

MON
54
84842
FES/UFU
EM



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

*C.P. 83240-000
UFU - MG*

Programa de Pós-Graduação em Química

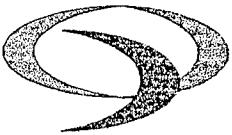
**FOTOFÍSICA E DETERMINAÇÃO DE
PARÂMETROS FOTODINÂMICOS DA
FTALOCIANINA DE ZINCO EM MEIOS
HOMOGÊNEO E MICROHETEROGÊNEO**

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Química como
parte dos requisitos para a obtenção
do título de MESTRE EM
QUÍMICA.

Juliana Ribeiro (Bolsista da Fundação CAPES)

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado

Uberlândia, Novembro de 2003



ALUNA: JULIANA RIBEIRO

NÚMERO DE MATRÍCULA: 5012402-9

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÍSICO-QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA : NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

“Fotofísica e Determinação de Parâmetros Fotodinâmicos da Ftalocianina de Zinco em Meios Homogêneo e Microheterogêneo”

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTÔNIO EDUARDO DA HORA MACHADO

A Dissertação foi APROVADA em reunião pública realizada na Sala 3D205 do Campus Santa Mônica, em 13 de novembro de 2003, às 14:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME: ASSINATURA

Prof. Dr. Antônio Eduardo H. Machado (IQ/UFU) *Antônio Eduardo H. Machado*

Prof. Dr. Divinomar Severino (IQ/UFU) *Divinomar*

Prof. Dr. Mauricio da Silva Baptista (IQ/USP-SP) *Mauricio da Silva Baptista*

Uberlândia, 13 de novembro de 2003.

“ Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amor à vida dos seres humanos. A consciência de aprender tudo o que nos foi ensinado pelo tempo afora. Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem. A capacidade de escolher novos rumos. Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável: além do pão, o trabalho. Além do trabalho, a ação. E quando tudo mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída”.

MAHATMA GANDHI

Agradecimentos

A Deus pela oportunidade de vida e por guiar todos os passos dados nessa minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado pela orientação, atenção e apoio durante todos os momentos da realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Divinomar Severino pela grande contribuição na discussão dos resultados e na disposição em fazer as medidas resolvidas no tempo no Instituto de Química da USP em São Paulo.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero por ceder parte da infra-estrutura de seu laboratório para a realização de parte desse trabalho.

A todos os colegas do Grupo de Fotoquímica e Química da Madeira e ao colega Fernando Henrique Cristóvan pelo ótimo convívio e grande amizade.

Aos colegas Jacques, Roberta, Augusta, Thiago, Suzana, Lara e Rodrigo pela valiosa contribuição nesse trabalho.

À UFU, CAPES, CNPQ e FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

A todos os amigos, técnicos e professores do IQUFU, em especial às secretárias Izabel, Angela e Marilda.

A meus pais Vera Lucia Ribeiro e João Ribeiro a quem dedico esse trabalho com muito amor.

E, com grande carinho, um agradecimento especial a alguém muito especial e grande incentivador dessa minha conquista – Rodrigo Mendonça de Menezes. Alguém que esteve presente em todos os momentos alegres e tristes da minha vida.

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Estudo Fotofísico de Moléculas.....	15
1.1.1 Processos Fotofísicos	16
1.2 Efeito do solvente e o Deslocamento de Stokes [10].....	19
1.2.1 Deslocamentos Solvatocrônicos [11].....	20
1.2.2 Solvatação de moléculas [11].....	21
1.2.3 Polarização de Orientação [11].....	22
1.2.4 Interações Específicas [11]	23
1.2.5 Efeitos Anômalos dos Solventes [11]	23
1.2.6 $E_T(30)$ - Uma Escala Empírica da Polaridade do Solvente [11].....	24
1.2.7 Efeito do Acoplamento Spin - Órbita [5,26]	26
1.3 Processos fotofísicos	29
1.3.1 Rendimento Quântico de Fluorescência	29
1.3.2 Processos de Supressão de Fluorescência.....	30
1.3.2.1 Cinética de Supressão de um Estado Excitado [31].....	31
1.3.2.2 Teoria da Supressão Estática e Dinâmica [10].....	33
1.3.2.3 Supressores de Fluorescência [10].....	33
1.3.2.4 Processos e Mecanismos de Supressão.....	34
1.3.2.4.1 Transferência de Energia [5,10,26]	34
1.3.2.4.2 Geração de Oxigênio Singlete por Fotossensibilização [5]	39
1.3.2.4.3 Transferência de Energia por Efeito de Átomos Pesados [5,26]	40
1.3.2.4.4 Transferência de Elétron [37].....	41
1.3.3 Supressão de Fluorescência em Ambiente Micelar.....	42
1.3.4 Oxigênio Singlete.....	43
1.3.4.1 Geração de oxigênio singlete.....	45
1.3.4.2 Métodos de detecção do oxigênio singlete.....	45
1.3.5 Atividade Fotodinâmica - Método de Fischer	50
1.3.6 Terapia Fotodinâmica.....	51
1.3.6.1 Agentes Fotossensibilizadores	52
1.3.6.1.1 Ftalocianinas	55
1.3.7 Fundamentos da Mecânica Quântica [136]	59
1.3.7.1 Métodos semi-empíricos [138].....	60
1.3.7.2 Interação de Configurações [138]	62
2. OBJETIVOS.....	65
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	66
3.1 Reagentes e equipamentos	66
3.2 Procedimentos.....	69
3.2.1 Efeito do solvente sobre a fotofísica da Ftalocianina de Zinco.....	69
3.2.2 Supressão de Fluorescência da FtZn por Iodo em Etanol e 1-Octanol.....	70
3.2.3 Medida da Atividade Fotodinâmica da FtZn em diferentes meios.	70

3.2.4 Estimativa do rendimento quântico de geração de oxigênio singlete por medidas resolvidas no tempo	71
3.2.5 Estimativa do tempo de vida de triplete por medidas resolvidas no tempo....	71
3.2.6 Estimativa do rendimento quântico de geração de oxigênio singlete por medidas em estado estacionário.....	72
3.2.7 Cálculos Mecânico-Quânticos	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
4.1 Avaliação Fotofísica da Ftalocianina de Zinco em diferentes meios	74
4.2 Avaliação da Atividade Fotodinâmica (AF) e Geração de Oxigênio Singlete pela FtZn.....	90
5. CONCLUSÃO	96
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	98
7. APÊNDICE.....	99
7.1 Produção Bibliográfica.....	99
7.1.1 Comunicações Científicas.....	99
7.1.2 Artigo Aceito para Publicação.....	100
7.1.3 Artigo em Fase de Redação	100
7.2 Apêndice de Figuras	101
7.3 Apêndice de Tabela	106
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 – Diagrama de Jablonski: Os processos fotofísicos são representados por (1) Absorção de luz, (2) Conversão Interna (IC), (3) Fluorescência (F), (4) Cruzamento entre Sistemas (ISC) e (5) Fosforescência (P).</i>	18
<i>Figura 2 – Estrutura do composto betaina, utilizado como padrão de polaridade.</i>	25
<i>Figura 3 – Representação de uma transição eletrônica envolvendo estados de diferentes multiplicidades, onde m corresponde ao m-ésimo estado eletrônico-vibracional, e n ao n-ésimo estado eletrônico-vibracional.</i>	27
<i>Figura 4 – Mecanismo de TE a longa distância (Mecanismo Coulômbico).</i>	36
<i>Figura 5 - Representação da estrutura do agente fototerapêutico PHOTOFIRIN® na forma de éter.</i>	54
<i>Figura 6 – Estrutura da Ftalocianina de Zinco.</i>	58
<i>Figura 7 – Relação obtida entre polaridade do solvente descrita pela escala $E_T(30)$ e rendimento quântico de fluorescência. (A): (a) n-Decano, (b) Clorofórmio, (c) THF e (f) Octanol; $\Phi_f = 0,058 + 0,002 E_T(30)$ e $R = 0,99$. (B): (d) 2-Butanol, (e) 1-Butanol, (g) Dimetilformamida (DMF), (h) Etilenoglicol, (i) Etanol; (j) DMSO; (k) 2-Propanol, (l) Acetonitrila e (m) Metanol; $\Phi_f = -0,093 + 0,004 E_T(30)$ e $R = 0,93$.</i>	75
<i>Figura 8 – Diagrama de energia dos primeiros estados eletrônicos excitados da Ftalocianina de Zinco, obtido por cálculo PM3-Cl.</i>	76
<i>Figura 9 – (A) Espectro de absorção normalizado para a FtZn em (a) DMF, $\lambda_{abs} = 669$ nm e (b) SDS, $\lambda_{abs} = 675$ nm. (B) Espectro de fluorescência a 298 K da FtZn em (a) Etanol, $\lambda_{em} = 669$ nm e, $\lambda_{exc} = 640$ nm; (b) DMF, $\lambda_{em} = 674$ nm e, $\lambda_{exc} = 640$ nm e (c) SDS, $\lambda_{em} = 679$ nm e $\lambda_{exc} = 640$ nm. As soluções foram preparadas com concentrações em torno de 10^{-7} M.</i>	80
<i>Figura 10 – Espectro de fluorescência da Ftalocianina de Zinco em etanol a 77 K, $\lambda_{em} = 670$ nm e, $\lambda_{exc} = 640$ nm.</i>	82
<i>Figura 11 – Relação de Stern-Volmer obtida, experimentalmente para (A) Supressão do Φ_f da FtZn por iodo em metanol ($\Phi_0/\Phi = 0,99 + 3,5 \times 10^5 [I_2]$, com $R = 0,98$), e (B) Supressão do Φ_f da FtZn por iodo em octanol ($\Phi_0/\Phi = 1,00 + 4,4 \times 10^5 [I_2]$, com $R = 0,99$).</i>	85

Figura 12 – Espectros normalizados (A) de emissão da FtZn (I_D) e absorção do I ₂ (ε_A) em metanol e (B) de emissão da FtZn (I_D) e absorção do I ₂ (ε_A) em 1-octanol. A concentração de todas as soluções foi igual a $1,0 \times 10^{-7}$ M.....	88
Figura 13 – Idealização de um exciplexo singlete formado pela Ftalocianina de Zinco e o iodo, calculado usando o método PM3. A distância estimada para a interação Iodo-Zinco é de 7,31 Å. O ângulo I-I-Zn é igual a 137,1°, e a inclinação estimada entre os átomo de iodo e o plano da molécula, de 60°. A distância I-I calculada é igual a 2,636 Å, enquanto o valor experimental é igual a 2,666 Å [156].....	89
Figura 14 – Decaimento exponencial, normalizado, da variação de absorvância do estado triplete excitado da FtZn com o tempo em (a) DMSO e (b) CTAB. As espécies foram excitadas em 355 nm, e o decaimento do triplete foi monitorado em 480 nm.....	91

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito do átomo pesado sobre as velocidades de ISC ($S_1 \rightarrow T_1$ e $T_1 \rightarrow S_0$), e outros parâmetros relativos ao estado triplete [36].....	41
Tabela 2 – Ocupação dos orbitais moleculares antiligantes para os estados eletrônicos do O_2 [61].....	44
Tabela 3 – Propriedades fotofísicas de algumas ftalocianinas em DMF [127].....	57
Tabela 4 – Propriedades fotofísicas da FtZn em diferentes meios.	74
Tabela 5 – Φ_f e Φ_T (rendimento quântico de estados triplete) para o naftaleno e derivados possuindo átomo pesado na sua estrutura [5,26]	84
Tabela 6 - Constantes de Stern-Volmer, difusional e de supressão de fluorescência da FtZn.....	86
Tabela 7- Atividade Fotodinâmica e outros parâmetros fotodinâmicos da FtZn em diferentes meios em comparação com os dados da Literatura.....	92
Tabela 8 – Propriedade química dos solventes utilizados.....	106

ÍNDICE DE TERMOS ADOTADOS

Φ_f , rendimento quântico de fluorescência;

SDS, Dodecil Sulfato de Sódio;

CTAB, Brometo de Cetil Trimetil Amônio;

Φ_A , rendimento quântico de geração de oxigênio singlete;

DPBF, 1,3-Difenilisobenzofurano;

DMSO, Dimetilsufóxido;

CHCl₃, Clorofórmio;

CCl₄, Tetracloreto de Carbono;

AF, Atividade Fotodinâmica;

¹O₂, oxigênio singlete;

AU, Ácido Úrico;

F, Fluorescência;

P, Fosforescência;

IC, Conversão Interna;

ISC, Cruzamento entre Sistemas;

FC, Frank-Condon;

TE, Transferência de Energia;

Te-, Transferência de Elétron;

$\Delta\nu$, Deslocamento de Stokes;

DS, Deslocamento Solvatocrômico;

THF, Tetrahidrofurano;

HOMO, Highest Occupied Molecular Orbital;

LUMO, Lowest Unoccupied Molecular Orbital;

³O₂, oxigênio molecular;

τ_A , tempo de vida do oxigênio singlete;

τ_T , tempo de vida de triplete;

TFD, Terapia Fotodinâmica;

FtZn, Ftalocianina de Zinco;

DMF, Dimetilformamida;

PM3, Parametric Method 3;

CI, Interação de Configurações;

HF, Hartree-Fock;

OM, Orbital Molecular;

OA, Orbital Atômico;

Φ_{ST} , rendimento quântico de singlete-triplete;

PBS, tampão fosfato;

CMC, Concentração Micelar Crítica;

Δf , Polarizabilidade de Orientação;

Φ_{IC} , rendimento quântico de conversão interna;

DPPC, Dipalmitoilfosfatidilcolina.

RESUMO

No presente trabalho, a influência dos meios homogêneo e microheterogêneo sobre a fotofísica da Ftalocianina de Zinco (FtZn) foi avaliada, visando contribuir para uma melhor compreensão da influência do meio sobre a estrutura eletrônica dessa molécula. Analisou-se a dependência entre os rendimentos quânticos de fluorescência (Φ_f) da FtZn, nos diferentes meios estudados e a escala de polaridade $E_T(30)$. Essa análise mostrou que há uma relação direta entre o Φ_f e a polaridade do meio, o que deve estar relacionado ao aumento na diferença de energia entre os estados $S_1(\pi\pi^*)$ e $S_2(n,\pi^*)$. O crescimento dos valores de Φ_f com a polaridade é mais pronunciado em solventes próticos, indicando que interações específicas devem ser mais efetivas para o aumento da diferença de energia entre os estados S_1 e S_2 . O Φ_f em Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) segue a mesma tendência dos solventes próticos. Já o valor estimado em Brometo de Cetil Trimetil Amônio (CTAB) ($\Phi_f = 0,002$) é muito baixo. Evidências experimentais indicam que isso se deve a ação dos íons brometo, acentuando a possibilidade de acoplamento spin-órbita, com o favorecimento da ocorrência de cruzamento entre sistemas. Medidas de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete (Φ_Δ) foram feitas em regime de estado estacionário em diferentes meios, através da monitoração da degradação do composto 1,3-Difenilisobenzofurano (DPBF). Os resultados mostram-se bastante coerentes com valores disponíveis na literatura. No entanto, o Φ_Δ medido em Dimetilsufóxido (DMSO) mostrou-se bastante divergente. Medida do Φ_Δ da FtZn feita em DMSO usando técnica resolvida no tempo, forneceu resultado concordante com o valor obtido em estado estacionário. Por outro lado, os valores estimados em clorofórmio ($CHCl_3$) e em tetracloreto de carbono (CCl_4) mostraram-se bastante elevados, muito provavelmente em virtude do elevado tempos de vida do oxigênio singlete nesses solventes. A Atividade Fotodinâmica (AF) da FtZn foi também medida em diferentes

meios. Os resultados sugerem que a AF é um parâmetro relacionado à reatividade de um fotossensibilizador não apenas em termos de sua capacidade de geração de oxigênio singlete (${}^1\text{O}_2$), mas também de outras espécies ativas de oxigênio. O valor medido para a AF da FtZn em SDS ($42 \pm 2 \text{ m}^2/\text{Ws}$) concorda muito bem com valor estimado anteriormente empregando Ácido Úrico (AU) como dosador químico ($49 \pm 3 \text{ m}^2/\text{Ws}$). O valor da AF da FtZn em SDS mostra-se, pelo menos, duas vezes maior que os valores encontrados na literatura para o Photofrin II ($24 \pm 2 \text{ m}^2/\text{Ws}$) e Azul de Melileno ($18 \pm 1 \text{ m}^2/\text{Ws}$). Em outras palavras, para a FtZn é necessária uma dose pelo menos duas vezes menor de radiação para que esta apresente a mesma reatividade dos outros dois fotossensibilizadores. Considerando ainda que a absorvidade molar da FtZn é, pelo menos, 100 vezes maior que a do Photofrin II, pode-se acrescentar que o efeito fotodinâmico apresentado pela FtZn deve ser, pelo menos, 200 vezes maior que o do Photofrin II. O valor da AF da FtZn em CTAB é menor que o valor em SDS, o que pode estar associado à estrutura do CTAB, que deve estar atuando como um supressor físico de espécies ativas de oxigênio.

ABSTRACT

In the present work, the influence of the homogeneous and microheterogeneous media on the photophysics of Zinc Phthalocyanine (ZnPc) was evaluated, aiming to contribute for a better understanding on the influence of medium on the electronic structure of this compound. The dependence between the fluorescense quantum yield (Φ_f), in the different media studied, and the polarity scale $E_T(30)$, was evaluated. This analysis showed a direct ratio between Φ_f and the medium polarity, which may be related to the increase in the energy difference between the $S_1(\pi\pi^*)$ e $S_2(n,\pi^*)$ states. Despite the low values of Φ_f , the increase of this parameter with the polarity is higher in protic solvents, indicating that more specific polar interactions added to the typical interactions of non-protic solvents is decisive to give the observed trend. The Φ_f in Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) follows the same trend observed for protic solvents. On the other hand, the value measured in Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) ($\Phi_f = 0,002$) is extremely low. Experimental evidences indicate that this must be due to the action of bromide ions, which potentializes the spin orbit coupling. Measurements of quantum yield of singlet oxygen generation (Φ_A) has been made in steady-state regimen in different media, through the degradation control of the compound 1,3-Diphenylisobenzofurane (DPBF). The results show to be coherent with the values reported in literature. However, the Φ_A measured in Dimethylsulfoxide (DMSO) revealed to be divergent. On the other hand, measures of Φ_A made in the same solvent using time resolved technique, furnished results which agree with the value estimated by steady-state measurements. The values estimated in chloroform ($CHCl_3$) and carbon tetrachloride

(CCl₄) were anomalously high, very probably due to the extremely long singlet oxygen lifetimes in these solvents. The Photodynamic Activity (PA) also was measured in different media. The results suggest that a PA is a parameter capable to quantify the reactivity of a photosensitizer not only in terms of its capacity of generation of singlet oxygen (¹O₂), but also of other oxygen active species. The value measured for the PA of ZnPc in SDS (42 ± 2 m²/Ws) agrees very well to the previously obtained using uric acid (UA) (49 ± 3 m²/Ws). The value of the PA of ZnPc in CTAB is lower to the obtained in SDS which must be related to the physical quenching promoted by the structure of the CTAB. The value of the PA of ZnPc in SDS reveals, that apparently this dye is at least two times more efficient than Photofrin II or Methylene Blue. Considering that the molar absorptivity of ZnPc is around 10² times higher than the value for Photofrin II, the photodynamic action of ZnPc is at least 200 times higher than the former.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Estudo Fotofísico de Moléculas

As propriedades fotofísicas de uma molécula são determinadas pela natureza e pela energia de seus estados eletronicamente excitados. Por outro lado, em Química é muito comum trabalhar-se com moléculas em fase condensada [líquidos, líquidos viscosos e sólidos]. Compreender o efeito desses meios sobre as energias relativas dos estados eletrônicos dessas moléculas, é um dos objetivos da fotofísica de moléculas [1,2].

Quando a ação da luz provoca modificações na estrutura de uma molécula, é sinal de que um processo de absorção da luz deve ter ocorrido. A absorção de luz - ultravioleta ou visível - por uma molécula é, geralmente, o resultado de uma transição eletrônica, e pode ser estudada pela espectroscopia eletrônica. Uma transição eletrônica consiste na promoção de um elétron do estado fundamental para outro de maior energia (estado excitado) como resposta à absorção de radiação eletromagnética [3].

As principais características observadas em uma banda de um espectro de absorção são sua posição e intensidade. A posição da banda de absorção corresponde ao comprimento de onda da radiação necessária para que a transição ocorra. Já a intensidade está relacionada à probabilidade da transição ocorrer.

A probabilidade de transição para uma dada absorção pode ser relacionada à intensidade de absorção através do termo força de oscilador (Eq. 01) [4]. Em outras palavras, a força de oscilador pode ser tomada como sendo uma medida da probabilidade de transição [5].

$$f = \frac{4,315 \times 10^{-9}}{n} \int \varepsilon d\nu \quad (\text{Eq. 01})$$

onde n é o índice de refração do solvente, $d\nu$ é a diferencial do número de onda e ε é o coeficiente de extinção molar.

Uma medida experimental da relação entre a absorção de radiação por um dado soluto e sua concentração em solução é fornecida pela lei de Lambert-Beer. A lei de

Lambert-Beer estabelece uma relação entre a quantidade de radiação absorvida por uma espécie, sua concentração e o percurso percorrido pela radiação [5],

$$A = kcb \quad (\text{Eq. 02})$$

onde k representa uma constante característica do soluto, c é a concentração do soluto, b é o caminho percorrido pela radiação através da amostra e A é a absorvância da solução.

Quando a concentração do soluto é expressa em mol L⁻¹ e b em centímetros, a constante k é igual à absorvância molar, ϵ , também conhecida por coeficiente de extinção molar.

1.1.1 Processos Fotofísicos

Quando uma molécula é excitada, o estado em que ela se encontra, é energeticamente instável com relação ao seu estado inicial (fundamental) [6]. Se a molécula não sofrer rearranjo ou se fragmentar (processo químico), ela de alguma forma perderá energia para retornar ao estado fundamental (processo físico). Há diferentes possibilidades físicas para a desexcitação dessa molécula. Alguns processos poderão ser mais favorecidos que outros, dependendo do tipo de molécula, da natureza dos estados excitados envolvidos no processo, e do solvente. Esses caminhos são classificados como: processos radiativos, não-radiativos e de supressão [6].

Os processos radiativos geralmente são classificados como fenômenos de luminescência através dos quais os estados excitados decaem ao estado fundamental, com a emissão de radiação eletromagnética. O fenômeno da luminescência pode ser formalmente dividido em fosforescência e fluorescência [5,6,7,8].

Fluorescência (F)

O processo de fluorescência parte do pressuposto de que no estado excitado, o elétron preserva a multiplicidade que tinha quando no estado fundamental. Isso permite que o seu retorno ao estado fundamental ocorra rapidamente, com a emissão de um

fóton. A velocidade de fluorescência é tipicamente da ordem de 10^8 s^{-1} , com tempo de vida entre 1 e 10^2 ns .

Fosforescência (P)

A fosforescência é a emissão de luz a partir do estado triplete excitado, onde o elétron no estado excitado tem o mesmo spin do elétron remanescente no estado fundamental. Isto leva a transições com velocidades mais lentas (10^3 a 10^0 s^{-1}), com tempos de vida que podem variar de milisegundos a segundos.

As transições não-radiativas envolvem a conversão de um estado eletrônico para outro, de menor energia, sem a emissão de fôtons. São dois os processos existentes para as transições não-radiativas e são classificados, de acordo com a multiplicidade do spin dos estados participantes,

Conversão interna (IC)

Esse processo consiste na desativação da espécie excitada para estados de mesma multiplicidade de spin.

Cruzamento entre sistemas(ISC)

Processo de desativação vibracional que envolve a mudança de multiplicidade de spin entre os estados envolvidos.

Todos os processos citados acima podem ser ilustrados pelo diagrama de Jablonski. Esse diagrama é o ponto de partida para a discussão dos processos envolvidos na absorção e emissão de luz.

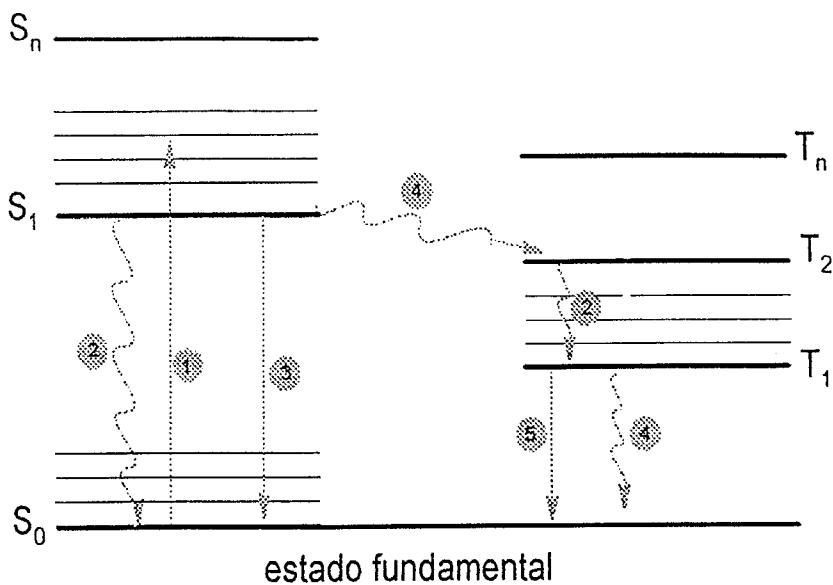


Figura 1 – Diagrama de Jablonski: Os processos fotofísicos são representados por (1) Absorção de luz, (2) Conversão Interna (IC), (3) Fluorescência (F), (4) Cruzamento entre Sistemas (ISC) e (5) Fosforescência (P).

No diagrama de Jablonski, os estados eletrônicos singlete fundamental, primeiro e segundo são descritos por S₀, S₁, S₂, respectivamente. Entre os estados eletrônicos, estão representados os subníveis que representam os estados vibracionais, os quais são desativados por processos de relaxação vibracional). Para os estados triplete, a descrição é: T_n, n = 0, 1, 2, Deve-se, no entanto, ressaltar que um estado T₀ ocorre, na natureza, apenas para um número muito limitado de casos [5].

As transições eletrônicas entre os estados são indicadas por linhas verticais, ilustrando a natureza quase instantânea da absorção e emissão de luz. A absorção de radiação eletromagnética (1), ocorre em aproximadamente 10⁻¹⁸ s, um tempo muito curto se comparado ao movimento nuclear [8]. Assim, a transição vibrônica mais provável será aquela em que não estão envolvidas mudanças nas coordenadas nucleares. Essa transição é chamada de máximo de Franck-Condon (FC), e representa uma transição vertical no diagrama de energia potencial [6,9]. O máximo de FC corresponde à sobreposição máxima entre a função de onda vibracional do estado fundamental e a função de onda do estado excitado.

Após a excitação eletrônica da molécula para um estado singlete superior ($n > 1$), a tendência é a sua desexcitação por IC (2) até o primeiro estado singlete excitado. Ainda é possível, a partir daí, preencher o estado triplete (T_n) (4), desde que $E(T_n) \leq E(S_1)$ e algumas restrições de simetria orbital sejam obedecidas [5]. Havendo a possibilidade de população do estado triplete, esse processo ocorre por ISC.

A partir do estado triplete, se $n > 1$, a espécie excitada tende a perder vibracionalmente parte do excesso de energia por IC (2), até atingir o estado T_1 . A partir desse estado, a molécula excitada pode desativar-se para o estado fundamental por dois caminhos: ISC (4) e P(5).

Dependendo do tempo de vida dos estados S_1 e T_1 , outros processos tais como, transferência de energia, transferência de elétron, etc., podem levar à desativação da molécula ao estado fundamental, ou a transformações químicas, resultando em novas moléculas. Esses são os chamados processos de supressão [6].

1.2 Efeito do solvente e o deslocamento de Stokes [10]

O efeito da interação entre o solvente e uma molécula, sobre o seu espectro eletrônico, é extremamente importante para o seu comportamento fotofísico. Esse efeito é responsável, por exemplo, pelo deslocamento de Stokes ($\Delta \bar{v}$), que é o resultado da acomodação da molécula excitada em virtude da sua solvatação. G. G. Stokes, em 1852, observou que o espectro de fluorescência de uma espécie ocorria, usualmente, deslocado com relação ao espectro de absorção. Assim, a espécie fluorescente apresentava um excedente de energia menor que o fornecido pelo fóton no momento da excitação. Com base nas suas observações, Stokes estabeleceu um parâmetro que permite relacionar a solvatação dos estados fundamental e excitado através da diferença dos números de onda dos máximos de absorção e emissão, ou seja, $\Delta \bar{v} = \bar{v}_a - \bar{v}_f$, o qual foi posteriormente denominado deslocamento de Stokes. Uma causa comum para o deslocamento de Stokes está na rápida relaxação da estrutura para níveis vibracionais abaixo do S_1 . A esse efeito são somados ainda os efeitos de acomodação do solvente frente à espécie excitada, interações específicas entre o solvente e o estado excitado da molécula, possíveis reações

químicas a partir do estado excitado, formação de complexos, além da transferência de energia.

1.2.1 Deslocamentos Solvatocrônicos [11]

Solvatocromismo é um processo que ocorre em virtude da mudança na posição (e algumas vezes na intensidade) de uma banda de absorção UV-Visível, em função de mudanças na polaridade do meio. Da idéia de solvatocromismo surge o termo deslocamento solvatocrônico (DS). Um deslocamento hipsocrômico (para a região do azul), observado com o aumento da polaridade do solvente, é usualmente chamado de solvatocromismo negativo. O deslocamento batocrômico (para a região do vermelho) é chamado de solvatocromismo positivo [12].

Uma transição radiativa (absorção) consiste na passagem da molécula de um estado inicial relaxado i para um estado final de Franck-Condon (FC), f . Quando a molécula é circundada por um solvente ou por uma matriz sólida, cada estado é estabilizado pela liberação da energia de solvatação (E_s). A diferença entre as energias de solvatação dos estados final e inicial, em vários solventes, é o DS. A energia total de solvatação, dada pela soma do DS entre dois solventes, para uma transição de um estado i para um estado f é a soma das contribuições individuais,

$$\Delta(\Delta E_{i \rightarrow f})_{1-2} = \sum_a^e \left\{ (\Delta E_{i \rightarrow f})_{a \dots e} \right\}_{1-2} \quad (\text{Eq. 03})$$

Cada termo é um produto de dois fatores os quais, representam separadamente a “polaridade do soluto” e a “polaridade do solvente”.

O DS é a evidência experimental da mudança da energia de solvatação de um dado soluto em solventes de diferentes polaridades. As observações experimentais da dependência da energia dos estados excitados com o solvente nem sempre podem ser associadas com facilidade com as teorias que procuram retratar o DS. Em geral essas teorias procuram retratar o DS em termos das mudanças sofridas na distribuição eletrônica das moléculas em seus estados excitados, ao interagirem com o soluto, em

termos dos seus momentos de dipolo totais μ_M e/ou pela polarizabilidade média α_M . Essas quantidades são muito importantes para a descrição da transferência intramolecular de carga nos estados excitados [13-16] e intermolecular de carga em exciplexos [17].

1.2.2 Solvatação de moléculas [10,11]

O interesse com relação à solvatação de moléculas orgânicas neutras é muito grande, o que tem resultado em um considerável número de estudos. Por outro lado, pouco se conhece experimentalmente sobre o DS de íons ou radicais solvatados.

Uma molécula é dita polar se o seu momento de dipolo, $\overset{\rightarrow}{\mu}$, é diferente de zero.

O termo “polaridade” é usado para descrever todos os tipos de interações soluto-solvente, as quais não necessariamente envolvem interações entre dipolos permanentes. Por outro lado, as interações solvente-soluto sempre são de origem elétrica. Assim, um campo elétrico é gerado envolvendo solvente e soluto. Esse campo depende diretamente do dipolo líquido ou multipolo da molécula, o qual é profundamente influenciado pela conformação assumida pela molécula no solvente.

Infelizmente, o volume ocupado pelas moléculas nem sempre se aproxima de uma esfera, o que tende a tornar praticamente difíceis as estimativas relativas à sua polarizabilidade (α), parâmetro importante na definição de polaridade. A polarizabilidade é um tensor que transforma o vetor campo elétrico ($\overset{\rightarrow}{\epsilon}$) em outro vetor ($\overset{\rightarrow}{\mu_i}$) ao longo de diferentes direções.

As quatro possíveis interações dielétricas que ocorrem entre moléculas, podem ser descritas como:

Interação dipolo-dipolo

O momento de dipolo do soluto é responsável pela produção de um campo elétrico capaz de orientar o solvente. Essa interação soluto-solvente implica no relaxamento da molécula do soluto para um estado de menor energia.

Dipolo do soluto – Dipolo induzido

Essa é a interação entre o momento de dipolo total $\vec{\mu}_M$ da molécula do soluto e o momento de dipolo induzido em um solvente polarizável. A polarização do solvente envolve apenas o movimento dos elétrons e não a reorientação da estrutura nuclear.

Polarizabilidade do soluto – Dipolo do solvente

Na ausência de momento de dipolo permanente do soluto, não é possível que haja a orientação, ao seu redor, de um solvente cujo momento de dipolo é não-nulo. Assim, a energia de interação soluto-solvente é zero. Embora não seja possível a interação das moléculas através dos seus dipolos, o DS pode ser devido a uma mudança na polarizabilidade ocasionado pela ação das moléculas do solvente.

Polarizabilidade – Polarizabilidade

A interação de duas partículas não-polares mas polarizáveis é conhecida como “interação de dispersão”. Isso resulta de flutuações de seus dipolos instantâneos. Embora o momento dipolar médio de uma molécula não-polar seja zero, o momento dipolar instantâneo é finito e diferente de zero, o que produz um dipolo induzido instantâneo em uma molécula polarizável [18].

1.2.3 Polarização de Orientação [11]

A polarização de orientação do solvente ocorre quando o campo de reação sentido pela molécula do soluto resulta da orientação dos dipolos “rígidos” de um solvente não-polarizável.

1.2.4 Interações Específicas [11]

A mais importante interação específica soluto-solvente é a formação de ligações de hidrogênio entre sítios específicos das moléculas envolvidas. Uma interação específica implica em uma estereoquímica definida (usualmente 1:1) de moléculas interagindo em uma geometria fixa (comprimento e ângulo de ligação), enquanto que interações não-específicas consistem em um número não-específico de moléculas interagindo de forma indistinta.

O efeito da interação envolvendo solventes próticos, tais como, álcoois, água e ácidos carboxílicos e substratos polares, pode, por exemplo, levar ao deslocamento batocrômico da banda de absorção dos substratos, desde que o momento de dipolo do estado excitado dessa molécula seja maior que o verificado para o fundamental, $\mu(S_1) > \mu(S_0)$. Se as interações específicas são mais intensas no estado excitado que no fundamental, um DS positivo será observado.

1.2.5 Efeitos Anômalos dos Solventes [11]

Mesmo para sistemas livres de interações específicas, a explicação dos DS baseada apenas nas interações dipolo-dipolo é em geral satisfatória apenas para uma pequena variedade de solventes. Alguns solventes mostram desvios que não podem ser explicados nem considerando-se a formação de ligação de hidrogênio, e geralmente nenhuma explicação aceitável tem sido encontrada para essas anomalias. O caso mais conhecido é o que acontece com o solvente 1,4-dioxano, que mostra ser não-polar de acordo com sua constante dielétrica estática ($D \approx 2$), mas mostra-se quase que invariavelmente ‘pseudo-polar’, induzindo efeito solvatocrômico similar ao dos éteres cíclicos, como o Tetrahidrofurano (THF). A formação de ligação de hidrogênio a partir do dioxano tem sido definitivamente excluída como um mecanismo para esse comportamento pseudo-polar. Assim, duas possibilidades podem ser consideradas: (a) a conformação de polarização alternando da forma cadeira, não-polar, para uma forma bote, dipolar e vice-versa; (b) a interação dipolo do soluto – quadrupolo do solvente [19]. Embora a presença em solução da forma bote do dioxano tenha sido sugerida em vários

contextos, em virtude do seu caráter pseudo-polar, nenhuma evidência que suporte essa proposição tem sido encontrada. A forma cadeira do dioxano não tem momento dipolar, mas tem um alto momento de quadrupolo, o qual resulta em dois dipolos opostos. A importância da interação dipolo do soluto – quadrupolo do solvente pode ser considerada neste caso, mas não há, até o presente, modelo algum que ligue o deslocamento espectral induzido pelo solvente às suas propriedades macroscópicas.

Outra anomalia é a verificada para a acetonitrila, que se comporta como um solvente menos polar, mesmo tendo uma alta constante dielétrica ($D = 36$). Já é bem estabelecido que a acetonitrila é um solvente auto-associativo, ou seja, embora as moléculas sejam muito pequenas, apresenta um largo momento de dipolo. O par de dipolos para formar dímeros não-polares contribuem para reduzir a polaridade microscópica do solvente. O diclorometano também mostra, em alguns casos, uma baixa polaridade em DS, talvez por uma razão similar [11].

1.2.6 $E_T(30)$ - Uma Escala Empírica da Polaridade do Solvente [11]

O conceito de “polaridade” dos solventes é de grande importância química. Ela está envolvida na cinética das reações térmicas de fase líquida, na estabilização de íons formados em processos de transferência de elétrons, etc.

Em geral, as melhores correlações a serem utilizadas na descrição dos efeitos da polaridade do solvente sobre um certo cromóforo são obtidas a partir do uso de parâmetros empíricos [18]. Esses parâmetros, em geral, partem de dados obtidos de compostos altamente solvato-crônicos, geralmente corantes. Dentre as escalas sugeridas, destaca-se a escala $E_T(30)$, proposta por Dimroth e Reichardt, baseada no solvato-cromismo negativo do corante 2,6-difenil-4-(2,4,6)-trifenilpiridiniofenolato (betaína) [18].

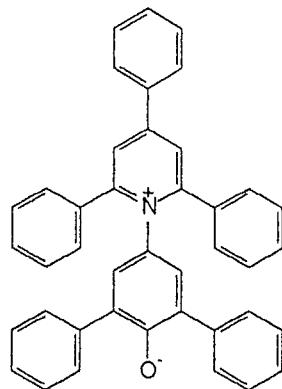


Figura 2 – Estrutura do composto betaina, utilizado como padrão de polaridade.

A escala $E_T(30)$ é baseada na observação da dependência da posição espectral da primeira banda de absorção do corante betaina com o solvente [11]. Devido ao elevado momento dipolar da betaina, o uso da escala $E_T(30)$ é mais adequado para o estudo de interações dipolo-dipolo e dipolo induzido [20].

Os valores de $E_T(30)$ são definidos em analogia com os valores da escala Z de Kosower [20], com as energias de transição eletrônica, E_T , do corante de Reichardt, expressas em kilocalorias por mol (kcal/mol) à temperatura ambiente (298 K) e pressão normal (1 atm) [18]. Os valores de $E_T(30)$ podem ser estimados a partir da equação,

$$E_T(30) = \frac{28591}{\lambda_{\text{Máx}}(\text{nm})} \quad (\text{Eq. 04})$$

onde $\lambda_{\text{Máx}}$ é o valor do comprimento de onda do máximo de absorção da banda de transferência de carga do corante.

É importante ressaltar que, para qualquer sonda utilizada, são levados em conta parâmetros empíricos que caracterizam o comportamento da mesma no meio. Assim, de acordo com o interesse do estudo a ser realizado, diferentes parâmetros podem ser considerados, visto que os efeitos do solvente, principalmente sobre o espectro de emissão, são resultado de várias interações que dependem não apenas da constante dielétrica e do índice de refração, mas também das interações específicas entre o solvente e o fluoróforo [21].

Um valor elevado de $E_T(30)$ corresponde a uma alta polaridade do solvente. O uso dos valores de $E_T(30)$, em correlação com outros parâmetros dependentes do solvente, tem a vantagem de dar resultados imediatos da magnitude do efeito dos solventes [22].

A molécula betaina mede interações soluto/solvente em nível molecular, considerando solventes como um “descontinuum” de moléculas individuais do solvente com suas próprias interações solvente/solvente, em forte contraste com parâmetros físicos tais como constante dielétrica ou índice de refração os quais são parâmetros macroscópicos do solvente [22]. Com a escala $E_T(30)$, é possível observar uma separação dos tipos de solventes de acordo com o tipo de interação que ocorre no sistema.

Valores de $E_T(30)$ têm sido determinados não apenas para solventes puros mas também para numerosas misturas binárias de solventes, para algumas soluções eletrolíticas aquosas ou não, e para meios microheterogêneos tais como soluções aquosas e não aquosas, de surfactantes, micelas e vesículas [22].

É importante mencionar que muito tem sido feito no sentido de definir diferentes escalas empíricas que possibilitem relacionar de forma segura as propriedades fisico-químicas apresentadas pelos sistemas estudados com a natureza do solvente [10,20,22-24].

1.2.7 Efeito do Acoplamento Spin - Órbita [5,25]

Transições de dipolo elétrico entre estados eletrônicos de multiplicidades diferentes são, a grosso modo, proibidas. Essa regra de seleção de multiplicidade de spin tem uma grande influência nos processos fotofísicos em moléculas.

Seja uma transição eletrônica, caracterizada pela absorção de um fóton pelo elétron no estado m ,

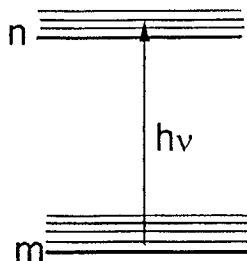


Figura 3 – Representação de uma transição eletrônica envolvendo estados de diferentes multiplicidades, onde m corresponde ao m -ésimo estado eletrônico-vibracional, e n ao n -ésimo estado eletrônico-vibracional.

Considerando o Princípio de Franck-Condon, o momento de transição, $M_{m,n}$, pode ser expresso em função da configuração espacial de equilíbrio do estado fundamental, Q_{eq}^m . Assim, Ψ_m e Ψ_n , são respectivamente as funções de onda que representam os estados eletrônicos envolvidos na transição. Essas funções trazem embutidas todas as características dos estados envolvidos. Assim, generalizando,

$$\Psi_i = \phi N \rho \quad (\text{Eq. 05})$$

onde o índice i corresponde a um estado i hipotético, ϕ é a função eletrônica, N é a função nuclear, dependente da configuração espacial, e ρ é a função de spin.

Se as funções de spin são diferentes entre si (multiplicidades diferentes), a integral de sobreposição,

$$\langle \rho_m | \rho_n \rangle = 0 \quad (\text{Eq. 06})$$

já que, neste caso, elas são ortogonais entre si. Desse modo, uma transição eletrônica envolvendo estados eletrônicos de diferentes multiplicidades não ocorreria, pois em função desse último resultado,

$$\langle \Psi_m | \Psi_n \rangle = 0 \quad (\text{Eq. 07})$$

No entanto, se interações spin-orbital são viabilizadas, a inversão do spin do elétron tende a ocorrer muito lentamente, o que permite que a transição eletrônica entre estados com spins diferentes possa ocorrer. Em outras palavras, isso significa dizer que a integral de sobreposição

$$\langle \rho_m | \rho_n \rangle \neq 0 \quad (\text{Eq. 08})$$

ou seja, neste caso, existirá uma pequena probabilidade para a transição $m \rightarrow n$.

As interações spin-orbital podem ser viabilizadas pela perturbação causada por átomos pesados sobre o momento angular dos elétrons. Esse efeito pode ser externo, se os átomos pesados não estão presentes na estrutura da molécula que está sendo eletronicamente excitada, ou interno, quando átomos pesados fazem parte da molécula. Em termos físicos, a presença desses átomos induz alterações nos campos elétrico e magnético das moléculas, sobretudo no campo magnético, induzindo alterações no comportamento dos elétrons, fazendo oscilar a sua multiplicidade. Esse efeito é benéfico para transições envolvendo diferentes multiplicidades.

Como há uma relação inversa entre probabilidade de transição e tempo de vida do estado, é de se esperar que a viabilização de uma transição envolvendo diferentes multiplicidades de spin reduza o tempo de vida do estado excitado formado.

O acoplamento spin-órbita é relativamente insignificante em átomos leves mas torna-se significativo quando o número atômico aumenta e, eventualmente, domina o espectro dos átomos pesados. Portanto, solventes que possuem em sua estrutura átomos pesados, como por exemplo bromo, iodo e cloro, acabam por favorecer transições não-radiativas da espécie no estado excitado singlete para um estado excitado triplete. Em outras palavras, a presença de átomos pesados aumenta a velocidade de ISC favorecendo, assim, a população de estados tripletes. Por outro lado, a possibilidade de ocorrência de misturas de estados excitados de mesma multiplicidade, a diferença de energia entre singlete e triplete excitados, e o tipo de transições envolvidas entre esses estados (n,π^* ou π,π^*), são também parâmetros que podem viabilizar ou não o ISC [5,24].

1.3 Processos fotofísicos

1.3.1 Rendimento Quântico de Fluorescência

O rendimento quântico de fluorescência (Φ_f) pode ser definido como [5,25],

$$\Phi_f = \frac{n^o \text{ de moléculas fluorescentes por unidade de tempo por unidade de volume}}{n^o \text{ de quanta absorvidos por unidade de tempo por unidade de volume}} \quad (\text{Eq. 09})$$

Essa quantidade nos informa a relação entre a quantidade de moléculas que efetivamente fluorescem (n_F) e de moléculas que foram eletronicamente excitadas (N_{exc}),

$$\Phi_f = \frac{n_F}{N_{exc}} \quad (\text{Eq. 10})$$

O número de moléculas excitadas é, em princípio, equivalente ao número de fótons absorvidos.

Nas medidas experimentais de Φ_f é necessário que haja uma correção prévia do espectro de emissão do material ou o uso de um padrão que apresente propriedades semelhantes às da espécie desconhecida (o espectro de emissão da amostra deve estar na mesma faixa do de emissão do padrão) [26]. Para o estudo do Φ_f , é importante considerar alguns interferentes que podem estar presentes no meio sob estudo [26]. Dentre eles, temos:

- Efeito de filtro interior (reabsorção);
- Efeitos de comprimentos de onda (grandes diferenças entre o comprimento de onda de absorção e o comprimento de onda de excitação);
- Índices de refração;
- Efeitos de polarização;
- Efeitos da temperatura;

- Efeitos de impurezas;
- Estabilidade fotoquímica;
- Espalhamento Raman.

Existem duas classes de métodos que são utilizados para medidas experimentais de Φ_f . São elas: (a) Métodos Primários – incluem o uso de superfícies espalhadoras ou soluções para calibrar absolutamente o sistema detector/excitação; (b) Método do Padrão Secundário – consiste no uso de espécies cujo Φ_f é conhecido e é o método mais utilizado devido à sua simplicidade [26].

A relação matemática que permite obter o valor experimental do Φ_f , empregando o método do padrão secundário, é dada por,

$$\Phi_f = \left(\frac{A_p F n^2}{A F_p n_p^2} \right) \Phi_p \quad (\text{Eq. 11})$$

onde o subscrito p refere-se ao padrão, A e A_p são respectivamente as absorções da amostra e do padrão nos respectivos comprimentos de onda de excitação, F é a área sob o espectro de emissão da amostra (F_p do padrão) e n índice de refração do solvente onde se encontra a amostra (n_p do solvente onde se encontra o padrão) [27].

As absorvâncias das espécies são mantidas em torno de 0,100 no comprimento de onda de excitação, para evitar o problema de efeito filtro (reabsorção).

O padrão é geralmente escolhido de acordo com a região onde a espécie estudada emite [28].

1.3.2 Processos de supressão de Fluorescência

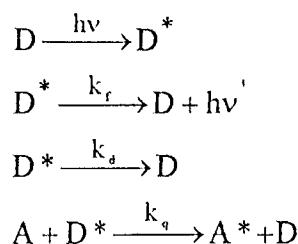
Supressão de fluorescência consiste na desativação da emissão de fluorescência de uma molécula excitada em virtude de interações específicas com uma outra molécula, não excitada [29]. Uma variedade de interações moleculares pode resultar em supressão de

fluorescência. Essas incluem reações no estado excitado, formação de complexo no estado fundamental, rearranjo molecular, transferência de energia (TE), transferência de elétron (Te-) e acoplamento spin-orbital [10].

Uma substância capaz de acelerar a desexcitação de uma molécula de um estado eletronicamente excitado ao estado fundamental ou a um estado eletronicamente excitado de menor energia, é conhecida como *supressor*. Se o estado excitado original é fluorescente, a supressão será observada através da diminuição da intensidade (rendimento quântico de fluorescência) de emissão de luz [30].

1.3.2.1 Cinética de supressão de um Estado Excitado [30]

Seja uma espécie D a qual, após ser excitada eletronicamente, retorna ao estado fundamental através de emissão de fluorescência, conversão interna, ou ainda pode ter suprimido o seu excedente de energia pela ação de um supressor. A sequência de equações químicas a seguir representa os processos que podem ocorrer a partir de uma espécie D: após excitada, esta pode decair radiativamente, não-radiativamente, ou ser suprimida, com constantes de velocidade k_f (constante de fluorescência), k_d (constante de desativação não-radiativa) e k_q (constante de supressão) respectivamente,



Considerando que D^* está sendo continuamente formado, enquanto radiação incide sobre o meio reacional, podemos aplicar o princípio do estado estacionário para obter a lei de velocidade do processo. Assim,

$$\frac{d[\text{D}^*]}{dt} = 0 \quad (\text{Eq. 12})$$

Com base nisso, podemos escrever,

$$\frac{d[D^*]}{dt} = I - k_f[D^*] - k_d[D^*] - k_q[A][D^*] = 0 \quad (\text{Eq. 13})$$

$$I = [D^*](k_f + k_d + k_q[A]) \quad (\text{Eq. 14})$$

Onde I é a intensidade da radiação incidente.

Assim, o Φ_f da espécie D pode ser definido como,

$$\Phi_f = \frac{n_F}{N_{\text{exc}}} \frac{k_f[D^*]}{I} = \frac{k_f}{k_f + k_d + k_q[A]} \quad (\text{Eq. 15})$$

Na ausência do supressor, o Φ_f é dado por,

$$\Phi_f^0 = \frac{k_f}{k_f + k_d} \quad (\text{Eq. 16})$$

A relação entre o rendimento quântico de fluorescência na ausência (Φ_f^0) e na presença de supressor (Φ_f) é,

$$\frac{\Phi_f^0}{\Phi_f} = \frac{k_f + k_d + k_q[A]}{k_f + k_d} = 1 + \frac{k_q[A]}{k_f + k_d} \quad (\text{Eq. 17})$$

dai,

$$\frac{\Phi_f^0}{\Phi_f} = 1 + k_q \tau[A] \quad (\text{Eq. 18})$$

onde τ representa o tempo de vida do estado singlete da espécie, no meio em estudo.

A Eq. 18 corresponde à equação de Stern-Volmer, que mostra que sob condições ideais, o gráfico de Φ_f^0 / Φ_f em função da concentração do supressor é uma correlação

linear que fornece o produto $k_q\tau$ como inclinação da reta. Portanto, se τ é conhecido, a constante de supressão é, por decorrência, conhecida.

Em alguns casos, a supressão de fluorescência é tão rápida que não há tempo para que ocorra difusão entre as espécies.

A supressão de fluorescência pode ser estática ou dinâmica [5,10].

1.3.2.2 Teoria da supressão Estática e Dinâmica [10]

Ambas supressões, estática e dinâmica, requerem contato molecular entre o fluoróforo e o supressor. A supressão colisional é um exemplo de supressão dinâmica. Neste caso, o supressor pode difundir-se em direção ao fluoróforo durante o tempo de vida do estado excitado. Sob contato, o fluoróforo retorna ao estado fundamental, sem a emissão de um fóton. No caso da supressão estática, um complexo não-fluorescente é formado entre o fluoróforo no estado fundamental e o supressor.

Uma forma de distinguir supressão estática de dinâmica é pelo exame cuidadoso do espectro de absorção do fluoróforo. A supressão colisional afeta apenas os estados excitados dos fluoróforos. No entanto, nenhuma mudança no espectro de absorção é esperada. Em contraste, a formação do complexo no estado fundamental frequentemente resulta na perturbação do espectro de absorção do fluoróforo.

1.3.2.3 Supressores de Fluorescência [10]

Uma grande variedade de substâncias pode agir como supressores de fluorescência. Um dos mais conhecidos supressores colisionais é o oxigênio molecular, o qual suprime quase todos os fluoróforos conhecidos. Por isso, dependendo da amostra sob investigação, é frequentemente necessário remover o oxigênio dissolvido para obter

medidas reprodutíveis de tempos de vida e de Φ_f . Aminas aromáticas e alifáticas são, também, eficientes supressores para hidrocarbonetos aromáticos não-substituídos.

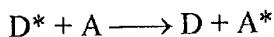
A supressão de fluorescência pode ocorrer também devido à presença de espécies que possuem átomos pesados, tais como bromo e iodo. Compostos halogenados, tais como tricloroetanol e bromobenzeno, também agem como supressores colisionais. Esse tipo de supressão ocorre devido ao efeito do acoplamento spin-orbital viabilizado pela perturbação causada pelos núcleos desses átomos pesados sobre o momento angular dos elétrons.

1.3.2.4 Processos e Mecanismos de Supressão

A supressão de fluorescência pode ocorrer por mecanismos fotoquímicos e fotofísicos [5,31]. Os processos de supressão podem ser divididos em:

1.3.2.4.1 Transferência de Energia [5,10,25]

Nesse caso, uma molécula excitada do doador, D^* , transfere o excesso de energia para molécula aceptora (supressor) não-excitada A.



A velocidade de TE depende da extensão da sobreposição dos espectros de emissão do doador e absorção do aceitor, Φ_f do doador, orientação relativa dos dipolos de transição do doador e aceitor e da distância entre as moléculas doadoras e aceitoras.

Os mecanismos de TE podem ser classificados em radiativos e não-radiativos.

Mecanismo Radiativo

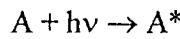
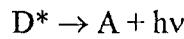
O único mecanismo classificado como radiativo é o trivial [5,25,31]. Esse processo requer que a molécula aceptora absorva os fótons emitidos pela molécula doadora. Nesse mecanismo, a TE depende:

- do rendimento quântico de emissão radiativa do doador;
- da concentração do aceptor;
- da absorvidade molar do aceptor;
- do recobrimento entre os espectros de absorção do aceptor e emissão do doador,

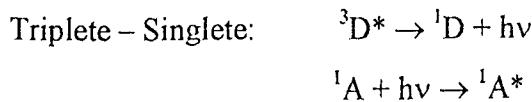
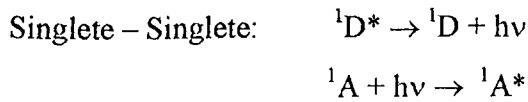
$$J = \int_0^{\infty} I_D \epsilon_A d\nu \quad (\text{Eq. 19})$$

onde J é a integral de sobreposição, I_D é a função que representa o espectro de emissão de D e ϵ_A é a função que representa o espectro de absorção de A.

No mecanismo trivial, a TE ocorre por etapas. Primeiramente, o doador emite. Em seguida, o aceptor absorve a radiação emitida,



Os dois processos dominantes desse mecanismo são:



Mecanismos não-radiativos [5,25]

Os demais processos de TE são todos não-radiativos. Estes, requerem que haja uma interação específica entre D^* e A.

A transferência ocorre através da perturbação mútua das estruturas eletrônicas de D^* e A. Uma eficiente TE não-radiativa requer que o nível excitado de A seja menor que o de D^* . Em certos casos, um complexo $[D^*...A]$ é formado intermediariamente. A partir daí, pode-se ter a evolução do processo culminando na TE, ou não.

Os mecanismos de TE não radiativos são o Coulombico e o de Troca Eletrônica.

Para que ocorra uma TE não-radiativa, é preciso que haja a perturbação mútua das estruturas eletrônicas de D^* e A. Essa perturbação pode ser distinguida como que proveniente de duas componentes: uma coulombica e uma de troca [5].

No caso da TE Coulombica, o fator Coulombico é preponderante tendo-se em vista as consideráveis distâncias nas quais ocorre a interação entre a espécie doadora, excitada, e a espécie aceptora (entre 50 e 100 Å). A Figura a seguir apresenta o mecanismo de TE a longa distância.

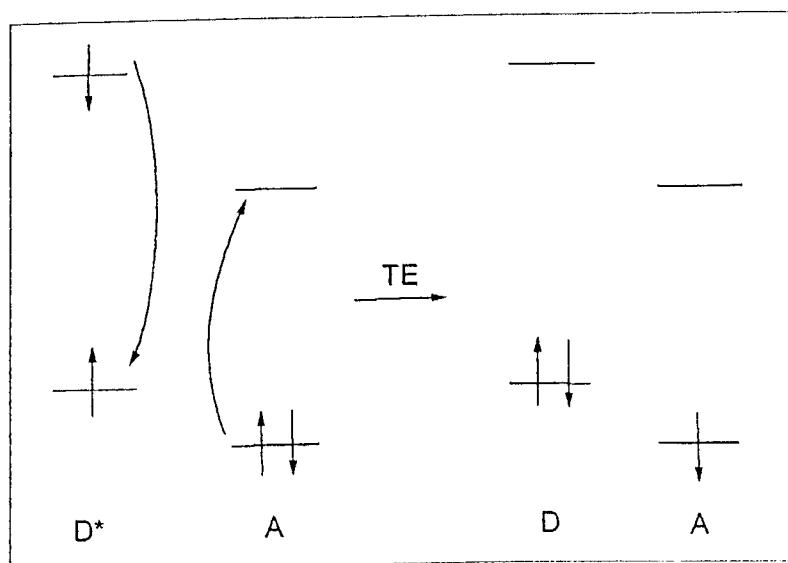


Figura 4 – Mecanismo de TE a longa distância (Mecanismo Coulombico).

Assim que D^* e A atingem uma certa distância de equilíbrio, o dipolo de D^* passa a interagir com o de A. Essa interação dipolo-dipolo tende a fazer com que um dos elétrons do HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) de A oscile mais violentamente, passando para o LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), enquanto que o elétron de D^* , que está no LUMO, perde energia, regressando para o HOMO.

Já no mecanismo de troca (Transferência de Energia a Curta Distância), a componente de troca é mais importante e provém da necessidade de recobrimento de orbitais do doador e do aceitor, o que deve ocorrer a distâncias intermoleculares suficientemente curtas. Diferentemente do processo Coulômbico, a TE de troca requer a transferência física de elétrons entre doador e aceitor. Assim, é possível que a TE ocorra em um estágio no qual um intermediário exciplexo de vida curta tenha se formado. Neste caso, a difusão das espécies envolvidas é fundamental. As TE energeticamente mais favoráveis, envolvendo o mecanismo de troca, ocorrerão quando a constante de velocidade do processo for menor que a constante difusional ($k_{TE} < k_{DIF}$). Segundo Dexter [32], o coeficiente de velocidade para o processo, depende do recobrimento do espectro de emissão do doador com o de absorção do aceitor, mais um parâmetro Z .

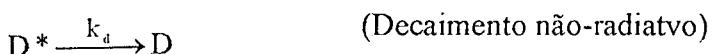
$$\frac{dP_n}{dt} = \frac{2\pi}{\hbar} Z^2 \int_0^{\infty} I_D(\nu) \epsilon_A(\nu) d\nu \quad (\text{Eq. 20})$$

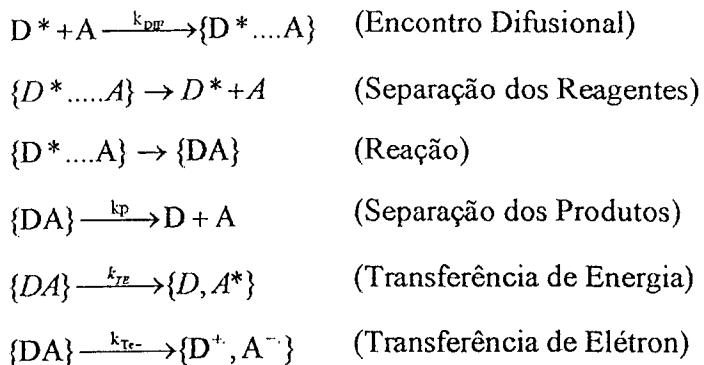
O parâmetro Z relaciona-se com o termo β_e da matriz eletrônica, relativa ao processo de TE, sendo proporcional a:

$$Z^2 \propto e^{-2r/l}$$

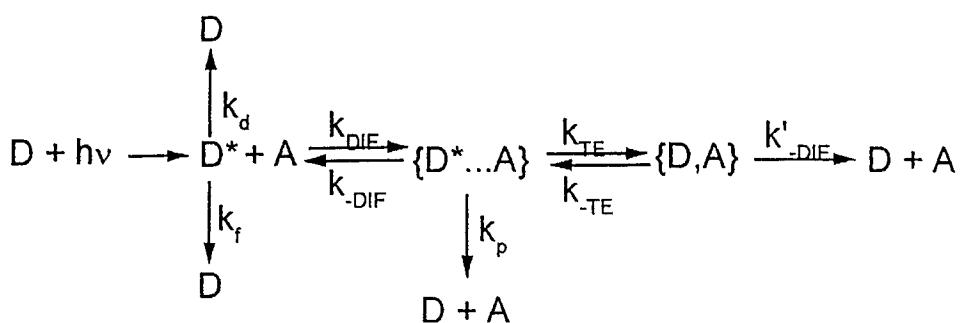
onde r é a distância entre doador e aceitor, e l é o raio de van de Waals do par doador-aceitor. A grandes distâncias, Z^2 perde importância, e o mecanismo passa a ser predominantemente Coulômbico.

A velocidade da TE pelo mecanismo de troca eletrônica tende a se tornar limitada ao encontro difusional entre as espécies envolvidas. Esse mecanismo é dependente da viscosidade e temperatura do meio [33], e ilustra a supressão da emissão de D^* ,





O esquema a seguir procura ilustrar o mecanismo acima,



onde $\{D^* \dots A\}$ corresponde ao complexo de encontro e $\{DA\}$ ao par de encontro da reação.

Considera-se que a reação ocorrerá a partir de uma distância mínima entre as moléculas. Quando a TE ocorre eficientemente, tem-se que,

$$k_{DIF} [A] \gg k_f$$

$$k_{DIF} [A] \gg k_d$$

$$k_{TE} \gg k_p$$

onde k_{DIF} é a constante de velocidade difusional, k_f é a constante de velocidade de emissão, k_d é a constante de velocidade do decaimento não-radiativo, k_p é a constante de velocidade da separação dos produtos e k_{TE} é a constante de velocidade de TE.

Se a TE e a ruptura do complexo colisional são processos predominantes a partir de $\{D^*...A\}$, então,

$$k_{TE}^{Obs} = \frac{k_{DIF} k_{TE}}{k_{TE} + k'_{-DIF}} = \alpha k_{DIF} \quad (\text{Eq.21})$$

onde α é a probabilidade de ocorrência da TE e k'_{-DIF} é a constante de velocidade difusional inversa.

Duas situações extremas podem ocorrer:

- (a) Quando $k'_{-DIF} \gg k_{TE}$, ou seja, a velocidade de dissociação de $\{D^*...A\}$ é muito rápida com relação à TE. Assim,

$$k_{TE}^{Obs} = \frac{k_{DIF} k_{TE}}{k'_{-DIF}} \quad (\text{Eq.22})$$

- (b) Quando $k_{TE} \gg k'_{-DIF}$. Nessa condição,

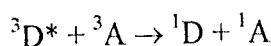
$$k_{TE}^{Obs} = k_{DIF} (M^{-1}s^{-1}) = 2 \times 10^5 T/\eta \quad (\text{Eq.23})$$

onde η é a viscosidade do meio (Poise).

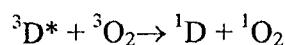
Se a TE é realmente controlada por difusão então, $k_{TE} \approx k_{DIF}$.

1.3.2.4.2 Geração de Oxigênio Singlete por Fotossensibilização [5]

A geração de oxigênio singlete (1O_2) se dá pelo mecanismo de troca. Nesse caso, é necessário que haja a interação de uma molécula excitada triplete (${}^3D^*$) com um supressor que possui um estado fundamental triplete (3A) para que ocorra uma TE de troca permitida por spin.



A fotossensibilização é um processo que pode resultar na formação de espécies ativas de oxigênio, desde que a interação entre o fotossensibilizador excitado e o oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$), seja viabilizada. Um dos mecanismos da fotossensibilização baseia-se na TE do estado excitado triplete do fotossensibilizador para a molécula de $^3\text{O}_2$ produzindo $^1\text{O}_2$.

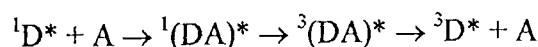


Existem alguns requisitos de extrema importância para que a fotossensibilização por TE ocorra [25,34]. São eles:

- (a) O coeficiente de absorvividade molar do fotossensibilizador deve ser elevado;
- (b) A radiação empregada deve ser capaz de excitar o fotossensibilizador;
- (c) O rendimento quântico de ISC do fotossensibilizador deve ser elevado;
- (d) O tempo de vida do estado triplete do fotossensibilizador deve ser longo;
- (e) A concentração de oxigênio molecular no meio deve ser aproximadamente constante.

1.3.2.4.3 Transferência de Energia por Efeito de Átomos Pesados [5,25]

A supressão por átomos pesados provavelmente ocorre via formação de um exciplexo singlete, em um processo como o descrito a seguir,



onde A é o supressor que contém átomos pesados.

Esse processo de supressão ocorre por acoplamento spin-orbital, e o resultado é um aumento da velocidade de ISC. Não é preciso que o processo seja intermolecular para que ocorra. Na tabela a seguir, são apresentados dados de estimulação do processo de ISC pela presença de um substituinte pesado na molécula.

Tabela 1 – Efeito do átomo pesado sobre as velocidades de ISC ($S_1 \rightarrow T_1$ e $T_1 \rightarrow S_0$), e outros parâmetros relativos ao estado triplete [35].

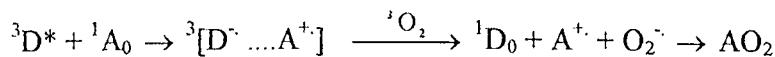
D	k_{ISC}, s^{-1}	τ_p^0, s	$k_{T_1-S_0}, s^{-1}$	$\tau_{T_1-S_0}, s$
Naftaleno	$1,6 \times 10^6$	2,1	0,39	2,56
1-Metilnaftaleno	$5,0 \times 10^5$	7	0,34	2,94
1-Fluoronaftaleno	$6,0 \times 10^5$	4	0,44	2,27
1-Cloronaftaleno	49×10^6	0,9	2,35	0,43
1-Bromonaftaleno	1850×10^6	0,007	36	0,03
1-Iodonaftaleno	$> 6000 \times 10^6$	0,005	310	0,003

1.3.2.4.4 Transferência de Elétron [36]

O mecanismo de supressão por transferência de elétron (Te-), ocorre através de uma reação redox no estado excitado (lembrando que os estados excitados são melhores oxidantes ou redutores que as espécies no estado fundamental, em função do seu conteúdo energético). Assim, é possível ocorrer a supressão por duas vias: oxidativa ou reduutiva, com respeito ao cromóforo doador (D). Conhecendo-se o valor de E^{0-0} (energia de excitação 0-0) e os potenciais de redução e oxidação do doador e receptor, é possível calcular a força motriz (ou “driving force”) do processo.

Durante o processo de Te-, observa-se uma mudança na carga dos reagentes e produtos, fato que implica em uma reorganização na esfera de solvatação das espécies envolvidas. À temperatura ambiente, existe uma certa tendência para que ocorra esta reorganização, o que favorece o processo de Te-. Em contrapartida, a 77 K ou em meio viscoso, a reorganização do solvente é dificultada, o que diminui a eficiência do processo de Te-.

A Te- é também um mecanismo de fotossensibilização que pode competir com a TE. O mecanismo de Te- consiste na transferência de elétron entre o fotossensibilizador no estado triplete excitado e componentes do sistema, gerando íons-radicais que tendem a reagir com o oxigênio no estado fundamental, resultando em produtos oxidados [33,37,38].



Em geral, processos de Te- tendem a ser muito rápidos porque a sobreposição dos orbitais envolvidos, durante a formação do complexo excitado, é máxima. A natureza exata do processo (se serão formados S^{+} e A^{-} ou S^{-} e A^{+}) dependerá das propriedades redóxi de $^3S^*$ e de 1A [39].

A Te- é fundamental na Química e Biologia [40-45] e, também, uma peça muito importante em muitas reações químicas, fotografia, biossíntese, fotossíntese, e outros processos. Devido a essa importância, muitos cientistas têm reservado grande atenção para investigar os diferentes aspectos do fenômeno da Te- [46].

1.3.3 Supressão de Fluorescência em Ambiente Micelar

A técnica de supressão de fluorescência é amplamente utilizada na obtenção de informações sobre o estado excitado de um fluoróforo [5,25]. Esse procedimento vem sendo amplamente aplicado na sondagem de meios micelares, de forma a poder caracterizar novas drogas sintéticas [47,48]. Ambientes micelares tendem a ser modelos razoáveis de ambientes celulares, fornecendo informações úteis sobre como as moléculas de fluoróforo e supressor se comportam frente a ambientes organizados [47,48].

Surfactantes ou tensoativos são moléculas anfifílicas compostas de um grupo polar (cabeça) ligado a uma cauda hidrofóbica, normalmente uma longa cadeia carbônica, e classificam-se em aniônica, catiônica ou neutra (não iônica), dependendo da natureza do grupo cabeça [49,50]. De acordo com o modelo proposto por Hartley, para uma micela normal, a “cabeça” volta-se para a fase aquosa e a região carbônica fica protegida, formando uma cavidade apolar. Quando a organização micelar se dá em um meio não-aquoso, micelas reversas ou invertidas são formadas, sendo que nessa situação a “cabeça” do tensoativo fica voltada para o interior hidrofilico do agregado [38,49,51,52].

As micelas se formam quando as moléculas de surfactantes associam-se em solução, aquosa ou não, a partir de uma certa concentração micelar crítica (CMC), formando grandes agregados moleculares de dimensões coloidais [38].

Além das micelas, micro-emulsões, vesículas e filmes finos são também ambientes organizados conhecidos. As reações fotossensibilizadas podem ser significativamente afetadas quando ocorrem em ambientes organizados[47,53-55].

Pela análise do decaimento de fluorescência em uma sonda em ambiente micelar, na ausência de supressor, é possível averiguar o modo de distribuição da sonda [56]. Com a introdução de supressores, pode-se obter uma das três situações na presença das sondas: (1) os supressores se associam unicamente às micelas; (2) se há partição do supressor entre as fases e (3) se na partição entre as fases existe uma dinâmica de intercâmbio do supressor entre as micelas [56].

A capacidade de supressão de uma molécula de supressor é independente da presença de outra na mesma micela [56].

1.3.4 Oxigênio Singlete

O oxigênio no estado fundamental possui dois elétrons desemparelhados nos orbitais moleculares π_x^* e π_y^* . Esses orbitais são degenerados, e seus elétrons têm o mesmo spin, de forma a produzir multiplicidade máxima e portanto, o estado de mais baixa energia (regra de Hund) [28]. O estado fundamental do oxigênio é então um estado triplete. O estado triplete tem a notação espectroscópica ${}^3\Sigma$.

A designação “oxigênio singlete” é como são conhecidos os três estados eletronicamente excitados imediatamente superiores ao oxigênio molecular no estado fundamental [57]. Foi descoberto em 1924, mas o estudo sobre suas propriedades fisico-químicas e especialmente suas propriedades biológicas deu-se início em 1963, quando Khan e Kasha observaram a luminescência da reação entre peróxido de hidrogênio e o íon hipoclorito [28,58]. A partir daí, Christopher Foote, estendeu o trabalho sobre a produção desse composto a partir de reações fotossensibilizadas [59].

A tabela abaixo, mostra como a disposição dos elétrons desemparelhados fornece a diferença entre os estados eletronicamente excitados do oxigênio [11].

Tabela 2 – Ocupação dos orbitais moleculares antiligantes para os estados eletrônicos do O_2 [60].

Estado	Orbital molecular	Energia ^a , kJ.mol ⁻¹
$^3\Sigma_g$	$[\uparrow] \pi_x [\uparrow] \pi_y$	0
$^1\Delta_g$	$[\uparrow\downarrow] \pi_x^* [\] \pi_y^*$ ou $[\] \pi_x^* [\uparrow\downarrow] \pi_y^*$	92,4
$^1\Sigma_g$	$[\uparrow] \pi_x^* [\downarrow] \pi_y^*$	159,6

^a Relativa ao estado fundamental.

A diferença entre as espécies excitadas do oxigênio se deve à simetria dos orbitais moleculares envolvidos. A diferença de simetria entre estados excitados e fundamental afeta o tempo de vida dessas moléculas. A forma $^1\Sigma_g$, por possuir a mesma simetria da molécula no estado fundamental, possui tempo de vida muito menor que o apresentado pelas formas $^1\Delta_g$. Como ilustração, os tempos de vida em fase gasosa das formas $^1\Delta_g$ e $^1\Sigma_g$, são, respectivamente, 64 min e 10 s [34]. Tendo em vista isso, o estado $^1\Delta_g$ é o que apresenta maior importância em reações químicas e é para esse estado que se aplica o termo “oxigênio singlete” e a designação “ 1O_2 ” [5].

O tempo de vida do $^1O_2(\tau_\Delta)$ em solução é profundamente influenciado pela natureza do solvente. Assim, o emprego de solvente para o qual o τ_Δ é suficientemente elevado é uma alternativa que tende a favorecer um maior rendimento das reações induzidas pelo 1O_2 . Uma outra alternativa, é o emprego de solvente capaz de aumentar o tempo de vida do complexo excitado, envolvendo o 1O_2 e o substrato, a ponto de favorecer seu rearranjo interno, o que resultaria em uma maior probabilidade de formação de um intermediário reativo [58,60].

O 1O_2 tende a apresentar alta reatividade frente a substratos que possuem sítios com alta densidade eletrônica [60a]. Em geral, em solventes que não possuem ligações C-H e grupo hidroxila na sua estrutura, o tempo de vida do 1O_2 tende a valores mais elevados. A razão para certos grupos funcionais ou átomos suprimirem mais ou menos eficientemente o 1O_2 , encontra-se na possibilidade de TE do 1O_2 para certos estados vibracionais associados às espécies supressoras [58]. Em sistemas biológicos, o 1O_2 apresenta tempos de vida muito baixos, inferiores a 0,4 μ s [37,61].

Reações envolvendo o ${}^1\text{O}_2$ são de grande interesse devido à sua importância em alguns sistemas de oxidação química e biológica, incluindo reações usadas em fotoquimioterapia [60].

1.3.4.1 Geração de oxigênio singlete

Existem várias formas de gerar ${}^1\text{O}_2$, como por exemplo a oxidação e desproporcionamento do ânion superóxido, a oxidação e desproporcionamento do peróxido de hidrogênio, que pode ser feita pelo íon hipoclorito ou pelo íon molibdato [62-66], o processo de fotossensibilização que consiste nos mecanismos de TE e Te- [58,67-69]. Além destes, existem muitos outros como é o caso da descarga de microondas sobre o oxigênio molecular [60], radiólise de pulso, decomposição térmica de ozonidas orgânicas.

A geração de ${}^1\text{O}_2$ em meios biológicos pode ser feita por enzimas como as peroxidases e oxigenases, reação de peróxido de hidrogênio com hipoclorito ou peroxinitrito, ou termodecomposição de dioxetanos [70-72].

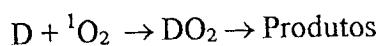
1.3.4.2 Métodos de detecção do oxigênio singlete

Tem-se proposto inúmeros métodos para a detecção de ${}^1\text{O}_2$, mas estes podem ser reunidos em duas classes: diretos e indiretos. Os métodos diretos envolvem as medidas resolvidas no tempo, enquanto que, os indiretos se baseiam em medidas de consumo de um substrato oxidável, realizadas em estado estacionário [48,63].

A detecção da fosforescência do ${}^1\text{O}_2$ a 1270 nm consiste em um exemplo de metodologia resolvida no tempo [60,62,73,74]. Embora a fosforescência do ${}^1\text{O}_2$ seja muito baixa na maioria dos solventes, o emprego de detectores de alta sensibilidade, algumas vezes resfriados a 77 K, tem tornado possível a sua detecção. Um exemplo disso, é a utilização de fotodiodos de germânio, de alta resolução, acoplados a amplificadores operacionais, capazes de captar sinais da ordem de microsegundos ou menos. Isso permite que o τ_Δ em muitos solventes seja medido com precisão através do seu decaimento na região do infravermelho próximo [60,62,75,76]. A geração de ${}^1\text{O}_2$ também

pode ser indiretamente detectada pelo decaimento do estado triplete do β -caroteno [28,59].

Métodos utilizando medidas em estado estacionário podem ser usados com grande segurança para a determinação Φ_Δ . Essas medidas envolvem substratos oxidáveis que permitem, através do monitoramento do seu consumo na solução, avaliar a produção de $^1\text{O}_2$. Um dos substratos oxidáveis mais utilizado é o 1,3-Difenilisobenzofurano (DPBF) [60,75,76]. Quando o DPBF está presente numa solução contendo $^1\text{O}_2$, observa-se a sua degradação, com a formação de produtos oxidados:

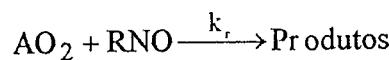
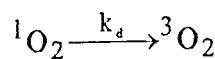
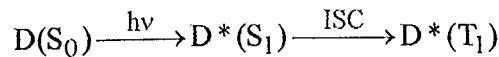


O DPBF é um composto fotossensível, que absorve radiação de comprimento de onda igual a 417 nm, e se oxida facilmente na presença de radiação nessa faixa. O desenrolar dessa reação pode ser monitorado pela medida do decréscimo da absorvância a 417 nm, resultado do consumo dessa espécie pelo $^1\text{O}_2$ gerado em solução, desde que a excitação do fotossensibilizador ocorra em região espectral que não induza a degradação direta do DPBF [60,75,76]. É recomendável que o acompanhamento dessas reações não se estenda até o consumo de todo o DPBF ou qualquer outro substrato oxidável, de modo que se possa evitar interferências nos resultados, causadas por reações secundárias.

O Rubreno e o ácido 9,10-Antracenodipropiônico (ADAP), foram adotados como substratos oxidáveis em solventes cujo τ_Δ é mais longo. Apesar de apresentarem bons resultados sobre a geração de $^1\text{O}_2$, esses substratos são pouco solúveis em água o que os impede de serem aplicados em solventes polares e/ou aquosos [60]. Uma saída encontrada para minimizar esse problema tem sido a utilização de ambientes microheterogêneos para solubilizar os reagentes.

Uma forma de monitoramento do $^1\text{O}_2$ que não envolve o consumo de um substrato específico, é o emprego de substratos que induzam processos de supressão física do $^1\text{O}_2$. Compostos como azoteto de sódio, o 1,4-diazabiciclo(2,2,2)octano (DABCO), e alguns aminoácidos como triptofano, histidina e metionina, têm sido utilizados neste caso [60,76-78].

Kraljić e colaboradores, desenvolveram um método que pode se empregado na determinação do Φ_{Δ} de um fotossensibilizador [78]. Esse método consiste em monitorar o consumo do p-nitrosodimetilanilina (RNO) pelo endoperóxido formado pela reação entre o imidazol (ou histidina) e o $^1\text{O}_2$ produzido pelo fotossensibilizador. O mecanismo proposto para esse método está descrito a seguir,



e mostra que o Φ_{Δ} pode ser estimado monitorando-se o consumo do RNO a 440 nm. No mecanismo, D representa o agente fotossensibilizador, A é o imidazol e $[\text{AO}_2]$ o endoperóxido formado. A partir desse mecanismo, pode-se obter uma lei de velocidade da seguinte forma:

$$-\frac{d[\text{RNO}]}{dt} = \frac{(I_a \Phi_{\Delta}) k_r [\text{RNO}]}{k_d} \quad (\text{Eq. 24})$$

onde k_d é a constante de desativação do $^1\text{O}_2$ pelo solvente e k_r é a constante de velocidade de consumo do RNO, pela reação com o endoperóxido. I_a é a intensidade de luz absorvida pelo fotossensibilizador. Pela integração dessa equação, temos;

$$\ln \frac{[\text{RNO}]_0}{[\text{RNO}]} = \frac{(I_a \Phi_{\Delta}) k_r}{k_d} t + C \quad (\text{Eq. 25})$$

Graficando a equação 25, temos, como inclinação da reta, o produto $\frac{(I_a \Phi_\Delta) k_r}{k_d}$.

Efetuando, portanto, em paralelo, uma reação sob condições similares, empregando um fotossensibilizador cujo Φ_Δ é conhecido, é possível, por comparação das inclinações, estimar esse parâmetro para outro fotossensibilizador. Como as reações monitoradas referem-se ao consumo do endoperóxido formado pelo RNO, as duas taxas estimadas graficamente deverão ser equivalentes. Portanto,

$$\frac{(I_a \Phi_\Delta)_p k_r}{k_d} = \frac{(I_a \Phi_\Delta) k_r}{k_d} \quad (\text{Eq. 26})$$

onde o índice p refere-se a parâmetros relativos ao fotossensibilizador tomado como padrão. Assim,

$$\frac{(I_a \Phi_\Delta)_p}{I_a} = \Phi_\Delta \quad (\text{Eq. 27})$$

Kraljić e colaboradores tem, também, proposto uma maneira de tratar os resultados para o composto-padrão e a amostra-problema quando as condições nas quais os experimentos são realizados são diferentes (condições de excitação da amostra e do padrão são diferentes) [78].

Uma outra metodologia proposta por Schmidt [79], considera a reação direta entre o $^1\text{O}_2$ e um substrato oxidável. Nesse caso a lei de velocidade, após tratamento matemático, pode ser escrita como:

$$\Phi_\Delta = \frac{k_r}{I_a} \frac{(I_a \Phi_\Delta)_p}{(k_r)_p} \quad (\text{Eq. 28})$$

onde k_r e $(k_r)_p$ são, respectivamente, a taxa de consumo do substrato oxidável pela amostra-problema e pelo fotossensibilizador-padrão. Os outros parâmetros foram

definidos anteriormente. Essa metodologia é aplicável desde que as condições dos experimentos com a amostra-problema e com o padrão sejam equivalentes.

Uma alternativa que possibilita uma estimativa da razão de intensidades da luz absorvida pela amostra-problema e pelo fotossensibilizador-padrão tem sido proposta no tratamento de De Paula [80], e consiste na medida da transmitância de ambas as soluções no comprimento de onda de excitação. Como $T = I_T/I_0$, onde I_T é a intensidade de radiação transmitida, I_0 é a intensidade de radiação incidente na amostra. Assim, I_{abs} , a intensidade de radiação absorvida pela amostra, pode ser obtida da equação,

$$1 - T = \frac{I_{abs}}{I_0} \quad (\text{Eq. 29})$$

Assim, a equação 28 pode ser reescrita como,

$$\Phi_\Delta = \Phi_\Delta^p \frac{k_r}{(1-T)} \frac{(1-T)^p}{(k_r)^p} \quad (\text{Eq. 30})$$

e $\frac{(1-T)^p}{(1-T)} = \frac{(I_{abs})^p}{(I_{abs})}$, que é uma medida relativa da quantidade de fótons incidentes

durante a reação.

Quando as medidas da amostra problema e do fotossensibilizador-padrão forem feitas em diferentes meios, é necessário que se faça a correção para o solvente. Isso é feito acrescentando na equação 30 um termo da razão entre os índices de refração dos solventes ao quadrado. Assim,

$$\Phi_\Delta = \Phi_\Delta^p \frac{k_r}{(1-T)} \frac{(1-T)^p}{(k_r)^p} \left(\frac{n_a}{n_p} \right)^2 \quad (\text{Eq. 31})$$

onde n_a é o índice de refração da amostra e n_p do padrão.

Esta foi a metodologia empregada no presente trabalho. No caso, o substrato oxidável foi o DPBF e o fotossensibilizador-padrão foi o Azul de Metileno.

1.3.5 Atividade Fotodinâmica - Método de Fischer

O Ácido Úrico (AU) é conhecido por reagir com o $^1\text{O}_2$ e tem provado ser um bom oxidante para reações com ácido hipocloroso, oxigênio singlete e radicais hidroxila [81]. Fischer e colaboradores propuseram o emprego do AU, em meio aquoso fisiológico, como dosador químico para avaliar a AF de agentes fotossensibilizadores empregados em Terapia Fotodinâmica (TFD) [81]. Esse método consiste no monitoramento do decréscimo da absorvância do AU a 293 nm, após irradiação de uma solução contendo AU e fotossensibilizador, por um tempo previamente definido, com um laser de comprimento de onda adequado. O parâmetro fornecido pela medida é a AF do fotossensibilizador,

$$\text{AF}(\text{m}^2 / \text{Ws} \equiv \text{m}^2 / \text{J}) = \frac{\Delta\text{AU} \cdot 10^5}{E_0 t \cdot A_{ps}(\lambda_{irr})} \quad (\text{Eq. 32})$$

onde ΔAU é a variação da absorvância do AU a 293 nm, E_0 é fluência do laser (W/m^2), t é o tempo de irradiação (segundos) e $A_{ps}(\lambda_{irr})$ é a absorvância do fotossensibilizador no comprimento de onda de irradiação.

O AU não apresenta boa solubilidade em solventes orgânicos, nem mesmo em mistura deles, e nem mesmo em meio aquoso a pH fisiológico [81]. Em vista disso, no presente trabalho, o AU foi substituído por outro substrato oxidável, o DPBF.

As medidas de AF permitem avaliar a efetividade de um agente fotossensibilizador em inviabilizar células tumorais.

1.3.6 Terapia Fotodinâmica

O sucesso da terapia contra o câncer depende da escolha da combinação de duas ou mais modalidades de tratamento. Diante dos graves efeitos colaterais e da eficiência limitada das terapias tradicionais, outras alternativas estão sendo constantemente propostas na área de oncologia (cancerologia). Dentre estas, destaca-se a Terapia Fotodinâmica (TFD) [37].

A TFD é uma modalidade relativamente nova de intervenção terapêutica no tratamento de algumas formas de câncer, que visa a destruição localizada do tecido vivo anormal mediante sua necrose ou inviabilização. Em linhas gerais, a presença de um corante fotossensibilizador eletronicamente excitado e oxigênio molecular, em tecidos lesados, resulta na geração de espécies ativas de oxigênio altamente citotóxicas. A interação dessas espécies com o tecido lesado resulta em morte celular. Uma dessas espécies ativas de oxigênio talvez a mais importante, é o $^1\text{O}_2$ [35,76,82].

Apesar do emprego da TFD ter se centrado na terapia do câncer, sua aplicabilidade é muito mais ampla tendo sido proposta no tratamento da degeneração macular da retina, psoríase, artrite reumatóide sistêmica, restenose, micoses fungóides, infestações, infestações bacterianas, verrugas, arterioescleroze, AIDS (desativação de vírus), esterilização de sangue, etc. [37].

As primeiras experiências de aplicação do efeito fotodinâmico no tratamento de tumores em humanos foram feitas em 1903 por Tappenier e Jesionek, empregando eosina como fotossensibilizador [83]. Um tumor maligno de consideráveis proporções foi totalmente debelado da face de um homem, através desse tratamento. No entanto, o trabalho não avançou, muito provavelmente, em virtude da falta de subsídios teóricos que justificassem o ocorrido. Em 1924, Policard observou que porfirinas podiam ser encontradas em elevadas concentrações em tumores malignos [84]. Essas porfirinas são completamente atóxicas, mas na presença de luz visível e oxigênio elas se tornam altamente tóxicas ao tecido celular. No final dos anos 60, Lipson reportou um caso de tratamento bem-sucedido de câncer de seio, empregando derivados de hematoporfirina e irradiação seletiva do tumor com luz visível [85]. Em 1976, Weishaupt e colaboradores postularam que o $^1\text{O}_2$, gerado por fotossensibilização, era o agente citotóxico responsável pela desativação de células tumorais [86].

No final dos anos 70, a partir dos trabalhos de Dougherty e colaboradores, a TFD passou a ser reconhecida como uma alternativa para o tratamento de câncer, tendo sido empregada com sucesso no tratamento de tumores, além de outras condições clínicas [87].

Aplicações clínicas da TFD no tratamento de câncer de pulmão vêm sendo feitas no Japão desde 1980 [88,89]. Este tratamento pode preservar a função pulmonar, é bem tolerado e de baixo custo, quando comparado a outros tratamentos [88,90].

Na década de 90 houve uma grande difusão de procedimentos envolvendo a TFD nos países do primeiro mundo [91-94]. Ainda em 1994, o governo Japonês autorizou o emprego da droga denominada Photofrin® na terapia do câncer de pulmão. Em 1995, o governo Norte-Americano autorizou o uso dessa mesma droga no tratamento do câncer de esôfago [93,94]. Nesses países, em virtude dos estímulos concedidos à pesquisa neste campo, diversos procedimentos clínicos têm sido estabelecidos e muitos deles já têm o seu emprego autorizado [93,94]. No Brasil, algumas iniciativas já vêm ocorrendo, todas baseadas no estado de São Paulo, nas quais se emprega um composto homólogo ao Photofrin®. O Photofrin® é uma mistura de oligômeros da porfirina. A sua capacidade de fotossensibilização é limitada, já que a absorvividade molar do composto em 630 nm é relativamente baixa ($\epsilon \sim 3000 M^{-1} cm^{-1}$) [95].

1.3.6.1 Agentes Fotossensibilizadores

Preferencialmente, o agente fotossensibilizador tende a se concentrar no tecido lesado [96]. Ao menos em parte, essa seletividade decorre da associação do agente fotossensibilizador a lipoproteínas do plasma, que assim o transporta seletivamente para as células anormais. Isso ocorre em virtude do fato dessas células possuírem um número exageradamente alto de receptores de lipoproteínas de baixa densidade, resultado de sua elevada demanda por colesterol [97]. Esse conhecimento tem-se mostrado bastante positivo para o desenvolvimento de drogas fotossensibilizadoras cada vez mais seletivas: o emprego de lipoproteínas, e mais recentemente, de anticorpos específicos associados ao agente fotossensibilizador, tem resultado em uma alta seletividade do tratamento, com uma cada vez maior preservação das células sadias [97].

Um agente fotossensibilizador clinicamente adequado deve possuir [37,95]:

- baixa toxicidade no escuro (baixa citotoxicidade);
- fotossensibilidade não prolongada;
- simplicidade na formulação, reproduzibilidade e alta estabilidade do formulado que, geralmente, é mantido seco, bastando ao médico adicionar água ou soro fisiológico e agitar;
- rápida eliminação pelo corpo;
- alta afinidade e penetração no tecido doente em detrimento do tecido saudável (seletividade);
- no estado triplete excitado, um tempo de vida de longa duração ($\tau_T \geq 500$ ns), podendo reagir eficientemente tanto com moléculas vizinhas como com o oxigênio;
- apresentar elevada absorvividade molar na região espectral compreendida entre 600 e 1000 nm, conhecida como ‘janela fototerapêutica’, onde a membrana celular apresenta considerável transparência à radiação eletromagnética. Com isso, é possível uma boa penetração da luz (maior que 2 a 3 cm) em tecidos levemente pigmentados, com risco mínimo de destruição generalizada dos componentes sadios que não contém o agente fotossensibilizador;
- alto rendimento quântico de estado triplete;
- alto rendimento quântico de geração de oxigênio singlete e
- baixo rendimento de degradação do cromóforo.

Apesar da importância dos resultados de testes com os fotossensibilizadores *in vitro*, freqüentemente verificam-se alterações significativas nas características dos fotossensibilizadores *in vivo*, havendo a necessidade de testes em cobaias para uma rigorosa avaliação clínica [98,99]. Para a análise *in vivo*, torna-se necessário discutir uma questão central que é a relação entregador/distribuidor da droga. Em alguns compostos um fator que estimula seu acúmulo na célula é a sua alta hidrofobicidade. Entretanto essa propriedade em meio aquoso leva à auto-agregação do fotossensibilizador e em muitos

casos a uma subsequente precipitação. A agregação reduz drasticamente a capacidade do fotossensibilizador em gerar $^1\text{O}_2$ [37b].

A primeira geração de agentes fotossensibilizadores, baseada em misturas de derivados porfirínicos, mostrou-se eficiente no tratamento de tumores de diversas procedências [92,96,100]. Posteriormente, já no fim da década de 80, a empresa QLT Phototherapeutics Inc., através de purificações e otimizações do preparo anterior, via processos de liofilização, chegou-se ao medicamento Photofrin® (Fig. 4) [101]

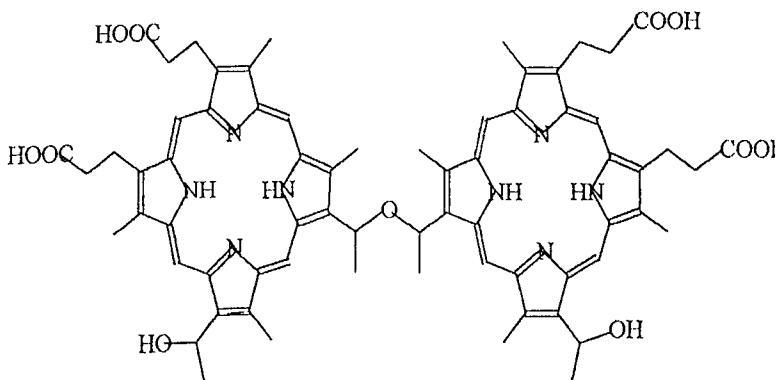


Figura 5 - Representação da estrutura do agente fototerapêutico PHOTOFRIN® na forma de éter.

Embora ainda de baixo impacto para a área médica, em 7 de dezembro de 1999, a FDA (Food and Drug Administration) aprovou o uso do Levulan® Kerastic, uma pródroga para lesões de pele, em câncer de bexiga em fase I e II, acne e outras [102]. Mais recentemente, de significante impacto foi a aprovação do medicamento Visudyne®, desenvolvido pela empresa QLT Phototherapeutics Inc., em associação com a University of British Columbia, sob supervisão do Prof. D Dolphin [96]. O princípio ativo é o composto BPDMA (Derivado de Benzoporfirina Monoácida), uma benzoporfirina que na forma injetável foi batizada como verteporfina® [37b,95,103].

A TFD com o medicamento Visudyne® já está sendo aplicada no Brasil pela Escola Paulista de Medicina – setor de oftalmologia [104].

Os derivados da hematoporfirina têm sido substituídos por uma segunda geração de agentes fotossensibilizadores que possuem elevada absorvividade molar na região espectral correspondente à cor vermelha (Janela Fototerapêutica), resultando assim em

elevada resposta fototerapêutica, com a administração, ao paciente, de doses apreciavelmente menores que as usuais. Nessa classe estão as ftalocianinas e as clorinas [105].

1.3.6.1.1 Ftalocianinas

As ftalocianinas são macrociclos sintéticos de elevada massa molecular e que podem conter no interior de seu macrociclo diferentes metais, principalmente, diamagnéticos. Os metais, ainda podem conter grupos ligantes [106]. O interesse no emprego de ftalocianinas metaladas em TFD deve-se à habilidade de algumas dessas ftalocianinas em serem eficientes fotossensibilizadores. Isso ocorre porque absorvem luz apreciavelmente na região entre 650 a 700 nm (janela fototerapêutica), apresentando um coeficiente de absorbividade molar da ordem de $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Ftalocianinas são estáveis, não-tóxicas, apresentam elevada seletividade e boa penetrabilidade nas membranas celulares tendendo a se localizar na região interna do tumor [106].

Algumas metalo-ftalocianinas foram, pela primeira vez, sugeridas para a TFD por Ben-Hur e Rosenthal [107], e a partir daí elas têm sido extensivamente estudadas para esse propósito, pois, apresentam elevada atividade fotossensibilizadora. Por outro lado, as ftalocianinas livres de metal não são fotoativas. Essa elevada atividade fotossensibilizadora acontece principalmente quando o centro metálico da metalo-ftalocianina é diamagnético [99].

Moléculas de ftalocianinas sofrem auto-oxidação via ataque do ${}^1\text{O}_2$ gerado por elas. Esse efeito tem sido reportado principalmente para ftalocianinas contendo anéis piridínicos ligados ao macrociclo [100]. Tem-se observado que moléculas de metalo-ftalocianinas contendo grupos derivados de moléculas biológicas nas posições periféricas são mais facilmente degradadas, comparadas a outros complexos de metalo-ftalocianinas octa-substituídos [96].

A ftalocianina de alumínio sulfonada tem sido estudada, experimentalmente, em alguns animais para uma resposta quantitativa frente a tumores e células normais. A sua toxicidade e distribuição celular tem sido estudada em detalhes para várias situações [106].

Infelizmente, algumas metalo-ftalocianinas são insolúveis em água e pouco compatíveis com muitos solventes orgânicos. Com isso, algumas formas solúveis de ftalocianinas têm sido propostas e preparadas a partir da adição de ácido sulfônico ou ácido carboxílico nas posições periféricas dos seus macrociclos [108]. Ftalocianina de Zinco sulfonada tem chamado muito a atenção devido à vantagem de ser solúvel em água e evitar o efeito de agregação [109,110].

Alguns complexos de metalo-ftalocianinas tendem a formar agregados em solução [111-113] e a agregação é responsável pela diminuição da habilidade fotossensibilizadora desses complexos. Assim, a adição de alguns grupos nas posições periféricas desses complexos influenciam suas propriedades, impedindo a formação de agregados [114-118]. Alguns solventes são capazes de afetar o processo de agregação nesses complexos. Solventes orgânicos, por exemplo, são responsáveis por reduzir o processo de agregação, enquanto, solventes aquosos conduzem a complexos altamente agregados [119-121].

Ftalocianinas contendo rutênio (II) são capazes de gerar $^1\text{O}_2$ com um rendimento quântico de 0,3 em etanol. Já em D_2O saturado com ar, o rendimento é menor que 0,01. Isso é explicado em termos do efeito combinado do tempo de vida do estado triplete dessa ftalocianina ($1,2 \mu\text{s}$ em etanol com o meio saturado de nitrogênio e $0,65 \mu\text{s}$ em água saturada com nitrogênio). A ftalocianina que tem como átomo central o rutênio e apresenta dois ligantes trifenilfosfina monosulfonato é tão efetiva quanto o Photofrin, e mais efetiva que a ftalocianina de alumínio tetrasulfonato, *in vitro*. O átomo de rutênio d₆, diamagnético, tende a extender o tempo de vida do estado triplete do sistema e favorecer a produção de $^1\text{O}_2$ [122,123].

As ftalocianinas carregadas também têm recebido alguma atenção já que têm mostrado uma elevada Atividade Fotodinâmica (AF) *in vitro* [124]. Ainda, tem-se observado que a morte celular é elevada quando se usa, principalmente, fotossensibilizadores carregados positivamente [125].

As ftalocianinas de Cloro-alumínio (AlPc), seus derivados sulfonados (AlPcTS), a ftalocianina de zinco sulfonada (ZnPcTS) e a naftalocianina de alumínio tetrasulfonada (AlNPcTs), são responsáveis, também, por exibir uma grande eficiência fotodinâmica [126]. A tabela a seguir, apresenta alguns resultados fotofísicos para essas ftalocianinas.

Tabela 3 – Propriedades fotofísicas de algumas ftalocianinas em DMF [126].

Ftalocianinas	Φ_f	$\tau_f, \text{ ns}$	$k_f, \text{ ns}^{-1}$	$\tau_0, \text{ ns}$
Pc	0,60	5,25	0,114	8,75
AlPcTS	0,556	6,04	0,093	10,80
ZnPcTS	0,277	2,88	0,096	10,40
AlNPcTs	0,200	2,50	0,080	12,50

Nesses estudos, observou-se que a presença do átomo de zinco é responsável por suprimir o tempo de vida de fluorescência e diminuir o rendimento quântico de fluorescência para os fotossensibilizadores em estudo [126]. Portanto, o efeito do átomo pesado sobre o acoplamento spin-órbita, é bem pronunciado. Esse efeito, tende a favorecer outros processos de desativação da espécie excitada, provavelmente com a geração de estados triplete [126].

Tem-se verificado que a deuteração de ligações axiais de ftalocianinas de alumínio dissulfonadas aumenta os rendimentos quânticos de singlete e triplete (Φ_f e Φ_T) e o tempo de vida de fluorescência [127,128]. Esse efeito se deve a uma redução significativa na velocidade de conversão interna $S_1 \rightarrow S_0$, e implica no fato de que os modos vibracionais dos ligantes axiais exercem importante papel na desativação dos estados eletronicamente excitados, via mecanismos não-radiativos.

Particularmente, a Ftalocianina de Zinco (FtZn) apresenta um máximo de absorção a 669 nm em dimetilformamida correspondendo à banda Q, e considerável capacidade de gerar $^1\text{O}_2$ [107,129,130] Por isso, o interesse em estudá-la visando sua aplicação em TFD [107]. A FtZn, por causa da sua hidrofobicidade é insolúvel em meio aquoso, o que prejudica sua distribuição intravenosa *in vivo*. Em estudos de TFD recentes empregando essa ftalocianina, tem-se utilizado lipossomos como transportadores. Extensiva necrose de tumores comparada à induzida pelo Photofrin II pode ser obtida com o emprego da FtZn. Após a administração da FtZn lipossômica, a droga é rapidamente transferida para as células cerasas as quais se ligam quase exclusivamente à LDL (lipoproteína de baixa densidade), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e

HDL (lipoproteína de elevada densidade). Recentemente, partículas coloidais têm sido também usadas como carregadores de derivados de FtZn para o interior da célula tumoral [106].

Ftalocianina de Zinco tem sido extensivamente estudada por ser particularmente útil na TFD. Estudos recentes têm atestado sua eficiência como fotossensibilizador em experimentos *in vivo* [131,132].

Tendo em vista sua estrutura bastante simétrica, a FtZn apresenta baixa solubilidade em solventes polares e apresenta boa penetrabilidade em membranas celulares e citotoxicidade muito baixa [133].

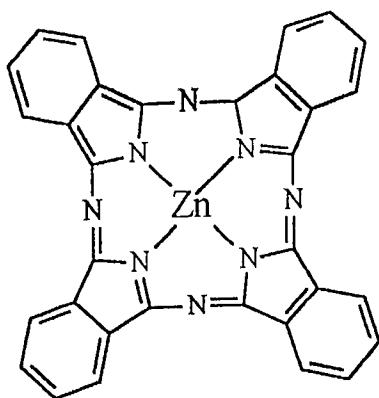
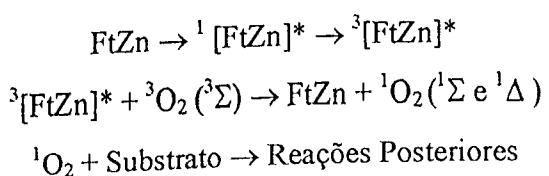
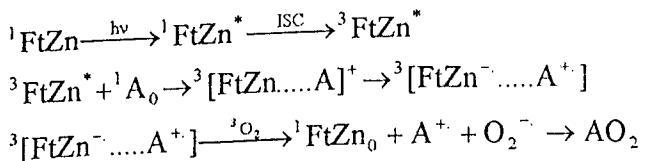


Figura 6 – Estrutura da Ftalocianina de Zinco.

A seqüência de reações a seguir apresenta os processos esperados a partir da excitação eletrônica da FtZn,



ou



Além de todas as características citadas acima, a FtZn apresenta o metal zinco que tem como principal característica favorecer, por acoplamento spin-órbita, o ISC [125].

1.3.7 Fundamentos da Mecânica Quântica [134]

Na Mecânica Clássica, quando se conhece o estado presente de um sistema, pode-se prever o seu estado futuro. Do ponto-de-vista Mecânico-Quântico, o Princípio da Incerteza de Heisenberg mostra que não é possível determinar simultaneamente a posição e velocidade exata de uma partícula microscópica, nem quaisquer parâmetros correlacionados. Uma decorrência disso é que cada estado possui uma função de onda característica.

Aproximações propostas para a Mecânica Quântica foram fundamentais para o seu avanço, na descrição tanto de átomos como de moléculas. Para descrever o estado de um sistema mecânico-quântico, é preciso que a *função de onda* ou *função de estado*, Ψ , do sistema esteja definida, ou haja uma forma conhecida de derivá-la, pois a função de onda contém todas as informações possíveis sobre um sistema. Como o estado, em geral, mudará com o tempo, Ψ é também uma função do tempo. Para uma partícula, em uma dimensão espacial, tem-se $\Psi = \Psi(x, t)$.

O estado futuro de um sistema Mecânico-Quântico, com seu estado presente conhecido, pode ser determinado pela seguinte equação dependente do tempo,

$$-\frac{\hbar}{i} \frac{\partial \Psi(r, t)}{\partial t} = -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2 \Psi(r, t)}{\partial r^2} + V(r, t)\Psi(r, t) \quad (\text{Eq. 33})$$

O conceito de função de onda temporal foi proposto em 1926 pelo físico Erwin Schrödinger.

Essa equação contém a primeira derivada da função de onda com relação ao tempo e permite calcular a função de onda futura em um determinado tempo, se a função de onda no tempo t_0 for conhecida. A equação de Schrödinger dependente do tempo (Eq. 33) não é aplicada para todos os sistemas da Mecânica Quântica. Uma equação independente do tempo é suficiente para a maioria dos casos.

A equação independente do tempo, é derivada da dependente. Para se obter essa equação, é necessário restringer-se a um caso especial onde a energia potencial V não é uma função do tempo, mas sim dependente apenas das coordenadas espaciais. A equação 34 corresponde à Equação de Schrödinger independente do tempo para uma partícula simples de massa m.

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{d^2\Psi(r)}{dr^2} + V(r)\Psi(r) = E\Psi(r) \quad (\text{Eq. 34})$$

Para muitas moléculas, as estruturas e propriedades podem ser obtidas através da resolução da equação de Schrödinger Independente do Tempo [135]. No entanto, ao se abordar a natureza de estados excitados torna-se necessário o uso da equação dependente do tempo ou aproximações compatíveis. Com o intuito de simplificar a resolução das equações envolvidas no caso de moléculas, Born e Oppenheimer propuseram que, com base no fato de que os elétrons se movimentam muito mais rapidamente que os núcleos, a função de onda pode ser desmembrada em uma função eletrônica (ϕ) e uma nuclear (N). Logo,

$$\Psi(r) = \phi N \quad (\text{Eq. 35})$$

Resolvendo-se a equação de Schrödinger eletrônica para diferentes configurações nucleares, é possível identificar os arranjos atômicos estáveis em uma molécula. Esse foi o princípio do procedimento de *otimização de geometria*, uma geometria é dita otimizada quando a energia total for mínima em todas as suas 3N-6 dimensões.

1.3.7.1 Métodos semi-empíricos [136]

Os métodos semi-empíricos utilizam-se dos fundamentos da Mecânica Quântica. No entanto, certas integrais são substituídas por dados espectroscópicos ou por outras

propriedades físicas, como as energias de ionização, adotando-se uma série de parâmetros que permitam anular ou minimizar a importância de certas integrais.

Os primeiros métodos desta classe eram baseados na aproximação do elétron π , isto é, apenas os elétrons π eram considerados explicitamente. Como exemplos deste conjunto de metodologias tem-se o método do elétron livre (FEMO), o método de Hückel (HMO) e o método de Pariser-Parr-Pople (PPP). Posteriormente, os métodos semi-empíricos tornaram-se mais gerais, sendo aplicados a moléculas de qualquer natureza. Dentro dessa nova linha de desenvolvimento, existem principalmente duas ramificações, os métodos de Pople e os de Dewar. A distinção entre os métodos de Pople e Dewar está relacionada à forma de parametrização. Nas aproximações de Pople e colaboradores, os parâmetros são ajustados de forma a reproduzir valores de propriedades moleculares determinadas através de cálculos *ab initio*, enquanto nos métodos de Dewar a parametrização é feita utilizando valores experimentais das propriedades de referência.

Nas aproximações semi-empíricas modernas (vertente de Dewar), apenas os elétrons de valência são considerados explicitamente. Como os métodos semi-empíricos foram desenvolvidos, inicialmente, para estudo de moléculas orgânicas contendo apenas átomos do primeiro período (Li-Ne), a base de funções era constituída apenas de orbitais atômicos (OA) s e p. Nos métodos mais recentes, esta mesma aproximação foi mantida, ainda que sejam aplicados a sistemas moleculares constituídos de átomos presentes em períodos superiores da tabela periódica. Acredita-se que pelo menos em parte, a deficiência devido à limitação das funções de base tenha sido suprida pelo procedimento de parametrização.

São inúmeros os métodos semi-empíricos. Os mais conhecidos, são: CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap) [137], INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap) [138], INDO/S, NDDO [139] (Neglect of Diatomic Differential Overlap), MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap) [140], AM1 (Austin Model 1) [141] e PM3 (Parametric Method 3) [142]. Versões mais modernas têm sido desenvolvidas, como é o caso do PM5 e dos SAM (Métodos Ab initio/Semi-Empíricos).

Há evidências de que o procedimento paramétrico desenvolvido por Stewart (PM3) apresenta vantagens relacionadas à descrição de ligações de hidrogênio e cálculo de propriedades de moléculas contendo átomos de enxofre [143].

1.3.7.2 Interação de Configurações [136]

Originalmente, os métodos da Química Quântica desenvolveram-se a partir das equações de Hartree-Fock (HF). No entanto, o método de HF negligencia a interdependência dos movimentos eletrônicos. Correções pós-HF têm sido propostas no sentido de corrigir essa deficiência. A diferença entre a energia do sistema obtida pela solução exata da equação não-relativística de Schrödinger e aquela obtida pela aproximação de HF é denominada energia de correlação. O método denominado como *Interação de Configurações (CI)* é um dos métodos que consideram o efeito da correlação eletrônica na função de onda de HF, de modo a fornecer informações acerca dos estados eletrônicos de um sistema. Nessa metodologia, os orbitais moleculares (OM) ocupados e desocupados são descritos e utilizados na construção da função de onda Ψ_{el} , a qual representa a configuração do sistema como sendo uma combinação linear das funções que caracterizam cada uma das configurações.

$$\Psi_{el} = \sum_i a_i \phi_i \quad (\text{Eq. 36})$$

onde os coeficientes a_i são obtidos utilizando o método variacional .

O método variacional permite, de forma aproximada, que a energia de um sistema quântico seja estimada sem a necessidade de resolver diretamente a equação de Schrödinger.

De uma forma genérica, a integral variacional pode ser escrita como:

$$E \leq \frac{\int \hat{H}\Psi d\tau}{\int \Psi^*\Psi d\tau} \quad (\text{Eq. 37})$$

onde E corresponde à energia verdadeira do sistema.

Após um tratamento algébrico dessa integral temos,

$$W \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_i a_j S_{ij} = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_i a_j H_{ij} \quad (\text{Eq. 38})$$

na qual W corresponde à energia variacional e S_{ij} e H_{ij} são definidos como:

$$S_{ij} = \int \phi_i \phi_j d\tau \quad (\text{Eq. 39})$$

$$H_{ij} = \int \phi_i \hat{H} \phi_j d\tau \quad (\text{Eq. 40})$$

O próximo passo consiste em encontrar os coeficientes que minimizam o funcional energia (W). Assim,

$$\frac{\partial W}{\partial a_k} = 0, \text{ sendo } k=1,2,3,\dots,n \quad (\text{Eq. 41})$$

Aplicando a eq. 41 em 39 temos um sistema de n equações acopladas,

$$\sum_{k=1}^n [(H_{ik} - S_{ik} W) a_k] = 0 \quad i = 1, 2, 3, \dots, n \quad (\text{Eq. 42})$$

cujas soluções diferentes da trivial ($a_0=a_1=a_2=\dots=a_n=0$) são obtidas da expansão do determinante secular (Eq. 43).

$$\det(H_{ik} - S_{ik} W_i) = 0 \quad (\text{Eq. 43})$$

A equação gerada, portanto, pela expansão de (37) possui como raízes W_0, W_1, \dots, W_n . Utilizando a eq. 38, as seguintes relações podem ser escritas: $E_0 \leq W_0, E_1 \leq W_1, \dots, E_n \leq W_n$, na qual E representa a energia real do sistema. Portanto, de acordo com o teorema variacional, o limite superior da energia de cada estado eletrônico do sistema pode ser obtido. O aumento do número de configurações (ϕ_i , Eq. 36) fornece valores mais próximos de E e W .

Uma aproximação para a função de onda do estado fundamental é obtida pela utilização da raiz $W_0 \cong E_0$ no conjunto de equações (Eq. 37), de onde é possível obter a_0^0 , a_1^0, \dots, a_n^0 (o índice superescrito representa o estado eletrônico do sistema em ordem de energia). A função de onda do sistema para o estado eletrônico especificado (Ψ_{el}^0) é obtida utilizando a Equação 37. A utilização de raízes superiores fornece funções de onda para os estados excitados da molécula.

$$\Psi_{el}^0 = a_0^0 \phi_0 + a_1^0 \phi_1 + a_2^0 \phi_2 + \dots; W_0$$

(Eq. 44)

$$\Psi_{el}^1 = a_0^1 \phi_0 + a_1^1 \phi_1 + a_2^1 \phi_2 + \dots; W_1$$

As funções Ψ_{el}^0 e Ψ_{el}^1 em (44) são normalizadas e ortogonais

No método CI, as ϕ_i podem ser geradas a partir de excitações simples, duplas, etc., de acordo com o número de elétrons envolvidos na transição. Considerando um sistema constituído de m elétrons e uma base de funções contendo b orbitais atômicos (= número de OM), o número de configurações possíveis é proporcional a b^m . Portanto, um CI completo é restrito a sistemas pequenos e a base de funções atômicas limitada. É também uma prática comum em cálculos CI estabelecer um número finito e pequeno de OM ocupados e virtuais a serem utilizados na obtenção das configurações eletrônicas. Assim, esse método permite avaliar um número bem maior de configurações de um sistema de modo a fornecer uma estrutura excitada na sua configuração mais estável.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo:

- A) Avaliar parâmetros fotofísicos (Φ_f , Φ_{ST} , τ_T , Φ_Δ) e fotodinâmicos relativos à FtZn, em meios homogêneo e microheterogêneo (micelas de SDS e CTAB);
- B) Estudar o efeito da polaridade do solvente, expressa em termos da escala $E_T(30)$, sobre a fotofísica da FtZn;
- C) Avaliar o efeito de átomos pesados sobre a atividade fotodinâmica e capacidade de geração de oxigênio singlete da FtZn.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e equipamentos

Reagente	Procedência
Acetonitrila	ALDRICH
Azul de Metileno	ALDRICH
Bromofórmio	SYNTH
1-Butanol	VETEC
2-Butanol	MERCK
Clorofórmio	J. T. BAKER
Colesterol	ACROS
CTAB	MERCK
n-Decano	RIEDEL - DE HAEN
1,3-Difenilisobenzofurano	ALDRICH
N,N-Dimetilformamida	VETEC
Dimetilsufóxido	SYNTH
Etanol	VETEC
Etilenoglicol	VETEC
Ftalocianina de Zinco	ALDRICH
Glicerol	VETEC
Iodo	CINÉTICA QUÍMICA
Metanol	VETEC
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	CINÉTICA QUÍMICA
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	MALLINCKRODT
NaCl	SYNTH
1-Octanol	VETEC
2-Propanol	VETEC
SDS	VETEC
Tetrahidrofurano	VETEC
Violeta de Cresila	ACROS

Boa parte dos solventes empregados na caracterização fotofísica da FtZn foi de grau espectroscópico, tendo sido usados sem purificação prévia.

Para as medidas espectrofotométricas, foram empregados os espectrofotômetros HACH DR-4000U e Shimadzu UV-1201. As medidas de fluorescência à temperatura ambiente e a baixa temperatura foram realizadas empregando-se um espectrofluorímetro HITACHI F-4500. Todas as medidas foram realizadas com o uso de fendas 2,5 nm para excitação e 2,5 nm para emissão.

Na desaeração e congelamento das soluções, para as medidas a baixa temperatura, foram utilizados nitrogênio gasoso e líquido, respectivamente.

As medidas de Φ_f , nos diferentes meios, foram estimadas empregando o método proposto por Eaton [26], tendo sido aplicada a equação a seguir,

$$\Phi_f = \left(\frac{A_p F n_p^2}{A F_p n_p^2} \right) \Phi_p \quad (\text{Eq. 45})$$

onde o subscrito p refere-se ao padrão, A e A_p são respectivamente as absorções da amostra e do padrão nos respectivos comprimentos de onda de excitação, F é a área sob o espectro de emissão da amostra (F_p do padrão) e n índice de refração do solvente onde se encontra a amostra e n_p é o índice de refração do solvente onde se encontra o padrão [27].

Para as medidas de Φ_f , as soluções foram preparadas com absorções em torno de 0,100 no comprimento de onda de excitação, de modo a minimizar o efeito de reabsorção. Utilizou-se como padrão uma solução de violeta de cresila em metanol ($\Phi_f = 0,54 \pm 0,03$; região de abrangência: 600 – 650 nm) [144].

Os valores de $E_T(30)$, para os meios estudados foram obtidos a partir da escala proposta por Reichardt [22].

As soluções micelares de SDS e CTAB foram preparadas em tampão fosfato (PBS) (pH 7,4). De modo a garantir uma concentração elevada de micelas, as soluções foram preparadas com concentrações iguais a $30,0 \times 10^{-3}$ mol dm⁻³ em SDS e $10,0 \times 10^{-3}$ mol dm⁻³ em CTAB, acima da concentração micelar crítica (CMC).

A preparação da solução de tampão fosfato, PBS, seguiu o procedimento proposto na literatura [145]. Para isso, foi necessário pesar massas dos sais dihidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4) e monohidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4) de modo a fornecer uma solução de concentração $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ para cada sal, obtendo-se um pH final em torno de 7,4. A seguir, uma quantidade de cloreto de sódio (NaCl) foi adicionada, de modo a fornecer uma concentração em massa, na solução, de aproximadamente 0,9%. O NaCl tem como função tornar a salinidade da solução mais próxima da do fluido fisiológico, e garantir uma força iônica constante para o tampão. Essa solução tampão foi preparada com água deionizada.

A AF da FtZn em meios homogêneo e microheterogêneo foi estimada a partir de uma adaptação do método proposto por Fischer [81]. Esse método consiste na utilização do AU como dosador químico para avaliar a AF. Neste trabalho, a avaliação da AF da FtZn foi feita empregando-se o DPBF como dosador químico de $^1\text{O}_2$, devido a problemas encontrados na dissolução do AU nos meios estudados.

Para o estudo da AF, utilizou-se um laser He/Ne da Opto Eletrônica, com comprimento de onda de 632,8 nm e potência igual a 1 mW. Uma lente plano-convexa de foco igual a 50 mm foi utilizada de modo a fornecer um feixe de luz de diâmetro aproximadamente igual a 0,8 cm, fluência igual a $19,98 \text{ W/m}^2$.

A medida resolvida no tempo para a obtenção do Φ_Δ foi efetuada no Laboratório de Cinética Rápida e Fotoquímica, do IQUSP, empregando-se um sistema de fotólise por pulso de laser. Para o decaimento do sinal de emissão do $^1\text{O}_2$ a 1270 nm, utilizou-se um sistema da *Edinburg Analytical Instruments* dotado de um laser Nd:YAG (pulso de 5 ns e potência 4,5 mJ), uma fotomultiplicadora da Hamamatsu tipo R-5509 (resfriada a 193 K com fluxo de nitrogênio líquido), um laser de corante da Jaguar e um de rodamina 6G. Para essas medidas, utilizou-se o Azul de Metileno em etanol ($\Phi_{\Delta,s} = 0,52$ [146]) como padrão.

Do mesmo modo, a medida de τ_T foi efetuada no Laboratório de Cinética Rápida e Fotoquímica, do IQUSP, empregando-se um sistema da *Applied Spectrophysics*, equipado com laser Nd:YAG com pulsos de 20 ns e potência igual a aproximadamente 30 mJ. As amostras foram submetidas à excitação em 355 nm, já que a FtZn absorve muito bem nessa região. O decaimento do triplete foi monitorado a 480 nm [147].

O Φ_{Δ} foi também estimado por medidas em estado estacionário, baseadas no consumo de DPBF. Empregou-se a mesma montagem experimental das medidas de AF. Azul de Metileno em etanol foi empregado como padrão nessas medidas. As medidas foram feitas em diferentes meios.

A estrutura da FtZn foi modelada e otimizada pelo método semi-empírico PM3, disponível no pacote computacional Hyperchemistry 5.11 [148]. A partir dessa otimização pode-se estimar, pela aplicação de Interação de Configurações (CI), as energias dos estados excitados, empregando também o método PM3. Esse cálculo envolveu 3 orbitais ocupados e 3 desocupados, resultando em 400 configurações. Adicionalmente, empregando também CI, mais o método semi-empírico ZINDO/S, considerado mais adequado para aplicações espectroscópicas [148], calculou-se o espectro de absorção para a molécula isolada. Neste caso, a simulação baseou-se em uma interação de 1251 configurações da molécula.

O estudo da aproximação de uma molécula de Iodo à FtZn foi feita utilizando o método semi-empírico PM3.

3.2 Procedimentos

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, de modo a garantir uma confiabilidade maior dos resultados.

3.2.1 Efeito do solvente sobre a fotofísica da Ftalocianina de Zinco

Para as medidas de fluorescência, as soluções de FtZn nos diferentes meios, foram preparadas com concentrações iguais a $1,0 \times 10^{-7}$ M, com uma absorbância inferior a 0,100 no comprimento de onda de excitação. Dessas soluções, foram obtidos espectros de absorção e fluorescência, permitindo assim, estimar o Δv e o Φ_f .

3.2.2 Supressão de Fluorescência da FtZn por Iodo em Etanol e 1-Octanol

Preparou-se uma solução de FtZn em metanol de concentração igual a $1,0 \times 10^{-7}$ M. Transferiu-se 3,0 mL dessa solução para uma cubeta, onde foram adicionadas alíquotas de 0 a 150 μL de uma solução de iodo em metanol, de concentração igual a $1,0 \times 10^{-5}$ M. Para cada adição, foi feito o monitoramento das soluções no espectrofotômetro e espectrofluorímetro. A partir dos resultados de fluorescência pode-se obter a relação de Stern-Volmer para essa medida de supressão.

Utilizou-se o mesmo procedimento para as medidas em 1-octanol. Neste caso, a concentração de FtZn foi a mesma e a de iodo foi igual a $1,0 \times 10^{-4}$ M, e as alíquotas retiradas da solução estoque de iodo foram de 0 a 700 μL .

3.2.3 Medida da Atividade Fotodinâmica da FtZn em diferentes meios

Para cada uma das medidas de AF, foram preparadas soluções contendo massa de DPBF igual a 0,130 mg e FtZn com concentração igual a $1,0 \times 10^{-6}$ M em balão volumétrico de 10,0 mL. Depois de preparadas, as soluções foram irradiadas pelo laser em cubeta de quartzo, com agitação, durante 5 minutos, sendo que a leitura da absorvância do DPBF, a 417 nm, foi monitorada antes e após a fotólise. Foram medidas também as absorvâncias do fotossensibilizador no comprimento de onda de excitação (632,8 nm). Um acompanhamento da fotodegradação do DPBF induzida pelo laser também foi feito. Adicionalmente, foram efetuadas também medidas idênticas às anteriores, mas com um diferencial: foi adicionado à solução contendo DPBF e FtZn uma solução de iodo de concentração igual a $1,0 \times 10^{-6}$ M. Essas medidas foram realizadas em CTAB e SDS, com o intuito de avaliar o efeito do átomo pesado sobre medidas de AF em ambientes organizados. A equação que permite calcular a AF é descrita como:

$$\text{AF}(\text{m}^2 / \text{Ws} \equiv \text{m}^2 / \text{J}) = \frac{\Delta A \cdot 10^5}{E_0 t \cdot A_{ps}(\lambda_{irr})} \quad (\text{Eq. 46})$$

onde ΔA é a variação da absorvância do substrato oxidável no seu máximo de absorção, E_0 é fluência do laser em mW/m^2 , t é o tempo de irradiação em segundos, e $A_{\text{ps}}(\lambda_{\text{irr}})$ é a absorvância do fotossensibilizador no comprimento de onda de irradiação.

3.2.4 Estimativa do rendimento quântico de geração de oxigênio singlete por medidas resolvidas no tempo

Essa medida foi feita em solução de FtZn em DMSO, cuja absorvância no comprimento de onda de excitação (580 nm, fornecido por um Laser de corante) era igual a 0,300. Uma solução de Azul de Metileno ($\Phi_{\Delta,s} = 0,52$ [146] e absorvância 0,29 no comprimento de onda de excitação) em etanol, foi empregada como padrão. O decaimento da fosforescência do ${}^1\text{O}_2$ a 1270 nm foi monitorado em seguida ao pulso de laser. A potência do laser foi mantida em 4,5 mJ nos experimentos. A relação matemática a seguir foi empregada na estimativa do Φ_Δ [79],

$$\Phi_{\Delta,a} = \frac{I_a}{I_p} \Phi_{\Delta,p} \left(\frac{n_a}{n_p} \right)^2 \quad (\text{Eq. 47})$$

onde I_a é a intensidade de emissão da amostra, I_p é a intensidade de emissão do padrão, $\Phi_{\Delta,a}$ é o rendimento quântico de geração de ${}^1\text{O}_2$ pela solução FtZn, $\Phi_{\Delta,p}$ é o rendimento quântico de geração de ${}^1\text{O}_2$ do padrão, e n_a/n_p é a razão de índices de refração dos solventes nos quais a amostra e o padrão foram dissolvidos, respectivamente.

A razão I_a/I_p foi calculada a partir das intensidades máximas dos sinais de fosforescência do ${}^1\text{O}_2$ (unidade arbitrária), gerados a partir do Azul de Metileno e da FtZn.

3.2.5 Estimativa do tempo de vida de triplete por medidas resolvidas no tempo

Soluções de FtZn em DMSO e CTAB, com absorvância igual a 0,300 no comprimento de onda de excitação (355 nm, Laser Nd:YAG, pulsos de 20 ns) foram

excitadas, e o sinal de decaimento do triplete foi monitorado a 480 nm [147]. O tratamento matemático das curvas de decaimento forneceu os τ_T .

3.2.6 Estimativa do rendimento quântico de geração de oxigênio singlete por medidas em estado estacionário

Essas medidas foram feitas em cubetas de quartzo, em soluções aeradas sob agitação, e em ambiente livre da luz externa. As reações foram monitoradas espectrofotometricamente. Para essas medidas, utilizou-se também azul de metileno em etanol como padrão ($\Phi_\Delta = 0,52$ [146]). A quantificação do oxigênio singlete foi realizada tomando-se por base o consumo do substrato oxidável DPBF. A equação a seguir permite a obtenção dos valores de Φ_Δ [80].

$$\Phi_\Delta = \Phi_\Delta^p \frac{k_r}{(1-T)} \frac{(1-T)^p}{(k_r)^p} \left(\frac{n_a}{n_p} \right)^2 \quad (\text{Eq. 48})$$

onde k_r e k_r^p são, respectivamente, as taxas de consumo do DPBF, estimada considerando-se uma cinética de pseudo-primeira ordem, n_a é o índice de refração da amostra e n_p do padrão, $(1-T)$ e $(1-T)^p$ representam a razão entre a intensidade de radiação absorvida pela amostra e pelo padrão. Como por definição, $T = I_r/I_0$, onde I_r é a intensidade de radiação transmitida, e I_0 é a intensidade de radiação incidente, tem-se, por conseguinte, que $1-T \equiv I_{abs}/I_0$. Essa medida relativa nos permite estimar a razão $(I_{abs})^p/I_{abs}$, que é uma medida da razão do número de fôtons absorvidos pelas duas soluções,

$$\frac{(1-T)^p}{(1-T)} = \frac{(I_{abs})^p}{(I_{abs})} = \frac{\text{Fôtons absorvidos pelo padrão}}{\text{Fôtons absorvidos pela amostra}} \quad (\text{Eq. 49})$$

Utilizou-se, nas medidas, uma massa de DPBF sempre próxima a 0,130 mg e uma concentração de FtZn igual a $1,0 \times 10^{-6}$ M em balão volumétrico de 10,0 mL. O consumo de DPBF foi monitorado em diferentes tempos de fotólise (0 a 10 min) pela medida da absorvância do DPBF a 417 nm. Foram feitos também, experimentos iguais ao descrito

acima, mas com a diferença de que foi adicionada à solução uma solução de iodo de modo que sua concentração no balão volumétrico fosse igual a $1,0 \times 10^{-6}$ M. Essas medidas foram feitas em SDS e CTAB, com o intuito de avaliar o efeito do átomo pesado sobre o Φ_{Δ} .

3.2.7 Cálculos Mecânico-Quânticos

A estrutura da FtZn foi modelada empregando o método Semi-Empírico PM3 (UHF, Gradiente Conjugado – PolakRibiere, limite de convergência igual a 0,01 kcal/(\AA mol)). Os estados eletrônicos foram calculados por Interação de Configurações (RHF, PM3-CI, com 3 orbitais moleculares (OM) ocupados e 3 desocupados, totalizando a interação de 400 diferentes configurações da molécula), enquanto que o espectro eletrônico foi calculado usando o método ZINDO/S (Fatores de peso usados na sobreposição dos orbitais: $\sigma-\sigma = 1,267$, $\pi-\pi = 0,589$, 25 OM ocupados, 25 OM desocupados e 1251 configurações) [148].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação Fotofísica da Ftalocianina de Zinco em diferentes meios

A Tabela a seguir apresenta dados fotofísicos obtidos para a FtZn em diferentes meios. Os solventes estão dispostos em ordem crescente de polaridade, segundo a escala $E_T(30)$.

Tabela 4 – Propriedades fotofísicas da FtZn em diferentes meios.

Solvente	λ_{abs} (nm)	λ_{exc} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu^a$ (cm ⁻¹)	$E_T(30)$, kcal/mol ^b	Φ_f
Glicerol	673	640	679	131,3	27,5*	0,017
n-Decano	665	640	667	45,1	31,0	0,117
Tetracloreto de Carbono	670	640	673	66,5	32,4	0,096
THF	666	640	672	134,1	37,4	0,127
Clorofórmio	672	640	674	44,2	39,1	0,134
DMF	669	640	674	110,9	43,8	0,092
DMSO	672	640	675	66,1	45,1	0,069
ACN	664	640	670	134,9	45,6	0,088
SDS	675	640	679	87,3	46,3*	0,092
2-Butanol	669	640	673	68,8	47,1	0,096
Octanol	671	640	674	88,3	48,1	0,149
2-Propanol	667	640	671	89,4	48,4	0,089
1-Butanol	669	640	672	66,7	49,7	0,106
Etanol	665	640	668	67,5	51,9	0,086
Etilenoglicol	673	640	676	65,9	54,9	0,131
Metanol	666	640	670	89,6	55,4	0,119
CTAB	673	640	676	65,9	24,9*	0,002

^a Valores calculados a partir dos números de onda de absorção e emissão. ^b Valores calculados a partir do comprimento de onda de excitação.* Valores obtidos pela correlação da Figura 7 (Pag. 75).

A Figura 7 apresenta a correlação entre os valores de Φ_f e a escala de polaridade $E_T(30)$,

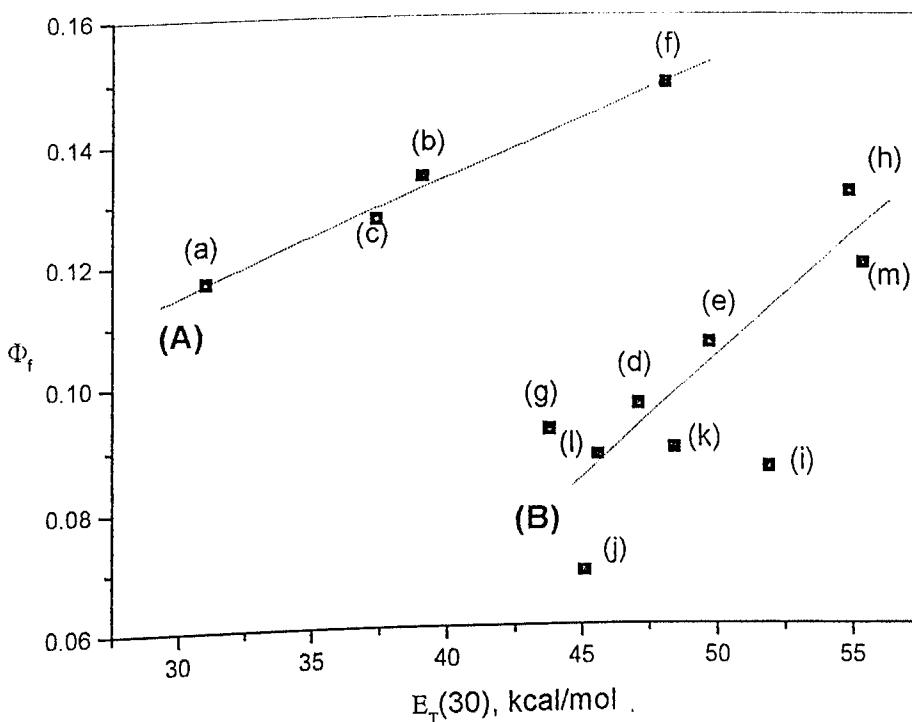


Figura 7 – Relação obtida entre polaridade do solvente descrita pela escala $E_T(30)$ e rendimento quântico de fluorescência. (A): (a) n-Decano, (b) Clorofórmio, (c) THF e (f) Octanol; $\Phi_f = 0,058 + 0,002 E_T(30)$ e $R = 0,99$. (B): (d) 2-Butanol, (e) 1-Butanol, (g) Dimetilformamida (DMF), (h) Etilenoglicol, (i) Etanol, (j) DMSO; (k) 2-Propanol, (l) Dimetilformamida (DMF), (m) Metanol; $\Phi_f = -0,093 + 0,004 E_T(30)$ e $R = 0,93$.

A escala $E_T(30)$ permite considerar interações específicas entre soluto e solvente, o que a torna de grande aplicabilidade, [11,22]. Assim, diferentes parâmetros podem ser considerados, visto que os efeitos do solvente sobre os espectros de absorção e emissão, são resultados de diferentes interações, que dependem não apenas da constante dielétrica e do índice de refração, como ocorre com a escala de Lippert [10], mas, também, das interações específicas entre o solvente e o fluoróforo [21]. As tendências observadas mostram a viabilidade do uso dessa escala na análise dos dados fotofísicos coletados, ao contrário do que aconteceu ao se aplicar a escala de polarizabilidade de orientação (Δf), onde nenhuma tendência clara pode ser observada [149].

Os valores estimados para o Φ_f da FtZn nos diferentes solventes (Tab. 4), são consideravelmente baixos. Isso se explica se considerarmos que a diferença de energia entre os estados $S_1 (\pi,\pi^*)$ e S_2 (provavelmente n,π^*) é pequena, o que torna possível a mistura desses estados. É sabido que estados excitados com característica n,π^* não apresentam boa fluorescência [25]. Assim, ocorrendo a mistura de estados, o resultado esperado é uma redução no valor do Φ_f . Essa pequena diferença de energia é confirmada pelos cálculos Mecânico-Quânticos,

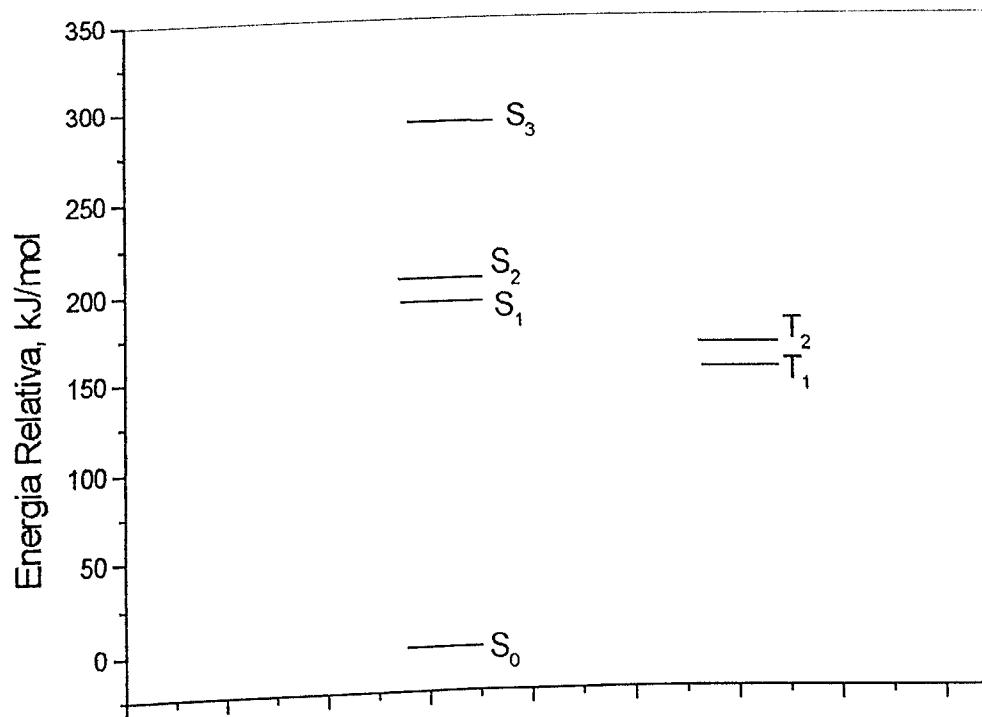


Figura 8 – Diagrama de energia dos primeiros estados eletrônicos excitados da Ftalocianina de Zinco, obtido por cálculo PM3-CI.

O diagrama de energias (Fig. 8) retrata a estrutura dos primeiros estados excitados da FtZn, prevista por CI. Pode-se observar que a $\Delta E (S_1, S_2)$ foi estimada como tendo um valor em torno de 16,7 kJ/mol, suficientemente baixo para favorecer a mistura dos estados S_1 e S_2 .

Em conformidade com o modelo de Reichardt [22], duas diferentes tendências de aumento do Φ_f podem ser observadas (Fig. 7), uma, mais intensa, para solventes próticos e outra para os apróticos. Esse aumento no valor do Φ_f pode ser explicado se considerarmos que a solvatação do estado S_1 , sendo este estado tipicamente π,π^* , tende a reduzir sua energia, e se acentua com o aumento da polaridade do meio [25]. As interações específicas proporcionadas pelos solventes próticos devem introduzir uma componente de solvatação adicional à obtida pelo aumento de polaridade dos solventes apróticos, refletindo em um maior aumento da ΔE (S_2, S_1). É muito provável que as interações proporcionadas pelos solventes próticos envolvam o centro metálico, além das interações polares com o macrociclo. Essas últimas, deverão ocorrer também com os solventes apróticos. Esta possibilidade é suportada pela estrutura eletrônica do Zn (II), que torna possível interações com espécies ricas em elétrons. Em outras palavras, as interações adicionais devem proporcionar um maior distanciamento entre os estados S_1 e S_2 , no caso dos solventes próticos.

Partindo-se da premissa de que $\Phi_f + \Phi_{ST} + \Phi_{IC} = 1$ e que Φ_{IC} (rendimento quântico de conversão interna) deve ser desprezível graças à “rigidez” da molécula, conclui-se que, considerando os baixos valores de Φ_f apresentados pela FtZn nos diferentes meios, em virtude da ocorrência de mistura de estados (S_1 e S_2), a via desativação da molécula será preferencialmente por ISC, fosforescência e outros processos a partir do estado triplete. A “rigidez” da molécula é sustentada pelos valores desprezíveis observados para o $\Delta\nu$ nos diferentes meios estudados (Tab. 4). O deslocamento de Stokes, pouco significativo, pode ser tomado como um indicativo de que os efeitos relativos à solvatação são pouco evidentes. Embora se espere que por ser um estado majoritariamente π,π^* , o estado S_1 seja mais polar que o S_0 , a elevada simetria da molécula deve acabar por minimizar a influência da solvatação na desativação do estado excitado por conversão interna.

Pelo diagrama de energias da FtZn (Fig. 8), pode-se ainda observar que a $\Delta E(S_1, T_2)$ possui um valor em torno de 54,3 kJ/mol, o que sugere o favorecimento do ISC. Por outro lado, a conversão $T_2 \rightarrow T_1$ é por si só rápida, já que envolve estados de mesma multiplicidade [5,25].

Embora a simetria dos estados T_1 e T_2 não tenha sido tratada neste trabalho, o resultado das medidas de τ_T da FtZn em DMSO (Tab. 7, pg. 92) e a sua boa capacidade de fotossensibilização, nos permitem especular que T_1 deve ser majoritariamente π,π^* .

É importante ressaltar que as energias apresentadas no diagrama de energias, foram calculadas considerando-se a molécula isolada, ou seja, sem a interação com moléculas de solvente, e também empregando um método bastante aproximado, já que se trata de um método semi-empírico. Por exemplo, a energia de T_1 estimada é de 151 kJ/mol, enquanto que o valor estabelecido experimentalmente situa-se em torno de 109 kJ/mol (1095 nm [150]). Assim, devem-se esperar discrepâncias entre os valores observados e os calculados. É claro que, ampliando-se o número de configurações e introduzindo-se a solvatação da molécula, espera-se que o resultado final seja bem melhor.

Embora haja uma diferenciação de tendências entre os solventes próticos e os apróticos, uma aparente anomalia com relação ao comportamento da FtZn em 1-octanol deve ser relatada. O comportamento desse álcool é bem diferente do observado para outros álcoois dentro da escala E_T (30). Isso pode ser explicado pelo fato de que o aumento do comprimento da cadeia dos álcoois resulta em um decréscimo não-linear do valor da $E_T(30)$ [151], em virtude de um decréscimo na concentração molar de grupos OH, de modo que esses álcoois passam a apresentar um comportamento muito próximo do de um hidrocarboneto [151].

Pela relação obtida pela Figura 7, pode-se estimar o valor do $E_T(30)$ para os ambientes micelares formados por SDS e CTAB. Assim, os valores são 46,3 kcal/mol e 24,9 kcal/mol, respectivamente. O valor observado para o deslocamento espectral produzido pela FtZn em CTAB é muito baixo, mas coerente com o valor praticamente desprezível de Φ_f (=0,002). A causa para essa anomalia, considerando que o microambiente no qual a FtZn deve preferencialmente se alojar deve ser bastante polar, é o forte acoplamento spin-órbita induzido pelos íons brometo, favorecendo a conversão $S_1 \rightarrow T_2$ (ISC).

Deve-se ressaltar que as soluções de SDS e CTAB foram preparadas com concentrações iguais a $30,0 \times 10^{-3}$ mol dm⁻³ e 10,0 mol dm⁻³ acima das suas respectivas

concentrações micelares críticas (CMC), de modo a garantir, que no meio estivesse presente uma considerável concentração de micelas [80].

Metais diamagnéticos como In, Al, e Zn tendem a extender o tempo de vida de triplete, o que implica em uma maior fotoatividade para as metalo-ftalocianinas contendo esses metais no centro do macrociclo [107]. Por outro lado, metais paramagnéticos intensificam a ocorrência de conversão interna, o que reduz o τ_T , tornando o corante inativo [107]. Assim, conclui-se que a presença do átomo de zinco na estrutura da ftalocianina deve ser um dos responsáveis pelos valores de Φ_f tão pequenos. Tem-se aí um equilíbrio de duas tendências associadas ao zinco: o aumento no τ_T e ao mesmo tempo um favorecimento do processo de ISC. Essa última tendência decorre do efeito do átomo pesado que resulta no favorecimento do acoplamento spin-órbita [5].

A figura a seguir, corresponde aos espectros de absorção (DMF e SDS) e emissão (etanol, DMF e SDS) da FtZn. Os máximos de absorção correspondentes à banda Q (669 nm, para DMF e 675 nm, para SDS) são relativos à transição $S_0 \rightarrow S_1 (\pi\pi^*)$.

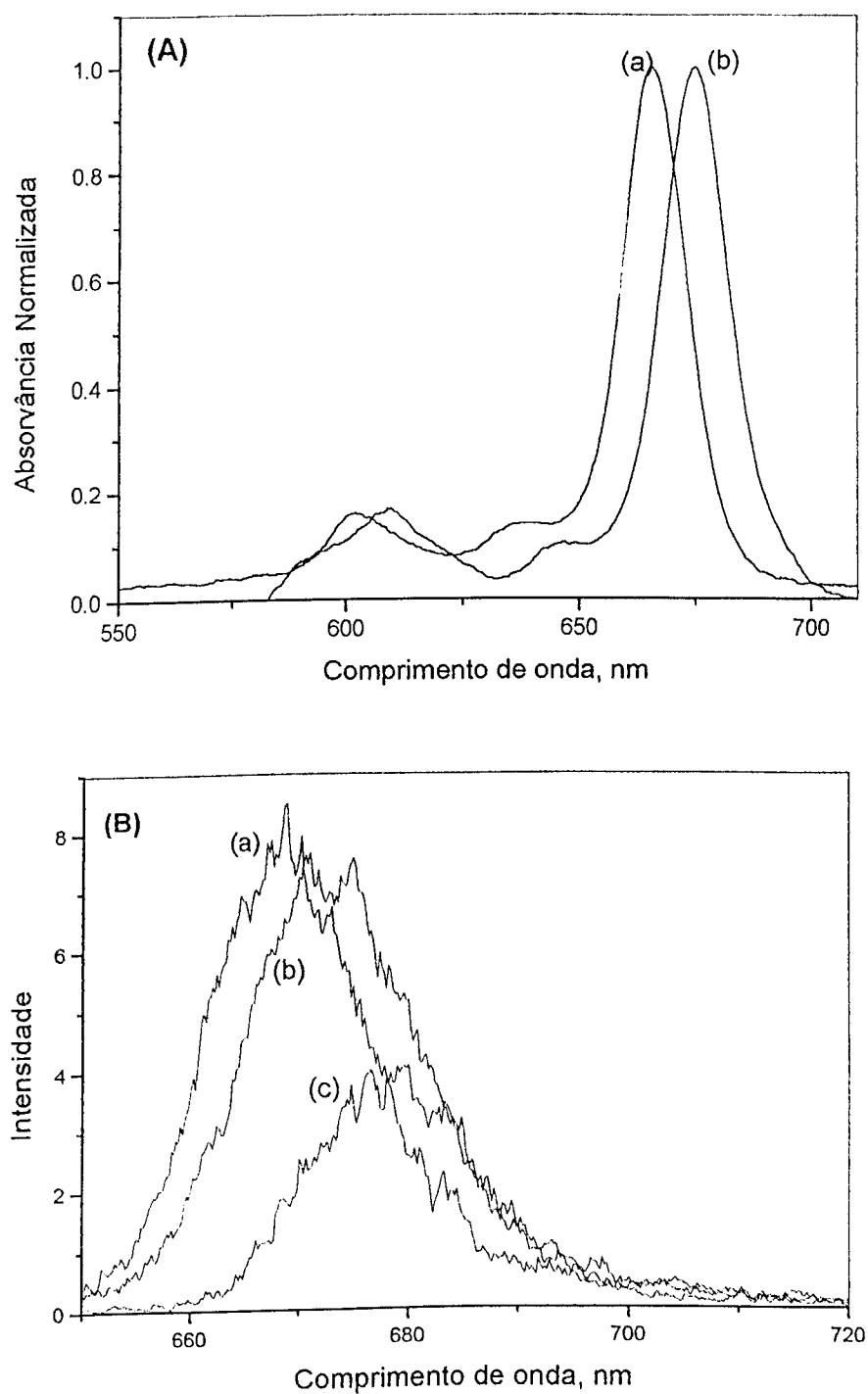


Figura 9 – (A) Espectro de absorção normalizado para a *FtZn* em (a) DMF, $\lambda_{abs} = 669$ nm e (b) SDS, $\lambda_{abs} = 675$ nm. (B) Espectro de fluorescência a 298 K da *FtZn* em (a) Etanol, $\lambda_{em} = 669$ nm e, $\lambda_{exc} = 640$ nm; (b) DMF, $\lambda_{em} = 674$ nm e, $\lambda_{exc} = 640$ nm e (c) SDS, $\lambda_{em} = 679$ nm e $\lambda_{exc} = 640$ nm. As soluções foram preparadas com concentrações em torno de 10^{-7} M.

A Figura 9(A) indica uma melhor solvatação da FtZn em SDS, observada pelo deslocamento batocrômico da banda de absorção em meio micelar (diminuição da energia de transição). Observa-se pela Figura 9(B) e Tabela 4, que a ftalocianina fluoresce menos em SDS, o que pode ser uma indicação de que o meio, também neste caso, deve favorecer o ISC.

Conforme mencionado anteriormente, com base em resultados de cálculo Mecânico-Quânticos, os estados excitados S_1 e S_2 possuem energias muito próximas. Pela análise dos espectros de absorção, por comparação com o diagrama de estados (Fig. 8), pode-se observar que as energias que correspondem aos estados S_1 e S_2 ($E_1 = 193,5$ kJ/mol, correspondendo a 618 nm e $E_2 = 203,6$ kJ/mol, correspondendo a 586 nm) estão muito próximas dos máximos de absorção observados nos espectros experimentais (no caso do DMF, 669 nm e 605 nm). Os desvios são de, respectivamente, 9% para o estado S_1 e 3% para o S_2 . Assim, embora os métodos semi-empíricos sejam de certa forma não muito conclusivos, considerando-se as limitações inerentes à parametrização e funções de base empregadas [152], observa-se uma boa correlação entre os valores teóricos e experimentais, talvez devido ao fato de que esses resultados tenham sido derivados de cálculos CI pouco mais confiáveis no concernente à estrutura eletrônica [134]. Assim, a banda situada em torno de 605 nm no espectro de absorção (Fig. 9A), que corresponde à teórica a 586 nm, é característica do estado eletrônico S_2 . A baixa intensidade verificada para essa banda vem a justificar o estado S_2 como sendo de caráter n,π^* .

As metalo-ftalocianinas têm sido bastante estudadas em virtude do seu potencial de emprego em TFD por vários motivos, e um deles é a elevada absortividade molar apresentada [106]. Por exemplo, a FtZn apresenta em DMF uma absortividade molar da banda Q igual a $2,53 \times 10^5$ mol⁻¹ L cm⁻¹. Um aspecto bastante favorável a esse composto é sua absortividade molar elevada dentro da chamada “Janela Fototerapêutica” [36,37] o que não ocorre tão bem com o Photofrin II, que possui uma absortividade cerca de cem vezes menor nesta região [82]. Assim, é preciso uma concentração, pelo menos, 100 vezes menor de FtZn em relação ao Photofrin II para que a fotossensibilização pelos dois seja equivalente.

O Φ_f da FtZn a baixa temperatura foi obtido somente em etanol, por razões técnicas. No entanto, espera-se que não haja grandes mudanças com relação aos outros

solventes, visto que o $\Delta\nu$ da FtZn nos diferentes meios estudados é extremamente pequeno (Tab. 4). O espectro de fluorescência a 77 K é apresentado na Figura 10.

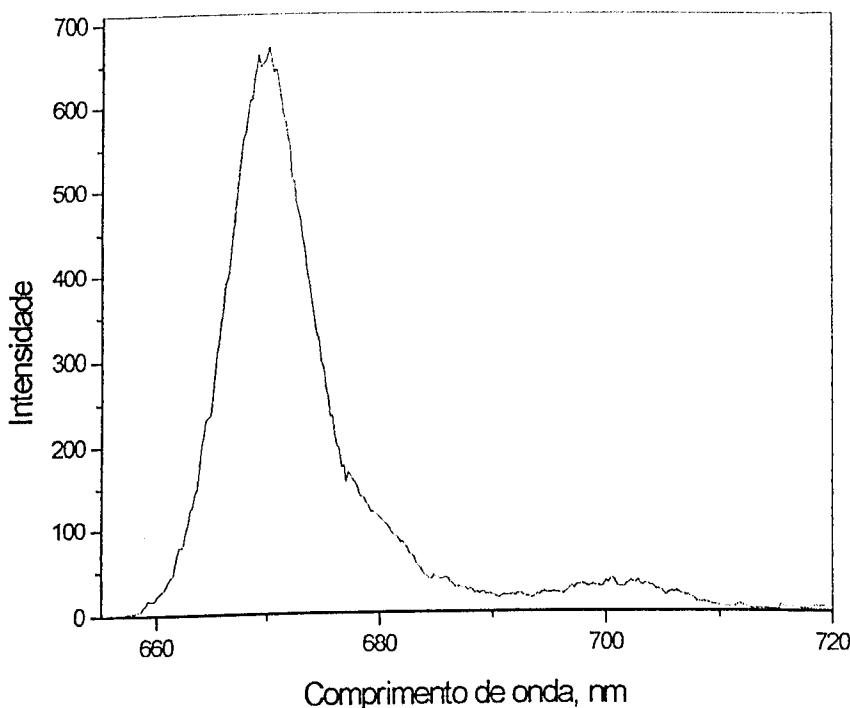


Figura 10 – Espectro de fluorescência da Ftalocianina de Zinco em etanol a 77 K, $\lambda_{em} = 670$ nm e , $\lambda_{exc} = 640$ nm.

O espectro de emissão de fluorescência a 77 K apresenta duas bandas, mostrando boa similaridade com o espectro de absorção. O Φ_f medido é igual a 0,105, superior ao observado à temperatura ambiente (Tab.4). Isso era esperado, já que a essa temperatura toda a possibilidade de desativação do estado excitado S_1 por IC é eliminada, restando para esse composto a desativação por fluorescência e processos a partir do estado triplete. Deve-se ressaltar que no caso desse composto a fluorescência não é o processo de desativação preponderante, já que a mistura entre os estados $S_1(\pi,\pi^*)$ e $S_2(n,\pi^*)$ resulta em um estado onde a probabilidade de ocorrência de fluorescência é muito baixa, diferentemente do que ocorre com moléculas conjugadas rígidas [26]. Assim, a 77 K, a eliminação da IC, como rota de desativação, resulta apenas em um pequeno acréscimo da emissão por fluorescência.

Conforme Vincett e colaboradores observaram [150], a fosforescência dessa ftalocianina ocorre com máximo em torno de 1095 nm, o que descarta a segunda banda apresentada na Figura 10 como uma possível banda de fosforescência. Embora neste trabalho não se disponha de maiores evidências, essa banda deslocada batofluoricamente pode ser característica de fluorescência dual apresentada por esse sistema. A pequena diferença de energia entre os estados S_1 e S_2 é um parâmetro que corrobora com essa possibilidade [80]. Um estudo mais pormenorizado precisa ser feito para se chegar a uma conclusão acerca disso.

Com relação aos meios micelares, pode-se observar (Tab. 4 e Fig.9 A e B) um Φ_f muito pequeno, mostrando que, mais que para os outros meios estudados, a rota de desativação da espécie excitada ocorre através de ISC. Esse comportamento é desejável se o objetivo é a eficiente população do estado T_1 . Em CTAB, por exemplo, o Φ_f é praticamente nulo. O comportamento tão acentuado nesse meio se deve, como já abordado, à presença do átomo pesado (bromo), que tende a favorecer a transição entre estados de multiplicidades diferentes [5,25]. Esse efeito do acoplamento spin-órbita pode ser observado, de forma não tão acentuada como a visualizada na presença de bromo, quando se aumenta o número de átomos pesados na molécula do solvente. Quando compararmos os Φ_f em CHCl_3 e em CCl_4 podemos observar uma redução no Φ_f da FtZn igual a 28%, com o aumento no número de átomos pesados. Sabe-se que a substituição de hidrogênio por cloro, bromo ou iodo resulta no decréscimo do Φ_f tal que $\Phi_f^{\text{H}} > \Phi_f^{\text{Cl}} > \Phi_f^{\text{Br}} > \Phi_f^{\text{I}}$ e consequentemente aumenta a probabilidade de geração de estados triplete [22,29]. Isso pode ser verificado na tabela a seguir,

Tabela 5 – Rendimento quântico de fluorescência e de triplete para o naftaleno e derivados possuindo átomo pesado na sua estrutura [5,25].

Composto	Φ_f	Φ_T
Naftaleno	~ 0,2	0,67
1-Cloronaftaleno	~ 0,05	1,0
1-Bromonaftaleno	~ 0,002	1,0
1-Iodonaftaleno	~ 0,000	1,0

O favorecimento do ISC por efeito do átomo pesado (acoplamento spin-órbita), por outro lado, tende a encurtar o τ_T [5], o que tem sido verificado no presente trabalho (Tab. 7, pg. 92).

Uma avaliação desse efeito foi realizada para soluções de FtZn em metanol e octanol, para as quais foram efetuados experimentos de supressão de fluorescência pela adição de diferentes quantidades de iodo (I_2). A Figura 11 apresenta correlações tipo Stern-Volmer para essas supressões,

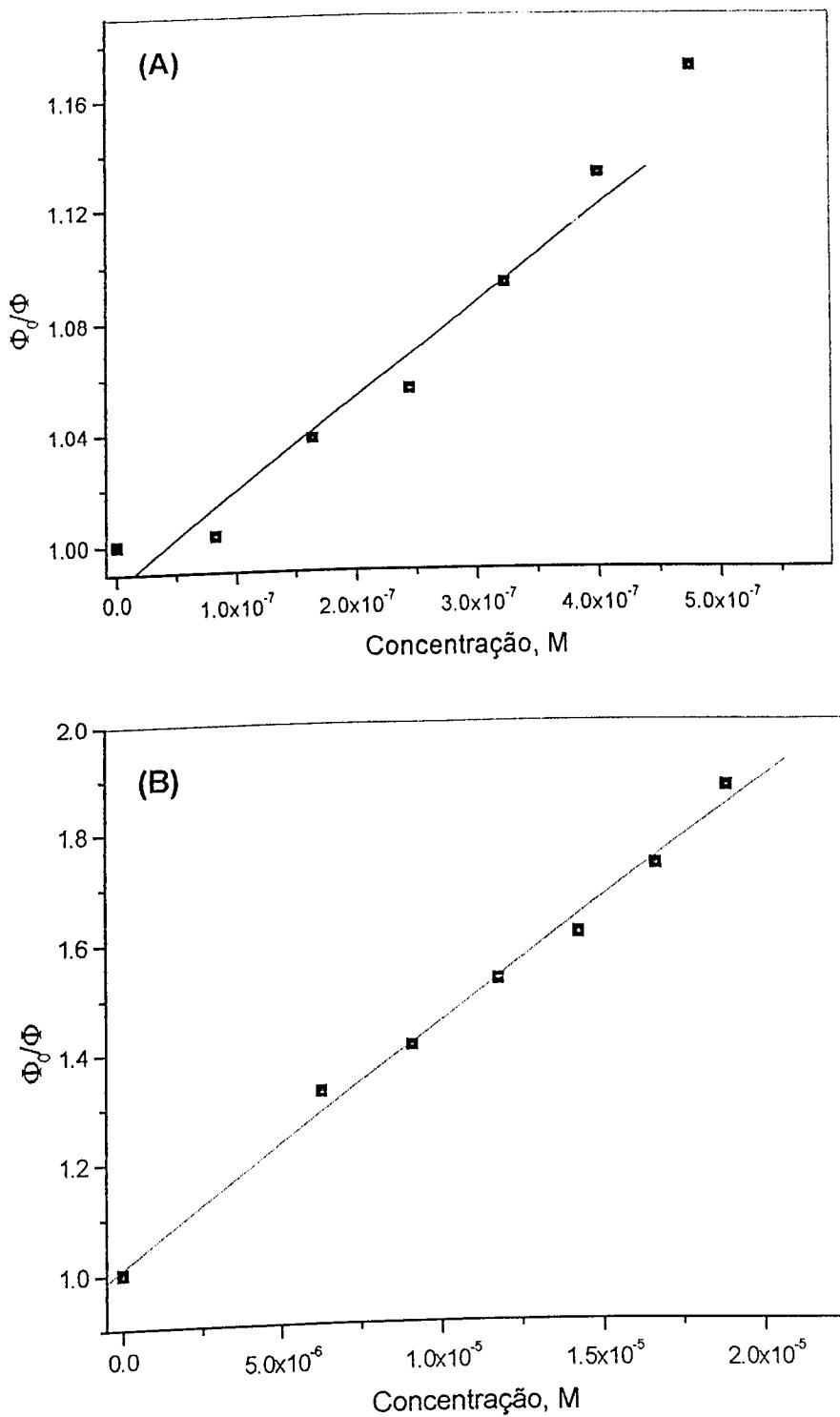


Figura 11 – Relação de Stern-Volmer obtida, experimentalmente para (A) Supressão do Φ_f da F1Zn por iodo em metanol ($\Phi_0/\Phi = 0,99 + 3,5 \times 10^5 [I_2]$, com $R = 0,98$), e (B) Supressão do Φ_f da F1Zn por iodo em octanol ($\Phi_0/\Phi = 1,00 + 4,4 \times 10^5 [I_2]$, com $R = 0,99$).

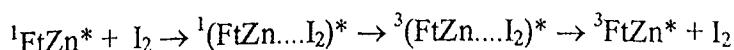
Com base na teoria da supressão dinâmica, temos que a constante de Stern-Volmer (K_{SV}) é dada pela inclinação da reta da Figura 11. A constante de Stern-Volmer (K_{SV}) é o resultado do produto de $k_q\tau^0$, onde τ^0 é o tempo de vida de fluorescência do fluoróforo na ausência do supressor. O valor de τ^0 foi considerado como 5 ns (valor medido para a FtZn em DMF) [153]. Com base neste valor, foi possível fazer uma estimativa da constante difusional do processo, empregando a relação $k_{DIF} = 2 \times 10^5 T/\eta$ [5], onde η é a viscosidade do meio (cP) e T é a temperatura absoluta (298 K). Os valores dessas constantes estão dispostos na tabela a seguir,

Tabela 6 - Constantes de Stern-Volmer, difusional e de supressão de fluorescência da FtZn.

Solvente	K_{SV}, M^{-1}	$k_q, M^{-1} s^{-1}$	$k_{DIF}, M^{-1} s^{-1}$	η, cP
Metanol	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$7,0 \times 10^{13}$	$1,1 \times 10^8$	0,547
1-Octanol	$(4,4 \pm 0,3) \times 10^5$	$8,8 \times 10^{13}$	$5,6 \times 10^6$	10,6

Os valores estimados para as constantes de supressão são muito maiores que as constantes difusionais (por um fator 10^5 no caso do metanol, e 10^7 para o 1-octanol). Portanto, pode-se dizer que não há a necessidade de que se efetive um encontro entre a FtZn e o I₂ para que o processo de supressão observado ocorra. Também, tem-se que a viscosidade do meio não prejudica o processo, o que descarta um processo difusional.

Pelo resultado desse experimento, pode-se adiantar que a supressão observada não é um processo de TE, mas sim fruto do acoplamento spin-órbita induzido pelo I₂. Esse acoplamento permite que a interação entre ¹FtZn* e o I₂ potencialize a formação da espécie excitada triplete (³FtZn*). Segundo a teoria, o exciplexo singlete formado não deve viver tempo suficiente para fluorescer, sofrendo rápido ISC [5],



Partindo da possibilidade de formação de um exciplexo envolvendo a $^1\text{FtZn}^*$ e o I_2 , pode-se propor que o mecanismo que leva à conversão de moléculas $^1\text{FtZn}^*$ para $^3\text{FtZn}^*$ deve ser muito similar ao observado para TE a curtas distâncias [25], embora, não se tenha dúvidas de que esse processo não envolve qualquer TE. A Figura 12 confirma isso, pois, como se pode ver, não existe qualquer sobreposição entre as curvas de absorção do I_2 e de emissão da FtZn [5,25].

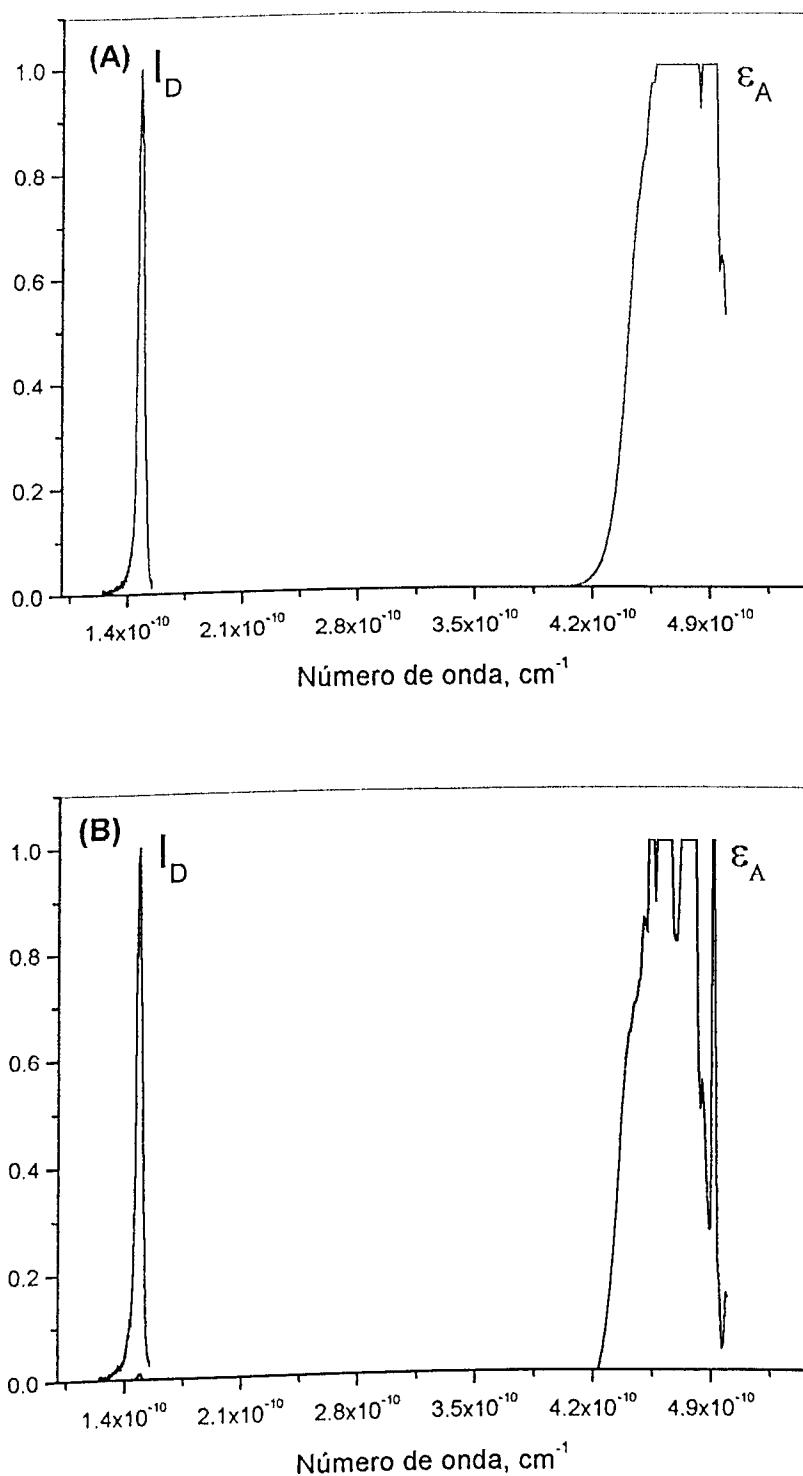


Figura 12—Espectros normalizados (A) de emissão da *FitZn* (I_D) e absorção do I_2 (ϵ_A) em metanol e (B) de emissão da *FitZn* (I_D) e absorção do I_2 (ϵ_A) em 1-octanol. A concentração de todas as soluções foi igual a $1,0 \times 10^{-7} M$.

Com base em simulação teórica (PM3, Fig. 13), o sítio mais favorável na FtZn para induzir a formação do exciplexo com o iodo é o centro metálico. Quanto à geometria desse exciplexo, com base nos resultados, pode-se especular que o I₂ encontra-se inclinado 60° com relação ao plano da molécula. A interação Zn...I₂ deve ter como resultado uma distorção na estrutura eletrônica da FtZn que deve implicar no favorecimento da conversão singlete-triplete.

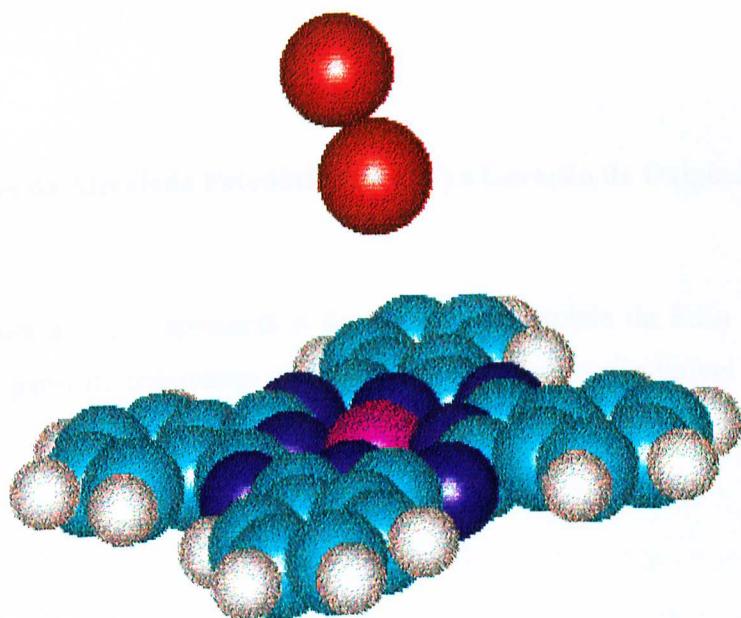


Figura 13 – Idealização de um exciplexo singlete formado pela Fталоцианина de Zinco e o iodo, calculado usando o método PM3. A distância estimada para a interação Iodo-Zinco é de 7,31 Å. O ângulo I-I-Zn é igual a 137,1°, e a inclinação estimada entre os átomos de iodo e o plano da molécula, de 60°. A distância I-I calculada é igual a 2,636 Å, enquanto o valor experimental é igual a 2,666 Å [156].

A estimativa feita por cálculo teórico envolvendo as moléculas no estado fundamental indica uma distância de equilíbrio igual a 7,31 Å, compatível com processos fotofísicos que envolvem sobreposição de orbitais [5]. No entanto, esse valor não deve diferir muito no caso do exciplexo, considerando-se que a estrutura da ¹FtZn* deve ser, na prática, muito similar à da FtZn.

O menor valor de Φ_f em CTAB, e o consequente favorecimento da transição singlete-triplete só é justificável, portanto, se considerarmos a presença do “átomo pesado” que induz a mudança na disposição dos orbitais envolvidos, permitindo sua sobreposição, e consequentemente a ocorrência da transição [5,25]. A mútua perturbação entre o I₂ e a ¹FtZn* deve ser, neste caso, o fator responsável pelo acoplamento spin-órbita, resultando no efeito observado de supressão da fluorescência.

Embora o efeito do átomo pesado estimule o acoplamento spin-órbita e por conseguinte a conversão singlete-triplete, ele é responsável pelo encurtamento do τ_T [5,25].

4.2 Avaliação da Atividade Fotodinâmica (AF) e Geração de Oxigênio Singlete pela FtZn.

A figura a seguir apresenta o decaimento do triplete da FtZn em dois meios diferentes. A partir do tratamento matemático dessas curvas, é possível a obtenção dos valores de τ_T .

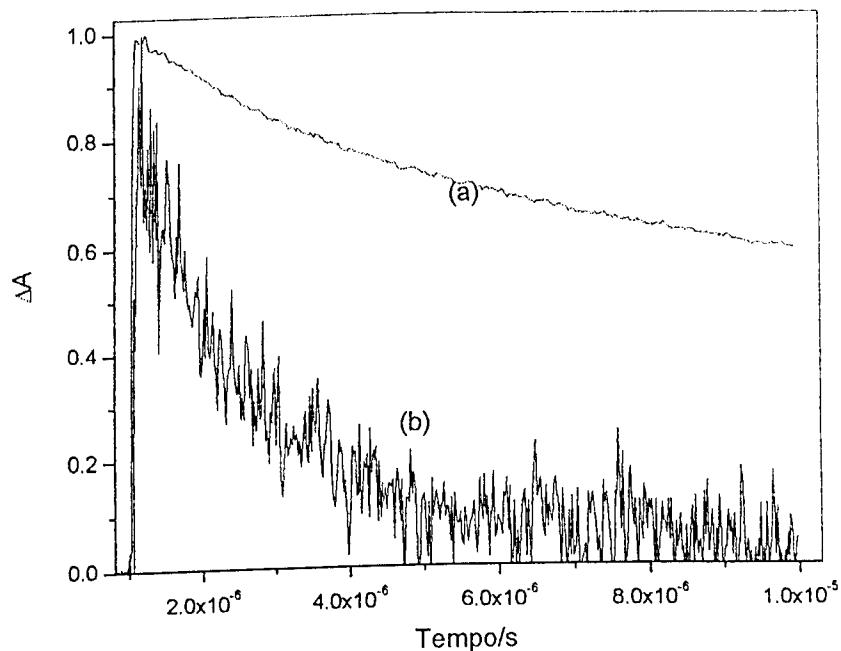


Figura 14 – Decaimento exponencial, normalizado, da variação de absorvância do estado triplete excitado da FtZn com o tempo em (a) DMSO e (b) CTAB. As espécies foram excitadas em 355 nm, e o decaimento do triplete foi monitorado em 480 nm.

O tratamento das curvas foi feito a partir do ponto inicial do decaimento, o que corresponde a $1\mu\text{s}$ após o pulso do laser para ambos os decaimentos. O decaimento de ambas as curvas é monoexponencial, conforme esperado. Com base nesses decaimentos, chegou-se aos valores de τ_T : em CTAB, $1,8\ \mu\text{s}$, e em DMSO, $53\ \mu\text{s}$. Esses valores de τ_T reforçam a proposição de que como consequência da presença de Br^- nas micelas de CTAB, a conversão singlete-triplete é favorecida, e os estados triplete gerados tendem a sofrer um considerável encurtamento nos seus τ_T . Assim, o que favorece a geração de estados triplete é o mesmo que, a princípio, pode comprometer uma eficiente produção de ${}^1\text{O}_2$.

Por outro lado, a presença de espécies dissociadas interagindo com um fotossensibilizador tende a comprometer a produção de ${}^1\text{O}_2$, pois favorecem a sua supressão [154]. Isso pode reduzir o Φ_Δ , o que realmente se observa em SDS e CTAB (Tab. 7). Valduga e colaboradores [129] estimaram um Φ_Δ igual a $0,70 \pm 0,04$ para a FtZn confinada em um lipossomo (Dipalmitoilfosfatidilcolina – DPPC). Neste caso, a FtZn foi incorporada à bicamada lipídica do lipossomo, o que deve ter reduzido

significativamente a ação supressora dos íons presentes na fase aquosa, o que explica o Φ_Δ elevado observado. Lipossomos têm sido propostos como transportadores eficientes para agentes fototerapêuticos. Reddi, em um trabalho seminal demonstrou sua eficácia *in vivo* [155]. Em trabalho recente, Oliveira tem demonstrado que a associação de colesterol aos lipossomos contendo FtZn resulta em aumento da resposta frente a células tumorais [156].

A Tabela 7 apresenta dados de AF e Φ_Δ obtidos neste trabalho, em comparação com dados da literatura,

Tabela 7- Atividade Fotodinâmica e outros parâmetros fotodinâmicos da FtZn

Meio	AF (m^2/Ws)	$\tau(^1O_2)$, μs^c	τ_T , μs^c	Φ_Δ
SDS	42 ± 2^a 49 ± 2 [157] 27 ± 1^b	4	-	$0,07 \pm 0,01^a$ $0,16 \pm 0,02^b$
DPPC			-	$0,70 \pm 0,04$ [129]
CTAB	26 ± 2^a 30 ± 1^b	4	1,8	$0,08 \pm 0,01^a$ $0,22 \pm 0,02^b$
THF				$0,53$ [158]
Tolueno				$0,40$ [129]
Etanol	79 ± 2^a	14	-	$0,46 \pm 0,01^a$ $0,40$ [129]
DMSO	48 ± 2^a	30	53	$0,39 \pm 0,01^a$ $0,40^c$ $0,67$ [130]
Clorofórmio	170 ± 3^a	230 - 250	-	$1,39 \pm 0,02^a$
Tetracloreto de Carbono	263 ± 2^a	59	-	$3,42 \pm 0,01^a$
Solução Fisiológica*	24 ± 2 [81]			

^a Medidas em estado estacionário. ^b Medidas realizadas na presença de iodo. ^c Medidas resolvidas no tempo. * Medida da AF para o Photofrin II

A AF pode ser interpretada como sendo uma medida da efetividade de um fotossensibilizador em gerar espécies ativas que inviabilizem células tumorais e outros sistemas (vírus, bactérias, etc.). Como suas unidades equivalem ao inverso da dose, quanto maior o valor da AF, mais efetivo é o agente fotossensibilizador. Em outras palavras, um bom agente fotossensibilizador é o que precisa de doses pequenas de radiação para apresentar alta eficiência do processo em relação a um dado padrão. O Photofrin II pode ser tomado como padrão, por dois motivos: trata-se de uma droga cujo emprego foi autorizado por diversos órgãos oficiais de controle de medicamentos (como a FDA), além de ter a sua AF quantificada [81]. Nos nossos ensaios, a AF foi medida pelo decréscimo da absorvância do DPBF, um substrato oxidável, seletivo à ação do $^1\text{O}_2$ [60] e de mais fácil manuseio que o AU, proposto por Fischer [81]. Uma medida da AF da FtZn em SDS empregando AU [157], resultou em um valor muito próximo ao obtido no presente trabalho. As condições experimentais foram idênticas, excetuando-se apenas o substrato oxidável. Aparentemente, os valores de AF tendem a crescer em meios nos quais não hajam espécies dissociadas, em consonância com o fato de que na presença de íons o $^1\text{O}_2$ é suprimido mais rapidamente [154], o que acaba por reduzir ou inviabilizar reações mediadas por essa espécie. No entanto, isso não é o suficiente para suprimir completamente a reatividade da FtZn, conhecida por também mediar reações de transferência de elétron [130]. Assim, embora tanto em SDS como em CTAB deva ocorrer a supressão do $^1\text{O}_2$ pela ação dos íons presentes em solução, a AF da FtZn é maior nesse meio que em CTAB, quase o dobro do quantificado por Fischer para o Photofrin II [81]. Considerando que em ambos os meios há espécies dissociadas e que o encurtamento do τ_T não afeta o processo de fotossensibilização como será visto mais adiante, pode-se concluir que a diferença observada deve estar associada ao próprio CTAB, que deve estar agindo como supressor físico de espécies ativas de oxigênio.

A adição de átomos pesados fornece um resultado aparentemente inusitado. Enquanto que em SDS a AF diminui, em CTAB permanece praticamente a mesma. A adição de mais átomos pesados, em CTAB, aparentemente não está ocasionando um aumento do efeito já observado, visto que a concentração de iodo ($1,0 \times 10^{-6}$ M) adicionada ao sistema é consideravelmente menor que a concentração de íons brometo em solução ($1,0 \times 10^{-3}$ M).

Já em SDS, seria necessário um estudo mais criterioso para explicar a diminuição da AF com a adição de I₂, já que o esperado era um relativo aumento, visto que a presença do I₂ deveria incrementar a conversão singlete-triplete.

No caso do Φ_{Δ} estimado nos meios micelares, um aumento aproximadamente da mesma magnitude é observado tanto em SDS como em CTAB. É muito provável que esse efeito esteja associado à diminuição relativa na concentração de espécies dissociadas presentes no meio devido à inclusão do I₂. Como o I₂ tende a favorecer a conversão S₁→T₂, sua presença em solução deve minimizar o efeito supressivo dos íons em solução sobre o ¹O₂, já que a taxa de formação de estados triplete deve aumentar. Mesmo que haja um encurtamento no τ_T , um tempo de vida de 1,8 μs é suficiente para viabilizar processos de transferência de energia, resultando na produção de ¹O₂, considerando-se que a difusão do oxigênio nos meios estudados é um processo suficientemente rápido, e que deve ocorrer em uma base de tempo muito inferior a este valor. Um exercício matemático tomado por base as constantes difusionais dispostas na Tabela 6, (pag. 86), mostra que a fotossensibilização do ¹O₂ pela FtZn deve ocorrer em metanol em intervalos de tempo maiores ou iguais a 9 ns, enquanto que em octanol, devido à viscosidade do meio, esse valor é, no mínimo, igual a 180 ns.

A AF não pode ser vista apenas como uma medida da ação do ¹O₂. Os resultados mostram que, em detrimento de baixos valores de Φ_{Δ} e da presença de espécies dissociadas no meio, os valores de AF são consideravelmente altos. Uma explicação para isso é o fato de que a FtZn sensibiliza eficientemente reações de transferência de elétron [130]. Assim, a AF pode ser vista como um parâmetro de reatividade que reúne todos os processos viabilizados ou não a partir do fotossensibilizador. Os valores de Φ_{Δ} apresentados na Tabela 7 apresentam boa concordância com o disponível na literatura. Certa discrepância ocorre no valor estimado em DMSO, pois Kuznetsova e colaboradores avaliaram esse parâmetro como sendo igual a 0,67 [130]. No entanto, os nossos resultados provém do emprego de diferentes metodologias (uma resolvida no tempo, e outra em estado estacionário).

Os valores tanto de AF como de Φ_{Δ} medidos em CHCl₃ e em CCl₄ estão superestimados. Uma avaliação pormenorizada das possíveis causas dessas discrepâncias é desejável, mas muito provavelmente se deve ao longo tempo de vida do oxigênio.

singlete nesses solventes. Medidas resolvidas no tempo podem ajudar a esclarecer este problema. Como o Φ_Δ e a AF possuem uma certa correlação, ao se elucidar as causas que resultaram na estimativa elevada do Φ_Δ nesses solventes, certamente ter-se-á, também, subsídios que expliquem o ocorrido em termos de AF.

5. CONCLUSÃO

O polaridade do meio no qual a FtZn está sendo solvatada exerce grande influência sobre o seu comportamento fotofísico, já que tende a alterar a estrutura eletrônica dos estados excitados. Essas alterações ocorrerão em maior ou menor grau, segundo a solvatação dos estados excitados. O aumento da polaridade do meio é capaz de aumentar a diferença de energia entre os estados S_1 e S_2 , reduzindo a mistura entre esses estados. Isso induz o aumento do Φ_f . Por outro lado, a mistura entre esses estados tende a favorecer a população do estado triplete, ampliando a ação da FtZn como fotossensibilizador. Solventes próticos, tendem a exercer maior influência sobre a mistura de estados que os apróticos. Isso se deve à possibilidade de interações específicas, adicionais àquelas que ocorrem entre solventes apróticos e a FtZn. A AF apresentada pela FtZn é superior à do Photofrin II. Para uma solução de FtZn com concentração $1,0 \times 10^{-6}$ M, é necessária uma dose, pelo menos, 2 vezes menor de radiação para que esta apresente a mesma reatividade do Photofrin II. Levando em conta o fato de que a absorvidade molar da FtZn é cerca de 100 vezes maior que a do Photofrin II, a AF apresentada pela FtZn deve ser pelo menos 200 vezes maior que a do Photofrin II. Uma análise dos resultados sugere que a AF é uma medida da ação de todas as espécies reativas geradas. A AF em SDS, medida neste trabalho, resultou em um valor muito próximo ao obtido utilizando ácido úrico, mostrando a confiabilidade do método de determinação desse parâmetro, mesmo que empregando um outro substrato oxidável. A presença do átomo pesado possui considerável influência no processo de fotossensibilização, já que favorece o ISC; em contrapartida, reduz o τ_T . Esse encurtamento no τ_T não é suficiente para interferir no processo de geração de 1O_2 , já que esse processo ocorre a intervalos de tempo muito curtos. Esse efeito do encurtamento foi observado pelas medidas de τ_T em DMSO e CTAB. A presença de íons dissociados nas soluções é responsável pelo efeito muito rápido de supressão de 1O_2 , o que acaba por reduzir ou inviabilizar reações mediadas por essa espécie. Por isso, nos meios micelares a presença de íons dissociados acaba por reduzir a $[^1O_2]$, o que acaba por fazer com que as medidas de Φ_A por métodos em estado estacionário, sejam subestimadas. Os Φ_A medidos neste trabalho são similares a valores disponíveis na literatura, mostrando que a metodologia de medida em estado

estacionário, empregada neste trabalho, é bastante confiável. Já a superestimação dos valores de Φ_Δ , em CHCl_3 e CCl_4 , pode ser resolvida através de medidas resolvidas no tempo ou talvez empregando outro substrato oxidável, recomendado para solventes onde o tempo de vida do oxigênio singlete é longo.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a relação entre o Φ_f e $[I_2]$ pra a solução de FtZn em solução de SDS em tampão fosfato e em água para definir a influência dos íons presentes na solução.
- Avaliar as medidas de AF e Φ_Δ em tetracloreto de carbono e clorofórmio após um tratamento prévio desses solventes.
- Estudar o efeito de um supressor físico de 1O_2 (por exemplo, o β -caroteno) sobre as medidas de Φ_Δ e AF, sobretudo em CCl_4 e $CHCl_3$.
- Avaliar os parâmetros fotoquímicos Φ_f , AF e Φ_Δ da FtZn em micelas de Triton X-100 em solução aquosa e tamponada.
- Realizar ensaios com a FtZn encapsulada em lipossomos, em meio aquoso e tamponado. Medir Φ_Δ em sistemas lipossômicos com colesterol.
- Cálculos das energias dos estados (S e T) empregando métodos Químico-Quânticos.

7. APÊNDICE

7.1 Produção Bibliográfica

7.1.1 Comunicações Científicas

- MACHADO, A. E. H.; RIBEIRO, J.; CRISTOVAN, F. H., ANDRADE, J. A.; DE LIMA, M. C. V.; BARTASSON, M. C.; FERNANDES, N.; PRADO, V. S. Previsão de Propriedades Moleculares Empregando o Método Semi-Empírico AM1 e Cálcul Ab initio (STO 3G). In: XIII ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 1999, São João Del Rei. Livro de Resumos do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 1999.
- RIBEIRO, J.; COSTA, M. S.; BARTASSON, M. C.; ANDRADE, J. A.; CRUZ, W. O., MACHADO, A. E. H. Desenvolvimento de Derivados da Rodamina B, Usando Modelagem Molecular, Visando sua Aplicação em Terapia Fotodinâmica. 23^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2000, Poços de Caldas. Livro de Resumos da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2000.
- MACHADO, A. E. H., RIBEIRO, J.; MIRANDA, J. A.; DE PAULA, R.; MATOS, M. Evidências da Existência de Estado ICT Excitado (S_2) para o 3-Benzoxazol-2-IL-7-Dietilamino-Cromen-2-Ona. XVI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2002, Viçosa. Livro de Resumos do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2002.
- RIBEIRO, J.; MIRANDA, J. A.; RASTRELO, L. R.; FERREIRA, S. K.; DE PAULA, R.; SEVERINO, D.; MACHADO, A. E. H. Fotofísica da Ftalocianina de Zinco em Meio Micelar. 26^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2003, Poços de Caldas. Livro de Resumos do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2003.

- MACHADO, A. E. H.; RIBEIRO, J.; DE PAULA, R. Formação de Estado S₂ (TICT) a partir da Excitação Eletrônica do Composto 3-Benzoxazol-2-IL-Dimetilamino-Chromen-2-Ona. XII SIMPÓSIO BRSILEIRO DE QUÍMICA TEÓRICA, 2003, Caxambu.
- RIBEIRO, J.; SEVERINO, D.; XAVIER, T. P.; MIRANA, J. A.; SAMORA, R. P.; BORGES, A. A.; KOSHIYAMA, D. R.; MIRANDA, A. E. H. Medida de Parâmetros Fotofísicos e Fotodinâmicos para a Ftalocianina de Zinco em Diferentes Meios. XVII ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2003, Juiz de Fora.
- RIBEIRO, J.; FERREIRA, S. K.; MIRANDA, J. A.; RASTRELO, L. R.; SEVERINO, D.; XAVIER, T. P.; MACHADO, A. E. H. Correlação entre a Estrutura Eletrônica dos Estados Excitados e o Meio sobre as Propriedades Fotofísicas da Ftalocianina de Zinco. XVII ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2003, Juiz de Fora.

7.1.2 Artigo Aceito para Publicação

- MACHADO, A. E. H.; SEVERINO, D.; RIBEIRO, J.; DE PAULA, R. GEHLEN, M. R.; OLIVEIRA, H. P. M.; MATOS, M. S.; MIRANDA, J. A. Solvent Effects on the Photophysics of 3-Benzoxazol-2-Yl-7-(N,N-Diethylamino)-Chromen-2-One. Photochemical & Photobiological Sciences.

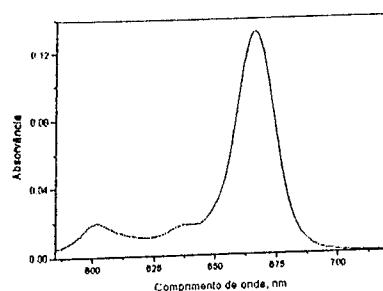
7.1.3 Artigo em Fase de Redação

- RIBEIRO, J.; SEVERINO, D.; MIRANDA, J.; MACHADO, A. E. H. Photophysics Properties of Zinc Phthalocyanine in Homogeneous and Microheterogeneous media.

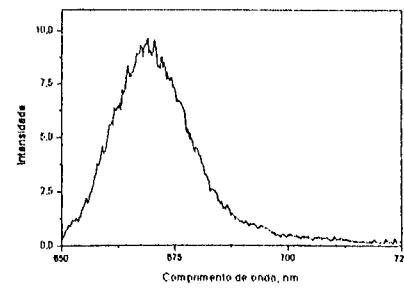
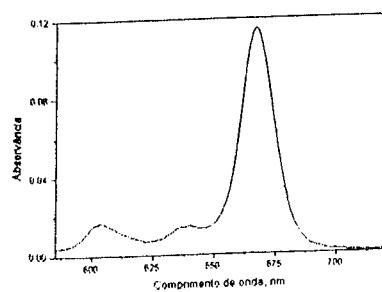
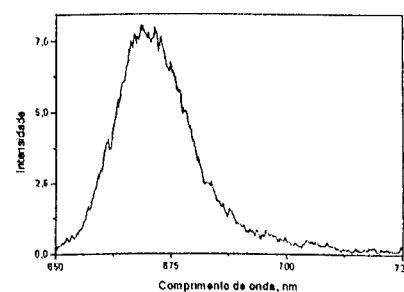
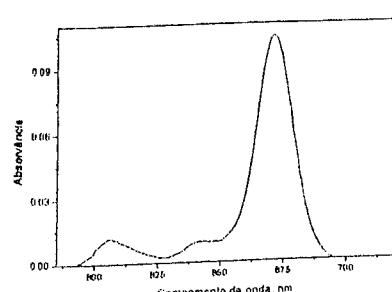
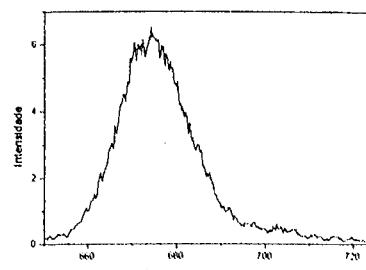
7.2 Apêndice de Figuras

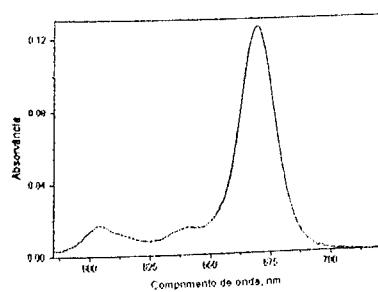
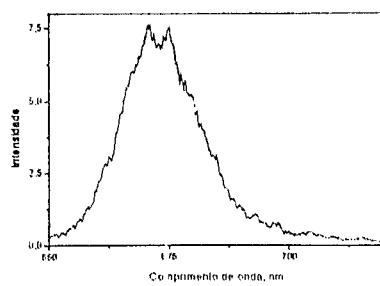
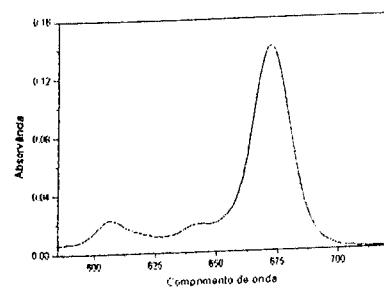
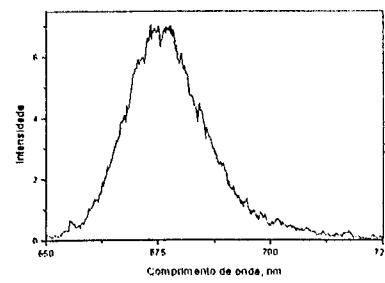
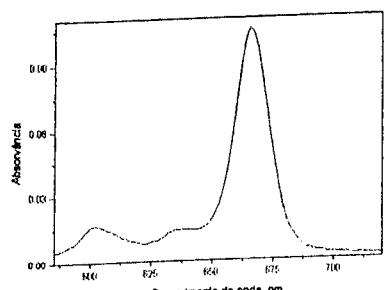
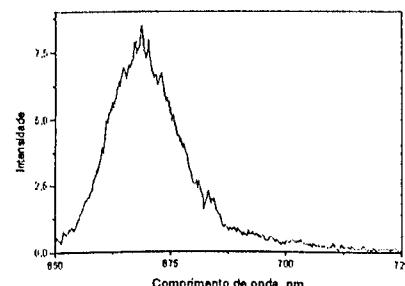
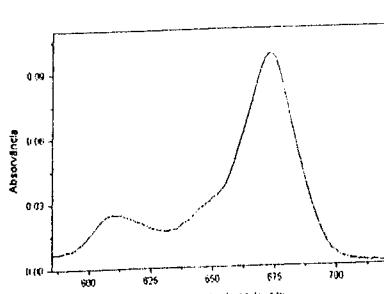
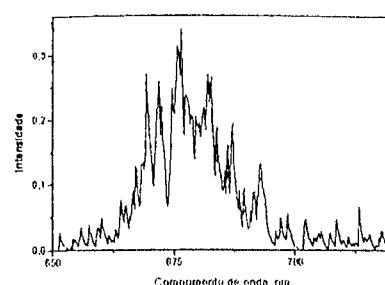
7.2.1 Espectros de absorção(A) e fluorescência (B) do composto Ftalocianina de Zinco nos solventes estudados e em ambiente micelar (30×10^{-3} mol dm $^{-3}$ de SDS e 10×10^{-3} mol dm $^{-3}$ de CTAB em tampão PBS, pH = 7,4). Nota: Para as medidas de fluorescência, a abertura das fendas de excitação e emissão foi igual a 2,5 nm. A lâmpada de Xe operou a 750 V e a velocidade de varredura foi ajustada em 240 nm min $^{-1}$.

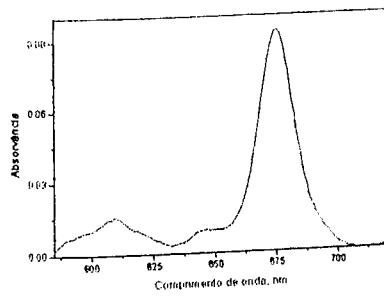
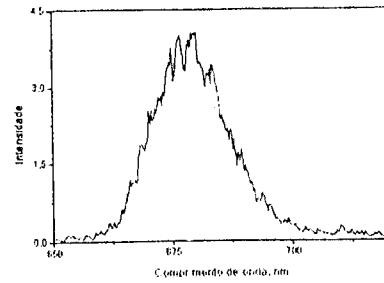
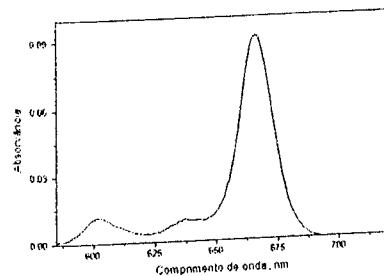
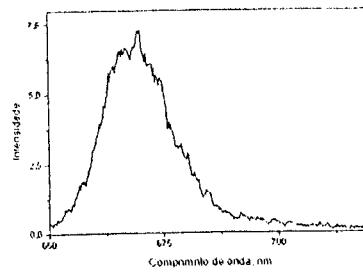
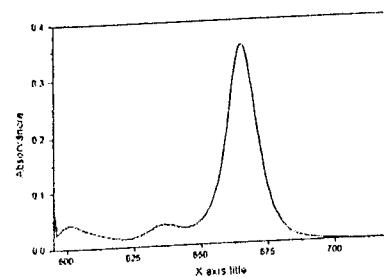
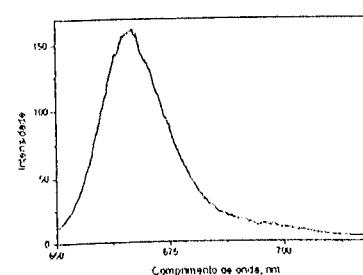
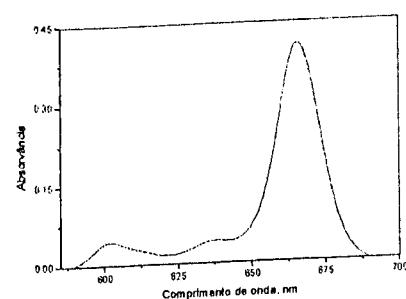
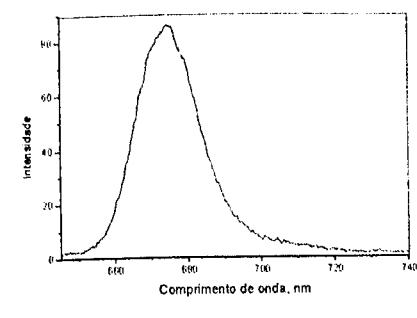
A

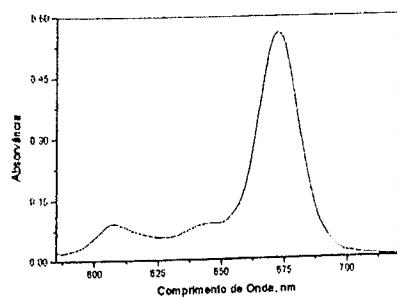
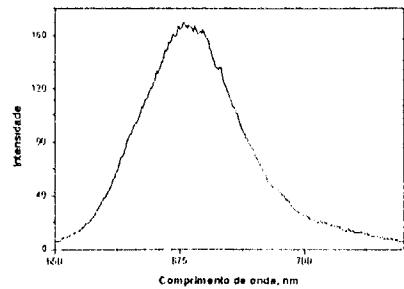
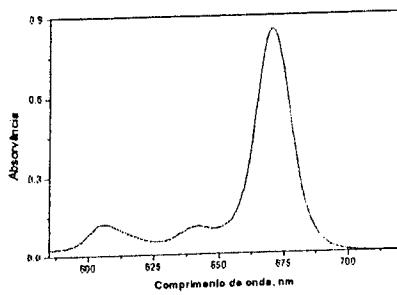
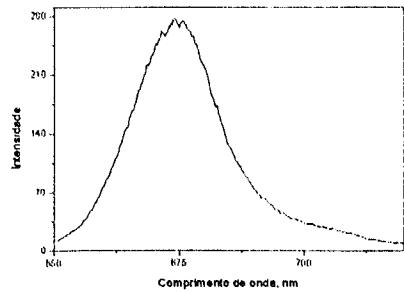
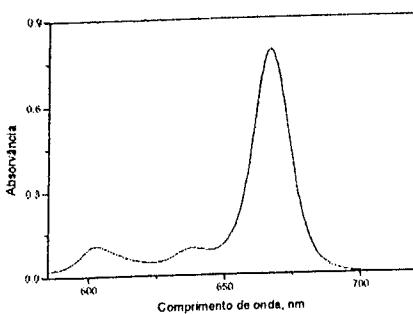
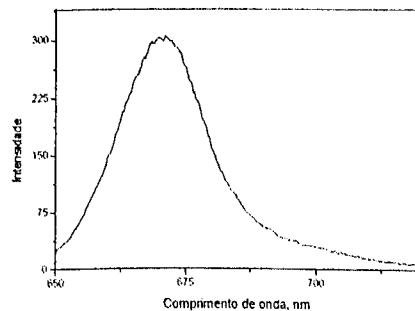
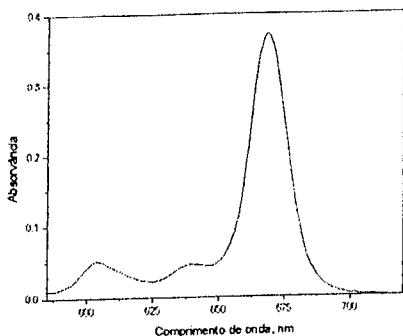
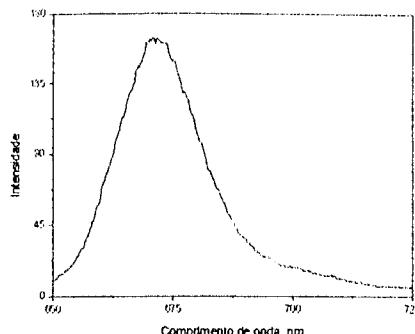
FtZn em Acetonitrila, $\lambda_a = 664$ nm

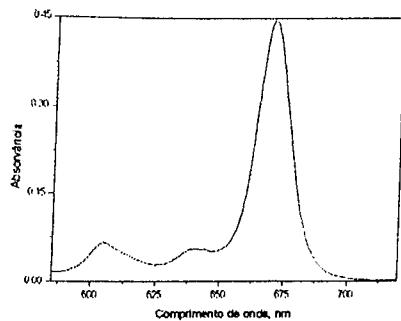
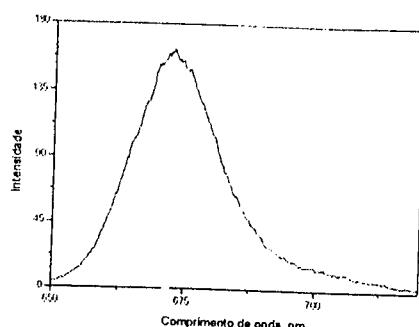
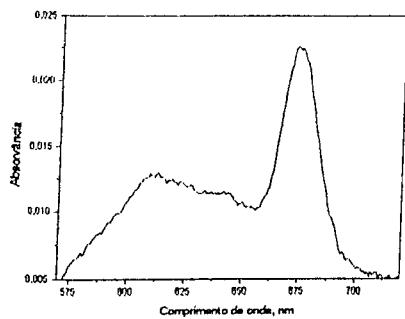
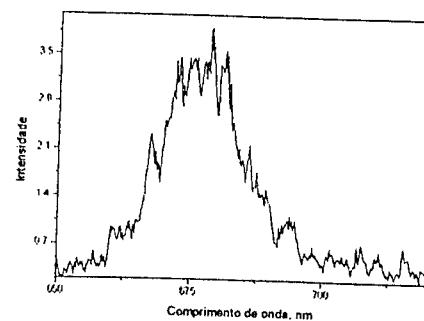
B

FtZn em Acetonitrila, $\lambda_e = 670$ nmFtZn em 2-Butanol, $\lambda_a = 669$ nmFtZn em 2-Butanol, $\lambda_e = 673$ nmFtZn em Clorofórmio, $\lambda_a = 672$ nmFtZn em Clorofórmio, $\lambda_e = 674$ nm

FtZn em DMF, $\lambda_a = 669$ nmFtZn em DMF, $\lambda_e = 674$ nmFtZn em DMSO, $\lambda_a = 672$ nmFtZn em DMSO, $\lambda_e = 675$ nmFtZn em Etanol, $\lambda_a = 665$ nmFtZn em Etanol, $\lambda_e = 668$ nmFtZn em CTAB, $\lambda_a = 673$ nmFtZn em CTAB, $\lambda_e = 676$ nm

FtZn em SDS, $\lambda_a = 675$ nmFtZn em SDS, $\lambda_e = 679$ nmFtZn em THF, $\lambda_a = 666$ nmFtZn em THF, $\lambda_e = 672$ nmFtZn em Decano, $\lambda_a = 665$ nmFtZn em Decano, $\lambda_e = 667$ nmFtZn em Metanol, $\lambda_a = 666$ nmFtZn em Metanol, $\lambda_e = 670$ nm

FtZn em Etilenoglicol, $\lambda_a = 673$ nmFtZn em Etilenoglicol, $\lambda_e = 676$ nmFtZn em Octanol, $\lambda_a = 671$ nmFtZn em Octanol, $\lambda_e = 674$ nmFtZn em 2-Propanol, $\lambda_a = 671$ nmFtZn 2-Propanol, $\lambda_e = 671$ nmFtZn em 1-Butanol, $\lambda_a = 669$ nmFtZn em 1-Butanol, $\lambda_e = 672$ nm

FtZn em Tetracloreto de Carbono, $\lambda_a = 670$ nmFtZn em Tetracloreto de Carbono, $\lambda_e = 673$ nmFtZn em Glicerol, $\lambda_a = 673$ nmFtZn em Glicerol, $\lambda_e = 679$ nm

7. 3 Apêndice de Tabela

Tabela 8 – Propriedade química dos solventes utilizados.

Solvente	$n^D(293\text{ K})$
Acetonitrila	1,343
Etanol	1,361
SDS/PBS	1,334
CTAB/PBS	1,401
Dimetilformamida	1,428
Dimetilsufóxido	1,390
Clorofórmio	1,445
Tetracloreto de Carbono	1,449

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Davis, K. C. M. In: *R. Foster (ed.), Molecular Association*, vol. 1, Academic Press, London, **1975**, 157.
2. Porter, G.; Suppan, P. *Trans. Faraday Soc.* **1965**, 61, 1964.
3. <http://quimica.fe.usp.br/global/ca8/reafot.htm>, visitado em 20/07/2003.
4. Jaffé, H. H.; Orchin, M. In: *Theory and Application of Ultraviolet Spectroscopy*, New York, John Wiley and Sons, 4^a ed., **1996**.
5. Gilbert, A.; Baggott, J. In: *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1991**.
6. Brackmann, U. In: *Lambdachrome Laser Dyes*, Lambda Physik, GmbH, **1986**.
7. Bos, F. *Appl. Optics.* **1981**, 20(20), 3553.
8. Ewing, G. W. In: *Métodos Instrumentais de Análise Química*, vol. 1, Edgard Blucher LTDA, São Paulo, **1972**.
9. Thomas, J. K. *J Phys. Chem.* **1987**, 91, 267.
10. Lakowicz, J. R. In: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2nd ed., New York, **1999**.
11. Suppan, P. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1990**, 50, 293.
12. Lerosen, A.. L.; Reid, C. E. *J. Chem. Phys.* **1952**, 20, 233.

13. Suppan, P. *J. Mol. Spectrosc.* **1969**, *30*, 17.
14. Noukakis, D.; Suppan, P. *Spectrochim. Acta, Part A*, **1987**, *43*, 1317.
15. Liptay, W.; Czekalla, J. *Z. Elektrochem.* **1961**, *65*, 721.
16. Grabowski, Z. R.; Rotkiewicz, K.; Siemiarczuk, A.; Cowley, D. J.; Baumann, W. *Nouv. J. Chim.* **1979**, *3*, 443.
17. Beens, H.; Knibbe, H.; Weller, A. *J. Chem. Phys.* **1967**, *47*, 1183.
18. Dimroth, K.; Reichardt, C.; Siepmann, T.; Bohlmann, F. *Liebigs Ann. Chem.* **1969**, *727*, 93.
19. Ledger, M. B.; Suppan, P. *Spectrochim. Acta, Part A*, **1967**, *23*, 3007.
20. a) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *Progr. Phys. Org. Chem.*, **1981**, *13*, 485. b) Kamlet, M. J. Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6027. c) Abboud, J. L. M.; Kamlet, M. J.; Taft, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8325.
21. a) Mataga, N.; Kaifu, Y.; Koizumi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, *29*, 465. b) Von Lippert, E. *Z. Elektrochem.* **1956**, *61*, 962. c) Weigang, O. E.; Wild, D. D. *J. Phys. Chem.* **1962**, *37*, 1180.
22. Reichardt, C. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2319.
23. a) Taft, R. W.; Kamlet, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1979**, *2*, 1723. b) Taft, R. W.; Kamlet, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2866.

24. a) Kamlet, M. J.; Solomonovici, A.; Taft, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3734.
b) Kamlet, M. J.; Abraham, M. H.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*,
2877.
25. Turro, N. J. In: *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, USA,
1991.
26. Eaton, D. F. *Pure & Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107.
27. Becker, R. S.; Maçanita A. L. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*(24), 6054.
28. Machado, A. E. H.; Miranda, J. A.; Oliveira-Campos, A. M. F.; Severino, D.;
Nicodem, D. E. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2001**, *146*, 75.
29. Maciel, H. M. *Polimerização Fotoiniciada de Monômeros carregados*, Dissertação de
Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2000.
30. Baltrop, J. A.; Coyle, J. D. In: *Principles of Photochemistry*, John Wiley & Sons,
1978.
31. Kumar, G. A.; Unnikrishnan, N. V. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2001**, *144*,
107.
32. Dexter, D. L. *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836.
33. Jori, G. *EPA Newsletter* **1997**, *60*, 12.
34. DeRosa, M. C.; Crutchley, E. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233*, 351.
35. Birks J B. In: *Photophysics of Aromatic Molecules*. John Wiley & Sons, London,
1970.

36. <http://www.iq.usp.br/wwwdocentes/koiaraki/cluster/dimeros.htm>, acessada em Setembro de 2003.
37. a) Machado, A. E. H. *Quím. Nova* **2000**, 23(2), 237. b) Simplicio, F. I.; Maionchi, F.; Hioka, N. *Quim. Nova*. **2002**, 25(5), 801.
38. Ochsner, M. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1997**, 39, 1.
39. Havelcova, M.; Kubat, P.; Memcova, I. *Dyes and Pigm.* **2000**, 44, 49.
40. Marcus, R. A.; Sutin, N. *Biochem. Biophys. Acta*. **1985**, 811, 265.
41. Newton, M. D.; Sutin, N. *Annu. Ver. Phys. Chem.* **1984**, 35, 437.
42. Bárbara, P. F.; Jarzeba, W. *Adv. Photochem.* **1990**, 15, 1.
43. Bolton, J. R.; Mataga, N. In: *Electron Transfer in Inorganic, Organic and Biological Systems*, G. L. McLendon (Eds), American Chemical Society, Washington, DC, **1991**.
44. Fox, M. A. In: *Photoinduced Electron Transfer*, M. Chanon (Eds), Elsevier, Amsterdam, **1988**.
45. Wilkler, J. R.; Gray, H. B. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 369.
46. Shirota, H.; Pal, H.; Tominaga, K.; Yoshihara, K. *J. Phys. Chem. A*. **1998**, 102, 3089.
47. Kalyanasundaram, K. In: *Photochemistry in microheterogeneous systems*, Academic Press, Orlando, **1987**.
48. Aramendia, P. F. *EPA Newsletter*, **1994**, 52, 6.

49. Gehlen, M. H.; De Schryver, F. C. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 109.
50. Tanford, C. In: *The hydrophobic effect, formation of micelles and membranes*, Wiley, 2^a ed, New York, **1980**.
51. Thomas, J. K. *Chem. Rev.* **1980**, *80*, 283.
52. Reinsborough, V. C.; Robinson, B. H. *J. Chem. Ed.* **1981**, *58*, 586.
53. Barra, M.; Redmond, R. W.; Allen, M. T.; Colabrese, G. S.; Sinta, R.; Scaina, J. C. *Macromolecules*. **1991**, *24*, 4972.
54. Aramendia, P. F. In: *Grammaticakis-Neumann Prize 1994, EPA Newsletter*. **1994**, *52*, 6.
55. Brown, W.; Rymdén, R.; Stam, J.; Almgren, M.; Snevák, G. *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 2512.
56. Maniasso, N. *Quim. Nova* **2001**, *24*, 87.
57. Ogilby, P. R.; Foote, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3423.
58. Gerakis, A. M.; Koupparis, M. A. *Talanta*. **1994**, *41*(5), 765.
59. Martens, F. M.; Verhoeven, J. M. *Phys. Chem.* **1981**, *85*(13), 1773.
60. (a) Frimer, A. A. In: *Singlet Oxygen*, CRC Press, Califórnia, **1989**. (b) Wilkinson, F.; Philip, Helman, W.; Ross, A. B. *J. Phys. Chem. Ref. Data*. **1995**, *24*, 663.
61. Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J.; Peng, Q. *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889.

62. Wilkinson, F; Helman, W. P; Ross, A. B. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **1995**, 24 (2).
63. Corey, E. J.; Mehrotra, M. M.; Khan, A. U. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, 145, 842.
64. Fridovich, I.; Hndler, P. *J. Biol. Chem.* **1958**, 233, 1581
65. Held, A. M.; Halko, D. J.; Hurst, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 5732.
66. Aubry, J. M.; Cazin, B. *Inorg. Chem.* **1988**, 27, 2013.
67. Malliaris, A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1987**, 40, 79.
68. Oliveira, H. P. M. de, Gehlen, M. H. *Langmuir.* **2002**, 18, 3792.
69. Martinez, L. A.; Braun, A. M.; Oliveros, E. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1998**, 45, 103.
70. Dj Maseio, P.; Beehara, E. J. H.; Medeiros, M. H. G.; Briviba, K.; Sies, H. *FEBS Lett.* **1994**, 355, 287.
71. Briviba, K.; Saha-Moller, C. R., Adam, W.; Sies, H. *Biochem. Mol. Biol.* **1996**, 38, 647.
72. Cilento, G. In: *Chemical and Biological Generation of Excited States*, Academic Press, New York, **1982**, 279.
73. a) Redmond, R. W.; Gamlin, J. N. *Photochem. Photobiol.* **1999**, 70(4), 391. b) Potapenko, A.Ya. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1991**, 9, 1. c) Engl, R.; Kilger, R.; Maier, M.; Scherer, K.; Abels, C.; Baumler, W. *J. Phys. Chem. B.* **2002**, 106, 5775.

74. Mehrdad, Z.; Noll, A.; Grabner, E. W.; Schmidt, R. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, 1, 263.
75. Andrade, M. L. *Investigaçāo da formaçāo de intermediáio exciplexo durante a oxidaçāo do tetrafenil etileno por ação do oxigénio singlete*. Dissertaçāo de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 1995.
76. Wefers, H. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1987**, 18, 91.
77. Kraljič, I.; Sharpatyi, V. A. *Photochem. Photobiol.* **1978**, 28, 583.
78. Kraljič, I.; El Mohsni, S. *Photochem. Photobiol.* **1978**, 28, 577.
79. Schimidt, R.; Tanielian, C.; Dunsbach, R.; Wolff, C. J. *Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1994**, 79, 11.
80. De Paula, R. *Aplicaçāo de um cumarina como sonda fluorescente e caracterizaçāo fotofísica e espectroscópica de três análogos de psoraleno em meios homogêneo e microheterogêneo*. Dissertaçāo de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2003.
81. Fischer, F.; Graschew, G.; Sinn, H. J.; Borst, W. M.; Lorenz, W. J.; Schlag, P. M. *Clin. Chim. Acta*. **1998**, 247, 89.
82. Franco, C.; Olmsted III, J. *Trianta*. **1990**, 9, 905.
83. Tappenier, H.; Jesionek, A. *Muench. Med. Wochschr.* **1903**, 1, 2042.
84. Policard, A. C. R. *Soc. Biol. Paris*, **1924**, 91, 1423.
85. Lipson, R. L. *Proc. 9th International Câncer Congress*, Tókio, Japan, **1966**, 393.

86. Weishaupt, K. R.; Gomer, C. J.; Dougherty, T. J. *Cancer Res.* **1976**, *36*, 2326.
87. Dougherty, T. J.; Kaufman, J. E.; Goldfarb, A.; Weishaupt, K. R.; Boyle, D.; Mittleman, A. *Cancer Res.* **1978**, *38*, 2628.
88. Kato, H. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1998**, *42*, 96.
89. Hayata, Y.; Kato, H.; Konada, C.; Ono, J.; Takizawa, N.; *CHEST*. **1982**, *81*, 269.
90. Kato, H. *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **1995**, *1*, 261.
91. Calzavara-Pinton, P. G. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1995**, *29*, 53.
92. Charlesworth, P.; Truscott, T. G.; Kessel, D.; Medforth, C. J.; Smith, K. M. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 1073.
93. *Folha de São Paulo*, 29/12/1995.
94. Levy, J. G. *Trends in Biotechnol.* **1995**, *13*, 14.
95. Macdonald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Phorp. Phthal. Rev.* **2001**, *5*, 105.
96. Hamblin, M. R.; Newman, E. L. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1994**, *23*, 3.
97. Reddi, E. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1997**, *37*, 189.
98. Aveline, B. M.; Hasan, T.; Redmond, R. W. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1995**, *30*, 161.
99. Aveline, B. M.; Redmond, R. W. *Photochem. Photobiol.* **1999**, *69*, 306.

100. Jones, L. R.; Grossweiner, L. I. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1994**, 26, 249.
101. <http://www.photofrin.com>, acessada em Junho 2001.
102. <http://www.dusapharma.com>, acessada em Julho 2001.
103. <http://www.visudyne.com>, acessada em Julho 2001.
104. <http://www.epm.Br/ofta/fotodinamica>, acessada em Maio 2001
105. Jori, G.; Schindl, A Polo, L. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1996**, 102, 101.
106. Marques, A. D. S.; Takahata, Y.; Junior, J. R. L.; Souza, M. C.; Simões, S. S.; Azevedo, W. M.; de As, G. F. *J. Luminesc.* **2002**, 97, 237.
107. Rosenthal I.; Ben-Hur E. In: *Phthalocyanines in Photobiology, Properties and Applications*, ed. C. C. Leznoff and A. B. P. Lever, VCH Publishers, Berlin, 1989.
108. Darwent, P.; Douglas, P.; Harriman, A.; Porter, G.; Richoux, M. C. *Coord. Chem. Rev.* **1982**, 44, 83.
109. Reddi, E.; Zhou, C.; Biolo, R.; Jori, G. *J. Cancer.* **1990**, 61, 407.
110. Griffiths, J.; Schofield, J.; Wainwright, M.; Brown, S. B. *Dyes Pigm.* **1997**, 33, 65.
111. Martin, P. C.; Gouterman, M.; Pepich, B. V.; Renzoni, G. E.; Schindele, D. C. *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 3305.
112. Iliev, V.; Alexiev, V.; Bilyarsks, L. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **1999**, 137, 15.

113. a) Leznoff, C. C. In: *Phthalocyanines: Properties and Applications*, A. B. P. Lever (Eds), vol. 1, VCH, New York, 1989. b) Leznoff, C. C. In: *Phthalocyanines: Properties and Applications*, A. B. P. Lever (Eds), vol. 2, VCH, New York, 1993. c) Leznoff, C. C. In: *Phthalocyanines: Properties and Applications*, A. B. P. Lever (Eds), vol. 3, VCH, New York, 1993. d) Leznoff, C. C. In: *Phthalocyanines: Properties and Applications*, A. B. P. Lever (Eds), vol. 4, VCH, New York, 1996. e) Lang, K.; Wagnerova, D. M.; Brodilova, J. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1993, 72, 9.
114. Louati, A.; Meray, M. E. I.; Andre, J. J.; Simon, J.; Kadish, K. M.; Gross, M.; Girardeau, A. *Inorg. Chem.* 1985, 24, 1175.
115. Wohrle, D.; Schmidt, V. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1988, 549.
116. Hale, P. D.; Pietro, W. J.; Ratner, M. A.; Ellis, D. E.; Marks, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 5943.
117. Schlettwein, D.; Armstrong, N. R. *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 11771.
118. Meeier, H.; Albrecht, W.; Wohrle, D.; Hahn, A. *J. Phys. Chem.* 1986, 90, 6349.
119. Maree, S.; Nyokong, T. *Phorp. Phthal.* 2001, 5, 782.
120. Law, W. F.; Liu, R. C. W.; Jiang, J.; Ng, D. K. P. *Inorg. Chim. Acta.* 1997, 256, 147.
121. Somashekharappa, M. P.; Keshavayya, J. *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.* 2001, 31, 811.
122. Langlois, R.; Ali, H.; Brasseur, N.; Wagner, J. R.; Van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.* 1986, 44, 117.
123. Rosenthal, I.; Krishna, C. M.; Reisz, P.; Ben-Hur, E. *Radiat. Res.* 1986, 107, 136.

124. Wohrle, D.; Iskander, N.; Graschev, G.; Sinn, H.; Friedrich, E. A., Marier-Borst, W.; Stern, J.; Schlag, P. *Photochem. Photobiol.* **1990**, 51, 351.
125. Wood, S. R.; Holroyd, J. A.; Brown, S. B. *Photochem. Photobiol.* **1997**, 65, 397.
126. Owens, J. W.; Smith, R.; Robinson, R.; Robins, M. *Inorg. Chim. Acta*. **1998**, 279, 226.
127. Beeby, A.; Parker, A. W.; Simpson, M. S. C.; Phillips, D. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1992**, 16, 73.
128. Beeby, A.; Parker, A. W.; Simpson, M. S. C.; Phillips, D. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1993**, 17, 203.
129. Valduga, G.; Noneu, S.; Reddi, E.; Jori, G.; Braslavsky, S. E. *Photochem Photobiol.* **1998**, 48(1), 1.
130. Kuznetsova, N.; Makarova, E.; Dashkevich, N. Gretsova, V.; Negrimovsky, O.; Kalyia, E.; Luk'yanets, Zh. *Obshch. Khim.* **2000**, 70, 140.
131. Bremner, J. C.; Wood, S. R.; Bradley, J. K.; Griffiths, J.; Adams, G. E.; Brown, S. B. *J. Cancer* **1999**, 81, 616.
132. Visona, A.; Angelini, A.; Gobbo, S.; Bonanome, A.; Thiene, G.; Pagnan, A. Tonello, D.; Bonandini, E.; Jori, G. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2000**, 57, 94.
133. Miranda, J. A.; Machado, A.E.H.; Oliveira, C.A. *J. Porph. Phthal.* **2002**, 6, 43.
134. Levine, I. N. In: *Quantum Chemistry*, Prentice-Hall International, Inc.; 4^a ed., 1991.

135. (a) Parr, R. G. *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 239; (b) Hjalmars, I. F. *J. Chem. Phys.* **1965**, *42* 1962.
136. Santos, H. F.; Rocha, W. R. Fundamentos de Modelagem Molecular. XVI Encontro Regional a SBQ. Uberlândia, **2000**.
137. Pople, J. A.; Beveridge, D. L.; Dobosh, P. A. *J. Chem. Phys.* **1967**, *47* 2026.
138. Ridley, J.; Zerner, M. C. *Theoret. Chim. Acta*. **1973**, *32*, 111.
139. Sustmann, R.; Williams, J. E.; Dewar, L. C.; Schleyer, von R. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5350.
140. Dewar, M. J. S.; Thiel, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 4899.
141. Dewar, M. J. S.; Zoebish, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 3902.
142. Stewart; J. J. P. *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209.
143. Stewart, J. J. P. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **1997**, *401*, 195.
144. Magde D, Brannon J H, Cremers T L, Olmsted J. *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 696.
145. (a) McPerson A. In: *Cristallization of Biological Macromolecules*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, **1994**. (b) Burdon R H, Van Knippenberg P H. In: *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Cell Culture for Biochemists*, Elsevier Science Publishers, 2^a ed., **1990**, 311.
146. Nemoto, M.; Kokubun, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, *42*, 1223.

147. Carmichael I. Hug G L. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **1986**, 15(1).
148. Hyperchem., Computational Chemistry – Tools for Molecular Modeling, Hypercube, Inc., Canada, **1996**.
149. Ribeiro, J.; Miranda, J. A.; Rastrelo, L. R.; Ferreira, S. K.; De Paula, R.; Severino, D.; Machado, A. E. H. *26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-MG, 2003*, FT. 022.
150. Vincett, P. S.; Voight, E. M.; Rieckhoff, K. E. *J. Chem. Phys.* **1971**, 55, 4131.
151. Langhals H. *Nouv. J. Chim.* **1982**, 6, 265.
152. Freitas, L. C. G. *Quím. Nova.* **1999**, 22(2), 293.
153. Owens J W, Smith R, Robinson R, Robins M. *Inorg. Chim. Acta.* **1998**, 279, 226.
154. Stewart, J. J. P. *J. Comp. Aided Mol. Des.* **1990**, 4(1), 1.
155. Reddi, E.; Castro, L.; Biolo, R.; Jori, G. *Br. J. Cancer.* **1987**, 56, 597.
156. Oliveira, C. A.; Pessine, F.; Machado, A. E. H., resultados não publicados.
157. Cristovan, F. H.; Machado, A. E. H.; Miranda, J. A. *24^a Reunião da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas –MG, 2001*, FT. 002.
158. Kaestner, L.; Cesson, M.; Kassab, K.; Christensen, T.; Edminson, P. D.; Cook, M. J.; Chambrier, I.; Jori, G. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, 2, 660.