

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Bianca Dozza

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FOTOBiolÓGICA DE  
10-[(PIRIDIN-4-IL)VINIL]FENIL}CORROL E SEUS COMPLEXOS DE  
Pt(II) E Pd(II)**

Santa Maria, RS  
2022

Bianca Dozza

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FOTOBiolÓGICA DE  
10-{{(PIRIDIN-4-IL)VINIL}FENIL}CORROL E SEUS COMPLEXOS DE  
Pt(II) E Pd(II)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias

Santa Maria, RS  
2022

Dozza, Bianca  
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FOTOBIOLOGICA DE  
10-([PIRIDIN-4-IL]VINIL)FENIL}CORROL E SEUS COMPLEXOS  
DE Pt(II) E Pd(II) / Bianca Dozza.- 2022.  
78 p.; 30 cm

Orientador: Bernardo Almeida Iglesias  
Coorientador: Davi Fernando Back  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Química, RS, 2022

1. Corróis 2. Fotofísica 3. Interação com DNA I. Almeida  
Iglesias, Bernardo II. Back, Davi Fernando III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, BIANCA DOZZA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Bianca Dozza**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FOTOBiolÓGICA DE  
10-{{(PIRIDIN-4-IL)VINIL}FENIL}CORROL E SEUS COMPLEXOS DE  
Pt(II) E Pd(II)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**.

Aprovada em 27 de setembro de 2022:

---

**Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias (UFSM)  
(Presidente/Orientador) – Videoconferência**

---

**Prof. Dr. Luiz Antônio Sodré Costa (UFJF) – Videoconferência**

---

**Profa. Dra. Izaura Cirino Nogueira Diógenes (UFC) – Videoconferência**

Santa Maria, RS  
2022

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu professor orientador, pela constante orientação neste trabalho e pela contribuição com minha formação profissional.

Agradeço aos professores da UFSM e também da UPF, onde concluí minha graduação em Química, pois todos os conhecimentos transmitidos por eles me trouxeram até aqui.

Agradeço também a todos os professores e universidades que auxiliaram na realização de análises para este trabalho.

Agradeço à minha família pelo carinho, confiança e apoio, especialmente minha irmã, sobrinho e padrinhos.

Agradeço à minha mãe por sempre me incentivar nos estudos e por me inspirar como mulher.

Agradeço também ao meu pai (*in memoriam*) por ser meu anjo da guarda e também meu impulso para seguir em frente.

Agradeço ao meu parceiro de vida pela compreensão, amor, cuidado e paciência.

Agradeço aos meus amigos – poucos, mas de qualidade – por se manterem presentes mesmo com a distância.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Bioinorgânica e Materiais Porfirínicos, pelas conversas e ensinamentos.

Agradeço aos professores das bancas, tanto do Exame de Qualificação como da Defesa de Mestrado, por aceitarem o convite e prestarem suas considerações.

Agradeço ao CNPq pelo auxílio financeiro.

## RESUMO

### SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO FOTOBIOLOGICA DE 10-{{(PIRIDIN-4-IL)VINIL}FENIL}CORROL E SEUS COMPLEXOS DE Pt(II) E Pd(II)

AUTORA: Bianca Dozza

ORIENTADOR: Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias

Este trabalho teve como propósito a síntese do corrol base-livre 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-{{(piridin-4-il)vinil}fenil}corrol e seus derivados metalados contendo complexos bipyridínicos de platina(II) e paládio(II), tendo como materiais de partida 5-(pentafluorofenil)dipirrometano, 4-[(piridin-4-il)vinil]benzaldeído, *cis*-dicloro(2,2'-bipyridina)platina(II) e *cis*-dicloro(2,2'-bipyridina)paládio(II). Os compostos foram caracterizados por análise elementar (CHN%) e espectrometria de massas de alta resolução, bem como por espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta e do visível, espectroscopia de emissão de fluorescência (estado estacionário e resolvida no tempo) e eletroquímica (voltametria cíclica). Para avaliar as propriedades fotobiológicas dos compostos, também foram desenvolvidos estudos de agregação em diferentes solventes, medidas de fotoestabilidade, cálculos dos coeficientes de partição, bem como ensaios de geração de espécies reativas de oxigênio, tais como oxigênio singlete e radical superóxido. Além disso, a interação dos compostos com DNA foi investigada experimentalmente via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e de emissão de fluorescência, e também por viscosimetria, utilizando corantes competidores por sítios de interação na biomolécula, tais como: alaranjado de acridina, brometo de etídio, verde de metila e 4',6-diamidino-2-fenilindol. Todos os compostos estudados apresentaram boa fotoestabilidade. O corrol base-livre **H<sub>3</sub>VpyCor** apresentou um rendimento quântico de fluorescência razoável e exibiu comportamento hidrofóbico. Possivelmente, interage de forma mais eficaz no sulco menor do DNA, conforme valores elevados das constantes de supressão ( $K_{sv}$  e  $k_q$ ), e também pelos cálculos teóricos de *docking* molecular. O derivado **PtVpyCor** mostrou resultados relevantes na geração de radicais superóxido, assim como a possibilidade de interação com o DNA de forma intercalativa e pelo sulco menor. Finalmente, o derivado **PdVpyCor** apresentou o melhor resultado na geração de oxigênio singlete, de acordo com valores de rendimento quântico ( $\Phi_{\Delta}$ ) e da constante de foto-oxidação ( $k_{fo}$ ), e ainda exibiu possibilidade de intercalação com o DNA, além de interação com o sulco menor.

**Palavras-chave:** Corróis. Fotofísica. Interação com DNA.

## ABSTRACT

### SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND PHOTOBIOLOGICAL APPLICATION OF 10-{{(PYRIDIN-4-YL)VINYL}PHENYL}CORROLE AND ITS Pt(II) AND Pd(II) COMPLEXES

AUTHOR: Bianca Dozza

ADVISOR: Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias

The purpose of this work was the synthesis of the free-base corrole 5,15-bis(pentafluorophenyl)-10-{{(pyridin-4-yl)vinyl}phenyl}corrole and its metallic derivatives containing bipyridine complexes of platinum(II) and palladium(II), having as starting materials 5-(pentafluorophenyl)dipyrromethane, 4-[(pyridin-4-yl)vinyl]benzaldehyde, *cis*-dichloro(2,2'-bipyridine)platinum(II) and *cis*-dichloro (2,2'-bipyridine)palladium(II). The compounds were characterized by elemental analysis (CHN%) and High-Resolution Mass Spectrometry, as well as by electron spectroscopy in the ultraviolet and visible regions, fluorescence emission spectroscopy (steady state and time-resolved) and electrochemistry (cyclic voltammetry). In order to evaluate the photobiological properties of the compounds, aggregation studies in different solvents, photostability measurements, partition coefficient calculations, as well as assays for the generation of reactive oxygen species, such as singlet oxygen and superoxide radical, were also developed. Furthermore, the interaction of the compounds with DNA was investigated experimentally via spectroscopy in the UV-Vis regions and fluorescence emission, and also by viscosimetry, using competing dyes for interaction sites in the biomolecule, such as: acridine orange, ethidium bromide, methyl green and 4',6-diamidino-2-phenylindole. All compounds studied showed good photostability. The free-base corrole **H<sub>3</sub>VpyCor** showed a reasonable quantum yield of fluorescence and displays hydrophobic behavior. Possibly, it interacts more effectively in the minor groove of DNA, according to high values of suppression constants ( $K_{sv}$  and  $k_q$ ), and also by theoretical molecular *docking* calculations. The **PtVpyCor** derivative showed relevant results in the generation of superoxide radicals, as well as the possibility of interacting with DNA in an intercalative form and through the minor groove. Finally, the **PdVpyCor** derivative presented the best result in the generation of singlet oxygen, according to values of quantum yield ( $\Phi_{\Delta}$ ) and photo-oxidation constant ( $k_{fo}$ ), and also exhibited the possibility of intercalation with DNA, besides to interaction with the minor groove.

**Keywords:** Corroles. Photophysics. DNA interactions.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diferenças entre o anel macrocíclico de uma <b>(a)</b> porfirina e de um <b>(b)</b> corrol. ....	17
Figura 2 – Representação da estrutura de três drogas de ligação (laranja) ao DNA (azul). <b>(A)</b> Intercalador elíptico <b>1</b> ; <b>(B)</b> Ligante de sulco menor distamicina <b>2</b> ; <b>(C)</b> Reticulador covalente cisplatina <b>3</b> . ....	18
Figura 3 – Representação estrutural dos compostos sintetizados e caracterizados nesta dissertação. ....	19
Figura 4 – Bandas de absorção eletrônica características de um corrol base-livre (em diclorometano). ....	26
Figura 5 – Diagrama de Jablonski simplificado, descrevendo todos os processos fotofísicos. ....	27
Figura 6 – Espectro de emissão de fluorescência evidenciando a banda de emissão de um corrol base-livre (em diclorometano). ....	28
Figura 7 – Representação estrutural dos fotossensibilizadores comerciais Foscan <sup>®</sup> e Photofrin <sup>®</sup> ....	31
Figura 8 – Representação estrutural de agentes quimioterápicos à base de platina. ....	32
Figura 9 – Representação estrutural de um corrol contendo o íon platina(II) no núcleo macrocíclico. ....	33
Figura 10 – Espectros normalizados dos compostos estudados em soluções de <b>(a)</b> ACN, <b>(b)</b> DCM, <b>(c)</b> DMSO e <b>(d)</b> DMSO(5%)/água. ....	466
Figura 11 – Representação dos agregados do tipo H e J de uma porfirina base-livre. ....	49
Figura 12 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, na faixa de concentração de 0,2 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ....	500
Figura 13 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, após irradiação com luz branca por 30 min. ....	522
Figura 14 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, após irradiação com luz vermelha por 30 min. ....	53
Figura 15 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis da foto-oxidação do DPBF para os compostos <b>(a)</b> <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>(b)</b> <b>PtVpyCor</b> e <b>(c)</b> <b>PdVpyCor</b> em solução de DMSO, utilizando irradiação com luz vermelha pelo tempo total de 600 s. ....	54
Figura 16 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e curso de tempo de formação de superóxido detectado pela fotorredução do NBT, com o aumento da absorção em 560 nm, sendo: NBT + NADH (linha preta), <b>(a)</b> NBT + NADH + <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>(b)</b> NBT + NADH + <b>PtVpyCor</b> , <b>(c)</b> NBT + NADH + <b>PdVpyCor</b> e <b>(d)</b> plotagem do aumento da absorbância <i>versus</i> tempo, usando luz branca como fonte de irradiação. ....	56
Figura 17 – Espectros de emissão de fluorescência no estado estacionário para os compostos em soluções de <b>(a)</b> DCM, <b>(b)</b> ACN e <b>(c)</b> DMSO, utilizando como comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{\text{exc}}$ ) a banda Soret de cada composto. ....	58
Figura 18 – Decaimentos do tempo de vida de fluorescência para os compostos <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PtVpyCor</b> e <b>PdVpyCor</b> em soluções de <b>(a)</b> DCM, <b>(b)</b> ACN e <b>(c)</b> DMSO, utilizando como comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{\text{exc}}$ ) a banda Soret de cada composto e fonte de NanoLED com $\lambda_{\text{exc}}=441$ nm. ....	60
Figura 19 – Voltamogramas cíclicos dos compostos <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PtVpyCor</b> e <b>PdVpyCor</b> em solução de DMF. Eletrólito suporte: 0,1 mol l <sup>-1</sup> de TBAPF <sub>6</sub> ; eletrodo de trabalho: carbono vítreo; eletrodo auxiliar e <i>pseudo</i> -eletrodo de referência: platina; velocidade de varredura: 100 mV s <sup>-1</sup> . ....	62

Figura 20 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis da titulação com SS-DNA para os compostos <b>(a) H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>(b) PtVpyCor</b> e <b>(c) PdVpyCor</b> em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4. ....	64
Figura 21 – Espectros de emissão da titulação com o derivado <b>PdVpyCor</b> para os adutos corante:DNA <b>(a) EB:DNA</b> , <b>(b) AO:DNA</b> , <b>(c) DAPI:DNA</b> e <b>(d) MG:DNA</b> em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4. ....	66
Figura 22 – Medidas de viscosidade de SS-DNA com os compostos em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4 de acordo com a razão [corrol]/[SS-DNA] à T = 25 °C. ....	69
Figura 23 – Melhor pose de encaixe para a interação entre <b>(a) DNA:H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>(b) DNA:PdVpyCor</b> e <b>(c) DNA:PtVpyCor</b> no sulco menor em termos de vista superior e frontal. Bases nitrogenadas selecionadas, <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PdVpyCor</b> e <b>PtVpyCor</b> estão representadas em bastão, nas cores verde, amarelo, marrom e roxo, respectivamente. Cor dos elementos: hidrogênio: branco, oxigênio: vermelho, nitrogênio: azul escuro, flúor: ciano, cloro: verde claro, Pd(II): verde escuro e Pt(II): cinza. ....	70
Figura 24 – Espectros de emissão da titulação dos compostos <b>(a) H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>(b) PtVpyCor</b> e <b>(c) PdVpyCor</b> com SS-DNA em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4. ....	71

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Representação genérica do equilíbrio de dois tautômeros de um corrol base-livre em solução. ....	21
Esquema 2 – Representação da síntese de Gross e colaboradores.....	22
Esquema 3 – Representação da síntese de Paolesse e colaboradores. ....	23
Esquema 4 – Representação da síntese de Gryko.....	24
Esquema 5 – Representação da síntese de Koszarna e Gryko. ....	24
Esquema 6 – Reação de foto-oxidação do DPBF.....	30
Esquema 7 – Rota sintética para obtenção do corrol base-livre <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> . ....	34
Esquema 8 – Rota sintética para obtenção do complexo <b>[Pt(bpy)Cl<sub>2</sub>]</b> . ....	34
Esquema 9 – Rota sintética para obtenção do complexo <b>[Pd(bpy)Cl<sub>2</sub>]</b> . ....	35
Esquema 10 – Rota sintética para obtenção dos derivados <b>PtVpyCore PdVpyCor</b> . ....	36
Esquema 11 – Representação da redução do NBT (amarelo) em Formazan (roxo), na presença do agente redutor NADH.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores encontrados para os dados de análise elementar (CHN%).	45
Tabela 2 – HRMS-MALDI e APCI dos compostos (erro experimental < 5.0 ppm).	46
Tabela 3 – Transições eletrônicas e coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) para os compostos estudados em soluções de ACN, DCM, DMSO e DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q®.	47
Tabela 4 – Fotoestabilidade dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, em um período de irradiação com luz branca ou vermelha de 30 min.	51
Tabela 5 – Rendimentos quânticos de geração de $^1\text{O}_2$ ( $\Phi_\Delta$ ) e constantes de foto-oxidação ( $k_{fo}$ ) dos compostos em solução de DMSO, no período de irradiação de 600 s com luz vermelha.	555
Tabela 6 – Valores dos coeficientes de partição ( $\log P_{ow}$ ) dos compostos em uma mistura <i>n</i> -octanol/água.	57
Tabela 7 – Dados fotofísicos de emissão de fluorescência no estado estacionário e resolvida no tempo dos compostos em solução de ACN, DCM e DMSO.	61
Tabela 8 – Potenciais redox dos compostos <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PtVpyCor</b> e <b>PdVpyCor</b> em solução de DMF. Utilizados como eletrólito suporte 0,1 mol L <sup>-1</sup> de TBAPF <sub>6</sub> , eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo auxiliar de platina e <i>pseudo</i> -eletrodo de referência de platina, a uma velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> .	633
Tabela 9 – Propriedades de ligação com SS-DNA via titulação por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis para os compostos <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PtVpyCor</b> e <b>PdVpyCor</b> em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.	65
Tabela 10 – Propriedades de ligação com SS-DNA via titulação por espectroscopia de emissão para os compostos <b>H<sub>3</sub>VpyCor</b> , <b>PtVpyCor</b> e <b>PdVpyCor</b> em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH7,4, na presença dos corantes EB, AO, DAPI e MG.	67
Tabela 11 – Pontuações estimadas dos cálculos de <i>docking</i> molecular (adimensional) para a interação de DNA com os respectivos compostos.	69
Tabela 12 – Valores dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para a detecção de SS-DNA com os respectivos compostos, em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.	72

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Equação de Lambert-Beer.....	25
Equação 2 – Cálculo do rendimento quântico de fluorescência.....	29
Equação 3 – Cálculo do rendimento quântico da geração de oxigênio singlete.....	30
Equação 4 – Determinação da porcentagem de fotoestabilidade.....	37
Equação 5 – Cálculo do coeficiente de partição.....	39
Equação 6 – Cálculo da constante radiativa.....	40
Equação 7 – Cálculo da constante não radiativa.....	40
Equação 8 – Cálculo da constante de ligação.....	42
Equação 9 – Cálculo da energia livre de Gibbs.....	42
Equação 10 – Cálculo da viscosidade de SS-DNA na presença dos compostos.....	42
Equação 11 – Cálculo da constante de supressão de Stern-Volmer e constante de supressão bimolecular.....	43
Equação 12 – Cálculo da constante de associação.....	44
Equação 13 – Cálculo do valor de LOD.....	45
Equação 14 – Cálculo do valor de LOQ.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
AO	Alaranjado de acridina, do inglês <i>acridine orange</i>
APCI	Ionização Química de Pressão Atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
CCDC	Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge, do inglês <i>Cambridge Crystallographic Data Center</i>
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol, do inglês <i>4',6-diamidino-2-phenylindole</i>
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano- <i>p</i> -benzoquinona
DMF	<i>N,N'</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico, do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
DPBF	1,3-difenilisobenzofurano, do inglês <i>diphenylisobenzofuran</i>
EB	Brometo de etídio, do inglês <i>ethidium bromide</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Fs	Fotossensibilizador
HOMO	Orbital Ocupado de Maior Energia, do inglês <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
HpD	Derivado da hematoporfirina, do inglês <i>hematoporphyrin derivative</i>
HRMS	Espectrometria de Massas de Alta Resolução, do inglês <i>High-Resolution Mass Spectrometry</i>
IC	Conversão interna, do inglês <i>internal conversion</i>
ISC	Cruzamento intersistema, do inglês <i>intersystem crossing</i>
LED	Diodo Emissor de Luz, do inglês <i>Light Emitting Diode</i>
LMCT	Transferência de Carga de Ligante para Metal, do inglês <i>Ligand to Metal Charge Transfer</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>limit of quantification</i>
LUMO	Orbital Desocupado de Menor Energia, do inglês <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MALDI	Dessorção/Ionização a Laser Assistida por Matriz, do inglês <i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization</i>
MG	Verde de metila, do inglês <i>methyl green</i>
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NBT	Azul de nitrotetrazólio, do inglês <i>nitroblue tetrazolium</i>
<i>o</i> -DBB	<i>orto</i> -dibenzoilbenzeno
PDT	Terapia fotodinâmica, do inglês <i>photodynamic therapy</i>
SHE	Eletrodo padrão de hidrogênio, do inglês <i>standard hydrogen electrode</i>
TCSPC	Contagem de Fóton Único Correlacionada no Tempo, do inglês <i>Time-Correlated Single Photon Counting</i>

TFA      Ácido trifluoroacético, do inglês *trifluoroacetic acid*

UV-Vis    Ultravioleta-visível

## SUMÁRIO

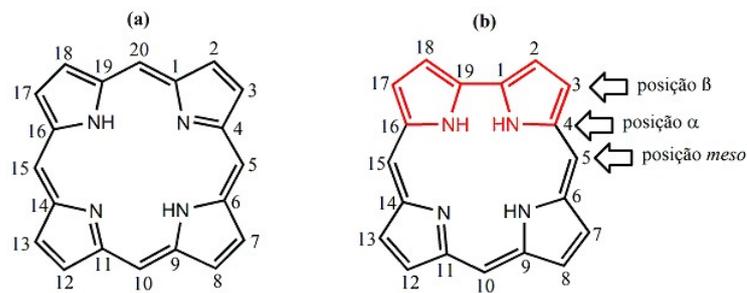
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	19
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	20
3.1 ASPECTOS GERAIS .....	20
3.2 METODOLOGIAS DE SÍNTESE.....	21
3.2.1 Síntese de Gross e colaboradores .....	22
3.2.2 Síntese de Paolesse e colaboradores.....	22
3.2.3 Síntese de Gryko .....	23
3.2.4 Síntese de Koszarka e Gryko.....	24
3.3 PROCESSOS FOTOFÍSICOS.....	25
3.3.1 Espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis.....	25
3.3.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	26
3.3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROs).....	29
3.4 APLICAÇÃO DE CORRÓIS NA TERAPIA FOTODINÂMICA E INTERAÇÃO COM DNA.....	30
3.5 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE PLATINA E PALÁDIO .....	31
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	33
4.1 SÍNTESE DOS CORRÓIS .....	33
4.1.1 Síntese do corrol base-livre <b>H<sub>3</sub>VPyCor</b> .....	33
4.1.2 Síntese do complexo <b>[Pt(bpy)Cl<sub>2</sub>]</b> .....	34
4.1.3 Síntese do complexo <b>[Pd(bpy)Cl<sub>2</sub>]</b> .....	35
4.1.4 Síntese do derivado <b>PtVPyCor</b> .....	35
4.1.5 Síntese do derivado <b>PdVPyCor</b> .....	35
4.2 ANÁLISE ELEMENTAR E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	36
4.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NAS REGIÕES UV-VIS .....	36
4.3.1 Absortividade molar e estudo de agregação.....	37
4.3.2 Ensaio de fotoestabilidade.....	37
4.3.3 Rendimento quântico de geração de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) via decomposição do DPBF.....	38
4.3.4 Geração de radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) via redução do NBT .....	38
4.3.5 Coeficiente de partição.....	39
4.4 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA.....	40
4.5 ANÁLISE ELETROQUÍMICA POR TÉCNICA DE VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	41
4.6 INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS (DNA).....	41
4.6.1 Titulação espectrofotométrica na região do ultravioleta-visível.....	41
4.6.2 Viscosimetria.....	42

4.6.3 Ensaio de competição com corantes .....	43
4.6.4 Análise <i>in silico</i> de <i>docking</i> molecular.....	44
4.6.5 Aplicação dos compostos como sensores fluorescentes de biomoléculas .....	44
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>45</b>
5.1 ANÁLISE ELEMENTAR E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	45
5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NAS REGIÕES UV-VIS .....	46
5.2.1 Ensaio de agregação .....	49
5.2.2 Ensaio de fotoestabilidade.....	51
5.2.3 Geração de espécies reativas de oxigênio – oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) e superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) .....	54
5.2.4 Coeficientes de partição .....	57
5.3 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA.....	58
5.3.1 Emissão de fluorescência no estado estacionário .....	58
5.3.2 Tempos de vida de fluorescência .....	59
5.4 VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	61
5.5 INTERAÇÃO COM DNA.....	63
5.5.1 Propriedades de ligação via espectroscopia nas regiões UV-Vis .....	63
5.5.2 Propriedades de ligação via espectroscopia de emissão de fluorescência .....	65
5.5.3 Propriedades de intercalação via análise viscosimétrica .....	68
5.5.4 Análise <i>in silico</i> via cálculos de <i>docking</i> molecular .....	69
5.5.5 Aplicação dos compostos como sensores de biomoléculas .....	71
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>74</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os corróis são compostos macrocíclicos formados por quatro unidades de pirrol, semelhantes às porfirinas. A principal diferença estrutural entre estas moléculas é uma ligação direta entre duas unidades pirrólicas (ausência de um carbono *meso*) nos corróis (BENKEEN *et al.*, 2014), como ilustrado na [Figura 1](#) a seguir. Os corróis base-livre – que não contêm metal no núcleo tetrapirrólico – apresentam simetria  $C_s$  (BEENKEN *et al.*, 2014; IVANOVA *et al.*, 2012) ou  $C_{2v}$  (LEMON *et al.*, 2015), diferentemente das porfirinas base-livre que possuem simetria  $D_{2h}$  (BURSA *et al.*, 2015) e, portanto, exibem diferentes propriedades eletrônicas, biológicas e fotofísicas. Além disso, os corróis são compostos aromáticos, bem como as porfirinas, devido ao seu núcleo macrocíclico contendo 18 elétrons  $\pi$  conjugados (LEMON *et al.*, 2015).

**Figura 1** – Diferenças entre o anel macrocíclico de uma **(a)** porfirina e de um **(b)** corrol.



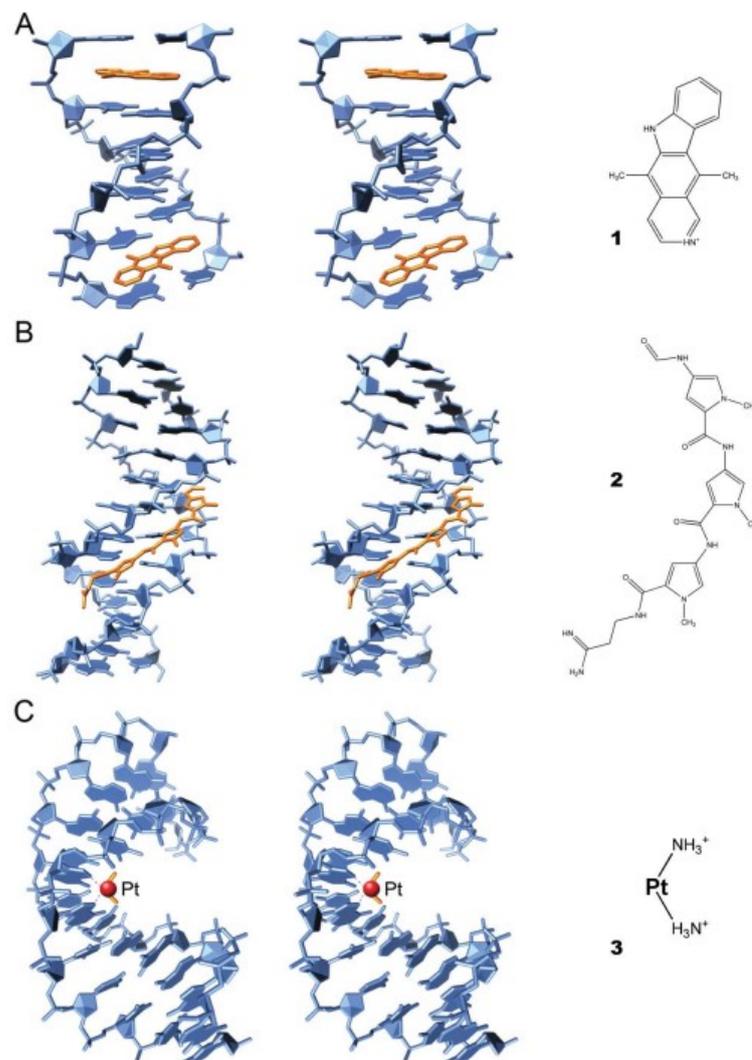
Fonte: Próprio autor.

A síntese de corróis consiste na utilização de aldeído e pirrol (ou dipirrometanos substituídos) em diferentes proporções estequiométricas. A oxidação para a aromatização do intermediário (bilano) formado ocorre pela presença de 2,3-dicloro-5,6-diciano-*p*-benzoquinona (DDQ) ou tetracloro-*p*-benzoquinona (*p*-cloranil) (KOSZARNA e GRYKO, 2006).

Em geral, os corróis base-livre e seus derivados contendo íons metálicos possuem propriedades únicas, podendo ser aplicados como sensores (DING *et al.*, 2005; VENTURA *et al.*, 2005; SANTOS, 2014), antitumorais (SHARMA *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2021), e em eletrocatalise (SUDHAKAR *et al.*, 2020). Os corróis também podem interagir com biomoléculas, como o DNA – essa interação pode acontecer por meio de ligações covalentes (coordenação) ou interações não-covalentes (intercalação ou através de forças intermoleculares pelos sulcos do DNA). Para ocorrer uma ligação covalente é fundamental que os corróis apresentem íons de metais em sua estrutura, os quais devem ter orbitais

disponíveis para se coordenar ao DNA pelas bases nitrogenadas. A ocorrência de uma interação não-covalente é avaliada pelas forças intermoleculares ou secundárias (ligação de hidrogênio ou van der Waals) a partir do uso de competidores por sítios de interação no DNA, como os corantes alaranjado de acridina e brometo de etídio (intercalação de bases nitrogenadas) (BOER, CANALS e COLL, 2009; NAFISI *et al.*, 2007), 4',6-diamidino-2-fenilindol (sulco menor do DNA), e verde de metila (sulco maior do DNA) (BIANCARDI *et al.*, 2013; PRIETO *et al.*, 2014). A [Figura 2](#) apresenta alguns modos de interação ao DNA.

**Figura 2** – Representação da estrutura de três drogas de ligação (laranja) ao DNA (azul). (A) Intercalador elipticina **1**; (B) Ligante de sulco menor distamicina **2**; (C) Reticulador covalente cisplatina **3**.



Fonte: Boer, Canals e Coll (2009).

O DNA é capaz de interagir com alguns compostos devido às cargas negativas dos grupos fosfatos nos seus filamentos, e também à presença de átomos de oxigênio, nitrogênio e hidrogênio nas bases nitrogenadas. Essas interações podem ser estimadas mediante cálculos

das constantes de associação ( $K_a$ ) e de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), e parâmetros termodinâmicos ( $\Delta H^\circ$ ,  $\Delta S^\circ$  e  $\Delta G^\circ$ ) (ROSS e SUBRAMANIAN, 1981).

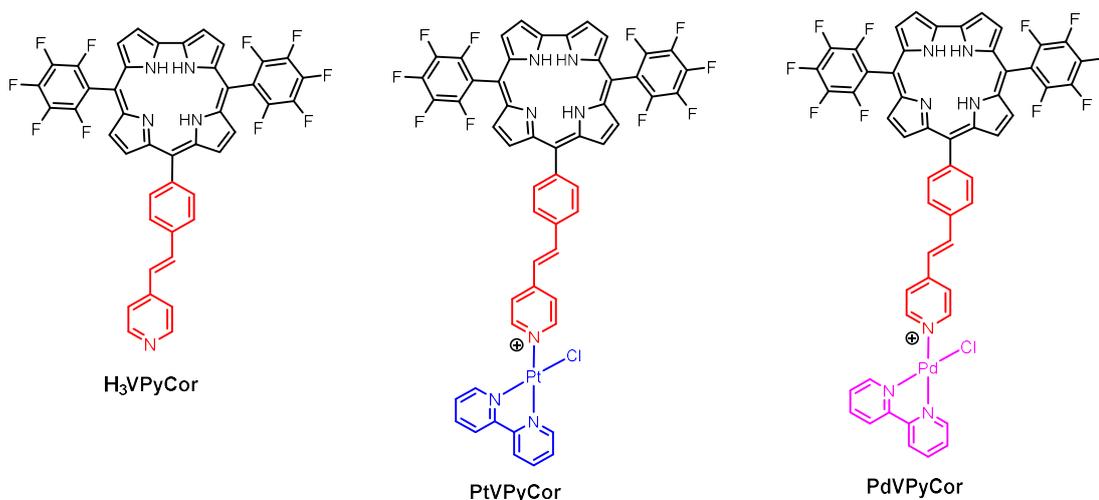
A química dos corróis ainda é relativamente pouco explorada, mas tem se expandido com a síntese e funcionalização de novos compostos. Portanto, nesta dissertação, foram sintetizados o 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-[[[(piridin-4-il)vinil]fenil]corrol base-livre (**H<sub>3</sub>VPyCor**) e seus derivados contendo complexos de platina(II) (**PtVPyCor**) ou paládio(II) (**PdVPyCor**) coordenados periféricamente. Os compostos foram devidamente caracterizados utilizando diferentes técnicas, com o objetivo de avaliar suas propriedades fotofísicas em diferentes solventes, assim como estudos de interação com DNA. Ainda, destaca-se que a síntese e caracterização do derivado **PdVPyCor** é a primeira relatada na literatura, diferentemente dos corróis já explorados **H<sub>3</sub>VPyCor** e **PtVPyCor** (IGLESIAS *et al.*, 2015), bem como porfirinas análogas contendo complexos de platina(II) e paládio(II), que estabelecem interações não-covalentes com DNA (WU *et al.*, 2018; NAIK *et al.*, 2014).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** e seus derivados contendo complexos de platina(II) e paládio(II) (**PtVPyCor** e **PdVPyCor**) (Figura 3) e avaliar suas propriedades fotofísicas, fotobiológicas e de interação com DNA.

Figura 3 – Representação estrutural dos compostos sintetizados e caracterizados nesta dissertação.



Fonte: Próprio autor.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-[[piridin-4-il]vinil]fenil}corrol e seus derivados contendo complexos bipyridínicos de platina(II) e paládio(II);
- Caracterizar os compostos sintetizados utilizando técnicas como espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis (absortividade molar, estudo de agregação, fotoestabilidade, coeficientes de partição), espectroscopia de emissão de fluorescência (estado estacionário e resolvida no tempo) e eletroquímica (voltametria cíclica);
- Avaliar as propriedades fotobiológicas dos compostos pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como oxigênio singlete e radicais superóxido;
- Analisar a interação dos compostos com DNA, por meio de técnicas espectroscópicas nas regiões UV-Vis e emissão de fluorescência (titulação com DNA e ensaios de competição com corantes intercaladores e marcadores de sulco), e também por viscosimetria.

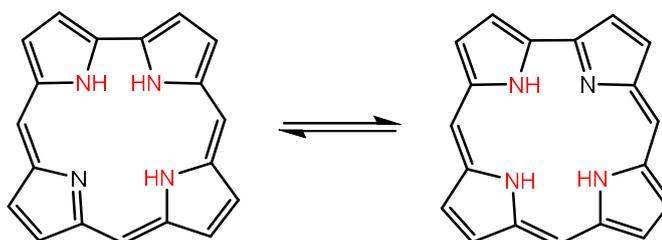
## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 ASPECTOS GERAIS

De forma análoga às porfirinas, os corróis são macrociclos formados por quatro unidades de pirrol, e a principal diferença em suas estruturas é uma ligação direta entre duas unidades pirrólícas nos corróis. O pirrol é estruturalmente planar, porém ao formar-se o anel tetrapirrólico, a ausência de um carbono *meso* impossibilita que o corrol seja estritamente planar, devido às distorções necessárias para que a ligação C–C seja efetiva entre dois pirróis (LICOCCIA e PAOLESSE, 1995). Do mesmo modo que as porfirinas, os corróis são compostos aromáticos devido aos seus 18 elétrons  $\pi$  conjugados, seguindo a regra de Hückel ( $4n + 2$  elétrons  $\pi$ ) (KUPFER, BRAUNSCHWEIG e RADACKI, 2015).

Uma característica observada nos corróis base-livre é a possibilidade de formarem espécies tautoméricas em solução ([Esquema 1](#)), pois apresentam três prótons internos que migram rapidamente no núcleo tetrapirrólico. Além disso, há uma barreira energética pequena e favorável para ocorrer a tautomerização nos corróis ( $2,45 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) (GHOSH e JYNGE, 1997). Estas espécies tautoméricas são favorecidas em solventes mais básicos como DMSO e DMF, que podem abstrair um próton interno e estabilizar estas estruturas em solução.

Esquema 1 – Representação genérica do equilíbrio de dois tautômeros de um corrol base-livre em solução.



Fonte: Adaptado de Ivanova *et al.* (2012).

Diferentemente das porfirinas, que podem formar compostos dianiônicos, os corróis podem gerar espécies trianiônicas tetradentadas (GROSS, GALILI e SALTSMAN, 1999) que estabilizam íons metálicos com estados de oxidação elevados, tais como cobre(III) (SUDHAKAR *et al.*, 2020), ferro(III) (SCHMID *et al.*, 2018), ferro(IV) (ZOU *et al.*, 2015), cobalto(III) (SCHECHTER *et al.*, 2011) e cobalto(IV) (HONG *et al.*, 2014), pois possuem uma menor cavidade no anel macrocíclico – em comparação às porfirinas – e são ligantes com maior característica  $\sigma$ -doadora (PALMER, 2012). A presença de diferentes substituintes nas posições  $\beta$  e *meso* do macrociclo dos corróis também pode causar mudanças nas propriedades eletrônicas e eletroquímicas (SHEN *et al.*, 2006). Ainda, a funcionalização dos corróis pode aprimorar sua aplicação em reações de ciclo-adição, halogenação, substituições eletrofílica e nucleofílica, entre outras (BARATA *et al.*, 2013).

Um estudo relatou que determinados corróis base-livre halogenados possuem a capacidade de fotoclivar o DNA, envolvendo a geração de oxigênio singleto por estes compostos. Esta fotoclivagem depende significativamente do efeito do átomo pesado nestes corróis (SHI *et al.*, 2010). Ainda, outro estudo descreveu que os corróis base-livre 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-(fenil)corrol e 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-(pirenil)corrol obtiveram rendimentos quânticos de oxigênio singleto elevados, e têm o sulco menor como sítio preferencial de interação com o DNA (ACUNHA, 2021).

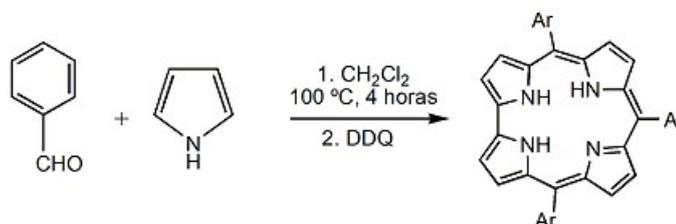
### 3.2 METODOLOGIAS DE SÍNTESE

Atualmente, as metodologias de síntese utilizadas fundamentam-se na síntese de porfirinas proposta por Rothmund (ROTHERMUND, 1935).

### 3.2.1 Síntese de Gross e colaboradores

O benzaldeído atua na formação de porfirinas *meso*-aril-substituídas, e porfirinas substituídas com grupos pentafluorados ( $C_6F_5$ ) podem atuar como catalisadores para oxidação de hidrocarbonetos, devido à maior estabilidade proporcionada por estes grupos (ASSIS e SMITH, 1998). Considerando isto, Gross e colaboradores sintetizaram diferentes corróis *meso*-substituídos, tendo este tipo de aldeído como material de partida em quantidades equimolares de pirrol, na ausência de solvente (GROSS, GALILI E SALTSMAN, 1999). A reação transcorreu por quatro horas a uma temperatura de  $100^\circ C$ , e o produto intermediário foi oxidado com DDQ para alcançar a aromaticidade do macrociclo (Esquema 2). Houve a formação de corróis com um único tipo de substituinte, conhecidos como corróis trissubstituídos do tipo  $A_3$  ( $R_1=R_2=R_3$ ). Contudo, *meso*-tetrafenilporfirina também foi obtida na mesma rota sintética com um rendimento em torno de 8%.

Esquema 2 – Representação da síntese de Gross e colaboradores.

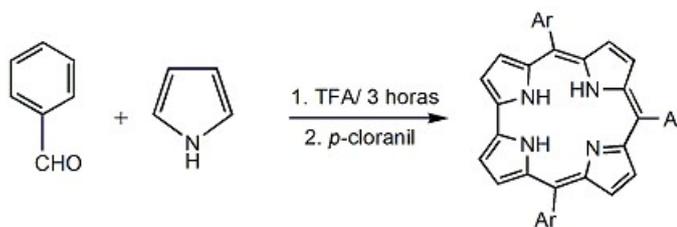


Fonte: Adaptado de Gross, Galili e Saltsman (1999).

### 3.2.2 Síntese de Paolesse e colaboradores

Paolesse e colaboradores determinaram que a formação de um corrol é influenciada pela razão molar entre pirrol e aldeído aromático, visto que foi possível obter o produto desejado em quantidades relevantes quando a razão molar utilizada foi 3:1 (pirrol:aldeído), na presença de ácido acético sob refluxo (Esquema 3) (PAOLESSE *et al.*, 2001). Ainda, quando o aldeído apresentava grupos retiradores de elétrons, como o grupo  $NO_2$ , obteve-se um rendimento em torno de 22%, dependendo da posição do substituinte no aldeído, evitando também a formação de porfirina na mesma rota sintética. Segundo os autores, a presença de substituintes retiradores de elétrons aumenta a reatividade do aldeído.

Esquema 3 – Representação da síntese de Paolesse e colaboradores.



Fonte: Adaptado de Paolesse *et al.* (2001).

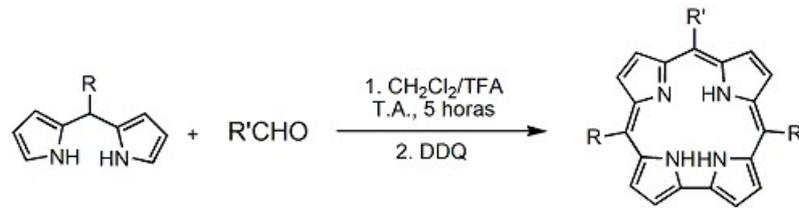
No caso de aldeídos aromáticos 2,6-dissubstituídos, o rendimento de corrol foi quase nulo independente do substituinte; a causa pôde ser atribuída a efeitos estéricos que impediram a aproximação efetiva entre os reagentes durante a formação do macrociclo. Além disso, quando a reação foi realizada na presença de um oxidante, como o *p*-cloranil, foi observada uma redução significativa do tempo de reação, porém sem diferenças consideráveis no rendimento do corrol (PAOLESSE *et al.*, 2001).

### 3.2.3 Síntese de Gryko

A metodologia apontada por Gryko consiste na condensação catalisada por ácido de dipirrometanos e aldeídos aromáticos, ambos substituídos, seguida de oxidação com DDQ para obter corróis *trans*-substituídos do tipo A<sub>2</sub>B (R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>≠R<sub>2</sub>) (GRYKO e JADACH, 2001). Esta metodologia tem como base a síntese de porfirinas *trans*-substituídas do tipo A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>(R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>≠R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>) descrita por Littler e colaboradores (LITTLER, CIRINGH e LINDSEY, 1999). As condições ideais para a condensação também foram avaliadas após explorar vários parâmetros (solvente, ácido de Lewis, concentração dos reagentes e tempo de reação).

O estudo detalhado levou às seguintes conclusões: (1) altas concentrações de reagentes e baixas concentrações de ácido trifluoroacético favoreceram a formação de corróis e suprimiram a formação de porfirinas; (2) as condições ideais foram: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como solvente, razão molar dipirrometano:aldeído = 2:1, [TFA] = 1,3 mmol L<sup>-1</sup> (para dipirrometanos impedidos estericamente) ou [TFA] = 0,26 mmol L<sup>-1</sup> (para dipirrometanos não impedidos estericamente), 5 horas de reação a temperatura ambiente, e 1,0 equivalente de DDQ (Esquema 4), resultando em rendimentos até 25% de corrol.

Esquema 4 – Representação da síntese de Gryko.



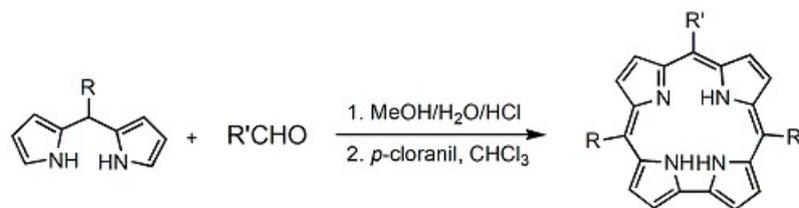
Fonte: Adaptado de Gryko e Jadach (2001).

### 3.2.4 Síntese de Koszarka e Gryko

Koszarna e Gryko avaliaram uma nova metodologia para a síntese de corróis dos tipos A<sub>3</sub> e *trans*-A<sub>2</sub>B em duas etapas, utilizando aldeídos e pirróis a partir de uma mistura de água e metanol contendo HCl 37% como catalisador (KOSZARNA e GRYKO, 2006). A primeira etapa consistiu em uma substituição eletrofilica que formou uma mistura de oligocondensados, e a segunda etapa compreendeu o fechamento oxidativo do anel macrocíclico (Esquema 5). As melhores condições obtidas com esta metodologia foram: a razão pirrol:aldeído mais eficiente foi 2:1; a razão H<sub>2</sub>O:MeOH que mostrou maior rendimento (21%) foi 1:1 (v/v); a concentração do ácido utilizado, assim como o tempo de reação não influenciaram no rendimento de forma significativa (19% após 16 horas e 21% após 3 horas); o uso do agente oxidante *p*-cloranil ao invés de DDQ aumentou o rendimento de 21% para 32%.

Os autores utilizaram das contribuições de Král e colaboradores, que usaram diferentes solubilidades de aldeído e pirrol em água para obter dipirrometanos (KRÁL, VAŠEK e DOLENSKÝ, 2004).

Esquema 5 – Representação da síntese de Koszarna e Gryko.



Fonte: Adaptado de Koszarna e Gryko (2006).

### 3.3 PROCESSOS FOTOFÍSICOS

#### 3.3.1 Espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis

Quando uma substância é irradiada com luz, parte da radiação pode ser absorvida produzindo um espectro de absorção. Como resultado da absorção de energia, átomos ou moléculas desta substância passam de um estado de energia menor (estado fundamental) para um estado de energia maior (estado excitado). Se a radiação absorvida possuir energia equivalente à diferença de energia entre o orbital ocupado de maior energia (HOMO, do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) e o orbital desocupado de menor energia (LUMO, do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), podem ocorrer transições eletrônicas (PAVIA *et al.*, 2015).

A absorvidade molar ( $\epsilon$ ), também conhecida como coeficiente de extinção molar (MIESSLER, FISCHER e TARR, 2014), é uma característica da espécie que indica a quantidade de radiação eletromagnética absorvida por um mol da substância em um determinado comprimento de onda ( $\lambda$ ) (SKOOG *et al.*, 2014), que alterna entre 0 e  $10^6$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. As transições eletrônicas com valores de  $\epsilon > 10^4$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> são absorções de maior intensidade, e valores de  $\epsilon < 10^3$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, são de menor intensidade (PAVIA *et al.*, 2015). Os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis exibem estas transições na forma de bandas que podem ter suas absorvidades molares estimadas pela equação de Lambert-Beer (Equação 1), onde “A” é a absorbância (grandeza adimensional), “ $\epsilon$ ” é a absorvidade molar (L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), “b” é o caminho óptico da cubeta (cm) e “c” é a concentração (mol L<sup>-1</sup>) da substância (PAVIA *et al.*, 2015; SKOOG *et al.*, 2014).

Equação 1 – Equação de Lambert-Beer.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

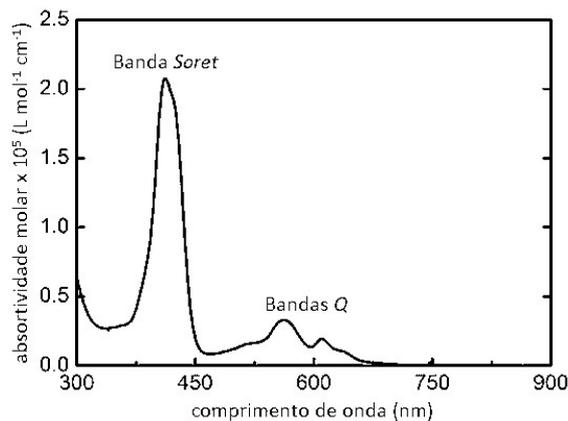
Fonte: Skoog *et al.* (2014).

Os corróis exibem um perfil característico de transições eletrônicas no espectro de absorção nas regiões UV-Vis. As bandas que surgem no espectro podem ser explicadas pela Teoria dos Orbitais de Fronteira, postulada por Gouterman (GOUTERMAN, 1961), assim como as porfirinas, pois ambos possuem transições decorrentes da presença de elétrons  $\pi$ . No espectro de absorção eletrônica de um corrol base-livre (Figura 4) é possível observar uma banda de absorção denominada banda Soret em uma faixa entre 400 e 450 nm, com

absortividade molar de magnitude em torno de  $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Transições vibrônicas de menor intensidade, denominadas bandas *Q*, são observadas entre 500 e 700 nm.

Segundo a Teoria de Gouterman, estas transições eletrônicas são do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  entre os orbitais HOMO e LUMO, e HOMO-1 e LUMO+1 destas moléculas (GOUTERMAN, 1961). Já o Princípio de Franck-Condon descreve as intensidades das transições vibrônicas, afirmando que quando uma molécula passa por uma transição eletrônica, a configuração nuclear da molécula não sofre mudanças significativas. Isso ocorre porque os núcleos são muito mais massivos que os elétrons e a transição eletrônica ocorre mais rapidamente do que os núcleos são capazes de responder. Quando o núcleo se realinha com a nova configuração eletrônica, este princípio alega que ele deve sofrer uma vibração (ATKINS e DE PAULA, 2017; LUIS, BISHOP e KIRTMAN, 2004).

Figura 4 – Bandas de absorção eletrônica características de um corrol base-livre (em diclorometano).



Fonte: Adaptado de Pivetta *et al.* (2017).

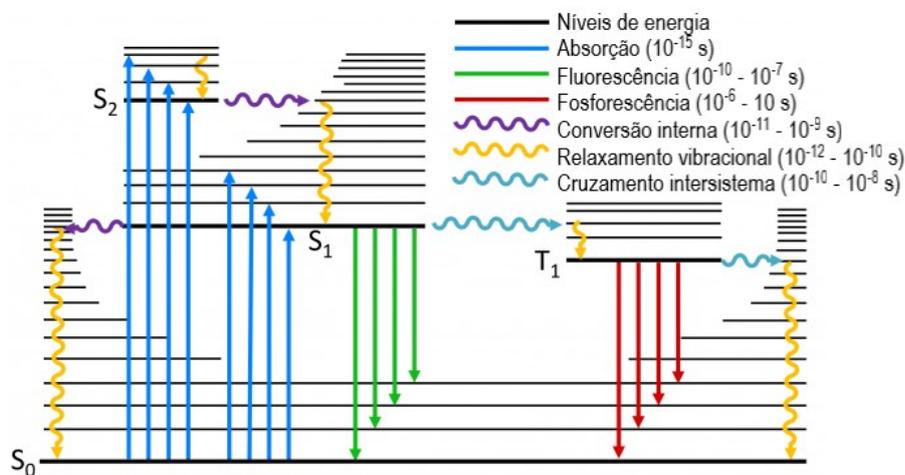
### 3.3.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

Átomos, íons e moléculas podem ser excitados de níveis de menor energia (estado fundamental) para níveis de maior energia (estado excitado) através de diversos processos, pela exposição a uma fonte de radiação eletromagnética. O tempo de vida de uma espécie excitada é transitório e o relaxamento para um nível de energia mais baixo (retorno para o estado fundamental) ocorre com a liberação do excesso de energia na forma de fótons, e isso pode ocorrer por meio de vários mecanismos. Alguns dos mais importantes mecanismos são a emissão de fluorescência e o relaxamento não radiativo (SKOOG *et al.*, 2014).

Existem dois tipos de relaxamento não radiativo: o relaxamento entre os níveis vibracionais, que ocorre durante as colisões entre moléculas excitadas e moléculas do solvente, onde parte da energia vibracional é transferida para as moléculas do solvente,

refletindo em um aumento da temperatura do meio; este é um processo em que o tempo de vida do estado excitado é cerca de  $10^{-10}$  a  $10^{-12}$  s, e resulta de uma sobreposição entre vários estados praticamente iguais em termos de energia. Já o relaxamento entre o nível vibracional mais baixo do estado eletrônico excitado e o nível vibracional superior de outro estado eletrônico, denominado *conversão interna* (IC, do inglês *internal conversion*), possui um tempo de vida no estado eletrônico excitado entre  $10^{-9}$  a  $10^{-11}$  s (LAKOWICZ, 2006; SKOOG *et al.*, 2014), conforme mostrado na Figura 5 a seguir.

Figura 5 – Diagrama de Jablonski simplificado, descrevendo todos os processos fotofísicos.



Fonte: Adaptado de Lakowicz (2006); Valeur e Berberan-Santos (2012).

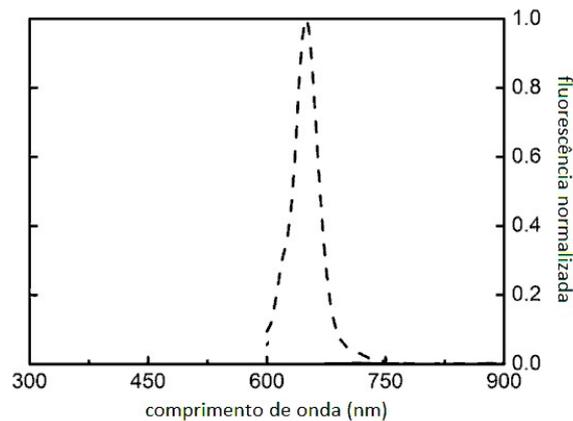
A emissão de fluorescência é observada quando um elétron retorna diretamente do estado eletrônico excitado singlete S<sub>1</sub> para o estado fundamental singlete S<sub>0</sub>. Ainda, espécies no estado excitado singlete S<sub>1</sub> podem sofrer uma conversão de *spin* para o estado excitado tripleto T<sub>1</sub>; esta conversão é chamada *cruzamento intersistema* (ISC, do inglês *intersystem crossing*). No estado excitado singlete, os elétrons no orbital estão emparelhados (*spin* +1/2 e *spin* -1/2), e no estado excitado tripleto, os elétrons no orbital estão desemparelhados (ambos exibem o mesmo valor de *spin*: +1/2). Quando ocorre o ISC, acontecem relaxamentos vibracionais e a transição T<sub>1</sub> → S<sub>0</sub> sucede-se com emissão fosforescente com tempos de vida mais longos que a fluorescência, devido à inversão de *spin* necessária para este tipo de processo (LAKOWICZ, 2006; BROWN *et al.*, 2016).

O aumento da taxa de cruzamento intersistema é influenciado pelo acoplamento *spin*-órbita (MARIAN, 2012), que é a interação do momento magnético do *spin* com o campo magnético gerado a partir do momento angular do orbital, que é observada pelo elétron enquanto orbita em torno de um núcleo carregado. O campo magnético pode levar a uma mistura dos estados excitados singlete e tripleto, conduzindo a uma inversão do *spin* de um

dos elétrons desemparelhados. Átomos com alta densidade eletrônica acentuam o acoplamento *spin*-órbita, que é também chamado de *efeito do átomo pesado* (LAKOWICZ, 2006).

A emissão de fluorescência geralmente ocorre em comprimentos de onda maiores que aqueles em que se sucede a absorção. Essa perda de energia se deve a vários processos dinâmicos que ocorrem após a absorção de luz (LAKOWICZ, 2006). Na [Figura 6](#) a seguir, é possível visualizar uma banda de emissão de fluorescência de um corrol base-livre, entre 600 e 750 nm, que foi excitado no comprimento de onda de absorção (conforme [Figura 4](#)).

[Figura 6](#) – Espectro de emissão de fluorescência evidenciando a banda de emissão de um corrol base-livre (em diclorometano).



Fonte: Adaptado de Pivetta *et al.* (2017).

A determinação do rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ) exige a comparação com um padrão fluorescente de referência ( $\Phi_{ref}$ ), cujas propriedades de emissão sejam similares às propriedades da espécie que está sendo analisada (EATON, 1988), e o valor obtido pelo cálculo é a razão entre os fótons emitidos e os fótons absorvidos pela molécula. Geralmente, compostos aromáticos apresentam emissão de fluorescência mais intensa em comparação a compostos alifáticos. Ainda, tanto a diminuição da viscosidade do solvente quanto o aumento da temperatura do meio podem levar à redução da emissão de fluorescência, devido ao aumento das colisões entre as moléculas que leva ao relaxamento colisional (SKOOG *et al.*, 2014). O cálculo de  $\Phi_f$  pode ser realizado conforme a [Equação 2](#) a seguir, onde  $\phi_f^{ref}$  é o rendimento quântico de fluorescência da amostra padrão,  $F(\lambda)$  e  $F_{ref}(\lambda)$  representam os espectros de fluorescência (amostra e referência, respectivamente) em função do comprimento de onda,  $n$  é o índice de refração do solvente, e  $f$  descreve a quantidade de luz absorvida pela amostra no comprimento de onda de excitação ( $A_{(\lambda_{exc})}$ ), dado por  $f = 1 - 10^{-A_{(\lambda_{exc})}}$ .

Equação 2 – Cálculo do rendimento quântico de fluorescência.

$$\phi_f = \phi_f^{ref} \frac{\int_{\lambda_0}^{\lambda} F(\lambda) d\lambda}{\int_{\lambda_0}^{\lambda} F_{ref}(\lambda) d\lambda} \frac{f_{ref}(\lambda)}{f(\lambda)} \frac{n^2}{n_{ref}^2}$$

Fonte: Adaptado de Bursa *et al.* (2015) e Lakowicz (2006).

### 3.3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROs)

Quando uma espécie chega ao estado excitado tripleto, pode haver a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que reagem com substratos biológicos, promovendo processos foto-oxidativos. As EROs podem ser geradas via mecanismos do Tipo I e do Tipo II. No mecanismo do Tipo I, um fotossensibilizador (**Fs**) no estado excitado tripleto interage com o substrato orgânico (molécula) ou biológico (membrana) ocorrendo um processo de transferência de elétrons, que produz um substrato oxidado (**S**<sup>+</sup>) e um fotossensibilizador reduzido (**Fs**<sup>-</sup>). O fotossensibilizador reduzido é capaz de reagir com o oxigênio molecular para gerar EROs, tais como: ânions peróxido (O<sub>2</sub><sup>2-</sup>) e hidróxido (OH<sup>-</sup>); radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroxil (•OH) e hidroperóxido (•OOH); e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (MACDONALD e DOUGHERTY, 2001; DOLMANS, FUKUMURA e JAIN, 2003; DEROSA e CRUTCHLEY, 2002).

O mecanismo do Tipo II abrange a transferência de energia de um fotossensibilizador para o oxigênio molecular no estado tripleto (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>), gerando oxigênio singleto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (MACDONALD e DOUGHERTY, 2001; DOLMANS, FUKUMURA e JAIN, 2003; DEROSA e CRUTCHLEY, 2002). O oxigênio molecular é excitado do estado fundamental tripleto (<sup>3</sup>Σ<sub>g</sub><sup>-</sup>) para um dos seus dois estados singleto, <sup>1</sup>Δ<sub>g</sub> de energia 95 kJ mol<sup>-1</sup> e <sup>1</sup>Σ<sub>g</sub><sup>+</sup> de energia 158 kJ mol<sup>-1</sup>, onde o primeiro tem um tempo de vida maior, necessitando de inversão de *spin* para retornar ao estado tripleto (DEROSA e CRUTCHLEY, 2002).

Alguns métodos empregados para medir o rendimento quântico de geração de oxigênio singleto (Φ<sub>Δ</sub>) são a detecção da luminescência produzida após o relaxamento do oxigênio singleto (luminescência no estado estacionário ou resolvida no tempo) ou análise quantitativa da foto-oxidação de um supressor (redução da intensidade da absorbância nos espectros das regiões UV-Vis) (DEROSA e CRUTCHLEY, 2002). Neste último, é realizada a fotodegradação de um composto supressor de oxigênio singleto, como o 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF, do inglês *diphenylisobenzofuran*), na presença de luz e do composto em estudo, permitindo o cálculo do rendimento quântico de geração de oxigênio singleto (Equação 3). O DPBF age como um sequestrador desta espécie reativa, formando o-

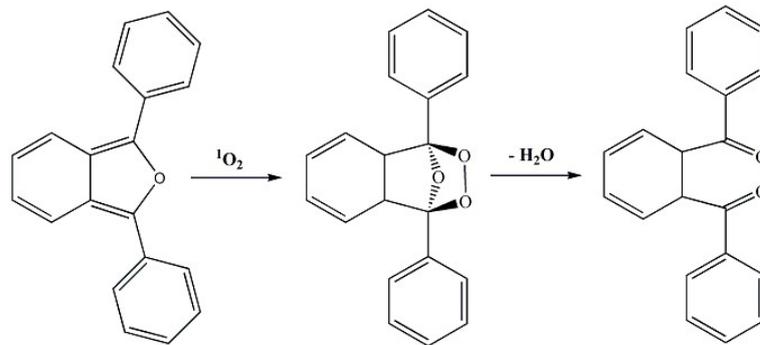
dibenzoilbenzeno (*o*-DBB) (PRADEEPA *et al.*, 2015), conforme mostrado no Esquema 6 a seguir. Na Equação 3,  $\Phi_{\Delta}^{std}$  é o rendimento quântico de oxigênio singlete da amostra padrão;  $k$  e  $k_{std}$  são as constantes cinéticas de foto-oxidação para o composto em estudo e a substância padrão, respectivamente;  $I^{std}/I = (1-10^{-(A_{std})})/(1-10^{-A})$ , onde  $I^{std}$  e  $I$  são as absorvâncias da substância padrão e do composto, respectivamente.

Equação 3 – Cálculo do rendimento quântico da geração de oxigênio singlete.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{std} \frac{k}{k^{std}} \frac{I^{std}}{I}$$

Fonte: Adaptado de Maree, Kuznetsova e Nyokong (2001); Durmus e Nyokong (2007).

Esquema 6 – Reação de foto-oxidação do DPBF.



Fonte: Adaptado de Pradeepa *et al.* (2015).

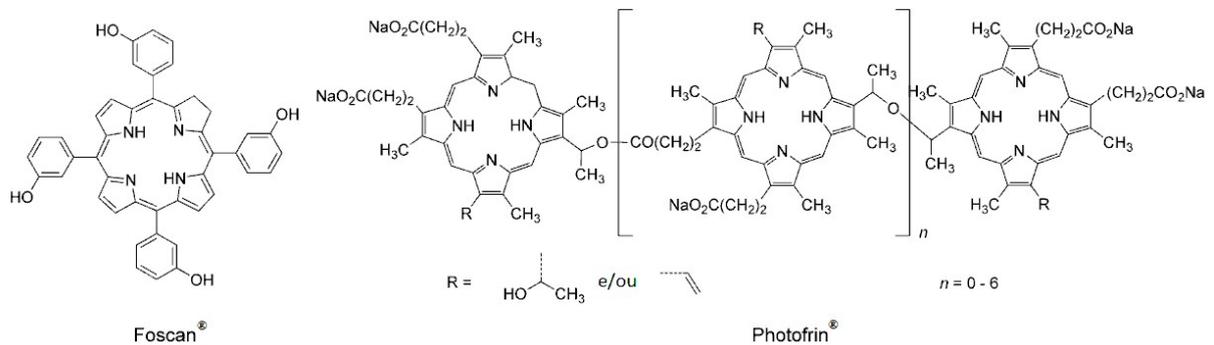
### 3.4 APLICAÇÃO DE CORRÓIS NA TERAPIA FOTODINÂMICA E INTERAÇÃO COM DNA

A maioria dos agentes quimioterápicos utilizados atualmente se enquadra como compostos de ligação ao DNA. Intercaladores, ligantes de sulcos e ligantes covalentes podem ser citotóxicos – e, portanto, terapêuticos – pela interação com o DNA (BOER, CANALS e COLL, 2009). Os fotossensibilizadores (Fs) utilizados na terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*) mais investigados são as porfirinas e seus metalo-derivados, pois suas propriedades fotofísicas e fotobiológicas podem ser exploradas para destruir células tumorais, uma vez que atuam como agentes de ligação ao DNA (KEENE, SMITH e COLLINS, 2009).

Um dos parâmetros mais importantes ao avaliar a atividade fotodinâmica de um fotossensibilizador é o rendimento quântico de geração de oxigênio singlete, pois este é citotóxico e causa estresse oxidativo e dano à membrana das células tumorais (PIVETTA *et al.*, 2017). Em resumo, a PDT requer três componentes: irradiação com energia luminosa,

oxigênio e um fotossensibilizador. Quando este último é exposto a fontes luminosas de comprimentos de onda específicos, é ativado do estado fundamental para o estado excitado, e ao retornar ao estado fundamental libera energia, e esta pode ser transferida para o oxigênio molecular, gerando oxigênio singlete (DOLMANS, FUKUMURA e JAIN, 2003). Atualmente, alguns dos fotossensibilizadores comercialmente disponíveis são Foscan<sup>®</sup> e Photofrin<sup>®</sup>, representados na Figura 7 a seguir.

Figura 7 – Representação estrutural dos fotossensibilizadores comerciais Foscan<sup>®</sup> e Photofrin<sup>®</sup>.



Fonte: Adaptado de Mari *et al.* (2014).

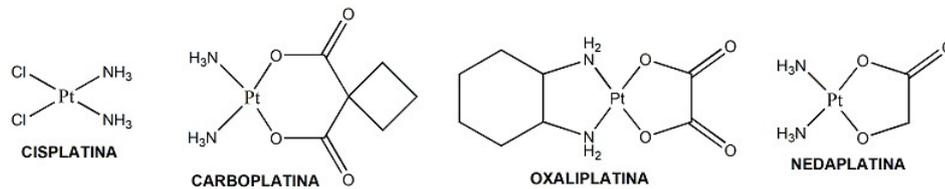
Nos últimos anos, corróis contendo complexos metálicos também têm sido amplamente estudados para aplicação em PDT (LIU *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2017). A formação de um aduto corrol-DNA, através da interação nos sulcos maior ou menor, pode induzir mudanças estruturais no DNA e possível destruição celular por apoptose ou necrose (ACUNHA, CHAVES e IGLESIAS, 2020). A natureza dos substituintes ligados ao anel macrocíclico, inclusive a inserção de átomos que fornecem um efeito de átomo pesado mais pronunciado, também é determinante nas propriedades fotofísicas dos corróis – conforme o substituinte, algumas propriedades eletrônicas da molécula se alteram como, por exemplo, as formas das bandas nos espectros de absorção e emissão, os rendimentos quânticos de fluorescência e de geração de oxigênio singlete, e a fotoestabilidade (LEMON *et al.*, 2015; VENTURA *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2021; PIVETTA *et al.*, 2017). Além disso, a polaridade dos solventes utilizados para analisar esses parâmetros pode influenciar nas características dos corróis (DING *et al.*, 2005; OU *et al.*, 2008).

### 3.5 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE PLATINA E PALÁDIO

Os agentes quimioterápicos à base de platina estão entre os mais conhecidos e utilizados no tratamento de vários tipos de câncer, provocando a morte de células tumorais por meio da interação com o DNA, e podem ser administrados de forma única ou combinados

a outros agentes citotóxicos, ou também à radioterapia. A [Figura 8](#) a seguir, apresenta alguns exemplos.

[Figura 8](#) – Representação estrutural de agentes quimioterápicos à base de platina.



Fonte: Adaptado de Almeida *et al.* (2014).

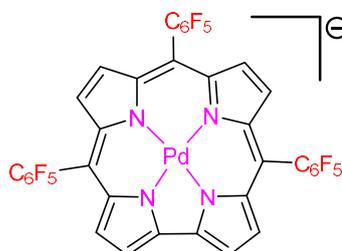
No entanto, algumas desvantagens permeiam a aplicação clínica destes agentes, como a presença de efeitos colaterais agudos e sua rápida resistência celular, esta última possivelmente causada pelo acúmulo intracelular dos compostos, que reduz a captação destes e, conseqüentemente, limita a formação dos adutos com DNA (ARNESANO, LOSACCO e NATILE, 2013; GÓMEZ-RUIZ *et al.*, 2012; GARCÍA-RAMOS *et al.*, 2013). Portanto, estudos de novas drogas antitumorais à base de platina têm sido desenvolvidos nos últimos anos, visando diminuir efeitos indesejados e aumentar a eficiência dos tratamentos (XU *et al.*, 2013; QIN *et al.*, 2019; KUTLU *et al.*, 2021; DUSKOVA *et al.*, 2012).

Como os recentes estudos têm se concentrado na busca de novos compostos com efeitos colaterais e resistência celular reduzidos, maior atenção tem sido dada a compostos de coordenação contendo diferentes íons de metais como, por exemplo, o paládio (SHABANA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2014; CZARNOMYSY *et al.*, 2021). Devido as propriedades periódicas, a platina(II) e o paládio(II) apresentam raios iônicos similares (RUIZ *et al.*, 2005) possuem configuração eletrônica  $d^8$ , exibem propriedades químicas semelhantes e formam complexos de geometria quadrática-plana. Dessa forma, os efeitos terapêuticos e a atividade antitumoral de complexos contendo íons de paládio(II) são de grande interesse. Geralmente, os complexos contendo paládio(II) são mais lábeis e reativos que seus análogos de platina(II) (FEIZI-DEHNAYEBI, DEHGHANIAN e MANSOURI-TORSHIZI, 2021) – propriedades que podem ser modificadas se os complexos de paládio(II) forem estabilizados por ligantes volumosos e grupos de saída adequados (NADEEM *et al.*, 2010).

Na literatura, existem estudos de corróis contendo complexos de platina e de paládio, onde o metal geralmente está coordenado no núcleo macrocíclico (ALEMAYEHU, 2014; ALEMAYEHU, 2018; CHEN *et al.*, 2020; UMASEKHAR, SHETTI e RAVIKANTH, 2018), conforme [Figura 9](#) a seguir. Os corróis descritos nesta dissertação apresentam complexos de

platina(II) e paládio(II) nos substituintes periféricos, exibindo uma carga positiva que pode aprimorar as propriedades interativas destes compostos.

Figura 9 – Representação estrutural de um corrol contendo o íon paládio(II) no núcleo tetrapirrólico.



Fonte: Adaptado de CHEN *et al.* (2020).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 SÍNTESE DOS CORRÓIS

A síntese dos corróis desta dissertação, descrita a seguir, foi baseada na metodologia sintética relatada por Koszarna e Gryko (2006). Os complexos bipyridínicos de platina(II) e paládio(II) foram sintetizados conforme a metodologia descrita por Morgan e Burstall (1934).

#### 4.1.1 Síntese do corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor**

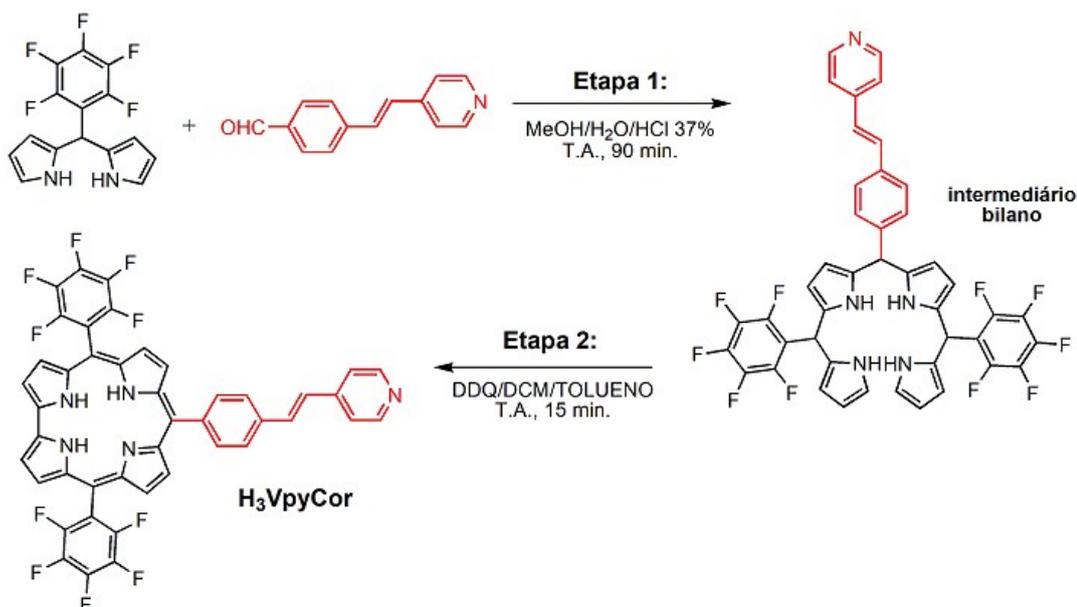
##### Procedimento:

**Etapa 1:** em um balão de fundo redondo, foram adicionados 0,482 mmol (100 mg) de 4-[(piridin-4-il)vinil]benzaldeído e 0,965 mmol (300 mg) de 5-(pentafluorofenil)dipirrometano. Em seguida, foram adicionados 50 mL de metanol para solubilizar os reagentes, e 2,5 mL de HCl 37% diluídos em 50 mL de água destilada. Deixou-se reagir, sob agitação, por 90 minutos, a temperatura ambiente (Esquema 7). A solução obtida possui coloração alaranjada. Posteriormente, foi realizada extração em funil de separação, utilizando diclorometano e água destilada, para separar as fases orgânica e aquosa. O produto separado no solvente orgânico foi transferido para um balão de fundo redondo, seco com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração simples e evaporação do solvente.

**Etapa 2:** no balão reacional contendo o composto intermediário foram adicionados 10 mL de diclorometano e uma solução contendo 0,965 mmol (282 mg) do oxidante 2,3-dicloro-5,6-diciano-*p*-benzoquinona (DDQ) e uma mistura de diclorometano/tolueno (2:1, totalizando 8,0 mL), e deixado reagir por 15 minutos, a temperatura ambiente. Em seguida,

foi realizada novamente a evaporação do solvente e o produto foi purificado através de coluna cromatográfica com sílica gel, utilizando uma mistura de diclorometano:*n*-hexano (1:1). Obteve-se um sólido de coloração verde escuro e o rendimento calculado foi 0,065 mmol (40 mg; 13%), a partir do reagente limitante dipirrometano.

Esquema 7 – Rota sintética para obtenção do corrol base-livre  $H_3VpyCor$ .



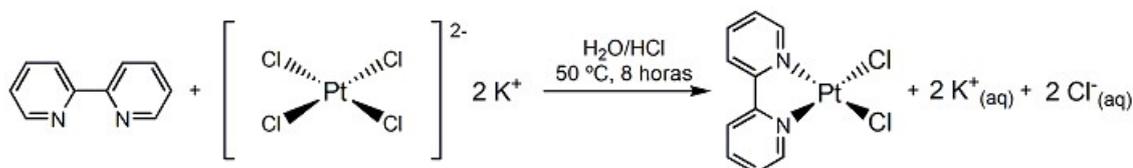
Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.2 Síntese do complexo $[Pt(bpy)Cl_2]$

##### Procedimento:

Em um balão de fundo redondo, foi adicionada uma solução contendo 0,120 mmol (19 mg) de 2,2'-bipiridina com 0,5 mL de HCl 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida, foi adicionada outra solução, contendo 0,120 mmol (50 mg) de K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> com 7,5 mL de água. Deixou-se reagir por 8 horas, sob agitação, a uma temperatura de 50 °C (Esquema 8). Por fim, foi realizada filtração simples e lavagem com água, obtendo-se um sólido estável de coloração amarela.

Esquema 8 – Rota sintética para obtenção do complexo  $[Pt(bpy)Cl_2]$ .



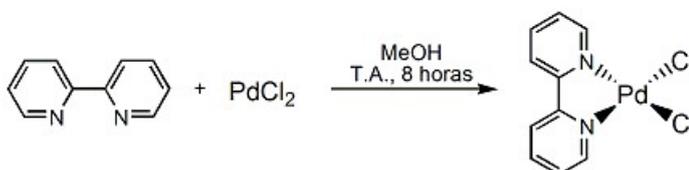
Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.3 Síntese do complexo $[\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}_2]$

##### Procedimento:

Em um balão de fundo redondo, foi adicionada uma solução contendo 1,39 mmol (217 mg) de 2,2'-bipiridina com 10 mL de metanol. Em seguida, foram adicionados 1,33 mmol (236 mg) de  $\text{PdCl}_2$ . Deixou-se reagir por 8 horas, sob agitação, a temperatura ambiente (**Esquema 9**). Por fim, foi realizada filtração simples e lavagem com metanol, obtendo-se um sólido estável de coloração alaranjada.

**Esquema 9** – Rota sintética para obtenção do complexo  $[\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}_2]$ .



Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.4 Síntese do derivado $\text{PtVPyCor}$

##### Procedimento:

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 0,0183 mmol (15 mg) do corrol base-livre  $\text{H}_3\text{VPyCor}$  e 0,0192 mmol (7,5 mg) do complexo de partida  $[\text{Pt}(\text{bpy})\text{Cl}_2]$ . Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de *N,N'*-dimetilformamida (DMF) e 1,0 mL de etanol para solubilizar os reagentes. Deixou-se reagir, sob agitação, por 24 horas, a uma temperatura de 50 °C (**Esquema 10**). Após este período, o produto foi precipitado com solução aquosa saturada de hexafluorofosfato de potássio, sob agitação, por 30 minutos. Por fim, foi efetuada filtração simples, seguida de lavagem do produto com água destilada e éter etílico. Obteve-se um sólido de coloração verde escuro e o rendimento calculado foi 0,012 mmol (10,5 mg; 70%). O produto formado é instável devido ao ligante Cl, que é facilmente labilizado e forma compostos higroscópicos. Portanto, foi utilizado o  $\text{KPF}_6$  para estabilizar o produto.

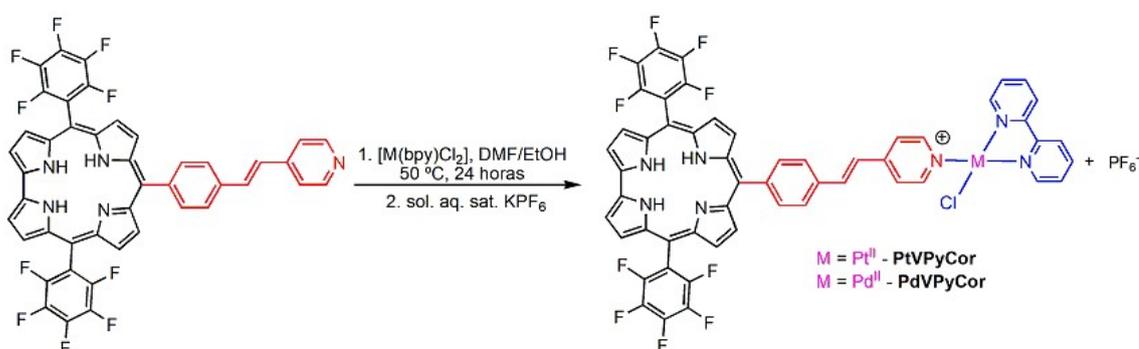
#### 4.1.5 Síntese do derivado $\text{PdVPyCor}$

##### Procedimento:

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 0,0183 mmol (15 mg) do corrol base-livre  $\text{H}_3\text{VPyCor}$  e 0,0192 mmol (6,5 mg) do complexo de partida  $[\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}_2]$ . Em

seguida, foram adicionados 2,0 mL de DMF e 1,0 mL de etanol para solubilizar os reagentes. Deixou-se reagir, sob agitação, por 24 horas, a uma temperatura de 50 °C (Esquema 10). Após este período, foi realizada a precipitação com solução aquosa saturada de hexafluorofosfato de potássio, sob agitação, por 30 minutos. Por fim, foi efetuada filtração simples, seguida de lavagem do produto com água destilada e éter etílico. Obteve-se um sólido de coloração verde escuro e o rendimento calculado foi 0,015 mmol (12,5 mg; 82%). Assim como na síntese do derivado **PtVpyCor**, o produto formado (**PdVpyCor**) também é instável devido à presença do ligante Cl. Portanto, também foi utilizado o  $\text{KPF}_6$  para estabilizar o produto.

Esquema 10 – Rota sintética para obtenção dos derivados **PtVpyCor** e **PdVpyCor**.



Fonte: Próprio autor.

## 4.2 ANÁLISE ELEMENTAR E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os dados das análises elementares (CHN%) foram obtidos usando um aparelho PerkinElmer 2400 (Universidade de São Paulo/SP). Para a espectrometria de massas, os compostos foram analisados em um instrumento micrOTOF-Q II, Bruker Daltonics (Billerica, MA, USA) localizado no CEBIME (Centro de Biologia Molecular Estrutural – Universidade Federal de Santa Catarina/SC). Foram utilizadas como fontes de ionização MALDI (do inglês *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) e APCI (do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*), e os espectros de massas de alta resolução foram obtidos com soluções metanólicas de concentração em torno de 500 ppb com um fluxo de  $180 \mu\text{L min}^{-1}$  e tensão de capilar entre 3000–4500 V.

## 4.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NAS REGIÕES UV-VIS

Os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis foram obtidos utilizando um espectrofotômetro de feixe duplo Shimadzu UV-2600 (em uma faixa entre 250 e 800 nm), localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria/RS, e cubeta

de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. As soluções foram preparadas em concentrações na faixa de 10 mmol L<sup>-1</sup> (solução estoque para cada solvente) em acetonitrila (ACN), diclorometano (DCM), dimetilsulfóxido (DMSO) e DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q<sup>®</sup>.

#### 4.3.1 Absortividade molar e estudo de agregação

O estudo de agregação dos compostos e os cálculos de absortividade molar ( $\epsilon$ ; M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) foram realizados por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis utilizando os solventes ACN, DCM, DMSO e DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q<sup>®</sup>. Os ensaios foram conduzidos nos diferentes solventes para avaliar possíveis efeitos nas transições eletrônicas dos compostos.

Procedimento geral: adicionou-se na cubeta 10  $\mu$ L da solução estoque do respectivo composto em 2,0 mL de solvente para obter o primeiro espectro. A seguir, foram adicionadas mais 14 alíquotas de mesmo volume do composto (10  $\mu$ L) e, a cada adição, um espectro foi obtido, totalizando 15 espectros. Os valores das absortividades molares ( $\epsilon$ ) foram calculados de acordo com a [Equação 1](#) citada anteriormente.

#### 4.3.2 Ensaio de fotoestabilidade

Os ensaios de fotoestabilidade dos compostos foram determinados por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis em DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q<sup>®</sup>, medindo a absorbância dos compostos na banda Soret (concentração fixa de 10  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>), antes e depois de irradiação com luz branca (placa de LED de fabricação caseira; 400-800 nm; taxa de fluência de 5,0 mW cm<sup>-2</sup> e dosagem de 27,0 J cm<sup>-2</sup>) e com luz vermelha (TheraLaser, DMC<sup>®</sup>; 660 nm; taxa de fluência de 9,0 mW cm<sup>-2</sup> e dosagem de 49,0 J cm<sup>-2</sup>). Com ambas as fontes de luz, o experimento foi realizado em um período de 30 minutos para cada composto estudado, sendo que a cada 5 minutos um espectro foi obtido. Os cálculos foram realizados de acordo com a [Equação 4](#) a seguir:

[Equação 4](#) – Determinação da porcentagem de fotoestabilidade.

$$\text{Fotoestabilidade (\%)} = \frac{\text{Abs antes da irradiação}}{\text{Abs depois da irradiação}} \times 100$$

Fonte: Adaptado de Lourenço *et al.* (2015).

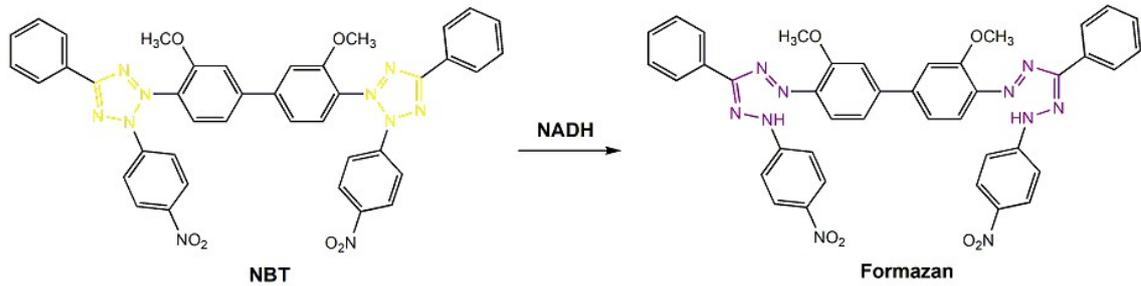
#### 4.3.3 Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) via decomposição do DPBF

Neste experimento foi utilizada a metodologia indireta por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, empregando uma solução de 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF; solução estoque  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ), em DMSO. Como os compostos investigados apresentam transição eletrônica na mesma região do DPBF (aproximadamente em  $\lambda = 417 \text{ nm}$ ), o espectrofotômetro foi calibrado na presença dos compostos – 2,0 mL de DMSO e 50  $\mu\text{L}$  do respectivo composto (concentração fixa de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Então, foi adicionada uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  da solução estoque de DPBF para obter o primeiro espectro na ausência de irradiação (escuro) e, em seguida, irradiou-se a solução com luz vermelha (TheraLaser, DMC<sup>®</sup>; taxa de fluência de  $9,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $16,3 \text{ J cm}^{-2}$ ) por 600 segundos. Sob condição de irradiação, 15 espectros foram obtidos para cada composto. Os valores de  $\Phi_{\Delta}$  foram calculados de acordo com a [Equação 3](#) citada anteriormente.

#### 4.3.4 Geração de radicais superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) via redução do NBT

Para avaliar se os compostos estudados geram radicais superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), foi realizada a redução do NBT (azul de nitrotetrazólio, do inglês *nitroblue tetrazolium*) no derivado Formazan ([Esquema 11](#)), na presença do respectivo composto, por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis (em uma faixa entre 400 e 700 nm). O agente redutor utilizado foi o NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo). O espectrofotômetro foi calibrado com 2,0 mL de solvente (DMF) e 50  $\mu\text{L}$  do respectivo composto (concentração fixa de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Após, foi adicionada uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  de uma solução de NBT ( $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  – solução estoque em DMF) e uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  de uma solução de NADH ( $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$  – solução estoque em água). Para cada composto, obteve-se o primeiro espectro na ausência de irradiação e, em seguida, irradiou-se a solução com luz branca (placa de LED de fabricação caseira; taxa de fluência de  $5,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $27,0 \text{ J cm}^{-2}$ ) por 30 minutos, sendo que um espectro foi obtido a cada 60 segundos.

Esquema 11 – Representação da redução do NBT (amarelo) em Formazan (roxo), na presença do agente redutor NADH.



Fonte: Próprio autor.

#### 4.3.5 Coeficiente de partição

A medida da hidrofiliicidade ou lipofiliicidade de uma espécie química dissolvida em um sistema imiscível, formado por uma fase orgânica e outra aquosa, é amplamente realizada pelo cálculo dos coeficientes de partição (WATARAI, TANAKA e SUZUKI, 1982). O logaritmo do coeficiente de partição em uma mistura de *n*-octanol/água ( $\log P_{OW}$ ) é o parâmetro mais utilizado para esta medida (VALKÓ, 2004). Na Equação 5 a seguir, “ $P_{OW}$ ” é o coeficiente de partição do sistema *n*-octanol/água, “ $A_{org}$  e  $A_{aq}$ ” são os valores das absorvâncias nas fases orgânica e aquosa e “ $V_{org}$  e  $V_{aq}$ ” são os volumes das fases orgânica e aquosa, respectivamente.

Equação 5 – Cálculo do coeficiente de partição.

$$\log P_{OW} = \log [(A_{org}/A_{aq})(V_{aq}/V_{org})]$$

Fonte: Adaptado de Baluja, Kulshrestha e Movalia (2017).

Procedimento geral: para cada composto, 0,5 mg foram dissolvidos em uma mistura de 3,0 mL de *n*-octanol e 3,0 mL de água, em um frasco com tampa, e a mistura foi agitada a temperatura ambiente, durante 24 horas. Após este período, as soluções foram deixadas em repouso por alguns instantes para ocorrer a separação completa das fases, sendo que a fase aquosa manteve-se na parte inferior dos frascos ( $d_{\text{água}} = 0,997 \text{ g mL}^{-1}$ ), enquanto a fase orgânica manteve-se na parte superior ( $d_{\text{octanol}} = 0,824 \text{ g mL}^{-1}$ ). Então, foram medidas as absorções de ambas as fases por espectroscopia eletrônica nas regiões UV-Vis, em uma faixa entre 250 e 800 nm.

#### 4.4 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA

Os ensaios para determinação do rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ) foram realizados por espectroscopia de emissão de fluorescência no estado estacionário em um espectrofluorímetro Horiba Jobin Yvon FluoroMax Plus – localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria/RS – com cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, em uma faixa entre 500 e 800 nm, utilizando como abertura de feixe 5,0 cm (slit – Emissão/Excitação) e concentração fixa de cada composto em 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Para as medidas foram utilizadas as soluções em ACN, DCM e DMSO (solução estoque 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) dos compostos. Adicionou-se uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  da solução estoque do respectivo composto em 2,0 mL de solvente para obter o espectro de emissão ( $\lambda_{\text{excitação}} = \text{banda Soret}$ ). Os valores de  $\Phi_f$  foram calculados com base na [Equação 2](#) apresentada anteriormente, utilizando como padrão o 5,10,15-(pentafluorofenil)corrol em tolueno ( $\Phi_f = 13\%$ ) (VENTURA *et al.*, 2005).

Os tempos de vida de fluorescência ( $\tau_f$ ) foram obtidos por espectroscopia de emissão de fluorescência resolvida no tempo (concentração fixa de 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e pelo método de contagem de fóton único (TCSPC, do inglês *Time-Related Single Photon Counting*), com Controlador DeltaHub em conjunto com o espectrofluorímetro Horiba citado anteriormente. Os dados foram processados com o software DAS6 e Origin<sup>®</sup> 8.5 utilizando ajuste monoexponencial dos dados brutos. Foi empregada como fonte de excitação uma fonte de NanoLED (Horiba) (1,0 MHz, largura de pulso <1,3 ns em comprimento de onda de excitação de 441 nm). As constantes radiativas ( $k_r$ ) e não radiativas ( $k_{nr}$ ) puderam ser determinadas através dos valores de rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ) e de tempo de vida de fluorescência ( $\tau_f$ ), de acordo com as [Equações 6 e 7](#) a seguir:

[Equação 6](#) – Cálculo da constante radiativa.

$$k_r = \phi_f / \tau_f$$

[Equação 7](#) – Cálculo da constante não radiativa.

$$k_{nr} = (1 - \phi_f) / \tau_f$$

Fonte: Adaptado de Tisoco *et al.* (2022).

## 4.5 ANÁLISE ELETROQUÍMICA POR TÉCNICA DE VOLTAMETRIA CÍCLICA

Os voltamogramas dos compostos investigados foram obtidos em um Potenciostato/Galvanostato Eco Chemie AutoLab PGSTAT128N – localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria/RS – a temperatura ambiente e em solução de DMF. Esta análise foi realizada utilizando uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio como eletrólito suporte, empregando um sistema padrão de três componentes: um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, um eletrodo auxiliar de platina e um *pseudo*-eletrodo de referência de platina. Os potenciais redox foram corrigidos através do uso do ferroceno ( $\text{Fc}/\text{Fc}^+$ ;  $E_{1/2} = 0,4 \text{ V}$ ), como meio de calibração do potencial de eletrodo de referência, devido ao seu comportamento reversível ideal (BOND, OLDHAM e SNOOK, 2000).

## 4.6 INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS (DNA)

### 4.6.1 Titulação espectrofotométrica na região do ultravioleta-visível

Os ensaios de interação entre os compostos e SS-DNA (modelo de dupla fita; extraído de esperma de salmão; Sigma-Aldrich®) foram realizados por meio de medidas dos espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis (espectrofotômetro de feixe duplo Shimadzu UV-2600, localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria/RS) a temperatura ambiente e utilizando cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. As análises foram conduzidas em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4. As concentrações de pares de bases de DNA de baixo peso molecular do SS-DNA foram determinadas usando coeficiente de extinção molar em  $6.600 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  em 260 nm (ACUNHA *et al.*, 2021).

Os compostos em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4 (concentração fixa de  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foram titulados com concentrações crescentes de SS-DNA (0 a  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ; solução estoque Tris-HCl pH 7,4 –  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Os valores das constantes de ligação ( $K_b$ ) foram calculados de acordo com a diferença das bandas de absorção dos compostos utilizando a equação de Benesi-Hildebrand (Equação 8) através de um gráfico de  $A_0/(A - A_0)$  versus  $1/[\text{DNA}]$ , onde  $[\text{DNA}]$  é a concentração de SS-DNA, e  $\epsilon_b$  e  $\epsilon_f$  são os coeficientes de extinção molar das formas totalmente ligadas e livres, respectivamente. Em gráficos de  $A_0/(A - A_0)$  versus  $1/[\text{DNA}]$ , o valor de  $K_b$  é dado pelo inverso da razão da inclinação (*slope*).

Equação 8 – Cálculo da constante de ligação.

$$\frac{A_0}{|A - A_0|} = \frac{\varepsilon_f}{|(\varepsilon_b - \varepsilon_f)|} + \frac{1}{K_b|[DNA]}$$

Fonte: Adaptado de Benesi e Hildebrand (1949).

A energia livre de Gibbs padrão ( $\Delta G^\circ$ ) dos adutos corrol-DNA foram calculados a partir dos valores de  $K_b$  usando a Equação 9 a seguir, onde R e T são os valores para a constante dos gases ( $1,985875 \text{ kcal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ) e temperatura (298,15 K), respectivamente.

Equação 9 – Cálculo da energia livre de Gibbs.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b$$

Fonte: Adaptado de Acunha (2021).

#### 4.6.2 Viscosimetria

As medidas de viscosidade foram realizadas usando um viscosímetro de Ostwald, imerso em banho-maria mantido a uma temperatura de 25 °C. O SS-DNA foi previamente solubilizado em solução tampão Tris-HCl pH 7,4 e sua concentração foi mantida constante em todos os ensaios, mas a concentração dos compostos foi elevada gradualmente de 10 para 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O tempo de fluxo foi medido com um cronômetro digital (CASIO®), e cada amostra foi medida em duplicata, fornecendo um tempo médio de fluxo. Os dados são apresentados e plotados em um gráfico de  $(\eta/\eta^0)^{1/3}$  versus a razão [corrol]/[DNA], onde  $\eta$  é a viscosidade de SS-DNA na presença do respectivo composto e  $\eta^0$  é a viscosidade de SS-DNA na ausência do respectivo composto. Foi utilizado como controle de molécula intercaladora, o brometo de etídio (SUH e CHAIRES, 1995; PILCH *et al.*, 1995) e controle de molécula por interação eletrostática, o complexo  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  (LOPES-COSTA, SANCHEZ e LOPEZ-CORNEJO, 2009).

Os valores de viscosidade foram calculados a partir do tempo de fluxo observado de soluções contendo SS-DNA, corrigidos para o tempo de fluxo da solução tampão sem SS-DNA, pela Equação 10 a seguir, onde  $t_0$  e  $t$  são os tempos de fluxo inicial e final, respectivamente.

Equação 10 – Cálculo da viscosidade de SS-DNA na presença dos compostos.

$$\eta = t - t_0$$

Fonte: Pradeepa *et al.* (2015).

#### 4.6.3 Ensaios de competição com corantes

Os ensaios de competição dos compostos com SS-DNA foram realizados por espectroscopia de emissão de fluorescência no estado estacionário utilizando o espectrofluorímetro Horiba Jobin Yvon FluoroMax Plus – localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria/RS. Os ensaios competitivos sucederam-se através da adição dos respectivos compostos (solução estoque em DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4; 10 mmol L<sup>-1</sup>) em uma cubeta de quartzo (caminho óptico de 1,0 cm) contendo SS-DNA (solução estoque Tris-HCl pH 7,4; 100 mmol L<sup>-1</sup>) e brometo de etídio (EB, do inglês *ethidium bromide*) – 2,0 μmol L<sup>-1</sup>, λ<sub>exc</sub> = 531 nm, λ<sub>em</sub> = 550-800 nm – como intercalador; alaranjado de acridina (AO, do inglês *acridine orange*) – 2,0 μmol L<sup>-1</sup>, λ<sub>exc</sub> = 492 nm, λ<sub>em</sub> = 500-700 nm – como intercalador específico para adenina-timina (A-T); 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, do inglês *4',6-diamidino-2-phenylindole*) – 2,0 μmol L<sup>-1</sup>, λ<sub>exc</sub> = 359 nm, λ<sub>em</sub> = 380-600 nm – ou verde de metila (MG, do inglês *methyl green*) – 2,0 μmol L<sup>-1</sup>, λ<sub>exc</sub> = 318 nm, λ<sub>em</sub> = 330-600 nm – como corantes de interação de sulco menor e maior, respectivamente.

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos para corante:DNA após 3 minutos de incubação e sucessivas adições de cada composto (na faixa de 0 a 100 μmol L<sup>-1</sup>). Os valores das constantes de supressão de Stern-Volmer ( $K_{SV}$ ) e da constante de supressão bimolecular ( $k_q$ ) foram calculados de acordo com o decaimento das intensidades de emissão de fluorescência de corante:DNA na presença dos compostos pela [Equação 11](#) a seguir, sendo os valores do tempo de vida de fluorescência para os adutos EB:DNA ( $\tau_f = 23,0$  ns), AO:DNA ( $\tau_f = 1,70$  ns), DAPI:DNA ( $\tau_f = 2,20$  ns) e MG:DNA ( $\tau_f = 2,80$  ns).

Na [Equação 11](#),  $F_0$  e  $F$  são as intensidades de emissão de fluorescência na ausência e presença dos compostos, respectivamente,  $\tau_0$  é o tempo de vida de fluorescência do aduto corante:DNA e  $[Q]$  é a concentração do composto. De acordo com esta equação, os valores de  $K_{SV}$  são calculados a partir da inclinação (*slope*), e  $k_q = K_{SV}/\tau_0$ .

[Equação 11](#) – Cálculo da constante de supressão de Stern-Volmer e constante de supressão bimolecular.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_q\tau_0 [Q]$$

Fonte: Acunha (2021).

Para determinar os valores das constantes de associação ( $K_a$ ) para cada aduto corante:DNA com os respectivos compostos foi utilizada a equação modificada de Stern-Volmer ([Equação 12](#)), onde  $F_0$  e  $F$  são as intensidades de emissão de fluorescência na

ausência e presença dos compostos, respectivamente,  $[Q]$  é a concentração do composto e  $f$  é a fração da intensidade de fluorescência inicial correspondente ao fluoróforo que é acessível pelo supressor ( $f \approx 1,00$ ).

Equação 12 – Cálculo da constante de associação.

$$\frac{F_0}{F_0 - F} = \frac{1}{f[Q]K_a} + \frac{1}{f}$$

Fonte: Acunha (2021).

Os ensaios dos tempos de vida de fluorescência dos compostos investigados na presença de SS-DNA não foram conduzidos, uma vez que estes não apresentam bandas de emissão em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.

#### 4.6.4 Análise *in silico* de *docking* molecular

As estruturas cristalográficas para as biomacromoléculas de DNA foram obtidas pelo Protein Data Bank, com código de acesso 1BNA (WARDELL *et al.*, 2002; DREW *et al.*, 1981). A estrutura química dos compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** foram construídas e minimizadas em termos de energia por Hartree-Fock com base 3-21G, disponível no software Spartan'18 (Wavefunction, Inc., Irvine, CA, USA) (HEHRE, 2003). Os cálculos de *docking* molecular foram realizados com o software GOLD 2020.2 (Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge – CCDC, do inglês *Cambridge Crystallographic Data Center* – Cambridge, CB2 1EZ, UK – 2022). Átomos de hidrogênio foram adicionados às biomacromoléculas conforme os estados tautoméricos e de ionização inferidos pelo software GOLD 2020.2. Para a estrutura do DNA foi explorado um raio de 10 Å em torno dos dois principais sítios de ligação possíveis (sulcos maior e menor), e o padrão ChemPLP foi usado como uma função de pontuação devido aos melhores resultados obtidos para porfirinas em trabalhos anteriores. As figuras para a melhor pose de encaixe foram geradas com o software PyMOL Delano Scientific LLC (DELANO, 2002).

#### 4.6.5 Aplicação dos compostos como sensores fluorescentes de biomoléculas

Os limites de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) e de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) para SS-DNA na presença dos compostos foram determinados via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e espectroscopia de emissão de fluorescência no estado estacionário, levando em consideração a possibilidade de utilizar estes compostos para detecção de biomoléculas e aplicações bioanalíticas. Os

valores de LOD e LOQ foram obtidos pelas [Equações 13](#) e [14](#) a seguir, onde 3,3 e 10 são valores de fator de confiança,  $\sigma$  é o desvio padrão, e *slope* é a inclinação da curva de calibração.

[Equação 13](#) – Cálculo do valor de LOD.

$$\text{LOD} = 3,3 \times \sigma/\text{slope}$$

[Equação 14](#) – Cálculo do valor de LOQ.

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma/\text{slope}$$

Fonte: Adaptado de Krüger *et al.* (2021); ICH Guideline (2005); Kassab *et al.* (2010).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 ANÁLISE ELEMENTAR E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Foi realizada a análise elementar para carbono, hidrogênio e nitrogênio dos compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor**. Na [Tabela 1](#) a seguir, são apresentados os resultados. Os valores encontrados confirmaram a pureza das amostras, uma vez que as porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas experimentalmente aproximaram-se das porcentagens calculadas teoricamente. É possível notar que alguns compostos podem apresentar águas de hidratação que, provavelmente, foram adquiridas na síntese ou durante o processo de precipitação.

[Tabela 1](#) – Valores encontrados para os dados de análise elementar (CHN%).

Corrol	C% <sub>exp.</sub> (calc.)	H% <sub>exp.</sub> (calc.)	N% <sub>exp.</sub> (calc.)	Fórmula molecular
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	65,44 (65,27)	2,80 (2,61)	8,69 (8,65)	C <sub>44</sub> H <sub>21</sub> F <sub>10</sub> N <sub>5</sub>
<b>PtVPyCor</b>	45,90 (45,31)	2,92 (2,75)	6,88 (6,85)	C <sub>54</sub> H <sub>29</sub> ClF <sub>16</sub> N <sub>7</sub> PPt·5H <sub>2</sub> O
<b>PdVPyCor</b>	47,85 (47,66)	3,10 (3,04)	7,33 (7,21)	C <sub>54</sub> H <sub>29</sub> ClF <sub>16</sub> N <sub>7</sub> PPd·6H <sub>2</sub> O

Fonte: Próprio autor.

Para reforçar os resultados da análise elementar, utilizou-se a técnica de Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS, do inglês *High-Resolution Mass Spectrometry*). A [Tabela 2](#) a seguir, apresenta os resultados obtidos, confirmando a formação dos compostos investigados, visto que os fragmentos de seus pesos moleculares correspondentes foram detectados. Os dados para os compostos **H<sub>3</sub>VPyCor** e **PtVPyCor** foram obtidos da literatura (IGLESIAS *et al.*, 2015), e foi utilizada MALDI como fonte de ionização, sendo esta uma técnica branda que não fragmenta ou decompõe as moléculas. Para o derivado **PdVPyCor**, foi utilizada a fonte de ionização APCI, uma técnica de alta

seletividade e sensibilidade, contudo, pode fragmentar o composto. Para este derivado foi detectada uma forma monoprotônada juntamente da perda do complexo  $[\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}]$ .

Tabela 2 – HRMS-MALDI e APCI dos compostos (erro experimental < 5.0 ppm).

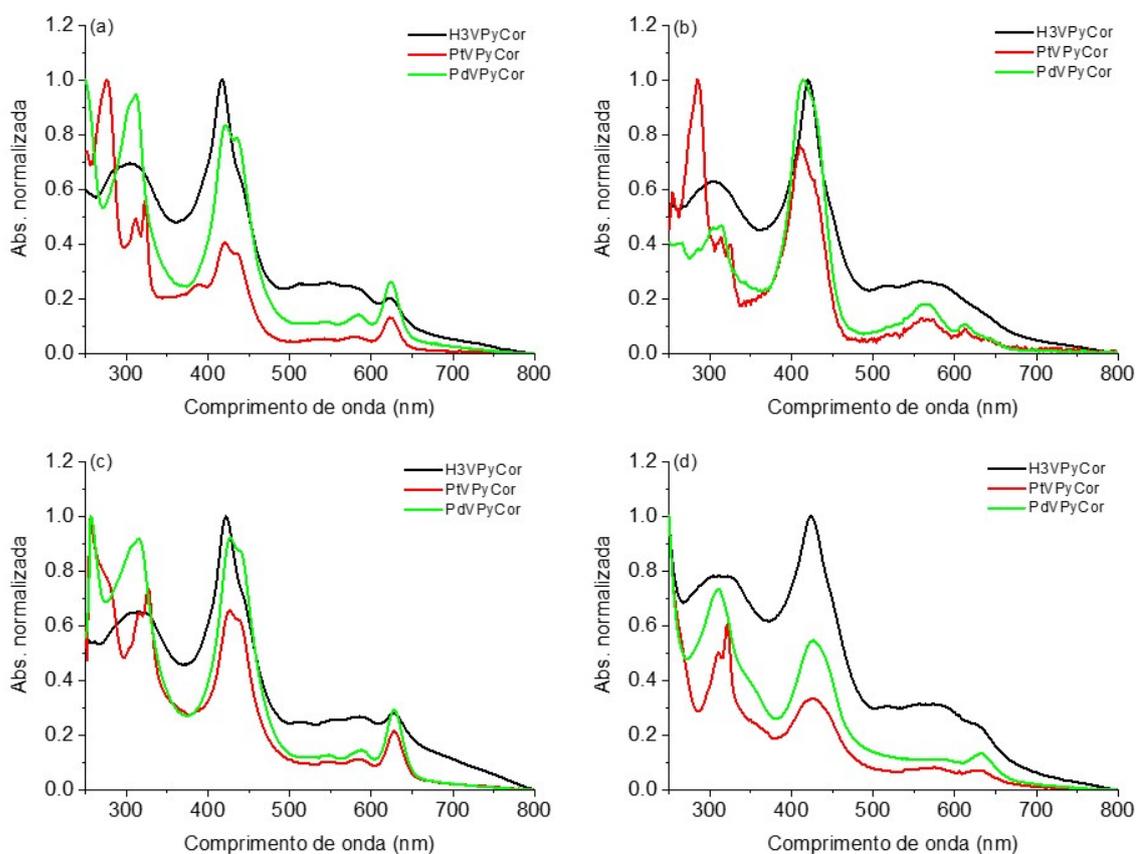
Corrol	Íon calculado ( $m/z$ )	Íon observado ( $m/z$ )
$\text{H}_3\text{VPyCor}$	809,1637	809,1633( $[\text{M}]^+$ )
$\text{PtVPyCor}$	1195,1656	1195,1624( $[\text{M}]^+$ )
$\text{PdVPyCor}$	1106,1043	810,1699 ( $[\text{M} + \text{H}]^+ - [\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}]$ )

Fonte: Próprio autor.

## 5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NAS REGIÕES UV-VIS

A Figura 10 a seguir, apresenta os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos estudados em quatro diferentes solventes.

Figura 10 – Espectros normalizados dos compostos estudados em soluções de (a) ACN, (b) DCM, (c) DMSO e (d) DMSO(5%)/água.



Fonte: Próprio autor.

As transições eletrônicas entre 410 e 430 nm (banda Soret) provavelmente são contribuições do anel macrocíclico, confirmadas pelos valores elevados de absorvidade

molar (Tabela 3) e as bandas Q, localizadas entre 510 e 640 nm, com valores de absorptividade molar ( $\epsilon$ ) bem menores quando comparados à banda Soret. Estas transições confirmam a formação dos corróis pelo perfil espectral. Ainda, é possível verificar o surgimento de transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  entre 250 e 320 nm, provenientes da contribuição do grupo vinil-piridil (presente em todos os compostos), bem como transições do tipo LMCT (Transferência de Carga de Ligante para Metal, do inglês *Ligand to Metal Charge Transfer*) entre 300 e 330 nm nos espectros dos derivados **PtVpyCor** e **PdVpyCor**, que resultam da bipyridina coordenada nestes complexos.

**Tabela 3** – Transições eletrônicas e coeficientes de absorptividade molar ( $\epsilon$ ) para os compostos estudados em soluções de ACN, DCM, DMSO e DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q<sup>®</sup>.

Transição	$\lambda$ , nm ( $\epsilon$ ; mol L <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )		
	ACN		
	H <sub>3</sub> VpyCor	PtVpyCor	PdVpyCor
$\pi \rightarrow \pi^*$ (intraligante)	304 (36944)	276 (95206)	251 (47971)
LMCT	-----	311 (46637), 323 (52712)	311 (45302)
Soret	417 (53274)	420 (38665)	420 (40175)
Bandas Qs	582 (13239), 623 (10781)	583 (6040), 624 (12853)	584 (7374), 624 (13064)
Transição	DCM		
	H <sub>3</sub> VpyCor	PtVpyCor	PdVpyCor
	$\pi \rightarrow \pi^*$ (intraligante)	306 (63019)	285 (99812)
LMCT	-----	313 (42516), 325 (39847)	309 (46518)
Soret	421 (99812)	411 (75517)	414 (100198)
Bandas Qs	516 (25067), 560 (26576)	565 (12533), 612 (8952)	564 (18256), 612 (10848)
Transição	DMSO		
	H <sub>3</sub> VpyCor	PtVpyCor	PdVpyCor
	$\pi \rightarrow \pi^*$ (intraligante)	316 (19505)	266 (37532)
LMCT	-----	316 (29163), 326 (33260)	315 (27421)
Soret	421 (299531)	427 (296312)	427 (274217)
Bandas Qs	586 (80918), 628 (85162)	585 (5443), 628 (10096)	587 (4492), 628 (8911)
Transição	DMSO(5%)/água ultrapura Milli-Q <sup>®</sup>		
	H <sub>3</sub> VpyCor	PtVpyCor	PdVpyCor
	$\pi \rightarrow \pi^*$ (intraligante)	315 (7974)	-----
LMCT	-----	310 (17939), 321 (21963)	310 (15210)
Soret	424 (10228)	427 (120061)	426 (113330)
Bandas Qs	582 (3270), 630 (2326)	576 (3153), 628 (2758)	581 (2399), 632 (2838)

Fonte: Próprio autor.

Os diferentes solventes utilizados podem causar deslocamento das bandas e mudanças nas suas formas espectrais. Estas mudanças são provocadas pela estabilização que os solventes proporcionam à molécula, ao reorientar-se em torno da mesma. Visto que os compostos em estudo apresentam ligações polarizadas (C-F e N-H), pode haver uma polarização em toda a molécula. Portanto, dependendo da polaridade do solvente, este pode interagir e estabilizar os compostos, principalmente, por meio de interações intermoleculares como ligações de hidrogênio ou dipolo-dipolo (PAVIA *et al.*, 2015). Em solventes mais polares, como o DMSO e a mistura DMSO(5%)/água, pode ocorrer uma estabilização da molécula através destas interações, possivelmente, provocando uma diminuição da energia entre os orbitais de fronteira dos compostos e, dessa forma, deslocar as bandas de absorção eletrônica para regiões de maior comprimento de onda (deslocamento batocrômico), como pode ser visto nas Figuras 10c e 10d, para todos os compostos.

Nos espectros de absorção eletrônica dos compostos em soluções de ACN, DCM e DMSO, observa-se uma divisão da banda Soret em dois pequenos picos. Isso se deve a uma tendência que os corróis possuem de formar espécies tautoméricas em solução, pois existe a possibilidade de desprotonação dos nitrogênios pirrólicos em solventes com caráter mais básico, ou ligações de hidrogênio entre os corróis e um solvente prótico (BURSA *et al.*, 2015). Geralmente, quando há formação de tautômeros dos corróis em solução, eles apresentam-se em duas formas principais e, dependendo do solvente utilizado, a presença destas espécies nos espectros de absorção eletrônica torna-se mais acentuada (KRUK *et al.*, 2012).

A desprotonação dos corróis pode ocorrer devido à menor cavidade do núcleo macrocíclico em comparação ao das porfirinas, levando a uma possível orientação da ligação N-H pirrólica para fora da cavidade. Uma vez que os corróis são menos planares que seus análogos porfirínicos, os nitrogênios internos são mais suscetíveis à desprotonação, que pode ser acentuada pela presença de solventes polares e que proporcionam interações via ligações de hidrogênio (DING *et al.*, 2005; KRUK *et al.*, 2012; BURSA *et al.*, 2016), conforme já mencionado.

Não foi observada a possibilidade de tautomerização para o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** em nenhum dos solventes, e a única mudança considerável nas bandas espectrais nos diferentes solventes é um pequeno deslocamento batocrômico, quando a polaridade do solvente aumenta. Para o derivado **PtVPyCor**, a formação de tautômeros não é observada nos espectros de absorção eletrônica utilizando os solventes DCM e DMSO(5%)/água; porém, neste último solvente, foi observado um alargamento da banda Soret. Por fim, nos espectros

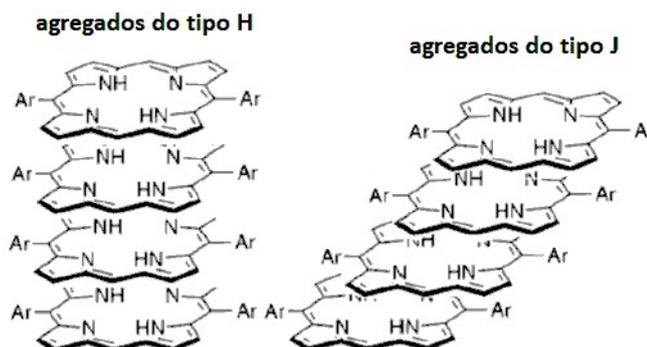
de absorção eletrônica do derivado **PdVPyCor**, verificou-se uma possível formação de tautômeros apenas nas soluções de ACN e DMSO e também um alargamento da banda Soret em solução de DMSO(5%)/água.

### 5.2.1 Ensaio de agregação

Os macrociclos tetrapirrólicos, em geral, possuem uma tendência de formar agregados em solução devido às fortes interações do tipo  $\pi$ -stacking nestes compostos. No entanto, se houver a presença de substituintes volumosos perpendiculares ao núcleo do macrociclo, o empilhamento  $\pi$  é impedido, evitando assim a agregação (PIVETTA *et al.*, 2017).

Existem duas maneiras principais pelas quais a agregação pode ocorrer: a primeira acontece quando as moléculas se organizam de forma empilhada umas sobre as outras (agregados do tipo H), e a outra maneira é quando uma extremidade de uma molécula se agrega com uma extremidade da molécula vizinha (agregados tipo J), conforme [Figura 11](#) a seguir. É possível distinguir o tipo de agregação pelos espectros de absorção eletrônica, uma vez que a formação de agregados do tipo H causa um deslocamento hipsocrômico, e os agregados do tipo J causam um deslocamento batocrômico no comprimento de onda das bandas espectrais (WÜRTHNER, KAISER e SAHA-MÖLLER, 2011).

[Figura 11](#)– Representação dos agregados do tipo H e J de uma porfirina base-livre.



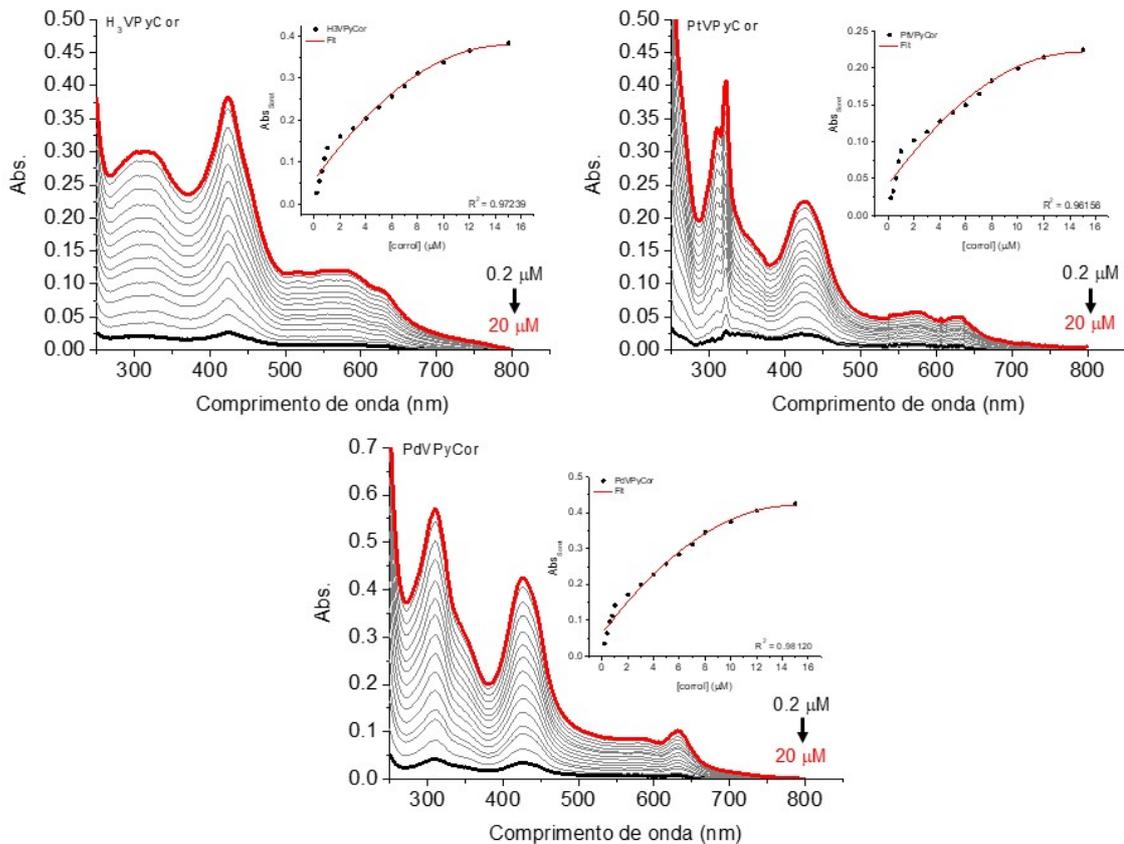
Fonte: Sajadi e Khoee (2021).

Como é possível verificar a formação de agregados quando a molécula passa a absorver menos radiação eletromagnética (PIVETTA *et al.*, 2017), os ensaios de agregação foram conduzidos via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, em DMSO puro e em uma mistura DMSO(5%)/água, em concentrações na faixa de 0,2 a 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O DMSO é um solvente polar aprótico e de caráter básico, que pode causar uma desprotonação

no anel dos corróis estudados, o que ocasiona mudanças nas propriedades espectroscópicas. A água, por sua vez, é um solvente polar prótico, que pode interagir com os corróis por meio de ligações de hidrogênio, e possui uma constante dielétrica ( $\epsilon$ ) maior que o DMSO. Quando se formam ligações de hidrogênio entre a molécula e o solvente, a tendência de agregação pode ser reduzida (WÜRTHNER, KAISER e SAHA-MÖLLER, 2011). A finalidade deste experimento foi determinar qual a concentração máxima atingida pelos compostos antes de formar agregados em solução.

A Figura 12 a seguir, apresenta os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis em DMSO(5%)/água, e a banda de absorção sondada foi a banda Soret. Todos os compostos apresentaram uma tendência de agregação, conforme visualizado nos gráficos ao lado dos espectros de absorção eletrônica de cada composto. Apesar disso, com o aumento gradual da concentração dos compostos, não ocorreram mudanças batocrômicas ou hipsocrômicas nos comprimentos de onda da banda Soret.

Figura 12 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, na faixa de concentração de 0,2 a 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



Fonte: Próprio autor.

### 5.2.2 Ensaio de fotoestabilidade

A medida da fotoestabilidade é um parâmetro importante em relação ao emprego de compostos em terapia fotodinâmica, uma vez que moléculas mais fotoestáveis tendem a manter as suas características fotofísicas após serem expostas à luz. A fotoestabilidade dos compostos investigados foi acompanhada por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, através do decaimento de absorbância da banda Soret, antes e depois da irradiação dos compostos, no tempo estipulado (LOURENÇO *et al.*, 2015). O cálculo da porcentagem de fotoestabilidade é dado pela [Equação 4](#), citada anteriormente.

Conforme observado na [Tabela 4](#) a seguir, os compostos apresentaram fotoestabilidade moderada quando irradiados com luz vermelha (660 nm; taxa de fluência de  $9,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $49,0 \text{ J cm}^{-2}$ ) durante 30 minutos. No entanto, todos os compostos mostraram ser menos fotoestáveis quando irradiados com luz branca (400-800 nm; taxa de fluência de  $5,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $27,0 \text{ J cm}^{-2}$ ) durante o mesmo período de tempo.

**Tabela 4** – Fotoestabilidade dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, em um período de irradiação com luz branca ou vermelha de 30 min.

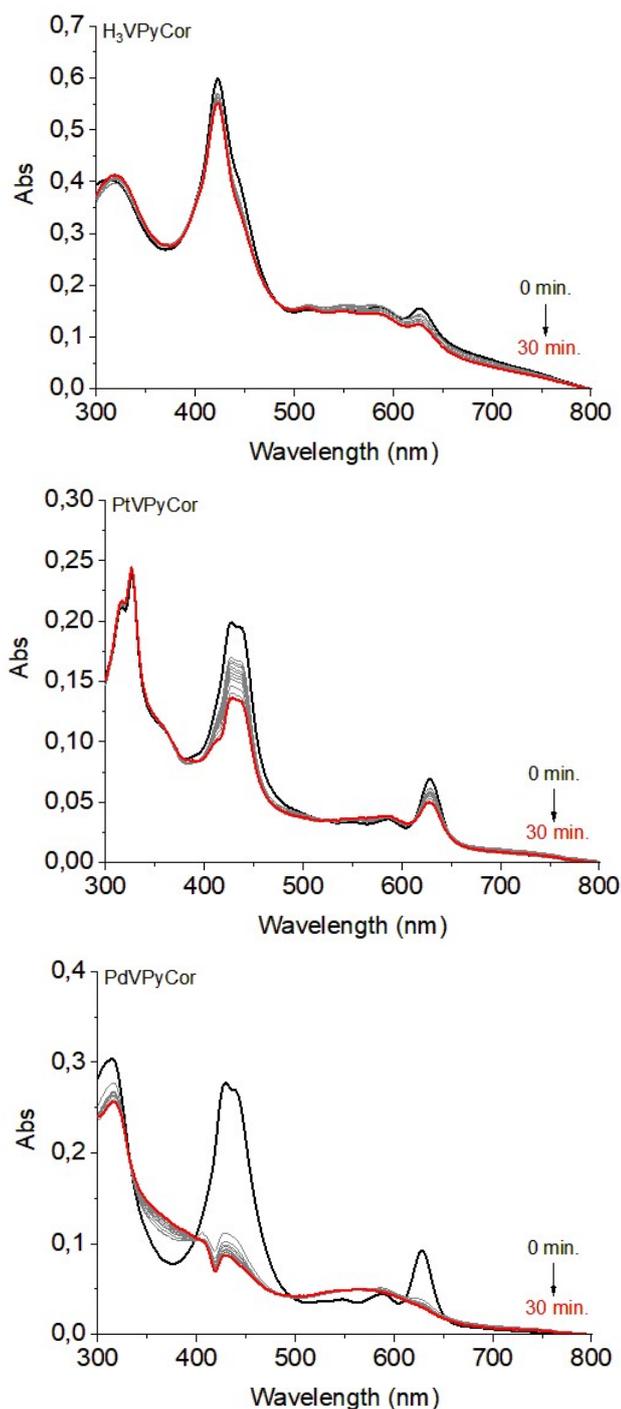
Corrol	Fotoestabilidade (luz branca) - %						
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	100	96,0	95,0	94,0	93,0	92,0	92,0
<b>PtVPyCor</b>	100	85,0	84,0	81,0	79,0	76,0	70,0
<b>PdVPyCor</b>	100	92,0	86,0	84,0	82,0	79,0	78,0
Corrol	Fotoestabilidade (luz vermelha) - %						
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	100	99,0	99,0	98,0	98,0	98,0	98,0
<b>PtVPyCor</b>	100	98,0	96,0	94,0	93,0	92,0	90,0
<b>PdVPyCor</b>	100	97,0	96,0	95,0	94,0	93,0	92,0

Fonte: Próprio autor.

Os derivados **PtVPyCor** e **PdVPyCor** parecem ser mais suscetíveis à fotodegradação do que o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** na luz vermelha e, ainda mais, na luz branca. É pertinente considerar que a luz branca atinge toda a região visível do espectro eletromagnético e a luz vermelha abrange apenas os comprimentos de onda de 620 a 750 nm, sendo esta uma região de baixa absorção destes compostos. Estes resultados podem sugerir que os derivados contendo íons de platina(II) e paládio(II) sofrem maior fotodegradação devido à uma elevada geração de espécies reativas de oxigênio, conforme será discutido a

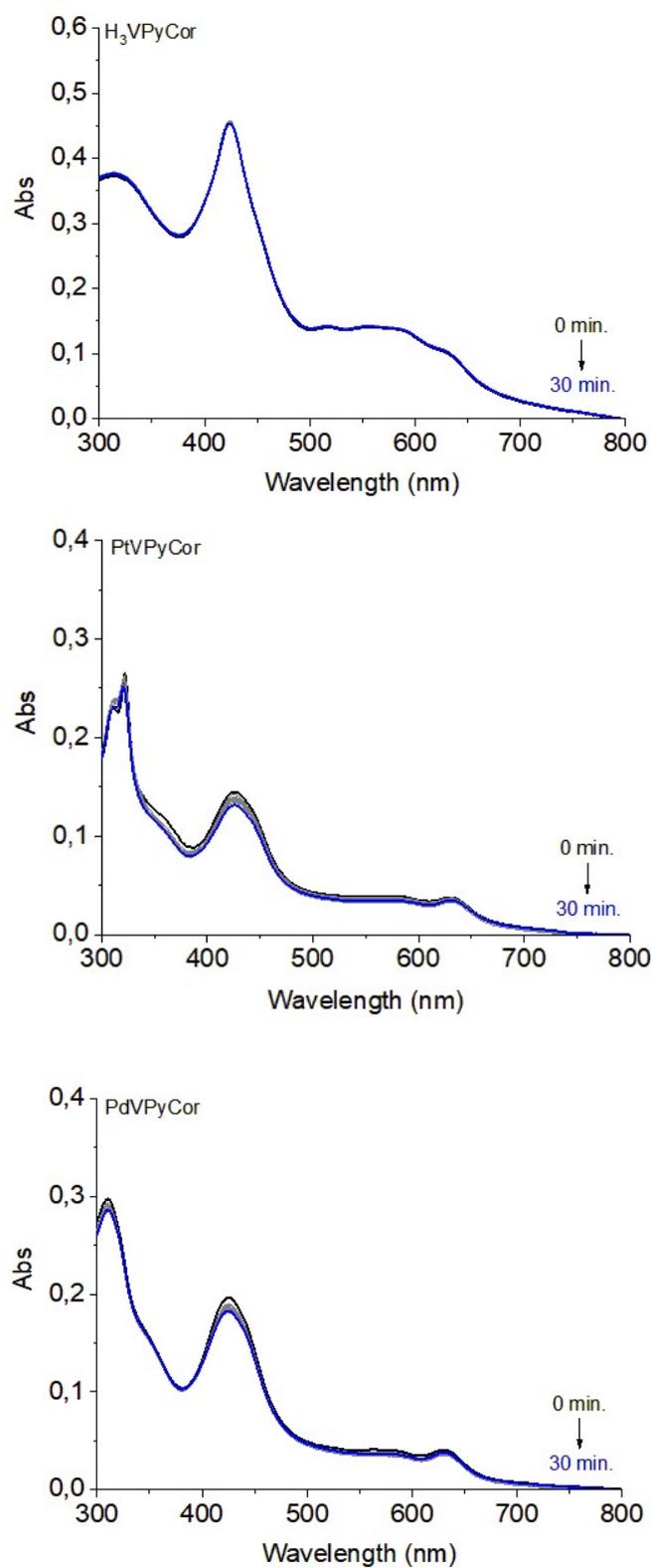
seguir nesta dissertação, uma vez que as próprias EROs geradas pelos compostos são capazes de oxidá-los. As Figuras 13 e 14 apresentam os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, após irradiação com luz branca e vermelha, respectivamente.

Figura 13 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, após irradiação com luz branca por 30 min.



Fonte: Próprio autor.

Figura 14 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos em solução de DMSO(5%)/água, após irradiação com luz vermelha por 30 min.

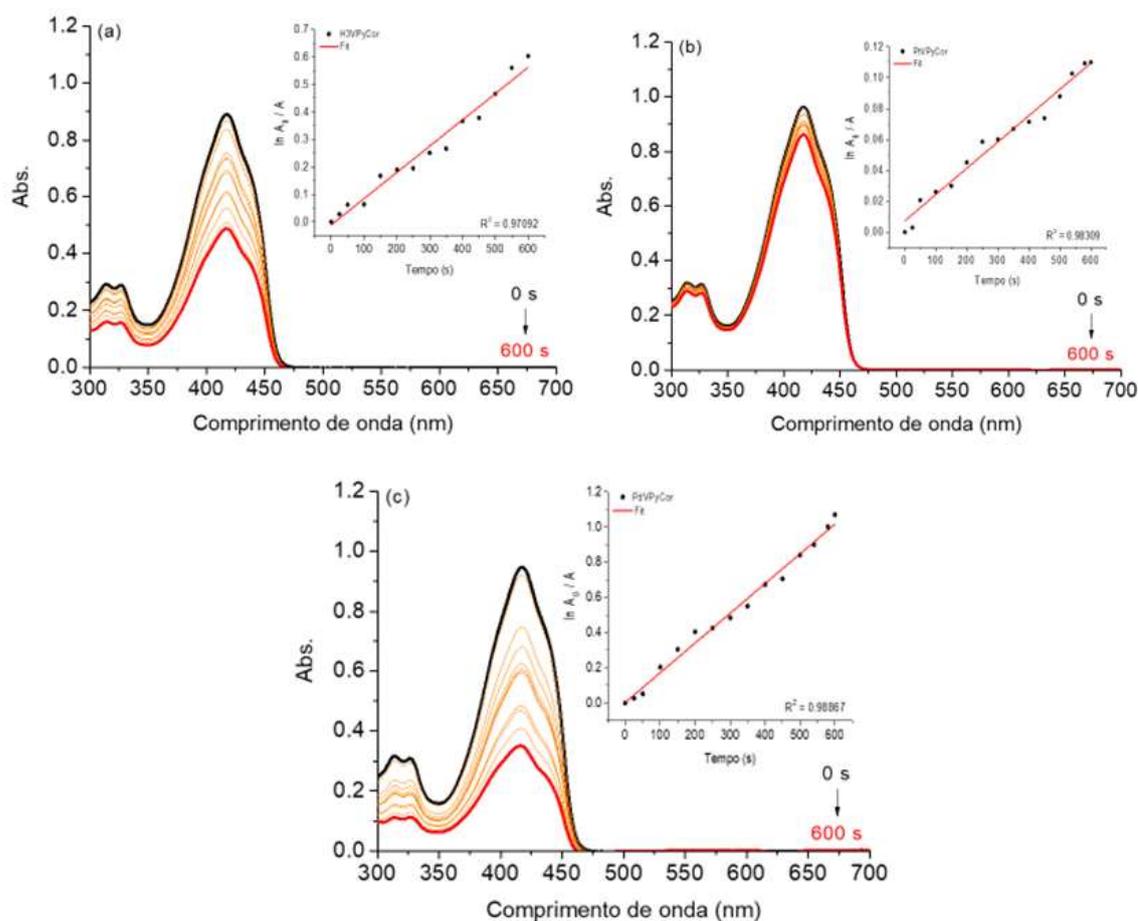


Fonte: Próprio autor.

### 5.2.3 Geração de espécies reativas de oxigênio – oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) e superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )

Para determinar o rendimento quântico de geração de oxigênio singlete ( $\Phi_\Delta$ ) foi realizado o ensaio de foto-oxidação do DPBF em solução de DMSO, sendo esta uma análise quantitativa indireta da produção de oxigênio singlete, uma vez que o produto da foto-oxidação do DPBF (*o*-DBB) não absorve luz na região visível do espectro eletromagnético. Dessa forma, as mudanças na absorvância do DPBF estão diretamente relacionadas à quantidade de  $^1\text{O}_2$  gerado. A Figura 15 a seguir, apresenta os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, e os gráficos de tempo (eixo x) *versus*  $\ln(A_0/A)$  (eixo y), onde a constante cinética de foto-oxidação ( $k_{f_0}$ ) é determinada pelo coeficiente angular (*slope*).

Figura 15 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis da foto-oxidação do DPBF para os compostos (a)  $\text{H}_3\text{VPyCor}$ , (b)  $\text{PtVPyCor}$  e (c)  $\text{PdVPyCor}$  em solução de DMSO, utilizando irradiação com luz vermelha pelo tempo total de 600 s.



Fonte: Próprio autor.

Na [Tabela 5](#) a seguir, estão relacionados os valores de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete e as constantes de foto-oxidação para cada composto.

**Tabela 5** – Rendimentos quânticos de geração de  $^1\text{O}_2$  ( $\Phi_{\Delta}$ ) e constantes de foto-oxidação ( $k_{fo}$ ) dos compostos em solução de DMSO, no período de irradiação de 600 s com luz vermelha.

Corrol	$\Phi_{\Delta}$ (%) <sup>*</sup>	$k_{fo}$ (mol L <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	39,0	9,54 x 10 <sup>-4</sup>
<b>PtVPyCor</b>	7,0	1,70 x 10 <sup>-4</sup>
<b>PdVPyCor</b>	68,0	1,69 x 10 <sup>-3</sup>

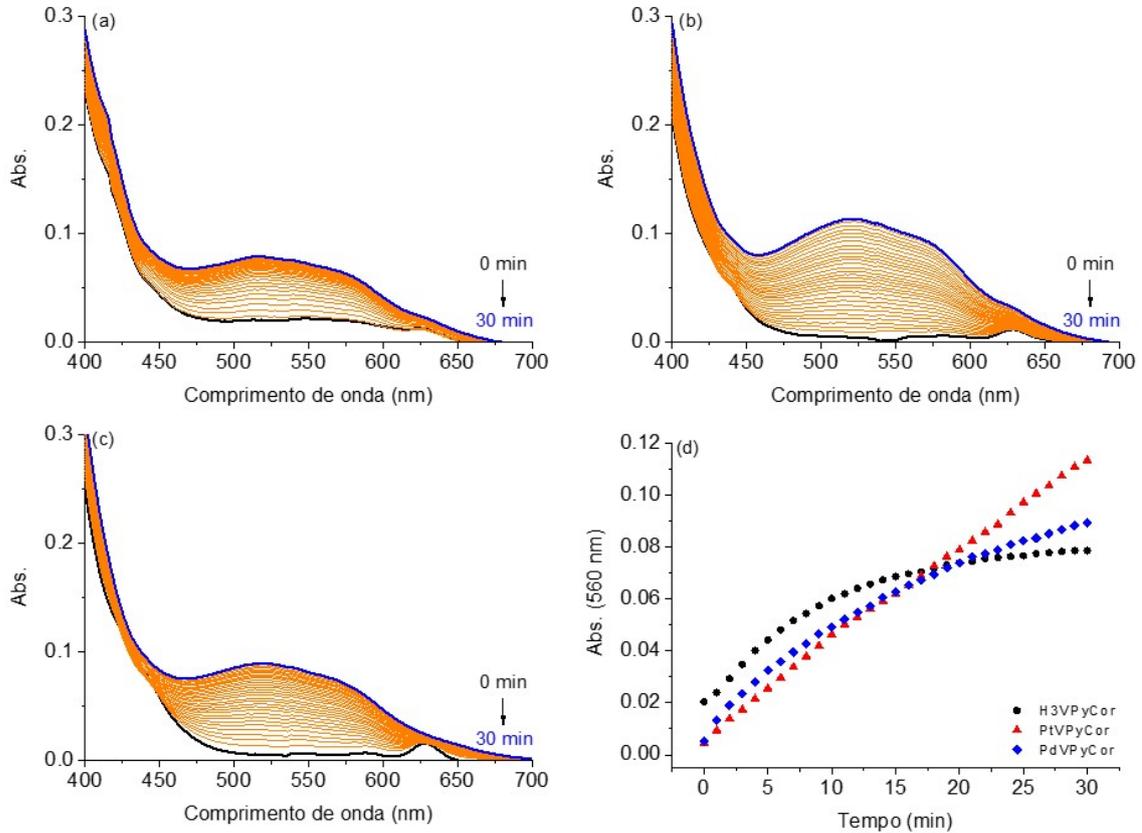
\*Referência: *meso*-tri(fenil)corrol em DMSO ( $\Phi_{\Delta\text{std}} = 67\%$ ;  $k_{fo} = 0,165 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )

Fonte: Próprio autor.

Neste experimento, foi monitorada a diminuição da absorbância do DPBF, em um comprimento de onda  $\lambda = 417 \text{ nm}$ , durante a irradiação com luz vermelha (taxa de fluência de  $9,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $16,3 \text{ J cm}^{-2}$ ) por 600 segundos, em solução de DMSO. O derivado **PdVPyCor** apresentou os melhores resultados de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) e da constante de foto-oxidação ( $k_{fo}$ ). O composto de referência utilizado neste ensaio foi o *meso*-tri(fenil)corrol em DMSO ( $\Phi_{\Delta\text{std}} = 67\%$ ;  $k_{fo} = 0,165 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). O corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** e o derivado **PtVPyCor** apresentaram valores menores de rendimento quântico de geração de  $^1\text{O}_2$  e de  $k_{fo}$ , logo, uma possível explicação é que estes compostos podem estar gerando outras espécies reativas de oxigênio.

Para verificar se os compostos geram radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) – outra espécie reativa de oxigênio – foi realizado o ensaio de fotorredução do NBT, por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis (entre 400 e 700 nm), utilizando o agente redutor NADH, gerando o derivado Formazan. A fonte de irradiação utilizada foi luz branca (BAIGORRIA *et al.*, 2021), com uma taxa de fluência de  $5,0 \text{ mW cm}^{-2}$  e dosagem de  $27,0 \text{ J cm}^{-2}$ , por 30 minutos. Foi monitorado o aumento da absorbância do NBT ( $\lambda = 560 \text{ nm}$ ), na presença de NADH e dos respectivos compostos. Na [Figura 16](#) a seguir, são apresentados os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis do NBT, e um gráfico de tempo (eixo x) *versus* absorbância (eixo y).

**Figura 16** – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e curso de tempo de formação de superóxido detectado pela fotorredução do NBT, com o aumento da absorção em 560 nm, sendo: NBT + NADH (linha preta), (a) NBT + NADH + **H<sub>3</sub>VPyCor**, (b) NBT + NADH + **PtVPyCor**, (c) NBT + NADH + **PdVPyCor** e (d) plotagem do aumento da absorbância *versus* tempo, usando luz branca como fonte de irradiação.



Fonte: Próprio autor.

No gráfico plotado na [Figura 16d](#), é possível notar que o derivado **PdVPyCor** e, principalmente, o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** parecem gerar radicais superóxido até um certo período de tempo e após, a quantidade gerada dessa espécie reativa de oxigênio tende a permanecer constante. Contudo, o derivado **PtVPyCor** segue uma linearidade, possivelmente indicando que, até o tempo de conclusão do experimento (30 minutos), o composto ainda estava gerando esta ERO.

Além disso, o derivado **PtVPyCor** apresentou uma maior variação de absorbância na banda de absorção sondada, sendo o composto que, possivelmente, mais gerou  $O_2^{\cdot-}$  dentre os compostos em estudo. Este resultado corrobora com o menor rendimento quântico de geração de oxigênio singlete deste derivado. Em seguida, as maiores alterações de absorbância em 560 nm são observadas para o derivado **PdVPyCor** e o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor**, respectivamente. Os átomos de platina(II) e paládio(II) nos derivados **PtVPyCor** e **PdVPyCor** podem estar fornecendo um efeito de átomo pesado para estes compostos,

favorecendo o cruzamento intersistema e, conseqüentemente, populando o estado tripleto, onde ocorre a geração de EROs.

#### 5.2.4 Coeficientes de partição

Para avaliar a hidrofiliçidade ou lipofiliçidade dos compostos estudados, foi realizado o cálculo dos coeficientes de partição, a partir de análise via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, em uma mistura de *n*-octanol/água. O  $\log P_{OW}$  é o parâmetro mais utilizado para esta medida, conforme Equação 5, citada anteriormente. Na Tabela 6 a seguir, estão relacionados os valores dos coeficientes de partição ( $\log P_{OW}$ ).

Tabela 6 – Valores dos coeficientes de partição ( $\log P_{OW}$ ) dos compostos em uma mistura *n*-octanol/água.

Corrol	$\log P_{OW}$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	+2,216
<b>PtVPyCor</b>	+1,335
<b>PdVPyCor</b>	+1,204

Fonte: Próprio autor.

O corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** possui o valor de  $\log P_{OW}$  mais positivo, portanto, é o composto mais lipossolúvel e hidrofóbico dentre todos. Compostos hidrofóbicos são ideais para aplicação em terapia fotodinâmica, pois podem permear membranas celulares mais facilmente, acessando o tecido tumoral (NAIK *et al.*, 2014; FEIZI-DEHNAYEBI, DEGHANIAN e MANSOURI-TORSHIZI, 2021). Os derivados **PtVpyCor** e **PdVPyCor** são ligeiramente mais hidrossolúveis, provavelmente, devido à presença de uma carga positiva, que permite que estes compostos interajam melhor em ambientes aquosos. Contudo, os valores de seus coeficientes de partição não são negativos – o que indicaria maior solubilidade em água – pois o anel macrocíclico é hidrofóbico. Ainda, a periferia destes derivados de platina(II) e paládio(II) é mais hidrofílica, tornando estes compostos anfifílicos.

Na literatura, para compostos que utilizam a mesma metodologia para determinação dos coeficientes de partição, o valor de  $\log P_{OW}$  é +0,34 para o derivado de hematoporfirina (HpD, do inglês *hematoporphyrin derivative*) (WOODBURN *et al.*, 1992) e +2,10 para o *meso*-tris(pentafluorofenil)corrol base-livre (BARATA *et al.*, 2015).

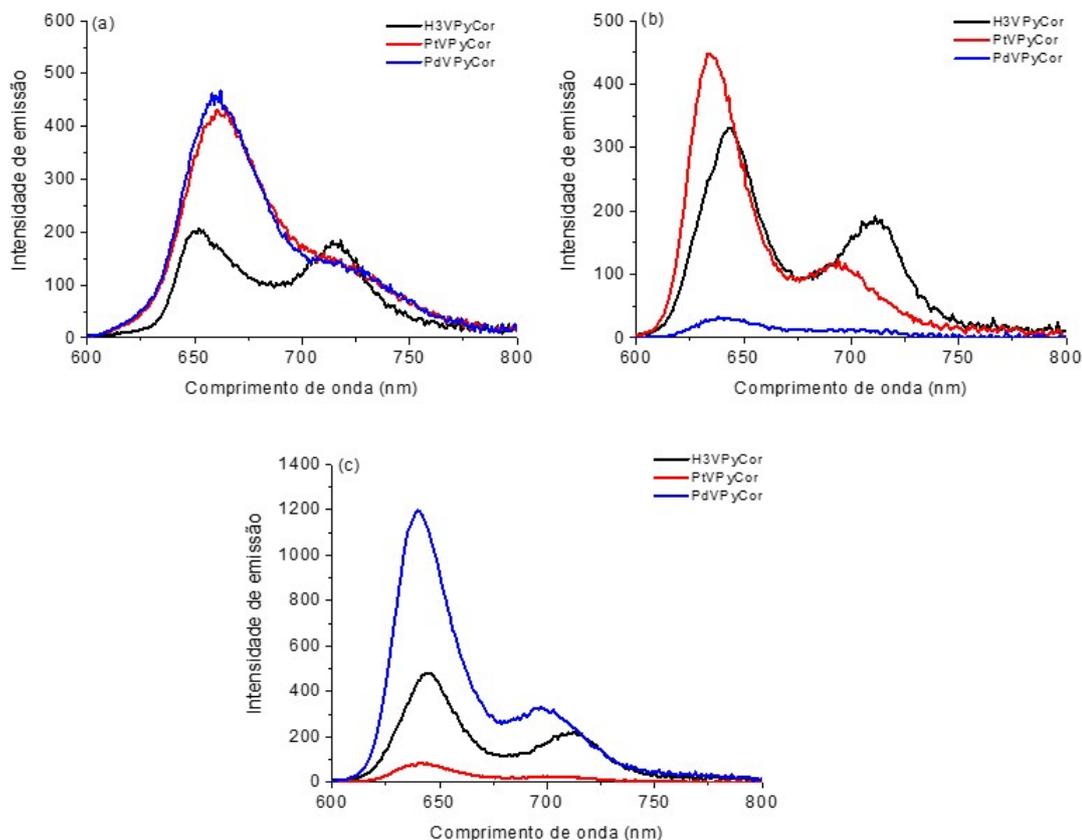
### 5.3 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA

#### 5.3.1 Emissão de fluorescência no estado estacionário

Os ensaios para determinação do rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ) foram realizados por espectroscopia de emissão de fluorescência no estado estacionário (em uma faixa entre 600 e 800 nm), utilizando como comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ) a banda Soret dos espectros de absorção eletrônica dos compostos. Os valores de  $\Phi_f$  foram calculados de acordo com a [Equação 2](#) apresentada anteriormente, utilizando como padrão o 5,10,15-(pentafluorofenil)corrol em tolueno ( $\Phi_f = 13\%$ ) (VENTURA *et al.*, 2005).

É possível observar na [Figura 17](#) a seguir, que os compostos apresentam, nos diferentes solventes utilizados, bandas de emissão provenientes do núcleo macrocíclico, uma vez que este possui 18 elétrons  $\pi$  conjugados, estando vinculadas às transições de elétrons dos orbitais  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

**Figura 17** – Espectros de emissão de fluorescência no estado estacionário para os compostos em soluções de **(a)** DCM, **(b)** ACN e **(c)** DMSO, utilizando como comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ) a banda Soret de cada composto.



Fonte: Próprio autor.

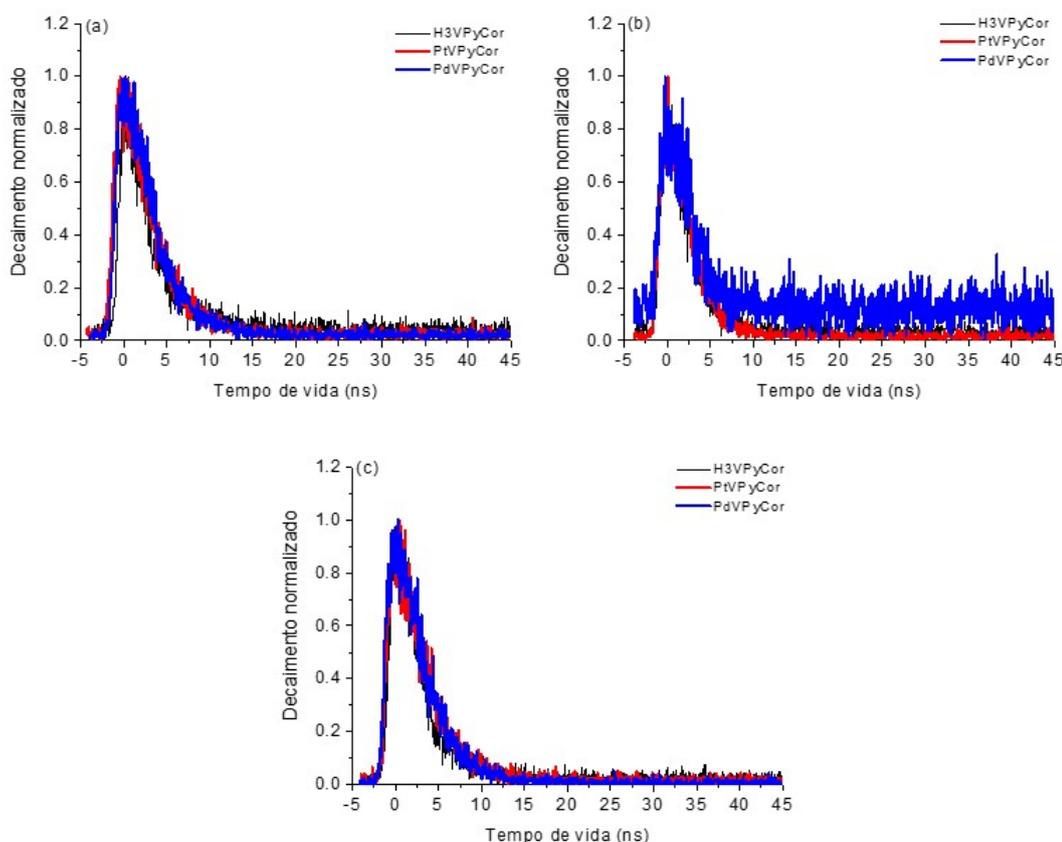
Os perfis de emissão dos compostos em diferentes solventes apresentam mudanças quanto às formas das bandas espectrais. Assim como na espectroscopia de absorção eletrônica, as diferenças observadas podem estar relacionadas com a estabilidade que cada solvente fornece à molécula em seu estado excitado. Quando uma molécula alcança o estado excitado ( $S_1$ ), esta apresenta um momento de dipolo ( $\mu$ ) maior do que em seu estado fundamental ( $S_0$ ), portanto, um solvente mais polar pode sofrer uma reorientação em torno da molécula a fim de estabilizá-la no estado excitado, e o resultado é uma emissão em energias mais baixas – isto é, comprimentos de onda maiores (LAKOWICZ, 2006). Momentos de dipolo dos solventes utilizados: DCM ( $\mu = 1,8$ ), ACN ( $\mu = 3,2$ ) e DMSO ( $\mu = 3,9$ ) (SMALLWOOD, 1996).

### 5.3.2 Tempos de vida de fluorescência

Os decaimentos do tempo vida de fluorescência ( $\tau_f$ ) e as constantes radiativas ( $k_r$ ) e não radiativas ( $k_{nr}$ ) dos compostos foram determinados utilizando as [Equações 6 e 7](#) citadas anteriormente. Os valores de  $\tau_f$  estão diretamente relacionados com o rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ), uma vez que, quanto maior o valor de  $\Phi_f$  há uma tendência de que a molécula popule por mais tempo o estado excitado singlete antes de retornar ao estado fundamental emitindo um fóton fluorescente. Uma relação análoga pode ser feita com as constantes radiativa ( $k_r$ ) e não radiativa ( $k_{nr}$ ), dado que, se o valor de  $k_r$  for elevado, pode estar ocorrendo um processo radiativo, como a fluorescência. Porém, se a espécie excitada sofrer uma inversão de *spin*, por cruzamento intersistema, pode ir para o estado tripleto e assim ocorrer um processo não radiativo.

Na [Figura 18](#) a seguir, são exibidos os decaimentos do tempo vida de fluorescência ( $\tau_f$ ) dos compostos em estudo. Entre os diferentes solventes utilizados, os valores de  $\tau_f$  não variaram significativamente, variando entre 2,7 e 4,0 ns para os três compostos.

Figura 18 – Decaimentos do tempo de vida de fluorescência para os compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** em soluções de (a) DCM, (b) ACN e (c) DMSO, utilizando como comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{exc}$ ) a banda Soret de cada composto e fonte de NanoLED com  $\lambda_{exc} = 441$  nm.



Fonte: Próprio autor.

A Tabela 7 a seguir, apresenta os dados fotofísicos de emissão de fluorescência. Para o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor**, os valores de rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f = 9,0\%$ ) e da constante radiativa ( $k_r = 3,0 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ) foram mais significativos em DMSO. Para os derivados **PtVPyCor** e **PdVPyCor**, os valores mais elevados de  $\Phi_f$  (8,5% para ambos) e  $k_r$  ( $2,12$  e  $2,24 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ , respectivamente) foram obtidos em DCM. Valores inferiores de  $\Phi_f$  e, conseqüentemente, de  $\tau_f$  e  $k_r$  nos outros solventes utilizados podem sugerir que os compostos preferem popular o estado tripleto nestas soluções, o que pode ser estimado pelos valores elevados das constantes não radiativas ( $k_{nr}$ ).

**Tabela 7** – Dados fotofísicos de emissão de fluorescência no estado estacionário e resolvida no tempo dos compostos em solução de ACN, DCM e DMSO.

ACN			
Parâmetro	H <sub>3</sub> VPyCor	PtVPyCor	PdVPyCor
$\lambda_{em}$ (nm) <sup>a</sup>	643, 711	634, 693	640, 697
$\Phi_f$ (%) <sup>b</sup>	5,5	5,0	5,0
$\tau_f$ (ns) <sup>c</sup>	2,98	3,15	2,70
$k_r$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>	1,84	1,59	1,85
$k_{nr}$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> ) <sup>e</sup>	31,7	30,1	35,2
DCM			
Parâmetro	H <sub>3</sub> VPyCor	PtVPyCor	PdVPyCor
$\lambda_{em}$ (nm)	651, 715	662	660
$\Phi_f$ (%)	4,8	8,5	8,5
$\tau_f$ (ns)	3,30	4,00	3,79
$k_r$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> )	1,45	2,12	2,24
$k_{nr}$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> )	28,5	22,9	24,1
DMSO			
Parâmetro	H <sub>3</sub> VPyCor	PtVPyCor	PdVPyCor
$\lambda_{em}$ (nm)	644, 712	642, 704	640, 697
$\Phi_f$ (%)	9,0	8,0	8,3
$\tau_f$ (ns)	3,00	3,82	3,90
$k_r$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> )	3,0	2,10	2,13
$k_{nr}$ (x10 <sup>7</sup> ; s <sup>-1</sup> )	30,3	24,1	23,5

<sup>a</sup>Utilizando como  $\lambda_{exc}$  = banda Soret; <sup>b</sup>Calculado através da [Equação 2](#), utilizando como padrão o 5,10,15-(pentafluorofenil)corrol em tolueno ( $\Phi_f = 13\%$ ); <sup>c</sup>Método monoexponencial, utilizando como fonte de excitação NanoLED em  $\lambda = 441$  nm; <sup>d</sup>Calculado através da [Equação 6](#); <sup>e</sup>Calculado através da [Equação 7](#).

Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos estão de acordo com corróis descritos na literatura que possuem estrutura semelhante, tais como o 10-(4-metil-bipiridil)-bis-5,10-(pentafluorofenil)corrol em DCM, que apresenta um rendimento quântico de fluorescência de 4,0% (PIVETTA *et al.*, 2017), e o 5,10,15-(pentafluorofenil)corrol em tolueno,  $\Phi_f = 13\%$  (VENTURA *et al.*, 2005).

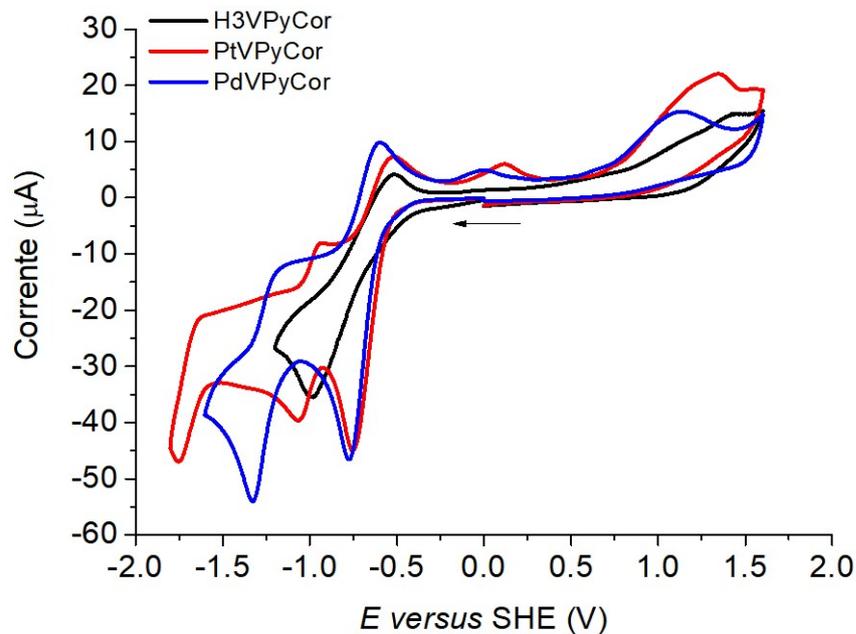
#### 5.4 VOLTAMETRIA CÍCLICA

Fatores como estereoquímica, solubilidade, ligação ao DNA, entre outros, são avaliados para o emprego de compostos em diversas aplicações (ABREU, FERRAZ e GOULART, 2002). Para a aplicação no tratamento de doenças, o estudo da eletroquímica é

uma ferramenta fundamental para a compreensão do mecanismo de ação de alguns compostos. Portanto, foram realizadas análises eletroquímicas por voltametria cíclica para verificar os processos de transferência de elétrons dos compostos em estudo.

O perfil dos voltamogramas cíclicos para o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** e os derivados **PtVPyCor** e **PdVPyCor**, em solução de DMF, mostra processos de transferência de elétrons entre -2,0 e +2,0 V *versus* SHE (eletrodo padrão de hidrogênio, do inglês *standard hydrogen electrode*), a uma velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>, e é apresentado na [Figura 19](#) a seguir.

**Figura 19** – Voltamogramas cíclicos dos compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** em solução de DMF. Utilizando como eletrólito suporte 0,1 mol L<sup>-1</sup> de TBAPF<sub>6</sub>, eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo auxiliar de platina, *pseudo*-eletrodo de referência de platina, e velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>.



Fonte: Próprio autor.

Os valores dos potenciais redox dos compostos são mostrados na [Tabela 8](#) a seguir. O corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** sofre um processo de redução ( $E_{1/2} = -0,75$  V) e dois processos de oxidação ( $E_{pa} = +1,06$  V;  $E_{pa} = +1,34$  V); o derivado **PtVPyCor** sofre três reduções ( $E_{1/2} = -0,64$  V;  $E_{1/2} = -1,00$  e  $E_{pc} = -1,75$  V) e duas oxidações ( $E_{pa} = +1,34$  V;  $E_{pa} = +1,55$  V); e o derivado **PdVPyCor** sofre duas reduções ( $E_{1/2} = -0,69$  V;  $E_{1/2} = -1,26$  V) e uma oxidação ( $E_{pa} = +1,12$  V).

**Tabela 8** – Potenciais redox dos compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** em solução de DMF. Utilizando como eletrólito suporte 0,1 mol L<sup>-1</sup> de TBAPF<sub>6</sub>, eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo auxiliar de platina, *pseudo*-eletrodo de referência de platina, e velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>.

Corrol	$E_{red1}$	$E_{red2}$	$E_{red3}$	$E_{ox1}$	$E_{ox2}$	$E_{HOMO}$ (eV)	$E_{LUMO}$ (eV)	$\Delta E$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	-0,75 V <sup>a</sup>	-----	-----	+1,06 V <sup>c</sup>	+1,34 V <sup>c</sup>	-5,46	-3,65	1,81
<b>PtVPyCor</b>	-0,64 V <sup>a</sup>	-1,00 V <sup>a</sup>	-1,75 V <sup>b</sup>	+1,34 V <sup>c</sup>	+1,55 V <sup>c</sup>	-5,74	-3,76	1,98
<b>PdVPyCor</b>	-0,69 V <sup>a</sup>	-1,26 V <sup>a</sup>	-----	+1,12 V <sup>c</sup>	-----	-5,52	-3,71	1,81

$${}^a E_{1/2} = E_{pa} + E_{pc} / 2; {}^b E_{pc} = \text{pico catódico}; {}^c E_{pa} = \text{pico anódico}; {}^d E_{HOMO} = -[4.4 + E_{ox1} (\textit{versus SHE})] \text{ eV};$$

$${}^e E_{LUMO} = -[4.4 + E_{red1} (\textit{versus SHE})] \text{ eV}; {}^f \Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}.$$

Fonte: Próprio autor.

Observando os potenciais redox para cada espécie, é possível notar que o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** sofre oxidação mais facilmente que os derivados contendo os complexos biperidínicos de platina(II) e paládio(II), da mesma forma que estes sofrem redução mais facilmente que o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor**. Isso pode ocorrer devido as espécies que contêm íons de metais platina(II) e paládio(II) possuírem uma carga positiva, favorecendo sua redução, e o corrol base-livre estar mais propenso a se oxidar. Além disso, pode-se prever que as primeiras oxidações de todos os compostos devem estar ocorrendo no anel macrocíclico, formando espécies radicalares  $\pi$ -cátion, e as segundas oxidações, formando espécies dicatiônicas. Ainda, as primeiras reduções de todos os compostos podem estar gerando espécies radicalares do tipo  $\pi$ -ânion, e as segundas e terceiras reduções gerando espécies dianiônicas. A atribuição das espécies foi efetuada pela comparação com a eletroquímica de corróis *meso*-substituídos que exibem um comportamento similar (SHEN *et al.*, 2006).

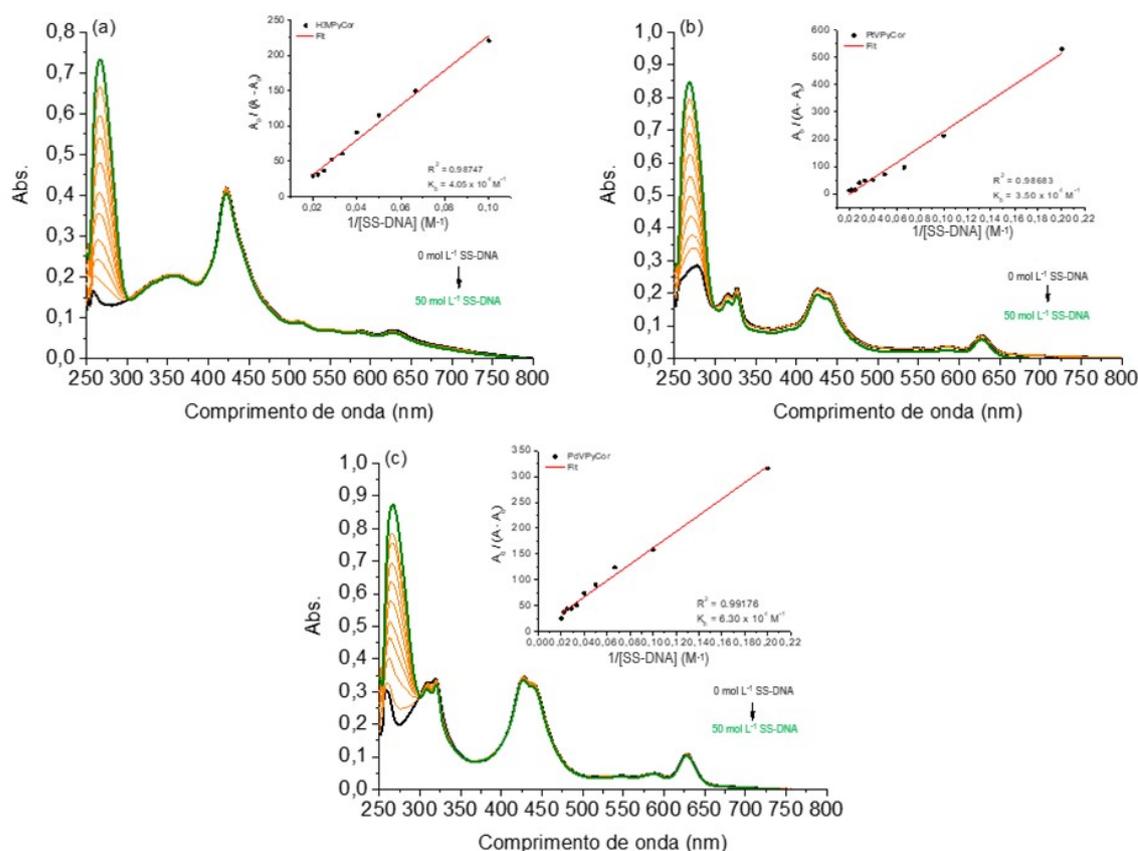
## 5.5 INTERAÇÃO COM DNA

### 5.5.1 Propriedades de ligação via espectroscopia nas regiões UV-Vis

Através de experimentos de espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis é possível estimar os modos de interação de SS-DNA com os compostos estudados. A finalidade é considerar uma possível aplicação destes compostos como fotossensibilizadores em terapia fotodinâmica, com base na interação com biomacromoléculas.

A **Figura 20** a seguir, exhibe os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis dos compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** por ensaios de titulação com solução de SS-DNA, em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.

Figura 20 – Espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis da titulação com SS-DNA para os compostos (a) **H<sub>3</sub>VPyCor**, (b) **PtVPyCor** e (c) **PdVPyCor** em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.



Fonte: Próprio autor.

A banda sondada é a banda Soret (entre 410 e 430 nm). Primeiramente, nota-se que não houve desvio no comprimento de onda das bandas para a região do vermelho (deslocamento batocrômico), sugerindo que os compostos não devem intercalar na dupla fita do DNA de forma efetiva, uma vez que os orbitais  $\pi$  das espécies podem sobrepor-se e reduzir a energia das transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  (ZHANG *et al.*, 2015). O derivado **PtVPyCor** foi o que apresentou maior diminuição da absorbância da banda Soret (hipocromismo) com o aumento da concentração de SS-DNA, porém, o derivado **PdVPyCor** exibiu o valor mais elevado da constante de ligação  $K_b$  ( $6,30 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$ ), calculada a partir da Equação 8, mencionada anteriormente.

É possível que o principal modo de interação destes compostos com o DNA seja via sulcos, uma vez que não houve deslocamento batocrômico e hipocromismo pouco significativo nas bandas espectrais (ZHANG *et al.*, 2015). Os valores de  $K_b$  para os compostos estudados não são elevados, em comparação com alguns corróis descritos na literatura, tais como o 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-{3-[2-(piridin-4-il)vinil]fenil}corrol ( $K_b = 1,98 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) (IGLESIAS *et al.*, 2015) e o 10-(4-metil-bipiridil)-5,15-(pentafluorofenil)corrol ( $K_b =$

$1,10 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) (ACUNHA *et al.*, 2021). Por fim, é possível observar que os valores das energias de Gibbs (Equação 9, citada anteriormente) para todos os compostos são negativas, evidenciando que este processo interativo é espontâneo (Tabela 9).

**Tabela 9** – Propriedades de ligação com SS-DNA via titulação por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis para os compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.

Corrol	H(%) <sup>a</sup>	$\Delta\lambda$ (nm) <sup>b</sup>	$K_b(\text{L mol}^{-1}) \times 10^4$	$\Delta G^\circ (\text{kcal mol}^{-1})^c$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	3,50	0,0	4,05	-6,30
<b>PtVPyCor</b>	8,10	0,0	3,50	-6,20
<b>PdVPyCor</b>	4,00	0,0	6,30	-6,55

<sup>a</sup>H(%) =  $\text{Abs}_{\text{inicial}} - \text{Abs}_{\text{final}} / \text{Abs}_{\text{inicial}} \times 100$ ; <sup>b</sup>Deslocamento batocrômico; <sup>c</sup>Energia livre de Gibbs.

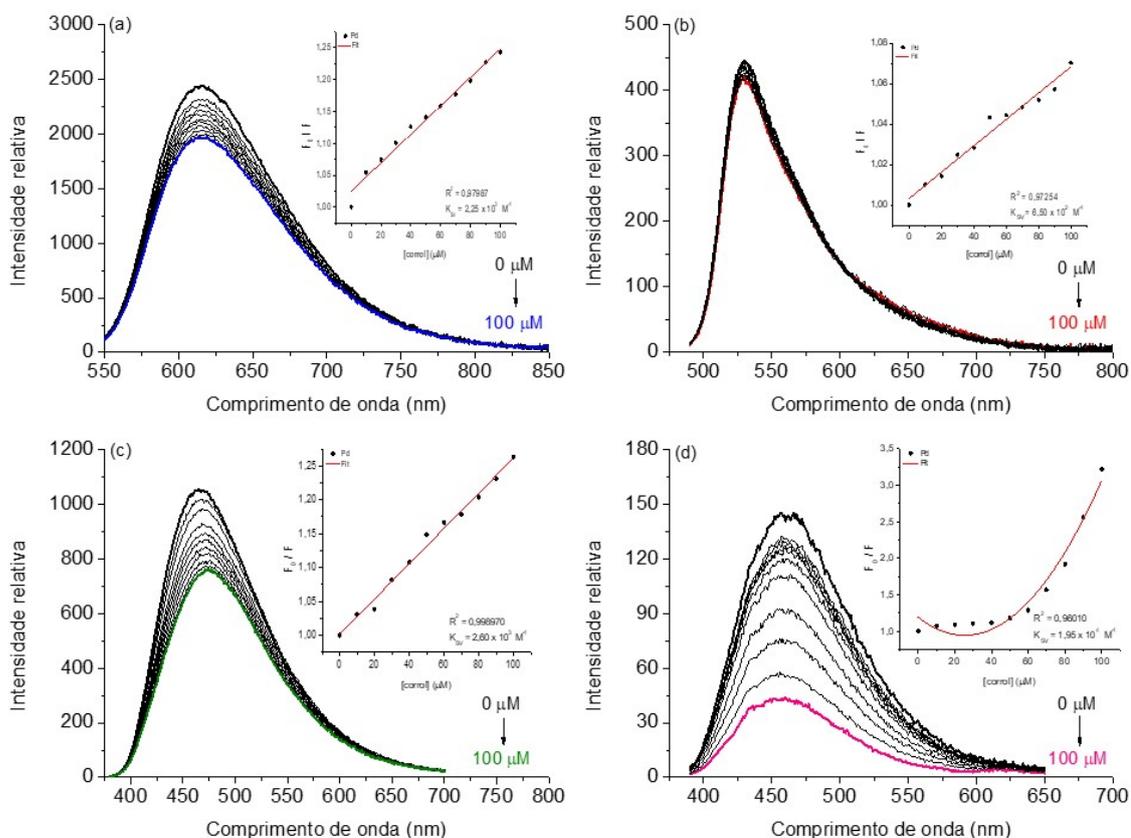
Fonte: Próprio autor.

### 5.5.2 Propriedades de ligação via espectroscopia de emissão de fluorescência

Para melhor compreender o modo de interação dos compostos investigados com o DNA, também foram conduzidos ensaios de competição com corantes via espectroscopia de emissão de fluorescência para, desta forma, investigar os possíveis sítios de interação do DNA com os compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor**. Foram utilizados os corantes brometo de etídio (intercalador geral de bases nitrogenadas), alaranjado de acridina (intercalador específico em A-T), DAPI (marcador de sulco menor) e MG (marcador de sulco maior). Estes dois últimos são amplamente utilizados como marcadores fluorescentes de DNA (BIANCARDI *et al.*, 2013; PRIETO *et al.*, 2014).

Na Figura 21 a seguir, são exibidos os espectros de emissão de fluorescência dos adutos corante:DNA na presença do composto selecionado **PdVPyCor**, pois este apresentou os melhores resultados em comparação aos demais compostos. De maneira geral, os espectros apresentaram supressão da intensidade da emissão de fluorescência em todos os adutos, após a titulação como derivado **PdVPyCor**.

**Figura 21** – Espectros de emissão da titulação com o derivado **PdVPyCor** para os adutos corante:DNA (a) EB:DNA, (b) AO:DNA, (c) DAPI:DNA e (d) MG:DNA em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.



Fonte: Próprio autor.

A **Tabela 10** a seguir, evidencia alguns parâmetros de ligação obtidos com as análises realizadas. A titulação com o corol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** apresentou um valor mais expressivo de supressão da intensidade de fluorescência ( $Q$ ) para o aduto EB:DNA, mas os valores das constantes de supressão  $K_{SV}$  e  $k_q$  foram maiores para o aduto DAPI:DNA. As titulações com os derivados **PtVPyCor** e **PdVPyCor** mostraram os melhores resultados de  $Q$ ,  $K_{SV}$  e  $k_q$  para o aduto MG:DNA.

**Tabela 10** – Propriedades de ligação com SS-DNA via titulação por espectroscopia de emissão para os compostos **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PtVPyCor** e **PdVPyCor** em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4, na presença dos corantes EB, AO, DAPI e MG.

EB:DNA				
Corrol	$Q(\%)^a$	$K_{SV} (\text{L mol}^{-1}) \times 10^3$	$k_q (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})^b \times 10^{10}$	$\Delta G^\circ (\text{kcal mol}^{-1})^f$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	47,5	1,95	8,45	-4,50
<b>PtVPyCor</b>	15,0	1,65	7,15	-4,40
<b>PdVPyCor</b>	19,5	2,25	9,80	-4,55
AO:DNA				
Corrol	$Q(\%)^a$	$K_{SV} (\text{L mol}^{-1}) \times 10^3$	$k_q (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})^c \times 10^{10}$	$\Delta G^\circ (\text{kcal mol}^{-1})^f$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	2,50	0,25	13,5	-3,20
<b>PtVPyCor</b>	5,20	0,55	32,5	-3,75
<b>PdVPyCor</b>	6,80	0,65	38,0	-3,85
DAPI:DNA				
Corrol	$Q(\%)^a$	$K_{SV} (\text{L mol}^{-1}) \times 10^3$	$k_q (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})^d \times 10^{10}$	$\Delta G^\circ (\text{kcal mol}^{-1})^f$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	33,5	5,10	232,0	-5,05
<b>PtVPyCor</b>	7,65	1,75	79,5	-4,40
<b>PdVPyCor</b>	19,0	2,60	118,0	-4,65
MG:DNA				
Corrol	$Q(\%)^a$	$K_{SV} (\text{L mol}^{-1}) \times 10^3$	$k_q (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})^e \times 10^{10}$	$\Delta G^\circ (\text{kcal mol}^{-1})^f$
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	39,0	0,89	31,8	-4,05
<b>PtVPyCor</b>	50,0	7,20	257,0	-5,25
<b>PdVPyCor</b>	69,0	19,5	695,0	-5,85

<sup>a</sup> $Q(\%) = F_0 - F / F_0 \times 100$ ; <sup>b</sup>Constante de supressão bimolecular de Stern-Volmer ( $\tau_0 = 23,0 \times 10^{-9}$  s); <sup>c</sup>Constante de supressão bimolecular de Stern-Volmer ( $\tau_0 = 1,70 \times 10^{-9}$  s); <sup>d</sup>Constante de supressão bimolecular de Stern-Volmer ( $\tau_0 = 2,20 \times 10^{-9}$  s); <sup>e</sup>Constante de supressão bimolecular de Stern-Volmer ( $\tau_0 = 2,80 \times 10^{-9}$  s); <sup>f</sup>Energia livre de Gibbs.

Fonte: Próprio autor.

Os valores negativos de  $\Delta G^\circ$  (calculados a partir da [Equação 9](#), citada anteriormente) indicam que as interações de todos os compostos com os adutos corante:DNA ocorrem de forma espontânea. Além disso, os valores da constante cinética de supressão bimolecular ( $k_q$ ) indicam que, provavelmente, as interações são estáticas, pois todos os resultados obtidos estão acima da constante difusional,  $k_{diff} \approx 7,40 \times 10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , de acordo com a Teoria de Smoluchowski-Stokes-Einstein (MONTALTI *et al.*, 2006). Os ensaios de tempo de vida de fluorescência dos compostos na presença de SS-DNA não foram conduzidos, uma vez que os compostos não apresentaram bandas de emissão em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.

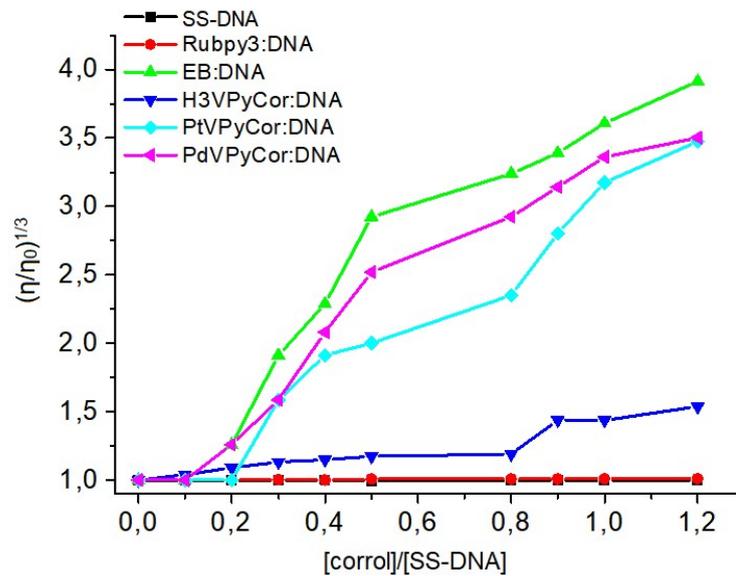
### 5.5.3 Propriedades de intercalação via análise viscosimétrica

Os experimentos de espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e de emissão de fluorescência forneceram informações fundamentais sobre os modos de interação dos compostos com SS-DNA. Contudo, medidas de viscosidade também foram conduzidas para complementar os resultados já obtidos.

O brometo de etídio é conhecido por ser um intercalador clássico de DNA e causa um aumento significativo na viscosidade do mesmo, devido ao alongamento e desenrolamento da dupla hélice associados à separação dos pares de bases do DNA (SUH e CHAIRES, 1995; PILCH *et al.*, 1995); por esta razão, o EB foi utilizado nesta análise como corante intercalador controle. O complexo  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  também foi utilizado como controle, pois interage eletrostaticamente com o DNA (LOPES-COSTA, SANCHEZ, e LOPEZ-CORNEJO, 2009), uma vez que este tipo de interação com o DNA pode dobrar ou torcer a dupla hélice, reduzindo seu comprimento efetivo e, conseqüentemente, sua viscosidade (WANG *et al.*, 2014). Os valores de viscosidade foram calculados a partir da [Equação 10](#), mencionada anteriormente.

A [Figura 22](#) a seguir, exibe a plotagem da razão  $[\text{corrol}]/[\text{SS-DNA}]$  (eixo x) *versus*  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  (eixo y). De forma interessante, é possível verificar que os derivados **PdVPyCor** e **PtVPyCor** aumentam de forma significativa a viscosidade, na formação do aduto corrol:DNA, seguindo a mesma tendência do controle EB:DNA. Sugere-se, portanto, que estes compostos podem interagir de forma intercalativa com o DNA, assim como o EB. No entanto, o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** segue a mesma tendência observada para o complexo  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ . Desta forma, pode-se inferir que a presença dos complexos metálicos periféricos é importante e definitiva para uma possível intercalação destes compostos entre as nucleobases do DNA.

Figura 22 – Medidas de viscosidade de SS-DNA com os compostos em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4 de acordo com a razão [corrol]/[SS-DNA] à T = 25 °C.



Fonte: Próprio autor.

#### 5.5.4 Análise *in silico* via cálculos de *docking* molecular

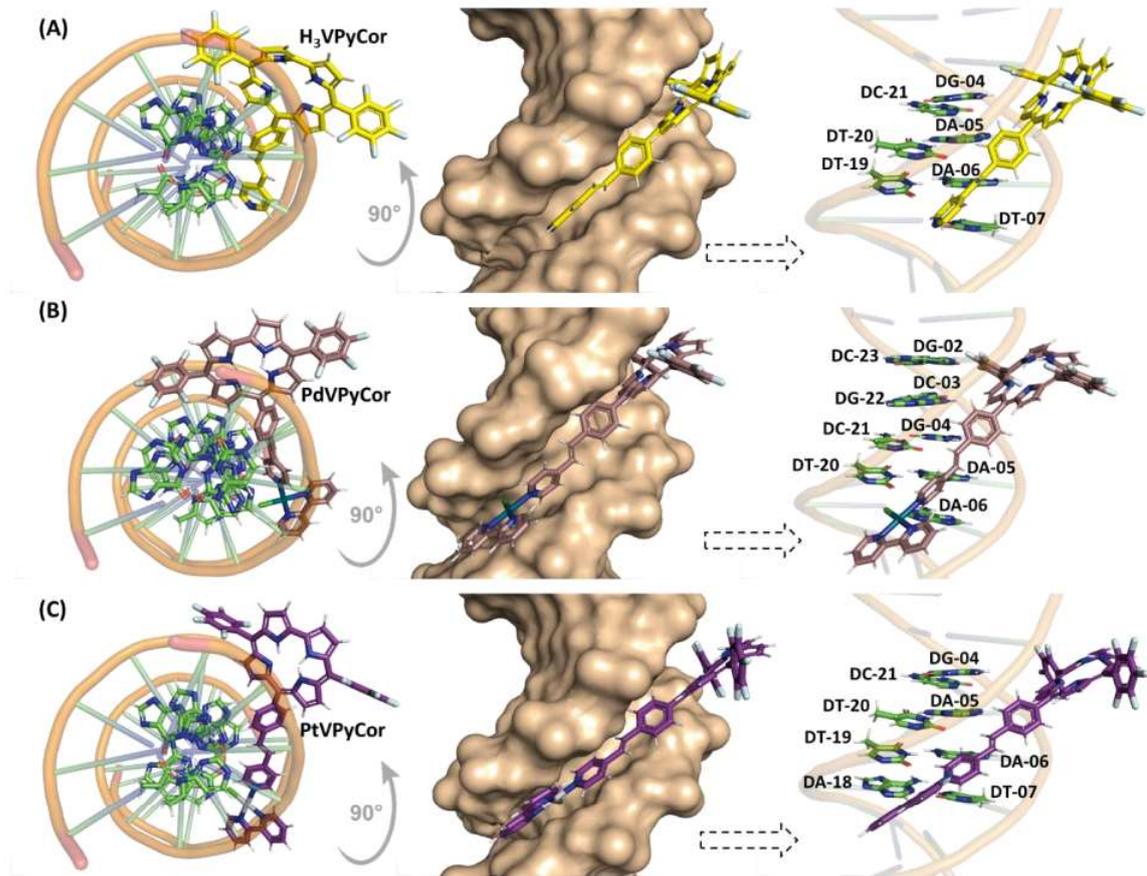
Esta análise fornece uma visão, em nível molecular, da interação entre um composto e uma biomolécula, utilizando métodos computacionais. O cálculo da modelagem molecular pode ser realizado através de uma previsão da conformação do composto, bem como da sua orientação e posição em relação à biomolécula, e posterior avaliação destas conformações por meio de algoritmos (MENG *et al.*, 2011). Assim, de modo a proporcionar uma explicação sobre a capacidade de interação dos compostos investigados em relação ao DNA, foram realizados estudos teóricos utilizando o *docking* molecular. A Tabela 11 e a Figura 23 a seguir mostram, respectivamente, as melhores conformações e as pontuações atribuídas (sem unidade) pelos cálculos para a interação entre DNA e os compostos.

Tabela 11 – Pontuações estimadas dos cálculos de *docking* molecular (adimensional) para a interação de DNA com os respectivos compostos.

Corrol	Sulco menor	Sulco maior
H <sub>3</sub> VPyCor	98,74	37,03
PtVPyCor	74,89	53,48
PdVPyCor	74,14	50,69

Fonte: Próprio autor.

**Figura 23** – Melhor pose de encaixe para a interação entre (A) DNA:**H<sub>3</sub>VPyCor**, (B) DNA:**PdVpyCor** e (C) DNA:**PtVPyCor** no sulco menor em termos de vista superior e frontal. Bases nitrogenadas selecionadas, **H<sub>3</sub>VPyCor**, **PdVpyCor** e **PtVPyCor** estão representadas em bastão, nas cores verde, amarelo, marrom e roxo, respectivamente. Cor dos elementos: hidrogênio: branco, oxigênio: vermelho, nitrogênio: azul escuro, flúor: ciano, cloro: verde claro, Pd(II): verde escuro e Pt(II): cinza.



Fonte: Próprio autor.

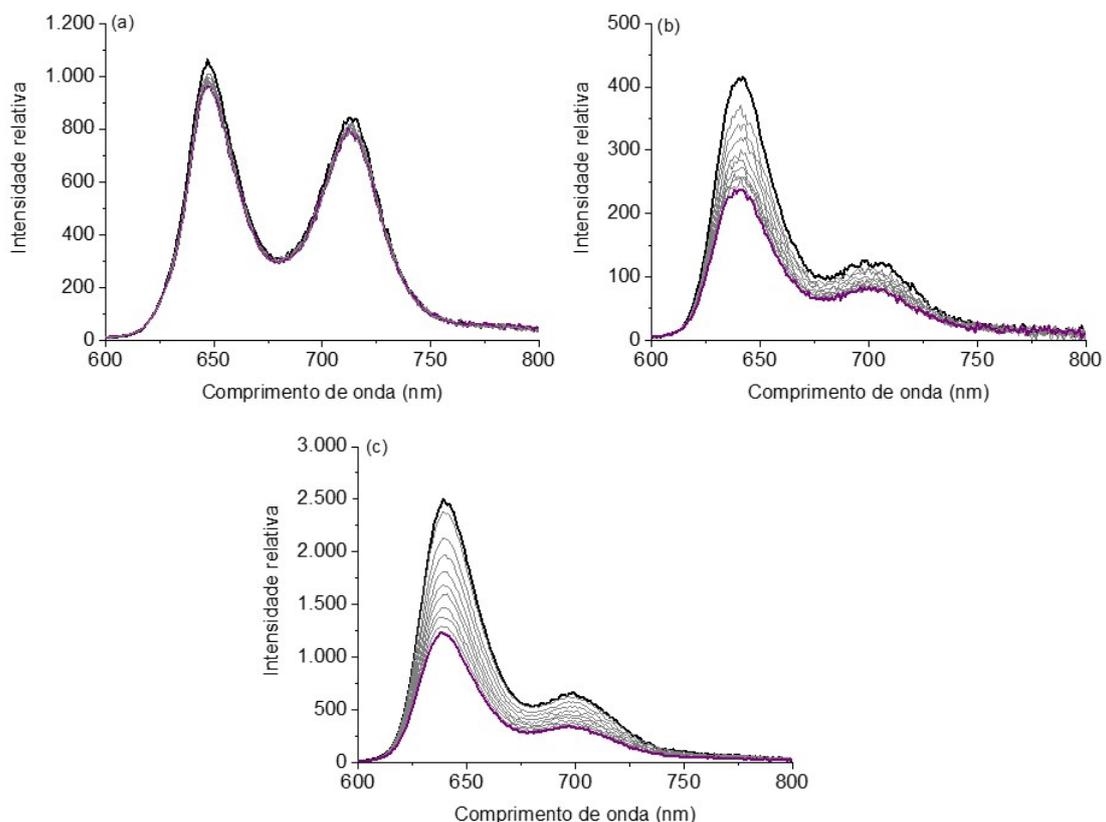
De acordo com a [Tabela 11](#) e a [Figura 23](#), o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VPyCor** possui melhor interação com o sulco menor, por meio de forças secundárias, tais como ligações de hidrogênio,  $\pi$ -stacking e van der Waals, corroborando com os ensaios de competição com o corante DAPI (marcador de sulco menor), onde obteve os valores mais elevados de  $K_{sv}$  e  $k_q$ . Contudo, os resultados para os derivados **PtVPyCor** e **PdVpyCor** também direcionam para sulco menor, de maneira diferente do que encontrado experimentalmente com os ensaios de competição com o corante MG (marcador de sulco maior), onde obtiveram os valores mais elevados de  $K_{sv}$  e  $k_q$ . Portanto, uma explicação pode ser o maior volume estérico destas moléculas e possíveis interações em mais de um sítio no DNA, ou seja, a porção do anel macrocíclico pode estar interagindo via sulcos menor e maior e, ainda, a porção vinil-piridil-complexo pode fornecer propriedades intercalativas para os derivados **PtVpyCor** e **PdVpyCor**, de acordo com a análise de viscosidade.

Conforme descrito na literatura, os corróis base-livre 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-(fenil)corrol, 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-(1-pirenil)corrol (ACUNHA, CHAVES e IGLESIAS, 2020) e 10-(4-metil-bipiridil)-bis-5,10-(pentafluorofenil)corrol (ACUNHA *et al.*, 2021) possuem uma preferência pelo sulco menor como sítio de ligação ao DNA.

### 5.5.5 Aplicação dos compostos como sensores de biomoléculas

Foi avaliado ainda o efeito da presença de DNA no estado excitado dos compostos em estudo. A [Figura 24](#) a seguir, exhibe os espectros de emissão da titulação dos compostos com SS-DNA. Para estimar se estes compostos podem ser utilizados como sensores ópticos de biomoléculas, os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram determinados. Para isso, foram conduzidos ensaios via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e por emissão de fluorescência no estado estacionário para verificar a sensibilidade de ambos os métodos. Os valores de LOD e LOQ foram obtidos pelas [Equações 13 e 14](#), citadas anteriormente. Os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis estão no item 5.5.1 desta dissertação.

**Figura 24** – Espectros de emissão da titulação dos compostos **(a) H<sub>3</sub>VPyCor**, **(b) PtVPyCor** e **(c) PdVPyCor** com SS-DNA em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.



Fonte: Próprio autor.

As adições sucessivas de SS-DNA causaram uma diminuição nas bandas de emissão dos compostos, sendo mais acentuada no derivado **PdVPyCor**, conforme visto na [Figura 24c](#), sugerindo que estes compostos podem interagir com o DNA.

A [Tabela 12](#) a seguir, apresenta os valores de limites de detecção e de quantificação de SS-DNA com os compostos. É possível notar que os valores de LOD e LOQ para o experimento de emissão de fluorescência estão na faixa de micromolar ( $\mu\text{M}$ ), enquanto para a espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, estão na faixa de milimolar (mM). Isso indica que a espectroscopia de emissão de fluorescência é um método muito mais sensível (cerca de 1000x) que a espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis para este tipo de análise.

Por fim, todos os compostos apresentaram ótimos resultados por emissão de fluorescência, em relação aos limites de detecção e quantificação. No entanto, o derivado **PdVPyCor** destacou-se frente aos outros, pois obteve um valor de LOD de apenas  $2,0 \mu\text{M}$  e de LOQ de  $6,1 \mu\text{M}$  na análise de emissão de fluorescência, sugerindo que este composto pode ter potencial aplicação como sensor óptico fluorescente como, por exemplo, para detecção de tumores (DOLMANS, FUKUMURA e JAIN, 2003).

**Tabela 12** – Valores dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para a detecção de SS-DNA com os respectivos compostos, em solução de DMSO(5%)/Tris-HCl pH 7,4.

Corrol	UV-Vis		Emissão	
	LOD (mM)	LOQ (mM)	LOD ( $\mu\text{M}$ )	LOQ ( $\mu\text{M}$ )
<b>H<sub>3</sub>VPyCor</b>	444,8	1.347,8	10,2	31,0
<b>PtVPyCor</b>	377,4	1.143,7	242,3	734,2
<b>PdVPyCor</b>	16,5	50,1	2,0	6,1

Fonte: Próprio autor.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta dissertação, foi apresentada a síntese do corrol base-livre 5,15-bis(pentafluorofenil)-10-[[piridin-4-il]vinil]fenil}corrol (**H<sub>3</sub>VPyCor**) e seus derivados contendo complexos bipyridínicos de platina(II) (**PtVPyCor**) e paládio(II) (**PdVPyCor**).

Os compostos foram caracterizados através de análise elementar (CHN%), espectrometria de massas (HRMS-MALDI/APCI), espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis, espectroscopia de emissão de fluorescência (estado estacionário e resolvida no tempo) e eletroquímica (voltametria cíclica).

Ainda, foram conduzidos estudos de agregação, fotoestabilidade, coeficientes de partição e geração de espécies reativas de oxigênio, tais como oxigênio singlete e radicais superóxido. Além disso, a interação dos compostos com DNA foi investigada experimentalmente via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis e de emissão de fluorescência e também por viscosimetria, pelo uso de competidores por sítios de interação na biomolécula, como o alaranjado de acridina, brometo de etídio, verde de metila e 4',6-diamidino-2-fenilindol. Por fim, foram realizados cálculos computacionais de *docking* molecular para fornecer uma visão em um nível molecular do modo de interação entre DNA e os compostos.

Todos os compostos estudados apresentaram boa fotoestabilidade após irradiação com luz branca e vermelha, e mostraram um comportamento hidrofóbico. Os valores de rendimento quântico de fluorescência foram  $\Phi_f = 8,5\%$  (em DCM, para **PtVpyCor** e **PdVpyCor**) e  $9,0\%$  (em DMSO, para **H<sub>3</sub>VpyCor**). O derivado **PdVpyCor** destacou-se frente aos outros compostos com relação ao rendimento quântico de geração de oxigênio singlete ( $\Phi_\Delta = 68\%$ ), contudo, o derivado **PtVpyCor** obteve melhores resultados na geração de radicais superóxido.

Avaliando a interação com SS-DNA, o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VpyCor** mostrou melhor capacidade de interação com o sulco menor, conforme ensaio de competição com o corante DAPI ( $K_{SV} = 5,10 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$  e  $k_q = 232,0 \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e cálculos teóricos de *docking* molecular, e também apresentou capacidade de interação eletrostática por medidas de viscosidade. Experimentalmente, os derivados **PtVpyCor** e **PdVpyCor** exibiram maior afinidade pelo sulco maior do DNA, de acordo com os ensaios de competição com o corante MG ( $K_{SV} = 7,20 \times 10^3$  e  $19,5 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ ; e  $k_q = 257,0 \times 10^{10}$  e  $695,0 \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente). No entanto, os cálculos teóricos de *docking* molecular apontam uma preferência destes compostos pelo sulco menor do DNA. Ainda, estes derivados demonstraram interagir de forma intercalativa com SS-DNA, através de medidas de viscosidade.

Finalmente, sugere-se que o corrol base-livre **H<sub>3</sub>VpyCor** e o derivado **PdVpyCor** podem ter aplicabilidade em terapia fotodinâmica, pois obtiveram resultados significativos de geração de oxigênio singlete, apresentam boa fotoestabilidade e podem estar interagindo, respectivamente, de forma eletrostática e intercalativa com DNA. Todos os compostos, **H<sub>3</sub>VpyCor**, **PtVpyCor** e **PdVpyCor**, também podem ser utilizados como sensores ópticos fluorescentes de biomoléculas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, F. C. de; FERRAZ, P. A. de L.; GOULART, M. O. F. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 1, p. 19-35, 2002.
- ACUNHA, T. V. *et al.* **Journal of Molecular Liquids**, v. 340, p. 117223, 2021.
- ACUNHA, T. V. **Síntese, caracterização, estudo fotofísico de meso-trans-(pentafluorofenil)corróis e avaliação da interação com biomoléculas**. 2021. 119 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2021.
- ACUNHA, T. V.; CHAVES, O. A.; IGLESIAS, B. A. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 25, n. 2, p. 75-94, 2020.
- ALEMAYEHU, A. B. *et al.* **Chemical Communications**, v. 50, n. 76, p. 11093-11096, 2014.
- ALEMAYEHU, A. B. *et al.* **ACS Omega**, v. 3, n. 8, p. 9360-9368, 2018.
- ALMEIDA, S. M. V. *et al.* **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, p. 337-345, 2014.
- ARNESANO, F.; LOSACCO, M.; NATILE, G. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2013, n. 15, p. 2701-2711, 2013.
- ASSIS, M. das D.; SMITH, J. R. L. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 10, p. 2221-2226, 1998.
- ATKINS, P.; PAULA, J. de. **Físico-Química – Vol. 2**. 10. ed.: Grupo Gen, 2017. 578 p. *E-book*.
- BAIGORRIA, E. *et al.* **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 20, n. 7, p. 939-953, 2021.
- BALUJA, S.; KULSHRESTHA, A.; MOVALIA, J. **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas**, v. 46, n. 3, p. 342-356, 2017.
- BARATA, J. F. B. *et al.* **Topics in Heterocyclic Chemistry**, p. 79-141, 2013.
- BARATA, J. F.B. *et al.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 92, p. 135-144, 2015.
- BEENKEN, W. *et al.* **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 118, n. 5, p. 862-871, 2014.
- BENESI, H. A.; HILDEBRAND, J. H. **Journal of the American Chemical Society**, v. 71, n. 8, p. 2703-2707, 1949.
- BIANCARDI, A. *et al.* **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 15, n. 13, p. 4596, 2013.
- BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. **Dalton Transactions**, n. 3, p. 399-414, 2009.
- BOND, A. M.; OLDHAM, K. B.; SNOOK, G. A. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 15, p. 3492-3496, 2000.
- BROWN, T. L. *et al.* **Química: a ciência central**. 13. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2016. 1188 p. Tradução: Eloiza Lopes, Tiago Jonas e Sonia Midori Yamamoto.
- BURSA, B. *et al.* **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 11, p. 7411-7423, 2015.

- BURSA, B. *et al.* **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 10, p. 7216-7228, 2016.
- CHEN, Q-C. *et al.* **Chemistry – A European Journal**, v. 26, n. 43, p. 9481-9485, 2020.
- CZARNOMYSY, R. *et al.* **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 15, p. 8271, 2021.
- DELANO, W. L. **PyMOL User's Guide**, DeLano Scientific LLC:San Carlos, CA, USA, 2002. Disponível em: [PyMOL | pymol.org](http://pymol.org). Acesso em: 15 ago. 2022.
- DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 233-234, p. 351-371, 2002.
- DING, T. *et al.* **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 109, n. 33, p. 7411-7417, 2005.
- DOLMANS, D. E. J. G. J.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. K. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 5, p. 380-387, 2003.
- DREW, H. R. *et al.* **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 4, p. 2179-2183, 1981.
- DURMUS, M.; NYOKONG, T. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 6, n. 6, p. 659-668, 2007.
- DUSKOVA, K. *et al.* **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 24, p. 7112-7118, 2012.
- EATON, D. F. **Pure and Applied Chemistry**, v. 60, n. 7, p. 1107-1114, 1988.
- FEIZI-DEHNAYEBI, M.; DEGHANIAN, E.; MANSOURI-TORSHIZI, H. **Journal of Molecular Structure**, v. 1240, p. 130535, 2021.
- GARCÍA-RAMOS, J. C. *et al.* **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, n. 3, p. 245-259, 2013.
- GHOSH, A.; JYNGE, K. **Chemistry - A European Journal**, v. 3, n. 5, p. 823-833, 1997.
- GÓMEZ-RUIZ, S. *et al.* **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2012, p. 1-14, 2012.
- GOUTERMAN, M. **Journal of Molecular Spectroscopy**, v. 6, p. 138-163, 1961.
- GROSS, Z.; GALILI, N.; SALTSMAN, I. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, n. 10, p. 1427-1429, 1999.
- GRYKO, D. T.; JADACH, K. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 12, p. 4267-4275, 2001.
- HEHRE, W. J. **A Guide to Molecular Mechanisms and Quantum Chemical Calculations**. Irvine, CA, USA: Wavefunction, Inc., 2003, 816 p.
- HONG, S. *et al.* **Angewandte Chemie International Edition**, v. 126, n. 39, p. 10571-10575, 2014.
- ICH Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)**, 2005. Disponível em: [ICH Official web site : ICH](http://www.ich.org). Acesso em: 15 maio 2022.
- IGLESIAS, B. A. *et al.* **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 32-41, 2015.
- IVANOVA, Y. B. *et al.* **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 116, n. 44, p. 10683-10694, 2012.

- KASSAB, N. M. *et al.* **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 968-971, 2010.
- KEENE, F. R.; SMITH, J. A.; COLLINS, J. G. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 15-16, p. 2021-2035, 2009.
- KOSZARNA, B.; GRYKO, D. T. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 10, p. 3707-3717, 2006.
- KRÁL, V.; VAŠEK, P.; DOLENSKÝ, B. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 69, n. 5, p. 1126-1136, 2004.
- KRÜGER, R. *et al.* **The Journal of Organic Chemistry**, v. 86, n. 24, p. 17866-17883, 2021.
- KRUK, M. *et al.* **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 116, n. 44, p. 10695-10703, 2012.
- KUPFER, T.; BRAUNSCHWEIG, H.; RADACKI, K. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 50, p. 15084-15088, 2015.
- KUTLU, E. *et al.* **Journal of Molecular Structure**, v. 1234, p. 130191, 2021.
- LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3. ed. Baltimore, MD, USA: Springer, 2006, 960 p.
- LEMON, C. M. *et al.* **Inorganic Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 2713-2725, 2015.
- LICOCCIA, S.; PAOLESSE, R. Metal Complexes of Corroles and Other Corrinoids. *In: Structure and Bonding: Metal Complexes With Tetrapyrrole Ligands III*, v. 84. Berlin, Heidelberg: Springer, 1995, p. 71-133.
- LITTLER, B. J.; CIRINGH, Y.; LINDSEY, J. S. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 64, n. 8, p. 2864-2872, 1999.
- LIU, L-G. *et al.* **Inorganic Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 2234-2245, 2021.
- LOPES-COSTA, T.; SANCHEZ, F.; LOPEZ-CORNEJO, P. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 28, p. 9373-9378, 2009.
- LOURENÇO, L. M. O. *et al.* **Dalton Transactions**, v. 44, n. 2, p. 530-538, 2015.
- LUIS, J. M.; BISHOP, D. M.; KIRTMAN, B. **The Journal of Chemical Physics**, v. 120, n. 2, p. 813-822, 2004.
- MACDONALD, I. J.; DOUGHERTY, T. J. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 5, p. 105-129, 2001.
- MAREE, M. D.; KUZNETSOVA, N.; NYOKONG, T. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 140, p. 117-125, 2001.
- MARI, C. *et al.* **Chemistry – A European Journal**, v. 20, n. 44, p. 14421-14436, 2014.
- MARIAN, C. M. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 2, p. 187-203, 2012.
- MENG, X-Y. *et al.* **Current Computer Aided-Drug Design**, v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011.
- MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química Inorgânica**. 5. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014, 649 p. Tradução: Ana Julia Perrotti-Garcia.

- MONTALTI, M. *et al.* **Handbook of Photochemistry**. 3. ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2006, 664 p.
- MORGAN, G. T.; BURSTALL, F. H. **Journal of the Chemical Society**, p. 965-971, 1934.
- NADEEM, S. *et al.* **Inorganica Chimica Acta**, v. 363, n. 13, p. 3261-3269, 2010.
- NAFISI, S. *et al.* **Journal of Molecular Structure**, v. 827, n. 1-3, p. 35-43, 2007.
- NAIK, A. *et al.* **Angewandte Chemie International Edition**, v. 126, n. 27, p. 7058-7061, 2014.
- OLIVEIRA, W. X. C. *et al.* **Polyhedron**, v. 76, p. 16-21, 2014.
- OU, Z. *et al.* **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2008.
- PALMER, J. H. Transition Metal Corrole Coordination Chemistry. *In: Structure and Bonding: Molecular Electronic Structures of Transition Metal Complexes I*, v. 142. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012, p. 49-90.
- PAOLESSE, R. *et al.* **The Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 550-556, 2001.
- PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**, 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015, 734 p. Tradução: Pedro Barros e Roberto Torrejon. *E-book*.
- PILCH, D. S. *et al.* **Biochemistry**, v. 34, n. 31, p. 9962-9976, 1995.
- PIVETTA, R. C. *et al.* **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 332, p. 306-315, 2017.
- PRADEEPA, S. M. *et al.* **Inorganica Chimica Acta**, v. 428, p. 138-146, 2015.
- PRIETO, D. *et al.* **Histochemistry and Cell Biology**, v. 142, n. 3, p. 335-345, 2014.
- QIN, Q-P. *et al.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 170, p. 195-202, 2019.
- ROSS, P. D.; SUBRAMANIAN, S. **Biochemistry**, v. 20, n. 11, p. 3096-3102, 1981.
- ROTHEMUND, P. **Journal of the American Chemical Society**, v. 57, n. 10, p. 2010-2011, 1935.
- RUIZ, J. *et al.* **Inorganic Chemistry**, v. 44, n. 21, p. 7365-7376, 2005.
- SAJADI, S. M. S.; KHOEE, S. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 2832, 2021.
- SANTOS, C. I. M. **ChemistryOpen**, v. 3, n. 3, p. 88-92, 2014.
- SCHECHTER, A. *et al.* **Inorganic Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 22-24, 2011.
- SCHMID, M. *et al.* **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 19, p. 10392-10399, 2018.
- SHABANA, A. A. *et al.* **Polyhedron**, v. 154, p. 156-172, 2018.
- SHARMA, V. K. *et al.* **Chemical Communications**, v. 55, n. 85, p. 12789-12792, 2019.
- SHEN, J. *et al.* **Inorganic Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 2251-2265, 2006.
- SHI, L. *et al.* **Chinese Chemical Letters**, v. 21, n. 3, p. 373-375, 2010.

- SKOOG, D. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**, 9. ed. São Paulo : Cengage Learning, 2014, 1068 p. Tradução: Robson Mendes Matos. *E-book*.
- SMALLWOOD, I. M. **Handbook of Organic Solvents Properties**, 1996, 306 p.
- SUDHAKAR, K. *et al.* **ACS Applied Energy Materials**, v. 3, n. 3, p. 2828-2836, 2020.
- SUH, D.; CHAIRES, J. B. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 6, 723-728, 1995.
- SUN, Y-M. *et al.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 208, p. 112794, 2020.
- TISOCO, I. *et al.* **Dalton Transactions**, v. 51, n. 4, p. 1646-1657, 2022.
- UMASEKHAR, B.; SHETTI, V. S.; RAVIKANTH, M. **RSC Advances**, v. 8 , p. 21100-21132, 2018.
- VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. **Molecular Fluorescence: Principles and applications**, 2. ed. Alemanha: Wiley. 2012, 592 p. *E-book*.
- VALKÓ, K. **Journal of Chromatography A**, v. 1037, n. 1-2, p. 299-310, 2004.
- VENTURA, B. *et al.* **New Journal of Chemistry**, v. 29, n. 12, p. 1559, 2005.
- WANG, Q. *et al.* **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2014, p. 1-9, 2014.
- WARDELL, M. *et al.* **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 291, n. 4, p. 813-819, 2002.
- WATARAI, H.; TANAKA, M.; SUZUKI, N. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 702-705, 1982.
- WOODBURN, K. W. *et al.* **Photochemistry and Photobiology**, v. 55, n. 5, p. 697-704, 1992.
- WU, F. *et al.* **Nanoscale Research Letters**, v. 13, p. 357, 2018.
- WÜRTHNER, F.; KAISER, T. E.; SAHA-MÖLLER, C. R. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 15, p. 3376-3410, 2011.
- XU, D. *et al.* **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 129, p. 15-22, 2013.
- ZHANG, Y. *et al.* **Luminescence**, v. 30, n. 7, p. 1045-1054, 2015.
- ZHANG, Z. *et al.* **Dalton Transactions**, v. 46, n. 29, p. 9481-9490, 2017.
- ZOU, H-B. *et al.* **Organometallics**, v. 34, n. 12, p. 2791-2795, 2015.