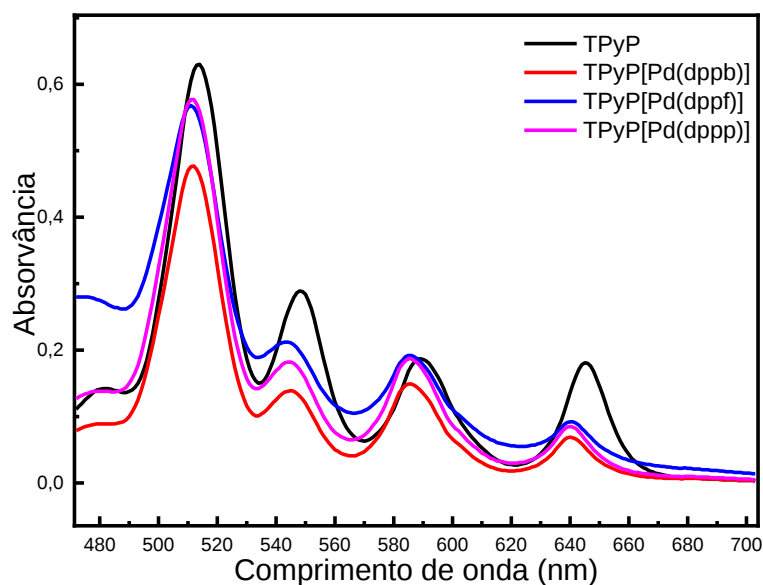
Os complexos **TPyP[Pd(dppp)]** (35), **TPyP[Pd(dppb)]** (36), **TPyP[Pd(dppf)]** (37), tiveram sua síntese, caracterização estrutural e fotofísica realizada por Alves et al. (2021). Os espectros de absorção dos complexos são apresentados na *Figura 42* e quando comparados com a porfirina **TPyP** não são evidenciadas alterações muito drásticas resultantes da inserção dos grupos periféricos.

Figura 42 – Estruturas moleculares dos complexos TPyP[Pd(dppp)], TPyP[Pd(dppb)] e TPyP[Pd(dppf)].



Fonte: Autoria Própria.

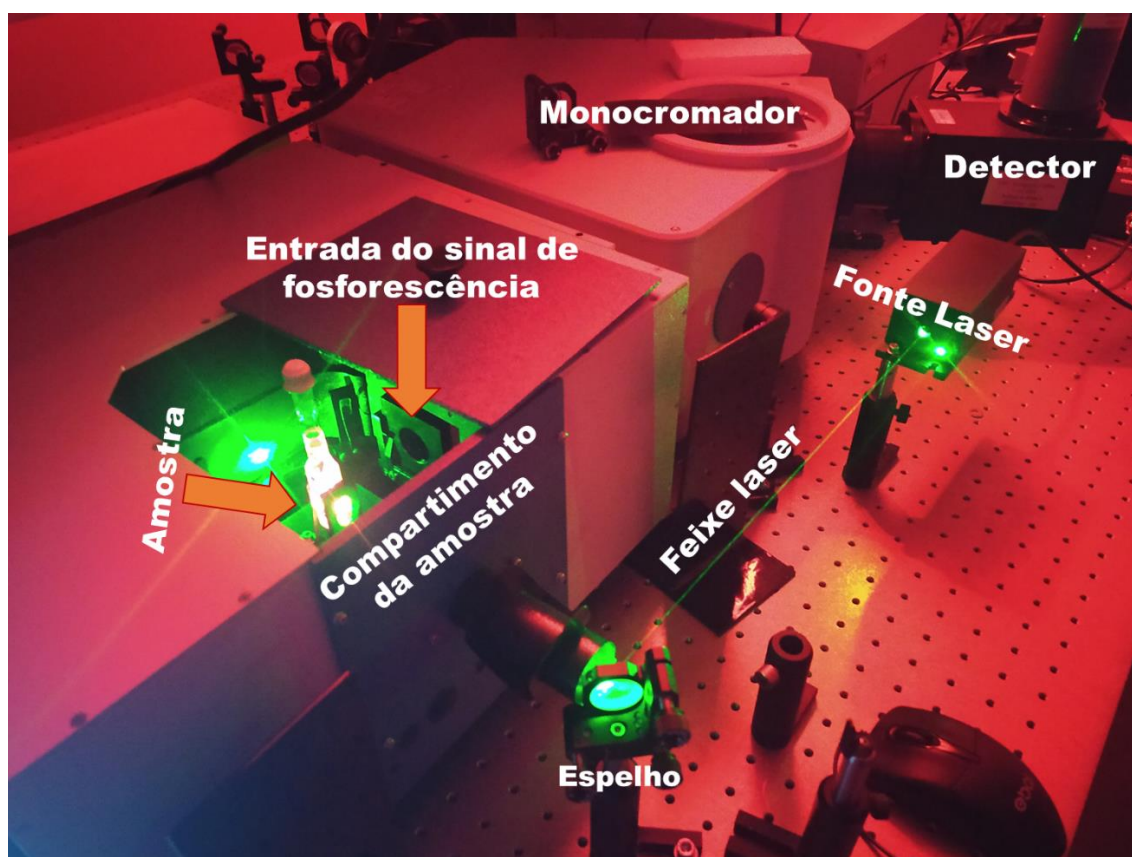
Figura 43 - Espectros de absorção dos compostos TPyP[Pd(dppp)], TPyP[Pd(dppb)] e TPyP[Pd(dppf)], em DMSO.



Fonte: Autoria Própria.

Os Φ_{Δ} foram determinados através do método direto neste trabalho e na Figura 44 é apresentada uma fotografia do equipamento de fosforescência instalado no Grupo de Biofotônica, e utilizado em todas as medidas apresentadas neste capítulo. Os valores obtidos foram comparados com os resultados obtidos pelo método indireto por Alves (2020), através da degradação do sensor ácido úrico. Em ambos os métodos, as amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO), sendo utilizada uma fonte de excitação laser verde (532 nm) e adotou-se a TPP ($\Phi_{\Delta} = 0,52$) como padrão de referência (SILVA *et al.*, 2008).

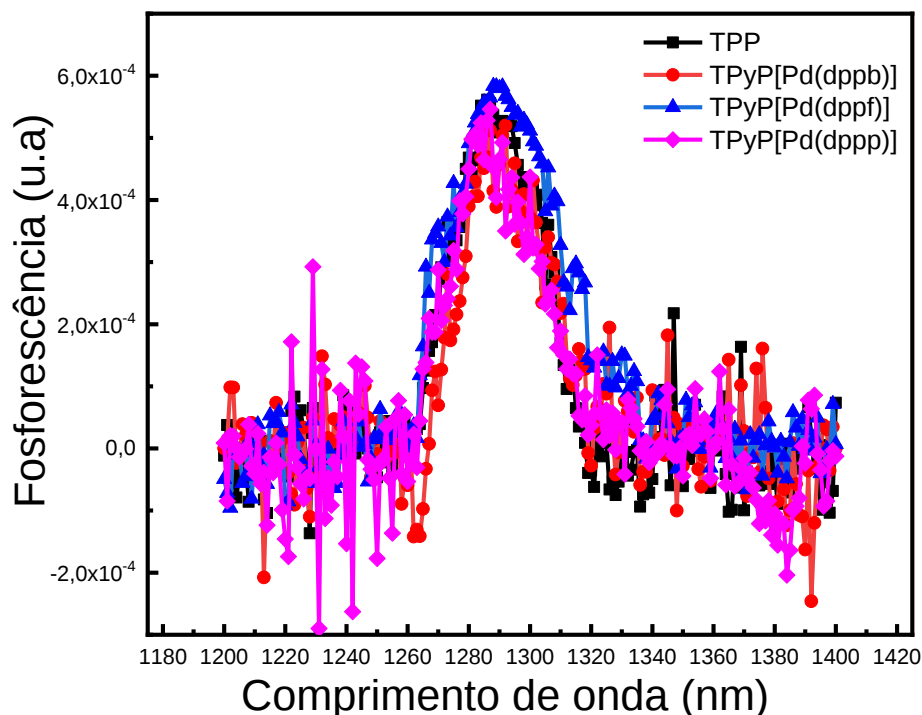
Figura 44 - Fotografia do espectrômetro de fosforescência para detecção direta do $^1\text{O}_2$, instalado no Grupo de Biofotônica.



Fonte: Fotografia retirada por Andrew Gabriel Boaventura França (2023).

Os espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ apresentaram baixíssima resolução e alta razão sinal/ruído, o que não era esperado visto que pelo método indireto os Φ_{Δ} se encontraram na faixa 0,03-0,4, aproximadamente, o que reforça a hipótese de falha metodológica. Neste sentido, tentou-se realizar ajustes no alinhamento do feixe e aumento da concentração das soluções, mas sem êxito.

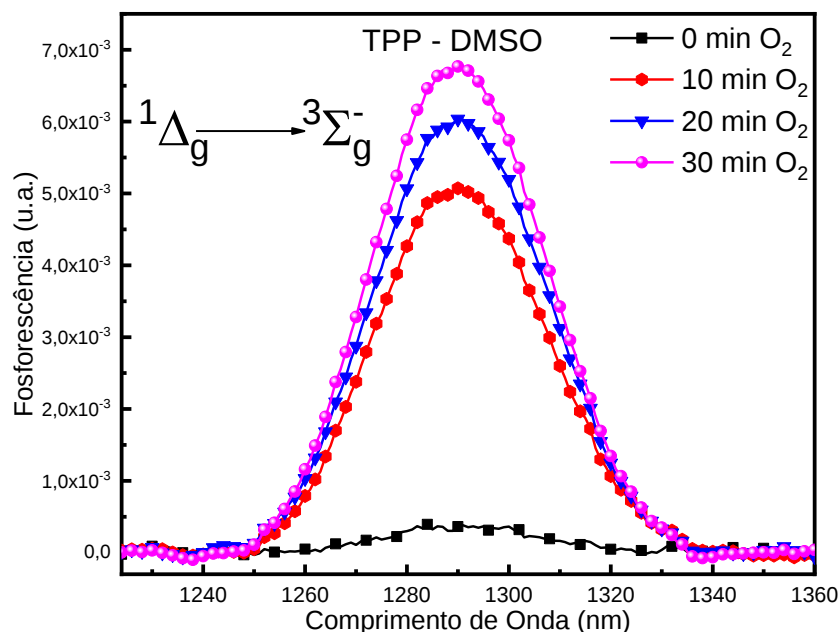
Figura 45 - Espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelos compostos $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppp})]$, $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppb})]$ e $\text{TPyP}[\text{Pd}(\text{dppf})]$, em DMSO.



Fonte: Autoria Própria.

Uma alternativa postulada foi enriquecer a solução com gás O_2 , usando por analogia o mesmo raciocínio empregado na otimização das medidas da técnica de LFF. Assim como o oxigênio dissolvido suprime a detecção dos estados tripletos, para a detecção do $^1\text{O}_2$ se faz necessária a presença de moléculas de O_2 disponíveis para a sua formação. Deste modo, utilizou-se o sistema de aeração/deaeração descrito na seção 5.3.3, contudo foi feita a inserção do gás O_2 . Foi realizado um estudo em função do tempo de oxigenação (0-30 min) com a solução de **TPP** em DMSO, conforme apresentado na Figura 46.

Figura 46 - Efeito do tempo de oxigenação da solução da TPP em DMSO no aumento da fosforescência do $^1\text{O}_2$.

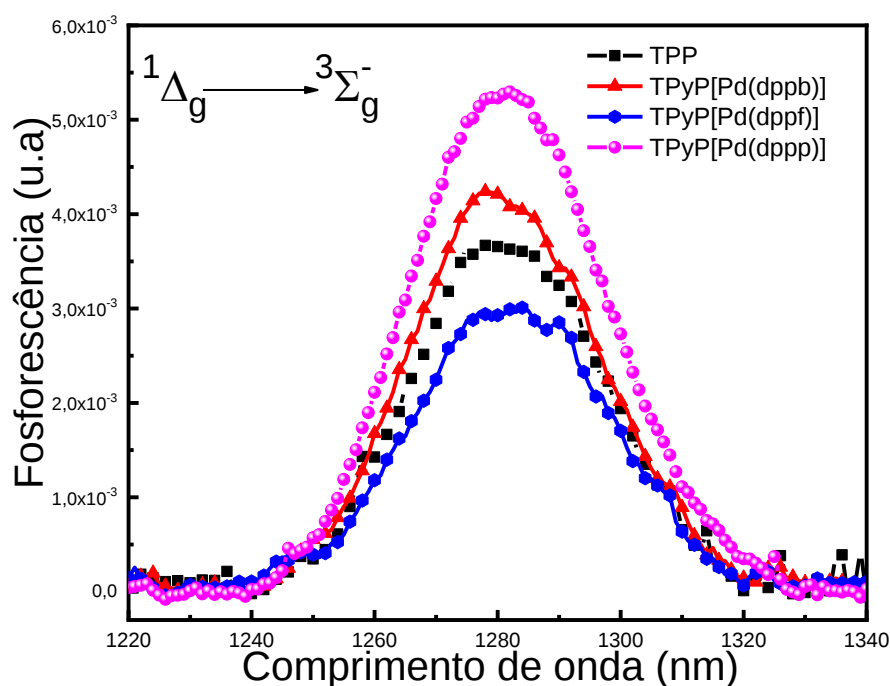


Fonte: Autoria Própria.

Conforme podemos observar há um aumento de cerca de 20 vezes no sinal da transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ com 30 minutos de tempo de aeração. Paralelamente, fizemos o mesmo estudo para a amostra **TMPyP** (vide Anexos) em PBS e observamos a saturação do sinal com apenas 10 min de oxigenação, e com um incremento de apenas 22 %. Esse resultado está associado ao fato de a solubilidade do O_2 em água, em CNTp, ser $1,22 \text{ mmol.L}^{-1}$ (XING *et al.*, 2014) enquanto que a sua solubilidade em DMSO é $0,33 \text{ mmol.L}^{-1}$ (Franco; Olmsted III, 1990).

Na Figura 47 são apresentados os espectros de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ dos complexos, obtidos após 30 minutos de oxigenação. Neles percebemos uma excelente diferenciação de intensidade e melhoria de resolução entre amostras. Na Tabela 6 são apresentados os Φ_Δ pelo método indireto e direto calculados através das equações 10 e 11, respectivamente.

Figura 47 – Espectros de fosforescência do $^1\text{O}_2$ gerado pelos compostos TPyP[Pd(dppp)], TPyP[Pd(dppb)] e TPyP[Pd(dppf)], em DMSO, após 30 min. de oxigenação de suas soluções.



Fonte: Autoria Própria.

Tabela 6 - Rendimentos de formação de oxigênio singlete dos complexos obtidos pelo método indireto ($\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Ind.}}$) e direto ($\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Dir.}}$) em DMSO.

Amostra	$\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Ind.}}$	$\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Dir.}}$
TPP	0,52	0,52
TPyP[Pd(dppb)]	0,22	$0,65 \pm 0,03$
TPyP[Pd(dppf)]	0,028	$0,35 \pm 0,03$
TPyP[Pd(dppp)]	0,39	$0,65 \pm 0,03$

Fonte: $\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Ind.}}$: (ALVES et al., 2021); $\Phi_{\Delta}^{\text{Met. Dir.}}$: Autoria Própria.

Ao compararmos os Φ_{Δ} obtidos pelo método indireto com o método direto verificamos que os primeiros foram extremamente subestimados, sendo que para o caso do complexo TPyP[Pd(dppf)] verifica-se uma variação de 92%. Isso se dá pela falta de seletividade do método indireto, no qual o sensor pode degradar-se ao interagir com outras EROs formadas, que não sejam

propriamente o $^1\text{O}_2$, ou até mesmo se decompor através de outras reações fotoquímicas (BREGNHØJ, 2019; FISCHER *et al.*, 1998).

Através do método direto constatamos que os Φ_Δ dos complexos **TPyP[Pd(dppb)]** e **TPyP[Pd(dppp)]** são iguais. Isso se deve à similaridade estrutural de ambos, que diferem apenas com a presença de um átomo de carbono a mais na cadeia orgânica que interliga os grupos difenilfosfina. Já no complexo **TPyP[Pd(dppf)]** o menor Φ_Δ observado se deve ao fato de os grupos difenilfosfinas serem conectados pelo complexo ferroceno, que propicia a moléculacomo um todo novos caminhos para a relaxação dos estados excitados, devido ao seu alto volume estérico, podendo impactar na formação dos estados tripletos.

7.4 Conclusão:

O método direto de detecção do $^1\text{O}_2$ é incontestavelmente mais preciso e seletivo quando comparado com o método indireto. Neste capítulo, foram determinados os Φ_Δ de porfirinas conhecidas e os resultados foram comparáveis aos descritos na literatura, demonstrando que o sistema instalado e a metodologia empregada estão adequados. Além disso, foi possível determinação do Φ_Δ em sistemas complexos, na qual a utilização do método indireto é inviável, como foi no caso da porfirina **TPPS** em pH ácido e de seu agregado supramolecular.

Além disso, constatamos que para realização de medidas com amostras em solventes orgânicos, que apresentam baixa solubilidade do gás O_2 , se faz necessária oxigenação da solução, o que resultou num incremento de 20 vezes do sinal da emissão fosforescente. Para as medidas de amostras dissolvidas em meio aquoso, a oxigenação da solução leva a um aumento de 22% do sinal, o que eventualmente pode ser útil para amostras que apresentam baixos Φ_Δ .

Capítulo VIII

ESTUDO DA FOTOFÍSICA DE INTERAÇÃO ENTRE PORFIRINAS E SEUS COMPLEXOS DE ZINCO II E A ALBUMINA DE SORO BOVINO (BSA)

Neste capítulo será apresentada a completa caracterização fotofísica da interação de porfirinas catiônicas, aniônicas e seus complexos de zinco com albumina de soro bovino. Através deste estudo foi possível analisar o efeito da interação nas propriedades fotofísicas e correlacionar estes efeitos com a localização do sítio de interação envolvido e da presença de oxigênio.

8 Estudo da fotofísica de interação entre porfirinas e seus complexos de zinco II e a albumina de soro bovino (BSA)

8.1 Introdução:

Um dos gargalos na aplicação clínica da Terapia Fotodinâmica se dá pela redução da eficiência da resposta fotodinâmica do FS em meios biológicos e organismos vivos. Esta redução pode estar relacionada à baixa solubilidade de algumas porfirinas em meio aquoso, que reduz a biodisponibilidade e a biodistribuição da molécula, podendo levar à sua agregação afetando em suas propriedades fotofísicas.

Deste modo, é de fundamental importância que se tenha conhecimento como o FS irá se comportar em sistemas biológicos. O estudo de interação de FSs com albumina sérica é um dos estágios iniciais para a compreensão deste comportamento, uma vez que ela é a biomolécula mais abundante no plasma de mamíferos e desempenha a função de transporte e entrega de nutrientes às células (MAJOREK *et al.*, 2012).

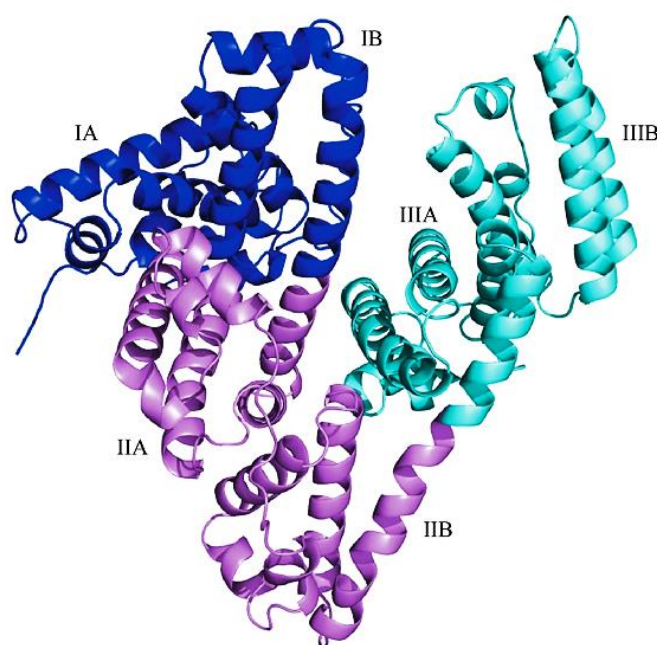
Conforme descrito no **Cap.1**, a interação de porfirinas com as albuminas interfere nos processos de excitação e relaxação energética, modificando os parâmetros fotofísicos (CHATTERJEE; SRIVASTAVA, 2000; SHI *et al.*, 2016). Além disso, a albumina sérica bovina (BSA) é frequentemente utilizada como sistema-modelo de estudo de interação em virtude de sua similitude estrutural com a albumina sérica humana (HSA).

BUJACZ (2012) realizou um estudo cristalográfico comparativo de albuminas séricas de diferentes espécies de mamíferos (bovina, equina, leporina) com a HSA. Foi demonstrado que todas essas albuminas possuem estruturas helicoidais e são constituídas por três domínios (I, II e III), de conformações muito similares que se subdividem, cada um, em dois subdomínios (A e B). Os

subdomínios diferenciam-se entre si pelo número pontes de dissulfetos existentes, que conferem rigidez à estrutura proteica; o subdomínio do tipo A é constituído por 6 α -hélices conectadas por 4 pontes de dissulfeto, com exceção do subdomínio 1A que possui apenas três pontes de dissulfeto; já o subdomínio B é composto por 4 α -hélices enrijecidas por duas pontes de dissulfeto; a conexão entre os subdomínios é realizada por longos *loops* flexíveis, que conferem mobilidade à estrutura.

Na *Figura 48* está representada a estrutura da BSA destacando-se os domínios I-II e II-III, que se conectam entre si através de longas hélices e a suas subdivisões encontra-se exatamente ao centro de cada subunidade estrutural.

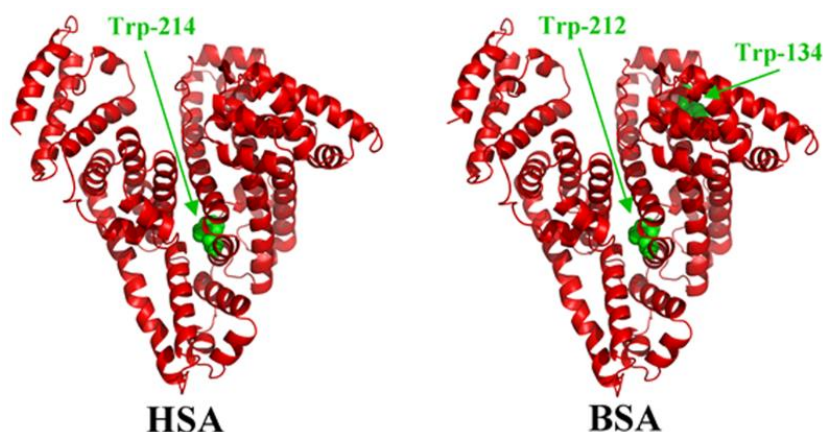
Figura 48 - Divisão dos domínios e subdomínios da estrutura da BSA: subdomínio I (azul); subdomínio II (magenta); subdomínio III (ciano).



Fonte: Reproduzido de BUJACZ (2012) com a permissão de International Union of Crystallography. © 2012.

Estruturalmente a BSA e a HSA possuem 75,8% de similitude entre seus sítios, contudo, apenas alguns dos resíduos não-similares se localizam expostos na superfície externa e estão disponíveis para interação. O primeiro conjunto de diferenças encontram-se nas quatro primeiras α -hélices do subdomínio IB que compreendem uma extensa região antigênica (epítopo) qualificável ao reconhecimento imunológico e com alta exposição para solvatação. O segundo conjunto de diferenças, por sua vez, localizam-se na terceira e quarta α -hélices do subdomínio IIB e também em alguns fragmentos pontuais do subdomínio IIIA; entretanto, esse conjunto não se encontra diretamente exposto na conformação nativa da proteína. Por último, o terceiro conjunto é constituído por quatro fragmentos de resíduos presentes em diferentes α -hélices do subdomínio IIIB e localizam-se expostos na superfície da proteína (MAJOREK *et al.*, 2012). Outra diferença marcante da BSA, em relação as demais albuminas, é a presença de um aminoácido triptofano fluorescente adicional (Trp134) no sítio IB, cujo o monitoramento de sua emissão é comumente realizado em estudos de interação com moléculas bioativas (BHATTACHARYA *et al.*, 2000; BUJACZ, 2012). Além disso, está presente em sua estrutura um outro resíduo opticamente ativo (Trp212), equivalente ao marcador fluorescente observado na HSA (Trp214), sendo ambos localizados em seus respectivos subdomínios IIA, conforme demonstrado na *Figura 49* (BELATIK *et al.*, 2012).

Figura 49 - Estruturas tridimensionais da HSA e BSA, contendo os resíduos triptofano opticamente ativos destacados em verde.



Fonte: Reproduzido de BELATIK et al. (2012) com a autorização de Plos One © Creative Commons Attribution 4.0 Unported License. 2012.

Quando comparados os diferentes domínios da BSA entre si, observa-se que os domínios I e II possuem alta similitude entre si. Já o domínio III difere-se muito do domínio I na sequência de aminoácidos; em relação ao domínio II, por sua vez, o subdomínio III se difere majoritariamente em sua natureza estrutural/conformacional (BUJACZ, 2012; MAJOREK *et al.*, 2012).

Dada a sua variedade de sítios a **BSA** é capaz de interagir com substâncias hidrofílicas, hidrofóbicas e anfifílicas (SANNIKOVA *et al.*, 2020). Deste modo, serão apresentados neste capítulo o estudo da interação entre porfirinas catiônicas (**TMPyP** e **ZnTMPyP**) e aniônica (**TPPS₄**) com a BSA, avaliando seu impacto nos tempos de vida dos estados tripleto (τ_T) e nos rendimentos de formação de tripleto (Φ_T) e de oxigênio singleto (Φ_Δ).

Estudos anteriores demonstraram que na presença de BSA as porfirinas **TPPS₄** e **TMPyP** podem se rearranjar da seguinte forma, em solução: i) monômeros (moléculas individuais) interagindo com o solvente; ii) agregados moleculares porfirínicos ligados à BSA; iii) moléculas individuais de porfirinas

ligados a uma única molécula de BSA e iv) moléculas individuais de porfirinas dentro de agregados de BSA (BORISSEVITCH *et al.*, 1996a, 1997).

A dinâmica de agregação molecular dos FSs e da proteína é altamente dependente de sua razão molar, então, para garantir que haja a presença de apenas espécies individuais em solução, o estudo de interação foi conduzido a partir da mistura das soluções estoque na razão molar $\frac{[BSA]}{[Porfirina]} \approx 2$ (BORISSEVITCH *et al.*, 1996a), afim de se evitar a agregação dos componentes.

Um dos outros fatores que conduzem a formação de agregados nas porfirinas é o equilíbrio ácido-base dos hidrogênios ligados aos nitrogênios piridínicos. Os pK_as da **TPPS₄** são 4,8 e 5,7 (OKUMURA *et al.*, 1996) sendo que em pH < 4,6 ela se encontra na forma biprotonada (**H₄²⁺TPPS₄²⁻**) e acima do pH neutro ela se encontra na sua forma não-protonada ou base livre (**H₂TPPS₄²⁻**). Sabe-se que a espécie biprotonada pode levar à formação de diferentes tipos de agregados (J e H), porém, a espécie não-protonada não é hábil para formação destes (AGGARWAL; BORISSEVITCH, 2006).

A **TMPyP** por sua vez apresenta valores de pK_a iguais a 1,4 e 12,8 (TOMINAGA *et al.*, 2004) sendo que para pH < 2 ela se encontra na forma não-protonada (**H₂TMPyP⁴⁺**) e em pH > 13 ela se encontra na forma desprotonada (**TMPyP²⁺**) (YUSHMANOV *et al.*, 1996).

Deste modo, no pH = 7,2 é de se esperar que as porfirinas estejam não-protonadas e preferencialmente adotem a conformação monomérica. Já a porfirina **ZnTMPyP** já possui os seus hidrogênios pirrólicos desprotonados e por isso não tem tendência a agregação. (CHERNIA; GILL, 1999).

8.2 Materiais e Métodos:

Para o estudo da interação com a molécula de BSA as porfirinas foram preparadas em tampão PBS soluções com absorção em 532 nm iguais a 0,2. A albumina de soro bovino Sigma-Aldrich foi solubilizada em tampão PBS, a aproximadamente 39 °C, resultando em uma solução estoque de concentração de 2 mmol.L⁻¹ que permaneceu permanentemente sob refrigeração em geladeira. Para execução dos experimentos uma alíquota desta solução estoque era retirada e mantida na temperatura ambiente para equilíbrio térmico e reestruturação para a forma nativa da proteína. Vale a pena salientar que a solução estoque de BSA foi utilizada por um prazo de no máximo duas semanas, a qual após esse período ela se torna turva.

Em seguida, foram adicionadas alíquotas da solução estoque de BSA de modo que a concentração de BSA na amostra fosse o dobro da de porfirina e após a adição a mistura permaneceu sob incubação na temperatura ambiente por 30 min. Essas amostras foram caracterizadas pelas espectroscopias de absorção UV-Vis, de fluorescência estacionária e estática.

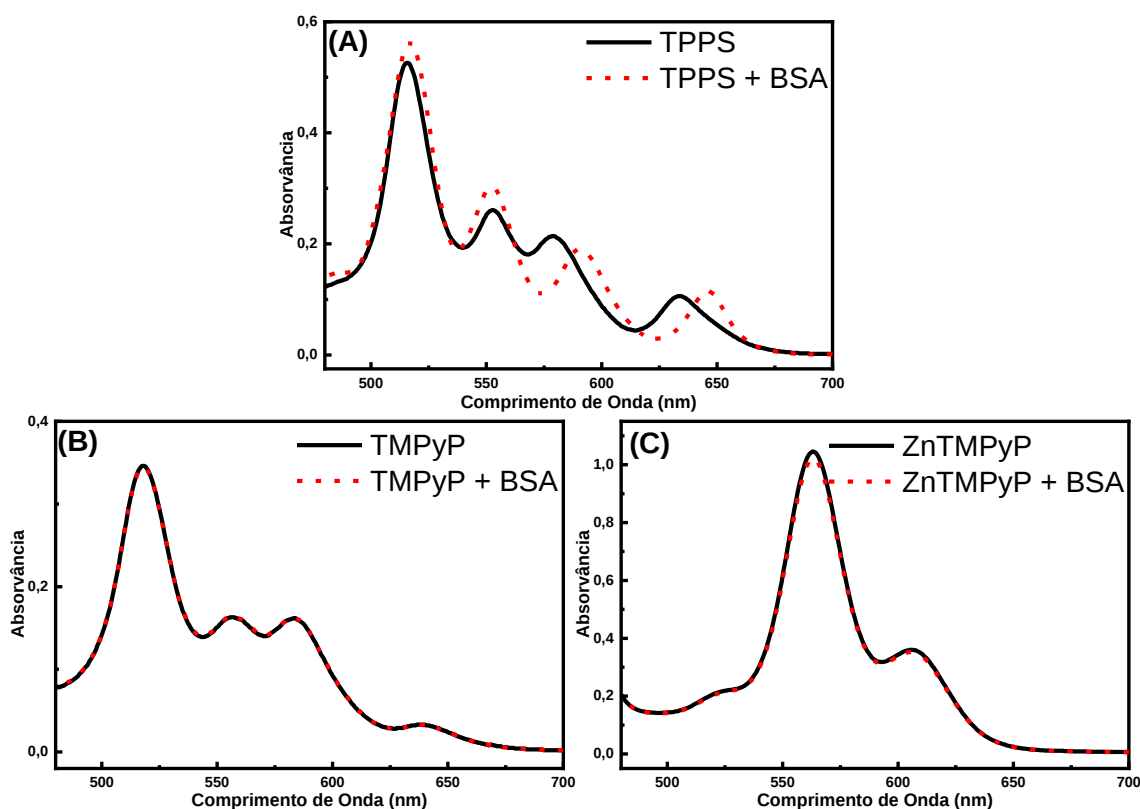
As medidas de τ_T e Φ_T foram obtidas em solução saturada de ar atmosférico, ou seja, com a quantidade de oxigênio presente na solução assim quanto preparadas, e também na ausência de oxigênio dissolvido, conforme otimização de protocolo descrito na seção 5.3.3. As medidas de Φ_{Δ} , por sua vez, já foram realizadas conforme metodologia otimizada descrita na seção 7.4, na qual as soluções foram enriquecidas com O₂ com borbulhamento por 30 min. Em todas as análises a degradação das amostras foi monitorada medindo-se os espectros de absorção antes e após as análises, sendo descartadas as análises nas quais houveram degradações das porfirinas superiores 5%.

8.3 Resultados e Discussões:

Na *Figura 50* são apresentados os espectros de UV-Vis das porfirinas na ausência e na presença de **BSA**, na região das chamadas bandas Q (460-700nm). As bandas de absorção de todas as porfirinas demonstram que estas estão em sua forma monomérica e que não ocorreu agregação molecular da albumina (BORISSEVITCH *et al.*, 1996b). Para as porfirinas catiônicas (**TMPyP** e **ZnTMPyP**) não foram observadas mudanças dos espectros de absorção da forma não-ligada em relação a forma ligada. Para a porfirina aniônica (**TPPS₄**) foi observado um leve deslocamento batocrômico das bandas de absorção das espécies ligadas à BSA e um sutil aumento de absorvância, nas bandas em 516 e 553 nm, da **TPPS₄** na presença de **BSA**. Este padrão espectral já demonstra que as porfirinas catiônicas interagem com a **BSA** de modo diferente que as porfirinas aniônicas. E para a porfirinas **TPPS₄** as mudanças espectrais estão provavelmente associadas às transformações na estrutura eletrônica das porfirinas induzidas pela atração eletrostática com a BSA (GONÇALVES *et al.*, 2019).

Os espectros de fluorescência (*Figura 51*) foram realizados após uma diluição das soluções estoque em uma razão de 1:4, afim de que $A_{\lambda_{exc} = 532nm} \leq 0,05$ evitando assim a fenômeno de auto-absorção devido à alta-concentração – *Efeito de Filtro Interno* (KUBISTA *et al.*, 1994). Para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência das porfirinas na presença de **BSA**, pela Eq.5, adotou-se como rendimento padrão (Φ_0) o valor de suas respectivas porfirinas isoladas.

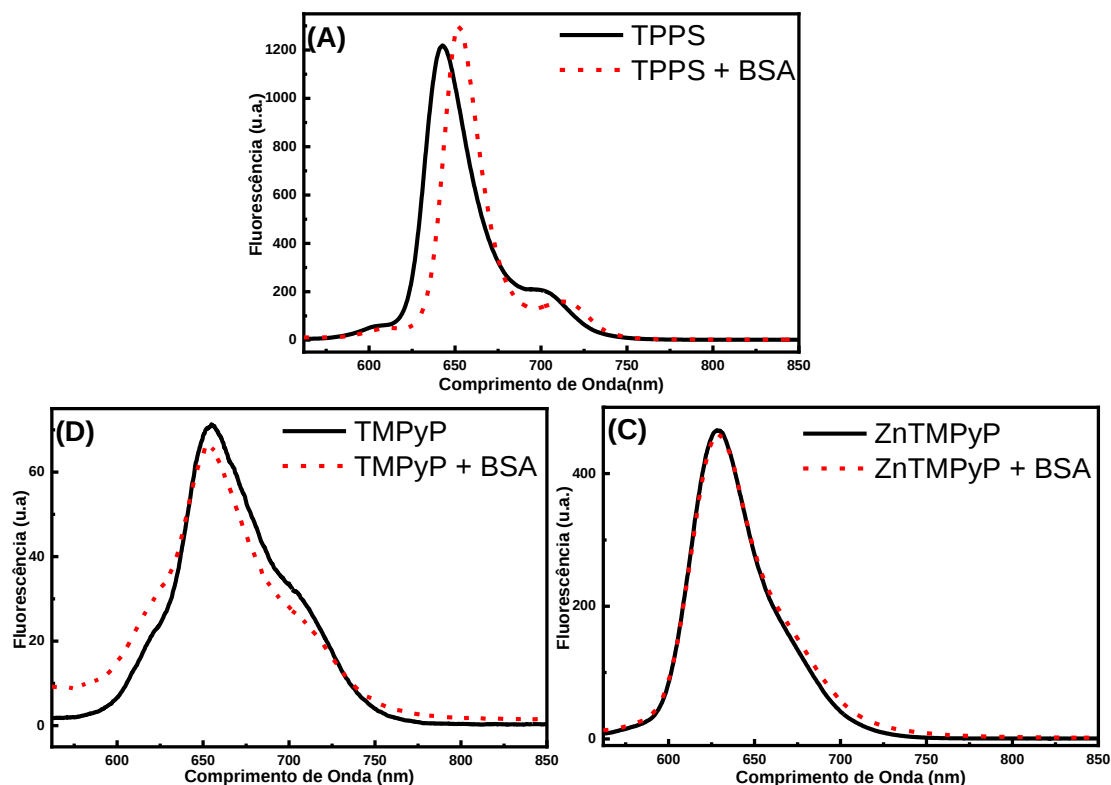
Figura 50 - Espectros UV-Vis, em PBS, das porfirinas: (a) TPPS₄ (43 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e TPPS₄ (43 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA (86 $\mu\text{mol.L}^{-1}$); (b) TMPyP (25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e TMPyP (25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA (50 $\mu\text{mol.L}^{-1}$); (c) ZnTMPyP (59 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e ZnTMPyP (59 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA (118 $\mu\text{mol.L}^{-1}$).



Fonte: Autoria Própria

A interação com a **BSA** leva a pequenas alterações nos espectros de emissão das porfirinas. Na porfirina aniônica, assim como nos espectros de absorção, verificou-se um leve descolamento batocrômico das bandas de emissão; ademais, foi observado um pequeno estreitamento de suas bandas de fluorescência. Nas porfirinas catiônicas, conforme já reportado por (BORISSEVITCH *et al.*, 1996b), o espectro de fluorescência permanece praticamente inalterado, observando-se apenas na **TMPyP** um alargamento das bandas de emissão. As variações na largura espectral podem, supostamente, se relacionar às mudanças conformacionais e estruturais nas porfirinas, e até mesmo na proteína, devido ao processo de interação e diferença de localização nos sítios da proteína.

Figura 51 - Espectros de fluorescência, em PBS, das porfirinas: (a) TPPS₄ (11 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e TPPS₄ (11 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA ($\mu\text{mol.L}^{-1}$); (b) TMPyP(7 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e TMPyP (7 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA (14 $\mu\text{mol.L}^{-1}$); e (c) ZnTMPyP(15 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) e ZnTMPyP (15 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) + BSA (30 $\mu\text{mol.L}^{-1}$).



Fonte: Autoria Própria

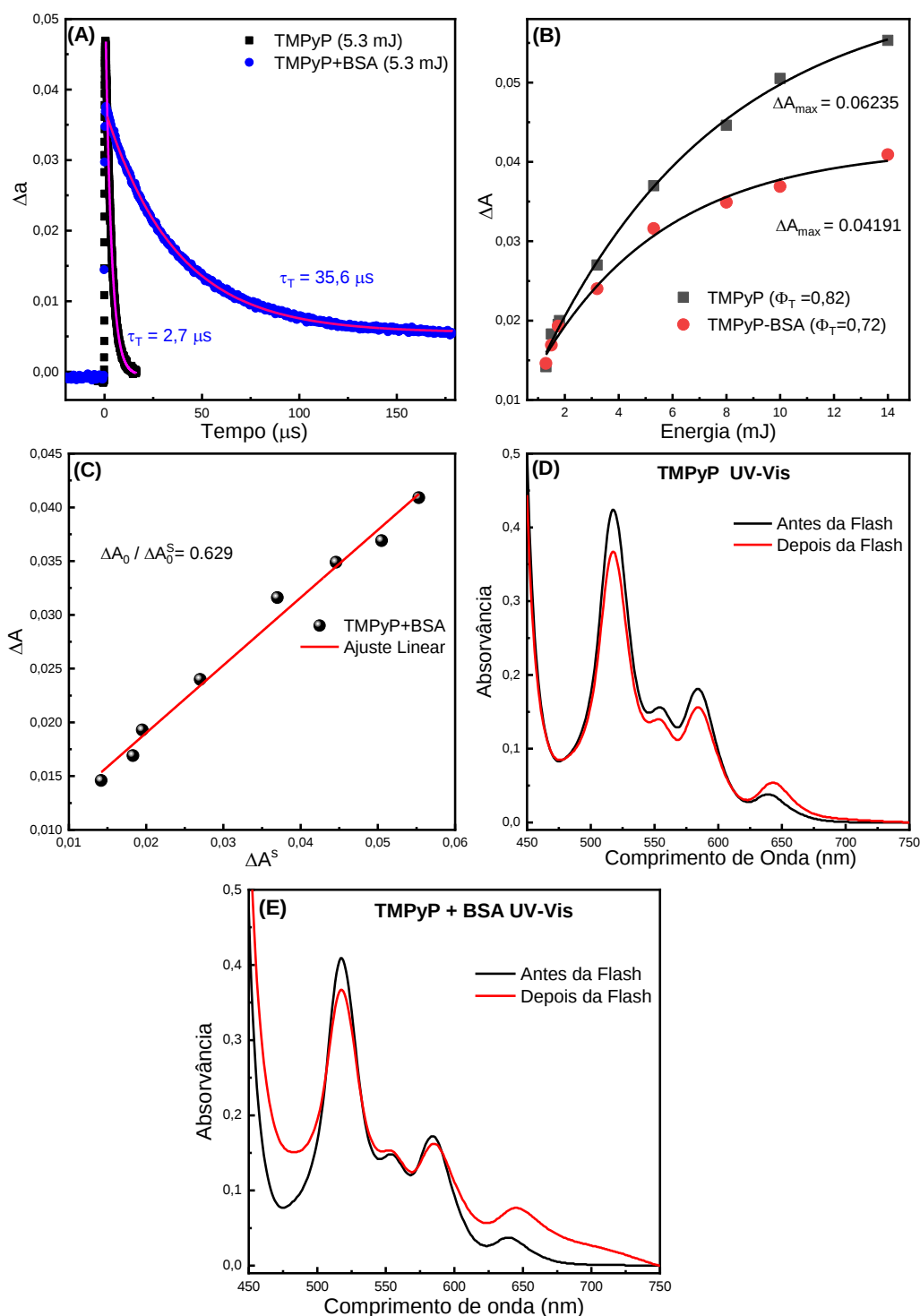
Os rendimentos quânticos de fluorescência, por sua vez, sofreram pouca variação na presença de albumina, indicando que a formação da interação pouco interfere na população do estado S_1 . Na *Tabela 7* estão enumerados todos os parâmetros fotofísicos obtidos nesse trabalho (Φ_{fl} , Φ_{Δ} , Φ_T e τ_T) para as porfirinas catiônicas e aniônicas em sua forma livre na presença de **BSA**, comparando-os com alguns dados já disponíveis na literatura.

Através da técnica de LFF (Espectroscopia de Absorção Transiente) foram estimados o rendimento (Φ_T) e o tempo de vida do estado tripleto (τ_T). Os valores de τ_T foram calculados através do ajuste monoexponencial (*Eq.24*) da curva de decaimento do tempo de vida de tripleto e observou-se que tanto as

porfirinas catiônicas, quanto a aniônica, apresentaram aumento significativo de seus τ_T na presença de **BSA** (*Tabela 7*).

Os Φ_T foram determinados pelo método validado no **Cap.5**, através da *Eq. 36*, ao qual varia-se a energia do pulso do feixe de bombeio, o laser, que causa uma variação na magnitude da absorção transiente diferencial (ΔA). Todos os parâmetros da *Eq.36* foram determinados para os FSs na presença e ausência de BSA, sendo os espectros de absorção UV-Vis determinados antes e após os experimentos de LFF. Na *Figura 52* são apresentadas as curvas obtidas para **TMPyP** e a *Tabela 7* apresenta todos os parâmetros fotofísicos dos FSs estudados.

Figura 52 – a) Curva de ΔA da TMPyP na presença e ausência de BSA; b) curva de ΔA em função da energia do laser da TMPyP na presença e ausência de BSA; c) dependência de ΔA da TMPyP na presença e ausência de BSA na mesma energia do laser; d) espectro de absorção da TMPyP antes e depois do experimento de LFF; e) espectro de absorção da TMPyP+BSA antes e depois do experimento de LFF. Amostras solubilizadas em PBS.



Fonte: Autoria Própria

Tabela 7 - Parâmetros fotofísicos de rendimento quântico de fluorescência (Φ_{fl}), rendimento de formação tripleto na solução saturada em ar (Φ_T), rendimento de formação tripleto na solução com ausência de oxigênio Φ_T (N_2), tempo de vida de tripleto na ausência (τ_T) e presença de oxigênio τ_T (N_2) e rendimento de formação de oxigênio singleto das Φ_Δ porfirinas livres e na presença de BSA, em PBS, contendo a comparação com alguns dados disponíveis na literatura.

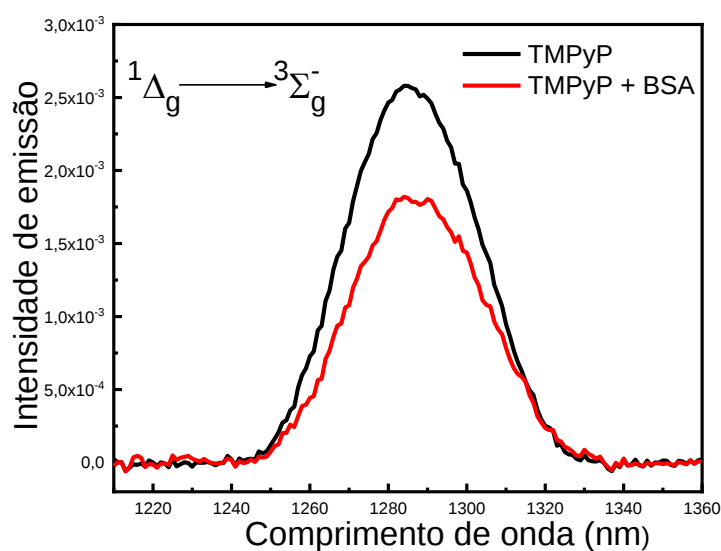
Amostra	Φ_{fl}	Φ_T	Φ_T (N_2)	τ_T	τ_T (N_2)	Φ_Δ	$\Phi_\Delta^{Literatura}$
TPPS ₄	0,17 §, a	0,77 §	0,75 (±0,02)	2,4 µs (±0,01)	121 µs	0,62 §	0,62 d
TPPS ₄ + BSA	0,11	0,76 (± 0,02)	0,76 (±0,02)	1,6 ms (±0,02)	1,9 ms	0,54 (± 0,02)	0,66 e
TMPyP	0,05 §, b	0,82 (± 0,02)	0,82 §, (±0,02)	2,7 µs (±2,0)	112 µs	0,71 (± 0,03)	0,74 f
TMPyP + BSA	0,05	0,83 (± 0,02)	0,72 (±0,02)	35,6 µs (±2,0)	90 µs	0,49 (± 0,02)	--
ZnTMPyP	0,029 §, c	0,90 §	0,90 (±0,03)	3,4 µs (±0,06)	133 µs	0,89 (± 0,02)	0,88 f
ZnTMPyP + BSA	0,025	0,85 (± 0,04)	0,92 (±0,02)	128 µs (±15,0)	108 µs	0,42 (± 0,02)	--

§Valor utilizado como rendimento padrão; a(GONÇALVES *et al.*, 2006) ;b(DE PAOLI *et al.*, 2002); c(GONÇALVES *et al.*, 2013);

d(WILKINSON *et al.*, 1993); e(DAVILA; HARRIMAN, 1990); f(PRASEUTH *et al.*, 1986);

Os valores de Φ_{Δ} , enumerados na *Tabela 7* correspondem ao valor médio de três medidas independentes, sendo o erro o desvio padrão entre as medidas. Os resultados de Φ_{Δ} , obtidos na presença de BSA, foram obtidos pela aluna Ariane Gornates Arantes, fazendo parte de seu trabalho de conclusão de curso em Física Médica, e aqui foram apresentados para possibilitar uma descrição completa dos processos fotofísicos envolvidos na interação das porfirinas em estudo com a BSA. O espectro de emissão do $^1\text{O}_2$ para a porfirina **TMPyP** (*Figura 53*) apresenta a banda de emissão próxima a 1280 nm associada à transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$.

Figura 53 - Espectro de emissão fosforescente do $^1\text{O}_2$ gerado pela TMPyP e pela TMPyP ligada à BSA, em PBS.



Fonte: Autoria Própria

Com a adição da **BSA** na solução observamos uma redução na intensidade da banda fosforescente, sendo este um indicativo de redução da formação do oxigênio singlete pela porfirina ligada; vale a pena salientar que o mesmo comportamento também foi observado para as demais porfirinas, conforme apresentado na *Tabela 7*.

Os valores finais de Φ_T , por sua vez, enumerados na *Tabela 7* correspondem a média de duas medidas independentes, em que o erro

experimental é dado pelo desvio padrão entre as medidas. Os rendimentos de tripleto das porfirinas na presença de **BSA** foram calculados utilizando como referência os rendimentos das porfirinas livres.

Ao analisarmos em conjunto os parâmetros fotofísicos (Φ_{Δ} , Φ_T , τ_T) constante na *Tabela 7*, observamos que tais parâmetros são afetados tanto pela presença de zinco, no anel pirrólico, quanto a de **BSA**.

Quando comparamos entre si as porfirinas catiônicas, a de base livre e o seu respectivo complexo de zinco, em tampão PBS, os rendimentos Φ_T e Φ_{Δ} aumentam em devido a um fenômeno conhecido como “*Efeito do átomo pesado*”. Quando o átomo de zinco se liga ao anel porfirínico, ocorre uma quebra de simetria na molécula, que deixa de ser do grupo pontual D_{2H} e passa pertencer ao grupo D_{4H} ; nesta condição, o acoplamento *spin-órbita* apresenta uma maior magnitude, condição esta que favorece o cruzamento intersistemas, aumentando a população no estado tripleto e, conseqüentemente, aumentando os rendimentos de oxigênio singlete (GOUTERMAN, 1978; HARRIMAN, 1981).

Considerando as soluções saturadas em ar atmosférico a presença de **BSA** influenciou no estado tripleto (T_1), com aumento do seu tempo de vida τ_T , seguido da redução da geração de 1O_2 . Contudo, considerando as diferenças e similaridades estruturais entre os FSs, a diversidade de sítios de ligação da albumina, é pouco provável que os comportamentos observados sejam governados pelos mesmos mecanismos de relaxação.

Neste sentido, verificamos que na presença de **BSA** o aumento do τ_T é muito mais pronunciado para a porfirina aniônica (**TPPS₄**) do que o observado para as porfirinas catiônicas (**TMPyP** e **ZnTMPyP**).

Quando comparamos as propriedades fotofísicas das porfirinas **TPPS₄** e **TMPyP** ligadas à **BSA**, observamos claramente o efeito da localização dos sítios envolvidos na interação.

Diferentes trabalhos, através de cálculos de *docking* molecular, experimentos de supressão de fluorescência e ressonância paramagnética

eletrônica, demonstraram que o sítio preferencial de interação da **TMPyP** é o subdomínio IB da BSA (CHAVES *et al.*, 2020; SANNIKOVA *et al.*, 2020; YURINA *et al.*, 2021). Este sítio possui natureza interação hidrofóbica, no qual o anel macrocíclico da porfirina interage com o resíduo fluoróforo Tryp134, a uma distância de 9 Å, e os nitrogênios piridínicos interagem à uma distância média de 3,4 Å, através de fracas ligações de hidrogênio com os resíduos Glu100 e Lys159 (YURINA *et al.*, 2021).

A **TPPS₄** se liga à **HSA**, por sua vez, em uma região do subdomínio IIA rica em resíduos aromáticos (ANDRADE; COSTA, 2002), à aproximadamente 12 Å do resíduo fluoróforo Tryp214. Os grupos sulfônicos (SO_3^-) se direcionam a este resíduo, originando um mecanismo de supressão estática da fluorescência e a interação com a estrutura proteica leva a uma deformação do anel porfirínico (ROZINEK *et al.*, 2016). Considerando que os sítios IIA da **HSA** e **BSA** são extremamente semelhantes (BUJACZ, 2012), tudo nos leva a crer que a **TPPS₄** também se liga na **BSA** no sítio IIA (LEBEDEVA *et al.*, 2017), próximo ao respectivo seu resíduo fluoróforo homólogo, o Tryp212; ademais, o ligeiro deslocamento batocrômico e a sutil variação de intensidades nas bandas de absorção no UV-VIS (*Figura 17.a*) são um indicativo da distorção de geometria do anel pirrólico, em consequência de sua interação com a **BSA** (ROZINEK *et al.*, 2016).

Ao compararmos os Φ_T da **TMPyP** e **TPPS₄**, após adição de **BSA**, constatamos que este rendimento praticamente não se altera, contudo o τ_T aumenta da **TPPS₄** aumenta na ordem de 1000 vezes e a **TMPyP** apenas 10 vezes, aproximadamente, em relação as respectivas porfirinas isoladas.

Quando observamos a influência da remoção do oxigênio dissolvido em solução, que suprime os estados tripletos formados, somente foi observado um prolongamento do $\tau_T(N_2)$, conforme já esperado e descrito na seção 5.3.3. Contudo, a tendência de variação entre as diferentes porfirinas manteve-se a mesma.

Ao analisarmos os efeitos da interação da BSA na geração de $^1\text{O}_2$ percebemos que as porfirinas catiônicas **TMPyP** e **ZnTMPyP** tiveram uma redução mais significativa nos Φ_Δ de 31% e 53%, respectivamente; enquanto a porfirina aniônica **TPPS₄** apresentou uma redução de apenas 12% no seu Φ_Δ .

Estes resultados estão em concordância ao mecanismo de interação proposto por KOLLAR e colaboradores (2020), em que FSs com grupos aniônicos têm uma tendência de se ligarem à **BSA** em regiões mais blindadas e os FSs catiônicos, preferencialmente, irão se ligar a sítios mais expostos, na superfície externa da proteína. Considerando essa preferência de interação, os FSs aniônicos tendem a apresentar τ_T mais longos e baixos Φ_Δ , uma vez que o alto impedimento estérico impede o acesso das moléculas de oxigênio para a transferência de energia com as moléculas do FS no estado tripleto. Enquanto isso, por sua vez, os FSs catiônicos têm τ_T mais curtos por preferencialmente ligarem-se a superfície estando mais susceptíveis a processos de colisões com outras moléculas, a processos de relaxação vibracional e também maior acessibilidade às moléculas O_2 para formação de $^1\text{O}_2$.

Além disso, KOŘÍNEK e colaboradores (2006) através de medidas do tempo de vida do $^1\text{O}_2$, na interação entre a **TPPS₄** e **HSA**, demonstraram que o aumento desse impedimento estérico dificulta a difusão do $^1\text{O}_2$ formado em solução, favorecendo reações de fotoxidação nos resíduos próximos do sítio de interação, diminuindo, assim, o Φ_Δ .

A adição do átomo de zinco às porfirinas não leva a alterações de seus sítios de ligação (CHAVES *et al.*, 2020), isto é, **TMPyP** e **ZnTMPyP** provavelmente se ligam preferencialmente no sítio IB.

8.4 Conclusão

A completa elucidação do mecanismo de interação entre FS e biomoléculas exige um criterioso estudo suportado por diferentes técnicas espectroscópicas e computacionais, como o *docking* molecular. Neste capítulo, estudamos por técnicas espectroscópicas a interação da BSA com a **TMPyP**, **TPPS₄** e **ZnTMPyP**.

Verificamos pela técnica de UV-Vis que somente a **TPPS₄** sofre alteração espectral; já na espectroscopia de fluorescência foi observado um pequeno deslocamento batocrômico para emissão da **TPPS₄** e um alargamento das bandas de emissão da **TMPyP** e **ZnTMPyP**, com pouquíssima variação no rendimento de fluorescência.

Pela técnica de LFF percebemos que os complexos catiônicos (**TMPyP+BSA** e **ZnTMPyP+BSA**) apresentaram menor influência da interação da proteína nos seus τ_T do que o complexo aniônico (**TPPS₄+BSA**); a demissão do oxigênio dissolvido na solução aumentou numericamente os τ_T (N_2), contudo, não alterou a ordem de magnitude observada. Além disso, os valores observados de Φ_T e Φ_T (N_2) demonstraram que a interação com a proteína não afeta a formação de estados tripletos pelos FS estudados.

Através do método direto de determinação do Φ_Δ observamos que a formação do complexo FS-BSA diminui notavelmente, fazendo com que os complexos catiônicos (**TMPyP+BSA** e **ZnTMPyP+BSA**) possuam uma redução mais significativa nos seus Φ_Δ do que a observada para o complexo aniônico (**TPPS₄+BSA**).

Todo esse comportamento evidencia a formação de diferentes tipos de interação dos FS com a BSA, onde a porfirina aniônica tende a se ligar em localidades internas e estericamente blindadas da proteína (**subdomínio IIA**) e os compostos catiônicos preferencialmente se ligam à superfície externa da proteína, em locais estericamente desblindados (**subdomínio IB**).

Ademais, até onde vai o nosso conhecimento, não foram reportados na literatura os rendimentos de tripleto e de formação de oxigênio singlete para as porfirinas **TMPyP** e **ZnTMPyP** na presença de **BSA**.

Capítulo IX

INFLUÊNCIA DA INTERAÇÃO ENTRE PORFIRINAS CATIÔNICAS E FERROFLUIDOS ANIÔNICOS DE NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE MANGANÊS (FeMn_2O_4) NOS SEUS RENDIMENTOS DE FORMAÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE Φ_Δ

Neste capítulo será apresentado um estudo interação entre porfirinas catiônicas com ferrofluidos aniônicos de ferrofluidos de nanopartículas de ferrita de manganês. A interação suprime a fluorescência das porfirinas e também a geração de oxigênio singlete, sendo esta supressão consequência do acoplamento e interação com as moléculas da superfície. Além disso, foi demonstrada a possibilidade de desligamento das porfirinas na superfície das nanopartículas por ação fototérmica, restaurando suas propriedades fotofísicas.

Os resultados deste capítulo foram integralmente publicados no artigo: **SILVEIRA-ALVES, E.**; BEZERRA, F. C.; GUERRA, R. A.; ZUFELATO, N.; MARTINS, C. S.; DESORDI, J. C.; CAIRES, A. R. L.; BAKUZIS, A. F.; GONÇALVES, P. J. Coupling of cationic porphyrins on manganese ferrite nanoparticles: A potential multifunctional nanostructure for theranostics applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 438, 1 abr. 2023

9 Influência da interação entre porfirinas catiônicas e ferrofluidos aniônicas de nanopartículas de ferrita de manganês (FeMn_2O_4) nos seus rendimentos de formação de oxigênio singlete (Φ_Δ)

9.1 Introdução:

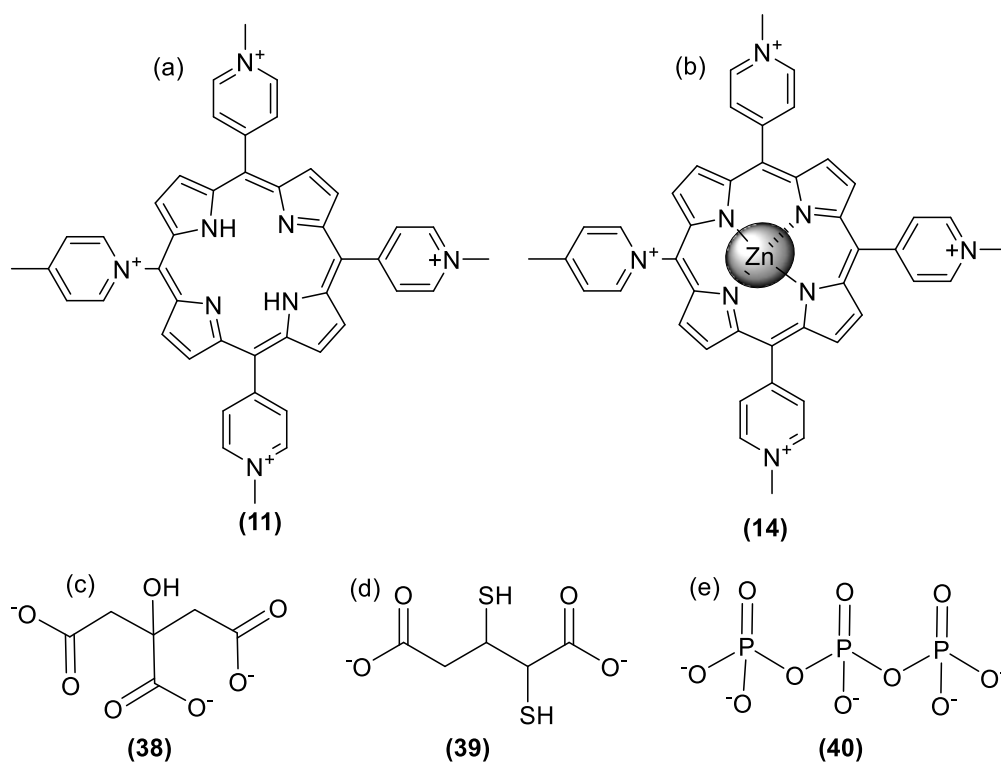
Um dos grandes desafios na aplicação clínica da terapia fotodinâmica se dá no direcionamento e na biodisponibilidade do FS no alvo terapêutico, principalmente quando se tratam de alvos presentes em órgãos mais internos, que também necessitam de aparatos de irradiação mais sofisticados para disponibilização da luz (DĄBROWSKI; ARNAUT, 2015).

Dentre os exemplos citados as nanopartículas magnéticas (NPs) a base de óxidos metálicos, principalmente as ferritas, se destacam como sistemas de *drug-delivery* pela facilidade de modificação de sua superfície para maximização da interação com o fármaco de interesse (AHMAD *et al.*, 2022), e por suas propriedades magnéticas que permitem o direcionamento a locais específicos e também por poderem ser empregadas em Terapia de Hipertermia Magnética (THM). A THM se baseia na aplicação de um campo magnético externo alternado a fim de promover um aumento da temperatura local e resultar na morte celular (RODRIGUES *et al.*, 2020). Deste modo, o desenvolvimento de sistemas de *drug-delivery* baseados na interação entre NPs e moléculas FSs pode ser uma estratégia bastante útil para obtenção de nanoplateformas multifuncionais teranósticas. Neste caso, tais sistemas poderiam ser empregadas tanto para imageamento, quanto para outras terapias biomédicas. Além disso, tais nanoplateformas podem combinar a capacidade de *drug-delivery* e terapêuticas das nanopartículas, e na presença do FS tem potencial aplicação teranósticas devido a sua fluorescência e ação fotodinâmica (SRIVATSAN *et al.*, 2015).

Para obtenção de dispersões coloidais estáveis (ferrofluidos) de nanopartículas, se faz necessário o recobrimento ou funcionalização da superfície

com moléculas que, em geral, apresentam propriedades surfactante (TEJA; KOH, 2009). Devido a sua alta biocompatibilidade os ânions citrato (38), AC (FAGUNDES *et al.*, 2020), dimercaptosuccinato (39), DMSA (SILVA *et al.*, 2016) e tripolifosfato (40), TPF (MAJEED *et al.*, 2015), vem sendo amplamente utilizados como moléculas de recobrimento em ferrofluidos de interesse biológico. Essas moléculas previnem a aglomeração das nanopartículas e permitem a formação de dispersões coloidais altamente estáveis e biocompatíveis, em condições biológicas (AUFFAN *et al.*, 2006; HAJDÚ *et al.*, 2008, 2009; RUIZ *et al.*, 2016). As dispersões resultantes terão sua interação avaliada com as 5,10,15,20-Tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21H,23H-porfirina (11), TMPyP, e a 5,10,15,20-Tetrakis(1-metil-4-piridínio)-21H,23H-porfirina de zinco II (14), ZnTMPyP, representadas na Figura 54.

Figura 54 - Estruturas moleculares das porfirinas TMPyP (a), ZnTMPyP (b) e dos surfactantes aniônicos citrato (c), dimercaptosuccinato (d) e tripolifosfato (e).



Fonte: Autoria Própria

As nanopartículas de ferrita mais frequentemente utilizadas são a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) em virtude de sua pronunciada biocompatibilidade, contudo, outras ferritas também são empregadas em aplicações biomédicas. Ademais, a ferrita de manganês (MnFe_2O_3) vem ganhando interesse da comunidade científica devido às suas propriedades magnéticas superiores das outras ferritas e as suas excelentes propriedades magnéticas cuja aplicações abrangem o uso de agentes de contraste em ressonância magnética, marcadores magnéticos para biosusceptometria de corrente alternada, hipertermia magnética de baixo campo, bem como nanocarreadores para administração de medicamentos (CAPISTRANO *et al.*, 2020a; ISLAM *et al.*, 2020; MIN *et al.*, 2012; SOUSA-JUNIOR *et al.*, 2020; ZUFELATO *et al.*, 2022).

A combinação de técnicas espectroscópicas como a absorção UV/Vis e emissão de fluorescência são abordagens cruciais e adequadas para avaliar a interação de moléculas orgânicas com nanoestruturas. Usando essas técnicas, BORISSEVITCH e colaboradores foram capazes de avaliar processos de transferência de energia, de cargas e prótons entre porfirinas e nanoestruturas (BORISSEVITCH *et al.*, 2019; PARRA *et al.*, 2018; PAVANELLI *et al.*, 2021). Recentemente, em nosso grupo de pesquisa, avaliamos a interação de porfirinas aniônicas (**TPPS₄**) com ferrofluidos catiônicos biocompatíveis de maghemita. Foi possível verificar que a interação era governada pelas interações eletrostáticas e ainda estimar o número de FSs que se ligaram em cada nanopartícula (MAGNO *et al.*, 2017). Também foi discutido a possibilidade de seu uso como agentes teranósticos.

Na sequência, GUERRA (2015) avaliou a interação da porfirina catiônica **TMPyP** e seu complexo **ZnTMPyP** com ferrofluidos aniônicos de ferrita de manganês. A presença de interação foi claramente observada pelas técnicas espectroscópicas de absorção e emissão fluorescente, mas não foi possível elucidar com detalhes o mecanismo desta interação. No presente capítulo, estes

dados foram novamente avaliados, os resultados refinados e o mecanismo de interação foi devidamente elucidado. Ademais, foram realizados novos experimentos das propriedades fotofísicas e uma *prova-conceitual* que demonstrou a possibilidade de liberação da porfirina por ação térmica, comprovando que o sistema em estudo é um agente potencial às aplicações teranósticas, em magneto-hipertemia e terapia fotodinâmica.

9.2 Materiais e Métodos:

As soluções das porfirinas foram preparadas solubilizando-as em tampão fosfato (PBS), com pH = 7,2 e força iônica de 7,5 mmol. L⁻¹. A concentrações foram ajustadas a partir dos valores de coeficiente de absortividade molar $\varepsilon(\lambda)$ determinados neste trabalho (vide Anexos): TMPyP, $\varepsilon(\lambda)_{518\text{ nm}} = 1,93 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$; ZnTMPyP, $\varepsilon(\lambda)_{563\text{ nm}} = 1,74 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (TELES *et al.*, 2018).

As nanopartículas foram caracterizadas estruturalmente pelas técnicas de Difração de Raios X (DRX), pelo método do pó, em um difratômetro Shimadzu XRD-6000 com $20^\circ > 2\theta > 80^\circ$, sendo o pico mais intenso centrado em $2\theta = 35,3^\circ$ foi utilizado para a estimativo do diâmetro de cristalitos (D_{DRX}) pelo método de Debye-Scherrer (PATTERSON, 1939) e o parâmetro de rede a calculado pelo software Unitcell® (HOLLAND; REDFERN, 1997).

Foram coletadas imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e usadas para investigar as características morfológicas, distribuição de tamanho, o índice de polidispersão (PDi) de NPs. Essas imagens de microscopia foram obtidas em um microscópio Jeol JEM 2100 TEM para determinação do tamanho (D_{MET}) foi avaliada por tratamento de micrografias no software ImageJ®, versão 1,49 t.

A análise termogravimétrica (TG) foi empregada para quantificar a quantidade de moléculas de surfactantes adsorvidas na superfície das

nanopartículas e calcular o coeficiente de recobrimento (ξ) de acordo com VIALI et al. (2010), que estão correlacionados com estabilidade coloidal de MNPs. Os termogramas foram coletados no analisador térmico Shimadzu DTG-60H, em um cadinho de platina usando ar sintético como atmosfera controlada em uma faixa de temperatura de 25 a 900 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Os eventos de perda de massa foram atribuídos à decomposição do surfactante e a massa residual foi considerada como puramente nanopartículas de ferrita de manganês.

Os parâmetros de estabilidade coloidal de MNPs foram estudados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) para determinar o diâmetro hidrodinâmico (D_{DLS}) e o potencial de carga superficial – potencial zeta – (ζ). O D_{DLS} é determinado medindo-se a quantidade de luz espalhada pela amostra com o auxílio da equação de Stokes- Einstein (ANDRADE *et al.*, 2013; MALVERN, 2007). As medidas foram realizadas usando um equipamento Malvern Zeta, modelo ZS ZEN 3600. O sistema titulador MPT-2, disponível no mesmo equipamento da Malvern, foi utilizado para o estudo de dependência do potencial ζ com o pH utilizando uma solução de NaOH a 0,5 mol.L⁻¹ para elevação do pH para próximo de 10, então, em seguida, foi adicionada uma solução de HCl 0,5 mol.L⁻¹ para redução do pH = 10 ao pH = 2, em intervalos de 0,5.

O efeito da interação com as nanopartículas nas propriedades fotofísicas das porfirinas foram avaliadas utilizando as técnicas de absorção molecular no UV-Vis e espectroscopia de fluorescência estacionária e resolvida no tempo. Os espectros de absorção foram coletados num espectrofotômetro Hitachi U-2900, com caminho óptico (l) 0,2 cm, utilizando como branco soluções contendo nanopartículas.

Os espectros de fluorescência estática foram medidos em espectrofluorímetro Horiba Jobin-Yvon Fluorolog FL3-221, avaliando a janela espectral compreendida entre 550-850 nm, monitorando a excitação em 532 nm. A fim de se desconsiderar a atenuação da intensidade de fluorescência por

fenômenos de auto-absorção e espalhamento, foi aplicada nos espectros as correções de filtro interno primária e secundária (KUBISTA *et al.*, 1994; LAKOWICZ, Joseph R, 2006) obtendo-se a fluorescência corrigida (F_{corr}) através da relação:

$$F_{corr} = F_m 10^{\frac{(A_{exc} + A_{em})}{2}} \quad (Eq\ 37)$$

onde, F_m é a intensidade de fluorescência medida experimentalmente; os fatores $10^{\frac{A_{exc}}{2}}$ e $10^{\frac{A_{em}}{2}}$ correspondem às absorvâncias nos comprimentos de onda de excitação (A_{exc}) e emissão (A_{em}). Os rendimentos quânticos de fluorescência (Φ_f) foram calculados através da *Equação 5*, utilizando a **TMPyP** ($\Phi_{fl_0} = 0,05$) como padrão.

Os tempos de vida (τ) de fluorescência foram estimados pela técnica de contagem de um único fóton correlacionado no tempo (*time-correlated single-photon counting method* - TCSPC). Como fonte de excitação utilizou-se um sistema laser titânio-safira Tsunami 3950, bombeado por um laser Millenia XS, ambos da marca Spectra Physics, com pulsos de largura a meia altura de 5 ps. O comprimento de onda de emissão foi ajustado por um monocromador e posteriormente detectado numa fotomultiplicadora Hamamatsu modelo R3809U (RODRIGUES *et al.*, 2015); para a **TMPyP** foi analisada a emissão em 665 nm e para **ZnTMPyP** 630 nm, sendo ambas excitadas em 430 nm.

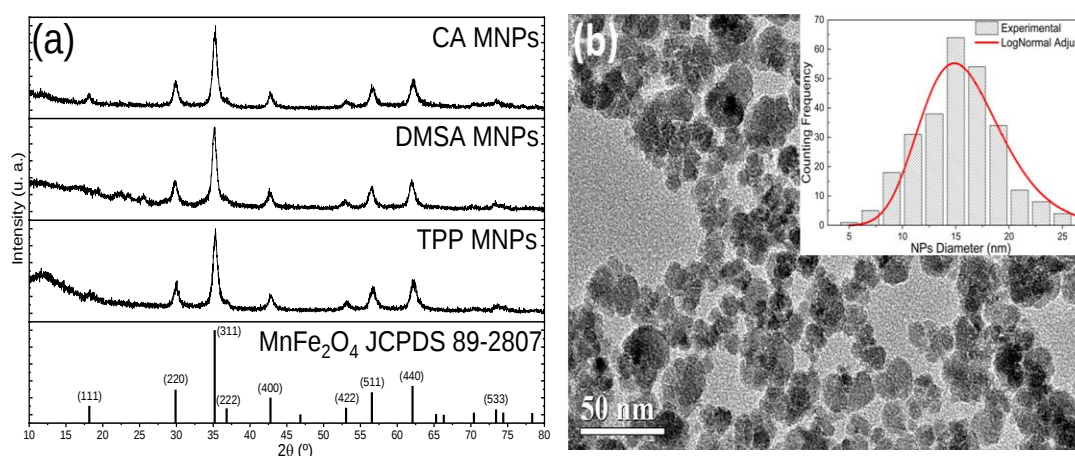
Os rendimentos de formação de oxigênio singlete (Φ_Δ) foram determinados pelo método direto (seção 4.5.2), monitorando-se a banda de emissão fosforescente, associada a transição $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^-$ em 1280 nm. Para isso, foi utilizado um espectrômetro IHR320, da HoribaTM, e como fonte de excitação laser contínuo iZI-LaserLine (532 nm, 50mW, largura pico $\Delta\lambda_{1/2} = 9$ nm).

9.3 Resultados e discussões:

O estado da arte da obtenção de ferrofluidos biocompatíveis concentra-se no controle do tamanho médio das nanopartículas e na estabilidade das dispersões. A determinação do diâmetro médio das nanopartículas é obtida através das técnicas de DRX e TEM, a estabilidade coloidal, por sua vez, é dependente do coeficiente de recobrimento, estimado por TG, do raio hidrodinâmico e da distribuição de cargas na superfície determinado por DLS.

Na *Figura 55.a* são apresentados os difratogramas de Raios X que apresentam padrão de difração típico da estrutura cúbica (JCPDS 89-2807), do tipo espinélio invertido característica da ferrita de manganês. As NPs apresentaram elevada cristalinidade, com parâmetro de rede próximo a MnFe_2O_4 bulk (8,4500 Å) e com diâmetro médio, obtido pela Equação Scherrer, na faixa média de 14 nm. Além disso, as nanopartículas apresentaram morfologia irregular quasi-esférica e diâmetro efetivo próximo a 14 nm; a morfologia irregular está associada às condições experimentais da metodologia empregada (co-precipitação) que propicia um meio turbulento para nucleação e crescimento das nanopartículas (SUGIMOTO, 2001).

Figura 55 - a) Difratogramas de Raios X das NPs e Microscopias de Transmissão de Alta Resolução das NPs recobertas com: (b) CA (b), DMSA (c) e (d) TPP.



Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

O coeficiente de recobrimento (ξ), também chamado de *grafting*, é uma grandeza que expressa o número de moléculas de surfactante por unidade de área de superfície das NPs (*Tabela 8*); esta grandeza, se relaciona diretamente com a estabilidade das dispersões coloidais resultantes. Para os surfactantes em estudo, os valores ξ apresentaram-se de acordo com o esperado para surfactantes ânionicos e perfil de decomposição da camada de cobertura em multiestágios revelam que o recobrimento é do tipo multicamada (SHEN *et al.*, 1999). Foi observado que o **DMSA** é mais eficiente a se ligar à superfície da ferrita de manganês que o **CA** e **TPF** ($\xi_{DMSA} > \xi_{AC} > \xi_{TPF}$) e vale a pena salientar que baixos valores de ξ repercutem na redução da estabilidade coloidal dos ferrofluidos.

Tabela 8 - Parâmetros de caracterização estrutural das nanopartículas e de estabilidade coloidal dos ferrofluidos.

NPs	<i>a</i> (Å)	D _{DRX} (nm)	D _{MET} (nm)	(PDi)	ξ (molec.nm ⁻¹)	D _{DLS} (nm)	ζ _{pH 7} (mV)
AC	8.442	13.9	15.6	0.24	0.7	29.4	-31
	2	(±0.1)	(±0.4)	(±0.02)		(97%)	
TPF	58.8						-20
	8.443	14.0	15.1	0.20	0.2	(96%)	
	7	(±0.1)	(±0.3)	(±0.02)		4801	
DMSA	(4%)						-41
	8.462	14.1	14.6	0.19	2.4	37.8	
	A	1	(±0.1)	(±0.2)		(±0.01)	

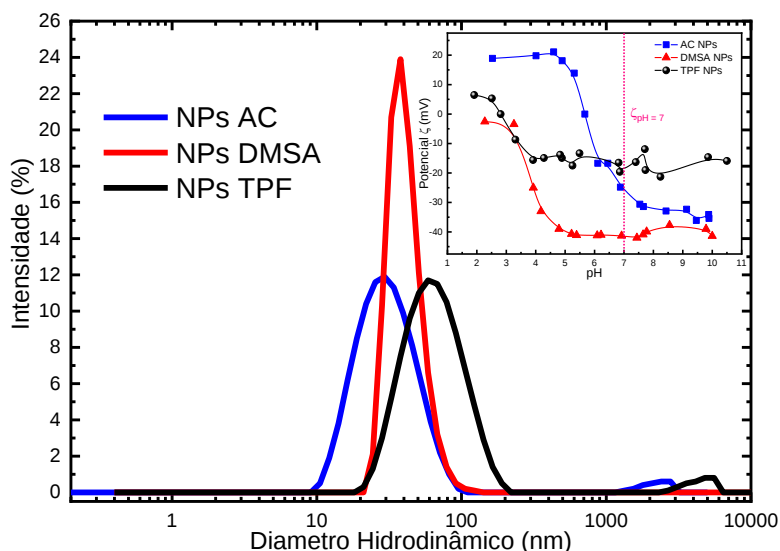
Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

Além disso, a estabilidade coloidal dos fluidos é dada pelo equilíbrio de cargas na superfície que é quantificado pelo potencial zeta (ζ). Este equilíbrio é

afetado por uma série de condições experimentais, sendo a de maior influência o pH; para fins de aplicações biomédicas o potencial zeta em pH fisiológico ($\text{pH} \approx 7$) é o de interesse e, portanto, o utilizado para as discussões neste trabalho. Como esperado, baixos valores de ξ implicam em maiores valores de ζ , resultando em baixa estabilidade coloidal dos ferrofluidos em pH fisiológico (*Tabela 8*).

O diâmetro dos agregados e a distribuição de tamanho das NPs (*Figura 56*) nas dispersões coloidais foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), que sofreram influência da capacidade de recobrimento de cada surfactante. **DMSA** que apresentou maior ξ e menor $\zeta_{\text{pH}=7}$ apresentou distribuição de tamanho monomodal e diâmetro hidrodinâmico (D_{DLS}) próximo a 38,7 nm. As dispersões com baixos índices de ξ e altos $\zeta_{\text{pH}=7}$ apresentaram uma distribuição de tamanho bimodal, onde a maioria dos agregados possui menor diâmetro (60 nm) e uma menor quantidade apresenta elevados diâmetros (> 2000 nm). Quando comparamos os D_{TEM} e D_{DLS} podemos afirmar que as dispersões com **AC** e **DMSA** são constituídas de agregados de duas nanopartículas, e a dispersão com **TPF**, em média, consiste na agregação de quatro nanopartículas.

Figura 56 - Histogramas de distribuição dos raios hidrodinâmicos dos ferrofluidos.
Inset: variação do potencial ζ com pH.



Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

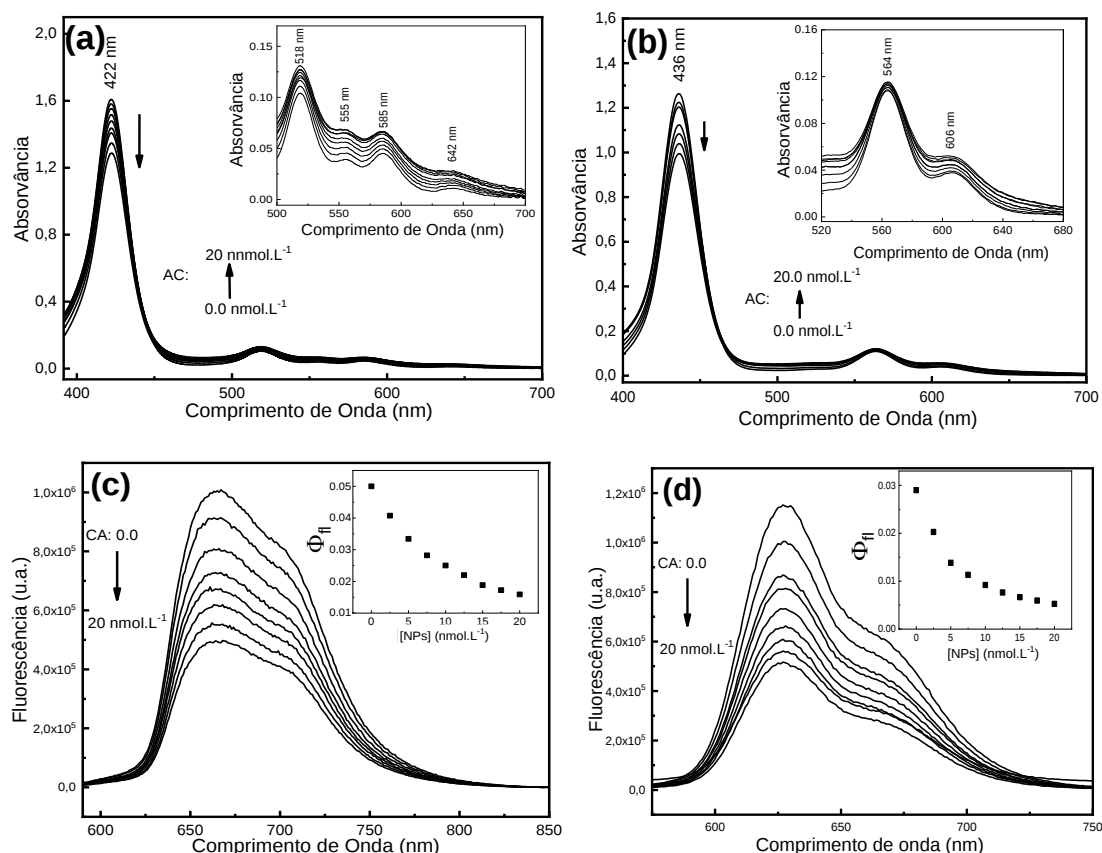
A variação do potencial zeta com o pH é apresentado na Figura 56 apresentou comportamento sigmoidal, no qual em intervalos de pH básico o $\zeta < 0$, e em regiões de pH ácido $\zeta > 0$. Em pH fisiológico, as nanopartículas apresentaram $\zeta_{\text{pH}=7}$ iguais a -30, -40 e -20 para as camadas de cobertura AC, DMSA e TPF, respectivamente. Estes valores podem ser explicados de acordo com a capacidade de ionização de cada surfactante. Podemos considerar que neste pH que o AC apresenta todos os seus três hidrogênios ácidos desprotonados ($\text{pK}_1 = 3.12$; $\text{pK}_2 = 4.76$; $\text{pK}_3 = 6.39$) (SKOOG *et al.*, 2014) e o DMSA dois ($\text{pK}_1 = 2.9$; $\text{pK}_2 = 4.5$) (FAROOQ *et al.*, 2020). O ferrofluido TPF, por sua vez, de seus cinco hidrogênios ácidos apenas quatro estão ionizados ($\text{pK}_1 = 1.0$; $\text{pK}_2 = 2.2$; $\text{pK}_3 = 2.3$; $\text{pK}_4 = 5.7$; $\text{pK}_5 = 8.5$) (FAROOQ *et al.*, 2020). Deste modo, a desprotonação do surfactante torna a superfície das nanopartículas negativamente carregadas e ricas em densidade eletrônica no pH fisiológico, favorecendo o mecanismo de repulsão conferindo, assim, a estabilização da dispersão coloidal.

Na superfície da ferrita de manganês, ocorre um equilíbrio ácido-base com os sítios $\equiv\text{Me-OH}$ ($\text{Me} = \text{Fe}^{3+}, \text{Mn}^{2+}$) e os grupos hidroxila do meio que podem estar protonadas ou desprotonadas, de acordo com o pH da suspensão. Baseado neste equilíbrio de cargas, o ponto isoelétrico, ou ponto de carga zero (PZC), da ferrita de manganês é igual a 7,6; deste modo, em intervalos de $\text{pH} \leq \text{PZC}$ a dispersão coloidal das nanopartículas é totalmente instável. Deste modo, quando avaliamos o efeito da funcionalização com os surfactantes escolhidos, todas as dispersões apresentaram uma redução do PZC em relação ao da ferrita de manganês pura.

O potencial ζ das nanopartículas vem exclusivamente de espécies desprotonadas do surfactante e que não estão adsorvidas à superfície das nanopartículas. A variação desses valores ao comparar as diferentes amostras entre si é indicativa que o tipo de recobrimento (monocamada ou multicamada) e do tipo de interação (monodentada e bidentada) entre a superfície das nanopartículas e as moléculas de surfactante. De acordo com MAJEED et al. (2015) dispersões coloidais de nanopartículas com $\zeta < -30$ mV são menos hábeis para interagir com a hemoglobina e conseqüentemente mais biocompatíveis.

A interação entre as porfirinas e as NPs foram avaliados em função da concentração. Na *Figura 57.a-b* é apresentado o efeito da adição das NPs funcionalizadas com **AC** nas absorções das soluções das porfirinas. Verificou-se um ligeiro aumento nas absorvâncias das bandas Q (460-700 nm), este comportamento está associado apenas a fenômenos de espalhamento de luz causados pelas nanopartículas. Entretanto, nos espectros de emissão é constatada a supressão de fluorescência com o aumento da concentração de nanopartículas (*Figura 57.c-d*), sem alteração dos τ (*Tabela 9*). O mesmo comportamento foi observado para as nanopartículas recobertas com **TPF** e **DMSA**, resultados estes não apresentados.

Figura 57 – Efeito da adição de NPs funcionalizadas com citrato nos espectros de absorção da TMPyP (a) e ZnTMPyP (b), cujos insets destacam mudanças nas bandas Q e nos espectros de emissão da TMPyP (c) e ZnTMPyP (d), cujos insets apresentam a variação do rendimento quântico de fluorescência.



Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

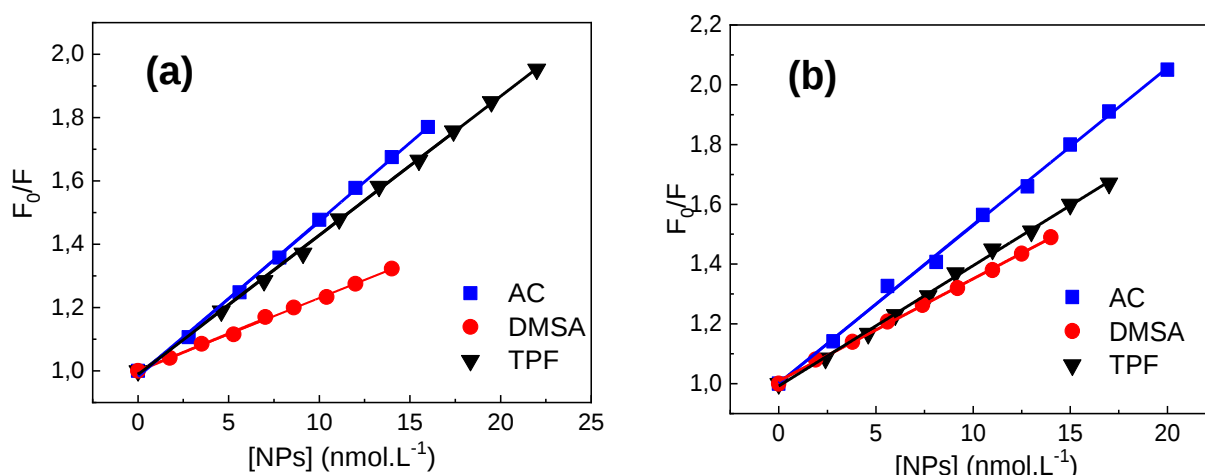
O método de Stern-Volmer é uma ferramenta que mensura a magnitude de interação entre um fluoróforo e seu agente supressor de fluorescência. Neste caso, a dependência da intensidade de emissão fluorescente, com a concentração do agente supressor, é de comportamento linear e descrito pela Equação 38 (LAKOWICZ, Joseph R, 2006):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (\text{Eq. 38})$$

Onde, F_0 e F são as intensidades de fluorescência, corrigidas pela Eq.36, na ausência do agente supressor; $[Q]$ é a concentração do agente supressor; K_{SV} é a constante de Stern-Volmer.

O processo de supressão de fluorescência pode ocorrer através de dois mecanismos: supressão estática e supressão dinâmica (LAKOWICZ, Joseph R, 2006). No sistema em estudo, o mecanismo de supressão que ocorre é o estático ou associativo, em virtude dos tempos de vida do fluoróforo não variarem com a adição de fluoróforo (Tabela 9). Nesta condição, o supressor não interfere nas propriedades eletrônicas do estado excitado e a redução da intensidade de emissão é devida a formação de um complexo entre o supressor e fluoróforo opticamente inativo. Neste caso, a constante K_{SV} passa a ser denominada or *constante de ligação fluorescente* (K_b) e fornece a magnitude da interação entre o fluoróforo e o agente supressor. Na Figura 58 são apresentadas as curvas de variação da supressão de fluorescência dos sistemas em estudo.

Figura 58 – Gráficos da variação da supressão de fluorescência da TMPyP (a) e da ZnTMPyP (b) na presença das NPs (AC, DMSA, TPF)



Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

Tabela 9 - Parâmetros de interação entre as porfirinas e as NPs: constante de ligação fluorescente (K_b) e tempo de vida de fluorescência (τ).

Porfirina	Surfactante NPs	K_b 10^6 M^{-1}	τ 10^{-9} s
TMPyP	-	-	4.5 (± 0.1)
	CA	48.5	4.4 (± 0.1)
	TPP	43.8	4.3 (± 0.1)
	DMSA	23.5	4.5 (± 0.1)
ZnTMPyP	-	-	1.3 (± 0.1)
	CA	53.1	1.3 (± 0.1)
	TPP	40.2	1.3 (± 0.1)
	DMSA	35.4	1.3 (± 0.1)

Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

Os valores de K_b , listados na *Tabela 9* indicam que ambas as porfirinas catiônicas se ligam à superfície das NPs. Contudo, observa-se que o K_b não se correlaciona diretamente com o potencial zeta ($\zeta_{\text{pH}7}$), apresentado na *Tabela 9*. Por exemplo, quando consideramos as NPs recobertas com **DMSA**, que apresentaram potencial zeta mais negativo ($\zeta_{\text{pH}7} = -40 \text{ mV}$), possuíram a interação mais fraca entre todos os surfactantes para as duas porfirinas catiônicas. Este comportamento sugere que as interações eletrostáticas não desempenham papel central para descrever as interações envolvidas.

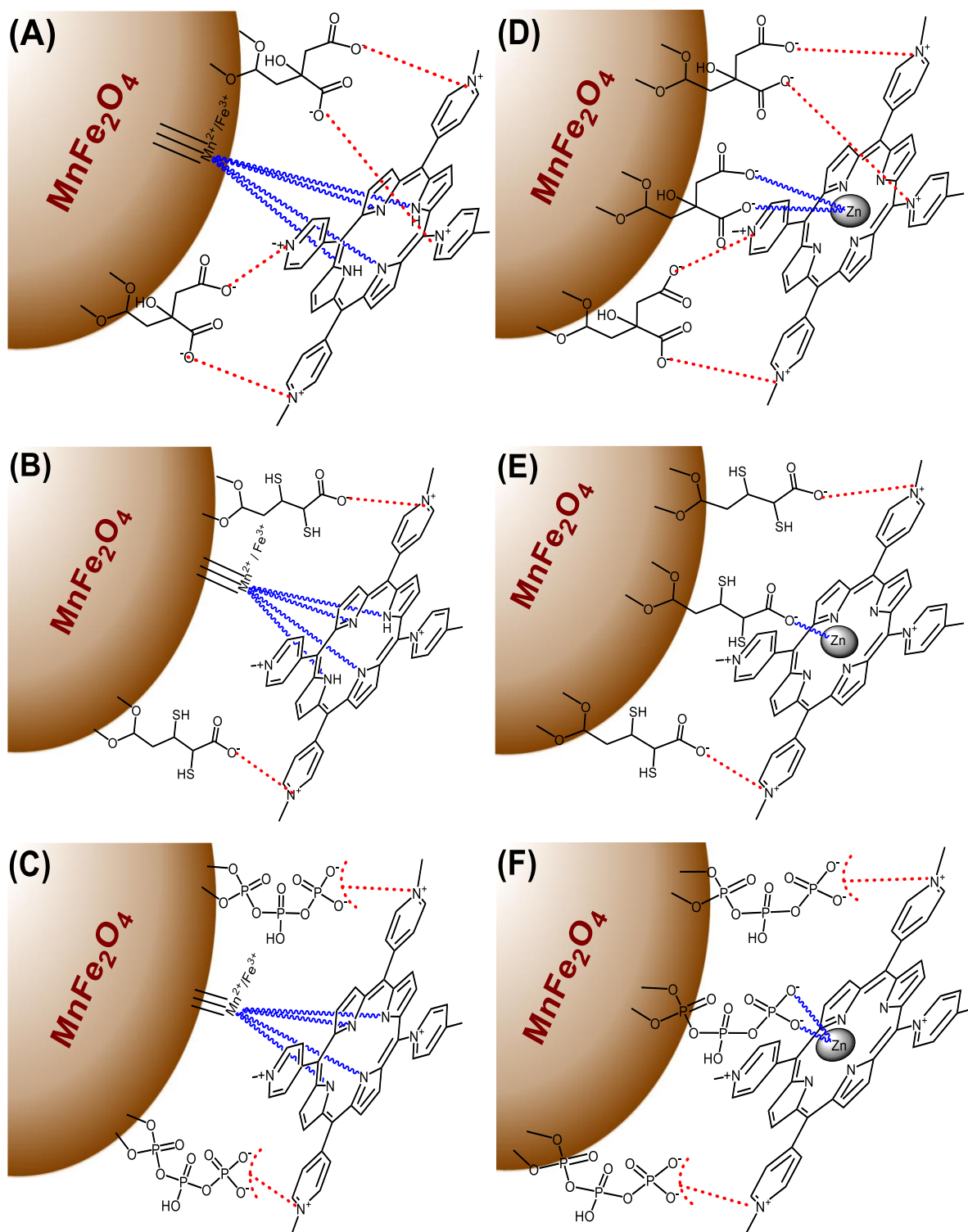
Os maiores valores de K_b foram observados para as NPs funcionalizadas com **TPF** e **AC** ($K_b^{\text{TPF}} < K_b^{\text{AC}}$), que por sua vez apresentaram os menores índices de recobrimento ($\xi = 0,2$ e $0,7$, respectivamente). Neste caso, o baixo recobrimento da superfície implica a existência de sítios metálicos ($\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$) não funcionalizados, os quais são capazes de interagir com os nitrogênios pirrólicos do anel macrociclo porfirínico. Esta interação é extremamente favorecida

energicamente devido à estabilização advinda da coordenação (efeito quelato) (HUHEEY *et al.*, 1993) e já foi descrito na formação dos complexos **FeTMPyP** e **MnTMPyP** (OVCHENKOVA *et al.*, 2018; WILLIAMS; KNAPPENBERGER, 2017). Adicionalmente, os átomos de oxigênio dos grupos fosfato e carboxilato podem interagir com os grupos N-H do anel porfirínicos via interações de ligação de hidrogênio. Além disso, estes mesmos átomos de oxigênio negativamente carregados interagem com os nitrogênios piridínicos, que estão positivamente carregados.

Por outro lado, para a **ZnTMPyP** os grupos pirrólicos não estão disponíveis para interagir com os sítios $\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$ livres na superfície das NPs. No entanto, as constantes de ligação apresentam a mesma ordem de magnitude do sistema **TMPyP/NPs**. Este comportamento sugere que possa ocorrer a coordenação dos átomos de zinco pelos grupos fosfato ou carboxilato, que podem realizar interações fortes e estáveis com este metal (BARAKAT *et al.*, 2019; FRANCESCONI *et al.*, 2015). Além disso, vale a pena salientar que para a molécula **DMSA** apresenta os grupos tióis que também podem interagir com o átomo de zinco.

A *Figura 59* esquematiza algumas das possíveis interações entre as camadas de recobrimento, e as porfirinas **TMPyP** e **ZnTMPyP**, enfatizando: interações iônicas entre os grupos piridínicos e as cargas negativas dos surfactantes; coordenação dos sítios $\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$ livres da superfície pelos átomos de nitrogênio dos grupos pirrólicos; coordenação dos átomos de zinco da metaloporfirina por grupos (fosfato e carboxilato) desprotonados dos surfactantes. Nesta representação, as linhas pontilhadas vermelhas representam as interações iônicas e as curvilíneas azuis representam as interações coordenantes. As interações do tipo ligação de hidrogênio foram omitidas para simplificação e melhor compreensão do esquema.

Figura 59 - Representação esquemática das interações: TMPyP com NPs com CA (a), DMSA (b) e TPF (c); ZnTMPyP com NPs com CA (d), DMSA (e) e TPF (f).



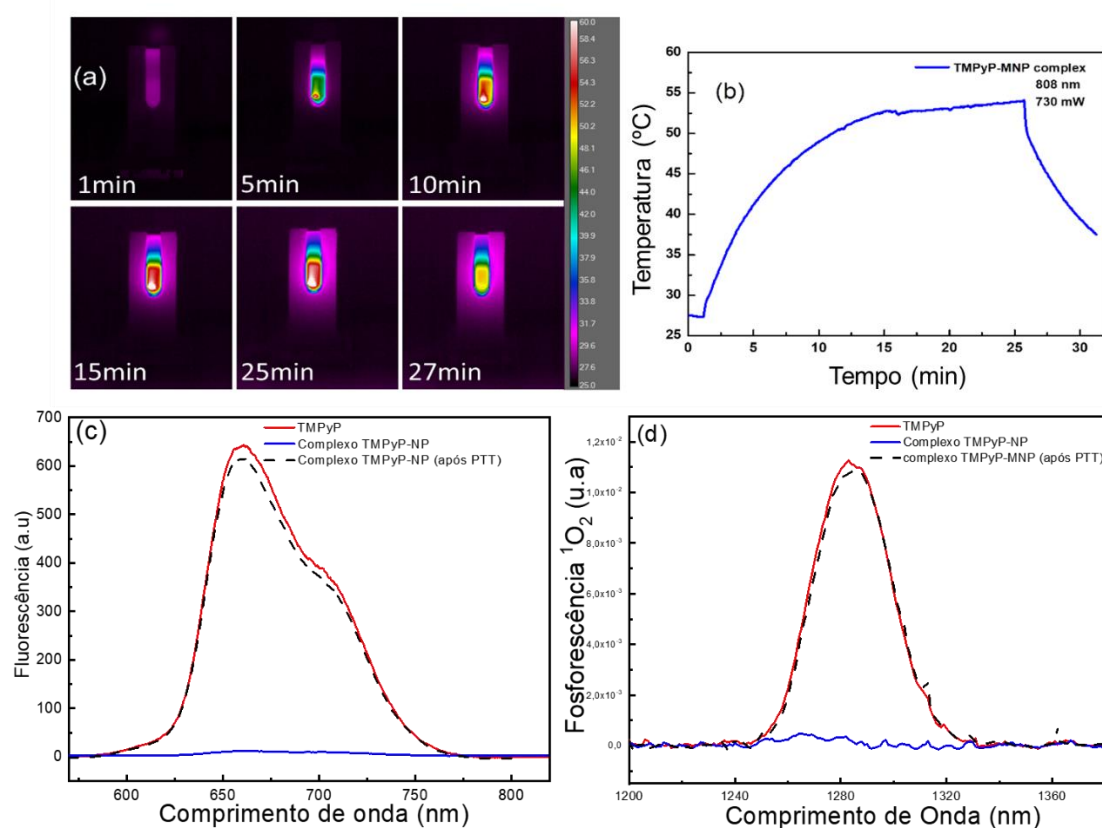
Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

Os resultados até aqui demonstram que enquanto as porfirinas permanecem ligadas às NPs, suas emissões fluorescentes são suprimidas devido ao mecanismo de supressão estática, o que provavelmente afetaria a produção de espécies reativas de oxigênio. Para que as propriedades fotofísicas se tornem disponíveis seria necessária a viabilização de uma estratégia de entrega e liberação específica no alvo biológico em questão. Neste sentido, diferentes estratégias podem ser empregadas para monitorar o alvo, como por exemplo a biosusceptometria de corrente alternada (QUINI *et al.*, 2017), e uma vez neste alvo a porfirina é desligada da superfície através do aquecimento por incidência de radiação na região do infravermelho próximo (fototermia - PTT) (CAPISTRANO *et al.*, 2020b) ou através de magnetohipertemia através da aplicação de campo magnético alternado (MHT) (ISLAM *et al.*, 2020). Ademais, o calor além de liberar as porfirinas da superfície das NPs, também irá aumentar a disponibilidade intracelular do FS, como já observado para quimioterápicos, aumentando o potencial da ação fotodinâmica.

Para avaliar a liberação da porfirina, um procedimento de terapia fototérmica foi executado para o complexo **TMPyP/AC-NPs**, visto que este sistema apresentou maior valor de K_b . Uma vez que já foi descrito que nanopartículas a base de óxido de ferro podem gerar calor através de excitação na região do infravermelho (CAPISTRANO *et al.*, 2020b), um experimento do tipo *prova-conceitual* foi desenvolvido para investigar a liberação da porfirina por indução de calor. Para isso, foi preparada uma amostra do complexo **TMPyP/AC-NPs**, que apresentou maior k_b , ao qual foi adicionado NPs até a completa supressão da fluorescência da **TMPyP**. Esta dispersão foi excitada na região de 808 nm com uma fonte laser de potência de 750 mW. A temperatura da amostra foi monitorada com uma câmera de infravermelho FLIR modelo SC620 com taxa de captura de imagens de 60 imagens por segundo. A região de interesse (RI) foi definida como o ponto de incidência do laser e a temperatura

deste ponto foi determinada. Na *Figura 60.a* apresentam as termofotografias em diferentes intervalos de tempo de aquecimento, enquanto a *Figura 60.b* mostra o perfil de aquecimento na RI. Logo em seguida ao aquecimento a amostra foi submetida à separação magnética e o sobrenadante, isento de nanopartículas, foi analisado a fim de verificar-se à liberação da **TMPyP** da superfície das NPs.

Figura 60 - a) Termofotografias do complexo TMPyP/AC-NPs em diferentes tempos de irradiação (808nm); b) curva de variação de temperatura da amostra no decorrer do experimento de fototermia; c) espectros de fluorecência e d) espectros de fosforescência do oxigênio singlete gerado antes e após o experimento de fototermia.



Fonte: Autoria Própria e adaptado de SILVEIRA-ALVES et al. (2023) com a permissão de Elsevier. © 2022.

A *Figura 60.c* apresenta a fluorecência da **TMPyP** com excitação em 532 nm para todas as amostras investigadas. O controle, **TMPyP** em PBS, é mostrado em vermelho, enquanto o complexo **TMPyP/AC-NPs** é representado em azul.

Como comentado anteriormente a ligação da porfirina à superfície leva a total supressão da fluorescência **TMPyP**. Contudo, após o aquecimento por fototermia (PTT) e a separação magnética foi possível observar a fluorescência das moléculas de **TMPyP** liberadas em solução, representada pela linha tracejado em preto na *Figura 60.c*. Vale a pena salientar que a intensidade de fluorescência é similar a observada previamente antes da formação do complexo, indicando que o processo fototermia induz a liberação de quase todas as moléculas de FS.

Do mesmo modo, foi analisada o efeito da interação com as nanopartículas na produção de oxigênio singlete da **TMPyP** (*Figura 60.d*). Foi possível observar que na condição em que a **TMPyP** interage com a superfície das nanopartículas, a produção de oxigênio singlete é praticamente nula. Contudo, após ao tratamento fototérmico e a respectiva indução da liberação da porfirina, a capacidade de produção de oxigênio singlete foi recuperada.

Com base nisso, é possível afirmar que o sistema em estudo apresenta um potencial multifuncional para aplicações teranósticas combinando propriedades fotofísicas de porfirinas (usadas para aplicações fotodinâmicas), a capacidade das nanopartículas magnéticas serem utilizadas como plataforma para liberação de drogas, além de atuarem como agentes de contraste por diferentes técnicas e para terapias fototérmicas (PTT) ou de hipertermia magnética (MHT) (HEALY *et al.*, 2022; VINÍCIUS-ARAÚJO *et al.*, 2021). Além disso, vale ressaltar a possibilidade de utilização em terapia combinada envolvendo terapias fotodinâmicas, fototérmicas e/ou de hipertermia magnética, uma vez que pode ser observado um efeito sinérgico ao utilizar este sistema em aplicações clínicas.

9.4 Conclusões

Neste trabalho é descrito o acoplamento de porfirinas catiônicas (**TMPyP** e **ZnTMPyP**) à superfície de nanopartículas de ferrita de mangânes recobertas com ânions citrato, tripolifosfato e dimercaptosuccinato. O acoplamento das nanopartículas ocorre através da formação de interações entre os ânions de surfactantes, ancorados à superfície, assim como interação com sítios metálicos disponíveis e não funcionalizados na superfície das nanopartículas. Os sítios $\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$ não funcionalizados podem interagir com os nitrogênios pirrólicos e os ânions oxigênio dos surfactantes podem interagir com os hidrogênios dos grupos amino do anel porfirínico, por ligações de hidrogênio. No caso da metaloporfirina **ZnTMPyP** adicionalmente podem ocorrer à coordenação do átomo de zinco pelos grupos fosfato, carboxilato e tiol dos surfactantes.

Além disso, foi observado que a formação desta interação leva a supressão da fluorescência e anula a capacidade dos FSs gerarem oxigênio singlete. Contudo, foi provado que através do aquecimento fototérmico do sistema FS/NP é possível ao desacoplar o FS da superfície da nanopartícula, restituindo-lhe as propriedades fluorescentes e a capacidade de geração de oxigênio singlete.

Deste modo, o sistema obtido através do acoplamento de porfirinas catiônicas às nanopartículas revestidas de surfactantes aniônicos combina as propriedades fotofísicas das porfirinas, com as propriedades magnéticas das nanopartículas, resultando em uma potencial nanoestrutura multifuncional luminescente com aplicações teranósticas.

Capítulo X

**CONSIDERAÇÕES FINAIS E
PERSPECTIVAS FUTURAS**

10 Considerações Finais e perspectivas futuras

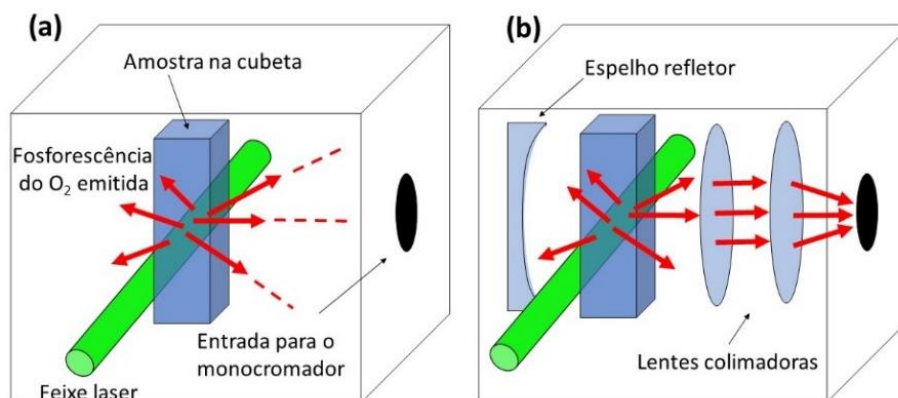
A presente tese marca a implantação de técnicas espectroscópicas de *laser flash*-fotólise e medidas da fosforescência do oxigênio singlete no Grupo de Biofotônica do Instituto de Física da UFG. Tais técnicas, aliadas às espectroscopias de absorção UV/Vis e emissão fluorescente previamente instaladas no nosso grupo, permitem a completa caracterização fotofísica de moléculas orgânicas e inorgânicas, visando diversas aplicações tanto na área de ciência de materiais, quanto para o nosso principal foco: a fotomedicina.

Com base nos resultados aqui apresentados, podemos afirmar que as técnicas foram implantadas com êxito e estão em plena operação. As metodologias aqui desenvolvidas permitiram a obtenção dos parâmetros fotofísicos de diversas porfirinas de acordo com dados já reportados na literatura. Cabe destacar que tais técnicas apresentam um grande potencial de exploração científica tanto na Universidade Federal de Goiás, como fornecendo oportunidade de colaboração com outros grupos de pesquisa do país e do mundo.

Como perspectivas futuras, acreditamos que a geometria das medidas de oxigênio singlete possa ser aprimorada no sentido de incremento de ganho de sinal, que será imprescindível para o estudo de sistemas com baixos rendimentos de $^1\text{O}_2$ ($\Phi_{\Delta} < 20\%$). Na geometria a qual o espectrômetro vem de fábrica (*Figura 61.a*) após a excitação das amostras pelo feixe laser, a fosforescência, é emitida em todas as direções e muitos desses fótons acabam não chegando à entrada do monocromador. Assim, será elaborado um sistema contendo um conjunto de lentes para colimar o sinal de entrada no monocromador, conforme ilustrado na *Figura 61.b*. Um espelho refletor será posicionado do lado oposto para a captura do sinal da emissão. Além disso, poderão serem avaliados: o uso de fontes contínuas ou pulsadas, alterações na taxa de repetição do laser, variações na

potência do feixe laser de excitação, alterações na concentração das amostras, dentre outros.

Figura 61 - Diagrama esquemático ilustrando a otimização da coleta do sinal do $^1\text{O}_2$:
(a) configuração de fábrica e (b) arranjo para otimizar coleta do sinal.



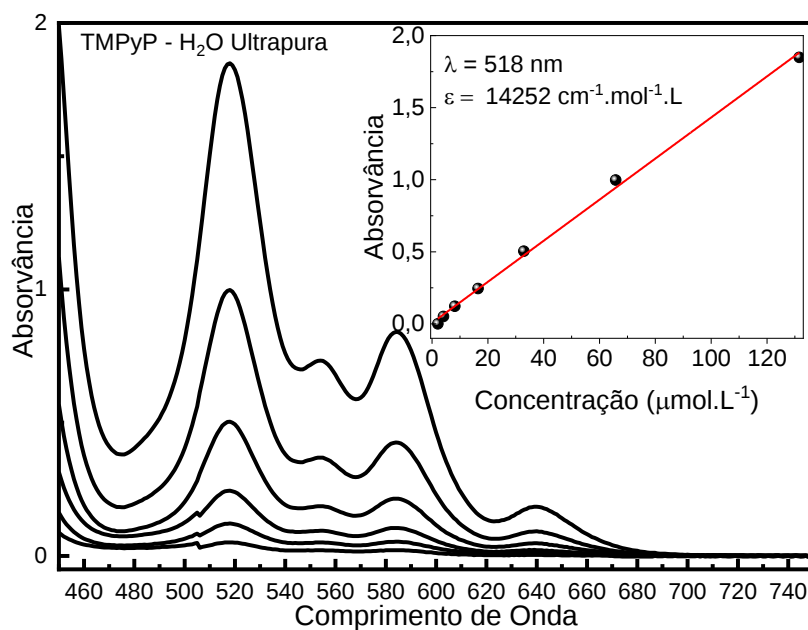
Fonte: Autoria Própria

Capítulo XI

ANEXOS

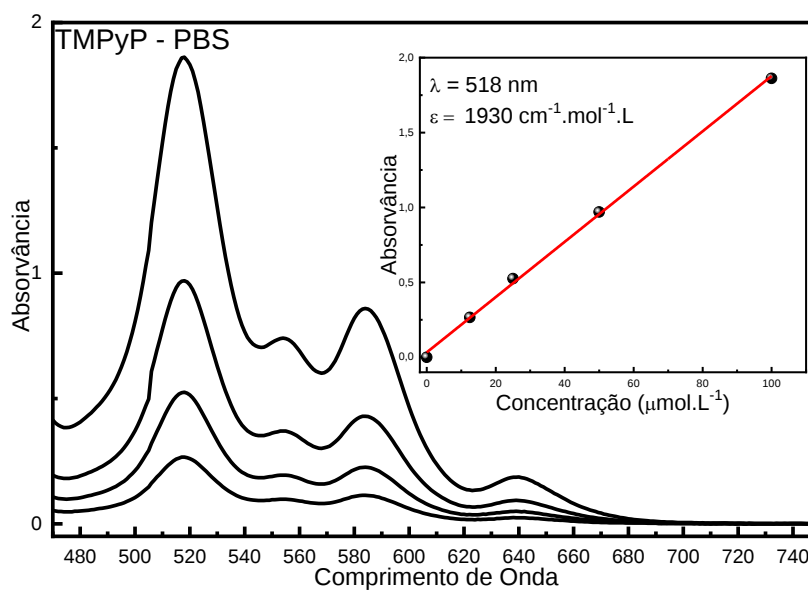
11 ANEXOS

Figura 62 - Determinação do ϵ das bandas Q da TMPyP em água ultrapura.



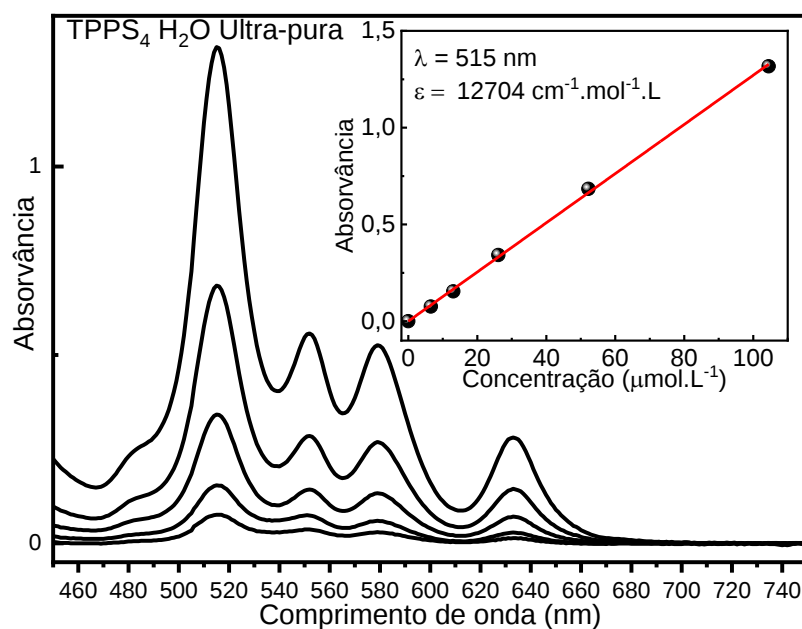
Fonte: Autoria própria.

Figura 63 - Determinação do ϵ das bandas Q da TMPyP em PBS



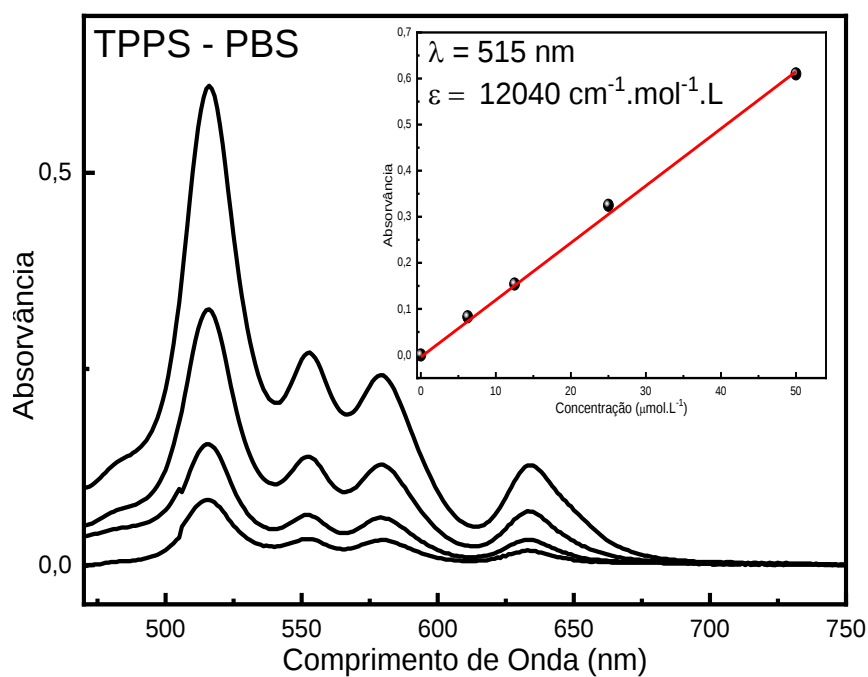
Fonte: P. J. Gonçalves.

Figura 64 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPPS₄ em água ultrapura.



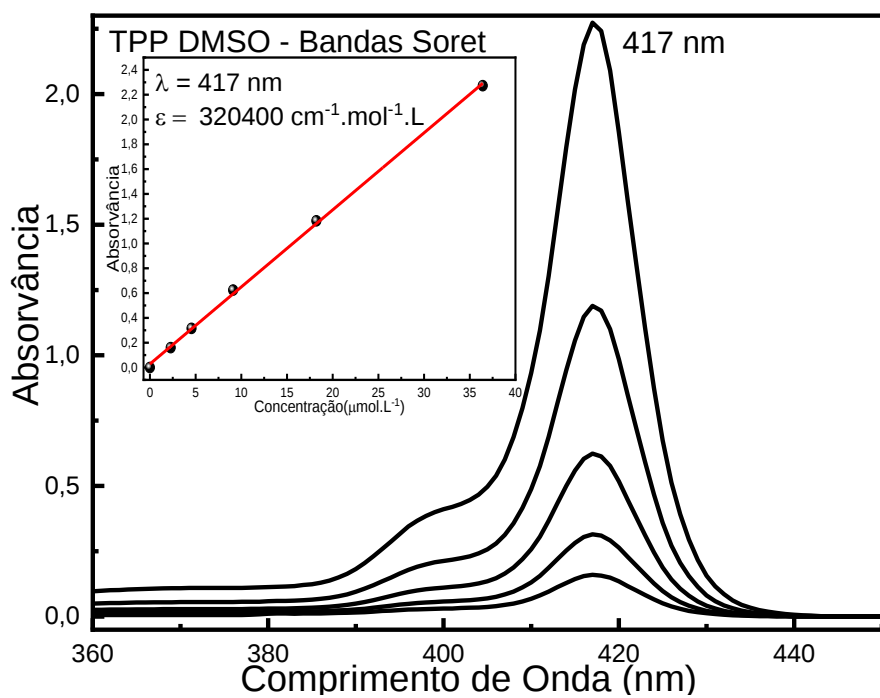
Fonte: Autoria própria.

Figura 65 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPPS₄ em PBS



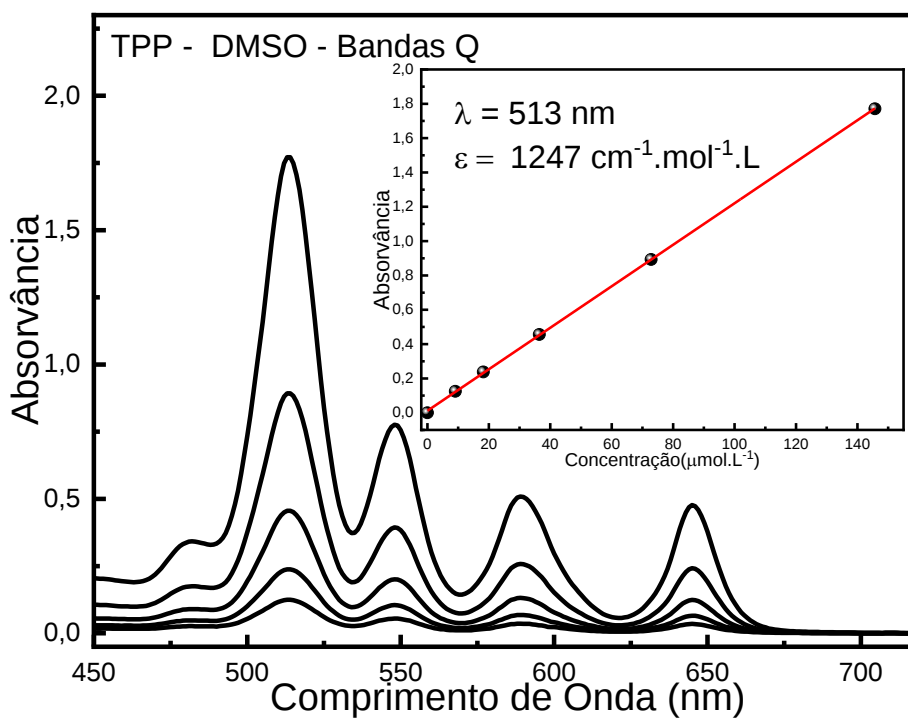
Fonte: P. J. Gonçalves.

Figura 66 - Determinação do ϵ da banda de Soret da TPP em DMSO.



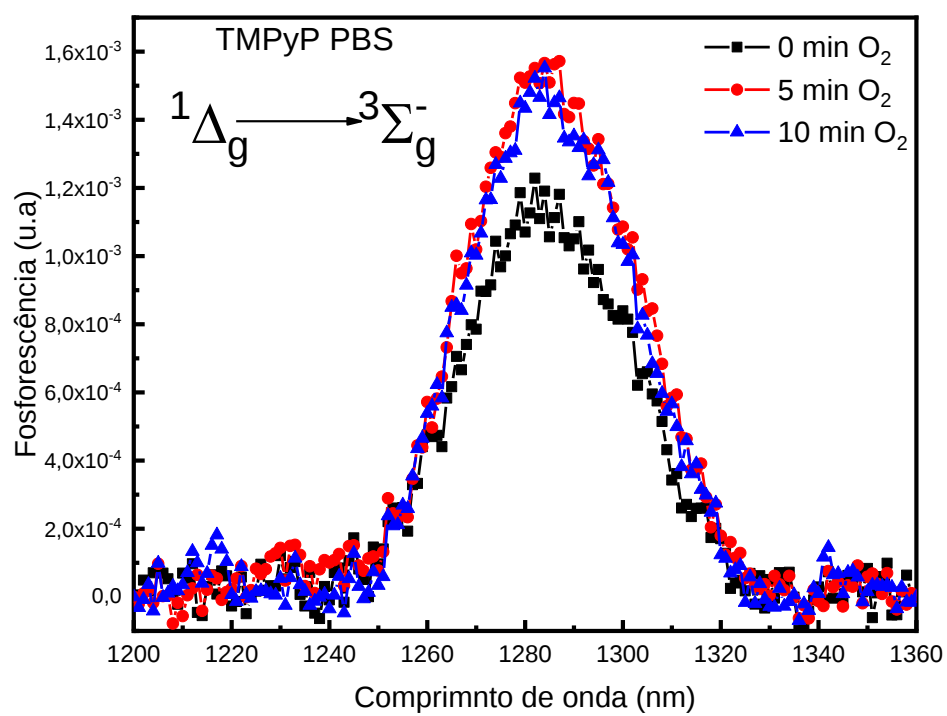
Fonte: Autoria própria.

Figura 67 - Determinação do ϵ das bandas Q da TPP em DMSO.



Fonte: Autoria própria.

Figura 68 - Efeito do tempo de oxigenação na geração de $^1\text{O}_2$ da TMPyP em água.



Capítulo XII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

12 Referências Bibliográficas

- ABRAHAMSE, H.; TYNGA, I. S. M. Photodynamic Therapy, a Potential Therapy for Improve Cancer Management. *Em: BULUT, Nilufer (org.). Breast Cancer and Surgery*. [S. l.]: IntechOpen, 2018.
- AGGARWAL, L. P. F.; BAPTISTA, M. S.; BORISSEVITCH, I. E. Effects of NaCl upon TPPS4 triplet state characteristics and singlet oxygen formation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 186, n. 2–3, p. 187–193, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603006004539>.
- AGGARWAL, L. P. F.; BORISSEVITCH, I. E. On the dynamics of the TPPS4 aggregation in aqueous solutions. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 227–233, 2006.
- AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K. A.; FOSTER, T. H.; GIROTTI, A. W.; GOLLNICK, S. O.; HAHN, S. M.; HAMBLIN, M. R.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B. C.; GOLAB, J. Photodynamic therapy of cancer: An update. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 250–281, 2011.
- AHMAD, F.; SALEM-BEKHIT, M. M.; KHAN, F.; ALSHEHRI, S.; KHAN, A.; GHONEIM, M. M.; WU, H.-F.; TAHA, E. I.; ELBAGORY, I. Unique Properties of Surface-Functionalized Nanoparticles for Bio-Application: Functionalization Mechanisms and Importance in Application. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 1333, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/12/8/1333>.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J.; HUNT, T. **Biologia Molecular da Célula**. 6ª ed.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 2017.
- ALMEIDA, L. M.; ZANOELO, F. F.; CASTRO, K. P.; BORISSEVITCH, I. E.; SOARES, C. M. A.; GONÇALVES, P. J. Cell Survival and Altered Gene Expression Following Photodynamic Inactivation of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 88, n. 4, p. 992–1000, 2012.
- ALVES, K. M. **meso-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM COMPLEXOS PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS COM AÇÃO FOTODINÂMICA**. 2020. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2020.
- ALVES, K. M.; HONORATO, J.; LIÃO, L. M.; VELOZO-SA, V. S.; GUEDES, A. P. M.; DUTRA, J. de L.; AYALLA, A. P.; ELLENA, J.; BATISTA, A. A.; GONÇALVES, P. J. meso-Tetra-(4-pyridyl)porphyrin/palladium(II) complexes as anticancer agents. **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 50, n. 44, p. 16254–16264, 2021. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D1DT01850G>.

ANDRADE, S. M.; COSTA, S. M. B. Spectroscopic Studies on the Interaction of a Water Soluble Porphyrin and Two Drug Carrier Proteins. **Biophysical Journal**, [s. l.], v. 82, n. 3, p. 1607–1619, 2002.

ANDRADE, P. L.; SILVA, V. A. J.; SILVA, M. P. C.; ALBINO AGUIAR, J. Synthesis and characterization of fucan-coated cobalt ferrite nanoparticles. **Journal of Superconductivity and Novel Magnetism**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 2511–2514, 2013.

ATKINS, P.; PAULA, J. de. **Físico-Química**. Oitava Edied. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 2008.

AUFFAN, M.; DECOME, L.; ROSE, J.; ORSIERE, T.; DE MEO, M.; BRIOIS, V.; CHANEAC, C.; OLIVI, L.; BERGE-LEFRANC, J.; BOTTA, A.; WIESNER, M. R.; BOTTERO, J. In Vitro Interactions between DMSA-Coated Maghemite Nanoparticles and Human Fibroblasts: A Physicochemical and Cyto-Genotoxicity Study †. **Environmental Science & Technology**, [s. l.], v. 40, n. 14, p. 4367–4373, 2006.

BANERJEE, S. M.; MACROBERT, A. J.; MOSSE, C. A.; PERIERA, B.; BOWN, S. G.; KESHTGAR, M. R. S. Photodynamic therapy: Inception to application in breast cancer. **The Breast**, [s. l.], v. 31, p. 105–113, 2017.

BAPTISTA, M. S.; CADET, J.; DI MASCIO, P.; GHOGARE, A. A.; GREER, A.; HAMBLIN, M. R.; LORENTE, C.; NUNEZ, S. C.; RIBEIRO, M. S.; THOMAS, A. H.; VIGNONI, M.; YOSHIMURA, T. M. Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 93, n. 4, p. 912–919, 2017.

BARAKAT, W.; HIJAZI, I.; ROISNEL, T.; DORCET, V.; BOITREL, B.; LE GAC, S. Adaptable Overhanging Carboxylic Acid Porphyrins: Towards Molecular Assemblies through Unusual Coordination Modes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 2019, n. 25, p. 3005–3014, 2019. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/ejic.201900539>.

BARBOSA NETO, N. M.; DE BONI, L.; MENDONÇA, C. R.; MISOGUTI, L.; QUEIROZ, S. L.; DINELLI, L. R.; BATISTA, A. A.; ZILIO, S. C. Nonlinear Absorption Dynamics in Tetrapyrrolyl Metalloporphyrins. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 109, n. 36, p. 17340–17345, 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp052168i>.

BAZIN, M.; EBBESEN, T. W. DISTORTIONS IN LASER FLASH PHOTOLYSIS ABSORPTION MEASUREMENTS. THE OVERLAP PROBLEM. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 675–678, 1983. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1983.tb04539.x>.

BELATIK, A.; HOTCHANDANI, S.; CARPENTIER, R.; TAJMIR-RIAAHI, H.-A. Locating the Binding Sites of Pb(II) Ion with Human and Bovine Serum Albumins. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. e36723, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0036723>.

BHATTACHARYA, A. A.; GRÜNE, T.; CURRY, S. Crystallographic analysis reveals common modes of binding of medium and long-chain fatty acids to human serum albumin

1 Edited by R. Huber. **Journal of Molecular Biology**, [s. l.], v. 303, n. 5, p. 721–732, 2000.

BIREL, Ö.; NADEEM, S.; DUMAN, H. Porphyrin-Based Dye-Sensitized Solar Cells (DSSCs): a Review. **Journal of Fluorescence**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 1075–1085, 2017.

BISWAS, S.; AHN, H.-Y.; BONDAR, M. V.; BELFIELD, K. D. Two-Photon Absorption Enhancement of Polymer-Templated Porphyrin-Based J-Aggregates. **Langmuir**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 1515–1522, 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la203883k>.

BOIX-GARRIGA, E.; RODRÍGUEZ-AMIGO, B.; PLANAS, O.; NONELL, S. Properties of Singlet Oxygen. Em: NONELL, Santi; FLORS, Cristina (org.). **Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences**. 1st. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016. p. 23–46. Disponível em: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622208-00023>.

BONNET, R.; RIDGE, R. J.; LAND, E. J.; SINCLAIR, R. S.; TAIT, D.; TRUSCOTT, T. G. Pulsed irradiation of water-soluble porphyrins. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 127, 1982. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=f19827800127>.

BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J.; SCHABERLE, F. A. **Fundamentos da Espectroscopia de Absorção Óptica**. [S. l.: s. n.], 2016. 2016.

BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J.; SCHABERLE, F. A. **Fundamentos de Espectroscopia de Absorção Óptica**. 1. ed. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2015. 2015.

BORISSEVITCH, I. E.; LUKASHEV, E. P.; OLEINIKOV, I. P.; PAVANELLI, A. L. S.; GONÇALVES, P. J.; KNOX, P. P. Electrostatic interactions and covalent binding effects on the energy transfer between quantum dots and reaction centers of purple bacteria. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 207, n. November 2018, p. 129–136, 2019.

BORISSEVITCH, I. E.; SILVEIRA-ALVES, E.; ALMEIDA, C. G. L.; SOUZA, G. R. L.; SOKOLOV, S. S.; GONÇALVES, P. J. An Alternative Method to Determine the Quantum Yield of the Excited Triplet State Using Laser Flash Photolysis. **Photonics**, [s. l.], v. 10, n. 4, 2023.

BORISSEVITCH, I. E.; TOMINAGA, T. T.; IMASATO, H.; TABAK, M. Fluorescence and optical absorption study of interaction of two water soluble porphyrins with bovine serum albumin. The role of albumin and porphyrin aggregation. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 65–76, 1996a.

BORISSEVITCH, I. E.; TOMINAGA, T. T.; IMASATO, H.; TABAK, M. Fluorescence and optical absorption study of interaction of two water soluble porphyrins with bovine serum albumin. The role of albumin and porphyrin aggregation. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 65–76, 1996b.

BORISSEVITCH, I. E.; TOMINAGA, T. T.; IMASATO, H.; TABAK, M. Resonance light scattering study of aggregation of two water soluble porphyrins due to their

interaction with bovine serum albumin. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 343, n. 3, p. 281–286, 1997.

BORISSEVITCH, I. E.; TOMINAGA, T. T.; SCHMITT, C. C. Photophysical studies on the interaction of two water-soluble porphyrins with bovine serum albumin. Effects upon the porphyrin triplet state characteristics. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 114, n. 3, p. 201–207, 1998.

BOYLE, N. M.; ROCHFORD, J.; PRYCE, M. T. Thienyl—Appended porphyrins: Synthesis, photophysical and electrochemical properties, and their applications. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 254, n. 1–2, p. 77–102, 2010.

BREGNHØJ, M. **The Electronic Transitions of Molecular Oxygen**. [S. l.: s. n.], 2019. 2019.v. 2. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-03183-1>.

BREGNHØJ, M.; DICHMANN, L.; MCLOUGHLIN, C. K.; WESTBERG, M.; OGILBY, P. R. Uric Acid: A Less-than-Perfect Probe for Singlet Oxygen. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 95, n. 1, p. 202–210, 2019.

BUJACZ, A. Structures of bovine, equine and leporine serum albumin. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, [s. l.], v. 68, n. 10, p. 1278–1289, 2012. Disponível em: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0907444912027047>.

CALORI, I. R.; TEDESCO, A. C. Lipid vesicles loading aluminum phthalocyanine chloride: Formulation properties and disaggregation upon intracellular delivery. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 160, p. 240–247, 2016.

CAPISTRANO, G.; RODRIGUES, H. F.; ZUFELATO, N.; GONÇALVES, C.; CARDOSO, C. G.; SILVEIRA-LACERDA, E. P.; BAKUZIS, A. F. Noninvasive intratumoral thermal dose determination during in vivo magnetic nanoparticle hyperthermia: combining surface temperature measurements and computer simulations. **International Journal of Hyperthermia**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 120–140, 2020a.

CAPISTRANO, G.; SOUSA-JUNIOR, A. A.; SILVA, R. A.; MELLO-ANDRADE, F.; CINTRA, E. R.; SANTOS, S.; NUNES, A. D.; LIMA, R. M.; ZUFELATO, N.; OLIVEIRA, A. S.; PEREIRA, M.; CASTRO, C. H.; LIMA, E. M.; CARDOSO, C. G.; SILVEIRA-LACERDA, E.; MENDANHA, S. A.; BAKUZIS, A. F. IR-780-Albumin-Based Nanocarriers Promote Tumor Regression Not Only from Phototherapy but Also by a Nonirradiation Mechanism. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 4523–4538, 2020b. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.0c00164>.

CARMICHAEL, I.; HUG, G. L. Triplet–Triplet Absorption Spectra of Organic Molecules in Condensed Phases. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 1–250, 1986. Disponível em: <https://pubs.aip.org/jpr/article/15/1/1/241271/Triplet-Triplet-Absorption-Spectra-of-Organic>.

CHANDRAKALA, V.; ARUNA, V.; ANGAJALA, G. Review on metal nanoparticles as nanocarriers: current challenges and perspectives in drug delivery systems. **Emergent**

Materials, [s. l.], v. 5, n. 6, p. 1593–1615, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s42247-021-00335-x>.

CHATTERJEE, S.; SRIVASTAVA, T. S. Spectral investigations of the interaction of some porphyrins with bovine serum albumin. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, [s. l.], v. 04, n. 02, p. 147–157, 2000.

CHAVES, O. A.; ACUNHA, T. V.; IGLESIAS, B. A.; JESUS, C. S. H.; SERPA, C. Effect of peripheral platinum(II) bipyridyl complexes on the interaction of tetra-cationic porphyrins with human serum albumin. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 301, p. 112466, 2020.

CHERNIA, Z.; GILL, D. Flattening of TMPyP Adsorbed on Laponite. Evidence in Observed and Calculated UV–vis Spectra. **Langmuir**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 1625–1633, 1999.

CHILAKAMARTHI, U.; GIRIBABU, L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. **Chemical Record**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 775–802, 2017.

CHIRVONY, V. S.; GALIEVSKY, V. A.; KRUK, N. N.; DZHAGAROV, B. M.; TURPIN, P.-Y. Photophysics of cationic 5,10,15,20-tetrakis-(4-N-methylpyridyl) porphyrin bound to DNA, [poly(dA-dT)]₂ and [poly(dG-dC)]₂: on a possible charge transfer process between guanine and porphyrin in its excited singlet state. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 154–162, 1997. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134497000432>.

CHIZHOV, I. Flash Photolysis. Em: ROBERTS, G. C. K. (org.). **Encyclopedia of Biophysics**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 765–768. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-16712-6>.

COCCA, L. H. Z.; GOTARDO, F.; SCIUTI, L. F.; ACUNHA, T. V.; IGLESIAS, B. A.; DE BONI, L. Investigation of excited singlet state absorption and intersystem crossing mechanism of isomeric meso-tetra(pyridyl)porphyrins containing peripheral polypyridyl platinum(II) complexes. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 708, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261418306067>.

COCCA, L. H. Z.; OLIVEIRA, T. M. A.; GOTARDO, F.; TELES, A. V.; MENEGATTI, R.; SIQUEIRA, J. P.; MENDONÇA, C. R.; BATAUS, L. A. M.; RIBEIRO, A. O.; SOUZA, T. F. M.; SOUZA, G. R. L.; GONÇALVES, P. J.; DE BONI, L. Tetracarboxy-phthalocyanines: From excited state dynamics to photodynamic inactivation against Bovine herpesvirus type 1. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 175, n. August, p. 1–8, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134417304694>.

COEY, J. M. D. **Magnetism and Magnetic Materials**. First Edited. Cambridge: Cambridge University Press, 2010. 2010.

COMANESCU, C. Recent Advances in Surface Functionalization of Magnetic Nanoparticles. **Coatings**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 1772, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6412/13/10/1772>.

COSTA E SILVA, R. **Caracterização do complexo curcumina-azul de metileno e aplicação em terapia fotodinâmica combinada com antiangiogênica**. 2018. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2018.

CULLITY, B. D.; GRAHAM, C. D. **Introduction to magnetic Materials**. Second Edied. New Jersey: IEEE Press; John Wiley & Sons, Inc, 2007. 2007.

DAȦBROWSKI, J. M.; ARNAUT, L. G. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: From local to systemic treatment. **Photochemical and Photobiological Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 1765–1780, 2015.

DAȦBROWSKI, J. M.; PEREIRA, M. M.; ARNAUT, L. G.; MONTEIRO, C. J. P.; PEIXOTO, A. F.; KAROCKI, A.; URBANŦSKA, K.; STOCHEL, G. Synthesis, Photophysical Studies and Anticancer Activity of a New Halogenated Water-Soluble Porphyrin. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 897–903, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.2007.00073.x>.

DAVILA, J.; HARRIMAN, A. Photoreactions of Macrocyclic Dyes Bound To Human Serum Albumin. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 9–19, 1990.

DE BONI, L.; FRANZEN, P. L.; GONȦALVES, P. J.; BORISSEVITCH, I. E.; MISOGUTI, L.; MENDONȦA, C. R.; ZILIO, S. C. Pulse train fluorescence technique for measuring triplet state dynamics. **Optics Express**, [s. l.], v. 19, n. 11, p. 10813, 2011. Disponível em: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-19-11-10813>.

DE BONI, L.; MONTEIRO, C. J. P.; MENDONȦA, C. R.; ZÍLIO, S. C.; GONȦALVES, P. J. Influence of halogen atoms and protonation on the photophysical properties of sulfonated porphyrins. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 633, n. 1, p. 146–151, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261415003838>.

DE PAOLI, V. M.; DE PAOLI, S. H.; BORISSEVITCH, I. E.; TEDESCO, A. C. Fluorescence lifetime and quantum yield of TMPyPH2 associated with micelles and DNA. **Journal of Alloys and Compounds**, [s. l.], v. 344, n. 1–2, p. 27–31, 2002.

DEROSA, M.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 233–234, n. 3639, p. 351–371, 2002.

DI MASCIO, P.; MARTINEZ, G. R.; MIYAMOTO, S.; RONSEIN, G. E.; MEDEIROS, M. H. G.; CADET, J. Singlet Molecular Oxygen Reactions with Nucleic Acids, Lipids, and Proteins. review-article. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 119, n. 3, p. 2043–2086, 2019.

DIAS, L. D.; BAGNATO, V. S. An update on clinical photodynamic therapy for fighting respiratory tract infections: A promising tool against COVID-19 and its co-infections. **Laser Physics Letters**, [s. l.], v. 17, n. 8, 2020.

DODZIUK, H. **Introduction to Supramolecular Chemistry**. 1st. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2002. 2002.

DÓKA, É.; LENTE, G. Modeling Studies of Inhomogeneity Effects during Laser Flash Photolysis Experiments: A Reaction–Diffusion Approach. **The Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 121, n. 14, p. 2740–2747, 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpca.7b00443>.

FAGUNDES, D. A.; LEONEL, L. V.; FERNANDEZ-OUTON, L. E.; ARDISSON, J. D.; DOS SANTOS, R. G. Radiosensitizing effects of citrate-coated cobalt and nickel ferrite nanoparticles on breast cancer cells. **Nanomedicine**, [s. l.], v. 15, n. 29, p. 2823–2836, 2020.

FAROOQ, U.; UPADHYAYA, L.; SHAKEEL, A.; MARTINEZ, G.; SEMSARILAR, M. pH-responsive nano-structured membranes prepared from oppositely charged block copolymer nanoparticles and iron oxide nanoparticles. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 611, n. February, p. 118181, 2020.

FISCHER, F.; GRASCHEW, G.; SINN, H.-J.; MAIER-BORST, W.; J. LORENZ, W.; SCHLAG, P. M. A chemical dosimeter for the determination of the photodynamic activity of photosensitizers. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 274, n. 1, p. 89–104, 1998. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000989819800045X>.

FRANCESCONI, O.; GENTILI, M.; BARTOLI, F.; BENCINI, A.; CONTI, L.; GIORGI, C.; ROELEN, S. Phosphate binding by a novel Zn (II) complex featuring a trans-1,2-diaminocyclohexane ligand. Effective anion recognition in water. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 1860–1868, 2015. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4OB02321H>.

FRANCO, C.; OLMSTED III, J. Photochemical determination of the solubility of oxygen in various media. **Talanta**, [s. l.], v. 37, n. 9, p. 905–909, 1990. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/003991409080251A>.

GEROLA, A. P.; SEMENSATO, J.; PELLOSI, D. S.; BATISTELA, V. R.; RABELLO, B. R.; HIOKA, N.; CAETANO, W. Chemical determination of singlet oxygen from photosensitizers illuminated with LED: New calculation methodology considering the influence of photobleaching. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 232, p. 14–21, 2012.

GIOVANNETTI, R. The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins. *Em: MACRO TO NANO SPECTROSCOPY*. [S. l.]: InTech, 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/macro-to-nano-spectroscopy/the-use-of-spectrophotometry-uv-vis-for-the-study-of-porphyrins>.

GOEZ, M.; FEHSE, D.; BRAUTZSCH, M. Laser flash photolysis with back-reflected excitation light—Analysis and experimental verification of the improvements in excitation intensity and homogeneity by a retroreflector. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 262, p. 1–6, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S101060301300155X>.

GONÇALVES, P. J.; AGGARWAL, L. P. F.; MARQUEZIN, C. A.; ITO, A. S.; DE BONI, L.; NETO, N. M. B.; RODRIGUES, J. J.; ZÍLIO, S. C.; BORISSEVITCH, I. E. Effects of interaction with CTAB micelles on photophysical characteristics of meso-tetrakis(sulfonatophenyl) porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 181, n. 2–3, p. 378–384, 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603005006428>.

GONÇALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M.; LIMA, A. R.; TELES, A. V.; OLIVEIRA, T. M. dos A.; BEZERRA, F. C.; SILVEIRA-ALVES, E.; LEITE, C. K.; SOUZA, G. R. L.

INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA: ASPECTOS FOTOFÍSICOS E APLICAÇÕES NO COMBATE A MICRORGANISMOS. *Em*: DAL MOLIN, Rossano Sartori; LOPES, Anderson Nunes (org.). **Infectologia bases epidemiológicas e clínicas**. 1. ed. Guarujá: Editora Científica, 2021. p. 13–32. Disponível em: <http://www.editoracientifica.org/articles/code/210303817>.

GONÇALVES, P. J.; BARBOSA NETO, N. M.; PARRA, G. G.; DE BONI, L.; AGGARWAL, L. P. F.; SIQUEIRA, J. P.; MISOGUTI, L.; BORISSEVITCH, I. E.; ZÍLIO, S. C. Excited-state dynamics of meso-tetrakis(sulfonatophenyl) porphyrin J-aggregates. **Optical Materials**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 741–747, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925346711005052>.

GONÇALVES, P. J.; BEZERRA, F. C.; ALMEIDA, L. M.; ALONSO, L.; SOUZA, G. R. L.; ALONSO, A.; ZÍLIO, S. C.; BORISSEVITCH, I. E. Effects of bovine serum albumin (BSA) on the excited-state properties of meso-tetrakis(sulfonatophenyl) porphyrin (TPPS4). **European Biophysics Journal**, [s. l.], v. 48, n. 8, p. 721–729, 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00249-019-01397-w>.

GONÇALVES, P. J.; BEZZERRA, F. C.; TELES, A. V.; MENEZES, L. B.; ALVES, K. M.; ALONSO, L.; ALONSO, A.; ANDRADE, M. A.; BORISSEVITCH, I. E.; SOUZA, G. R. L.; IGLESIAS, B. A. Photoinactivation of Salmonella enterica (serovar Typhimurium) by tetra-cationic porphyrins containing peripheral [Ru(bpy)2Cl]⁺ units. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 391, n. October 2019, p. 112375, 2020a.

GONÇALVES, P. J.; BEZZERRA, F. C.; TELES, A. V.; MENEZES, L. B.; ALVES, K. M.; ALONSO, L.; ALONSO, A.; ANDRADE, M. A.; BORISSEVITCH, I. E.; SOUZA, G. R. L.; IGLESIAS, B. A. Photoinactivation of Salmonella enterica (serovar Typhimurium) by tetra-cationic porphyrins containing peripheral [Ru(bpy)2Cl]⁺ units. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 391, n. January, p. 112375, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112375>.

GONÇALVES, P. J.; BONI, L. De; NETO, N. M. B.; RODRIGUES, J. J.; ZÍLIO, S. C.; BORISSEVITCH, I. E. Effect of protonation on the photophysical properties of meso-tetra(sulfonatophenyl) porphyrin. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 407, n. 1–3, p. 236–241, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261405004550>.

GONÇALVES, P. J.; CORRÊA, D. S.; FRANZEN, P. L.; DE BONI, L.; ALMEIDA, L. M.; MENDONÇA, C. R.; BORISSEVITCH, I. E.; ZÍLIO, S. C. Effect of interaction with micelles on the excited-state optical properties of zinc porphyrins and J-aggregates formation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 112, p. 309–317, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142513004010>.

GONÇALVES, P. J.; FRANZEN, P. L.; CORREA, D. S.; ALMEIDA, L. M.; TAKARA, M.; ITO, A. S.; ZÍLIO, S. C.; BORISSEVITCH, I. E. Effects of environment on the photophysical characteristics of mesotetrakis methylpyridiniumyl porphyrin (TMPyP). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v.

79, n. 5, p. 1532–1539, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142511003611>.

GOUTERMAN, M. Optical Spectra and Electronic Structure of Porphyrins and Related Rings. *Em: THE PORPHYRINS*. [S. l.]: Elsevier, 1978. v. Ill, p. 1–165.

GUERRA, R. A. **Estudo da interação de porfirinas com nanopartículas magnéticas biocompatíveis**. 2015. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2015.

HAJDÚ, A.; ILLÉS, E.; TOMBÁ CZ, E.; BORBÁTH, I. Surface charging, polyanionic coating and colloid stability of magnetite nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s. l.], v. 347, n. 1–3, p. 104–108, 2009.

HAJDÚ, A.; TOMBÁ CZ, E.; ILLÉS, E.; BICA, D.; VÉKÁS, L. Magnetite Nanoparticles Stabilized Under Physiological Conditions for Biomedical Application. *Em: COLLOIDS FOR NANO- AND BIOTECHNOLOGY*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. v. 135, p. 29–37.

HARI, S. K.; GAUBA, A.; SHRIVASTAVA, N.; TRIPATHI, R. M.; JAIN, S. K.; PANDEY, A. K. Polymeric micelles and cancer therapy: an ingenious multimodal tumor-targeted drug delivery system. **Drug Delivery and Translational Research**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 135–163, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13346-022-01197-4>.

HARRIMAN, A. Luminescence of porphyrins and metalloporphyrins. Part 3.—Heavy-atom effects. **J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2**, [s. l.], v. 77, n. 7, p. 1281–1291, 1981. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=F29817701281>.

HARRIMAN, A.; PORTER, G.; RICHOUX, M.-C. Photosensitised reduction of water to hydrogen using water-soluble zinc porphyrins. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2**, [s. l.], v. 77, n. 5, p. 833, 1981. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=f29817700833>.

HEALY, S.; BAKUZIS, A. F.; GOODWILL, P. W.; ATTALURI, A.; BULTE, J. W. M.; IVKOV, R. Clinical magnetic hyperthermia requires integrated magnetic particle imaging. **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 1–20, 2022. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wnan.1779>.

HELD, P. **An Introduction to Reactive Oxygen Species - Measurement of ROS in Cells** **Resources White Papers - BioTek Instruments**. [S. l.: s. n.], 2021.

HIRAKAWA, K.; UMEMOTO, H.; KIKUCHI, R.; YAMAGUCHI, H.; NISHIMURA, Y.; ARAI, T.; OKAZAKI, S.; SEGAWA, H. Determination of Singlet Oxygen and Electron Transfer Mediated Mechanisms of Photosensitized Protein Damage by Phosphorus(V)porphyrins. **Chemical Research in Toxicology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 262–267, 2015.

HOLLAND, T. J. B.; REDFERN, S. a. T. Unit cell refinement from powder diffraction data: the use of regression diagnostics. **Mineralogical Magazine**, [s. l.], v. 61, n. February, p. 65–77, 1997.

HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. **Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity**. 4 th.ed. New York: HarperCollins College Publishers, 1993. 1993.

HURLEY, J. K.; SINAI, N.; LINSCHITZ, H. ACTINOMETRY IN MONOCHROMATIC FLASH PHOTOLYSIS: THE EXTINCTION COEFFICIENT OF TRIPLET BENZOPHENONE AND QUANTUM YIELD OF TRIPLET ZINC TETRAPHENYL PORPHYRIN. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 9–14, 1983.

IDLAS, P.; LEPELTIER, E.; BASTIAT, G.; PIGEON, P.; MCGLINCHEY, M. J.; LAUTRAM, N.; VESSIÈRES, A.; JAOUEN, G.; PASSIRANI, C. Physicochemical Characterization of Ferrocifen Lipid Nanocapsules: Customized Drug Delivery Systems Guided by the Molecular Structure. **Langmuir**, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 1885–1896, 2023. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.2c02910>.

ISLAM, K.; HAQUE, M.; KUMAR, A.; HOQ, A.; HYDER, F.; HOQUE, S. M. Manganese Ferrite Nanoparticles (MnFe₂O₄): Size Dependence for Hyperthermia and Negative/Positive Contrast Enhancement in MRI. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 2297, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/11/2297>.

JABLONSKI, A. Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes. **Nature**, [s. l.], v. 131, n. 3319, p. 839–840, 1933. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/131839b0>.

JEONG, U.; TENG, X.; WANG, Y.; YANG, H.; XIA, Y. Superparamagnetic Colloids: Controlled Synthesis and Niche Applications. **Advanced Materials**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 33–60, 2007. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200600674>.

KALYANASUNDARAM, K. Photochemistry of water-soluble porphyrins: comparative study of isomeric tetrapyrrolyl- and tetrakis(N-methylpyridiniumyl)porphyrins. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 23, n. 16, p. 2453–2459, 1984. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ic00184a019>.

KALYANASUNDARAM, K.; NEUMANN-SPALLART, M. Photophysical and redox properties of water-soluble porphyrins in aqueous media. **The Journal of Physical Chemistry**, [s. l.], v. 86, n. 26, p. 5163–5169, 1982. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100223a022>.

KIM, T.; HAM, S.; LEE, S. H.; HONG, Y.; KIM, D. Enhancement of exciton transport in porphyrin aggregate nanostructures by controlling the hierarchical self-assembly. **Nanoscale**, [s. l.], v. 10, n. 35, p. 16438–16446, 2018. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8NR05016C>.

KIPSHIDZE, Nicholas; YEO, N.; KIPSHIDZE, Nodar. Photodynamic and sonodynamic therapy of acute hypoxemic respiratory failure in patients with COVID-19. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [s. l.], v. 31, n. January, p. 101961, 2020.

KOLLAR, J.; MACHACEK, M.; HALASKOVA, M.; LENCO, J.; KUCERA, R.; DEMUTH, J.; ROHLICKOVA, M.; HASONOVA, K.; MILETIN, M.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P. Cationic Versus Anionic Phthalocyanines for Photodynamic Therapy:

What a Difference the Charge Makes. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 14, p. 7616–7632, 2020.

KOŘÍNEK, M.; DĚDIC, R.; MOLNÁR, A.; HÁLA, J. The Influence of Human Serum Albumin on The Photogeneration of Singlet Oxygen by meso-Tetra(4-Sulfonatophenyl)Porphyrin. An Infrared Phosphorescence Study. **Journal of Fluorescence**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 355–359, 2006.

KUBÁT, P.; MOSINGER, J. Photophysical properties of metal complexes of meso-tetrakis(4-sulphonatophenyl)porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 96, n. 1–3, p. 93–97, 1996. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/1010603095042792>.

KUBISTA, M.; SJÖBACK, R.; ERIKSSON, S.; ALBINSSON, B. Experimental correction for the inner-filter effect in fluorescence spectra. **The Analyst**, [s. l.], v. 119, n. 3, p. 417–419, 1994. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=AN9941900417>.

LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3rd. ed. Boston, MA: Springer US, 2006. 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/978-0-387-46312-4>.

LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3rd. ed. Boston, MA: Springer US, 2006.

LEBEDEVA, N.; GUBAREV, Y. A.; KOIFMAN, O. I. The interaction of cationic and anionic porphyrins with the bovine serum albumin in borate buffer. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, [s. l.], v. 88, n. 3–4, p. 191–198, 2017.

LEBEDEVA, N. S.; YURINA, E. S.; GUBAREV, Y. A.; KOIFMAN, O. I. Molecular mechanisms causing albumin aggregation. The main role of the porphyrins of the blood group. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 246, p. 118975, 2021.

LEE, S. Y.; KIM, C. Y.; NAM, T.-G. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives. **Drug Design, Development and Therapy**, [s. l.], v. Volume 14, p. 5375–5392, 2020. Disponível em: <https://www.dovepress.com/ruthenium-complexes-as-anticancer-agents-a-brief-history-and-perspecti-peer-reviewed-article-DDDT>.

LEE, J.; PARK, J. Y.; KIM, C. S. Growth of ultra-fine cobalt ferrite particles by a sol–gel method and their magnetic properties. **Journal of Materials Science**, [s. l.], v. 33, n. 15, p. 3965–3968, 1998. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1004696729673>.

LEITHOLD, L. **O Cálculo com Geometria Analítica**. 3ªed.ed. São Paulo: Harbra, 1994. 1994.v. 2.

LIANG, X.; CHEN, M.; BHATTARAI, P.; HAMEED, S.; TANG, Y.; DAI, Z. Complementing Cancer Photodynamic Therapy with Ferroptosis through Iron Oxide Loaded Porphyrin-Grafted Lipid Nanoparticles. **ACS Nano**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 20164–20180, 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.1c08108>.

LIU, P.; CHEN, G.; ZHANG, J. A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products, Regulatory Environments, and Future Perspectives. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 1372, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/4/1372>.

LOPES, J. M. S.; COSTA, S. N.; SILVEIRA-ALVES, E.; BATISTA, A. A.; DINELLI, L. R.; GONÇALVES, P. J.; ARAUJO, P. T.; BARBOSA NETO, N. M. Singlet Oxygen Generation and Spectroscopic Properties of Supramolecular Zinc Meso-tetra(4-pyridyl) Porphyrin Bearing Outlying Ruthenium Groups. **Brazilian Journal of Physics**, [s. l.], v. 52, n. 5, 2022.

MACDONALD, F.; SHACKLETON, J.; DESAI, T.; KAMALY, N.; GRIFFITHS, M.; BRASCHI, L. Physical Constants of Organic Compounds. *Em*: LIDE, David R. (org.). **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 87th. ed. Boca Raton: Taylor and Francis Group, 2006. p. 3–2.

MAGNO, L. N.; BEZERRA, F. C.; FREIRE, L. E. S.; GUERRA, R. A.; BAKUZIS, A. F.; GONÇALVES, P. J. Use of Spectroscopic Techniques for Evaluating the Coupling of Porphyrins on Biocompatible Nanoparticles. A Potential System for Photodynamics, Theranostics, and Nanodrug Delivery Applications. **The Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 121, n. 9, p. 1924–1931, 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpca.6b10314>.

MAJEED, J.; BARICK, K. C.; SHETAKE, N. G.; PANDEY, B. N.; HASSAN, P. A.; TYAGI, A. K. Water-dispersible polyphosphate-grafted Fe₃O₄ nanomagnets for cancer therapy. **RSC Advances**, [s. l.], v. 5, n. 105, p. 86754–86762, 2015. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA16343A>.

MAJOREK, K. A.; POREBSKI, P. J.; DAYAL, A.; ZIMMERMAN, M. D.; JABLONSKA, K.; STEWART, A. J.; CHRUSZCZ, M.; MINOR, W. Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins. **Molecular Immunology**, [s. l.], v. 52, n. 3–4, p. 174–182, 2012.

MAKARSKA-BIALOKOZ, M. Interactions of hemin with bovine serum albumin and human hemoglobin: A fluorescence quenching study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 193, p. 23–32, 2018.

MAKARSKA-BIALOKOZ, M.; LIPKE, A. Study of the binding interactions between uric acid and bovine serum albumin using multiple spectroscopic techniques. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 276, p. 595–604, 2019.

MALVERN. **Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes**. [S. l.]: Malvern Instruments, 2007. Disponível em: www.malvern.co.uk.

MCHALE, J. L. Hierarchal Light-Harvesting Aggregates and Their Potential for Solar Energy Applications. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 587–597, 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jz3000678>.

MENDONÇA, C. R.; GAFFO, L.; MISOGUTI, L.; MOREIRA, W. C.; OLIVEIRA JR, O. N.; ZILIO, S. C. Characterization of dynamic optical nonlinearities in ytterbium bis-

phthalocyanine solution. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 323, n. 3–4, p. 300–304, 2000. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261400005091>.

MIN, C.; SHAO, H.; LIONG, M.; YOON, T.-J.; WEISSLEDER, R.; LEE, H. Mechanism of Magnetic Relaxation Switching Sensing. **ACS Nano**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 6821–6828, 2012.

MOGHISSI, K.; DIXON, K.; GIBBINS, S. Does PDT have potential in the treatment of COVID 19 patients?. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [s. l.], v. 31, n. June, p. 101889, 2020.

MONTAÑA, M. P.; MASSAD, W. A.; AMAT-GUERRI, F.; GARCÍA, N. A. Scavenging of riboflavin-photogenerated oxidative species by uric acid, xanthine or hypoxanthine: A kinetic study. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 193, n. 2–3, p. 103–109, 2008.

MONTEIRO, C. J. P.; PEREIRA, M. M.; AZENHA, M. E.; BURROWS, H. D.; SERPA, C.; ARNAUT, L. G.; TAPIA, M. J.; SARAHA, M.; WONG-WAH-CHUNG, P.; NAVARATNAM, S. A comparative study of water soluble 5,10,15,20-tetrakis(2,6-dichloro-3-sulphophenyl)porphyrin and its metal complexes as efficient sensitizers for photodegradation of phenols. **Photochemical & Photobiological Sciences**, [s. l.], v. 4, n. 8, p. 617–624, 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1039/b507597a>.

MONTEIRO, C. J. P.; PEREIRA, M. M.; PINTO, S. M. A.; SIMÕES, A. V. C.; SÁ, G. F. F.; ARNAUT, L. G.; FORMOSINHO, S. J.; SIMÕES, S.; WYATT, M. F. Synthesis of amphiphilic sulfonamide halogenated porphyrins: MALDI-TOFMS characterization and evaluation of 1-octanol/water partition coefficients. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 64, n. 22, p. 5132–5138, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040402008005681>.

MOSINGER, J.; KLIMENT, V.; SEJBAL, J.; KUBÁT, P.; LANG, K. Host-guest complexes of anionic porphyrin sensitizers with cyclodextrins. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, [s. l.], v. 06, n. 08, p. 514–526, 2002. Disponível em: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S1088424602000646>.

MOSINGER, J.; MIČKA, Z. Quantum yields of singlet oxygen of metal complexes of meso-tetrakis(sulphonatophenyl) porphine. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 107, n. 1–3, p. 77–82, 1997. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603096046138>.

MROZ, P.; YAROSLAVSKY, A.; KHARKWAL, G. B.; HAMBLIN, M. R. Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer. **Cancers**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 2516–2539, 2011. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2072-6694/3/2/2516>.

NUZZO, J.; MOSS, B.; WATSON, C.; RUTKOW, L.; GARIBALDI, B.; BLAUER, B.; GARDNER, L. **COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Acesso em: 14 out. 2023.

OKUMURA, R.; HINOUE, T.; WATARA, H. Ion-Association Adsorption of Water-Soluble Porphyrin at a Liquid-Liquid Interface and an External Electric Field Effect on

the Adsorption. **Analytical Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 393–397, 1996. Disponível em: http://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci1985/12/3/12_3_393/_article.

OLIVEIRA, T. M. dos A.; BEZERRA, F. C.; GAMBARINI, M. L.; TELES, A. V.; CUNHA, P. H. J. da; BRAZIL, D. S.; RIBEIRO, A. O.; GONÇALVES, P. J.; SOUZA, G. R. L. de. Immunoconjugates to increase photoinactivation of bovine alphaherpesvirus 1 in semen. **Veterinary Microbiology**, [s. l.], v. 247, n. June, p. 108780, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108780>.

ORIGINLAB CORPORATION. **Origin Pro 2018**. Nothampton: OriginLab, 2017. Software de Processamento de Dados e Análise Estatística.

OVCHENKOVA, E. N.; BICHAN, N. G.; LYUBIMTSEV, A. V.; GARASKO, E. V.; LOMOVA, T. N. Synthesis and Antimicrobial Activity of a Pyridine Complex of (Acetato)[5,10,15,20-tetrakis(N-methylpyridin-4-yl)porphinato]manganese(III) Tetratosylate. **Russian Journal of General Chemistry**, [s. l.], v. 88, n. 8, p. 1657–1662, 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1134/S1070363218080170>.

OVERCHUK, M.; WEERSINK, R. A.; WILSON, B. C.; ZHENG, G. Photodynamic and Photothermal Therapies: Synergy Opportunities for Nanomedicine. **ACS Nano**, [s. l.], v. 17, n. 9, p. 7979–8003, 2023. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.3c00891>.

PANIGRAHI, S. K.; MISHRA, A. K. Inner filter effect in fluorescence spectroscopy: As a problem and as a solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, [s. l.], v. 41, p. 100318, 2019.

PARRA, G. G.; CORREA, D. S.; SILVEIRA-ALVES, Eli.; ALMEIDA, L. M.; SOUZA, M. A. R.; DE BONI, Leonardo.; MISOGUTI, Lino.; MENDONÇA, C. R.; ZÍLIO, S. C.; BARBOSA NETO, N. M.; BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J. Effects of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin (TPPS4) aggregation on its spectral and kinetic characteristics and singlet oxygen production. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 261, p. 120063, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142521006405>.

PARRA, G. G.; FERREIRA, L. P.; GONÇALVES, P. J.; SIZOVA, S. V.; OLEINIKOV, V. A.; MOROZOV, V. N.; KUZMIN, V. A.; BORISSEVITCH, I. E. Stimulation of Cysteine-Coated CdSe/ZnS Quantum Dot Luminescence by meso-Tetrakis (p-sulfonatophenyl) Porphyrin. **Nanoscale Research Letters**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 40, 2018.

PATTERSON, a. L. The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination. **Physical Review**, [s. l.], v. 56, n. 10, p. 978–982, 1939. Disponível em: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.56.978>.

PAVANELLI, A. L. S.; MÁXIMO, L. N. C.; DA SILVA, R. S.; BORISSEVITCH, I. Interaction between TPPS4 porphyrin and CdTe-3-MPA quantum dot: Proton and energy transfer. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 237, n. December 2020, p. 5–11, 2021.

PELOSI, A. G.; SILVEIRA-ALVES, E.; COCCA, L. H. Z.; VALVERDE, J. V.; OLIVEIRA, G. R.; DA SILVA, D. L.; DE BONI, L.; GONÇALVES, P. J.; MENDONCA, C. R. Two-Photon Absorption and Multiphoton Excited Fluorescence of

Acetamide-Chalcone Derivatives: The Role of Dimethylamine Group on the Nonlinear Optical and Photophysical Properties. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 4, 2023.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 988–994, 2007.

PINEIRO, M.; CARVALHO, A. L.; PEREIRA, M. M.; GONSALVES, A. M. d'A. R.; ARNAUT, L. G.; FORMOSINHO, S. J. Photoacoustic Measurements of Porphyrin Triplet-State Quantum Yields and Singlet-Oxygen Efficiencies. **Chemistry - A European Journal**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. 2299–2307, 1998.

PORTER, G. Flash photolysis and spectroscopy. A new method for the study of free radical reactions. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences**, [s. l.], v. 200, n. 1061, p. 284–300, 1950. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspa.1950.0018>.

PRASAD, S.; VIJAYALAKSHMI, A.; GAJBHIYE, N. S. Synthesis of ultrafine cobalt ferrite by thermal decomposition of citrate precursor. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 595–607, 1998. Disponível em: <Go to ISI>://000076827400035.

PRASEUTH, D.; GAUDEMER, A.; VERLHAC, J.-B.; KRALJIC, I.; SISOEFF, I.; GUILLÉ, E. PHOTOCLEAVAGE OF DNA IN THE PRESENCE OF SYNTHETIC WATER-SOLUBLE PORPHYRINS. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 44, n. 6, p. 717–724, 1986. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1986.tb05529.x>.

QUINI, C. C.; PRÓSPERO, A. G.; CALABRESI, M. F. F.; MORETTO, G. M.; ZUFELATO, N.; KRISHNAN, S.; PINA, D. R.; OLIVEIRA, R. B.; BAFFA, O.; BAKUZIS, A. F.; MIRANDA, J. R. A. Real-time liver uptake and biodistribution of magnetic nanoparticles determined by AC biosusceptometry. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 1519–1529, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1549963417300230>.

RABELLO, B. R.; GEROLA, A. P.; PELLOSI, D. S.; TESSARO, A. L.; APARÍCIO, J. L.; CAETANO, W.; HIOKA, N. Singlet oxygen dosimetry using uric acid as a chemical probe: Systematic evaluation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 238, p. 53–62, 2012a.

RABELLO, B. R.; GEROLA, A. P.; PELLOSI, D. S.; TESSARO, A. L.; APARÍCIO, J. L.; CAETANO, W.; HIOKA, N. Singlet oxygen dosimetry using uric acid as a chemical probe: Systematic evaluation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 238, p. 53–62, 2012b. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603012002006>.

REDMOND, R. W.; GAMLIN, J. N. A Compilation of Singlet Oxygen Yields from Biologically Relevant Molecules. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 391–475, 1999. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1999.tb08240.x>.

RODRIGUES, H. F.; CAPISTRANO, G.; BAKUZIS, A. F. In vivo magnetic nanoparticle hyperthermia: a review on preclinical studies, low-field nano-heaters, noninvasive thermometry and computer simulations for treatment planning. **International Journal of Hyperthermia**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 76–99, 2020.

RODRIGUES, S. E.; MACHADO, A. E. H.; BERARDI, M.; ITO, A. S.; ALMEIDA, L. M.; SANTANA, M. J.; LIAO, L. M.; BARBOSA NETO, N. M.; GONÇALVES, P. J. Investigation of protonation effects on the electronic and structural properties of halogenated sulfonated porphyrins. **Journal of Molecular Structure**, [s. l.], v. 1084, p. 284–293, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022286014012563>.

RONSEIN, G. E.; MIYAMOTO, S.; BECHARA, E.; DI MASCIO, P.; MARTINEZ, G. R. Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 563–568, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000300027&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

ROZINEK, S. C.; THOMAS, R. J.; BRANCALEON, L. Biophysical characterization of the interaction of human albumin with an anionic porphyrin. **Biochemistry and Biophysics Reports**, [s. l.], v. 7, p. 295–302, 2016.

RUIZ, A.; MANCEBO, A.; BEOLA, L.; SOSA, I.; GUTIÉRREZ, L. Dose-Response Bioconversion and Toxicity Analysis of Magnetite Nanoparticles. **IEEE Magnetics Letters**, [s. l.], v. 7, p. 3–7, 2016.

SANNIKOVA, N. E.; TIMOFEEV, I. O.; CHUBAROV, A. S.; LEBEDEVA, N. S.; SEMEIKIN, A. S.; KIRILYUK, I. A.; TSENTALOVICH, Y. P.; FEDIN, M. V.; BAGRYANSKAYA, E. G.; KRUMKACHEVA, O. A. Application of EPR to porphyrin-protein agents for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 211, n. July, p. 112008, 2020.

SANTOS, J. S. dos; FARIA, A. L.; AMORIN, P. M. da S.; LUNA, F. M. La; CAIADO, K. L.; SILVA, D. O. C. e; SARTORATTO, P. P. C.; ASSIS, M. D. Iron(III) porphyrin covalently supported onto magnetic amino-functionalized nanospheres as catalyst for hydrocarbon and herbicide oxidations. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 1411–1420, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532012000800002&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

SANTOS, F. S.; SILVEIRA, C. H. da; NUNES, F. S.; FERREIRA, D. C.; VICTÓRIA, H. F. V.; KRAMBROCK, K.; CHAVES, O. A.; RODEMBUSCH, F. S.; IGLESIAS, B. A. Photophysical, photodynamical, redox properties and BSA interactions of novel isomeric tetracationic peripheral palladium(II)-bipyridyl porphyrins. **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 49, n. 45, p. 16278–16295, 2020.

SCHMITT, F.; GOVINDASWAMY, P.; SÜSS-FINK, G.; ANG, W. H.; DYSON, P. J.; JUILLERAT-JEANNERET, L.; THERRIEN, B. Ruthenium Porphyrin Compounds for Photodynamic Therapy of Cancer. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 6, p. 1811–1816, 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm701382p>.

SHEN, L.; LAIBINIS, P. E.; HATTON, T. A. Bilayer Surfactant Stabilized Magnetic Fluids: Synthesis and Interactions at Interfaces. **Langmuir**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 447–453, 1999. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la9807661>.

SHI, J.; PAN, D.; JIANG, M.; LIU, T.-T.; WANG, Q. Binding interaction of ramipril with bovine serum albumin (BSA): Insights from multi-spectroscopy and molecular docking methods. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 164, p. 103–111, 2016.

SHORT, J. M.; BERRIMAN, J. A.; KÜBEL, C.; EL-HACHEMI, Z.; NAUBRON, J.; BALABAN, T. S. Electron Cryo-Microscopy of TPPS4·2HCl Tubes Reveals a Helical Organisation Explaining the Origin of their Chirality. **ChemPhysChem**, [s. l.], v. 14, n. 14, p. 3209–3214, 2013. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphc.201300606>.

SILVA, L. H. A.; DA SILVA, J. R.; FERREIRA, G. A.; SILVA, R. C.; LIMA, E. C. D.; AZEVEDO, R. B.; OLIVEIRA, D. M. Labeling mesenchymal cells with DMSA-coated gold and iron oxide nanoparticles: assessment of biocompatibility and potential applications. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 59, 2016.

SILVA, A. R. da; PELEGIRINO, A. C.; TEDESCO, A. C.; JORGE, R. A. Photodynamic activity of chloro(5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato)indium(III). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 491–501, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532008000300017&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

SILVEIRA-ALVES, E.; BEZERRA, F. C.; GUERRA, R. A.; ZUFELATO, N.; MARTINS, C. S.; DESORDI, J. C.; CAIRES, A. R. L.; BAKUZIS, A. F.; GONÇALVES, P. J. Coupling of cationic porphyrins on manganese ferrite nanoparticles: A potential multifunctional nanostructure for theranostics applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [s. l.], v. 438, 2023.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução: R. M. Matos. Trad. 9ªed. São Paulo: Cengage Learnig, 2014. 2014.

SOUSA-JUNIOR, A. A.; MENDANHA, S. A.; CARRIÃO, M. S.; CAPISTRANO, G.; PRÓSPERO, A. G.; SOARES, G. A.; CINTRA, E. R.; SANTOS, S. F. O.; ZUFELATO, N.; ALONSO, A.; LIMA, E. M.; MIRANDA, J. R. A.; SILVEIRA-LACERDA, E. D. P.; CARDOSO, C. G.; BAKUZIS, A. F. Predictive Model for Delivery Efficiency: Erythrocyte Membrane-Camouflaged Magnetofluorescent Nanocarriers Study. **Molecular Pharmaceutics**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 837–851, 2020.

SRIVATSAN, A.; MISSERT, J. R.; UPADHYAY, S. K.; PANDEY, R. K. Porphyrin-based photosensitizers and the corresponding multifunctional nanoplatfroms for cancer-imaging and phototherapy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, [s. l.], v. 19, n. 01–03, p. 109–134, 2015.

STEFANELLI, M.; MAGNA, G.; DI NATALE, C.; PAOLESSE, R.; MONTI, D. Stereospecific Self-Assembly Processes of Porphyrin-Proline Conjugates: From the Effect of Structural Features and Bulk Solvent Properties to the Application in Stereoselective Sensor Systems. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v.

23, n. 24, p. 15587, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/24/15587>.

SUGIMOTO, T. **Monodispersed Particles**. First Edited. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 2001.

TAMPA, M.; SARBU, M.-I.; MATEI, C.; MITRAN, C.-I.; MITRAN, M.-I.; CARUNTU, C.; CONSTANTIN, C.; NEAGU, M.; GEORGESCU, S.-R. Photodynamic therapy: A hot topic in dermato-oncology (Review). **Oncology Letters**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 4085–4093, 2019.

TEJA, A. S.; KOH, P. Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, [s. l.], v. 55, n. 1–2, p. 22–45, 2009.

TELES, A. V.; OLIVEIRA, T. M. A.; BEZERRA, F. C.; ALONSO, L.; ALONSO, A.; BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J.; SOUZA, G. R. L. Photodynamic inactivation of Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) by porphyrins. **Journal of General Virology**, [s. l.], v. 99, n. 9, p. 1301–1306, 2018. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.001121>.

TOMA, H. E.; ARAKI, K. Supramolecular assemblies of ruthenium complexes and porphyrins. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 196, n. 1, p. 307–329, 2000.

TOMINAGA, T. T.; SOARES, D.; DAL SANTOS, M. A.; SILVA, J. C. Z. da; BORGES, C. P. F. Estudos espectroscópicos da porfirina catiônica meso-tetrakis (n-metil-4-piridil) (TMPyP) em presença de micelas iônicas de CTAB, SDS e HPS. **UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 7–14, 2004.

TOURINHO, F. A.; FRANCK, R.; MASSART, R. Aqueous ferrofluids based on manganese and cobalt ferrites. **Journal of Materials Science**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 3249–3254, 1990. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00587682>.

VIALI, W. R.; ALCANTARA, G. B.; SARTORATTO, P. P. C.; SOLER, M. A. G.; MOSINIEWICZ-SZABLEWSKA, E.; ANDRZEJEWSKI, B.; MORAIS, P. C. Investigation of the molecular surface coating on the stability of insulating magnetic oils. **Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], v. 114, n. 1, p. 179–188, 2010.

VINÍCIUS-ARAÚJO, M.; SHRIVASTAVA, N.; SOUSA-JUNIOR, A. A.; MENDANHA, S. A.; SANTANA, R. C. De; BAKUZIS, A. F. Zn_xMn(1–x)Fe₂O₄@SiO₂: zNd³⁺ Core–Shell Nanoparticles for Low-Field Magnetic Hyperthermia and Enhanced Photothermal Therapy with the Potential for Nanothermometry. **ACS Applied Nano Materials**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 2190–2210, 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsanm.1c00027>.

WANG, X.-L.; WANG, H.-W.; GUO, M.-X.; XU, S.-Z. Treatment of skin cancer and pre-cancer using topical ALA-PDT—A single hospital experience. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 127–133, 2008.

WILKINSON, F.; HELMAN, W. P.; ROSS, A. B. Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of

Molecular Oxygen in Solution. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 113–262, 1993.

WILLIAMS, L. J.; KNAPPENBERGER, K. L. Solvent-dependent absorption and electronic relaxation dynamics of iron (III) tetra-4-N-methylpyridylporphine. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 671, p. 100–106, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261417300222>.

XING, W.; YIN, M.; LV, Q.; HU, Y.; LIU, C.; ZHANG, J. Oxygen Solubility, Diffusion Coefficient, and Solution Viscosity. *Em: ROTATING ELECTRODE METHODS AND OXYGEN REDUCTION ELECTROCATALYSTS*. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 1–31. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978044463278400001X>.

YANO, S.; HIROHARA, S.; OBATA, M.; HAGIYA, Y.; OGURA, S.; IKEDA, A.; KATAOKA, H.; TANAKA, M.; JOH, T. Current states and future views in photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 46–67, 2011.

YANO, T.; WANG, K. K. Photodynamic Therapy for Gastrointestinal Cancer. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 96, n. 3, p. 517–523, 2020.

YURINA, E. S.; GUBAREV, Y. A.; LEBEDEVA, N. S. A study of protein aggregation activators in molecular complexes of cationic porphyrins and chlorin with BSA. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 338, p. 116632, 2021.

YUSHMANOV, V. E.; IMASATO, H.; TOMINAGA, T. T.; TABAK, M. ¹H NMR and electronic absorption spectroscopy of paramagnetic water-soluble Meso-tetraarylsubstituted cationic and anionic metalloporphyrins. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 61, n. 4, p. 233–250, 1996.

ZAGAMI, R.; CASTRICIANO, M. A.; ROMEO, A.; SCOLARO, L. M. Kinetic Investigations on the Chiral Induction by Amino Acids in Porphyrin J-Aggregates. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 1695, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/2/1695>.

ZHUANG, Z.; DAI, J.; YU, M.; LI, J.; SHEN, P.; HU, R.; LOU, X.; ZHAO, Z.; TANG, B. Z. Type I photosensitizers based on phosphindole oxide for photodynamic therapy: apoptosis and autophagy induced by endoplasmic reticulum stress. **Chemical Science**, [s. l.], v. 11, n. 13, p. 3405–3417, 2020.

ZUFELATO, N.; AQUINO, V. R. R.; SHRIVASTAVA, N.; MENDANHA, S.; MIOTTO, R.; BAKUZIS, A. F. Heat Generation in Magnetic Hyperthermia by Manganese Ferrite-Based Nanoparticles Arises from Néel Collective Magnetic Relaxation. **ACS Applied Nano Materials**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 7521–7539, 2022.

Capítulo XIII

**Projetos desenvolvidos e relação de
publicações no período do doutorado (2018-
2023)**

13 Projetos desenvolvidos e relação de publicações no período do doutorado (2018-2023)

13.1 Propriedades ópticas lineares e não-lineares de bromo-chalconas e acetamido-chalconas.

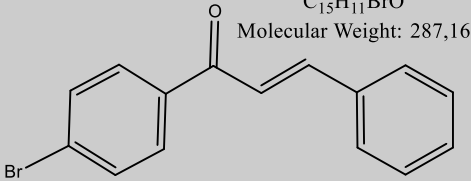
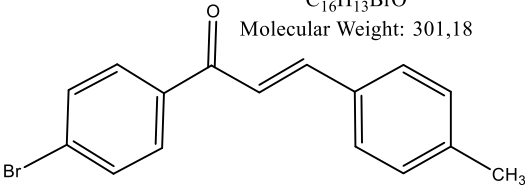
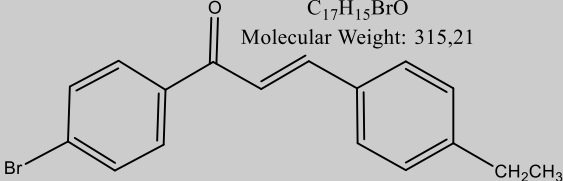
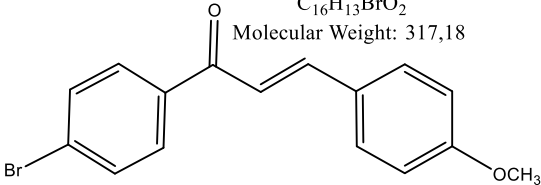
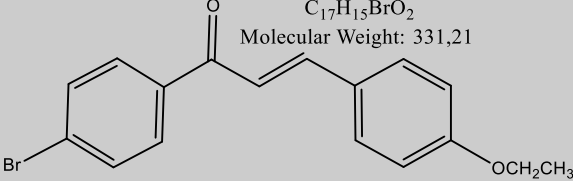
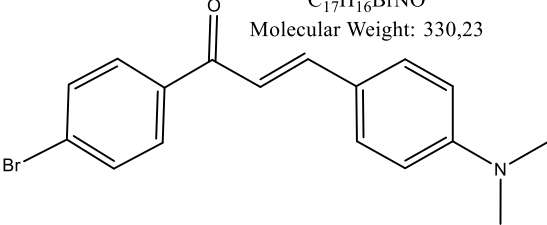
Inicialmente, o projeto previsto a ser desenvolvido neste doutorado consistia na síntese de chalconas variando-se os grupos substituintes com foco no estudo das propriedades ópticas não-lineares e de suas atividades antiangiogênicas. O projeto, co-orientado pelo Prof. Guilherme Roberto de Oliveira, foi executado no período de 02/2018 a 03/2020 onde foram sintetizadas 10 estruturas de bromo-chalconas e 10 estruturas de acetamido-chalconas (*Tabela 12*) sendo realizada toda a caracterização química estrutural (IV, HRMS, RMN ^1H e ^{13}C) e a fotofísica básica (UV-Vis e determinação de ε – *Figura 69 e 70*).

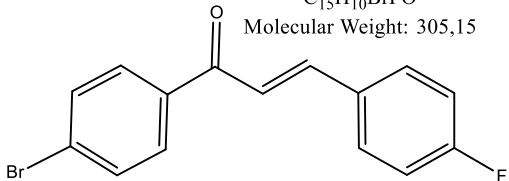
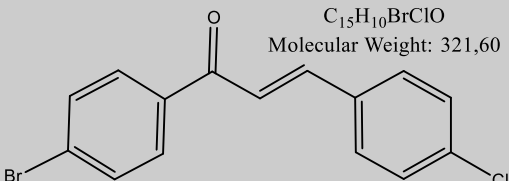
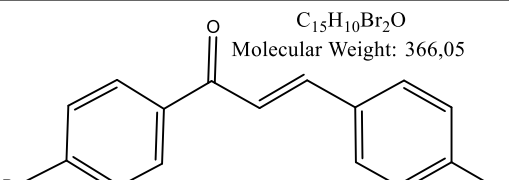
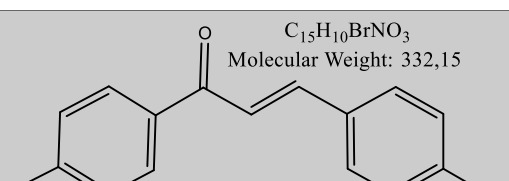
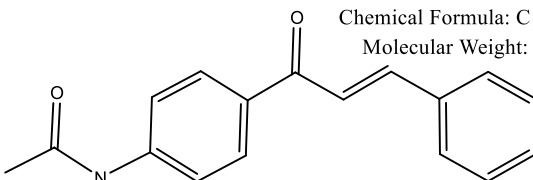
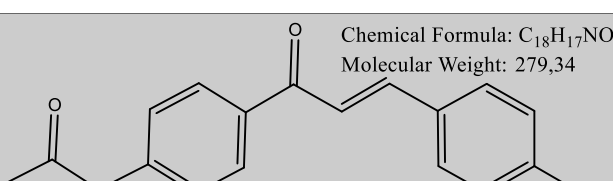
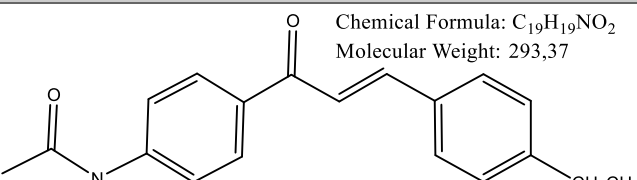
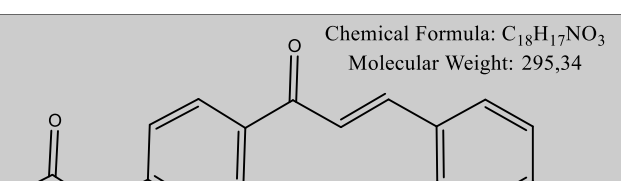
As técnicas de óptica não-linear a serem empregadas, Varredura Z e Espalhamento Hyper-Rayleigh tiveram sua implantação iniciada com a vinda do Prof. Dr. Sérgio C. Zílio como professor visitante ao IF-UFG; entretanto, ao início do processo das medidas com as amostras sintetizadas foi decretada a emergência sanitária da pandemia de Covid19 que inviabilizou totalmente o prosseguimento deste projeto.

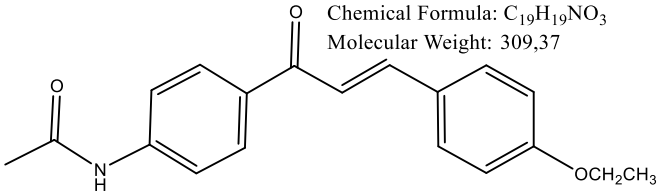
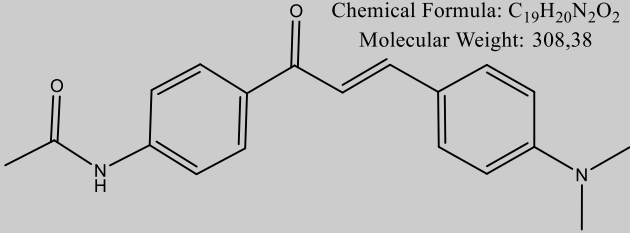
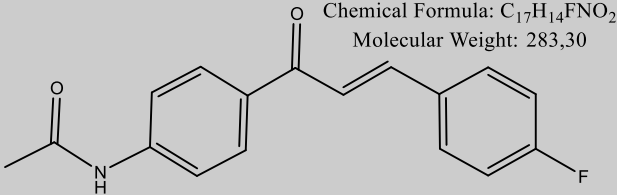
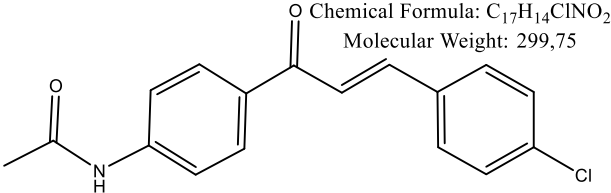
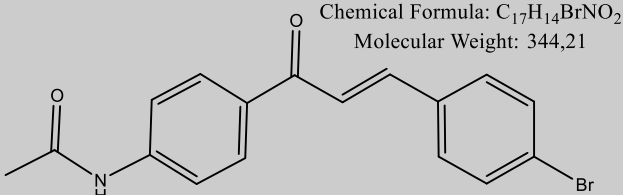
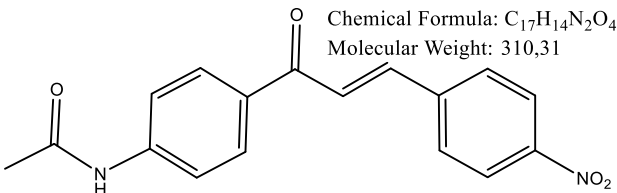
Mesmo assim, as amostras foram encaminhadas ao Grupo de Fotônica da USP de São Carlos e a caracterização de óptica não-linear do grupo das acetamido-chalconas resultou em uma publicação (PELOSI *et al.*, 2023), sendo ainda prospectadas novas publicações futuras decorrentes de novos estudos.

Em adição, amostras também foram enviadas para *Laboratory of Cancer Resistance (LCDR)* da UFPR. Neste laboratório estão sendo testados aspectos biológicos quanto a capacidade destes compostos de atuar como inibidores de proteínas ABC, principais responsáveis pela resistência oncológica a quimioterapia. Os experimentos preliminares demonstraram interessante atividade de uma das aceto-amido-chalconas, trazendo grande possibilidade do surgimento de publicação decorrente deste estudo.

Tabela 10 - Lista das bromochalconas e acetamido-chalconas sintetizadas.

Estrutura	Cód.	λ_{max} (nm)	ϵ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	f
 C₁₅H₁₁BrO Molecular Weight: 287,16	A1	316	6744	0,079
 C₁₆H₁₃BrO Molecular Weight: 301,18	A2	328	18304	0,361
 C₁₇H₁₅BrO Molecular Weight: 315,21	A3	329	17791	0,266
 C₁₆H₁₃BrO₂ Molecular Weight: 317,18	A4	350	30252	0,462
 C₁₇H₁₅BrO₂ Molecular Weight: 331,21	A5	316	6804	0,077
 C₁₇H₁₆BrNO Molecular Weight: 330,23	A6	275	16223	0,245
		431	28883	0,385

 $C_{15}H_{10}BrFO$ Molecular Weight: 305,15	A7	317	23866	0,467
 $C_{15}H_{10}BrClO$ Molecular Weight: 321,60	A8	323	23996	0,464
 $C_{15}H_{10}Br_2O$ Molecular Weight: 366,05	A9	320	31839	0,593
 $C_{15}H_{10}BrNO_3$ Molecular Weight: 332,15	A10	323	24170	0,467
 Chemical Formula: $C_{17}H_{15}NO_2$ Molecular Weight: 265,31	B1	330	27716	0,538
 Chemical Formula: $C_{18}H_{17}NO_2$ Molecular Weight: 279,34	B2	336	36674	0,621
 Chemical Formula: $C_{19}H_{19}NO_2$ Molecular Weight: 293,37	B3	336	35303	0,598
 Chemical Formula: $C_{18}H_{17}NO_3$ Molecular Weight: 295,34	B4	348	34857	0,612

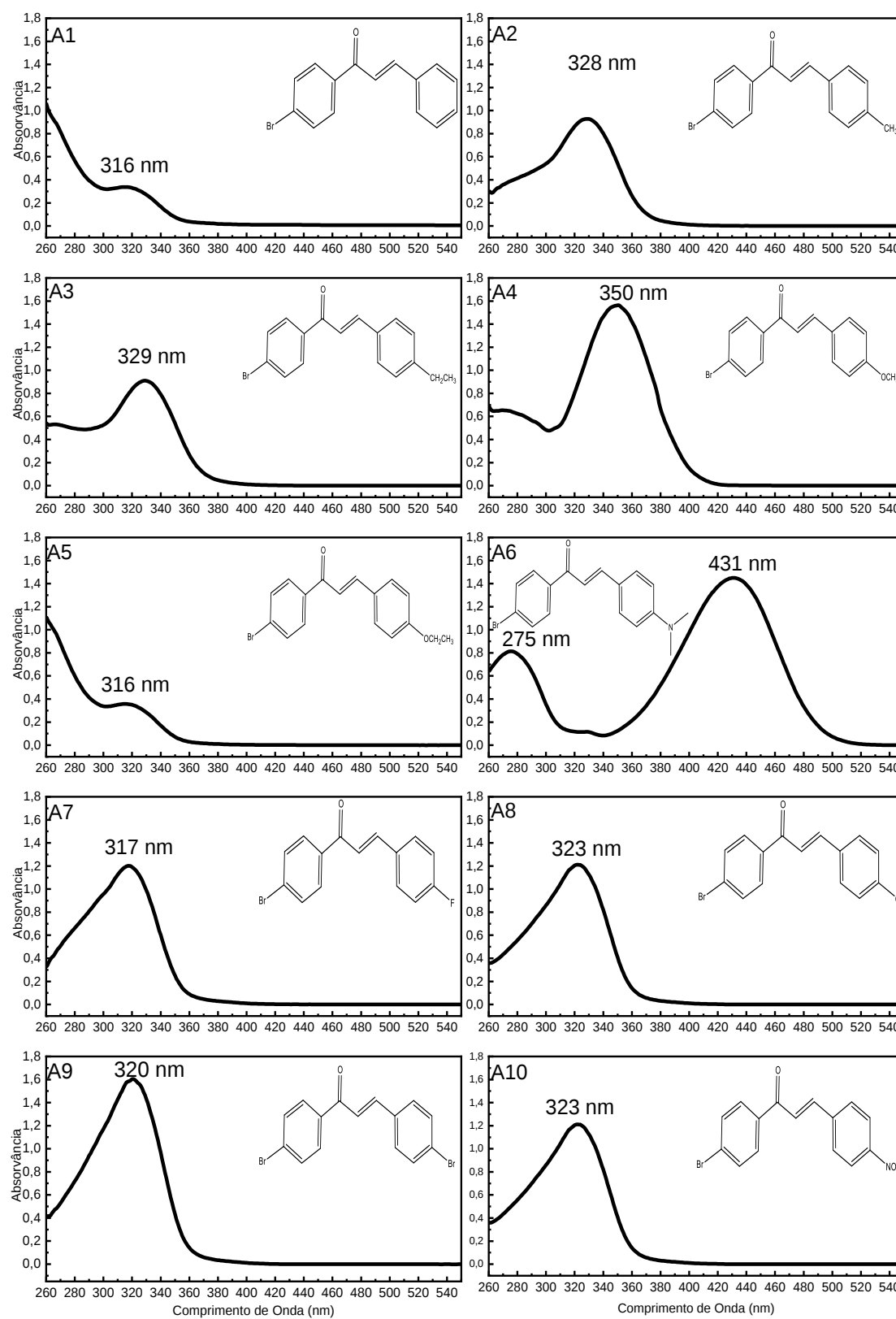
 Chemical Formula: C₁₉H₁₉NO₃ Molecular Weight: 309,37	B5	348	34960	0,607
 Chemical Formula: C₁₉H₂₀N₂O₂ Molecular Weight: 308,38	B6	313	16331	0,306
		422	35169	0,467
 Chemical Formula: C₁₇H₁₄FO₂ Molecular Weight: 283,30	B7	330	30233	0,535
 Chemical Formula: C₁₇H₁₄ClNO₂ Molecular Weight: 299,75	B8	332	35612	0,610
 Chemical Formula: C₁₇H₁₄BrNO₂ Molecular Weight: 344,21	B9	333	34136	0,582
 Chemical Formula: C₁₇H₁₄N₂O₄ Molecular Weight: 310,31	B10	339	28055	0,659

Fonte: Autoria própria; Força de oscilador (f) foi calculada através da relação:

$$f = \frac{4,39 \cdot 10^{-9}}{n} \int \varepsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu}$$

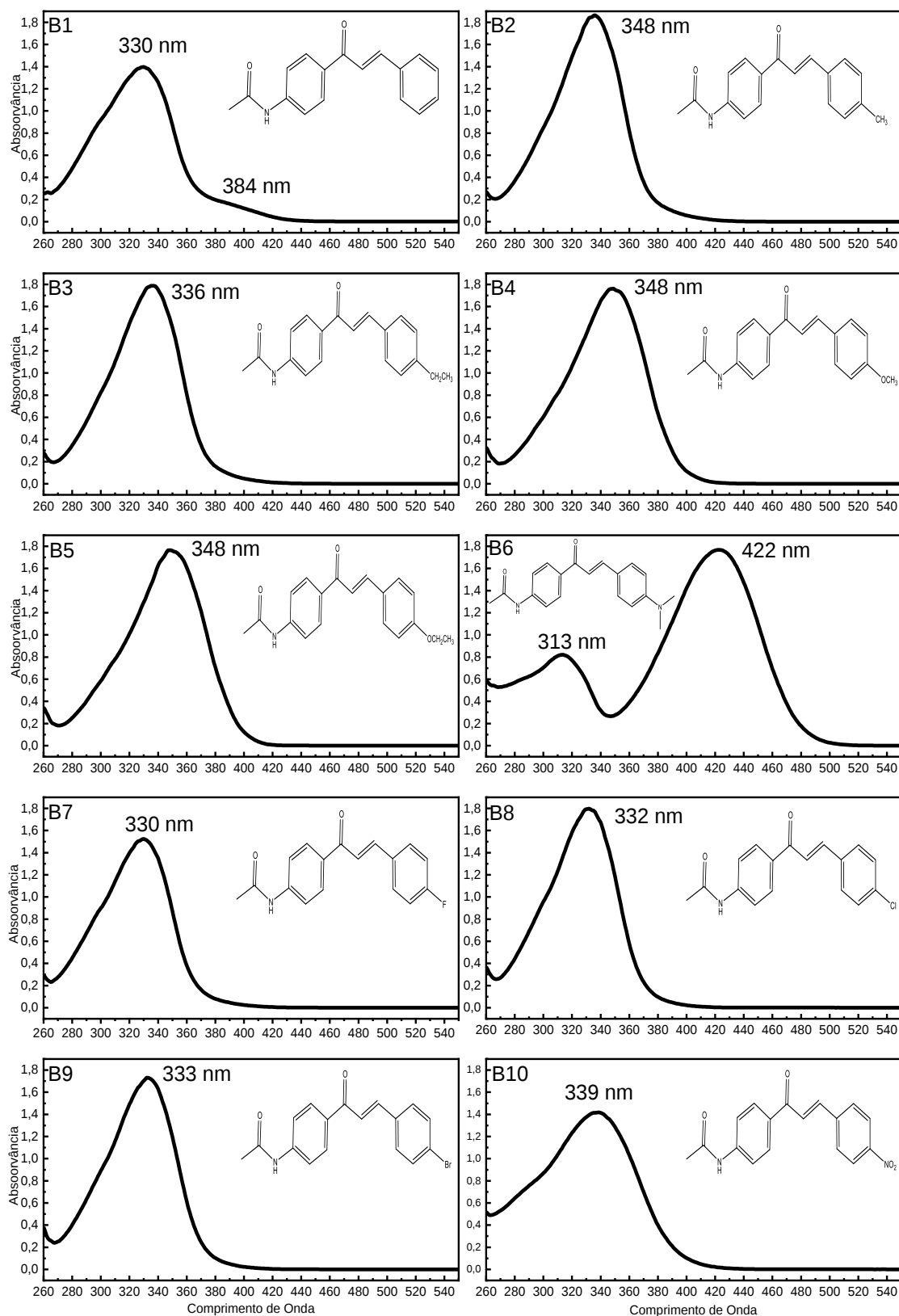
Onde, n é o índice de refração do solvente e o segundo termo corresponde à área da curva de variação do ε , em função da frequência, expressa em cm⁻¹. (LAKOWICZ, Joseph R., 2006) O valor de índice de refração utilizado para o DMSO foi de 1,4793. (MACDONALD *et al.*, 2006)

Figura 69 - Espectros de absorção linear das bromochalconas.



Fonte: Autoria Própria

Figura 70 -Espectros de absorção linear das aceto-amido chalconas.



Fonte: Autoria Própria.

13.2 Ação fotodinâmica de alquil porfirinas catiônicas para o controle do carrapato *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)

O carrapato bovino é um ectoparasita e vetor importante na transmissão de agentes infecciosos em bovinos, sendo responsável por causar problemas econômicos e grandes prejuízos no setor pecuário. Atualmente, seu controle é feito com o uso de acaricidas químicos que estão tornando-se cada vez mais ineficientes e gerando populações resistentes aos produtos disponíveis no mercado. No momento presente, existe a necessidade de se desenvolver métodos novos e alternativas eficazes contra o parasito. Este trabalho tem como objetivo avaliar novas moléculas fotossensibilizadoras para serem utilizadas no controle do vetor, empregando a inativação fotodinâmica (IFD) como ferramenta integrada de controle.

Neste projeto, coordenado pelo Prof. Guilherme Lino (Projeto Cód. PI05642-2021 SIGAA) foi avaliada a interação dos FSs com a quitina advinda do camarão, que é a biomolécula mais abundante na cutícula dos carrapatos. Às soluções dos FSs foram adicionadas aproximadamente 100 mg do polímero. A suspensão foi incubada a temperatura ambiente sob agitação constante por uma hora para incorporação das porfirinas. Após este período as suspensões foram filtradas, isolando a quitina impregnada com os FSs e submetidas as medidas de UV-Vis dos sobrenadantes resultantes a fim de estimar a quantidade de FSs adsorvidas no polímero. O surgimento das bandas de absorção nas regiões associadas ao estiramento da ligação C=N do anel porfirínico no espectro do infravermelho indicam a intensidade de FSs adsorvidos à quitina.

Além disso, o estudo de fluorescência estática e temporal demonstraram que a interação com a quitina leva a deslocamentos e alargamentos espectrais das bandas de emissão e alterações nos tempos de vida de estado excitado

Os resultados foram publicados na forma de um artigo intitulado "*Daylight Photodynamic Inactivation of cattle tick *Rhipicephalus microplus* by*

porphyrins: an alternative for the ectoparasite control” no **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**.

13.3 Avaliação de diferentes técnicas de clareamento dentário ativado por led violeta: estudo in vitro

Atualmente, o uso do LED (Light Emitting Diodes) violeta ($\lambda = 405\text{--}410$ nm) é considerado como promissor no clareamento dental associado ou não aos géis clareadores. Esse comprimento de onda coincide com o pico de absorção das moléculas de pigmento, interagindo seletivamente com os mesmos e causando uma quebra em partículas ainda menores. Ou seja, a luz é um agente fotolítico, que quebra as moléculas de pigmento maiores em menores sem a necessidade do gel. Este projeto avaliou diferentes técnicas de clareamento dentário ativado por LED violeta e tratou-se de uma cooperação entre a Faculdade de Odontologia (FO) e o Grupo de Biofotônica, sob a coordenação da Profa. Dra. Francine Moreira (Projeto PI05476-2021 SIGAA). Foram realizadas as medidas de absorção de vários agentes clareadores disponíveis no mercado brasileiro, com a finalidade de definir parâmetros de irradiação e ativação por luz mais específicos, e regiões de máximo de absorção. Os testes *in vitro* estão em andamento onde serão testadas diferentes técnicas de clareamento dentário, por meio da alteração e estabilidade de cor nos períodos de 24 horas, 15 dias e 6 meses. O clareamento será realizado em dentes bovinos, previamente pigmentados. A amostra incluirá 90 espécimes de dentes bovinos, que serão divididos em 6 grupos experimentais ($n = 15$), denominados da seguinte forma: SC – sem clareamento; LV – LED violeta sozinha; N35 – peróxido de hidrogênio a 35%; N6 – peróxido de hidrogênio a 6%; LV-N35 – peróxido de hidrogênio a 35% ativado com LED violeta; LV-N6 – peróxido de hidrogênio a 6% ativado por LED violeta.

13.4 Rede de Laboratórios Integrados em Fotônica - LIFóton

O Sistema Nacional de Laboratórios de Fotônica (Sisfóton-MCTI), instituído por meio da Portaria GABMI Nº 4.530, de 5 de Março de 2021, é constituído por um conjunto de laboratórios ou redes de laboratórios de caráter multiusuários, de acesso aberto a usuários públicos e privados, e direcionados à pesquisa, ao desenvolvimento e à prestação de serviços tecnológicos, ao empreendedorismo e à inovação em Fotônica.

O Sisfóton-MCTI tem por objetivos:

- promover o avanço científico, tecnológico, inovador e empreendedor da área de Fotônica no País, alinhado com os desafios nacionais para a Ciência, Tecnologia e Inovação (CT&I);
- fortalecer e ampliar a pesquisa orientada por missão em Fotônica, expandindo as competências técnico-científicas necessárias para explorar as oportunidades e auxiliar no desenvolvimento dos setores e tecnologias elencadas no art. 3º da Portaria;
- estimular parcerias entre as Instituições Científicas, Tecnológicas e de Inovação (ICT) e o setor privado, visando o desenvolvimento tecnológico, a inovação, o empreendedorismo, o adensamento das cadeias produtivas e o aumento da competitividade nacional na área de Fotônica;
- contribuir para a universalização do acesso à infraestrutura avançada na área de Fotônica, em especial para as comunidades científica, tecnológica e empreendedora e para o setor privado do País;
- racionalizar e ampliar a criação de novas infraestruturas científicotecnológicas na área de Fotônica, visando sua harmonização com as infraestruturas preexistentes, as necessidades do setor produtivo e com os ambientes promotores da inovação;
- estimular a internacionalização dos programas e das iniciativas nacionais na área de Fotônica, a fim de acelerar o desenvolvimento nacional e posicionar o Brasil entre os países mais desenvolvidos em Fotônica; e

- promover a formação, capacitação, atração e fixação de recursos humanos especializados na área de Fotônica, bem como a difusão e popularização dos principais temas da Fotônica para a sociedade.

Os laboratórios deverão disponibilizar, no mínimo, 30% (trinta por cento) do tempo de uso, em horas, da sua estrutura laboratorial, de seus equipamentos ou de sua expertise a usuários externos, tanto públicos quanto privados.

Neste contexto a UFG integra o SISFóton através da rede de laboratórios LIFóton, constituída pelo Grupo de Física de Materiais, Grupo de Biofotônica, Grupo de Fotônica e Grupo de Óptica Quântica do IF-UFG.

13.5 Relação de Publicações no período do doutorado (2018-2023)

GONÇALVES, P. J.; SCIUTI, L. F.; NETO, N. M. B.; E SILVA, R. C.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; MENDONÇA, C. R.; ZÍLIO, S. C.; BORISSEVITCH, I. E.; DE BONI, L. Effects of pH on the ultrafast transient absorption of iron (III) meso-tetrakis(4-N-methylpyridiniumyl) porphyrin (Fe³⁺TMPyP) molecular complexes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, vol. 408, no. December 2020, p. 113082, Mar. 2021. DOI 10.1016/j.jphotochem.2020.113082. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603020308790>.

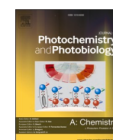
Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry 408 (2021) 113082



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jphotochem



Effects of pH on the ultrafast transient absorption of iron (III) meso-tetrakis (4-N-methyl-pyridiniumyl) porphyrin (Fe³⁺TMPyP) molecular complexes

Pablo J. Gonçalves^{a,b,*}, Lucas F. Sciuti^c, Newton M. Barbosa Neto^d, Rodrigo Costa e Silva^{b,e}, Eli Silveira-Alves Jr.^b, Cléber R. Mendonça^c, Sérgio C. Zílio^{a,c}, Iouri E. Borissevitch^{a,f}, Leonardo de Boni^{c,**}

^a Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, 74001-970, Goiânia, GO, Brazil

^b Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 74001-970, Goiânia, GO, Brazil

^c Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 369, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

^d Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Programa de Pós-graduação em Física, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01 Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^e Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil

^f Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil



PARRA, G. G.; CORREA, D. S.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; ALMEIDA, L. M.; SOUZA, M. A. R.; DE BONI, L.; MISOGUTI, L.; MENDONÇA, C. R.; ZÍLIO, S. C.; BARBOSA NETO, N. M.; BORISSEVITCH, I. E.; GONÇALVES, P. J. Effects of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin (TPPS₄) aggregation on its spectral and kinetic characteristics and singlet oxygen production. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, vol. 261, p. 120063, Nov. 2021. DOI 10.1016/j.saa.2021.120063. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120063>

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 261 (2021) 120063



Contents lists available at ScienceDirect

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/saa



Effects of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin (TPPS₄) aggregation on its spectral and kinetic characteristics and singlet oxygen production

Gustavo G. Parra^a, Daniel S. Correa^b, Eli Silveira-Alves Jr.^c, Luciane M. Almeida^d, Marcio A.R. Souza^e, Leonardo De Boni^f, Lino Misoguti^f, Cleber R. Mendonça^f, Sérgio C. Zílio^{e,f}, Newton M. Barbosa Neto^g, Iouri E. Borissevitch^{a,e,*}, Pablo J. Gonçalves^{c,e,*}

^a Departamento de Física, FFCLRP, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes 3900, 14040-901 Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b EMBRAPA Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

^c Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil

^d Universidade Estadual de Goiás/UEG, BR-153 3105, Fazenda Barreiro do Meio, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, 75132-400 Anápolis, GO, Brazil

^e Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil

^f Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

^g Faculdade de Física, Universidade Federal do Pará, Av. Augusto Correa, 01, Guamá, 66075-110 Belém, PA, Brazil



LOPES, J. M. S.; COSTA, S. N.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; BATISTA, A. A.; DINELLI, L. R.; GONÇALVES, P. J.; ARAUJO, P. T.; BARBOSA NETO, N. M. Singlet Oxygen Generation and Spectroscopic Properties of Supramolecular Zinc Meso-tetra(4-pyridyl) Porphyrin Bearing Outlying Ruthenium Groups. **Brazilian Journal of Physics**, [s. l.], v. 52, n. 5, 2022.

Brazilian Journal of Physics (2022) 52:164
https://doi.org/10.1007/s13538-022-01166-9



CONDENSED MATTER



Singlet Oxygen Generation and Spectroscopic Properties of Supramolecular Zinc Meso-tetra(4-pyridyl) Porphyrin Bearing Outlying Ruthenium Groups

J. M. S. Lopes¹ · S. N. Costa^{1,2} · E. Silveira-Alves Jr³ · A. A. Batista⁴ · L. R. Dinelli⁵ · P. J. Gonçalves^{3,6} · P. T. Araujo⁷ · N. M. Barbosa Neto¹

Received: 27 April 2022 / Accepted: 13 July 2022
© The Author(s) under exclusive licence to Sociedade Brasileira de Física 2022

PELOSI, A. G.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; COCCA, L. H. Z.; VALVERDE, J. V.; OLIVEIRA, G. R.; DA SILVA, D. L.; DE BONI, L.; GONÇALVES, P. J.; MENDONCA, C. R. Two-Photon Absorption and Multiphoton Excited Fluorescence of Acetamide-Chalcone Derivatives: The Role of Dimethylamine Group on the Nonlinear Optical and Photophysical Properties. *Molecules*, [s. l.], v. 28, n. 4, 2023.



Article

Two-Photon Absorption and Multiphoton Excited Fluorescence of Acetamide-Chalcone Derivatives: The Role of Dimethylamine Group on the Nonlinear Optical and Photophysical Properties

André Gasparotto Pelosi¹, Eli Silveira-Alves, Jr.², Leandro Henrique Zucolotto Cocca¹, João Victor Valverde¹, Guilherme Roberto Oliveira², Daniel Luiz da Silva³, Leonardo De Boni¹, Pablo José Gonçalves^{2,4} and Cleber Renato Mendonca^{1,*}

¹ São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, São Carlos 13566-590, SP, Brazil

² Institute of Chemistry, Federal University of Goiás, Goiânia 74690-900, GO, Brazil

³ Department of Natural Sciences, Mathematics and Education, Federal University of São Carlos, Araras 13604-900, SP, Brazil

⁴ Institute of Physics, Federal University of Goiás, Goiânia 74690-900, GO, Brazil

* Correspondence: crmendon@ifsc.usp.br

SILVEIRA-ALVES, E.; BEZERRA, F. C.; GUERRA, R. A.; ZUFELATO, N.; MARTINS, C. S.; DESORDI, J. C.; CAIRES, A. R. L.; BAKUZIS, A. F.; GONÇALVES, P. J. Coupling of cationic porphyrins on manganese ferrite nanoparticles: A potential multifunctional nanostructure for theranostics applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, [s. l.], v. 438, 2023.

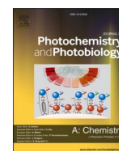
Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry 438 (2023) 114551



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jphotochem



Coupling of cationic porphyrins on manganese ferrite nanoparticles: A potential multifunctional nanostructure for theranostics applications

Eli Silveira-Alves Jr.^{a,1}, Fabio C. Bezerra^{b,1}, Rubens A. Guerra^{b,c}, Nicholas Zufelato^b, Carolina S. Martins^d, Jaqueline C. Desordi^b, Anderson R.L. Caires^e, Andris F. Bakuzis^f, Pablo J. Gonçalves^{a,b,*}

^a Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Goiás, 74001-970, Goiânia, GO, Brazil

^b Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, 74690-900, Goiânia, GO, Brazil

^c Faculdade Santa Rita de Cássia, Av. Adelina Alves Vilela, n° 393, Jd. Primavera, 75.524-680, Itumbiara, GO

^d Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, 74605-450, Goiânia, GO, Brazil

^e Instituto de Física, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande-MS, Brazil

^f CNanoMed, Universidade Federal de Goiás, 74690-631, Goiânia, GO, Brazil

BORISSEVITCH, I. E.; **SILVEIRA-ALVES, E.;** ALMEIDA, C. G. L.; SOUZA, G. R. L.; SOKOLOV, S. S.; GONÇALVES, P. J. An Alternative Method to Determine the Quantum Yield of the Excited Triplet State Using Laser Flash Photolysis. *Photonics*, [s. l.], v. 10, n. 4, 2023.



Communication

An Alternative Method to Determine the Quantum Yield of the Excited Triplet State Using Laser Flash Photolysis

Iouri Evgenievitch Borissevitch^{1,2,*}, Eli Silveira-Alves, Jr.³, Claudio Gabriel Lemos Almeida⁴, Guilherme Rocha Lino Souza⁵, Svyatoslav Sergeevich Sokolov⁶ and Pablo José Gonçalves^{2,3,*}

¹ Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto 14040-901, Brazil

² Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, Goiânia 74690-900, Brazil

³ Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia 74690-900, Brazil

⁴ Escola de Engenharia Elétrica, Mecânica e de Computação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia 74690-900, Brazil

⁵ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás—UFG, Goiânia 74690-900, Brazil

⁶ B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine 47 Nauky Ave, 61103 Kharkiv, Ukraine

* Correspondence: iourib@ffclrp.usp.br (I.E.B.); pablo@ufg.br (P.J.G.)

SILVA, R. C.; BUZZÁ, H. H.; **DUCAS, E. S. A.**; OLIVEIRA, K. T.; BAGNATO, V. S.; SOUZA, G. R. L.; ALMEIDA, L. M.; GONÇALVES, P. J. Synergic vascular photodynamic activity by methylene blue-curcumin supramolecular assembly. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 303, p. 123281, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142523009666>.

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 303 (2023) 123281



Contents lists available at ScienceDirect
Spectrochimica Acta Part A:
Molecular and Biomolecular Spectroscopy
 journal homepage: www.journals.elsevier.com/spectrochimica-acta-part-a-molecular-and-biomolecular-spectroscopy



Synergic vascular photodynamic activity by methylene blue-curcumin supramolecular assembly

Rodrigo C. Silva^{a,b,*}, Hilde H. Buzzá^{c,d}, Eli S.A. Ducas^a, Kleber T. Oliveira^b, Vanderlei S. Bagnato^{c,e}, Guilherme R.L. Souza^f, Luciane M. Almeida^g, Pablo J. Gonçalves^{a,h,*}

^a Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^b Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brazil

^c Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (IFSC, USP), São Carlos, SP, Brazil

^d Instituto de Física, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

^e Hagler Fellow, Texas A&M University, College Station, United States

^f Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^g Universidade Estadual de Goiás (UEG), Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Anápolis, GO, Brazil

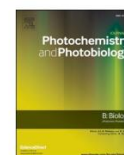
^h Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

GOMES, I. C. P.; DIVINO, L. D. A.; RODRIGUES, F. M.; FLEURY, C. M. F.; **DUCAS, E. S. A.**; DESORDI, J. C.; IGLESIAS, B. A.; SANTANA, R. C.; MONTEIRO, C. M. O.; LOPES, W.D.Z.; GONÇALVES, P. J.; SOUZA, G. R. L. Daylight photodynamic inactivation of cattle tick *Rhipicephalus microplus* by porphyrins: An alternative for the ectoparasite control, **Journal Photochemistry & Photobiology B** 251 (2024) 112847. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2024.112847>.

Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology 251 (2024) 112847



Contents lists available at ScienceDirect
Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology
 journal homepage: www.elsevier.com/locate/jphotobiol



Daylight photodynamic inactivation of cattle tick *Rhipicephalus microplus* by porphyrins: An alternative for the ectoparasite control

Isabela Castro Pereira Gomes^a, Lorena Dias Amor Divino^a, Fernanda Meneses Rodrigues^a, Cinthya Marques Fortes Fleury^a, Eli Silveira Alves Ducas^b, Jaqueline Cristine Desordi^c, Bernardo Almeida Iglesias^d, Ricardo Costa Santana^c, Caio Márcio Oliveira Monteiro^{a,e}, Welber Daniel Zanetti Lopes^{a,e}, Pablo José Gonçalves^{b,c,f,*}, Guilherme Rocha Lino Souza^{a,g,**,1}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil

^b Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil

^c Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil

^d Laboratório de Bioinorgânica e Materiais Porfirínicos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

^e Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil

^f Centro de Excelência em Hidrogênio e Tecnologias Energéticas Sustentáveis (CEHTES), Goiânia, GO, Brazil

^g Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil

GONCALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M.; LIMA, A. R.; TELES, A. V.; OLIVEIRA, T. M. dos A.; BEZERRA, F. C.; **SILVEIRA-ALVES, E.**; LEITE, C. K.; SOUZA, G. R. L. INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA: ASPECTOS FOTOFÍSICOS E APLICAÇÕES NO COMBATE A MICRORGANISMOS. In: DAL MOLIN, R. S.; LOPES, A. N. (eds.). **Infectologia bases epidemiológicas e clínicas**. 1st ed. Guarujá: Editora Científica, 2021. p. 13–32. DOI 10.37885/210303817. Available at: <http://www.editoracientifica.org/articles/code/210303817>.

