

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

HENRIQUE FERNANDES VIEIRA VICTÓRIA

**NOVA COMPREENSÃO DA METODOLOGIA DE  
ARMADILHAS DE SPIN E SONDAS REDOX EM  
PROCESSOS AVANÇADOS FOTOTERAPÊUTICOS (PDT)  
E FOTOCATALÍTICOS (PCAT)**

Belo Horizonte  
2022

HENRIQUE FERNANDES VIEIRA VICTÓRIA

**NOVA COMPREENSÃO DA METODOLOGIA DE ARMADILHAS  
DE SPIN E SONDAS REDOX EM PROCESSOS AVANÇADOS  
FOTOTERAPÊUTICOS (PDT) E FOTOCATALÍTICOS (PCAT)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Klaus Wilhelm  
Heinrich Krambrock

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Almeida  
Magalhães Sáfar

Belo Horizonte  
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

V646n Victória, Henrique Fernandes Vieira.

Nova compreensão da metodologia de armadilhas de spin e sondas redox em Processos Avançados Fototerapêuticos (PDT) e Fotocatalíticos (PCAT) / Henrique Fernandes Vieira Victória. – 2022.

123 f. : il.

Orientador: Klaus Wilhelm Heinrich Krambrock.

Coorientador: Gustavo de Almeida Magalhães Sáfar.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais,  
Departamento de Física.

Bibliografia: f. 102-110.

1. Ressonância paramagnética eletrônica. 2. Fotoquimioterapia. I. Título.  
II. Krambrock, Klaus Wilhelm Heinrich. III. Universidade Federal de Minas  
Gerais, Departamento de Física.

CDU – 537.635 (043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

### FOLHA DE APROVAÇÃO

A presente tese, intitulada "**Nova Compreensão da Metodologia de Armadilhas de Spin e Sondas Redox em Processos Avançados Fototerapêuticos (Pdt) e Fotocatalíticos (Pcat)**" de autoria de **HENRIQUE FERNANDES VIEIRA VICTÓRIA** submetida à Comissão Examinadora, abaixo-assinada, foi aprovada para obtenção do grau de **DOUTOR EM CIÊNCIAS**, em treze de outubro de 2022.

Belo Horizonte, 13 de outubro de 2022.

Prof. Klaus Wilhelm Heinrich Krambrock  
Mazzoni Orientador do estudante  
Departamento de Física/UFMG

Prof. Mario Sérgio Carvalho  
Departamento de Física/UFMG

Prof. Gustavo Almeida Magalhães Safar  
Bueno Coorientador do estudante  
Departamento de Física/UFMG

Prof. Thiago Eduardo Pedreira  
Departamento de Física/UFES

Profa. Ariete Righi  
Departamento de Física/UFMG

Prof. Wendel Andrade Alves  
Departamento de Física/UFABC



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo de Almeida Magalhaes Safar, Professor do Magistério Superior**, em 18/10/2022, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ariete Righi, Professora do Magistério Superior**, em 18/10/2022, às 16:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Mario Sergio de Carvalho Mazzoni, Membro**, em 18/10/2022, às 20:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Klaus Wilhelm Heinrich Krambrock, Professor do Magistério Superior**, em 19/10/2022, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamentono art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Eduardo Pedreira Bueno, Usuário Externo**, em 21/10/2022, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Wendel Andrade Alves, Usuário Externo**, em 24/10/2022, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando ocódigo verificador **1838397** e o código CRC **65FE83F9**.

---

Referência: Processo nº 23072.262033/2022-17  
1838397

SEI nº

## AGRADECIMENTOS

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação humana e profissional, dentre eles destacarei alguns nomes que com certeza possuem uma importância significativa para este trabalho.

Agradeço primeiramente aos meus pais Euler e Cristina, ao meu irmão Euler e a minha esposa Daniele Márcia agradeço pelo amor, paciência e educação em todos possíveis sentidos desta palavra. Aos demais membros da família como Elza, Antônio, Zizi, Adriana e Homero agradeço o afeto e carinho.

Aos meus colegas de laboratório por tornar todos os dias de trabalho únicos e prazerosos, Bruno, Daniel, Fred e Soldado. Outro amigo muito importante durante essa caminhada foi o brilhante Balena, agradeço a sua amizade e a colaboração em diversos trabalhos. Em especial agradeço a Daniele Cristina, todas as minhas conquistas passaram de alguma forma pela sua orientação, tenha sempre com você a minha eterna gratidão. Todos vocês me ensinaram que a ciência é realizada em um dia após o outro, de forma coletiva e construtiva. Agradeço também ao meu amigo Geraldo pelo companheirismo e amizade de longa data.

Ao meu orientador Klaus por todos esses anos presente na minha formação como pesquisador, professor e ser humano. Agradeço pela confiança, acolhimento e pela possibilidade de realizar todos os resultados colhidos ao longo do meu doutoramento. Ao meu coorientador Gustavo pela oportunidade e ajudas durante o nosso trabalho.

Agradeço a todos os nossos colaboradores pela oportunidade na participação em todos os trabalhos de importância significativa. Pela parceria e fornecimento das amostras citadas nesse trabalho agradeço a professora Dayse. Ao professor Bob que nos auxiliou, com bastante prontidão, nas medidas de caracterização necessárias para a conclusão deste trabalho.

E finalmente, as agências de fomento à pesquisa: CAPES, CNPQ e FAPEMIG, agradeço o suporte financeiro. Tempos melhores para a ciência virão!

Obrigado!

## RESUMO

Nesta tese de doutorado, várias metodologias foram desenvolvidas com o objetivo de identificar e quantificar espécies reativas de oxigênio (ROS) em processos (foto)catalíticos (PCAT) e fototerapêuticos (PDT) que permitem elucidar mecanismos de reação, determinar a eficiência de fotossensibilizadores e catalisadores, e comprovar a degradação de compostos. A técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) aliada a metodologia de armadilha de spin (do inglês, *spin trapping*) e sonda redox foi a protagonista deste trabalho. Além de apoiar diversos projetos colaborativos em importantes aplicações modernas, uma inovação foi desenvolvida. Foi elaborado um estudo sistemático dos diferentes parâmetros que afetam a cinética de detecção de oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) pela sonda redox Hidroxi-TEMP (2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinol). Demonstrou-se a relevância de fatores como a quantidade de armadilha de spin e fotossensibilizador usado no experimento e o pH do meio. Neste estudo, várias porfirinas solúveis em água foram utilizadas ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $\text{Na}_4[\text{H}_2\text{T4SPP}]$ ,  $[\text{H}_2\text{T2MPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $[\text{ZnT4MyPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $[\text{MnT4MyPyP}](\text{OTs})_5$ ,  $\text{H}_2\text{T4CPP}$ , e  $[\text{H}_2\text{T4TriMAPP}](\text{OTs})_4$ ). Além da geração do radical nitroxil, também foi analisada sistematicamente a sua degradação durante a iluminação do sistema, um fenômeno comum, mas raramente relatado e discutido na literatura. Usando EPR e cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS), o mecanismo de degradação do radical nitroxil e a fotodegradação da porfirina foram investigados. Foi demonstrada que sucessivas interações da porfirina em seu estado excitado com o radical nitroxil (TEMPOL, 2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinol 1-oxil), em solução alcalina aquosa (pH > 10), promovem a conversão no radical TEMPONE (2,2,6,6-Tetrametil-4-oxo-piperidino-1-oxil) até o produto final diamagnético Forona (2,6-Dimetil-2,5-heptadieno-4-ona). Para ajudar futuros usuários da metodologia, um protocolo também foi projetado para evitar possíveis erros na interpretação da eficiência entre fotossensibilizadores.

**Palavras-chave:** Spin trapping, EPR, Sonda Redox, Radical Nitroxil, Porphirinas, Degradação de Adutos Spin, (Foto)Catálise, Terapia Fotodinâmica (PDT).

## ABSTRACT

In this PhD thesis, several methodologies were developed to identify and quantify reactive oxygen species (ROS) in (photo)catalytic (PCAT) and phototherapeutic processes (PDT) that allow to elucidate reaction mechanisms and determine the efficiency of photosensitizers and catalysts and prove the degradation of compounds. The Electron Paramagnetic Resonance (EPR) technique allied with the spin trapping and redox probe method was the protagonist in this work. In addition to support several collaborative projects in important PDT and PCAT modern applications, innovation was developed. A systematic study of the different parameters that affect the kinetics of singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ) detection, during illumination in aqueous media, by the Hydroxy-TEMP (2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidinol) redox probe was done. Relevant factors such as the amount of redox probe and photosensitizer used in the experiment and the pH of the medium is demonstrated. In this study, several water-soluble porphyrins were used ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $\text{Na}_4[\text{H}_2\text{T4SPP}]$ ,  $[\text{H}_2\text{T2MPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $[\text{ZnT4MyPyP}](\text{OTs})_4$ ,  $[\text{MnT4MyPyP}](\text{OTs})_5$ ,  $\text{H}_2\text{T4CPP}$ , and  $[\text{H}_2\text{T4TriMAPP}](\text{OTs})_4$ ). Apart from the study of nitroxyl radical generation, its degradation during system illumination was systematically analyzed, a common phenomenon, but rarely reported and discussed in the literature. Using EPR and gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS), the mechanism of nitroxyl radical degradation and porphyrin photodegradation was investigated. It is shown that successive interactions of porphyrin in its excited state with the nitroxyl radical (TEMPOL, 2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidinol 1-oxyl), in an aqueous alkaline solution ( $\text{pH} > 10$ ), promote conversion into the radical TEMPONE (2,2,6,6-Tetramethyl-4-oxo-piperidin-1-oxyl) until the final diamagnetic product Phorone (2,6-Dimethyl-2,5-heptadiene-4-one). To help future users of the spin trap methodology, a protocol was also designed to avoid possible errors in interpreting the efficiency of photosensitizers.

**Keywords:** Spin trapping, EPR, Porphyrins, Redox Probe, Nitroxyl Radical Degradation, (Photo)Catalysis, Photodynamic Therapy (PDT).

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de Foto-catálise.	19
Figura 2: Diagrama: Terapia Fotodinâmica (PDT).	20
Figura 3: Classificação Estrutural de Armadilhas de Spin.	23
Figura 4: Estrutura molecular do Hidroxi-TEMP/TEMPOL.	25
Figura 5: Diagrama de Energia: Efeito Zeeman.	28
Figura 6: Diagrama de Energia: Sistema $S = 1/2$ e $I = 1$ .	30
Figura 7: Espectros EPR Típicos dos Adutos de Spin.	32
Figura 8: Componentes do Espectrômetro de EPR.	38
Figura 9: Modulação do Campo Magnético.	39
Figura 10: Espectrômetro MS400.	40
Figura 11: Diagrama: Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS).	43
Figura 12: Diagrama: Espectrometria de Massas.	44
Figura 13: Estrutura Molecular das Porfirinas.	47
Figura 14: Cinética dos Radicais Nitroxil: Após Iluminação Porfirinas.	48
Figura 15: Cinética dos Radicais Nitroxil: Variação Concentração Hidroxi-TEMP.	50
Figura 16: Cinética dos Radicais Nitroxil: Variação pH.	51
Figura 17: Degradação do TEMPOL: Variação pH.	53
Figura 18: Degradação do TEMPOL: Supressores e Atmosfera Controlada.	54
Figura 19: Degradação do TEMPOL: Atmosfera Controlada.	55
Figura 20: Foto-degradação da Porfirina: Variação pH.	56
Figura 21: Degradação do TEMPOL: Forma de Linha do Espectro de EPR.	57
Figura 22: Forma de Linha do TEMPOL + TEMPONE	59
Figura 23: Degradação do TEMPOL x TEMPONE.	60
Figura 24: Cromatogramas de Degradação: TEMPOL e TEMPONE.	61
Figura 25: Cromatograma de Degradação: Porfirina	63
Figura 26: Mecanismo de Degradação do Radical Nitroxil e a Foto-degradação da Porfirina.	64
Figura 27: Limite de Degradação do TEMPOL.	66
Figura 28: Cinética de Radicais Nitroxil: Sistemas sem Fotosensibilizadores.	68
Figura 29: Cinética de Radicais Nitroxil: Protocolo.	69

Figura 30: Estrutura Molecular dos Corroles PhC6F5cor (1a) e PyrC6F5cor (1b).	71
Figura 31: Estrutura Molecular das Porfirinas Meso-Tetra-Piridil.	72
Figura 32: Cinética de Radical Nitroxil: Corroles.	73
Figura 33: Cinética de Radical Nitroxil: Porfirinas Meso-Tetra-Piridil.	75
Figura 34: ROS via PBN Corroles e Porfirinas.	78
Figura 35: ROS via DMPO Corroles e Porfirinas.	80
Figura 36: ROS via Foto-catálise CN-T.	83
Figura 37: ROS via Catálise Ag <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .	87
Figura 38: Estrutura molecular dos adutos de captura $\alpha$ -hidroxietil e etoxi pelo PBN.	88
Figura 39: Cromatograma de NbOFe-NF após 24 h de luz visível.	89
Figura 40: ROS via Foto-Catálise NbOFe-NF.	91
Figura 41: Mecanismo de fotodegradação do MP	92
Figura 42: Adutos de spin (PBN) gerados na iluminação UV do HY340 em etanol.	94
Figura 43: Mecanismo de produção fotocatalítica de HHD.	95
Figura 44: Aduto de spin (PBN) gerado na iluminação UV do HY340 em H <sub>2</sub> O.	97
Figura 45: Mecanismo fotocatalítico global de conversão de derivados de LA em GVL.	98

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Constantes da Geração de  $^1\text{O}_2$  pelas Porfirinas sob Luz Branca e Luz Vermelha.

76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ROS</b>	Espécies Reativas de Oxigênio
<b>EPR</b>	Ressonância Paramagnética Eletrônica
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	Oxigênio no Estado Singlete
<b>Hidroxi-TEMP</b>	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinol
<b>H<sub>2</sub>T4MPyP](OTs)<sub>4</sub></b>	Sal de tetra(p-toluenossulfonato) de 5,10,15,20-tetraquis(1-metil-4-piridil)porfirina
<b>Na<sub>4</sub>[H<sub>2</sub>T4SPP]</b>	Sal de sódio de 5,10,15,20-tetraquis(4-sulfonatofenil)porfirina
<b>[H<sub>2</sub>T2MPyP](OTs)<sub>4</sub></b>	Sal de tetra(p-toluenossulfonato) de 5,10,15,20-tetraquis(1-metil-2-piridil)porfirina
<b>[ZnT4MyPyP](OTs)<sub>4</sub></b>	Sal de 5,10,15,20-tetraquis(N-miristil-4-piridil)porfirina tetra(p-toluenossulfonato)
<b>[MnT4MyPyP](OTs)<sub>5</sub></b>	Sal de 5,10,15,20-tetra(N-miristil-4-piridil)porfirinatomanganês(III) penta(p-toluenossulfonato)
<b>H<sub>2</sub>T4CPP</b>	5,10,15,20-tetraquis(4-carboxifenil)porfirina
<b>[H<sub>2</sub>T4TriMAPP](OTs)<sub>4</sub></b>	Sal de tetra(p-toluenossulfonato) de 5,10,15,20-tetraquis(4-trimetilamôniofenil)porfirina
<b>GC-MS</b>	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
<b>TEMPOL</b>	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinol 1-oxil
<b>TEMPONE</b>	2,2,6,6-Tetrametil-4-oxo-piperidin-1-oxil
<b>Forona</b>	2,6-Dimetil-2,5-heptadieno-4-ona
<b>PDT</b>	Terapia Fotodinâmica
<b>•O<sub>2</sub></b>	Radical Superóxido
<b>•OH</b>	Radical Hidroxila
<b>•OOH</b>	Radical Hidroperoxila
<b>CAT</b>	Catálise Heterogênea
<b>PCAT</b>	Foto-catálise
<b>UV-Vis</b>	Ultra-violeta - Visível
<b>e<sup>-</sup></b>	Elétron
<b>h<sup>+</sup></b>	Buraco
<b>FS</b>	Fotossensibilizador
<b>ISC</b>	Cruzamento Inter-sistema

<b>NO•</b>	Grupo Nitróxido
<b>N-O</b>	Ligação Simples Nitrogênio Oxigênio
<b>N=O</b>	Ligação Dupla Nitrogênio Oxigênio
<b>MNP</b>	2-metil-2-nitrosopropano
<b>PBN</b>	N-ter-Butil- $\alpha$ -fenilnitrona
<b>DMPO</b>	5,5-Dimetil-1-pirrolina-N-óxido
<b>BMPO</b>	2-Metil-2-propanil 2-metil-3,4-di-hidro-2H-pirrol-2-carboxilato 1-óxido
<b>DEPMPO</b>	Dietil (2-metil-1-oxido-3,4-di-hidro-2H-pirrol-2-il)fosfonato
<b>mito-DEPMPO</b>	Dietil (2-metil-1-oxido-3,4-di-hidro-2H-pirrol-2-il)fosfonato brometo de (2-aminoetil)trifenilfosfônio
<b>TEMP</b>	2,2,6,6-Tetrametilpiperidina
<b>Oxo-TEMP</b>	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidona
<b><sup>14</sup>N</b>	Isótopo de Nitrogênio
<b>Hf</b>	Interação Hiperfina
<b>CAF</b>	Controle Automático de Frequência
<b>MS400</b>	Modelo Espectrômetro Comercial Magnettech
<b>TE<sub>102</sub></b>	Modo de Propagação Onda Eletromagnética
<b>UVA</b>	Ultravioleta Faixa 320-400 nm
<b>EI</b>	Impacto de Elétrons
<b>NIST</b>	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
<b>UFMG</b>	Universidade Federal de Minas Gerais
<b>LED</b>	Diodo Emissor de Luz
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>pKa</b>	Potencial de Dissociação de Ácido
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sódio
<b>NaN<sub>3</sub></b>	Azida de Sódio
<b>N<sub>2</sub></b>	Nitrogênio Gasoso
<b>HOMO</b>	Orbital Molecular de Maior Energia Ocupado
<b>LUMO</b>	Orbital Molecular de Menor Energia Desocupado
<b>DBPF</b>	1,3-Difenil-2-benzofurano
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de Hidrogênio
<b>AMX</b>	Amoxicilina
<b>P-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub></b>	Polímeros de Nitreto de Carbono

<b>C<sub>3</sub>N<sub>4</sub></b>	Nitreto de Carbono
<b>CN-T</b>	Nitreto de Carbono à Base de Tiourea
<b>DMPO/•OH</b>	Aduto de Spin de Captura do radical Hidroxila pelo DMPO
<b>DMPO*</b>	Produto de Degradação do DMPO
<b>DMPO/•O<sub>2</sub></b>	Aduto de Spin de Captura do radical Superóxido pelo DMPO
<b>Tiron</b>	4,5-dihidroxi-1,3-benzenossulfônico monohidratado
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxigênio Molecular
<b>UFSC</b>	Universidade Federal de Santa Catarina
<b>Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub></b>	Molibidato de Prata
<b>OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub></b>	Radical Etoxi
<b>CH<sub>3</sub>CHOH</b>	Radical α-Hidroxietil
<b>MP</b>	Metil Paraoxon
<b>NbOFe</b>	Niobato de Ferro
<b>PCL</b>	Policaprolactona
<b>NbOFe-NF</b>	Niobato de Ferro Imobilizado em Nanofibras
<b>GVL</b>	γ-Valerolactona
<b>LA</b>	Ácido Levulínico
<b>HY-340</b>	Modelo Ácido Nióbico Comercial
<b>CBMM</b>	Companhia Brasileira Metalurgia e Mineração
<b>PBN/H<sub>3</sub>C-CH<sub>2</sub>O•</b>	Aduto de Spin de Captura do radical Etoxi pelo PBN
<b>PBN/H<sub>3</sub>C-•CH-OH</b>	Aduto de Spin de Captura do radical α-Hidroxietil pelo PBN
<b>HHD</b>	6-Hidroxi heptano 2,5-diona
<b>EL</b>	Levulinar
<b>PBN/•H</b>	Aduto de Spin de Captura do radical de Hidrogênio pelo PBN
<b>H•</b>	Hidrogênio no Estado Radicalar
<b>H<sup>+</sup></b>	Hidrogênio no Estado Iônico
<b>DMPO/•OOH</b>	Aduto de Spin de Captura do radical Hidroperoxila pelo DMPO
<b>[Pd(bpy)Cl]<sup>+</sup></b>	2,2'-Bipiridina-dicloropaládio (1:1)
<b>3-PdTPyP</b>	Meta-Porfirina-Pd(II)
<b>4PdTPyP</b>	Para-Porfirina-Pd(II)
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>PBS</b>	Tampão Fosfato-salino
<b>PhC<sub>6</sub>F<sub>5</sub>cor</b>	5,10,15-tri-(fenil)corrol
<b>PyrC<sub>6</sub>F<sub>5</sub>cor</b>	5,10,15-tri-(pirenil)corrol

<b>PBN*</b>	Produto de Degradação do PBN
<b>•CH<sub>3</sub></b>	Radical Metil
<b>CH<sub>3</sub>SOCH<sub>3</sub></b>	Dimetilsulfóxido
<b>CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>H</b>	Metanossulfonil
<b>DMPO/•CH<sub>3</sub></b>	Aduto de Spin de Captura do radical Metil pelo DMPO
<b>Pd (II)</b>	Íon Paládio

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\vec{\mu}_S$	Momento de dipolo magnético do spin eletrônico
$g_e$	Constante adimensional dada pela razão giromagnética do elétron livre
$\mu_B$	Magnéton de Bohr
$\vec{S}$	Spin eletrônico
$\vec{B}_0$	Campo magnético estático
$\mathcal{H}$	Hamiltoniano do sistema de spins
$S_z$	Componente z do operador de spin eletrônico
$ \alpha_e\rangle$	Autoestado associado ao autovalor de spin eletrônico -1/2
$ \beta_e\rangle$	Autoestado associado ao autovalor de spin eletrônico +1/2
$E_\alpha$	Energia correspondente ao autovalor de spin -1/2
$E_\beta$	Energia correspondente ao autovalor de spin +1/2
$\mu_N$	Magnéton nuclear
$\vec{I}$	Vetor do spin nuclear
$I_z$	Componente z do operador de spin nuclear
$ \alpha_N\rangle$	Autoestado associado ao autovalor de spin nuclear +1
$ \beta_N\rangle$	Autoestado associado ao autovalor de spin nuclear 0
$ \gamma_N\rangle$	Autoestado associado ao autovalor de spin nuclear -1
$ \varphi_N\rangle$	Autoestados dado pelo produto tensorial entre o estado de spin eletrônico
e nuclear	
$m_s$	Número Quântico de Spin Eletrônico
$m_I$	Número Quântico de Spin Nuclear
$a_N$	Valor Isotrópico de Interação Hiperfina com Nitrogênio
$a_H$	Valor Isotrópico de Interação Hiperfina com Hidrogênio
$g$	Constante adimensional dada pela razão giromagnética do elétron efetivo
$\lambda$	Constante associada ao acoplamento spin-órbita
$\Delta$	Constante associada ao campo cristalino
$\psi_0$	Função de onda do estado eletrônico fundamental
$\psi_l$	Função de onda do estado eletrônico excitado
$\vec{g}$	Tensor adimensional associado à razão giromagnética do elétron livre
$\vec{A}$	Tensor associado à interação hiperfina

$a$	Termo de contato de Fermi
$\vec{B}$	Tensor da parte anisotrópica da interação hiperfina
$\psi(0)$	Função de onda eletrônica para orbital tipo s
$\nu$	Frequência da onda eletromagnética
$h$	Constante de Planck
$\rho_{\alpha\beta}$	Probabilidade de transição eletrônica entre os estados de spin
$\hbar$	Constante de Planck dividida por $2\pi$
$\mathcal{H}_{MW}(t)$	Hamiltoniano dependente do tempo após a inserção de micro-ondas
$\varphi(\nu)$	Função da forma de linha para a transição eletrônica
$\vec{B}_1$	Campo magnético oscilante
$S_x$	Componente x do operador de spin eletrônico
$S_+$	Operador de levantamento de spin
$S_-$	Operador de abaixamento de spin
$\gamma_e$	Fator giromagnético eletrônico
$dF(B)/dB$ magnético	Derivada da absorção do campo eletromagnético com relação ao campo magnético
$I$	Intensidade do feixe transmitido
$I_0$	Intensidade do feixe incidente
$C$	concentração do absorvedor ótico
$L$	Caminho ótico da radiação
$\varepsilon(\lambda)$	Coefficiente de absorção molar
$T$	Transmitância
$A$	Absorbância

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2. ESTADO DA ARTE</b>	<b>22</b>
<b>3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica: Teoria e experimento</b>	<b>27</b>
3.1.1. <u>O Hamiltoniano de Spin: Interações magnéticas</u>	27
3.1.2. <u>Ressonância Paramagnética Eletrônica: O Fenômeno</u>	35
3.1.3. <u>O Espectrômetro de EPR: Aspectos técnico</u>	37
<b>3.2. Espectroscopia de absorção ótica UV-Vis</b>	<b>41</b>
<b>3.3. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS)</b>	<b>42</b>
<b>4. DETECÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETO POR EPR: A INSTABILIDADE DO RADICAL NITROXIL</b>	<b>45</b>
<b>4.1. Cinética de geração do radical nitroxil</b>	<b>46</b>
<b>4.2. Investigação da degradação radicalar</b>	<b>51</b>
<b>4.3. Protocolo</b>	<b>68</b>
<b>5. ARMADILHAS DE SPIN/SONDAS REDOX EM APLICAÇÕES</b>	<b>70</b>
<b>5.1. Armadilha de spin/Sonda redox aliada à Terapia Fotodinâmica (PDT)</b>	<b>70</b>
<b>5.2. Catalisadores para degradação de drogas/agentes tóxicos</b>	<b>81</b>
<b>5.3. Catalisadores em conversões seletivas</b>	<b>92</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>99</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>102</b>
<b>APÊNDICE</b>	<b>112</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A importância dos radicais livres em reações químicas e em aplicações biológicas é cada vez mais contemplada. A detecção dos mesmos é de extrema importância, como exemplo, nos possibilita elucidar mecanismos de reações<sup>1-4</sup>, viabiliza a utilização de certos fármacos/compostos que promovem morte celular seletiva via radicais livres<sup>5-8</sup>. A principal técnica de detecção de espécies radicalares é a Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR, *Electron Paramagnetic Resonance*, do inglês), principalmente com a utilização de armadilhas de spin (*spin trapping*, do inglês) e sondas redox. O uso da EPR é justificado pela especificidade, seletividade e fácil quantificação das espécies radicalares, motivos estes que torna a técnica indispensável<sup>9,10</sup>.

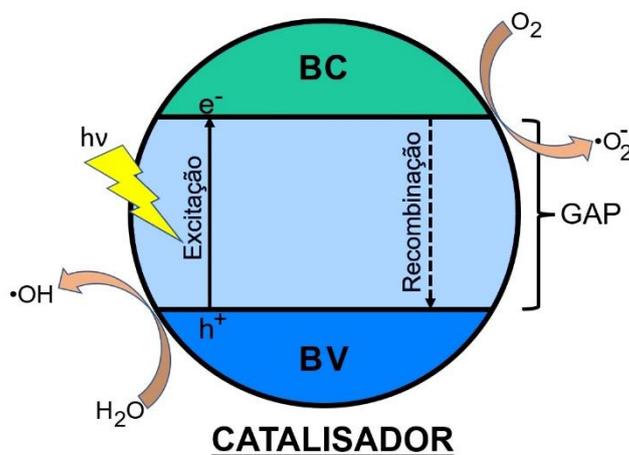
A metodologia é fundamentada na adição de um composto diamagnético (armadilha de spin), à reação radicalar, que captura o radical específico formando um produto paramagnético estável (aduto de spin), de tempo de vida mais longo e detectável via EPR. Já para as sondas redox não há a captura por completo da espécie reativa, o que ocorre é a oxidação do grupo amina estrutural originando um produto paramagnético estável (radical nitroxil). Dentre os radicais, destacam-se as espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*), devido as suas importâncias em sistemas biológicos. ROS é um termo coletivo que designa os radicais de oxigênio, como os radicais superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), hidroperoxila ( $\bullet\text{OOH}$ ) e certos agentes oxidantes não radicalares como o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ )<sup>11-15</sup>. Estas espécies possuem um tempo de vida muito curto, abaixo do limite de detecção do espectrômetro EPR<sup>1</sup>, fazendo-se necessário à utilização de armadilhas de spin ou sondas redox.

Neste trabalho, apresentamos resultados essenciais em áreas como a catálise heterogênea (CAT), foto-catálise (PCAT) e em terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*) a partir da utilização de armadilhas de spin e sondas redox, demonstrando a importância da metodologia. A detecção de radicais livres em experimentos de catálise, ou foto-catálise, elucidam etapas da reação bem como confirmam a ação do catalisador no meio. Por definição, a foto-catálise heterogênea é um

---

<sup>1</sup> Embora existam avanços na técnica, como a TR-EPR (do inglês, *Time-Resolved Electron Paramagnetic Resonance*), que atingem uma resolução temporal de dezenas de nano segundos (10-40 ns) ainda não estão na mesma ordem de grandeza do tempo de vida da maioria das ROS.

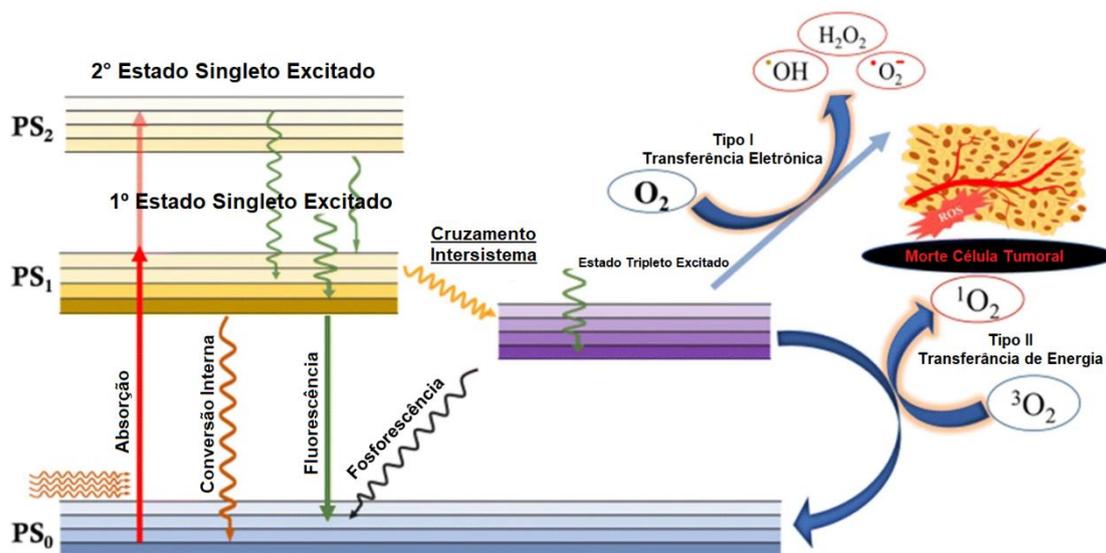
processo que utiliza, em geral, materiais semicondutores em forma de nanopartículas com área superficial grande e com *gap* de energia na região espectral de UV-Vis, que após excitação com luz acima da energia do *gap* transferem cargas ( $e^-$  e/ou  $h^+$ ) para as bandas de condução e valência, respectivamente, migrando para a superfície do catalisador, muitas vezes produzindo espécies radiculares no meio induzindo reações químicas desejadas (vide Figura 1). Este processo de troca de portadores entre o catalisador e o meio (oxigênio molecular ou molécula de água) é denominado mecanismo tipo I. Esta importante técnica ganhou um vasto incentivo desde meados da década de 70 após a crise de petróleo em busca de novas abordagens para diminuir a dependência de combustíveis fósseis<sup>16</sup>. Desde então as aplicações em foto-catálise ganharam destaque não só na conversão de dióxido de carbono, com a água, em hidrocarbonetos<sup>17-20</sup> ou separação fotoquímica d'água em hidrogênio e oxigênio gasoso, uma das possíveis fontes energéticas futuras<sup>21,22</sup>, bem como, a oxidação de poluentes, mais especificamente na mineralização e degradação completa de moléculas de corantes<sup>23,24</sup>, pesticidas<sup>25,26</sup> e fármacos<sup>27,28</sup>.



**Figura 1:** Mecanismo de foto-catálise.

Outra importante área em que a metodologia de armadilhas de spin é bastante empregada é a terapia fotodinâmica (PDT), uma das inúmeras modalidades promissoras para o tratamento contra o câncer<sup>29-31</sup>. Para tal, a metodologia permite a detecção do oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) de forma quantitativa auxiliando de forma direta na avaliação da eficiência dos fotossensibilizadores. Os fotossensibilizadores (FS) formam a classe de materiais que, quando iluminados em uma faixa espectral específica (especialmente na

janela terapêutica, aproximadamente de 650 a 850 nm), promovem à formação de oxigênio singleto. Este processo é denominado de cruzamento intersistema (ISC) e, pode ser sintetizado como a troca de energia, de forma não radiativa, entre o FS excitado (opticamente) e o oxigênio molecular do meio, formando assim o  $^1\text{O}_2$  (vide Figura 2). Este processo de troca de energia, de forma não radiativa, entre o fotossensibilizador e oxigênio molecular é definido como mecanismo tipo II, enquanto que, como visto anteriormente, a troca de carga com o meio é definido como mecanismo tipo I. De forma simplificada iremos designar o termo  $^1\text{O}_2$  para o estado singleto de menor energia  $^1\Delta_g$  ( $22.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), com dois elétrons emparelhados no orbital  $\pi_x^*$  ou  $\pi_y^*$ . Já o estado de maior energia  $^1\Sigma_g^+$  ( $31.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), com elétrons emparelhados ocupando cada um os orbitais  $\pi_x^*$  ou  $\pi_y^*$ , decai em dezenas de pico segundos para o estado  $^1\Delta_g$ . O uso de sondas redox como o Hidroxi-TEMP (2,2,6,6-tetrametilpiperidinol) nos permite credenciar qual fotossensibilizador será mais eficiente na produção de oxigênio singleto, bem como aferir a cinética de geração.



**Figura 2:** Diagrama de Jablonski simplificado para o processo de Terapia Fotodinâmica (PDT).

Adaptado<sup>32</sup>.

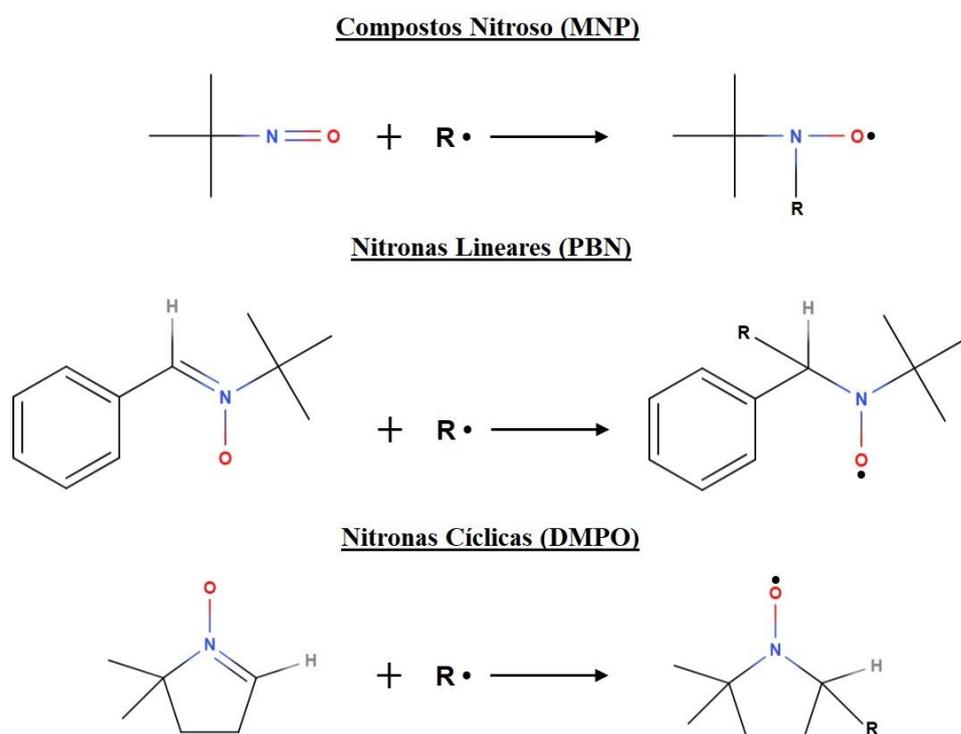
Apresentaremos no próximo capítulo aspectos referentes às armadilhas de spin e sondas redox com histórico, aplicações e estado da arte. Em seguida, no capítulo 3, são apresentadas as técnicas utilizadas neste trabalho, principalmente a EPR com foco na sua aplicação de radicais em soluções, evidenciando as informações relevantes obtidas a

partir do ajuste da forma de linha do radical nitróxido como parâmetros do Hamiltoniano de spin. No Capítulo 4, apresentaremos novas abordagens na aplicação da metodologia de sondas redox, tal como a descrição detalhada da cinética de degradação de radicais nitroxil em sistemas contendo sondas redox em conjunto com porfirinas. Um protocolo que auxilie usuários futuros desta metodologia foi elaborado, de forma a evitar possíveis erros na interpretação dos resultados obtidos. No capítulo 5 são exibidos os resultados alcançados, a partir do uso de armadilhas de spin e sondas redox, em colaborações com os outros grupos de pesquisa. Por fim um resumo dos resultados e perspectivas para continuidade desta linha de pesquisa são apresentados no Capítulo 6.

## 2. ESTADO DA ARTE

A metodologia de armadilha de spin foi desenvolvida no final da década de 60, por cinco grupos independentes em diferentes partes do mundo<sup>33</sup>, com o objetivo de obter uma técnica de identificação e quantificação de radicais livres. O produto paramagnético estável recebeu o nome de aduto de spin pelos autores Janzen *et al.*<sup>34</sup> e pertencente em geral, a classe dos radicais nitróxidos. Essa classe de radicais é conhecida pela sua estabilidade estrutural frente a variações externas do meio<sup>35,36</sup>, como exemplo a temperatura. Estes radicais também são capazes de se ligarem à outras estruturas ou mesmo sofrer modificações sem a alteração do grupo nitróxido (NO•). A estabilidade dos nitróxidos se deve à delocalização do elétron desemparelhado da ligação N-O<sup>37</sup>.

As classes moleculares das armadilhas de spin se enquadram em dois grupos distintos; nitronas e nitrosos (vide Figura 3). As armadilhas de spin da classe dos nitrosos se caracterizam pela ligação direta do radical/agente ao grupo nitróxido (N=O). Como exemplo de armadilha de spin desta classe podemos citar o 2-metil-2-nitrosopropano (MNP). As armadilhas de spin de compostos nitrosos são pouco empregadas devido à baixa estabilidade do aduto de spin e, sua alta toxicidade em aplicações biológicas<sup>38</sup>. Já com as armadilhas da classe das nitronas, o radical/agente se liga ao carbono adjacente ao grupo N-O da molécula. Uma característica estrutural das nitronas que atribuem especificidade ao radical/agente que é capturado pela armadilha de spin é a presença do hidrogênio na posição  $\beta$  da molécula. Após a formação do aduto de spin o radical capturado é facilmente distinguível a partir da quantificação da interação hiperfina entre o spin eletrônico, proveniente do elétron desemparelhado centrado no oxigênio, e o spin nuclear atribuído ao átomo de hidrogênio na posição  $\beta$ . Os demais átomos de hidrogênio da molécula interagem fracamente com o spin eletrônico por não estarem no mesmo plano de ligação do grupo N-O. Pequenas variações da interação hiperfina, devido à mudança estrutural da armadilha após a captura, são percebidas no espectro de EPR pela separação entre as linhas das transições de spin.



**Figura 3:** Tipos de armadilhas de spin e a reação de formação de aduto de spin.

O uso armadilhas de spin e sondas redox é adequado para quantificação e identificação basicamente de radicais nitrosos e espécies reativas de oxigênio (ROS)<sup>39</sup>. Embora pareça pouco abrangente o alcance da metodologia, a identificação e quantificação de ROS é de extrema importância científica. As ROS têm papel fundamental como mediadores em vários processos oxidativos, como por exemplo, em reações catalíticas com a geração de radicais superóxidos através de troca de portadores entre o oxigênio molecular e semicondutores excitados opticamente<sup>40</sup>, reações de quebra moleculares gerando produtos mais rentáveis<sup>1</sup> e/ou sustentáveis<sup>41-43</sup>; bem como em mecanismos de doença tais quais Alzheimer e SARS-CoV-2<sup>5,6,44</sup>.

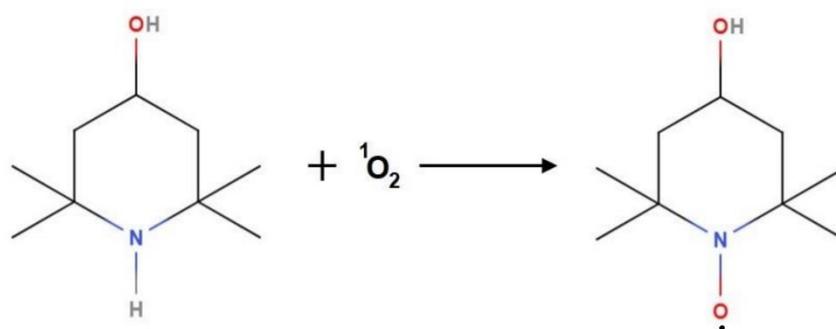
Destacada a importância das ROS, as armadilhas de spin mais amplamente utilizadas na detecção e quantificação das mesmas são: as nitronas lineares, como o PBN (N-terc-Butil- $\alpha$ -fenilnitrona); e as nitronas cíclicas à base de pirrolina, DMPO, (5,5-Dimetil-1-pirrolina-N-óxido)<sup>38</sup>. A armadilha de spin PBN possui especificidade na captura dos radicais derivados do hidroxila ( $\bullet$ OH), como o radical hidroperóxil ( $\bullet$ OOH)<sup>33</sup>. A estabilidade dos adutos de spin formados na captura do PBN nos permite a elaboração de uma cinética de geração de radicais de forma fidedigna. Uma das desvantagens do uso

do PBN em relação às outras armadilhas de spin é sua menor solubilidade em água (20 mg mL<sup>-1</sup>)<sup>45</sup>, carecendo da adição de outros solventes ao sistema. Já a armadilha de spin DMPO possui uma ampla diversidade e distinguibilidade de radicais de captura, portanto é muito utilizada para identificação de radicais que atuam em uma determinada reação. Um dos exemplos é a captura do radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2$ ) de forma direta, radical de extrema importância em diversos processos oxidativos<sup>13,46-48</sup>, de fácil visualização quando adicionado o DMPO em um sistema com solvente aprótico<sup>3</sup>. Entretanto, o emprego do DMPO impõe algumas restrições a metodologia do experimento, como a ausência de exposição à luz durante a preparação e realização dos espectros de EPR (molécula fotossensível) e difícil elaboração de uma cinética de geração radicalar dado que os adutos de spin, em geral, possuem um menor tempo de vida dos que em relação aos do PBN<sup>33</sup>. Na Figura 3 são apresentadas as estruturas moleculares típicas das armadilhas de spin nitrosas, nitronas de cadeia aberta e cíclica, bem como o processo de captura das mesmas.

As armadilhas de spin como PBN e DMPO possuem baixa toxicidade celular possibilitando o seu uso *in situ* em diversas aplicações biológicas<sup>49</sup>. Os autores Schaefer *et al.*<sup>50</sup> relataram as quantidades limites de viabilidade celular no uso das armadilhas de spin PBN e DMPO, a partir de exames histopatológicos e chegaram aos valores de (232 mg/100 g por peso) para o DMPO e (100 mg/100 g por peso) para o PBN injetado intraperitonealmente. Também há diversos trabalhos sobre o uso de armadilhas de spin *in vivo* de forma a detectar ROS específicas, como Tabner *et al.* que identificaram a formação de peróxido de hidrogênio durante o estágio inicial de agregação de proteínas que posteriormente formam as placas amiloides que são responsáveis pela citotoxicidade na doença de Alzheimer<sup>51</sup>. A criação de outras armadilhas de spin é outra perspectiva buscada na ciência com o objetivo da identificação de um radical específico para aplicação *in situ* ou *in vivo*, como o caso dos BMPO<sup>52</sup>, DEPMPO<sup>53</sup> e mito-DEPMPO<sup>54</sup> para a identificação do radical superóxido dado que o aduto de spin da captura do  $\text{O}_2$  pelo DMPO em meio aquoso é espontaneamente convertido no aduto de spin da captura do radical hidroxila<sup>39</sup>.

Já as sondas redox são bastante empregada no auxílio à terapia fotodinâmica (PDT), sendo esta uma promissora técnica baseada, predominantemente, na geração de oxigênio singleto pelo fotossensibilizador causando a morte celular por apoptose<sup>55,56</sup> (vide Figura 2). Apesar de não ser um radical livre, esta importante ROS é também naturalmente detectada a partir do uso de sondas redox. O uso de sondas redox com base

em moléculas de aminas cíclicas para a detecção de oxigênio singlete foi desenvolvido por Johan Moan e Einar Wold em 1979<sup>58</sup>. A partir da aplicação de moléculas como TEMP (2,2,6,6-Tetrametilpiperidina, CAS: 768-66-1), Hidroxi-TEMP ou Oxo-TEMP (2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidona, CAS: 826-36-8), a interação com o oxigênio singlete gera um produto paramagnético de alta estabilidade sendo possível a quantificação e comparação a respeito da eficiência entre fotossensibilizadores durante iluminação do sistema. O uso das sondas redox é indispensável na PDT uma vez que elas possuem especificidade para a molécula do oxigênio singlete, ou seja, haverá a formação do produto radicalar estável (radical nitroxil), se e somente se, houver presença de oxigênio singlete no meio<sup>57-60</sup>. Na Figura 4 é apresentada a estrutura molecular do Hidroxi-TEMP, juntamente com o radical nitroxil resultante (radical TEMPOL), que dentre as citadas anteriormente é que possui a maior solubilidade em água ( $130 \text{ g L}^{-1}$ )<sup>61</sup> e alta estabilidade, além de seu baixo custo.



**Figura 4:** Estrutura molecular da sonda redox hidroxi-TEMP e formação do radical TEMPOL após interação com o oxigênio singlete.

Destacada a importância e aplicações das armadilhas de spin e sondas redox é chamada a atenção para o desenvolvimento da metodologia para a aplicação da técnica. Devido ao caráter reativo dos radicais livres, as reações de formação destes em geral são bastante complexas, com diversas reações cruzadas e processos intermediários. Portanto, em prol de uma interpretação mais assertiva é prudente o uso combinado de diversas armadilhas de spin para elucidação de um mecanismo de reação<sup>38,39</sup>. Outro elemento bastante comum aliado ao emprego da metodologia é o uso de compostos químicos conhecidos como supressores, de forma a neutralizar algum agente da reação específico<sup>62,63</sup>, auxiliando assim na interpretação das etapas da reação, bem como na identificação dos agentes primários e secundários da reação. Na próxima seção, são

apresentados os conceitos básicos da principal técnica utilizada aqui, a Ressonância Paramagnética Eletrônica.

### 3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

#### 3.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica: Teoria e experimento

A principal técnica experimental utilizada neste trabalho é a Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR, do inglês *Electron Paramagnetic Resonance*). Nesta seção será feita uma breve introdução sobre ela, discutindo alguns de seus conceitos básicos. Dentre eles, destacam-se: o Hamiltoniano de spin com as interações Zeeman e Hiperfina; e os aspectos básicos requeridos no fenômeno de ressonância. Ênfase será dada à aplicação destes conceitos ao estudo de radicais nitróxidos ( $-\text{NO}\cdot$ ), sendo esta classe de moléculas resultante dos adutos de spin.

##### 3.1.1. O Hamiltoniano de Spin: Interações magnéticas

O momento de dipolo magnético  $\vec{\mu}_S$  associado ao spin do elétron pode ser escrito como:

$$\vec{\mu}_S = -g_e \mu_B \vec{S}, \quad (1)$$

onde  $g_e$  é uma constante adimensional denominada fator g do elétron livre<sup>2</sup>, e  $\mu_B$  o magnéton de Bohr<sup>3</sup>. Na presença de um campo magnético estático  $\vec{B}_0$ , haverá uma interação entre este, e o momento magnético. O Hamiltoniano de spin que descreve esta interação será:

$$\mathcal{H} = -\vec{\mu}_S \cdot \vec{B}_0 = g_e \mu_B B_0 S_z. \quad (2)$$

Por convenção, toma-se o eixo z como a direção do campo magnético aplicado, isto é,  $\vec{B}_0 = B_0 \hat{k}$ .

O spin de um elétron livre é  $S = 1/2$ . Logo, o momento de dipolo magnético associado a ele possui duas orientações possíveis, ou autoestados ( $|\alpha_e\rangle$  e  $|\beta_e\rangle$ )<sup>4</sup>, cuja

<sup>2</sup> $g_e = 2,00231930436182(52)$  (<https://physics.nist.gov/> acessado em 24/06/2022).

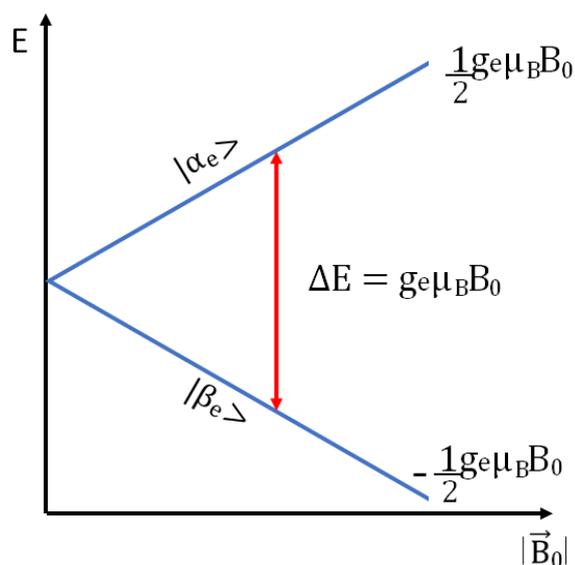
<sup>3</sup> $\mu_B = \frac{|e|\hbar}{2m_e} = 927,400\ 9994(57) \times 10^{-26} \text{ J}\cdot\text{T}^{-1}$  (<https://physics.nist.gov/> acessado em 24/06/2022).

<sup>4</sup> Na notação de Dirac.

degenerescência é levantada na presença de  $\vec{B}_0$ . Estes autoestados são associados, respectivamente, aos números quânticos  $m_s = 1/2$  e  $m_s = -1/2$ :

$$\begin{aligned} \mathcal{H} |\alpha_e\rangle &= E_\alpha |\alpha_e\rangle \Rightarrow E_\alpha = \frac{1}{2} g_e \mu_B B_0 \\ \mathcal{H} |\beta_e\rangle &= E_\beta |\beta_e\rangle \Rightarrow E_\beta = -\frac{1}{2} g_e \mu_B B_0. \end{aligned} \quad (3)$$

Os dois níveis de energia ( $E_\alpha$  e  $E_\beta$ ) das equações acima, e representados na figura abaixo, variam linearmente com a intensidade do campo externo. A este efeito é dado o nome de efeito Zeeman eletrônico (Figura 5).



**Figura 5:** Diagrama energético do efeito Zeeman para o elétron livre.

Usualmente outras contribuições ao Hamiltoniano de spin serão também observadas. Dentre elas as mais importantes são aquelas causadas pela presença de um spin nuclear diferente de zero na vizinhança do spin eletrônico do radical. Assim como no efeito Zeeman eletrônico, um campo magnético externo também quebrará a degenerescência dos estados de spin nucleares. Esta interação é denominada de interação Zeeman nuclear, sendo estas três ordens de grandeza menor que a interação Zeeman eletrônica. Isso ocorre porque o magnéton nuclear  $\mu_N$  (do próton)<sup>5</sup> é cerca de 1840 vezes

<sup>5</sup> $\mu_B = 5,050\,783\,699(31) \times 10^{-27} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$  (<https://physics.nist.gov/> acessado em 22/06/2022).

menor que o magnéton de Bohr  $\mu_B$  para o elétron<sup>6</sup>. O desdobramento dos níveis para o efeito Zeeman nuclear é análogo ao descrito pelas equações (3). Diferenças existem na multiplicidade de autoestados e no ordenamento dos níveis. Estes dependem, respectivamente, do spin nuclear que produz  $2I + 1$  níveis de energia, e do fator g nuclear de cada isótopo.

A outra contribuição ao Hamiltoniano de spin devido à presença de um spin nuclear não nulo na proximidade do elétron desemparelhado será a interação Hiperfina. Ela é resultado da interação entre os momentos de dipolo magnético nuclear e eletrônico. Para um elétron livre interagindo com um único núcleo, na presença de um campo externo, o Hamiltoniano de spin é dado por:

$$\mathcal{H} = g_e \mu_B B_0 S_z + a S_z I_z - g_N \mu_N B_0 I_z. \quad (4)$$

O primeiro termo de (4) é referente ao efeito Zeeman eletrônico, o segundo é devido à interação Hiperfina, e o último devido ao efeito Zeeman nuclear. A constante  $a$  é conhecida como constante de acoplamento hiperfino. Como a interação Zeeman eletrônica é muito maior do que a interação hiperfina (e Zeeman nuclear), a solução do Hamiltoniano acima é usualmente obtida, em primeira ordem, pela Teoria de Perturbação Independente do Tempo.

Para um sistema isolado com um elétron ( $S = \frac{1}{2}$ ) e um núcleo de  $I = 1$ <sup>7</sup> e, assumindo inicialmente interações isotrópicas, têm-se os seguintes autoestados e autovalores para os operadores de spin:

$$\begin{aligned} S_z |\alpha_e\rangle &= \frac{1}{2} |\alpha_e\rangle & S_z |\beta_e\rangle &= -\frac{1}{2} |\beta_e\rangle \\ I_z |\alpha_N\rangle &= 1 |\alpha_N\rangle & I_z |\beta_N\rangle &= 0 |\beta_N\rangle & I_z |\gamma_N\rangle &= -1 |\gamma_N\rangle. \end{aligned} \quad (5)$$

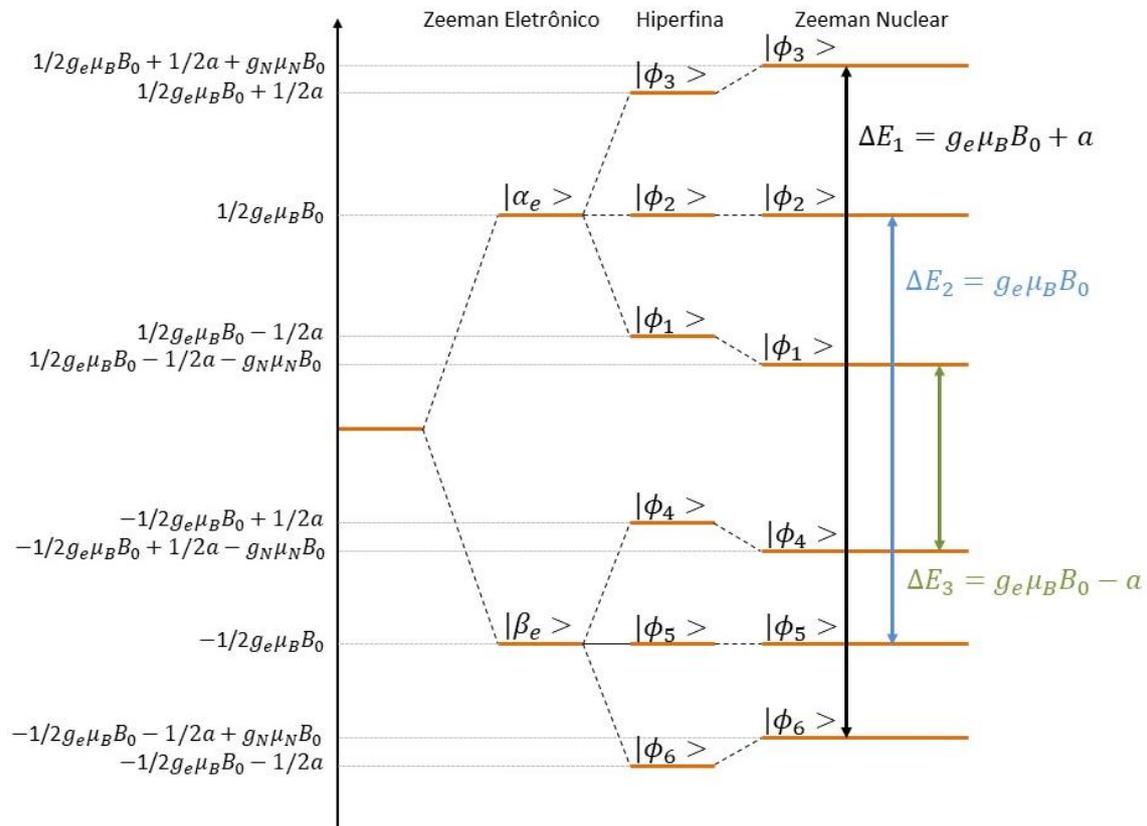
Expandindo o espaço de spin eletrônico e nuclear via produto tensorial  $|\varphi_e\rangle \otimes |\varphi_N\rangle = |\varphi_e \varphi_N\rangle$ , pode-se definir os autoestados do sistema completo como:

$$\begin{aligned} |\phi_1\rangle &= |\alpha_e \alpha_N\rangle & ; & & |\phi_2\rangle &= |\alpha_e \beta_N\rangle & ; & & |\phi_3\rangle &= |\alpha_e \gamma_N\rangle \\ |\phi_4\rangle &= |\beta_e \alpha_N\rangle & ; & & |\phi_5\rangle &= |\beta_e \beta_N\rangle & ; & & |\phi_6\rangle &= |\beta_e \gamma_N\rangle. \end{aligned} \quad (6)$$

<sup>6</sup> Devido à razão entre as massas de repouso do próton e do elétron.

<sup>7</sup> Similar ao radicais nitróxidos em que o elétron desemparelhado interage com um núcleo de  $^{14}\text{N}$  ( $I = 1$ ).

Aplicando o Hamiltoniano (4) aos autoestados listados em (5) e (6), as energias deste sistema podem ser obtidas analiticamente. O resultado deste cálculo é representado no esquema da figura abaixo.

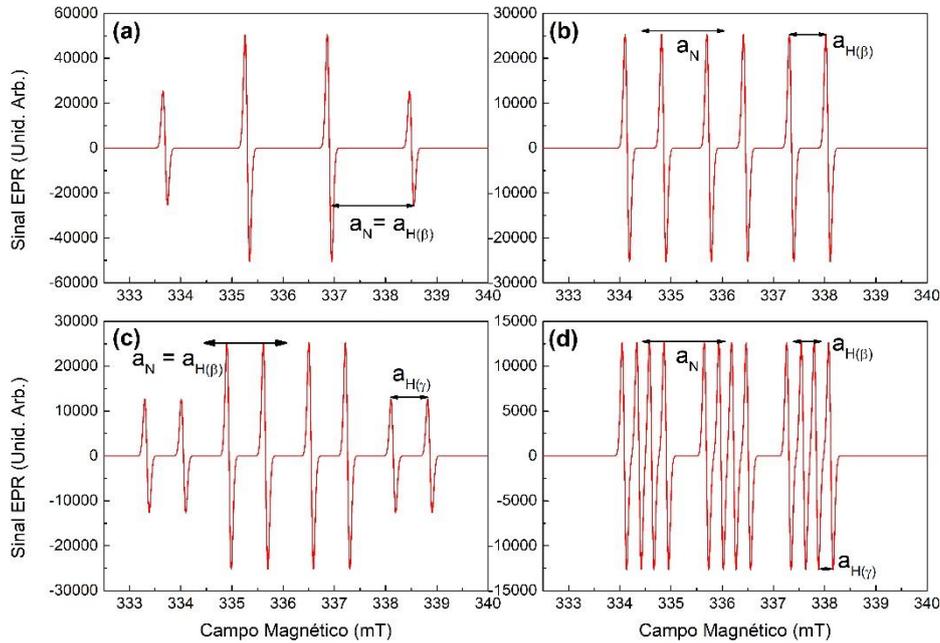


**Figura 6:** Diagrama de níveis de energia de um sistema com  $S = 1/2$  e  $I = 1$ , na presença de um campo  $\vec{B}_0$ . Também são mostradas as transições que dão origem ao espectro de EPR, isto é, para as regras de seleção  $|\Delta m_s| = 1$  e  $|\Delta m_l| = 0$  (a serem discutidas adiante).

No diagrama da Figura 6, foi assumido no cálculo, que a interação Hiperfina é maior do que a interação Zeeman nuclear. Note que esta última contribuição não muda a energia das transições entre os níveis de spin eletrônico e, por isso, pode ser ignorada no Hamiltoniano quando formos tratar de espectros de EPR.

Para o caso das nitronas, devido a presença do hidrogênio no mesmo plano de ligação do grupo N-O, o espectro de EPR resultante da captura de uma espécie reativa apresenta ao menos seis transições de spin eletrônico. A quantificação do valor isotrópico das interações hiperfinas entre o spin eletrônico e os spins nucleares associados aos átomos de nitrogênio ( $I = 1$ ), proveniente do isótopo  $^{14}\text{N}$ , e ao hidrogênio ( $I = 1/2$ ), na posição  $\beta$

da molécula, é de fundamental importância na identificação da espécie reativa capturada pela armadilha de spin. A distinguibilidade dos valores das interações hiperfinas está relacionada a mudança na conformação molecular gerada pela captura radicalar, uma vez que a intensidade da interação está associada com a proximidade do elétron desemparelhado com relação ao spin nuclear interagente. Em alguns casos, ocorre a interação com o spin nuclear de outro átomo de hidrogênio na posição  $\gamma$ , oriundo da espécie capturada, desencadeando em um desdobramento de doze transições de spin. O sinal de EPR pode apresentar diferentes números de linhas em seu espectro dependendo do valor isotrópico das interações hiperfinas (vide Figura 7). Podemos ter quatro linhas com padrão de intensidade 1:2:2:1 (Figura 7a), para o caso em que os valores das interações hiperfinas com átomos de nitrogênio e hidrogênio sejam semelhantes ( $a_N = a_{H(\beta)}$ ); ou seis linhas caso os valores sejam diferentes ( $a_N \neq a_{H(\beta)}$ ) (Figura 7b); para o caso do aparecimento da interação com o hidrogênio na posição  $\gamma$ , podemos ter oito linhas, com padrão de intensidade de 1:1:2:2:2:2:1:1 (Figura 7c), se a interação com os dois átomos de hidrogênio forem equivalentes ( $a_N = a_{H(\beta)} \neq a_{H(\gamma)}$ ) ou até doze linhas caso todas de interações distintas entre si ( $a_N \neq a_{H(\beta)} \neq a_{H(\gamma)}$ ) (Figura 7d). Como exemplo de um modelo de identificação, se em nosso sistema estivéssemos utilizando a armadilha de spin DMPO em solução aquosa e após a reação radicalar resultasse em um espectro de EPR como o da Figura 7a certamente poderíamos afirmar que há a formação do radical  $\bullet\text{OH}$ .



**Figura 7:** Espectros de EPR típicos de adutos de spin resultantes da captura de alguma espécie reativa por nitronas, com parâmetros hiperfinos dados por **(a)**  $a_N = a_{H(\beta)}$ ; **(b)**  $a_N > a_{H(\beta)}$ ; **(c)**  $a_N = a_{H(\beta)} > a_{H(\gamma)}$  e **(d)**  $a_N > a_{H(\beta)} > a_{H(\gamma)}$ .

Demonstrada a importância e conceitos da interação hiperfina, partimos para detalhamento do fator  $g$ . Em centros paramagnéticos reais, no entanto, o fator  $g$  do elétron livre ( $g_e$ ) é substituído por um fator  $g$  que, na maioria dos casos, se afasta de  $g_e$  devido à contribuição orbital ao momento de dipolo magnético eletrônico. Esta perturbação pode ser escrita em termos da interação spin-órbita, como mostrado na equação:

$$g_{ij} = g_e \delta_{ij} - 2\lambda \sum_l \frac{\langle \psi_0 | L_i | \psi_l \rangle \langle \psi_l | L_j | \psi_0 \rangle}{E_l - E_0}, \quad (7)$$

onde  $\delta_{ij}$  é o delta de Kronecker;  $\lambda$  o acoplamento spin-órbita; e  $\psi_0$  e  $\psi_l$  as funções de onda do estado fundamental e do estado excitado do elétron, respectivamente,  $E_0$  e  $E_l$  são as energias correspondentes.

Além da interação spin-órbita ( $\lambda$ ), o campo cristalino (eletrostático) causado pelos íons vizinhos, cuja intensidade é  $\Delta$ , também afeta o fator  $g$ . Este campo reflete a simetria

local do centro paramagnético em moléculas e sólidos, modificando as funções de onda do elétron desemparelhado. Como consequência o fator  $g$ , inicialmente escalar, passa a ser substituído por um tensor  $\vec{g}$ .

A interação spin-órbita e o campo cristalino têm efeitos contrários. Por isso, cada uma das três componentes independentes de  $\vec{g}$  ( $g_{xx}$ ,  $g_{yy}$  e  $g_{zz}$ ) ao longo das direções principais, apresentará um desvio  $\delta g_{ii} = g_e - g_{ii}$  ( $i=x, y, z$ ). Este dependerá, por sua vez, da razão entre a constante de acoplamento spin-órbita e o valor da contribuição do campo cristalino ( $\lambda/\Delta$ ). Para o caso dos radicais nitróxidos, em que apenas átomos leves estão envolvidos nas ligações, a interação spin órbita  $\lambda$  é muito pequena. Como consequência, as componentes do tensor  $\vec{g}$  estão muito próximas do fator  $g$  do elétron livre ( $g_e$ ), com desvios  $\delta g_{ii}$  menores que 1%.

Assim como o efeito Zeeman eletrônico, a interação hiperfina em sistemas anisotrópicos também reflete a simetria da vizinhança local do elétron desemparelhado e, por isso, também terá um caráter tensorial. A diferença entre as componentes principais do tensor hiperfino  $\vec{A}$  se dá pela mistura dos orbitais eletrônicos na vizinhança do núcleo em questão. Para um elétron num orbital puramente tipo “s”, o tensor se reduz a uma constante de acoplamento isotrópica que é proporcional à densidade eletrônica no sítio do núcleo. Para elétrons em orbitais tipo “p”, por exemplo, a interação hiperfina é anisotrópica e o acoplamento tensorial. Por conveniência, o tensor hiperfino pode ser decomposto em uma parte isotrópica e outra anisotrópica:

$$\vec{A} = (a\vec{I} + \vec{B}). \quad (8)$$

A constante  $a$  é uma grandeza escalar conhecida como Termo de Contato de Fermi<sup>64</sup>:

$$a = \frac{2}{3} \mu_0 g_e \mu_B g_N \mu_N |\psi^2(0)|. \quad (9)$$

Em (9)  $\psi(0)$  será o valor assumido pela função de onda do elétron desemparelhado, tipo “s”, na posição nuclear.

O tensor hiperfino anisotrópico  $\vec{B}$  tem, por sua vez, traço nulo. Suas componentes podem ser decompostas em duas constantes:  $b$  e  $b'$ .

$$\vec{B} = \begin{pmatrix} -b + b' & & \\ & -b - b' & \\ & & 2b \end{pmatrix}. \quad (10)$$

Para uma simetria axial  $b' = 0$  e:

$$\begin{aligned} A_{\parallel} &= a + 2b \\ A_{\perp} &= a - b. \end{aligned} \quad (11)$$

Havendo uma redução de simetria a partir da simetria axial, este desvio será representado pela constante  $b' \neq 0$ .

Os elementos do tensor  $\vec{B}$  ( $B_{xx} = -b + b'$ ,  $B_{yy} = -b - b'$  e  $B_{zz} = 2b$ ) estão, por sua vez, relacionados à interação dipolo-dipolo entre o elétron desemparelhado (em orbitais tipo “p”, “d” ou “f”) e o núcleo em questão<sup>65</sup>. Eles são dados por:

$$B_{ij} = \frac{\mu_0}{4\pi} g_e \mu_B g_N \mu_N \int \left( \frac{3x_i x_j}{r^5} - \frac{\delta_{ij}}{r^3} \right) |\psi(r)|^2 dV, \quad (12)$$

onde  $x_i$  e  $x_j$  descrevem as componentes do vetor posição do spin eletrônico e do nuclear, respectivamente, e  $\psi(r)$  é a função de onda eletrônica. Vale lembrar que, na maioria dos casos, a função de onda do elétron é composta de uma mistura de orbitais que faz com que haja na interação hiperfina, tanto uma contribuição isotrópica devido ao Termo de Contato de Fermi, quanto devido à interação dipolar.

Enquanto, para o nitróxido a anisotropia do tensor  $g$  é pequena por razões expostas acima, a interação Hiperfina terá um caráter altamente anisotrópico devido à localização do elétron desemparelhado em um orbital tipo “p”. O tensor  $\vec{A}$  tem como direções principais: o eixo z paralelo ao orbital  $2p_z$ , o eixo x paralelo à ligação N-O e o eixo y ortogonal aos demais. Por convenção, a componente  $A_{zz}$  do tensor hiperfino terá o maior valor ao longo de  $2p_z$ . A determinação da interação hiperfina possui grande importância ao estudo dos radicais nitróxidos, pois permitirá aferir o deslocamento da função de onda eletrônica centrada no núcleo de nitrogênio em função, por exemplo, da polaridade do solvente, caracterizando assim, o meio externo à molécula.

O Hamiltoniano de spin para a análise do radical nitróxido será dado por:

$$\mathcal{H} = \mu_B \vec{B}_0 \vec{g} \vec{S} + \vec{S} \vec{A} \vec{I}. \quad (13)$$

### 3.1.2. Ressonância Paramagnética Eletrônica: O Fenômeno

Para induzirmos transições entre os estados de spin como os representados pela Figura 6, aplica-se ao sistema uma radiação eletromagnética de frequência  $\nu$ , de tal forma que a energia do fóton ( $h\nu$ ) corresponda exatamente à separação de energia entre os níveis. Esta é a condição de ressonância, que para o caso de um elétron livre<sup>8</sup>, é dada pela seguinte equação:

$$h\nu = \Delta E \Rightarrow h\nu = g_e \mu_B B_0. \quad (14)$$

Na equação acima, para um sistema em que o campo magnético estático tem magnitude de cerca 0,34 T, a frequência  $\nu$  será na faixa das micro-ondas, isto é, aproximadamente 9.5 GHz (banda X). Usualmente, por motivos técnicos, varia-se o campo magnético mantendo-se  $\nu$  constante de modo a se determinar  $g_e$ .

Todavia, não basta que a condição de ressonância da equação (14) seja atendida para que haja a transição entre os estados de spin. É também fundamental que o campo magnético oscilante da radiação incidente (micro-ondas) seja perpendicular ao campo estático  $\vec{B}_0$ . A seguir, será demonstrada esta segunda condição a partir do cálculo das regras de seleção para as transições de EPR.

Seja  $\wp_{\alpha\beta}(\nu)$  a probabilidade, por unidade de tempo, de uma transição de dipolo magnético para um sistema com  $S = 1/2$ , da equação (2), induzida por um campo oscilante que segue a condição de ressonância exposta na equação (14). Após ser calculada pela Teoria da Perturbação Dependente do Tempo,  $\wp_{\alpha\beta}(\nu)$  será descrita pela Regra de Ouro de Fermi<sup>66</sup>:

$$\wp_{\alpha\beta}(\nu) = \frac{1}{4\hbar^2} |\langle \alpha_e | \mathcal{H}_{MW}(t) | \beta_e \rangle|^2 \wp(\nu). \quad (15)$$

<sup>8</sup> Hamiltoniano de spin:  $\mathcal{H} = g_e \mu_B B_0 S_z$  (2).

Na equação acima,  $|\beta_e\rangle$  e  $|\alpha_e\rangle$  são os estados iniciais e finais do sistema.  $\mathcal{H}_{MW}(t)$  é um Hamiltoniano dependente do tempo que, por sua vez, está associado à interação Zeeman do campo magnético  $\vec{B}_1$  oscilando na direção x (para micro-ondas linearmente polarizadas).  $\mathcal{H}_{MW}(t)$  é dado por:

$$\mathcal{H}_{MW}(t) = 2g_e\mu_B B_1 S_x \cos(2\pi\nu t). \quad (16)$$

A função  $g(\nu)$  em (15) é uma função de forma para a transição, associada tanto à densidade de estados do nível excitado, quanto a uma possível dispersão do campo de micro-ondas. Ela é normalizada de tal modo que  $\int_0^{+\infty} g(\nu) = 1$ , e está relacionada, como o próprio nome indica, à forma de linha do espectro de EPR.

Substituindo em  $\mathcal{H}_{MW}(t)$  o operador  $S_x$  por sua combinação dos operadores de criação e aniquilação,  $S_x = \frac{S_+ + S_-}{2}$ <sup>9</sup>, e atuando nos autoestados  $|\alpha_e\rangle$  e  $|\beta_e\rangle$ , a probabilidade de transição induzida pelo campo oscilante, que é igual tanto para absorção quanto para emissão ( $\wp_{EPR} = \wp_{\alpha\beta} = \wp_{\beta\alpha}$ ), se reduz a:

$$\wp_{EPR} = \frac{1}{4} \left( \frac{g_e\mu_B B_1}{\hbar} \right)^2 g(\nu) = \left( \frac{\gamma_e B_1}{2} \right)^2 g(\nu), \quad (17)$$

onde  $\gamma_e$  é o fator giromagnético eletrônico ( $\gamma_e = -\frac{g_e\mu_B}{\hbar}$ )<sup>10</sup>.

Note que ao aplicar o campo oscilante da micro-ondas na direção do campo estático, isto é  $\vec{B}_1 || \vec{B}_0$  tem-se um Hamiltoniano  $\mathcal{H}_{MW}(t)$  descrito por  $\mathcal{H}_{MW}(t) = 2g_e\mu_B B_1 S_z \cos(2\pi\nu t)$  e, pela Regra de Ouro de Fermi, os elementos da matriz  $\langle \alpha_e | \mathcal{H}_{MW} | \beta_e \rangle$  seriam nulos. Como consequência, não haveria transição de EPR e o campo oscilante apenas modularia o efeito Zeeman. Logo, a máxima probabilidade de transição ocorrerá com a aplicação de micro-ondas linearmente polarizada, tal que  $\vec{B}_1 \perp \vec{B}_0$ .

Para um Hamiltoniano de spin mais complexo, como é o caso da equação (4), as transições de dipolo magnético (transições de EPR), são encontradas após aplicarmos as devidas regras de seleção, também derivadas de (15), mas com os autoestados da equação

<sup>9</sup>  $S_{\pm} = S_x \pm iS_y$ .

<sup>10</sup>  $\gamma_e = 1.760\,859\,644(11) \times 10^{11} \text{ s}^{-1} \text{ T}^{-1}$  (<https://physics.nist.gov/> acessado em 22/06/2022).

(6). Neste caso as regras de seleção são  $|\Delta m_s = 1|$  e  $|\Delta m_l = 0|$ . Elas se traduzem nas três transições de EPR (indicadas na Figura 6), cujas energias são:

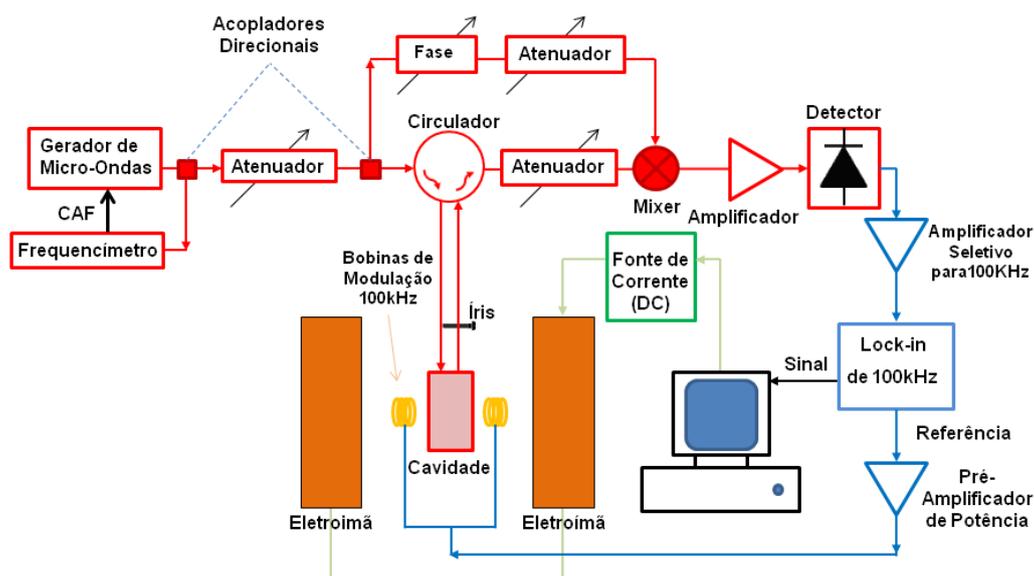
$$\begin{aligned}\Delta E_1(|\phi_4 \rangle \rightarrow |\phi_1 \rangle) &= g_e \mu_B B_0 + a \\ \Delta E_2(|\phi_5 \rangle \rightarrow |\phi_2 \rangle) &= g_e \mu_B B_0 \\ \Delta E_3(|\phi_6 \rangle \rightarrow |\phi_3 \rangle) &= g_e \mu_B B_0 - a.\end{aligned}\tag{18}$$

Até este ponto, o fenômeno de ressonância foi tratado para um hipotético sistema de spins únicos isolados. No entanto, na prática, trabalha-se com um ensemble de spins eletrônicos não interagentes (sistema paramagnético diluído). Para a compreensão de como o experimento de EPR se dá pela absorção de micro-ondas em casos mais realistas, necessita-se, portanto, lidar com as populações de spin e sua dinâmica.

### 3.1.3. O Espectrômetro de EPR: Aspectos técnico

A técnica de EPR está baseada na detecção de micro-ondas absorvida por um sistema de spins na presença de um campo magnético externo. Dado que os espectrômetros de EPR em geral operam em frequências fixas, conforme as dimensões da cavidade utilizada, o campo magnético é variado até que a condição de ressonância seja obtida, resultando na absorção de micro-ondas pelo sistema.

A seguir é mostrado um esquema simplificado de um espectrômetro de EPR.



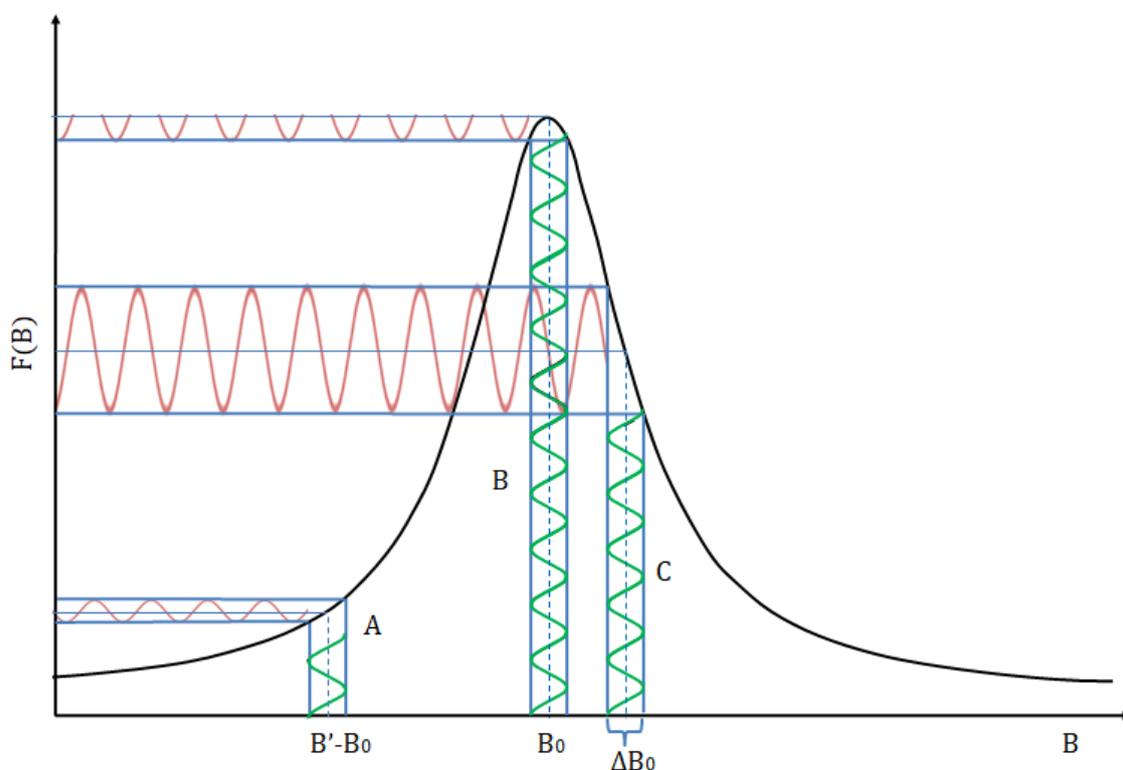
**Figura 8:** Diagrama dos componentes de um espectrômetro de EPR.

A variação do campo é feita através do controle da corrente elétrica em um eletroímã. A geração de micro-ondas, cuja ponte está em vermelho, pode ser via válvula Klystron ou por uma fonte de estado sólido como, por exemplo, um diodo *Gunn*. Sua distribuição é feita por guias de onda retangulares, cilíndricos ou cabos coaxiais especiais. A detecção das micro-ondas é feita por diodos (cristais) após amplificação das micro-ondas. Na detecção heterodina mostrada acima, antes do circulador, parte da micro-ondas é redirecionada para um ramo secundário com ajuste de fase e atenuação. Este ramo secundário garante, após o mixer, uma polarização mínima no diodo detector para colocá-lo no regime de trabalho em que seu sinal é linear.

Com o objetivo de manter a frequência da micro-ondas estável, sem variações, com flutuações da rede elétrica ou de temperatura nos outros componentes todo espectrômetro possui um sistema de controle denominado CAF (controle automático de frequência). Este sistema é baseado na correção da frequência gerada pelo Klystron (ou diodo Gunn) caso haja algum desvio da frequência desejada na cavidade a partir de uma modulação da micro-ondas em amplitude (8 kHz).

De forma a obtermos o máximo de energia do campo de micro-ondas de forma concentrada a amostra é inserida em uma cavidade ressonante. Um ajuste do acoplamento da cavidade garante que a reflexão para fora da cavidade seja mínima (acoplamento crítico). Além disto, o campo magnético responsável pelo desdobramento dos níveis

eletrônicos é modulado em 100 kHz por bobinas internas à cavidade. Essa modulação garante a detecção do sinal refletido pela cavidade e que chega ao cristal detector, após ser pré-amplificado e enviado para um Lock-In ajustado também em 100 kHz. Este sinal refletido só ocorre na ressonância, quando há absorção de micro-ondas e desacoplamento da cavidade. Se a linha de absorção de EPR for uma curva Lorentziana, o sinal em fase com a modulação de 100 kHz, depois de filtrado e amplificado, será proporcional à derivada da absorção (derivada da Lorentziana) como mostrado na Figura 9 abaixo.



**Figura 9:** Representação gráfica da absorção de micro-ondas em função ao campo magnético para uma determinada transição de EPR (Linha em preto). As linhas em verde representam o campo magnético modulado em 100 kHz. A potência de micro-ondas absorvida em função do campo magnético é mostrada no eixo vertical. O sinal detectado após de modulação pelo Lock-in é a derivada da absorção ( $dF(B)/dB$ ).

Além dos componentes principais mencionados acima, existem também atenuadores, isoladores, dispositivos de ajuste da fase, acopladores direcionais, circuladores e amplificadores de micro-ondas, frequencímetros, dentre outros, cada qual com sua função específica.

Neste trabalho, um espectrômetro de EPR comercial (Miniscope MS400), fabricado pela empresa Magnettech (Alemanha) e apropriado a trabalhos em solução, foi empregado. Esse espectrômetro pertence à UFMG e encontra no departamento de Física, mas especificamente no laboratório de Ressonância Magnética e, pode ser visto na Figura 10:



**Figura 10:** Espectrômetro de EPR da empresa Magnettech.

O espectrômetro MS400 trabalha à temperatura ambiente com frequências entre 9,3 e 9,55 GHz (banda X), com campos variando de 100 a 600 mT. A modulação de 100 kHz varia de 0,05 a 0,60 mT. Sua cavidade é retangular (modo  $TE_{102}$ ). Todo controle do espectrômetro, seja o ajuste da ponte de micro-ondas e a coleta de dados, é feito por um microcomputador. As amostras líquidas (soluções ou suspensões) são acondicionadas em capilares de capacidades de 50  $\mu$ L (Hirschmann, Alemanha) e seladas com massa especial (Critoseal, EUA). Os capilares são então inseridos em tubos de quartzo, próprios para EPR, de (comprimento 250 mm, diâmetro externo de 4 mm e interno de 3 mm) (Wilmad, EUA), e que por sua vez são colocados na cavidade.

### 3.2 Espectroscopia de absorção ótica UV-Vis

Uma das técnicas utilizada para a caracterização das amostras discutidas neste trabalho foi a espectroscopia de absorção ótica na faixa espectral do UVA até o infravermelho próximo (350 nm – 850 nm). A técnica é fundamentada na detecção dos fótons que atravessam a amostra ( $I$ ) e é comparada com a intensidade de fótons que incidem na mesma ( $I_0$ ). A intensidade do feixe que atravessa a amostra obedece a seguinte relação:

$$I = I_0 10^{-\varepsilon(\lambda) C L}, \quad (26)$$

onde  $I_0$  é intensidade do feixe incidente,  $\lambda$  é comprimento de onda do feixe incidente,  $C$  é a concentração do absorvedor,  $L$  é o caminho ótico percorrido pela radiação,  $\varepsilon(\lambda)$  é o coeficiente de absorção molar. A transmitância ( $T$ ) é definida pela razão entre a intensidade do feixe incidente e transmitido:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon(\lambda) C L}. \quad (27)$$

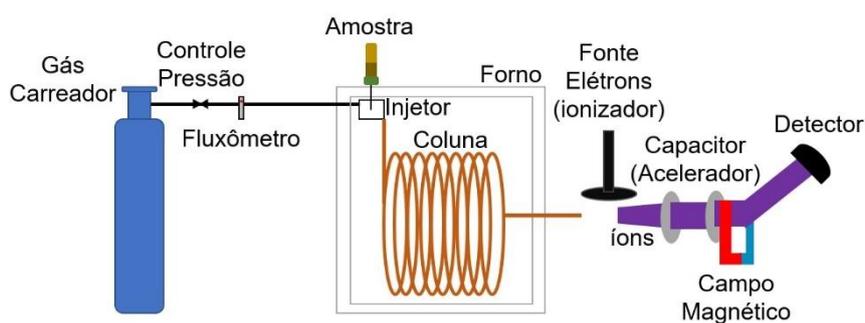
A absorbância é definida pela lei de Lambert-Beer:

$$A = -\log T = \varepsilon(\lambda) C L. \quad (28)$$

Em um experimento padrão a luz de uma lâmpada incide em uma rede de difração e, variando-se o ângulo é selecionado o comprimento de onda incidente específico na amostra. O espectrofotômetro utilizado neste trabalho foi o modelo UV-3600 (Shimadzu) que situa-se no laboratório de Nanomateriais do departamento de Física da UFMG.

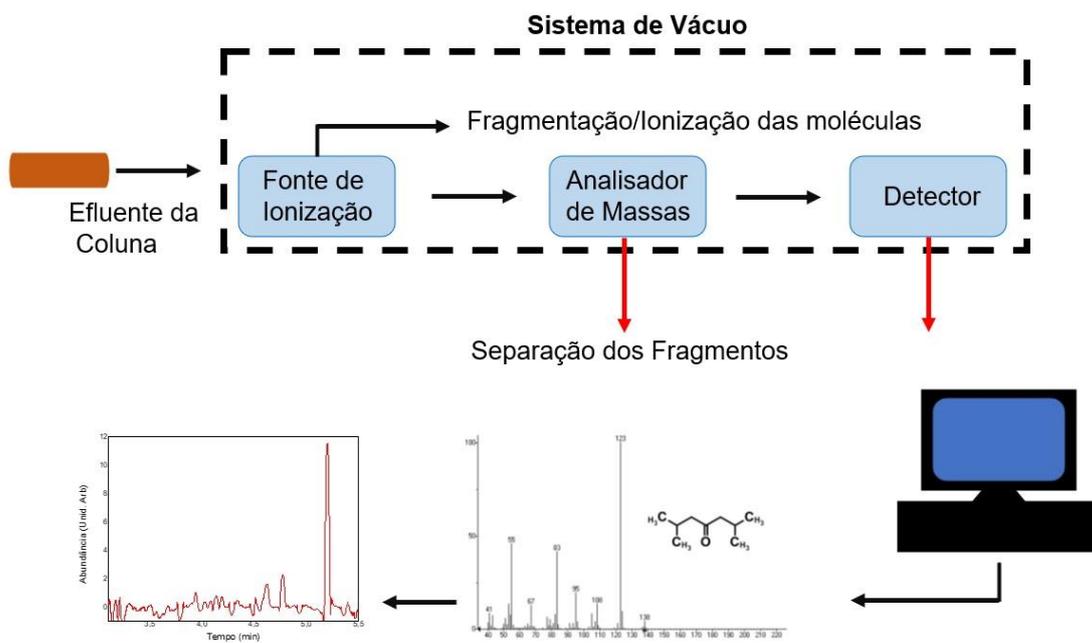
### 3.3 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS)

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS, do inglês *gas chromatography-mass spectroscopy*) foi a principal técnica de identificação molecular utilizada em todo trabalho. Esta técnica analítica tem como base a separação de compostos a partir da vaporização da amostra sem causar sua decomposição. Inicialmente a amostra acondicionada em um frasco é inserida no injetor, após ser volatilizada, juntamente com a fase móvel. A fase móvel é um gás inerte, em nosso caso foi utilizado hélio, que tem a função de carrear o analito por toda a coluna cromatográfica. A separação se baseia nos diferentes tempos de distribuição dos compostos da amostra entre a fase estacionária (líquido de alta viscosidade revestindo as suas paredes internas da coluna) e a fase móvel. Os compostos introduzidos na coluna que não têm muita interação com a fase estacionária são primeiramente eluídos pela fase móvel até o detector, sendo eluídos, em seguida, os que têm mais afinidade com a fase estacionária. A análise é rápida, podendo ser efetuada em minutos<sup>67</sup>. A temperatura da coluna cromatográfica é outro parâmetro muito importante na implementação da técnica de cromatografia gasosa. De forma que, possibilita o controle na eluição do analito; em geral para uma melhor resolução na detecção é utilizado um gradiente de temperatura nas colunas. Em nosso sistema utilizamos duas colunas distintas: coluna HP-5MS (30 m x 0,25 mm i.d. e 0,25  $\mu\text{m}$ ) e coluna HP - INNOWAX (30 m, 0,250 mm e 0,15  $\mu\text{m}$ ). Ambas operando com os seguintes parâmetros: volume de injeção de 1  $\mu\text{L}$ , razão de divisão 1:10, injetor a 250 °C, a coluna partiu de 40 °C e foi aquecida até 250 °C (taxa de 20 °C  $\text{min}^{-1}$ ). Um esquema dos componentes comuns à técnica de cromatografia gasosa segue representado na Figura 11, nesta também segue os componentes do detector de massa que serão abordados a seguir.



**Figura 11:** Diagrama dos componentes básicos de um cromatógrafo acoplado à espectrografia de massas.

O espectrômetro de massa acrescenta um ganho significativo à implantação da técnica de cromatografia, de maneira a determinar a massa molecular de um composto, bem como, auxilia na investigação da estrutura química do composto. De modo geral, os espectrômetros de massa são constituídos de três partes fundamentais: a fonte de ionização, o analisador, e detector, conforme ilustrado na Figura 12<sup>67</sup>. A amostra eluída pela coluna cromatográfica é ionizada pela fonte de ionização, em nosso caso via ionização por impacto de elétrons (EI) (energia de elétrons 70 eV). Os íons são então acelerados pelas placas de um capacitor, e finalmente defletidos pela ação de um campo magnético perpendicular a trajetória (Figura 11). Assim, os íons são separados, no analisador de massa, de acordo com sua razão carga/massa, e são coletados pelo detector. Para proporcionar um deslocamento mais livre para os íons todo o processo é realizado em alto vácuo ( $10^{-6}$  a  $10^{-10}$  torr). Os espectros coletados são comparados a um banco de dados (biblioteca) com centenas de milhares de espectros, e fragmentos gerados pela ionização de impacto, em nosso caso utilizamos a biblioteca NIST. As amostras foram analisadas em um cromatógrafo do modelo GC Agilent 7890A acoplado a um detector seletivo de massa Agilent 5975C MS, equipamento situado no laboratório de Materiais Avançados do departamento de Química da UFMG.



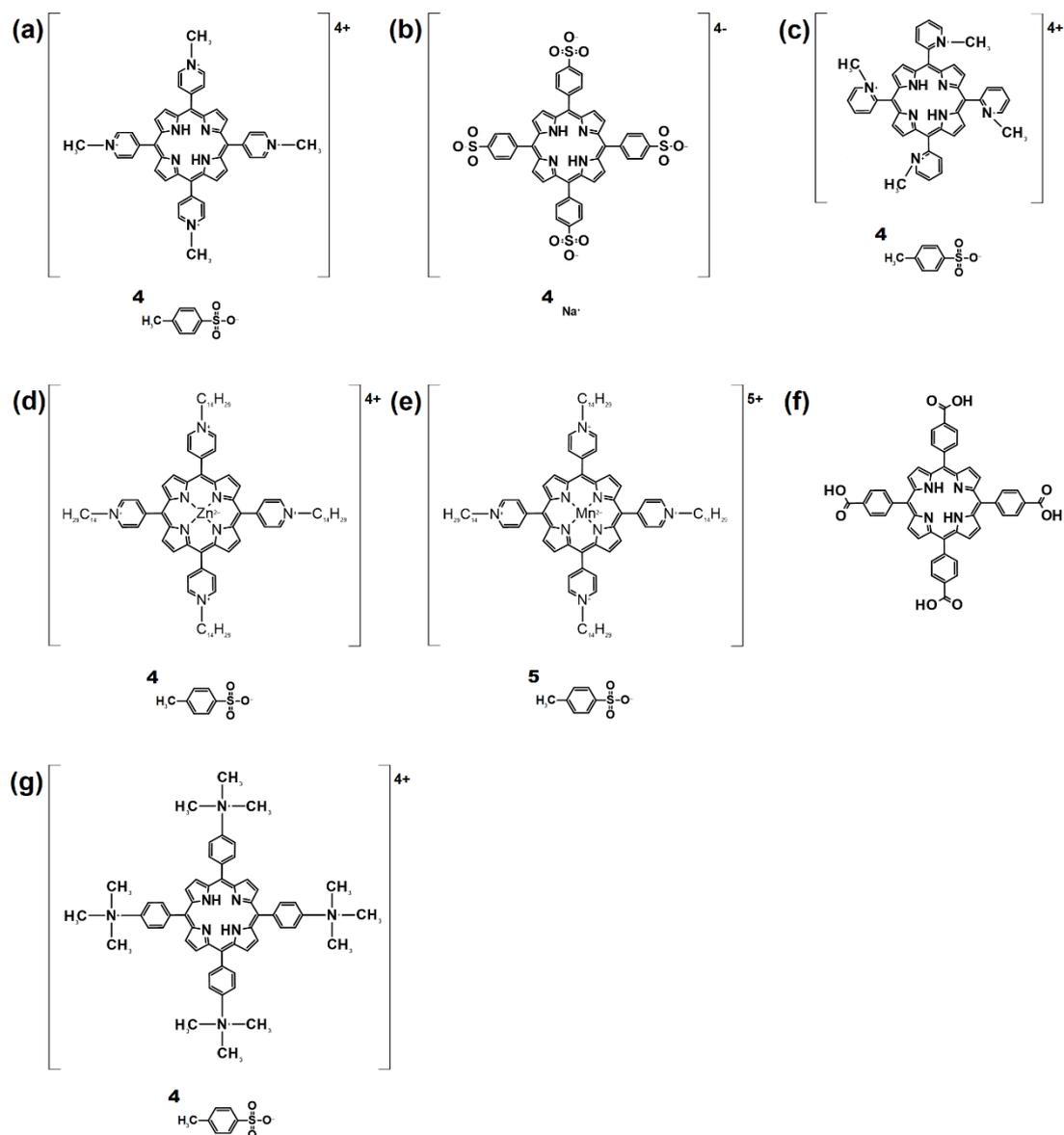
**Figura 12:** Esquema simplificado de um espectrômetro de massa, adaptado<sup>67</sup>.

#### 4. DETECÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETO POR EPR: A INSTABILIDADE DO RADICAL NITROXIL

Neste capítulo iremos apresentar e discutir os resultados inéditos que foram obtidos no estudo do uso de sondas redox na detecção e quantificação de oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ). Este trabalho foi publicado em fevereiro de 2022 na revista de significativa importância científica: *Free Radical Biology & Medicine*<sup>68</sup>. Os resultados aqui expostos impactam de forma direta não só a metodologia de sondas redox, como também a técnica de terapia fotodinâmica. A viabilidade da terapia fotodinâmica se dá pela existência de compostos, denominados de fotossensibilizadores, quando foto-excitados na região espectral específica, para porfirinas a banda Soret e as bandas Q geram de maneira abundante a espécie reativa oxigênio singleto. O uso de sondas redox, da classe das aminas cíclicas, como TEMP, Oxo-TEMP, Hidroxi-TEMP é a maneira mais direta e quantitativa de mensurar a eficiência de um fotossensibilizador relatada até então na literatura. Em nosso trabalho nos concentramos na sonda redox Hidroxi-TEMP (vide Figura 4), sendo ela a que possui maior solubilidade em água dentre as citadas e, também possui um baixo custo de aquisição. Realçada a importância das sondas redox na aferição de oxigênio singleto aliada à técnica de terapia fotodinâmica, partiremos para a descrição de nosso trabalho que contribuiu nesta importante área da ciência. O ímpeto que guiou este trabalho se deu pela necessidade de compreensão de um comportamento anômalo em sistemas com uso de fotossensibilizadores e Hidroxi-TEMP, durante a iluminação na região espectral visível. Nota-se que em poucos minutos de iluminação é observado uma diminuição da intensidade do sinal de EPR, referente ao radical nitroxil produto da oxidação do grupo amina do Hidroxi-TEMP por parte do  $^1\text{O}_2$ <sup>69-72</sup>. Considerando-se a alta estabilidade da molécula do radical nitroxil (TEMPOL)<sup>36,73</sup>, formado após a interação com o  $^1\text{O}_2$ , somente nos resta a hipótese de que estivesse ocorrendo uma degradação do radical nitroxil devido à algum agente extrínseco, presente no meio. Este comportamento (degradação), até então, não foi discutido em trabalhos anteriores na literatura de forma extensa<sup>70,74</sup>. Portanto, se faz necessária a identificação dos agentes responsáveis, e a definição de um mecanismo de degradação.

#### 4.1. Cinética de geração do radical nitroxil

Iniciamos o nosso estudo na investigação dos principais parâmetros que afetam a cinética de geração radicais nitroxil. Sendo a quantidade de  $^1\text{O}_2$  gerada durante a iluminação do sistema dependente da concentração do FS utilizada, mantivemos a concentração inicial de FS constante em todos os casos ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ). De forma a construção de um trabalho que abrangesse sistemas com sondas redox e fotossensibilizadores de uma forma geral utilizamos uma vasta variedade de porfirinas hidrossolúveis. Como representado na Figura 13 utilizamos porfirinas de diferentes extensões moleculares, cargas das espécies iônicas e com variações no macrociclo. A utilização de porfirinas estáveis em soluções aquosas se deu pela sua importância quando aplicadas em sistemas biológicos. As porfirinas foram sintetizadas pelo grupo da professora Dayse Carvalho da Silva Martins do Departamento de Química da UFMG.

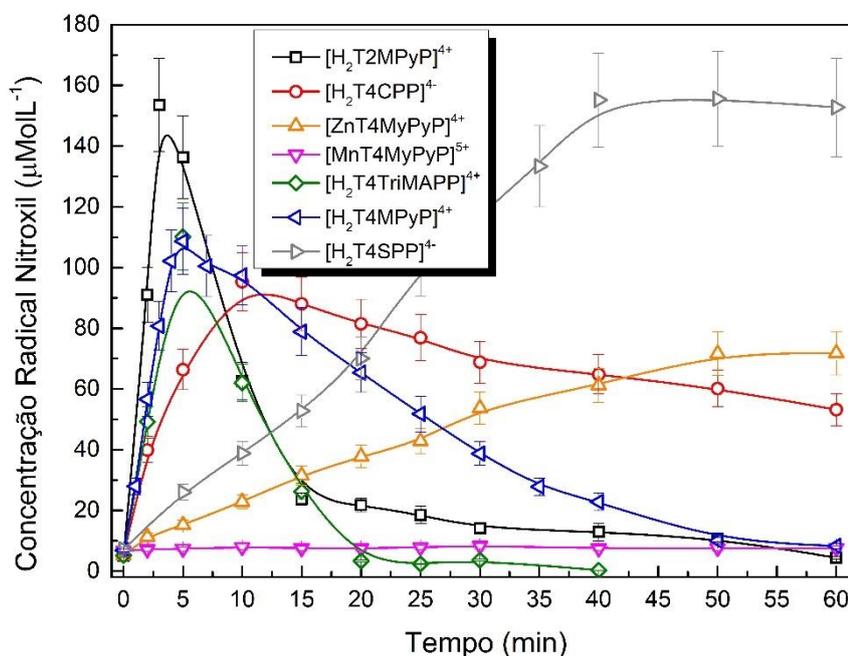


**Figura 13:** Estruturas químicas das porfirinas (a)  $[H_2T4MPyP](OTs)_4$ , (b)  $Na_4[H_2T4SPP]$ , (c)  $[H_2T2MPyP](OTs)_4$ , (d)  $[ZnT4MyPyP](OTs)_4$ , (e)  $[MnT4MyPyP](OTs)_5$ , (f)  $H_2T4CPP$ , and (g)  $[H_2T4TriMAPP](OTs)_4$ .

Descreveremos agora os detalhes da preparação das amostras para os experimentos de EPR, bem como a descrição das análises dos espectros obtidos. As alíquotas foram preparadas seguindo as proporções de 25  $\mu$ L de uma solução aquosa contendo o FS, 50  $\mu$ L de solução de Hidroxi-TEMP e 25  $\mu$ L de água deionizada com adição, ou não, de hidróxido de sódio, quando se alterou a basicidade do meio. A

iluminação das amostras se fez com luz branca a partir de uma lâmpada de LED com radiância integrada de  $16 \text{ mW cm}^{-2}$ .

Iniciamos o primeiro experimento de forma a compreender como diversos parâmetros, tais quais a quantidade de sonda redox, variação do ambiente químico e mudança do FS influenciam a cinética de geração do radical nitroxil. A partir da dupla integração dos espectros de EPR, em relação ao tempo de iluminação, e comparação com a amostra contendo uma concentração conhecida de TEMPOL ( $1 \text{ mmolL}^{-1}$ ), a cinética de geração do radical nitroxil para cada FS foi realizada. Variando apenas o FS utilizado, nota-se a variação na forma de linha da cinética da geração de radical nitroxil, conforme exposto na Figura 14, durante iluminação do sistema (porfirina à  $100 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$  juntamente com o Hidroxi-TEMP à  $1 \text{ molL}^{-1}$ ). A quantidade em excesso de sonda redox em relação a de FS é justificada pela intenção de detectarmos o máximo possível de  $^1\text{O}_2$  produzido durante a iluminação do sistema. Chama-se a atenção para o comportamento anunciado anteriormente, para algumas porfirinas, de diminuição da quantidade de radical nitroxil detectado a partir de um certo tempo de iluminação.

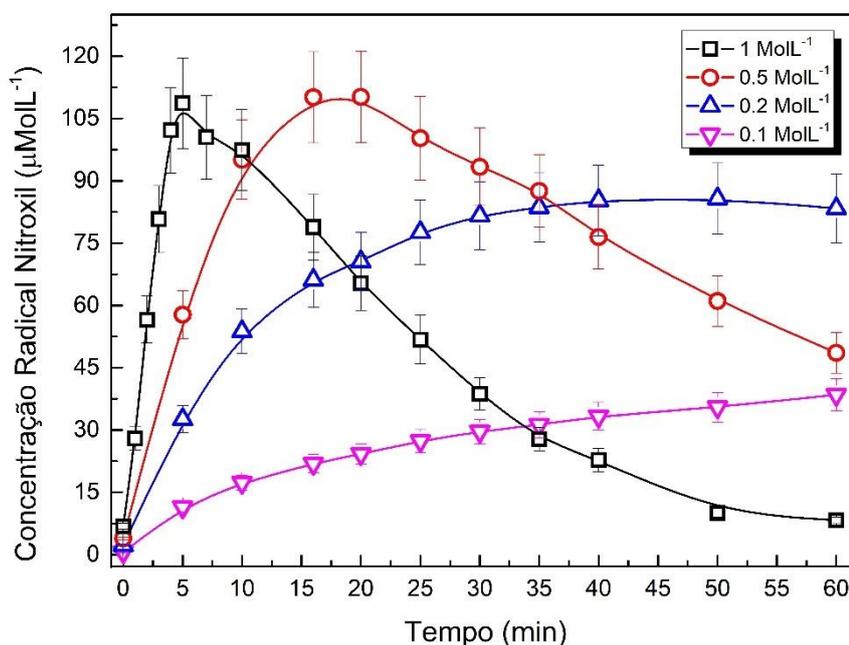


**Figura 14:** Concentração de radical nitroxil, produto da oxidação do hidroxi-TEMP ( $1 \text{ molL}^{-1}$ ) por parte do  $^1\text{O}_2$ , em relação ao tempo de iluminação com luz branca das porfirinas ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T4SPP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T2MPyP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T4CPP}]^{4+}$ ,  $[\text{ZnT4MyPyP}]^{4+}$ ,  $[\text{MnT4MyPyP}]^{5+}$ , e  $[\text{H}_2\text{T4TriMAPP}]^{4+}$ ) à  $100 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$ .

Observando as curvas da cinética de geração de radicais nitroxil, para todas as porfirinas utilizadas, nota-se pelo menos dois regimes distintos. Em um primeiro momento há um crescimento pronunciado na geração radicalar e, em seguida, é observado um regime de saturação na quantidade de radicais nitroxil ou uma diminuição abrupta do sinal de EPR ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T2MPyP}]^{4+}$ , e  $[\text{H}_2\text{T4TriMAPP}]^{4+}$ ). A perda do paramagnetismo do radical nitroxil, radical da classe dos nitróxido, formado na interação com o  $^1\text{O}_2$ , não é comumente encontrado na literatura, uma vez que os radicais nitróxidos pertencem à classe dos radicais mais quimicamente estáveis existentes<sup>36</sup>. Autores como Safar *et al.*<sup>70</sup> obtiveram curvas de cinética radicalar semelhantes, e justificam o aparecimento da degradação do radical nitroxil à grande quantidade de  $^1\text{O}_2$  gerada, uma vez que esta espécie é altamente oxidativa<sup>70</sup>.

Diversos trabalhos utilizam a metodologia de forma a aferir a eficiência de geração  $^1\text{O}_2$  entre FS<sup>75-77</sup>, o mais comum é realizar uma aproximação linear dos primeiros instantes de iluminação<sup>70,78</sup>, baseando na hipótese de que há apenas a geração dos radicais nitroxil. A partir da linearização deste intervalo da cinética é extraída a constante de reação para cada FS, e então é comparada a eficiência de cada amostra. Iremos ao longo do trabalho demonstrar que esta interpretação deve ser reavaliada, uma vez que as cinéticas observadas no uso do Hidroxi-TEMP são dadas pela geração de radicais nitroxil somada da degradação destes, ainda nos instantes iniciais de iluminação.

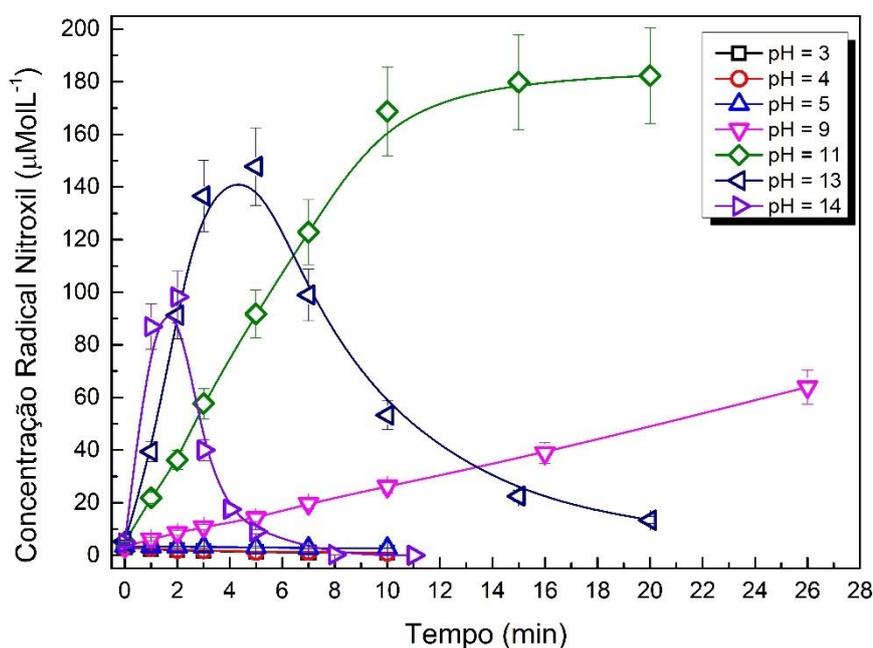
Em seguida, partimos para o estudo do efeito da variação da quantidade de sonda redox no comportamento cinético da reação (Figura 15), a partir de iluminação da porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ). Neste experimento variamos a quantidade de sonda redox utilizada, de 10-100 vez menor que a utilizada no primeiro experimento. Como a quantidade empregada ainda se excedia, e muito, a quantidade de radicais nitroxil formada no primeiro teste (vide Figura 14) não era esperado grande variação na cinética da reação. Na Figura 15 seguem as cinéticas de reação obtida com a variação da quantidade de sonda redox. Em primeira análise nota-se uma diminuição da quantidade de espécies degradadas quando se utiliza o Hidroxi-TEMP em concentrações menores, indicando que a presença da sonda redox leva a um deslocamento no equilíbrio químico na geração de  $^1\text{O}_2$  por parte do FS<sup>70</sup>. Para diminuirmos, então, a contribuição da degradação radicalar buscamos a quantidade ideal de sonda redox a ser utilizada, conforme apresentado nas seções seguintes.



**Figura 15:** Concentração de radical nitroxil, utilizando o Hidroxi-TEMP em diversas concentrações, em relação ao tempo de iluminação com luz branca da solução aquosa contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ).

A influência do pH também foi avaliada neste trabalho, uma vez que a utilização do Hidroxi-TEMP impõe a condição de um ambiente alcalino ( $\text{pH} \sim 13$  para  $1 \text{ molL}^{-1}$  de Hidroxi-TEMP em solução aquosa, aferido por fitas de pH da marca Macherey-Nagel) devido à basicidade da molécula ( $\text{pK}_a = 14.99$ )<sup>61</sup>. Partindo da solução aquosa contendo o Hidroxi-TEMP a uma concentração de  $1 \text{ molL}^{-1}$  juntamente com  $100 \mu\text{molL}^{-1}$  da porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ajustamos o pH, adicionando ácido nítrico ao sistema, para diversos valores, e em seguida, iluminamos todas as amostras. Com os espectros de EPR das amostras em função do tempo de iluminação, construímos a cinética de geração de radical nitroxil em função do pH, como mostrado na Figura 16. Nota-se que a mudança na cinética da reação ocorrida (Figura 16) é similar à presente na variação da quantidade de sonda redox no sistema (Figura 15). Ao ajustarmos o pH, em direção a acidificação, significa que estamos favorecendo a protonação da sonda redox e, conseqüentemente, impedindo o seu funcionamento. Assim sendo, em pH abaixo do limiar de neutro ( $\text{pH} \leq 7$ ) não observaremos a formação do radical nitroxil. Este resultado apesar de evidente,

estabelece algumas restrições para o uso da metodologia. Em suma, é errôneo utilizar a metodologia de sonda redox para aferir a eficiência da geração de oxigênio singleto fora do regime de meio alcalino. Conseqüentemente, a eficiência na geração de  $^1\text{O}_2$  de um FS, aferida no uso de Hidroxi-TEMP, estará restrita ao pH utilizado no sistema em questão, uma vez que o pH influencia a capacidade de gerar  $^1\text{O}_2$  pelo FS e, que dependerá da quantidade da sonda redox utilizada.



**Figura 16:** Concentração de radical nitroxil, utilizando o Hidroxi-TEMP à  $1 \text{ molL}^{-1}$ , em relação ao tempo de iluminação com luz branca da solução aquosa em pH distintos (ajustados após a adição da sonda redox) contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  em ( $100 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ ).

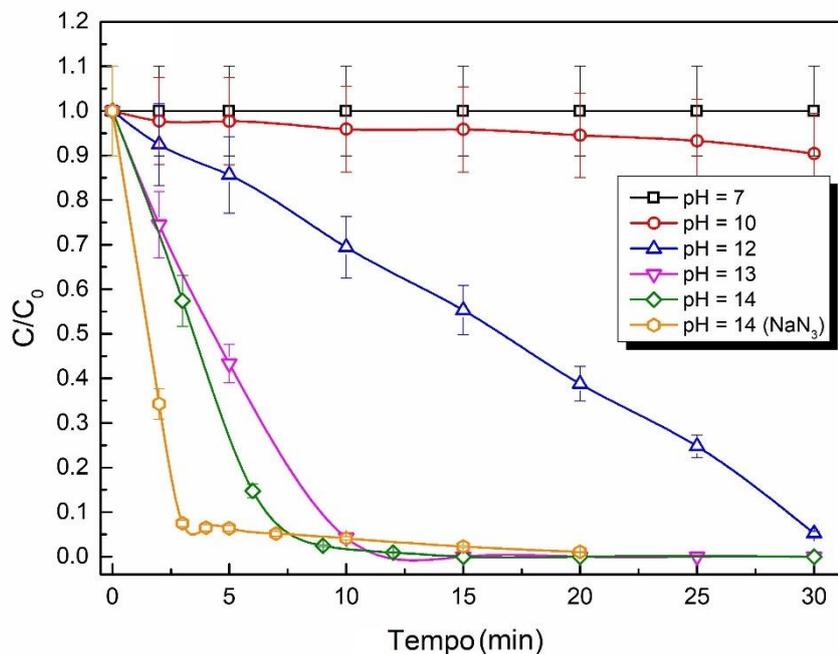
#### 4.2. Investigação da degradação radicalar

Demonstrada a diversidade de fatores que influenciam a cinética de geração do radical nitroxil, partimos para o estudo da degradação do radical nitroxil de forma isolada. Declarado o objetivo dos próximos experimentos, substituímos o hidroxi-TEMP pelo radical livre TEMPOL, lembrando que este é o radical formado após a interação do  $^1\text{O}_2$  com o Hidroxi-TEMP. Começamos pela solução aquosa de TEMPOL à  $200 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$  (quantidade similar a máxima obtida de radical hidroxila, Figura 14) juntamente com a

porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  à  $100 \mu\text{molL}^{-1}$  de forma a simularmos os resultados obtidos com o Hidroxi-TEMP. Surpreendentemente, durante a iluminação do sistema, o sinal de EPR do radical se manteve sem alterações (pontos em preto, Figura 17). Este resultado descarta o protagonismo isolado do oxigênio singleto no processo de degradação do radical nitroxil.

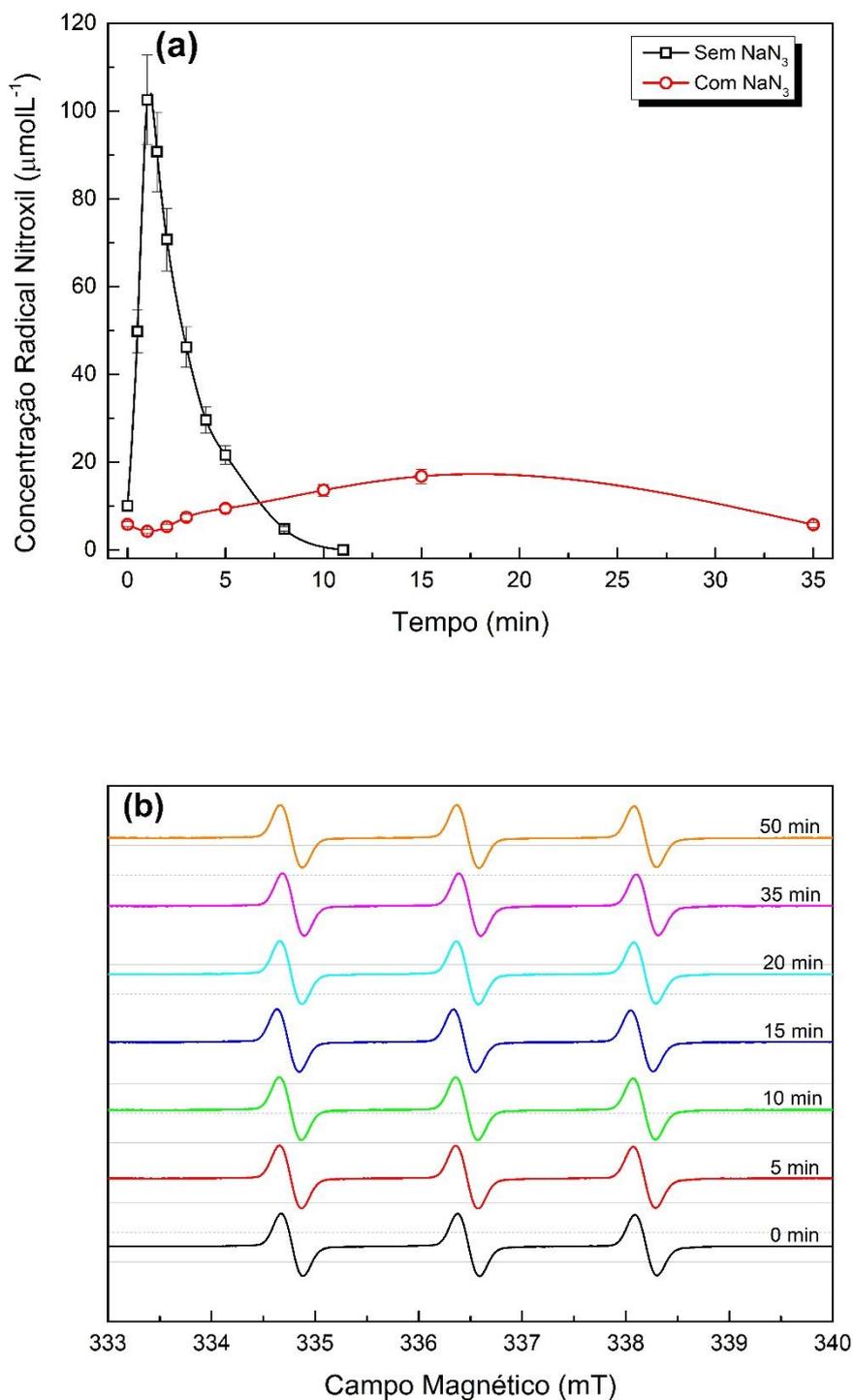
De forma a observarmos a degradação do radical TEMPOL (nitroxil), como aferido com o uso da sonda redox, seguimos para a mudança do ambiente químico. Assim sendo, acrescentamos NaOH ao sistema de forma a ajustarmos o pH para alcalino (pH  $\sim 14$ ). Iniciando a iluminação do sistema percebe-se a diminuição do sinal de EPR do radical (pontos em verde, Figura 17). Repetimos o teste sem a presença do fotossensibilizador de forma a atestarmos se a degradação radicalar seria causada pela hidroxila, proveniente do meio alcalino, e novamente não foi observada alteração no sinal de EPR. Vale destacar que os testes de degradação do TEMPOL relatados agora se estendem para todas as porfirinas, entretanto, dado à similaridade no comportamento, iremos expor neste trabalho apenas os resultados obtidos utilizando a porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$ .

Aferida a importância do ambiente químico na degradação radicalar continuamos a investigar a influência do pH no processo. Ao se diminuir o pH do meio, adicionando ácido nítrico ao sistema, aferimos que a degradação do radical se tornou cada vez mais lenta (Figura 17). Para o sistema em pH  $\approx 10$  somente 10% da quantidade inicial radicalar foi degradada durante a iluminação do sistema por 30 minutos. Ao utilizarmos o supressor de oxigênio singleto, o  $\text{NaN}_3$ , (Figura 17, pontos em alaranjado) no sistema com o pH  $\approx 14$  era esperado que não houvesse a degradação radicalar. Entretanto, o observado foi uma pequena antecipação da degradação do TEMPOL (curva alaranjada Figura 17). Este resultado descarta de vez o protagonismo do  $^1\text{O}_2$  no processo direto da degradação do radical nitroxil.



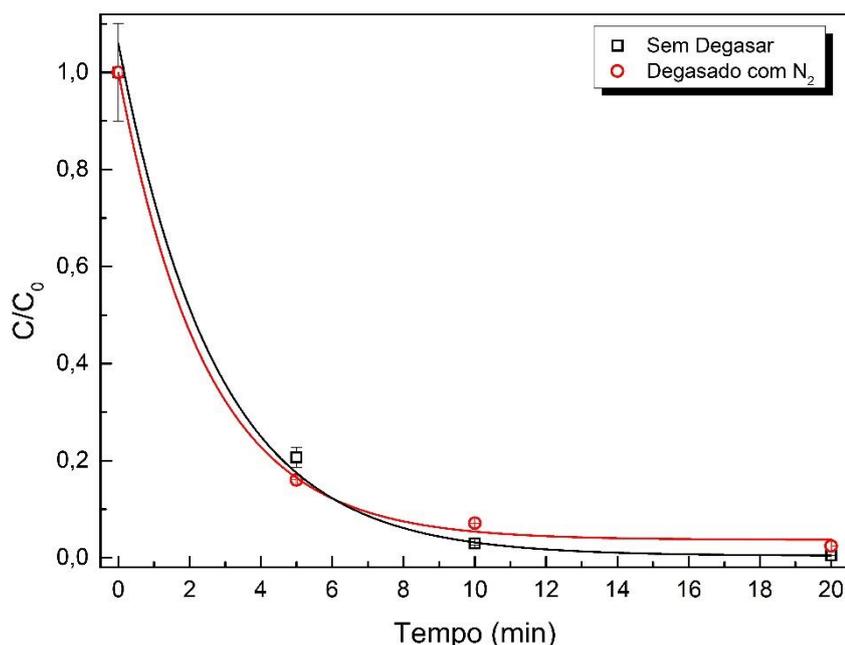
**Figura 17:** Concentração relativa de TEMPOL, via dupla integração do espectro de EPR, durante iluminação com luz branca da solução aquosa em diversos valores pH contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  à  $100 \mu\text{molL}^{-1}$ .

Para demonstrar a eficiência na captura de  $^1\text{O}_2$  pelo  $\text{NaN}_3$ , repetimos o experimento utilizando a sonda redox Hidroxi-TEMP em substituição ao TEMPOL. Neste caso, como esperado, não há formação de radical nitroxil ao iluminar a solução de porfirina (Figura 18a). É importante lembrar que a adição de  $\text{NaN}_3$  à solução contendo o radical TEMPOL não é suficiente para sua degradação (Figura 18b).



**Figura 18:** (a) Concentração de radicais nitroxil, Hidroxi-TEMP (1  $\text{molL}^{-1}$ ) oxidado por  $^1\text{O}_2$ , em relação ao tempo de iluminação da luz branca de  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  a 100  $\mu\text{molL}^{-1}$  com e sem adição de  $\text{NaN}_3$  (3,2 mg). (b) Espectros EPR TEMPOL (200  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), em meio alcalino (pH = 14), adicionado de 3,2 mg de  $\text{NaN}_3$  em diferentes intervalos de tempo de iluminação.

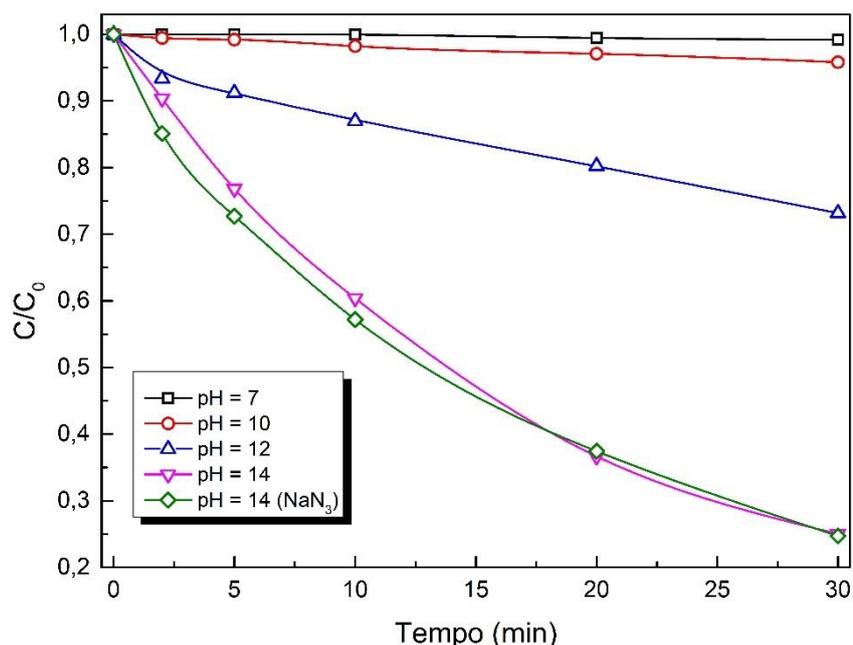
Outro teste que corroborou com os resultados anteriores foi o uso de uma solução aquosa de TEMPOL anaeróbica (sonicada por 10 min, injeção constante de  $N_2$  durante 30 min) em pH  $\sim 14$  contendo  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  porfirina a  $300 \mu\text{molL}^{-1}$ . A iluminação com luz branca dessa solução resultou na degradação completa do radical TEMPOL em 20 min (Figura 19), semelhante à encontrada para a solução aquosa com a adição de  $\text{NaN}_3$ .



**Figura 19:** Concentração relativa de TEMPOL a  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  durante a iluminação com luz branca da solução alcalina (pH  $\cong 14$ ) contendo  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  a  $300 \mu\text{molL}^{-1}$  em condições anaeróbicas (sonicação 10 min, injeção constante de  $N_2$  durante 30 min).

Com a finalidade de encontrarmos o principal responsável pela degradação radicalar, nos atentamos para a estabilidade da porfirina ( $[H_2T4MPyP]^{4+}$ ) em função do pH da solução durante iluminação do sistema. Realizamos os testes de estabilidade a partir dos espectros de absorção ótica (UV-Vis) da porfirina em função do tempo de iluminação (sem a presença do TEMPOL), vide Figura 20. Observamos que a fotodegradação da porfirina é mais acentuada quando o meio é mais alcalino. Concordando com o resultado encontrado para a degradação radicalar, mostrando-se uma correlação entre estabilidade da porfirina e degradação do radical nitroxil. Para definirmos a quantidade degradada de porfirina, aferimos a variação na intensidade da

banda de Soret e das bandas Q da porfirina. Vale ressaltar que a diminuição na intensidade da banda de Soret, durante iluminação, nos leva a interpretar que há uma ruptura no macrociclo porfirínico, visto que o aparecimento da banda de Soret está associado a transição entre os estados dos elétrons dos orbitais  $\pi$  para  $\pi^*$  entre os dois orbitais HOMO e os dois LUMO presentes no macrociclo.

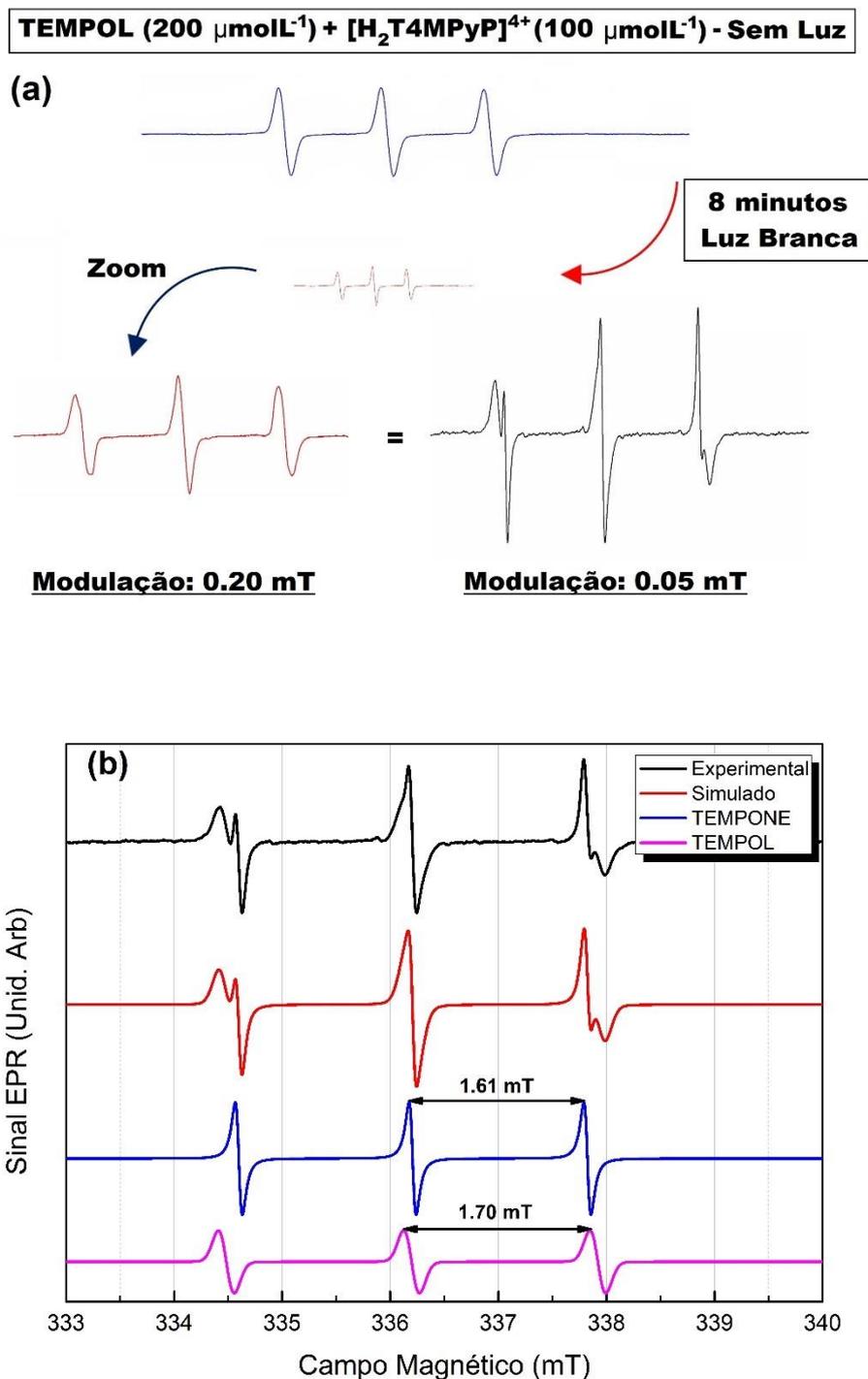


**Figura 20:** Intensidade relativa da banda de absorção (banda de Soret) da  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ) em solução aquosa em função do pH, e contendo  $\text{NaN}_3$ , em relação ao tempo de iluminação com luz branca.

A degradação da porfirina em meio alcalino mesmo utilizando o supressor de oxigênio singlete (curva em verde, Figura 20), a azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ), não descarta a responsabilidade do  $^1\text{O}_2$  no processo. A interação do oxigênio molecular com a porfirina em seu estado excitado, formando assim o oxigênio singlete, se dá a partir de uma troca de energia não radiativa. Nossa hipótese é que a proximidade do  $^1\text{O}_2$  com a molécula de porfirina, após a sua formação via cruzamento intersistema, propicie a interação destrutiva entre as partes antes mesmo da captura da azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ).

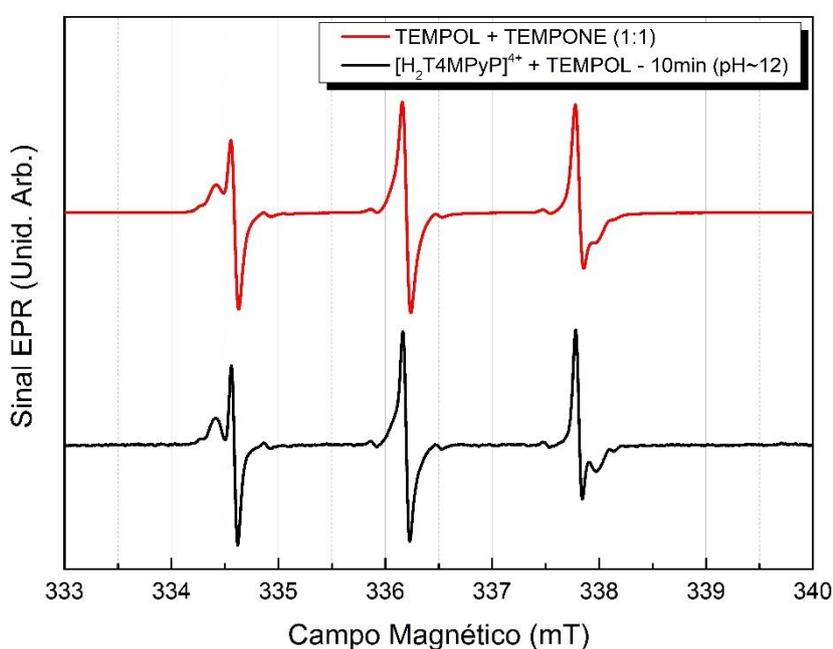
Partindo agora para a investigação do mecanismo de degradação do radical TEMPOL, olharemos de maneira mais detalhada para a forma de linha do espectro de EPR. Ao longo

da iluminação da porfirina, em meio alcalino, é evidente o aparecimento de uma assimetria no padrão de intensidade entre as três transições de spin do espectro de EPR (Figura 21a). Uma variação na modulação do campo magnético nos revela que a mudança na forma de linha é na verdade causada por uma sobreposição de dois sinais de EPR distintos. A partir de uma simulação do espectro de EPR com o auxílio do software Matlab®, mais especificamente a sub-rotina Easyspin<sup>79</sup>, extraímos os parâmetros do Hamiltoniano de spin dos sinais radicalares envolvidos (Figura 21b). O valor da constante hiperfina de interação entre o spin eletrônico ( $S = 1/2$ ) do elétron desemparelhado, centrado no átomo de oxigênio interagindo com o spin nuclear proveniente do átomo de nitrogênio ( $I = 1$ ),  $a_N = 1,61$  mT, juntamente com os valores de largura de linha,  $0,07(2)$  mT, credenciam que o novo sinal radicalar seria proveniente do radical TEMPONE (4-Oxo-2,2,6,6-tetrametilpiperidinoxí)<sup>80</sup>. Já o sinal com três transições de spin identificado pela constante hiperfina  $a_N = 1,70$  mT é referente ao radical livre TEMPOL. A presença do TEMPONE durante a iluminação do sistema revela um estado intermediário do radical até a sua completa degradação. A diferença estrutural do TEMPONE em relação ao TEMPOL é a ausência de um hidrogênio em ligação com o oxigênio fora do anel piperidina. Este resultado expõe o caráter oxidativo dos possíveis subprodutos do fotossensibilizador.



**Figura 21:** (a) Variação da forma de linha do sinal de EPR do TEMPOL durante iluminação com luz branca da solução alcalina ( $\text{pH} \cong 14$ ) contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  à  $100 \mu\text{molL}^{-1}$ , evidenciado pela diminuição na amplitude da modulação do campo estático (0,05 mT). (b) Espectro experimental de EPR do sistema TEMPOL+  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  em  $\text{pH} \cong 14$  após 8 minutos de iluminação com luz branca. Simulação dos espectros dos radicais TEMPONE (magenta) e TEMPONE (azul) em solução. A sobreposição dos espectros de EPR dos radicais segue em vermelho.

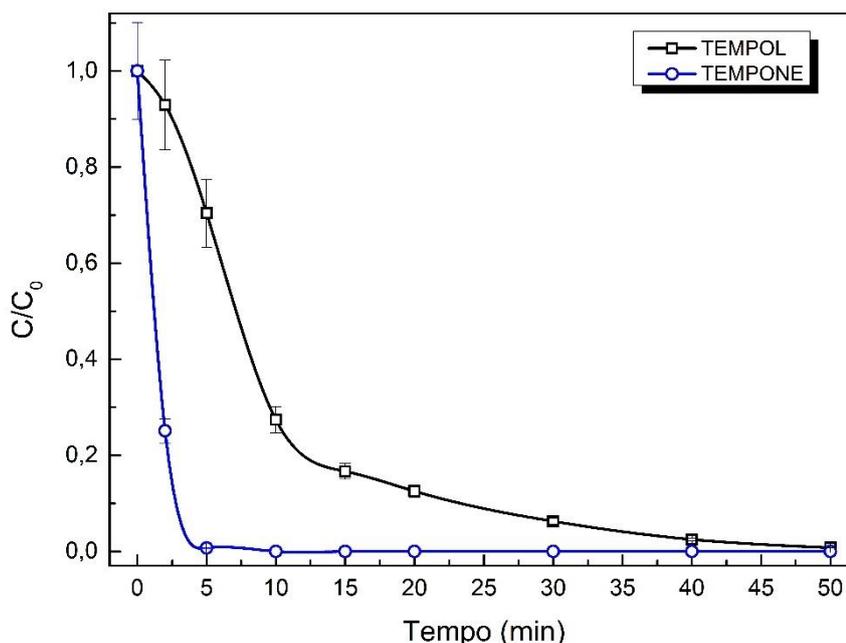
A formação de TEMPONE a partir da desprotonação do TEMPOL já foi observado em outro sistema como o relatado por Nakamura *et al.*<sup>78</sup>. A semelhança na forma de linha do espectro de EPR resultante após 10 minutos de iluminação no sistema contendo a porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ), utilizando a varredura de 0,05 mT na modulação do campo magnético estático, é evidenciada ao aferirmos o sinal de EPR da solução contendo TEMPOL ( $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ ) e TEMPONE ( $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ ) em solução aquosa, vide Figura 22.



**Figura 22:** Espectro experimental de EPR do sistema TEMPOL +  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  em  $\text{pH} \cong 14$  (linha em preto) após 10 minutos de iluminação com luz branca, amplitude da modulação do campo magnético estático (0,05 mT), juntamente com o espectro de EPR da solução aquosa contendo TEMPOL ( $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ ) e TEMPONE ( $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ ), linha em vermelho.

Tendo como base que o TEMPONE é um intermediário na degradação radicalar, conforme evidenciado pelo experimento EPR (Figura 21b), a degradação deste radical levaria menos tempo, do que com TEMPOL, durante iluminação da porfirina em meio alcalino. Ao realizarmos o experimento de iluminação do sistema com as amostras contendo TEMPOL/TEMPONE, ambos a  $2 \text{ mmolL}^{-1}$ , juntamente com a porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  a  $100 \mu\text{molL}^{-1}$ , nota-se a degradação antecipada para o radical

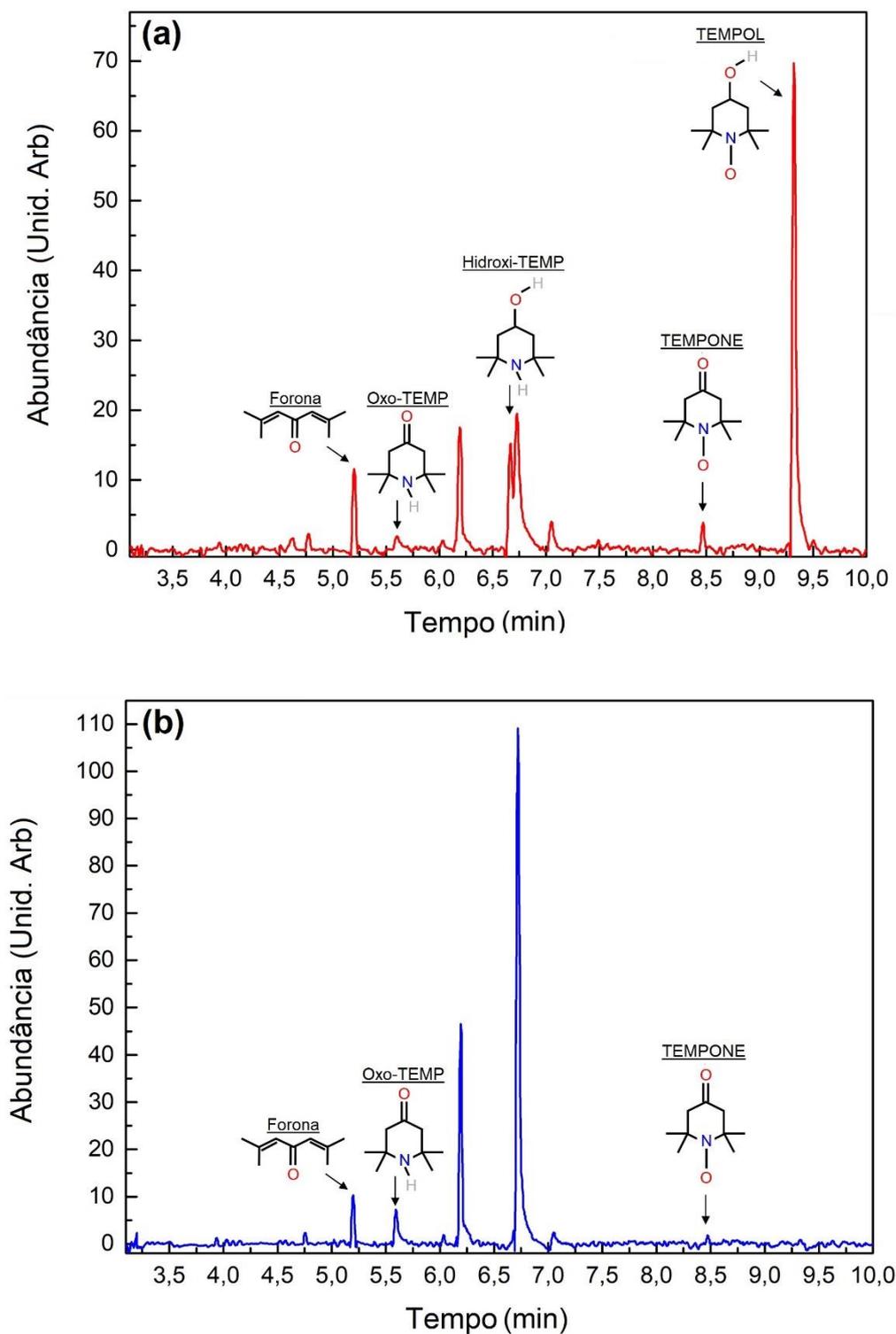
TEMPONE, vide Figura 23. Em menos de cinco minutos de iluminação todo o radical TEMPONE foi degradado, enquanto TEMPOL demorou cerca de 50 minutos, o que nos leva a concluir que o processo mais custoso na degradação do radicalar seria a desprotonação do radical TEMPOL.



**Figura 23:** Concentração relativa de TEMPOL/TEMPONE inicialmente à  $2 \text{ mmolL}^{-1}$  durante a iluminação com luz branca de solução alcalina ( $\text{pH} \cong 14$ ) contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  a  $100 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ .

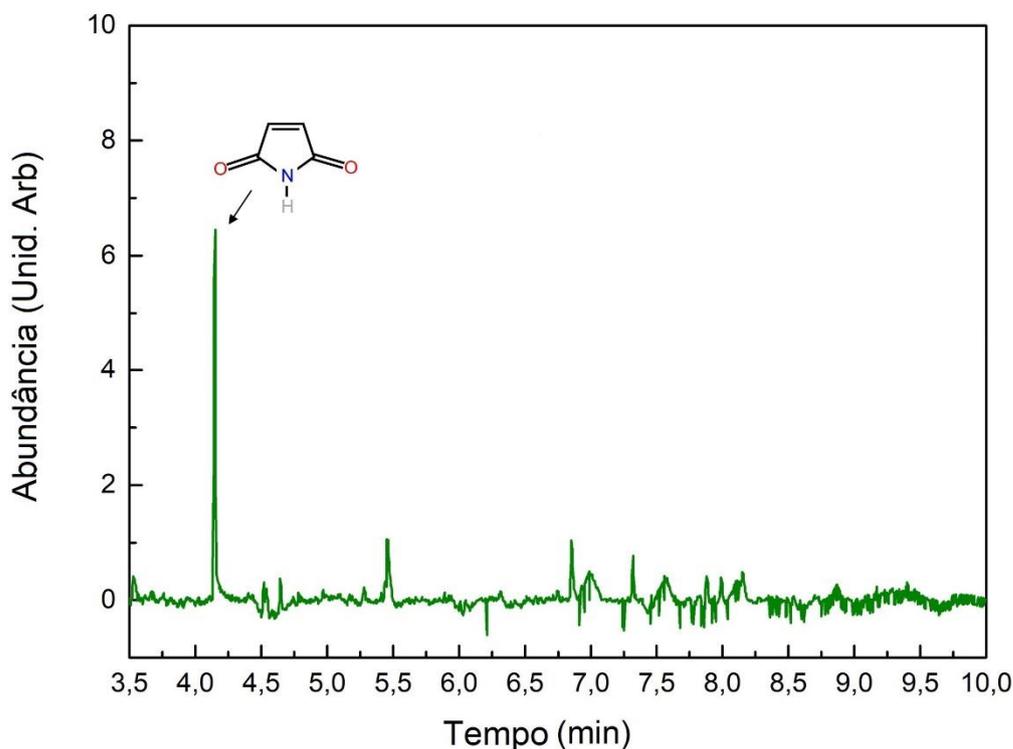
Como já antecipado no parágrafo anterior, a identificação dos subprodutos da degradação do TEMPOL e da porfirina ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$ ) foi de fundamental importância para a conclusão do mecanismo. Seguindo este objetivo, utilizou-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. Os cromatogramas foram obtidos após iluminação por 40 minutos da solução alcalina ( $\text{pH} = 14$ ) contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ ) junto com TEMPOL/TEMPONE ( $2,5 \text{ mmolL}^{-1}$ ). As Figuras 24a-c e 25 mostram as estruturas moleculares observadas no cromatograma e comparadas com dados da biblioteca de software do equipamento com semelhanças superiores a 95%. O radical TEMPONE foi encontrado (tempo de aquisição de 8,45 min) quando o radical TEMPOL foi inicialmente utilizado, conforme previsto pelos espectros EPR (Figura 24a). Várias espécies diamagnéticas também foram identificadas no

cromatograma (Figura 24a-b). Quando o radical TEMPOL é utilizado para degradação, encontramos os produtos Hidroxi-TEMP (tempo de aquisição de 6,64 min), Oxo-TEMP (tempo de aquisição de 5,60 min) e Forona (2,6-Dimetil-2,5-heptadien-4-um,  $C_9H_{14}O$ , 138.207 Da, tempo de aquisição de 5,20 min). Analisando a estrutura molecular da Forona, podemos prever que ela seria o produto final de degradação, pois, dentre os produtos diamagnéticos é a única que não compartilha o anel piperidina em sua estrutura. Hipoteticamente, se os produtos finais de degradação fossem as moléculas correspondentes às sondas redox (Hidroxi-TEMP e Oxo-TEMP), teríamos um processo cíclico na quantidade de radical e sonda redox em um experimento de iluminação com o fotossensibilizador, não condizente com cinética de formação radical nitroxil de spin observada (Figura 14). As diferenças verificadas no cromatograma para amostra utilizando o TEMPONE foram a ausência do radical TEMPOL e de Hidroxi-TEMP, confirmando os postulados propostos (Figura 24b). Outros compostos foram detectados em ambos os sistemas, o primeiro de natureza desconhecida com um tempo de aquisição de 6,19 min, com uma relação carga-massa de 171, a mesma do radical TEMPONE. No entanto, carece de quaisquer outras informações, limitando-nos a apresentar outras conclusões sobre o mesmo. O segundo composto é a acetamida, derivada da oxidação do solvente utilizado para realização da caracterização. Os produtos diamagnéticos observados indicam um processo de degradação radicalar, inverso ao realizado pela produção industrial do radical TEMPOL<sup>81-85</sup>.



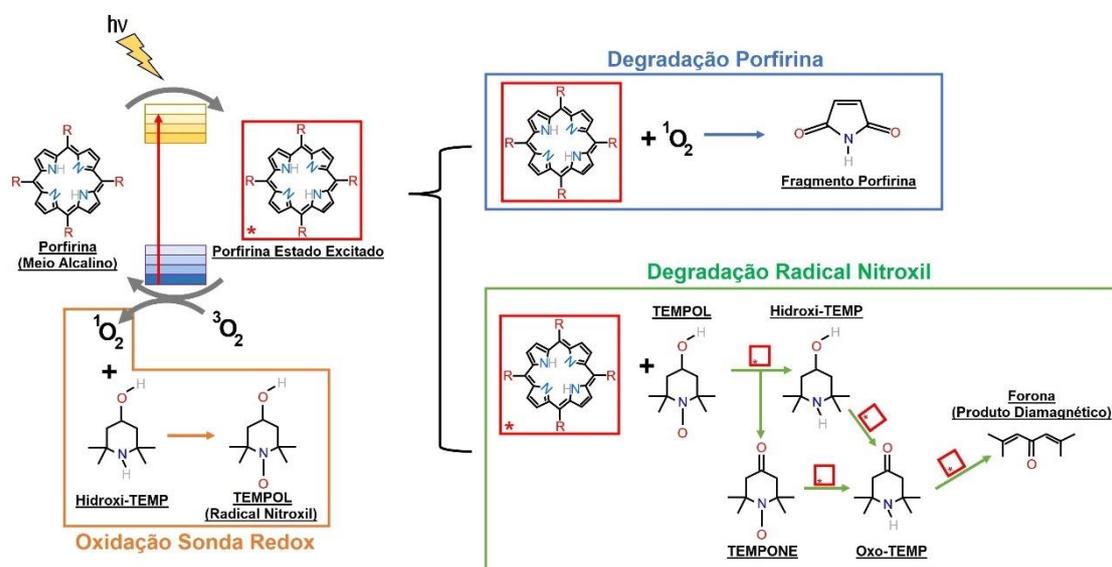
**Figura 24:** (a) Cromatograma após 40 minutos de iluminação com luz branca de  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  (100  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) junto com TEMPOL (2,5  $\text{mmolL}^{-1}$ ) em solução aquosa alcalina (pH  $\approx 14$ ). (b) Cromatograma após 40 minutos de iluminação com luz branca de  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  (100  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) junto com TEMPONE (2,5  $\text{mmolL}^{-1}$ ) em solução aquosa alcalina (pH  $\approx 14$ ).

Modificando a preparação do sistema, mantendo apenas a porfirina ( $[H_2T4MPyP]^{4+}$ ) sob iluminação em  $pH = 14$ , e aumentando a proporção de acetonitrila em relação à quantidade de água, observamos o produto de degradação da porfirina (tempo de aquisição de 4,15 min) durante a iluminação do sistema (Figura 25). A molécula é um produto da clivagem do macrociclo da porfirina, vale destacar a presença de dois átomos de oxigênio nas extremidades da molécula. Um possível modelo que explica a quebra da molécula de porfirina como tal seria a entrada do oxigênio no estado singleto no macrociclo, auxiliada pela mudança de carga e estado eletrônico causada pelo meio alcalino, causando sua ruptura e integração dos átomos de oxigênio, à molécula. Um modelo semelhante ocorre em sondas de oxigênio singleto, para medição da metodologia de rendimento quântico de oxigênio singleto, como a sonda DBPF (1,3-Difenil-2-benzofurano)<sup>86</sup>, na qual o oxigênio singleto é incorporado à estrutura, causando uma alteração na fluorescência da molécula.



**Figura 25:** Cromatograma após 40 minutos de iluminação com luz branca de  $[H_2T4MPyP]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ) em solução aquosa/acetonitrila (1:10) alcalina ( $pH \cong 14$ ).

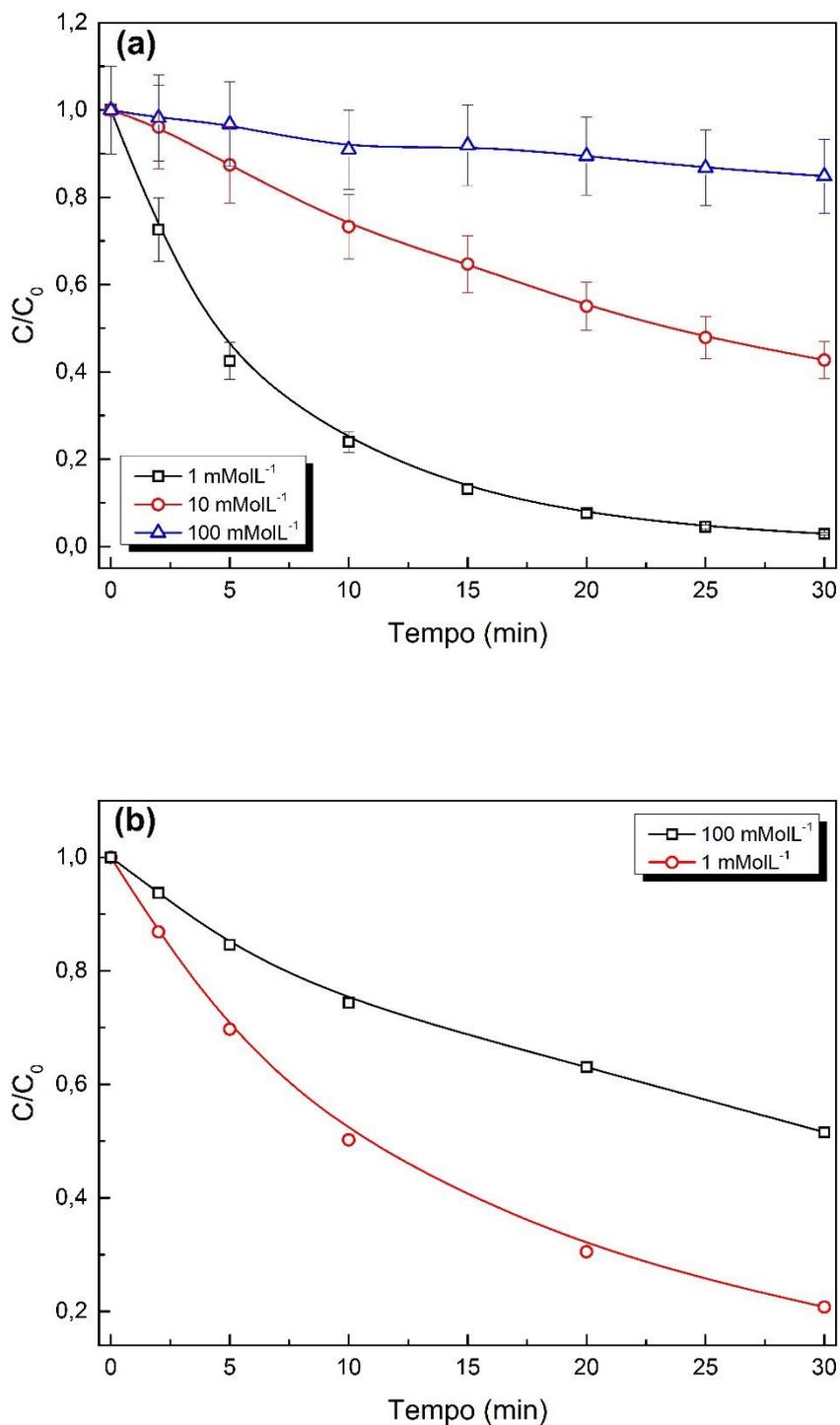
Desvendado os subprodutos formados durante o processo da iluminação da porfirina juntamente com a presença da sonda redox, que em seguida torna-se o radical livre TEMPOL, constrói-se o mecanismo da degradação dos mesmos conforme sintetizado na Figura 26. Pelo mecanismo percebe-se o caráter anti-oxidante da porfirina, em meio alcalino, no seu estado excitado (triplete), bem como o papel de agente de sacrifício do radical TEMPOL durante a iluminação do sistema e a especificidade do oxigênio singlete na quebra do macrociclo porfirínico.



**Figura 26:** Representação do mecanismo de degradação molecular do TEMPOL e do fotossensibilizador durante iluminação com luz branca em meio alcalino.

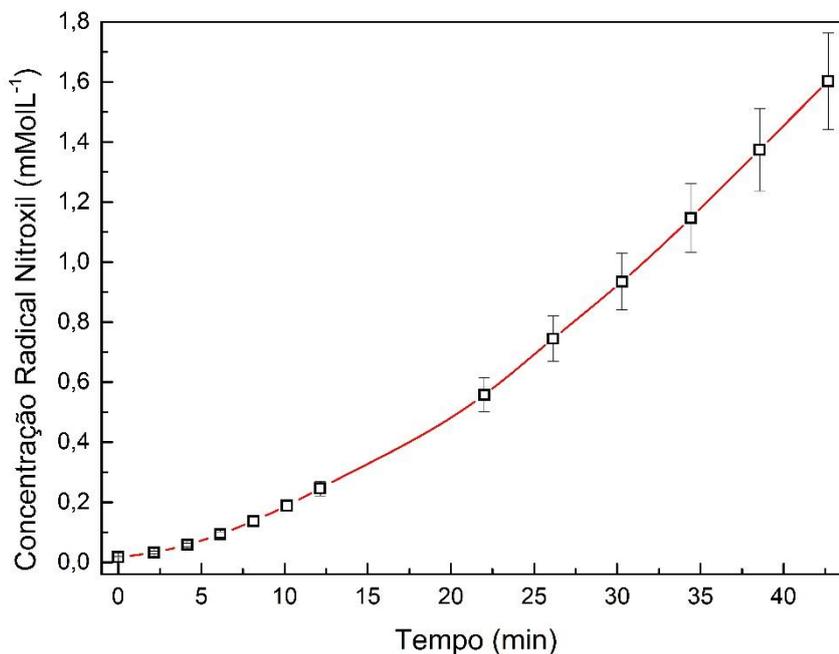
O experimento que corroborou a hipótese de que o TEMPOL atuaria como agente de sacrifício, conforme exposto no modelo da Figura 26, veio com o uso do radical livre TEMPOL em excesso ( $1 - 100 \text{ mmolL}^{-1}$ ) juntamente com uma quantidade fixa de moléculas de porfirina  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ ). O objetivo inicial deste experimento foi observar o limite superior de degradação radical durante a iluminação do sistema (Figura 27a). Inesperadamente, mesmo para uma concentração de  $100 \text{ mmolL}^{-1}$  de TEMPOL, após 30 minutos de iluminação, 10% da concentração inicial foi degradada. Com a utilização de uma concentração de  $10 \text{ mmolL}^{-1}$  de TEMPOL, no mesmo intervalo de tempo, obtivemos uma degradação de cerca de  $5 \text{ mmolL}^{-1}$  (50%). Este resultado indica que a degradação radicalar não segue um comportamento linear e, talvez mais importante, cada molécula de porfirina tem o potencial de degradar muito mais do que apenas uma

molécula de TEMPOL. Durante a realização dos experimentos, discutidos acima, foram seguidos os espectros de absorção óptica (UV-Vis) durante a iluminação do sistema (Figuras 27b). Em conclusão, temos uma maior inércia na degradação da porfirina no sistema com maior quantidade de radicais, confirmando a interação da porfirina no estado excitado, em meio alcalino, com o radical TEMPOL causando a perda de seu paramagnetismo, conforme resumido na Figura 26.



**Figura 27:** (a) Concentração relativa de TEMPOL durante iluminação com luz branca da solução alcalina ( $\text{pH} = 14$ ) contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  à  $100 \mu\text{molL}^{-1}$  com diferentes concentrações iniciais de TEMPOL. (b) Intensidade relativa da banda de absorção (banda Soret) da solução aquosa contendo  $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$  ( $100 \mu\text{molL}^{-1}$ ) e TEMPOL com valores distintos de concentrações, em relação ao tempo de iluminação do sistema.

Segundo o mecanismo aqui apresentado o responsável pela degradação radicalar do TEMPOL (radical nitroxil) seria a própria porfirina. De maneira a atestar, mais uma vez, este modelo realizamos o experimento descrito a seguir. A partir da adição de 8  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (30%) à 460  $\mu\text{L}$  da solução aquosa de hidroxil-TEMP à 100  $\text{mmolL}^{-1}$  realizamos subsequentes medidas de EPR em intervalos de tempo pré-definidos. Conforme já relatado na literatura, devido à adição de peróxido de hidrogênio, em meio alcalino, haverá uma dismutação do peróxido mediada por ele mesmo e, conseqüentemente, temos a formação do radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) e radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2$ )<sup>87,88</sup>. Devido ao decaimento do radical superóxido em oxigênio singlete<sup>89</sup>, ou se o Hidroxil-TEMP também pode gerar o radical nitroxil após interação com o radical superóxido, conforme defendido por alguns autores<sup>90,91</sup>, a metodologia de sonda redox usando Hidroxil-TEMP é adequada. Ao observar a cinética de geração do radical nitroxil, percebe-se que teremos apenas o regime de crescimento do sinal EPR (Figura 28), ou seja, não há degradação da espécie radicalar. Deve-se notar também que, em alguns casos, a quantidade absoluta de radicais nitroxil detectada excede em algumas ordens de magnitude a observada com o uso de porfirinas. Cinética semelhante ocorre em sistemas onde temos a troca de portadores de carga entre o semicondutor (após excitação óptica) e o oxigênio molecular (mecanismo tipo I), uma vez que temos a formação do radical superóxido, conforme relatado pelos autores Silva *et al.*<sup>92</sup>. Assim, dada a ausência da degradação do radical nitroxil, temos outra evidência que corrobora o modelo defendido até o momento de que a degradação radical ocorre devido à interação entre o fotossensibilizador, no estado excitado, e o grupo nitróxido em meio básico.

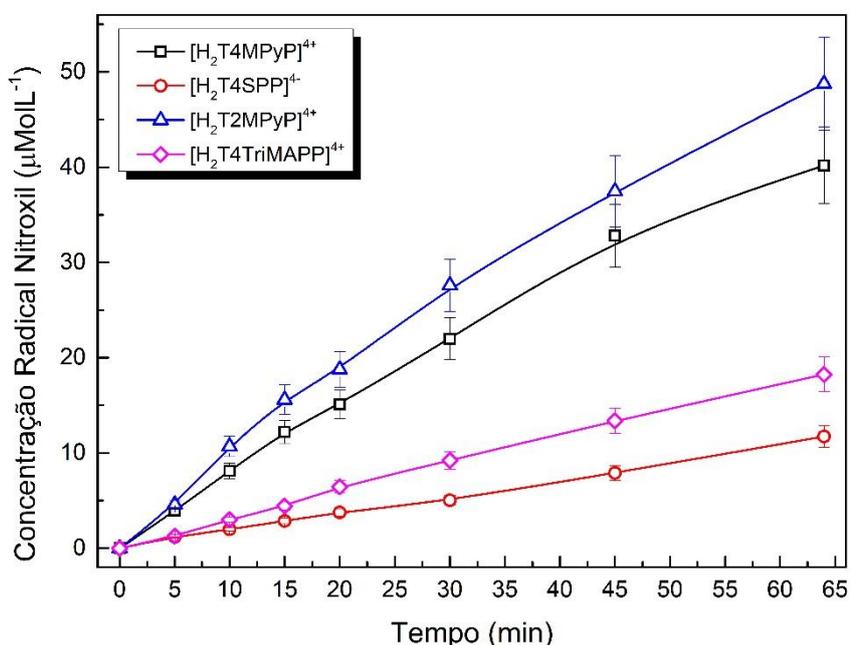


**Figura 28:** Evolução temporal radicalar após a adição de 8  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) a solução aquosa contendo a sonda redox Hidroxi-TEMP ( $100 \text{ mmolL}^{-1}$ ).

### 4.3. Protocolo

Um estudo mais aprofundado da metodologia do uso de sondas redox foi o que orientou o nosso trabalho, uma vez que a sua aplicação tem como finalidade atestar a eficiência de fotossensibilizadores em aplicações como a PDT. A influência dos parâmetros como a concentração de sonda redox e de moléculas do fotossensibilizador, bem como o efeito do pH no sistema, aliados ao aprendizado acerca da degradação radicalar, por parte da porfirina, nos possibilitou a criação de um protocolo que permite a observação de uma cinética de geração de radical nitroxil eficiente e com o mínimo de influência da degradação radicalar. Ao utilizarmos uma solução composta por Hidroxi-TEMP à uma concentração de  $10 \text{ mmolL}^{-1}$  (pH  $\sim 10$ ) juntamente com o fotossensibilizador à  $100 \mu\text{molL}^{-1}$  obtemos uma cinética de geração de radicalar com comportamentos similares para todas as amostras (Figura 29). Portanto, uma vez que as cinéticas de geração radicalar são descritas pela mesma equação é possível comparar a eficiência de geração de  $^1\text{O}_2$  entre as amostras de forma mais fidedigna. Em concentrações

menores de Hidroxi-TEMP teremos espectros de EPR muito ruidosos, apesar de que teremos um meio mais próximo ao neutro, impossibilitando uma análise confiável da quantidade radicalar formada. Vale lembrar que os parâmetros apresentados podem se flexibilizar também devido a potência luminosa utilizada em cada sistema. Entretanto, vale ressaltar que demonstrada a interação destrutiva do fotossensibilizador com o radical nitroxil, o ideal é que tenhamos um meio menos alcalino possível sem uma grande perda da qualidade do sinal de EPR resultante durante iluminação do sistema.



**Figura 29:** Concentração de radical nitroxil, oxidação do Hidroxi-TEMP ( $10 \text{ mmolL}^{-1}$ ) pelo  $^1\text{O}_2$ , em relação ao tempo de iluminação com luz branca dos fotossensibilizadores ( $[\text{H}_2\text{T4MPyP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T4SPP}]^{4+}$ ,  $[\text{H}_2\text{T2MPyP}]^{4+}$ , e  $[\text{H}_2\text{T4TriMAPP}]^{4+}$ ) à  $100 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$ .

## 5. ARMADILHAS DE SPIN/SONDAS REDOX EM APLICAÇÕES

Neste capítulo iremos divulgar os resultados alcançados nos trabalhos realizados em colaboração, durante o processo de doutoramento<sup>1,69,92,-101</sup>, em que a metodologia de armadilhas de spin e, sondas redox, auxiliou na compreensão dos mecanismos estudados. Em Apêndice segue a primeira página de todas as publicações<sup>11</sup>, dos trabalhos realizados durante o doutoramento, no formato das revistas em que foram divulgados de forma online. Estes trabalhos estão compreendidos em diversas áreas como a terapia fotodinâmica, catálise heterogênea e foto-catálise. Serão descritos os detalhes experimentais acerca de toda metodologia utilizada em cada trabalho de forma a evidenciar a importância das armadilhas de spin/sonda redox na elaboração dos estudos. Dividimos o capítulo em três subseções de acordo com as aplicações dos materiais estudados via a metodologia de armadilhas de spin e sondas redox. Iniciaremos com a subseção que descreve a importância da metodologia em auxílio à técnica de terapia fotodinâmica na caracterização de ROS durante o processo de iluminação de fotossensibilizadores. Selecionamos dois trabalhos<sup>69,93</sup> com características em comum, de modo a demonstrar a relevância do uso de armadilhas de spin e, sondas redox, na caracterização dos fotossensibilizadores.

### 5.1. Armadilha de spin/Sonda redox aliada à Terapia Fotodinâmica (PDT)

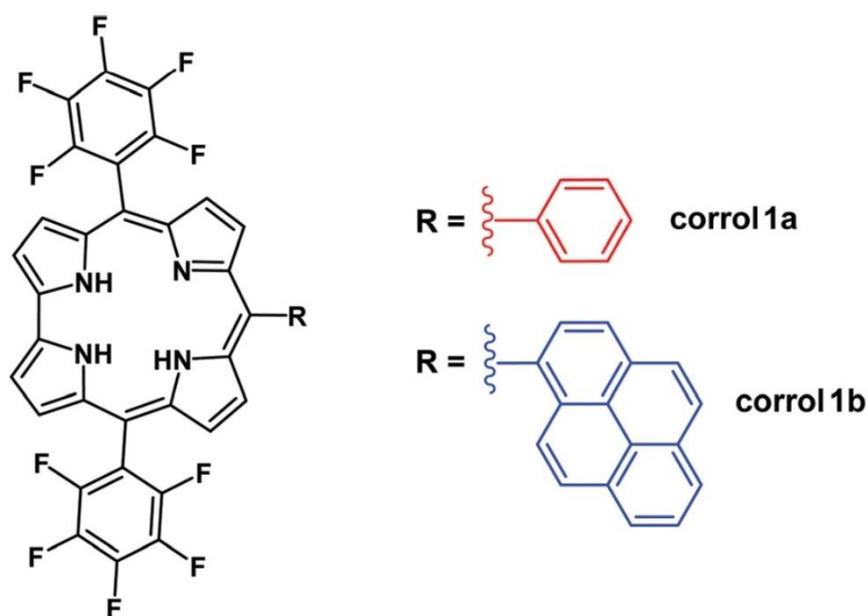
Na subseção a seguir serão expostos os resultados obtidos em dois trabalhos selecionados em que foi utilizada a metodologia de armadilha de spin e sondas redox na caracterização dos fotossensibilizadores a serem empregados na PDT. Os dois projetos selecionados foram realizados em colaboração com o professor Bernardo Almeida Iglesias do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria<sup>12</sup>. O primeiro projeto aqui relatado foi baseado no estudo de propriedades ópticas e foto-físicas dos fotossensibilizadores trans-A<sub>2</sub>B-corroles possuindo unidades pirenil ligadas na posição meso-10 ou substituintes fenil (conforme a Figura 30)<sup>93</sup>. A estrutura molecular dos corroles é bastante similar à das porfirinas, com quatro moléculas de pirrol. No

---

<sup>11</sup> Formatação segundo as normas das revistas nas quais foram publicados os trabalhos.

<sup>12</sup> Foram realizados diversos projetos em colaborações com o mesmo grupo do professor Bernardo Almeida Iglesias, havendo quatro publicações em revistas científicas, com um total de 17 citações até o presente momento de escrita desta tese.

entanto, a ausência do meso-carbono na estrutura do macrociclo causa uma ligação direta pirrol-pirrol e altera algumas propriedades conformacionais e eletrônicas<sup>102</sup>. Em relação às propriedades foto-físicas, os espectros UV-visível dos corroles apresentam transições eletrônicas bastante semelhantes aos dos análogos de porfirina, com presença da banda de Soret e das bandas Q. As propriedades fotofísicas/fotobiológicas das moléculas de corroles possuem um destaque científico considerável, uma vez que elas podem ser aplicadas como, por exemplo, estruturas promissoras no desenvolvimento de agentes para imagem e terapia simultâneas do câncer, além de eficácia significativamente melhorada no bloqueio da progressão tumoral e metástase in vivo<sup>103-105</sup>. Este importante trabalho foi publicado em julho de 2020 na revista *Physical Chemistry Chemical Physics*.

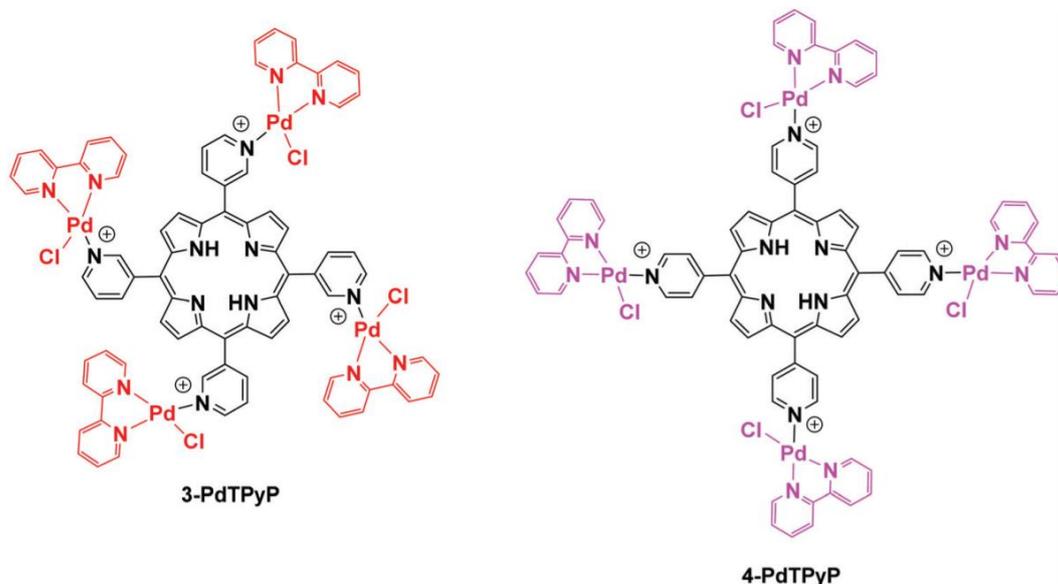


**Figura 30:** Estruturas dos meso-trans-A<sub>2</sub>B-corroles **1a** e **1b**.

No segundo projeto, o propósito foi a caracterização das propriedades físico-químicas, desta vez utilizando novos fotossensibilizadores à base de porfirinas tetracatiônicas isoméricas contendo unidades periféricas [Pd(bpy)Cl]<sup>+</sup> ligadas à substituintes piridil<sup>68</sup> (veja Figura 31). A escolha do ligante derivado do íon Pd(II) se dá pela capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio e pela sua atividade microbiana<sup>106</sup>. Surpreendentemente, poucos estudos relataram a atividade fotodinâmica de porfirinas com substituintes ligados periféricamente da família do paládio<sup>107</sup>. Um resultado interessante obtido foi o estudo da interação e foto-oxidação da albumina de soro bovino

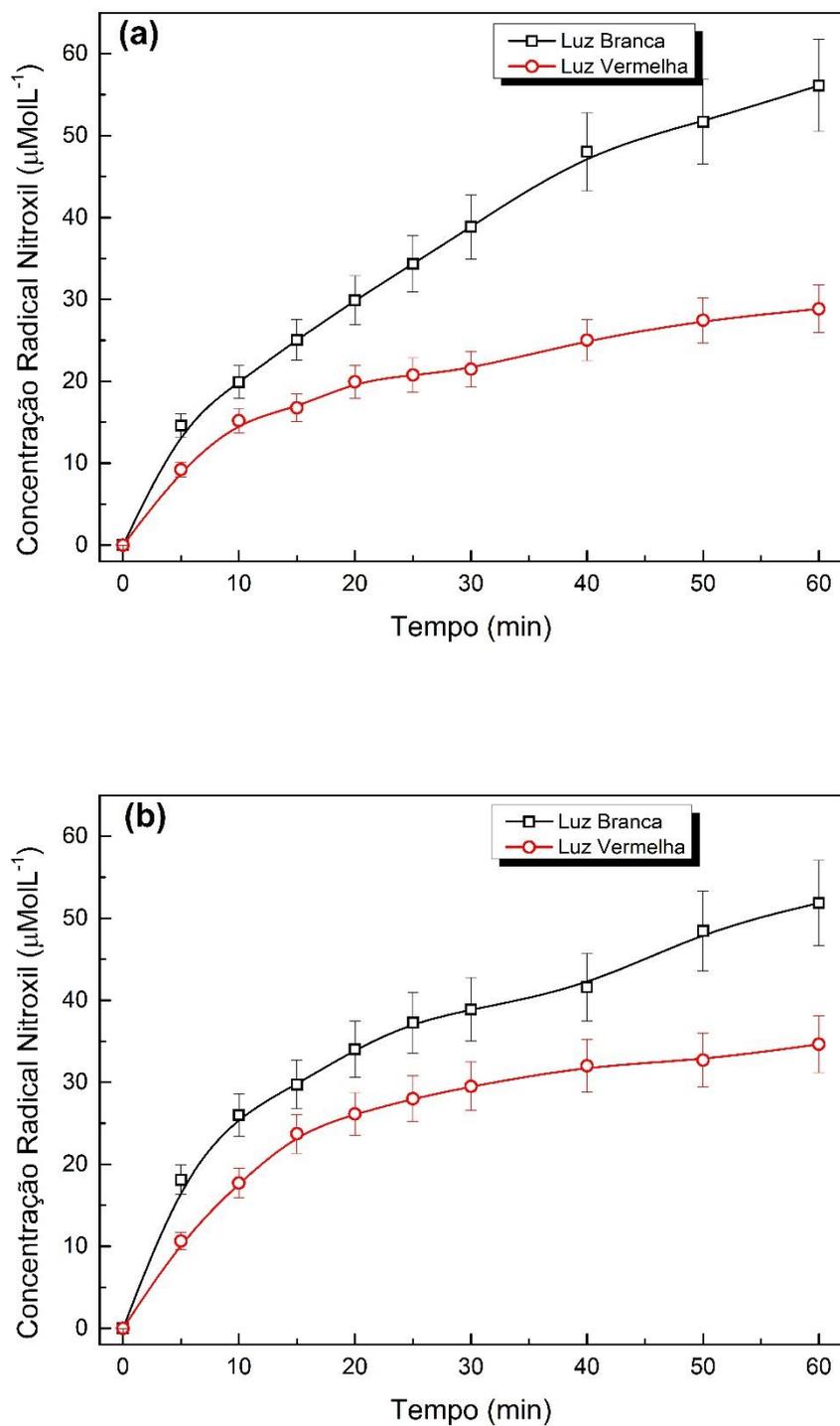
(BSA) em detalhes com auxílio da metodologia de armadilha de spin/sonda redox<sup>69</sup>. Este trabalho foi publicado em maio de 2020 na revista *Dalton Transactions*.

Em ambos os projetos o emprego da metodologia de sonda redox chegou a vereditos na eficiência de geração de  $^1\text{O}_2$  entre os fotossensibilizadores, bem como na contribuição da geração em diferentes faixas do espectro da luz visível, e identificação de outras ROS formadas indiretamente pelo  $^1\text{O}_2$  ou via mecanismo tipo I.



**Figura 31:** Representação estrutural das porfirinas meso-tetra-piridil adicionadas das bases  $[\text{Pd}(\text{bpy})\text{Cl}]^+$  na posição meta (3-PdTPyP) ou na posição para (4-PdTPyP).

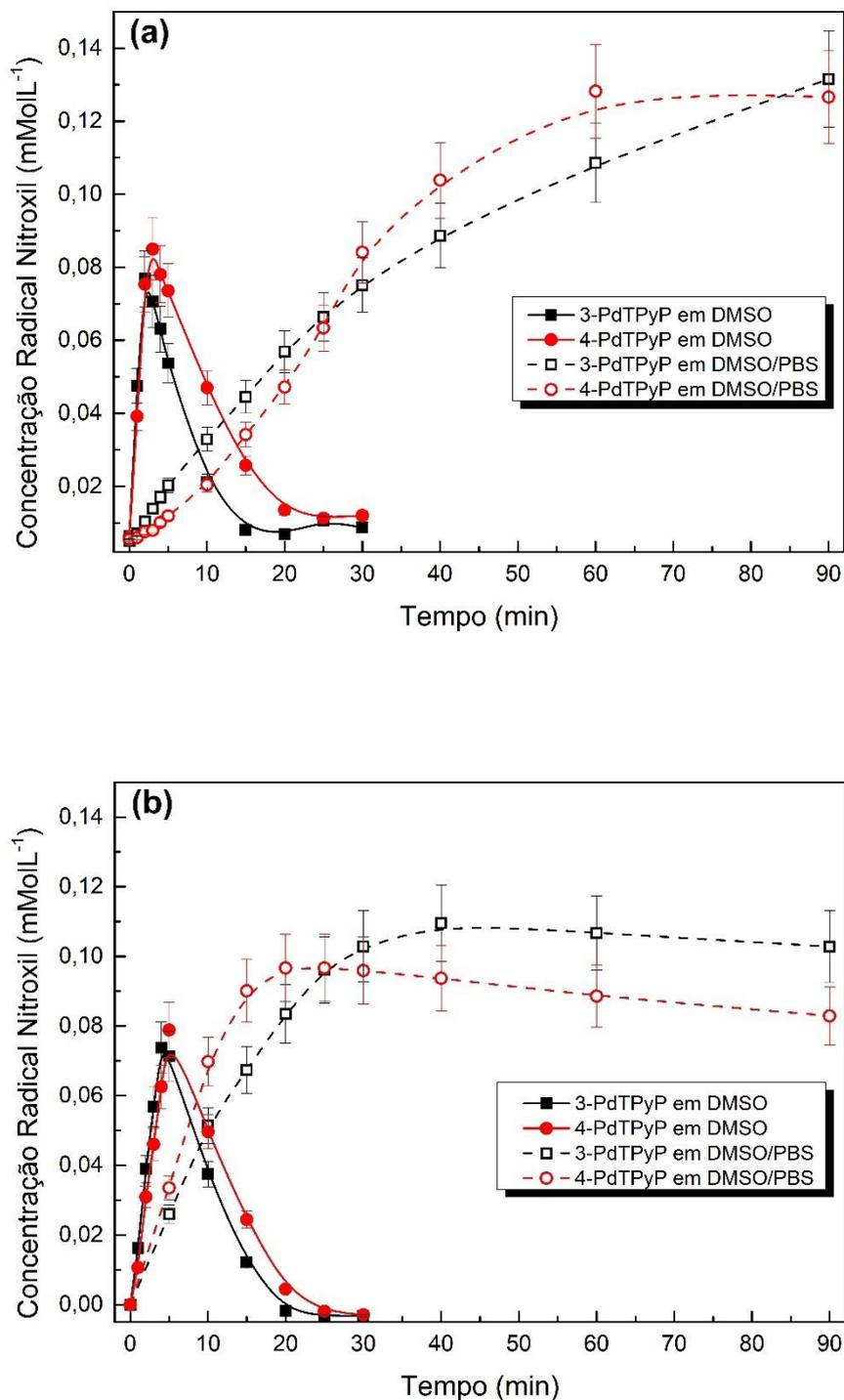
Para avaliar a cinética de geração de  $^1\text{O}_2$ , e consequentemente aferir o fotossensibilizador mais eficiente, utilizamos a sonda redox Hidroxi-TEMP ( $1 \text{ molL}^{-1}$ ). As alíquotas para realização dos experimentos de EPR foram preparadas da seguinte maneira: (i)  $25 \mu\text{L}$  de solução contendo a sonda redox em DMSO, (ii)  $12,5 \mu\text{L}$  de solução de DMSO contendo o Corrol à  $57 \mu\text{molL}^{-1}$  e (iii)  $12,5 \mu\text{L}$  de DMSO. Em alguns casos supressores foram adicionados ao sistema. O sistema foi iluminado a partir de uma lâmpada de LED branco com radiância integrada medida para os diferentes tipos de iluminação sob condições experimentais para luz branca e vermelha de  $16 \text{ mWcm}^{-2}$  e  $4,0 \text{ mWcm}^{-2}$ , respectivamente, conforme calibrado por um medidor de potência Coherent Lasermate/D. De forma a avaliarmos a eficiência das amostras quando iluminados somente na região espectral das bandas Q. A partir de dupla integração do espectro de EPR a concentração e a cinética de geração de radicais nitroxil foi elaborada em relação ao tempo de iluminação dos fotossensibilizadores (Figura 32).



**Figura 32:** Concentração de radical nitroxil em função do tempo de iluminação em DMSO sob (a) iluminação em luz branca (símbolos pretos) e luz vermelha (símbolos vermelhos) do corrol  $\text{PhC}_6\text{F}_5\text{cor}$  (1a) e (b) do corrol  $\text{PyrC}_6\text{F}_5\text{cor}$  (1b).

Ao analisarmos as Figuras 32 a e b nota-se que os corroles possuem comportamentos semelhantes com uma pequena vantagem na eficiência da amostra PhC<sub>6</sub>F<sub>5</sub>cor (**1a**) quando iluminada em todo espectro visível. Já para a iluminação no vermelho o resultado se inverte, explicado pela maior densidade de estado do PyrC<sub>6</sub>F<sub>5</sub>cor (**1b**) na faixa de 630 nm, visto pelo espectro de absorção óptica (UV-Vis)<sup>93</sup>. Para todos os casos, as condições de iluminação de luz vermelha, embora com muito menos intensidade de potência quando comparadas à irradiação de luz branca (25%), têm quase o mesmo efeito. Chegamos à conclusão de que a geração de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> é predominantemente atribuída à interação entre os elétrons excitados na faixa de energia das bandas Q e o oxigênio molecular, mesmo com uma densidade de estados para a banda de Soret muito superior às demais.

Para o segundo projeto também foram preparadas alíquotas no ambiente químico DMSO/PBS na proporção de uma parte de DMSO para quatro partes de PBS. De modo a estudar a viabilidade dos fotossensibilizadores em ambientes próximos aos realizados em aplicações biológicas. As cinéticas de geração dos radicais nitroxil a partir do uso da sonda redox Hidroxi-TEMP (1 molL<sup>-1</sup>), durante a iluminação das amostras 3-PdTPyP e 4PdTPyP, seguem apresentados na Figura 33.



**Figura 33:** Concentração de radical nitroxil em função do tempo de iluminação em DMSO (símbolos sólidos) ou DMSO/PBS (1:4) (símbolos abertos) soluções sob **(a)** luz branca para ambas as porfirinas 3-PdTPyP (símbolos azuis) e 4-PdTPyP (símbolos vermelhos) e **(b)** luz vermelha para ambas as porfirinas 3-PdTPyP (símbolos azuis) e 4-PdTPyP (símbolos vermelhos).

Para todas as amostras é notável, pelas Figuras 32 e 33, que as curvas nos primeiros instantes de iluminação são descritas por uma cinética de primeira ordem e que as porfirinas têm eficiências semelhantes, sob iluminação branca e vermelha, a partir das curvas de quantificação do radical nitroxil dado pela oxidação do grupo amina do Hidroxi-TEMP pelo  $^1\text{O}_2$  em soluções DMSO e DMSO/PBS (1:4). Quando dissolvidas em DMSO, as porfirinas 3-PdTPyP e 4-PdTPyP apresentam comportamento semelhante, com geração de  $^1\text{O}_2$  muito pronunciada até os primeiros três minutos de iluminação. Observe que a diminuição da intensidade do sinal EPR para tempos de iluminação mais longos pode ser explicada pela degradação dos radicais nitroxil no sistema, conforme visto na seção 4.1. Comparamos a eficiência entre os fotossensibilizadores (porfirinas 3-PdTPyP e 4-PdTPyP) a partir de uma avaliação da constante de reação para a geração de  $^1\text{O}_2$  por uma aproximação linear dos primeiros instantes de iluminação, entre a quantidade de radical nitroxil instantânea ( $\text{RN}(t)$ ) e o tempo ( $t$ ). Pela equação da reta extraímos a constante de reação ( $k$ ) para cada porfirina como exibido na tabela 1.

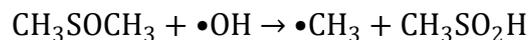
**Tabela 1:** Constantes de reação  $k$  para a geração de  $^1\text{O}_2$  sob iluminação, com luz branca e luz vermelha, das porfirinas 3-PdTPyP e 4-PdTPyP em soluções de DMSO e DMSO/PBS (1:4).

Porfirina	$K(\text{min}^{-1})$	$K(\text{min}^{-1})$	$K(\text{min}^{-1})$	$K(\text{min}^{-1})$
	DMSO/luz vermelha	DMSO/luz branca	DMSO/PBS/luz vermelha	DMSO/PBS/luz branca
<b>3-PdTPyP</b>	0,0188(1)	0,0353(2)	0,0046(4)	0,0031(2)
<b>4-PdTPyP</b>	0,0161(4)	0,0273(5)	0,0061(7)	0,0015(3)

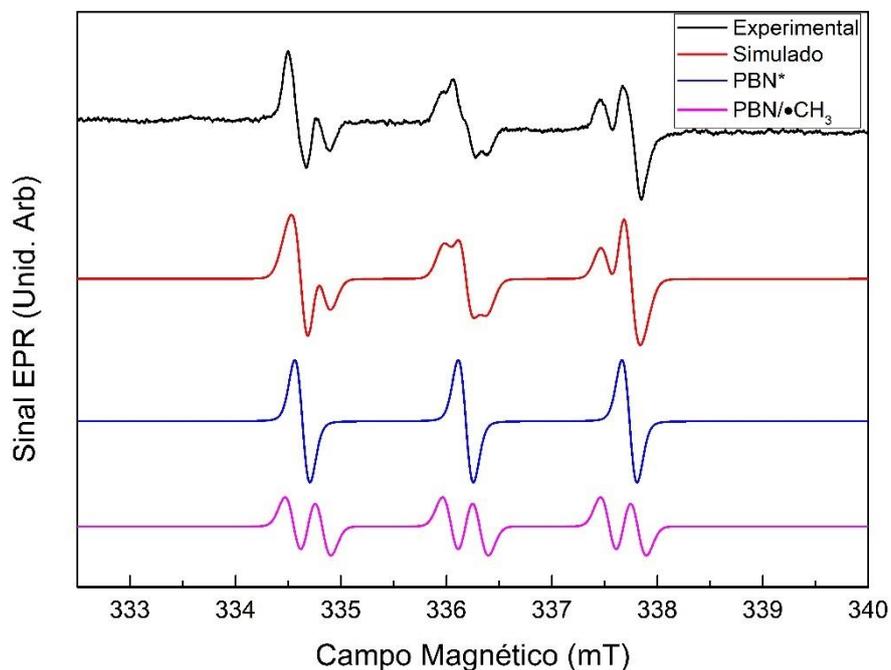
As constantes de reação da Tabela 1 e os gráficos das Figuras 33a e b exibem que as porfirinas apresentam eficiências semelhantes quando em DMSO e também no sistema em DMSO/PBS (1:4). Ainda assim a constante de reação apresenta uma pequena vantagem para a porfirina 3-PdTPyP. Maior agregação de porfirinas em soluções de DMSO/PBS pode explicar as eficiências mais baixas quando comparadas com o sistema somente em DMSO.

A armadilha de spin PBN foi utilizada nos dois projetos para identificarmos as demais ROS formadas após iluminação dos fotossensibilizadores. Em todos os casos os espectros resultantes, após a iluminação do sistema, apresentaram a sobreposição de dois

adutos de spin (Figura 34). O sinal de EPR associado ao tripleto é semelhante aos encontrados nos demais projetos e é referente a degradação da armadilha de spin PBN (PBN\*). O aduto de spin caracterizado pelas seis transições de spin possui uma interação hiperfina entre o elétron desemparelhado ( $S = 1/2$ ), centrado no átomo de oxigênio, e o spin nuclear ( $I = 1$ ) proveniente do isótopo de  $^{14}\text{N}$  ( $a_{\text{N}} = 1,40$  mT) somada à interação com o spin nuclear do átomo de H ( $a_{\text{H}} = 0,22$  mT)<sup>108</sup>. Este segundo aduto após a simulação do espectro foi identificado pela captura do radical metil ( $\bullet\text{CH}_3$ ), formado pela interação entre o radical  $\bullet\text{OH}$  e molécula de DMSO. A reação de formação deste radical segue demonstrada na reação 1<sup>109</sup>. Portanto, o uso do PBN demonstrou a geração do radical hidroxila por parte dos fotossensibilizadores durante iluminação. De forma a elucidar o mecanismo de geração do radical repetimos os experimentos utilizando o supressor de oxigênio singlete, a azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ) à uma concentração de  $0,2$  molL<sup>-1</sup> diluída em DMSO. Nessas condições, nenhum aduto de spin foi observado durante a iluminação do sistema, indicando que o  $^1\text{O}_2$  é responsável pela formação do radical  $\bullet\text{OH}$ . Vale lembrar que esses resultados são comuns às amostras de porfirinas (3-PdTPyP e 4-PdTPyP) e os corroles ( $\text{PhC}_6\text{F}_5\text{cor}$  (1a),  $\text{PyrC}_6\text{F}_5\text{cor}$  (1b)).



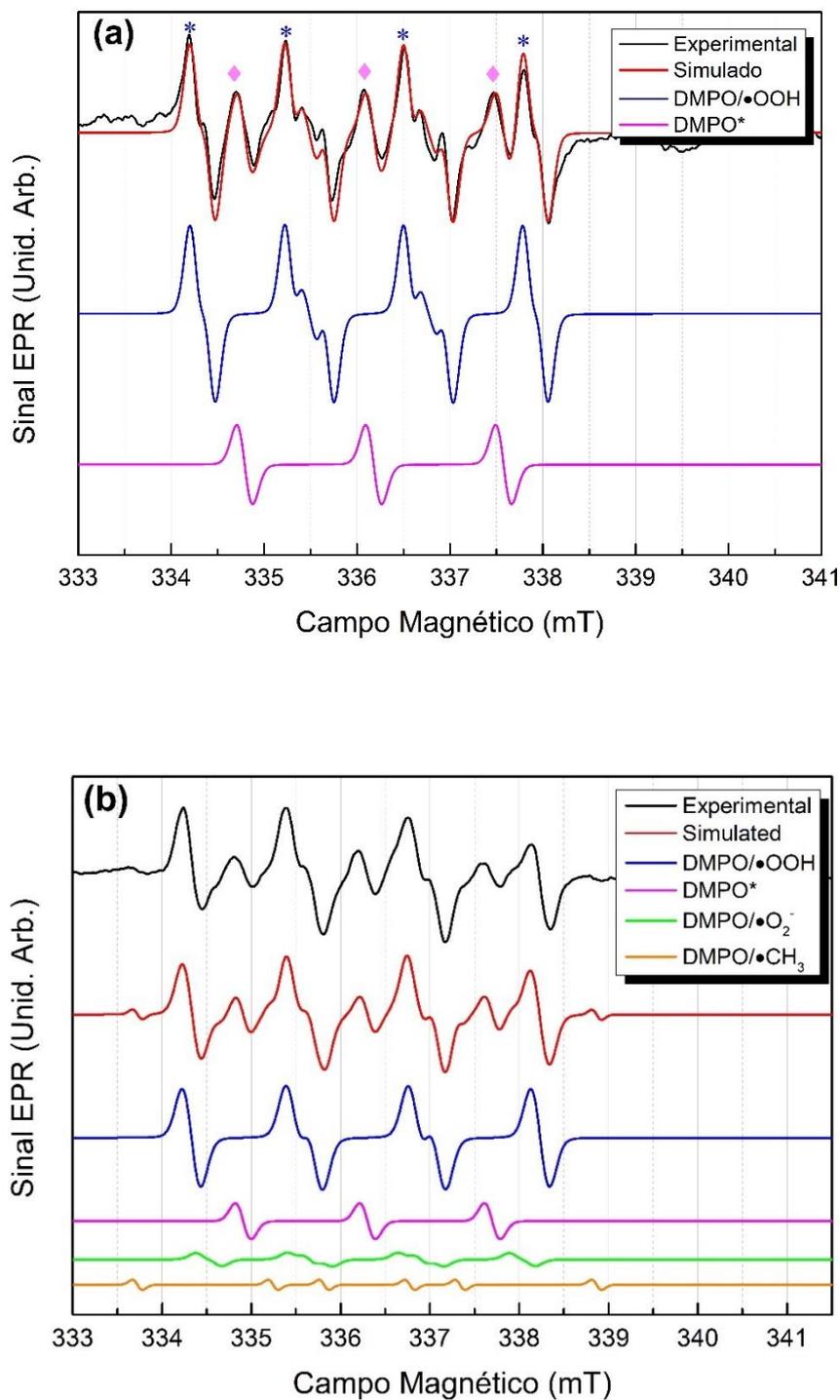
**Reação 1:** Reação da formação do radical metil.



**Figura 34:** Espectro EPR dos adutos de spin gerados na captura pelo PBN (linha preta) e espectro simulado (linha vermelha) após iluminação com luz branca (20 min) da porfirina 3-PdTPyP em DMSO. Os adutos individuais espectros azul e magenta representam, respectivamente, as simulações dos espectros dos adutos de spin PBN\* e PBN/•CH<sub>3</sub>.

De maneira complementar a identificação de ROS geradas sob iluminação utilizamos a armadilha de spin DMPO em solução de DMSO à uma concentração de 0,6 molL<sup>-1</sup> (0,3 molL<sup>-1</sup> para os corroles). Em todos os sistemas foi observada a formação do radical •O<sub>2</sub>. Os espectros de EPR revelaram a formação de até quatro adutos de spin, para o caso das porfirinas, sob iluminação do sistema (Figura 35): DMPO/•OOH, DMPO\*, DMPO/•CH<sub>3</sub> e DMPO/•O<sub>2</sub> (no caso das porfirinas). O espectro EPR do aduto de spin identificado por DMPO/•OOH é caracterizado pela interação do spin eletrônico  $S = 1/2$  com o spin nuclear de <sup>14</sup>N ( $a_N = 1,38$  mT) e mais dois átomos de hidrogênio ( $a_{H(\beta)} = 1,16$  mT e  $a_{H(\gamma)} = 0,09$  mT)<sup>52</sup> (linha azul, Figura 35). A captura do radical peroxila é produto da protonação do radical •O<sub>2</sub> ou do aduto de spin associado (DMPO/•O<sub>2</sub> com  $a_N = 1,24$  mT,  $a_{H(\beta)} = 1,02$  mT e  $a_{H(\gamma)} = 0,15$  mT)<sup>110</sup>. A presença do mesmo indica a geração do radical superóxido durante a iluminação do sistema. Já os demais adutos de spin DMPO\* e DMPO/•CH<sub>3</sub> (com  $a_N = 1,53$  mT e  $a_{H(\beta)} = 2,1$  mT)<sup>111</sup> já foi demonstrado que são

produtos de interações do  $^1\text{O}_2$ , formado via cruzamento inter-sistema pelos fotossensibilizadores, com demais agentes. Com a utilização do supressor de oxigênio singleto, a  $\text{NaN}_3$  ( $0,3 \text{ molL}^{-1}$ ) no experimento, durante iluminação, não houve alterações nos espectros dos adutos de spin DMPO/ $\bullet\text{OOH}$  e DMPO/ $\bullet\text{O}_2^-$ . Este último experimento, com o uso do supressor, nos confirmou a formação do radical  $\bullet\text{O}_2^-$  em paralelo a formação de  $^1\text{O}_2$  durante iluminação dos fotossensibilizadores (porfirinas e corroles). Em conclusão, o processo dominante na iluminação dos fotossensibilizadores estudados tanto com iluminação de luz branca e vermelha é a formação do  $^1\text{O}_2$  pela troca de energia não radiativa entre a porfirina/corrole no estado excitado e o oxigênio molecular (mecanismo tipo II), acarretando a formação do radical  $\bullet\text{OH}$  por reações secundárias. Em paralelo temos também, em menor quantidade, a troca de carga entre a porfirina/corrole o oxigênio molecular formando o radical  $\bullet\text{O}_2^-$  via mecanismo tipo I. Portanto, os compostos Pd (II) anexadas as porfirinas, e os grupos fenil/pirenil aos corroles, não afetam significativamente a propriedade fotodinâmica dos fotossensibilizadores por si só, sendo então espécies promissoras em aplicações de PDT.



**Figura 35:** Espectro EPR experimental (linha preta) do DMPO ( $0,6 \text{ molL}^{-1}$  ou  $0,3 \text{ molL}^{-1}$ ) sob iluminação (luz branca) da solução em DMSO (a) contendo o corrole **1b**; (b) contendo a porfirina 3-PdTPyP.

## 5.2. Catalisadores para degradação de drogas/agentes tóxicos

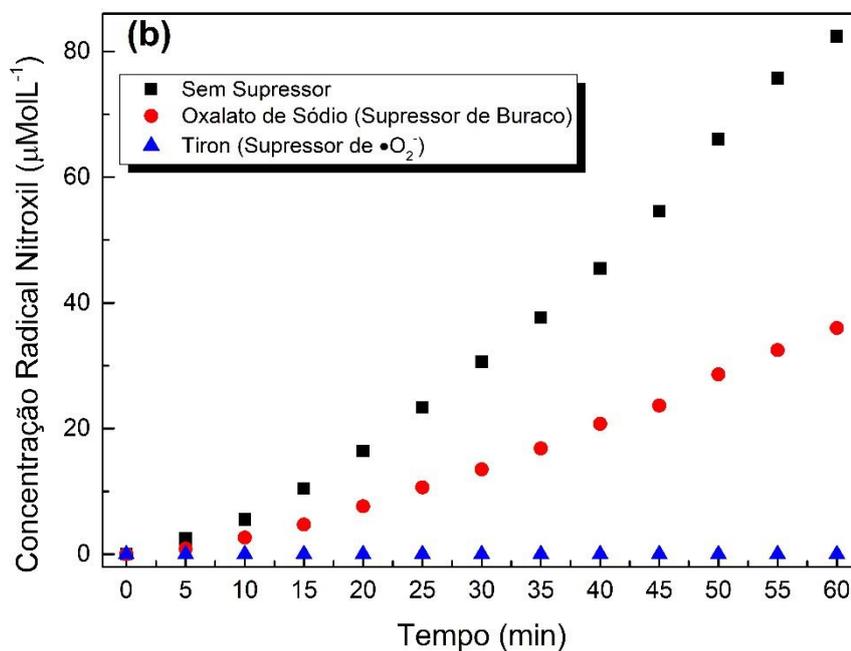
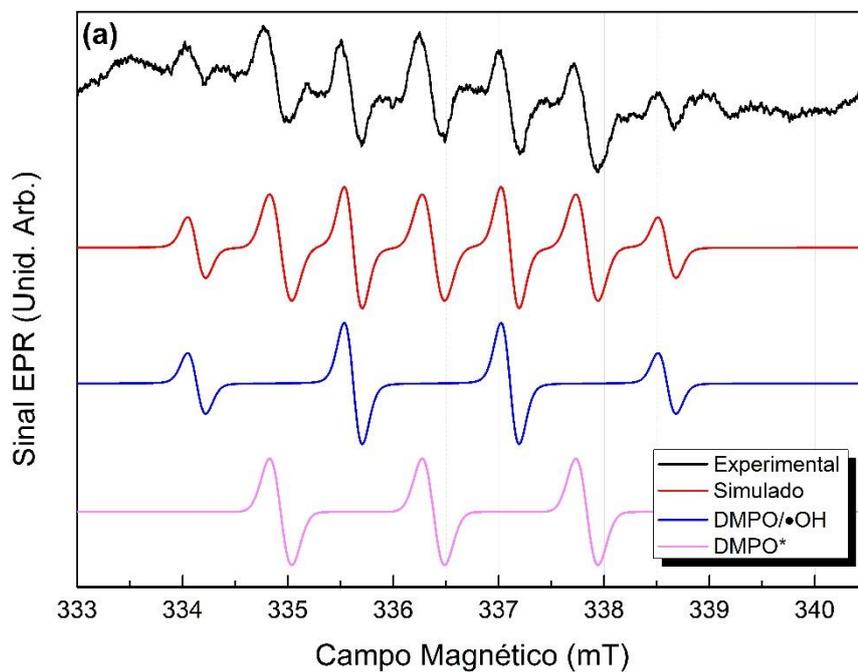
A partir de agora iremos exibir os resultados colhidos dos projetos em colaboração das áreas de foto-catálise e catálise heterogênea. Nessa primeira subseção selecionamos três trabalhos distintos com a característica em comum do uso de catalisadores para degradação de agentes tóxicos e poluentes. O primeiro trabalho a ser exposto foi elaborado em colaboração com os grupos dos professores Humberto Osório Stumpf e Ana Paula de Carvalho Teixeira, do Departamento de Química da UFMG. O objetivo era utilizar a metodologia de armadilha de spin na identificação das ROS responsáveis na fotodegradação da amoxicilina (AMX) por amostras de catalisadores a base de polímeros do nitreto de carbono (P-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>). O apelo do trabalho era a elaboração de um catalisador sem metais em sua estrutura que pudesse promover a quebra das moléculas de poluentes comumente encontrados em efluentes de água, como por exemplo, os antibióticos<sup>112,113</sup>, durante iluminação por luz solar. Este trabalho relevante foi publicado em janeiro de 2021 pela revista *Journal of Hazardous Materials*.

O catalisador sintetizado pelos autores Silva *et al.*<sup>92</sup> utiliza como precursor do polímero de nitreto de carbono o composto Tioureia (CSN<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). A escolha desta molécula se deu pela indução de uma maior quantidade de defeitos estruturais do C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> quando utilizado este precursor. A maior incidência de defeitos na estrutura do catalisador, acarreta a formação de níveis discretos dentro do *gap* de energia, perturbando assim o processo de recombinação entre o par elétron-buraco após excitação ótica. A menor ocorrência do processo de recombinação, e conseqüentemente perda de luminescência do material, possibilitou a troca de portadores entre o oxigênio molecular dissolvido no meio (água) e o semicondutor, gerando então as ROS de interesse.

Para os estudos fotocatalíticos utilizando a metodologia de armadilha de spin, 10 mg de amostra de catalisador foram dispersos em 2 mL de solução aquosa contendo DMPO ou a sonda redox Hidroxi-TEMP. A suspensão, sob constante agitação, foi então iluminada com luz branca produzida a partir de uma lâmpada LED branca (radiância integrada de 16 mW cm<sup>-2</sup>, calibrada por um medidor de potência Coherent Lasermate/D). Após diferentes intervalos de tempo, alíquotas de 50 µL foram preenchidas em capilares de vidro, seladas e analisadas por EPR dentro de um tubo de quartzo (Wilmad Labglass). A escolha da metodologia de separações de alíquotas, do sistema em constante agitação, em intervalos recorrentes se deu pela garantia de maior contato entre o catalisador e o

ambiente. O que não ocorreria se utilizássemos apenas uma alíquota durante a iluminação, pois o catalisador rapidamente iria se acumular no fundo do capilar perdendo área de contato com a solução.

Os experimentos de EPR definiram as ROS envolvidas na degradação da AMX realizadas durante a foto-catálise. Para o primeiro teste fotocatalítico, 10 mg de DMPO ( $44,2 \text{ mmolL}^{-1}$ ) foram adicionados a 2 mL da suspensão aquosa contendo 10 mg de catalisador (CN-T) para identificar as ROS geradas durante a iluminação de luz branca. A escolha do DMPO se deu pela sua maior abrangência de capturas de radicais que as demais armadilhas de spin e sondas redox (PBN, M4PO e Hidroxi-TEMP). Após 30 minutos de iluminação obtivemos o espectro de EPR mostrado na Figura 36a, ele é resultante da superposição entre dois sinais de adutos spin distintos: DMPO/ $\bullet\text{OH}$  e DMPO\*. Assim como precedido nos demais resultados os adutos de spin foram identificados por simulações de espectros EPR usando o software Matlab, mais especificamente a sub-rotina Easyspin<sup>®79</sup>. O espectro EPR do primeiro aduto (azul, Figura 36a) é caracterizado pela interação hiperfina (hf) do spin eletrônico ( $S = 1/2$ ), proveniente do elétron desemparelhado centrado no átomo de oxigênio da ligação (N-O), com o spin nuclear  $I = 1$  oriundo do isótopo  $^{14}\text{N}$  (de abundância natural de 99,63 %) e com spin nuclear  $I = 1/2$  do isótopo  $^1\text{H}$  presente na posição  $\beta$  na molécula do DMPO. Os valores da interação hiperfinas obtidos pela simulação foram  $a_{\text{N}} = a_{\text{H}(\beta)} = 1,49 \text{ mT}$ , e correspondem ao aduto de spin DMPO/ $\bullet\text{OH}$ <sup>52</sup>. Já o aduto de spin identificado por DMPO\*, caracterizado pelo tripleto definido pela interação hf entre o spin eletrônico e o spin nuclear de  $^{14}\text{N}$  ( $a_{\text{N}} = 1,46 \text{ mT}$ ), foi interpretado por uma degradação do próprio DMPO em processos durante iluminação no visível.



**Figura 36:** (a) Espectro EPR da dispersão de  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  (10 mg) em água juntamente do DMPO após 45 min de iluminação com luz branca. (b) Concentração de radical nitroxil (Hidroxi-TEMP) em função do tempo de iluminação (símbolos pretos), na presença de supressor de buraco oxalato de sódio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ , símbolos vermelhos) e com adição de supressores de  $\text{O}_2$  (símbolos azuis).

Entretanto, a detecção do aduto DMPO/•OH poderia estar associado a conversão do aduto de spin DMPO/•O<sub>2</sub> e não somente a formação do radical hidroxila em si, uma vez que, em solventes próticos, o aduto DMPO/•O<sub>2</sub> é convertido em DMPO/•OH em frações de segundos. Outro argumento que acompanhava a hipótese de formação do radical superóxido era a possibilidade da interação do oxigênio molecular presente no meio com os elétrons da banda de condução do catalisador formando o radical em questão. Partimos então para o uso da sonda redox Hidroxi-TEMP. Mesmo que a formação do radical nitroxil ocorresse somente pela interação entre o oxigênio singlete e o Hidroxi-TEMP, o uso desta sonda redox se justifica pela habitual conversão do radical •O<sub>2</sub> na molécula de oxigênio singlete<sup>89</sup>. Neste segundo experimento substituímos o DMPO por 75 mg do Hidroxi-TEMP (238,85 mmolL<sup>-1</sup>), o aduto de spin formado é o radical TEMPOL que é característico de um tripleto causado pela interação hiperfina entre o spin eletrônico  $S = 1/2$  e o spin nuclear  $I = 1$  do núcleo <sup>14</sup>N com constante hiperfina  $a_N = 1,58$  mT. Devido à alta estabilidade do TEMPOL, ele pode ser quantificado com segurança por integração dupla dos espectros de EPR e comparação com a amostra contendo uma concentração conhecida de TEMPOL (1 mmolL<sup>-1</sup>). Assim foi elaborada a evolução temporal de formação radicais nitroxil durante iluminação com luz branca (pontos em preto, Figura 36b). De forma a comprovar a metodologia empregada realizamos o próximo experimento acrescentando 150 mg de um supressor do radical superóxido, o tiron (sal dissódico de ácido 4,5-dihidroxi-1,3-benzenossulfônico monohidratado, 150 mg). E como esperado não ocorreu formação do radical nitroxil durante a iluminação (pontos em azul, Figura 36b), demonstrando o papel primário do radical •O<sub>2</sub> na formação de <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, podendo ser visto na Figura 36b (pontos em vermelho). Utilizamos também o supressor de buraco (h<sup>+</sup>), o oxalato de sódio<sup>114</sup>, de forma a visualizar a contribuição do mesmo na formação do radical •O<sub>2</sub>. O resultado foi a diminuição na geração de radicais nitroxil, demonstrando que parte dos radicais superóxidos pudessem ser formados de reações cruzados com o radical hidroxila, formado de interação de moléculas d'água com h<sup>+</sup>, mas em geral a maior parte da produção deste radical viria a ser de captura de elétrons da banda de condução do catalisador pelo oxigênio molecular. Em conclusão, identificou-se que o processo fotocatalítico dominante por CN-T sob luz branca é devido a um mecanismo de transferência de elétrons e buracos. Os radicais superóxidos são formados pela transferência de elétrons excitados da banda de condução do CN-T para o oxigênio molecular, sendo este o processo mais relevante. Também pode ser transferido para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzido a partir de H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub> levando a geração de radicais

hidroxila. Por outro lado, buracos excitados na banda de valência do CN-T também estão participando do processo fotocatalítico, oxidando  $\text{H}_2\text{O}_2$  formando radicais. Estes resultados não só mostraram a importância da metodologia de armadilhas de spin e sondas redox como a relevância do uso de supressores.

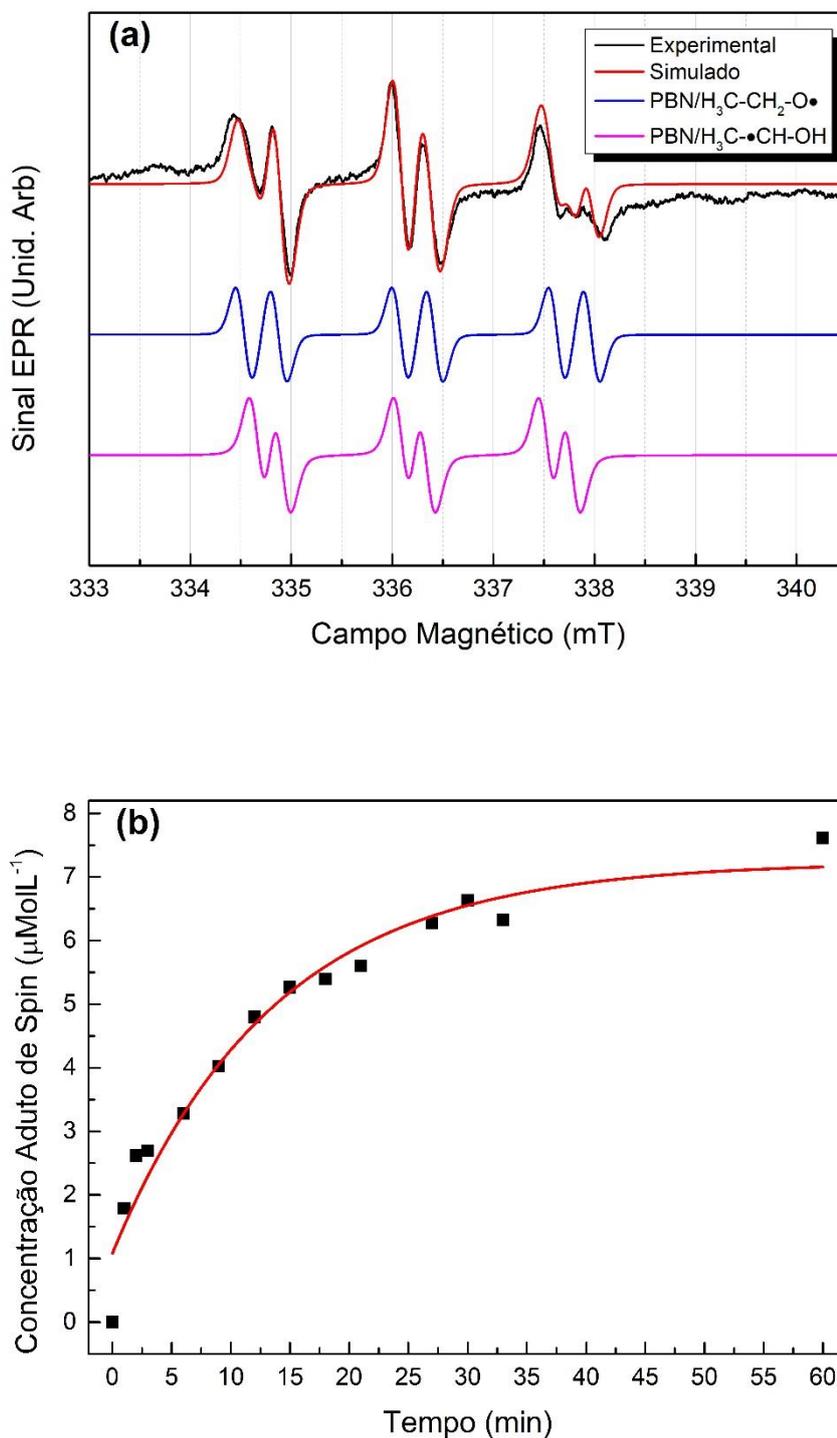
No próximo trabalho em colaboração com a professora Regina de Fátima Peralta Muniz Moreira, do Departamento de Engenharia Química da UFSC, a motivação do uso da metodologia foi a de identificação de ROS responsáveis na quebra de uma molécula específica, assim como no trabalho relatado anteriormente. O grupo sintetizou o catalisador  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  conforme relatado<sup>95</sup>, com a finalidade de degradação da molécula pantoprazol (PAN) que é uma das drogas mais consumidas no mundo<sup>115</sup> e resíduos da mesma são encontradas em quantidades preocupantes em águas residuais domésticas. Este trabalho foi publicado em janeiro de 2021 na revista *Chemosphere*.

Os experimentos utilizando armadilhas de spin foram divididos em duas vertentes, uma delas para testar a eficiência fotocatalítica do catalisador, iluminando o sistema com luz branca produzida a partir de uma lâmpada LED branca ( $16 \text{ mW cm}^{-2}$ , calibrada por um medidor de potência Coherent Lasermate/D) sob agitação; e a segunda sem iluminação do sistema somente com a adição de  $100 \mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à 5% de concentração. No primeiro experimento em que foi adicionado  $20 \text{ mg}$  de DMPO ( $88,4 \text{ mmolL}^{-1}$ ) contendo  $2 \text{ mL}$  de solução aquosa com  $10 \text{ mg}$  do catalisador em suspensão, os resultados foram equivalentes tanto no sistema sob iluminação quanto com a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Em ambos os casos se observou o aduto de spin DMPO/ $\bullet\text{OH}$ , espectro similar ao encontrado no projeto anterior. De forma a aferir se o catalisador pudesse estar gerando radical superóxido pela troca de portadores com o oxigênio molecular foi adicionado  $80 \text{ mg}$  de Hidroxi-TEMP ( $254,77 \text{ mmolL}^{-1}$ ). Ao contrário do observado no projeto anterior não foi observada a formação de radicais nitroxil em nenhum dos dois casos (sob iluminação ou com adição de peróxido), descartando assim a hipótese de formação de  $\bullet\text{O}_2^-$  por mediação do catalisador  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ .

De forma complementar, a armadilha de spin PBN foi utilizada nos demais experimentos. O PBN foi escolhido para visualização da cinética de reação do radical  $\bullet\text{OH}$ , dado que esta armadilha de spin possui especificidade na captura dos derivados deste radical. No caso do DMPO não foi possível obter uma cinética de reação pela sua maior constante de captura do radical impossibilitando a sua observação, e pelo fato da baixa estabilidade do aduto de spin. Nos experimentos substituímos o DMPO pelo PBN, na concentração de  $0,2 \text{ molL}^{-1}$  em solução mista de etanol/água (relação 1: 1). A Figura

37a (preto) mostra um espectro de EPR obtido após 10 min. de interação entre o catalisador  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ , peróxido de hidrogênio e PBN em solução de etanol/água.

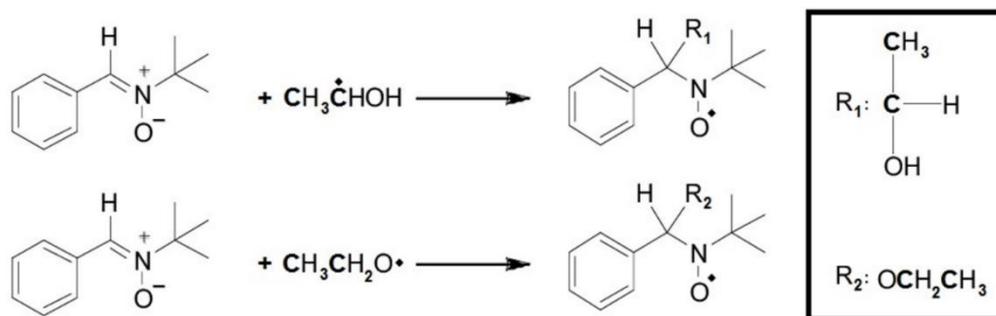
O espectro de EPR, presente na Figura 37a, apresenta a superposição de dois espectros de adutos de spin. Os radicais capturados pelo PBN compartilham a sua origem da interação do radical hidroxila com a molécula de etanol. Portanto, o espectro EPR resultante ao longo da reação é dado pela competição entre a captura/geração desses dois adutos de spin com parâmetros da interação hiperfina (hf)  $a_N = 1,44 \text{ mT}$  e  $a_{H(\beta)} = 0,24 \text{ mT}$  (radical etoxi,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ) e com  $a_N = 1,55 \text{ mT}$  e  $a_{H(\beta)} = 0,34 \text{ mT}$  (radical  $\alpha$ -hidroxietil,  $\text{CH}_3\text{CHOH}$ )<sup>108,116</sup>.



**Figura 37:** (a) Espectro de EPR dos adutos de PBN (linha preta) obtido após adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à solução etanol/água na presença do catalisador Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>. Os espectros EPR simulados usando o software Easyspin® são mostrados em azul e magenta, e sua soma em vermelho. (b) Cinética da geração de adutos spin absoluta pela captura do PBN em função do tempo de reação.

Na Figura 38 é exibido a estrutura molecular dos radicais bem como, os adutos de spin gerados nas suas capturas. A Figura 38 apresenta a evolução cinética da geração do radical  $\bullet\text{OH}$  em função do tempo após a adição de peróxido de hidrogênio.

Portanto, para este projeto através do uso da metodologia de armadilha de spin chegamos à conclusão de que a ROS dominante nos processos catalíticos com o catalisador  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  é o radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ). Para a peroxidação sem iluminação, o provável mecanismo de formação do radical é dado pela reação de Fenton, na qual ocorre a oxidação do  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  e a formação do radical hidroxila. Enquanto isso, reações fotocatalíticas, com iluminação no visível, os pares elétron/buraco que então transferem cargas para as moléculas do solvente (mecanismo tipo I, i.e., transferência de portadores de carga) levando à geração de radicais hidroxila. Neste projeto vale destacar a capacidade da metodologia desenvolver cinéticas de reação com diferentes armadilhas de spin e sua extensão, além de processo ativados por excitação óptica.

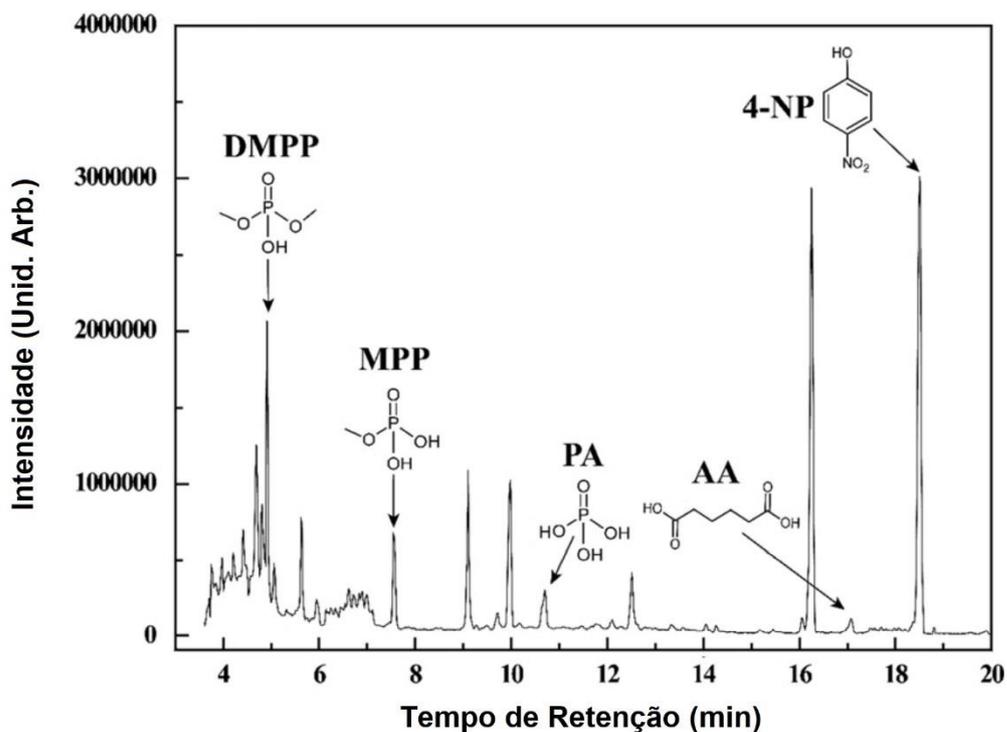


**Figura 38:** Adutos de spin dados pela captura do PBN das espécies radicalares geradas (etoxi e  $\alpha$ -hidroxietil) após adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à solução de etanol/água na presença de catalisador  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ .

Em outro importante projeto em colaboração com o grupo do professor Luiz Carlos Alves de Oliveira do Departamento de Química da UFMG, a metodologia de armadilha de spin teve papel fundamental na identificação do processo de fotodegradação da molécula de metil Paraoxon (MP), um simulador de arma química altamente neurotóxico, no ácido fosfórico sem toxicidade celular. O catalisador sintetizado pelo grupo é baseado na imobilização de nanopartículas de  $\text{NbOFe}$  em fibras do tecido policaprolactona (PCL). Em iluminação por 48 horas houve a conversão de 94,5% do MP em ácido fosfórico demonstrando a eficácia das nanofibras ( $\text{NbOFe-NF}$ ) em aplicações como equipamentos de proteção contra guerras químicas<sup>94</sup>. Conversão esta que não

ocorre na ausência do catalisador ou de exposição a luz na faixa espectral do visível. Este trabalho inovador foi publicado em maio de 2021 na renomada revista *Applied Catalysis B: Environmental*.

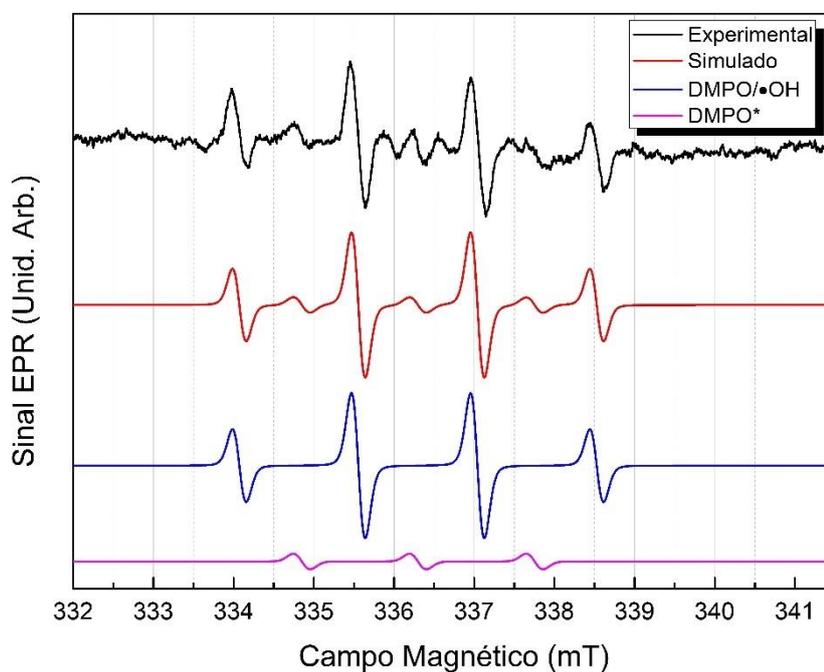
A primeira técnica utilizada na investigação dos produtos de degradação do MP foi a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, após iluminação por 24 horas com luz visível de um corte de tecido ( $3 \times 3$  cm) em contato com o agente de neurotóxico. Em seguida, os tecidos submetidos à foto-catálise foram colocados em contato com 10 mL de água, agitados por 24 horas a 100 rpm e na ausência de luz, para então alíquotar 4 mL da solução e misturados à 4 mL de acetonitrila e deixados por mais 24 h a  $-20$  °C. Separada a fase orgânica os produtos de degradação foram obtidos e identificados conforme apresentados na Figura 39.



**Figura 39:** Cromatograma gasoso dos produtos encontrados na fotodegradação do MP após iluminação com luz visível do NbOFe-NF por 24 h.

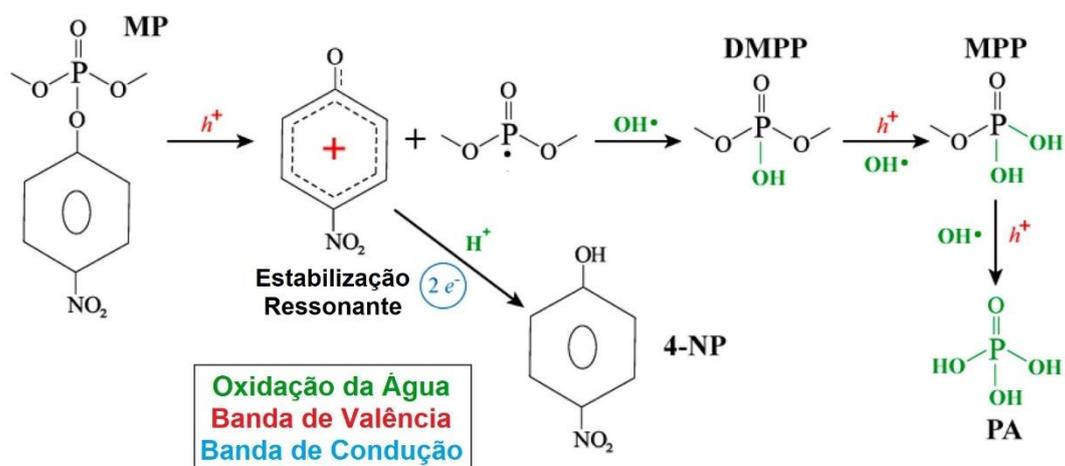
Ao analisar as espécies identificadas pelo cromatograma da Figura 39 nota-se que os principais produtos foram o dimetilfosfato (DMPP) e o 4-nitrofenol (4-NP). A presença de tais compostos é geralmente atribuída à hidrólise entre o grupo organofosforado e a parte aromática da molécula MP (ligação P-O-Ar), catalisada por

hidroxilas ou água presentes na superfície de metalorgânicos e metal de transição óxidos<sup>117,118</sup>. Desvendados os produtos de degradação do MP o próximo passo foi a elaboração do mecanismo de degradação do agente neurotóxico, e para isso fora preciso identificar qual seria a espécie reativa que promove a clivagem da ligação P-O-Ar impedindo a capacidade de desativação da acetilcolinesterase pelo composto. Neste objetivo de investigação de mecanismo fotocatalítico a metodologia de armadilha de spin teve papel fundamental. Partimos então para a descrição da realização das medidas de armadilha de spin, juntamente com a interpretação dos resultados alcançados. De forma a identificar a ROS envolvida na conversão do MP, foram realizados espectros de EPR em tempos predeterminados de iluminação no visível do sistema com 1 mL de suspensão aquosa de DMPO ( $150 \text{ mmolL}^{-1}$ ) e 5 mg de NbOFe. Uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  foi extraída através de um capilar de vidro após 30 min de iluminação com luz branca, produzida a partir de uma lâmpada LED branca, sob agitação. O espectro de EPR obtido é apresentado na Figura 40 e demonstra a formação do radical hidroxila pelo processo fotocatalítico. Portanto, o emprego da metodologia levou à conclusão de que a degradação de MP é impulsionada, com eficiência e seletividade, pelo radical  $\bullet\text{OH}$  formado a partir de vapor de água.



**Figura 40:** Espectro de EPR dos adutos de DMPO (linha alaranjada) obtido após 30 minutos de iluminação com luz branca da suspensão aquosa contendo o NbOFe-NF. Os espectros simulados do aduto de spin DMPO/•OH e DMPO\* são mostrados em magenta e preto, respectivamente, e sua soma em vermelho.

A partir da identificação dos produtos de degradação do agente neurotóxico e da espécie radicalar responsável pela clivagem da cadeia aromática, decorrente do uso da metodologia de armadilha de spin, foi elaborado o mecanismo de conversão do MP em ácido fosfórico conforme exibido na Figura 41.



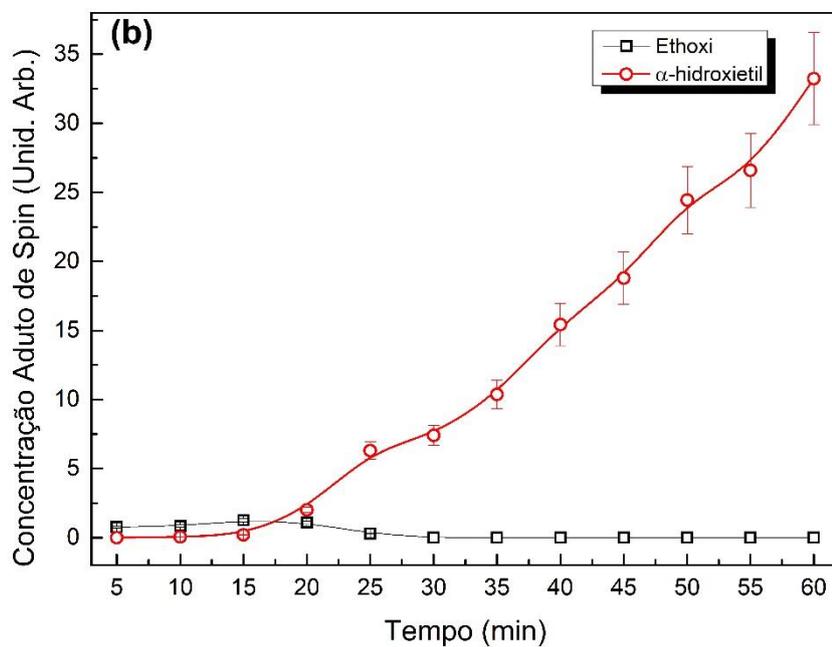
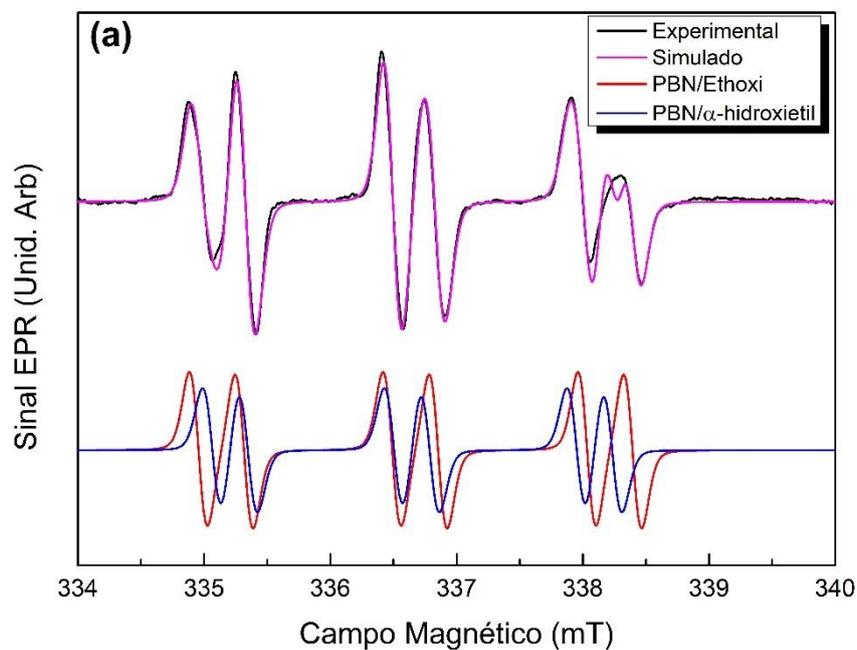
**Figura 41:** Mecanismo de fotodegradação do MP.

### 5.3. Catalisadores em conversões seletivas

Nesta subseção iremos relatar os resultados obtidos a partir da metodologia de armadilha de spin em colaboração novamente com o grupo do professor Luis Carlos Alves de Oliveira do Departamento de Química da UFMG. Neste projeto a metodologia não somente identificou a ROS envolvida na conversão da molécula estudada como foi capaz de descrever todo o caminho da extensa reação<sup>1</sup>. Sem a aplicação da metodologia dificilmente o mecanismo de conversão seria esclarecido e conseqüentemente todo projeto poderia não satisfazer os objetivos alcançados. Neste trabalho foi elaborada a produção de  $\gamma$ -valerolactona (GVL), molécula de alto interesse para indústria devido aplicações como solvente verde e aditivo de combustível<sup>119-121</sup>, a partir de conversão fotocatalítica via iluminação no UV do ácido levulínico (LA) usando a técnica de transferência de elétrons acumulada. Foi utilizado como fotocatalisador um ácido nióbbico comercial (HY-340) produzido pela Companhia Brasileira Metalurgia e Mineração (CBMM). O tempo de iluminação mais longo (48 h) leva à conversão de subprodutos em GVL com seletividade máxima de 44,7%. Este trabalho de amplo interesse científico e industrial foi publicado em maio de 2021 na renomada revista *Applied Catalysis B: Environmental*.

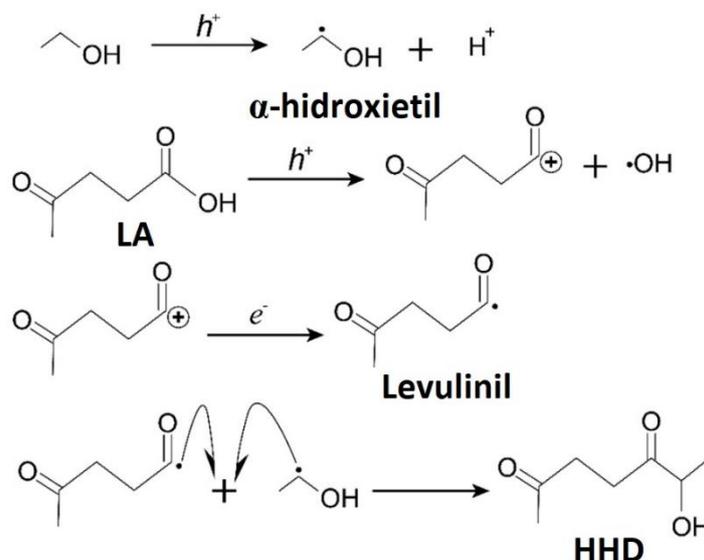
Observou-se que sob irradiação UV da solução etanólica, sem oxigênio molecular adsorvido no sistema, contendo o catalisador HY-340, ocorre uma mudança na coloração da superfície do catalisador de branco para cinza escuro. Fenômeno associado ao acúmulo

de elétrons na banda de condução do semicondutor<sup>1</sup>. No entanto, a exposição ao oxigênio atmosférico faz com que o HY-340 retorne imediatamente à sua cor branca original. Foi constatado que sob a condição de acumulação de elétrons na superfície do catalisador aumentou significativamente a conversão do LA em GVL, quase que triplicou (11,5% para 29,7%). O próximo passo foi a investigação do mecanismo de conversão em GVL pelo processo fotocatalítico de transferência de elétrons. Seguindo neste objetivo foram elaborados uma série de experimentos com a metodologia de armadilha de spin para a identificação de todas as ROS envolvidas na foto-catálise, para então a elaboração de um mecanismo global de conversão. Iniciamos o processo investigativo utilizando a armadilha de spin PBN à uma concentração de 85 mmolL<sup>-1</sup> em 1 mL de solução etanólica com 5 mg do catalisador (HY-340) em constante agitação e sob iluminação no UV, conforme realizado na foto-catálise. O espectro de EPR resultante durante a iluminação do sistema revelou o aparecimento de captura radicalar. Já nos primeiros instantes de iluminação é possível notar a sobreposição de dois adutos de spin (vide Figura 42a). Após a simulação dos espectros foi possível a identificação dos adutos de spin dados por PBN/H<sub>3</sub>C-CH<sub>2</sub>O• (Etoxi,  $a_N = 1,434$  mT e  $a_{H(\beta)} = 0,260$  mT) e PBN/H<sub>3</sub>C-•CH-OH ( $\alpha$ -hidroxietil,  $a_N = 1,529$  mT e  $a_{H(\beta)} = 0,355$  mT)<sup>122</sup>. Os dois adutos de spin são gerados pela oxidação da molécula de etanol via buracos (h<sup>+</sup>) fotogerados<sup>1</sup>. Em seguida foi realizada a quantificação do sinal de EPR, via dupla integração do espectro, em relação ao tempo de iluminação e, então separação da contribuição de cada aduto de spin. A cinética de geração do radical etoxi e  $\alpha$ -hidroxietil é apresentada na Figura 42b. É notável que a partir de 20 minutos de iluminação do sistema a espécie dominante é o radical  $\alpha$ -hidroxietil.



**Figura 42:** (a) Espectro de EPR dos adutos de PBN (linha preta) obtido após 20 minutos de iluminação no UV em suspensão degaseificada com etanol na presença do catalisador HY-340. (b) Cinética da geração de adutos spin capturados pelo PBN, PBN/H<sub>3</sub>C-•CH-OH em vermelho e PBN/H<sub>3</sub>C-CH<sub>2</sub>O• em preto, em função do tempo de iluminação.

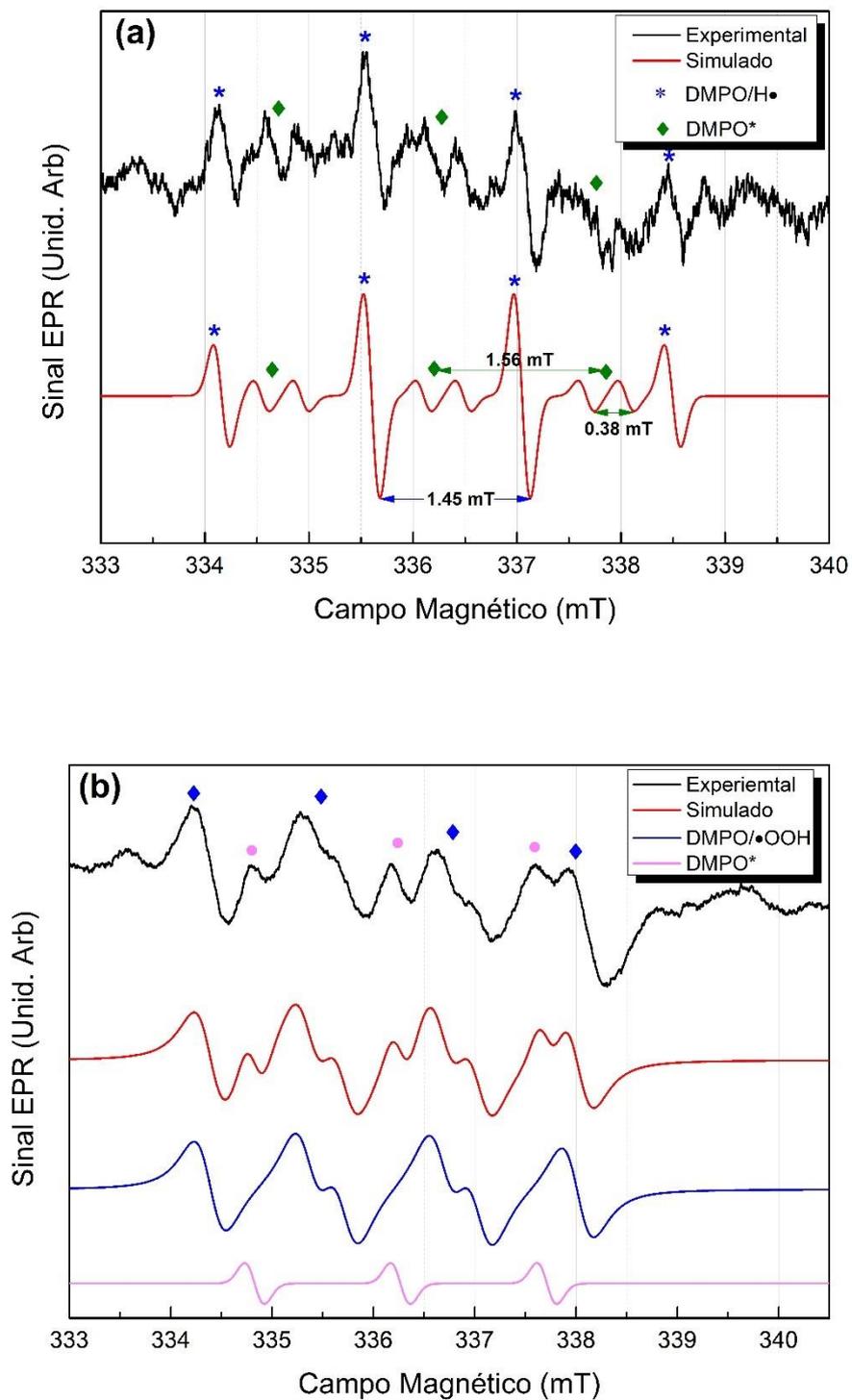
A dominância do radical  $\alpha$ -hidroxietil é concomitante com a alta concentração de 6-hidroxi heptano 2,5-diona (HHD) encontrada pela cromatografia durante os testes fotocatalíticos. Essa molécula é um dos primeiros produtos da conversão do LA e exhibe o caminho da reação, outro possível seria a formação de levulinil (EL) que é dado pela interação do LA com o radical  $\bullet\text{OH}$ <sup>1</sup>. Na Figura 43 segue apresentando o mecanismo de conversão do LA no subproduto HHD pelo radical  $\alpha$ -hidroxietil.



**Figura 43:** Mecanismo de produção fotocatalítica de HHD.

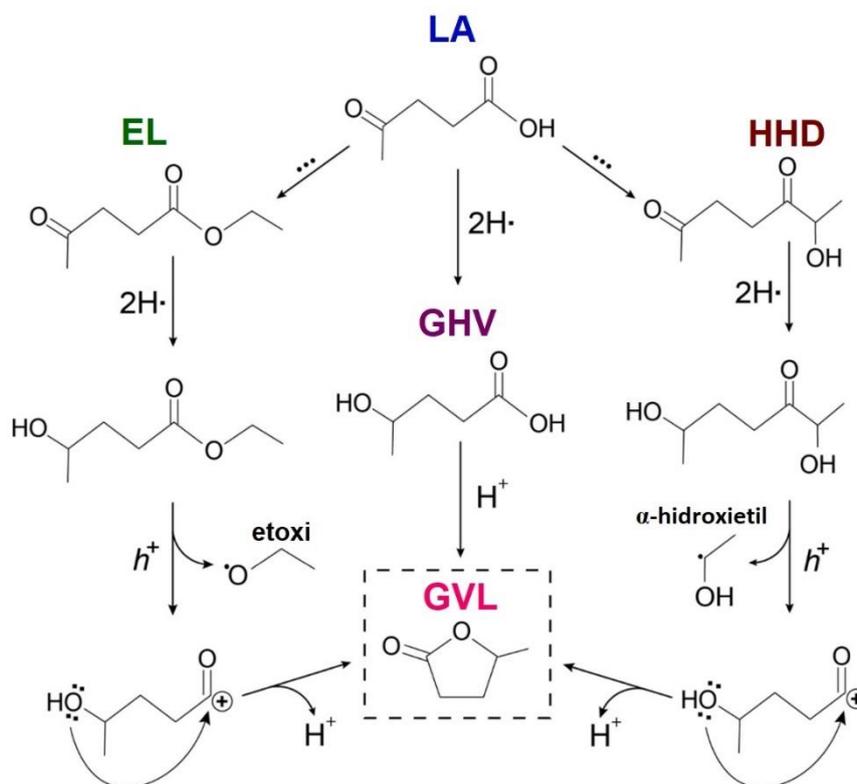
Entretanto, neste primeiro experimento não foi identificada a espécie reativa que justificasse a conversão do HHD nos demais subprodutos, identificados via GC-MS<sup>1</sup>, até o produto final GVL. Assim outro experimento com a metodologia foi realizado utilizando o PBN dessa vez em solução aquosa degasada, ou seja, sem a presença do oxigênio molecular. A mudança de solvente se deu pela baixa constante de reação da captura do radical  $\bullet\text{OH}$  diretamente e baixa estabilidade do aduto PBN/ $\bullet\text{OH}$  facilitando a visualização dos demais radicais formados na reação. Assim, após cinco minutos de iluminação no UV já foi possível identificar o aduto de spin caracterizado por quatro linhas com padrão de intensidade de 1:2:2:1 originadas pela interação hiperfina com  $a_{\text{N}} = a_{\text{H}(\beta)}$  1,45 mT<sup>123</sup> (asterisco azul, Figura 44a). Pela simulação identificamos o aduto de spin PBN/ $\bullet\text{H}$ . Embora a metodologia tenha detectado a presença de  $\text{H}\bullet$  no sistema em meio aquoso, a produção de hidrogênio atômico em etanol é evidenciada pelo  $\text{H}_2$  encontrado na parte de cima do reator (mesmo que em pequenas quantidades) ao final de cada reação de 24 h<sup>1</sup>, que aponta fortemente que a redução fotocatalítica de derivados de LA ocorre

pela transferência de  $H\bullet$ . Uma vez evidenciado o agente responsável pela conversão do HHD em GVL impõe-se que o sistema deva conter baixas concentrações de oxigênio molecular, que é um excelente aceitador de elétrons, capturando-os ao invés de reduzir  $H^+$ . A evidência da captura do elétron na banda de condução do HY-340 pelo oxigênio molecular é notada pelo retorno da coloração esbranquiçada (após iluminação a superfície do material torna-se cinza escuro) do material ao ser exposto à atmosfera de  $O_2$ . A metodologia de armadilha de spin também serviu de sustentação para esse modelo. Ao utilizarmos o DMPO à  $115 \text{ mmolL}^{-1}$  em solução etanólica, sem degasar o ambiente, junto com 5 mg do HY-340 e sob iluminação podemos extrair o espectro de EPR dos adutos de spin formados. Após cinco minutos de iluminação já foi possível notar a presença do aduto de spin DMPO/ $\bullet\text{OOH}$  (linha azul da Figura 44b, parâmetros hiperfinos  $a_N = 1,330 \text{ m T}$ ,  $a_{H(\beta)} = 0,980 \text{ m T}$  e  $a_{H(\gamma)} = 0,100 \text{ m T}$ )<sup>124</sup>. O radical peroxila ( $\bullet\text{OOH}$ ) é resultado da protonação do radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) que por sua vez é produto da captura do elétron da banda de condução do HY-340 pelo oxigênio molecular.



**Figura 44:** (a) Espectro de EPR dos adutos de PBN (linha preta) após 5 minutos de iluminação (UV) em suspensão aquosa com HY-340 desgaseificada. (b) Espectro de EPR dos adutos de DMPO (linha preta) após 5 minutos de iluminação (UV) da suspensão aquosa com HY-340.

Finalmente, identificados os produtos de conversão e espécies radiculares presentes na foto-catálise do HY-340 quando iluminado no UV em solução etanólica pela metodologia de armadilhas de spin foi possível elaborar o complexo mecanismo exposto na Figura 45. Enfim, este e os demais trabalhos em colaboração aqui apresentados demonstraram a importância e o potencial da metodologia de armadilha de spin aplicada em diversas áreas da ciência. Doravante, apresentaremos as conclusões a que chegamos na realização deste trabalho de doutoramento.



**Figura 45:** Mecanismo fotocatalítico global para conversão de derivados de LA em GVL usando a técnica de transferência de elétrons acumulada.

## 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram apresentados diversos resultados destacando a importância da metodologia de armadilhas de spin e sondas redox em experimentos de ressonância paramagnética eletrônica. Dentre elas foram citadas as áreas de catálise heterogênea, fotocatalise e terapia fotodinâmica. A partir dos resultados aqui discutidos podemos sintetizar que a metodologia é indispensável na quantificação e identificação de espécies reativas de oxigênio. Também demonstrou-se a relevância do uso combinado no maior número possível de armadilhas de spin e supressores no processo a ser estudado de maneira a se obter um mecanismo mais fidedigno.

Na área de terapia fotodinâmica o uso de sondas redox se mostrou uma metodologia muito eficiente e acessível na detecção de  $^1\text{O}_2$  gerados pela troca de energia entre o fotossensibilizador (excitado opticamente) e o oxigênio molecular (mecanismo tipo II). Devido à alta estabilidade do radical nitroxil, formado pela oxidação do grupo amina da sonda pelo  $^1\text{O}_2$ , é perfeitamente viável comparar eficiência entre fotossensibilizadores. Entretanto, algumas prudências foram discutidas e protocoladas para uma minimização de possíveis erros na aplicação da metodologia. Uma vez fundamentada que a cinética de radicais nitroxil durante a iluminação do fotossensibilizador é dada pela combinação de geração radicalar com a degradação do mesmo, foi discutido neste trabalho diversos parâmetros que afetam a cinética. Foi demonstrada que a quantidade de sonda redox afeta a geração de  $^1\text{O}_2$  por parte do fotossensibilizador, uma vez que uma maior quantidade desloca o equilíbrio químico do sistema induzindo a uma maior produção da espécie reativa. Outro fatores importantes são a quantidade de sonda redox adicionada no sistema e o pH do meio, pois a adição de hidroxil-TEMP aumenta a basicidade do ambiente químico. A variação do ambiente não só influencia a estabilidade e eficiência do fotossensibilizador, bem como, afeta a degradação do radical nitroxil durante a iluminação do sistema. Ressaltamos que em ambientes ácidos ( $\text{pH} < 7$ ) o uso de sondas redox como o hidroxil-TEMP é ineficiente, pois a acidificação do sistema impede a oxidação do grupo amina pelo  $^1\text{O}_2$ . Foi investigado de forma sistemática a degradação do radical nitroxil em experimentos de sondas redox e porfirinas, chegando-se ao modelo de que a mesma ocorre, em ambientes alcalinos, pela interação entre a porfirina em seu estado excitado e o radical. Lembrando que o pH tem um papel fundamental na cinética de degradação do radical nitroxil, uma vez que em meios mais alcalinos haverá uma maior

quantidade de espécies degradadas. A partir de experimentos com o uso do radical TEMPOL (radical nitroxil), porfirinas com adição do composto  $\text{NaN}_3$  (supressor de oxigênio singlete), e também sem a presença de oxigênio molecular no sistema, foi descartada a hipótese mais aceita até então de que a degradação radicalar fosse produto da interação do próprio  $^1\text{O}_2$  com o radical nitroxil. A partir do uso da técnica de EPR e cromatografia gasosa juntamente com a análise da razão carga-massa, identificamos os produtos de degradação dos radicais nitroxil, que foram,  $\text{TEMPOL} \rightarrow \text{TEMPONE} \rightarrow \text{Forona}$  (diamagnético). O processo observado de degradação é inverso ao realizado na produção industrial do radical TEMPOL. Também foi possível elaborar o mecanismo de fotodegradação da porfirina causada pelo  $^1\text{O}_2$  em meio básico. Todos estes resultados nos serviram de base para a criação de um protocolo que buscasse auxiliar futuros usuários da metodologia. Para uma comparação confiável da eficiência na geração de  $^1\text{O}_2$  com o método de sonda redox Hidroxi-TEMP, é necessário um regime em que tenhamos uma perturbação cinética mínima por parte da degradação de radicais nitroxil e um sinal satisfatório de EPR. Para o uso de Hidroxi-TEMP e porfirinas, as quantidades otimizadas foram  $10 \text{ mmolL}^{-1}$  e  $100 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$ , respectivamente. Mas deve se lembrar que ao utilizar fotossensibilizadores e sondas redox para quantificar  $^1\text{O}_2$ , a busca por um regime em que não haja degradação de radicais nitroxil é utópica, pois o ambiente alcalino será inerente quando esta metodologia for utilizada. Em estudos futuros espera-se investigarmos com mais detalhes a interação de degradação entre a porfirina no seu estado excitado e o radical nitroxil.

Ainda na área da terapia fotodinâmica, a metodologia de armadilha de spin demonstrou que fotossensibilizadores quando iluminados na região espectral do visível ainda assim produzem espécies radicalares, embora em menor quantidade quando comparada à produção de  $^1\text{O}_2$ , a partir da troca de portadores com o ambiente. Os radicais observados foram os radicais  $\bullet\text{OH}$ , a partir do uso da armadilha de spin PBN ou do DMPO, muitas vezes gerados de forma indireta por algum processo secundário envolvendo o  $^1\text{O}_2$ , ou de forma direta pela transferência de buraco dos orbitais HOMO com o meio, como moléculas de água. Outro radical comumente observado foi o  $\bullet\text{OOH}$ , a partir do uso da armadilha de spin DMPO, que é produto da protonação do radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) originado pela transferência de elétrons pelo fotossensibilizador no estado excitado para o oxigênio molecular presente na solução. Dessa forma a metodologia se mostrou bastante eficiente e indispensável na identificação e quantificação de ROS de forma geral para a terapia fotodinâmica.

Na área de catálise heterogênea e foto-catálise este trabalho apresentou resultados muito importantes a partir do uso da metodologia de armadilhas de spin e sondas redox em diversos projetos em colaboração, sendo alguns deles destacados no texto. Nesta área a identificação das espécies radicalares envolvidas ao longo do processo, seja durante a iluminação do sistema ou adição de algum precursor, é de vital importância. O uso de materiais semicondutores, como catalisadores, disponibiliza uma separação de cargas entre os elétrons da banda de condução e buracos da banda de valência que promovem a formação de espécies radicalares a partir de interação com o oxigênio molecular, ou moléculas do solvente, de forma muito comum e essencial para a catálise. A fácil identificação de ROS pela metodologia de armadilhas de spin de forma seletiva e estável foi a principal característica que tornou a metodologia propícia na elaboração de mecanismos catalíticos em diversos trabalhos em colaboração. O uso das armadilhas de spin PBN e DMPO foram suficientes na identificação e quantificação de diversos radicais como  $\bullet\text{OH}$ ,  $\bullet\text{OOH}$ ,  $\bullet\text{CH}_3$ ,  $\bullet\text{O}_2$ ,  $\bullet\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\bullet\text{CHOH}$ ,  $\bullet\text{H}$  e outros. Vale uma reflexão pela capacidade de oxidação, quebras moleculares, e outros processos, gerados pelas espécies radicalares estudadas neste trabalho. O que também demonstra que a utilização destas espécies traz importantes aplicações científicas e industriais, seja em degradação/mineralização de poluentes bem como conversões seletivas de compostos. Outro importante resultado na aplicação da metodologia foi a eficiência no uso da sonda redox hidroxil-TEMP na quantificação indireta, para efeito de comparação, do radical  $\bullet\text{O}_2$ .

## REFERÊNCIAS

1. Jose Filho, B. G., Rios, R. D., Bruziquesi, C. G., Ferreira, D. C., Victoria, H. F., Krambrock, K., Pereira, M. C., & Oliveira, L. C. (2021). A promising approach to transform levulinic acid into  $\gamma$ -valerolactone using niobic acid photocatalyst and the accumulated electron transfer technique. *Applied Catalysis B: Environmental*, 285, 119814.
2. Wei, Z., Villamena, F. A., & Weavers, L. K. (2017). Kinetics and mechanism of ultrasonic activation of persulfate: an in situ EPR spin trapping study. *Environmental science & technology*, 51(6), 3410-3417.
3. Dvoranová, D., Barbieriková, Z., & Brezová, V. (2014). Radical intermediates in photoinduced reactions on TiO<sub>2</sub> (an EPR spin trapping study). *Molecules*, 19(11), 17279-17304.
4. Grela, M. A., Coronel, M. E. J., & Colussi, A. J. (1996). Quantitative spin-trapping studies of weakly illuminated titanium dioxide sols. Implications for the mechanism of photocatalysis. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(42), 16940-16946.
5. Hensley, K., Carney, J. M., Mattson, M. P., Aksenova, M., Harris, M., Wu, J. F., Floyd, R. A., & Butterfield, D. A. (1994). A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(8), 3270-3274.
6. Turnbull, S., Tabner, B. J., El-Agnaf, O. M., Twyman, L. J., & Allsop, D. (2001). New evidence that the Alzheimer  $\beta$ -amyloid peptide does not spontaneously form free radicals: an ESR study using a series of spin-traps. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(10), 1154-1162.
7. Kalyanaraman, B., Perez-Reyes, E., & Mason, R. P. (1980). Spin-trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anticancer drugs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 630(1), 119-130.
8. Olea-Azar, C., Rigol, C., Opazo, L., Morello, A., Maya, J. D., Repetto, Y., Aguirre, G., Cerecetto, H., Di Maio, R., González, M., & Porcal, W. (2003). ESR AND SPIN TRAPPING STUDIES OF TWO NEW POTENTIAL NTITRYPANOSOMAL DRUGS. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 48(4), 77-79.
9. Wang, Z., Ma, W., Chen, C., Ji, H., & Zhao, J. (2011). Probing paramagnetic species in titania-based heterogeneous photocatalysis by electron spin resonance (ESR) spectroscopy—a mini review. *Chemical Engineering Journal*, 170(2-3), 353-362.
10. Suzen, S., Gurer-Orhan, H., & Saso, L. (2017). Detection of reactive oxygen and nitrogen species by electron paramagnetic resonance (EPR) technique. *Molecules*, 22(1), 181.
11. Yang, B., Chen, Y., & Shi, J. (2019). Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine. *Chemical reviews*, 119(8), 4881-4985.
12. D'Autréaux, B., & Toledano, M. B. (2007). ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(10), 813-824.
13. Hayyan, M., Hashim, M. A., & AlNashef, I. M. (2016). Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chemical reviews*, 116(5), 3029-3085.

14. Schweitzer, C., & Schmidt, R. (2003). Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical reviews*, 103(5), 1685-1758.
15. Gligorovski, S., Strekowski, R., Barbati, S., & Vione, D. (2015). Environmental implications of hydroxyl radicals ( $\bullet$ OH). *Chemical reviews*, 115(24), 13051-13092.
16. Hashimoto, K., Irie, H., & Fujishima, A. (2005). TiO<sub>2</sub> photocatalysis: a historical overview and future prospects. *Japanese journal of applied physics*, 44(12R), 8269.
17. Gaya, U. I., & Abdullah, A. H. (2008). Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: a review of fundamentals, progress and problems. *Journal of photochemistry and photobiology C: Photochemistry reviews*, 9(1), 1-12.
18. Lu, M. (2013). *Photocatalysis and water purification: from fundamentals to recent applications*. John Wiley & Sons.
19. Maldotti, A., Molinari, A., & Amadelli, R. (2002). Photocatalysis with organized systems for the oxofunctionalization of hydrocarbons by O<sub>2</sub>. *Chemical Reviews*, 102(10), 3811-3836.
20. Roy, S. C., Varghese, O. K., Paulose, M., & Grimes, C. A. (2010). Toward solar fuels: photocatalytic conversion of carbon dioxide to hydrocarbons. *ACS nano*, 4(3), 1259-1278.
21. Maeda, K., & Domen, K. (2010). Photocatalytic water splitting: recent progress and future challenges. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(18), 2655-2661.
22. Hisatomi, T., Kubota, J., & Domen, K. (2014). Recent advances in semiconductors for photocatalytic and photoelectrochemical water splitting. *Chemical Society Reviews*, 43(22), 7520-7535.
23. Stock, N. L., Peller, J., Vinodgopal, K., & Kamat, P. V. (2000). Combinative sonolysis and photocatalysis for textile dye degradation. *Environmental science & technology*, 34(9), 1747-1750.
24. Sakthivel, S., Neppolian, B., Shankar, M. V., Arabindoo, B., Palanichamy, M., & Murugesan, V. (2003). Solar photocatalytic degradation of azo dye: comparison of photocatalytic efficiency of ZnO and TiO<sub>2</sub>. *Solar energy materials and solar cells*, 77(1), 65-82.
25. Ahmed, S., Rasul, M. G., Brown, R., & Hashib, M. A. (2011). Influence of parameters on the heterogeneous photocatalytic degradation of pesticides and phenolic contaminants in wastewater: a short review. *Journal of environmental management*, 92(3), 311-330.
26. Devipriya, S., & Yesodharan, S. (2005). Photocatalytic degradation of pesticide contaminants in water. *Solar energy materials and solar cells*, 86(3), 309-348.
27. Chatzitakis, A., Berberidou, C., Paspaltsis, I., Kyriakou, G., Sklaviadis, T., & Poullos, I. (2008). Photocatalytic degradation and drug activity reduction of chloramphenicol. *Water Research*, 42(1-2), 386-394.
28. El-Kemary, M., El-Shamy, H., & El-Mehasseb, I. (2010). Photocatalytic degradation of ciprofloxacin drug in water using ZnO nanoparticles. *Journal of Luminescence*, 130(12), 2327-2331.
29. Dolmans, D. E., Fukumura, D., & Jain, R. K. (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature reviews cancer*, 3(5), 380-387.

30. Chilakamarthi, U., & Giribabu, L. (2017). Photodynamic therapy: past, present and future. *The Chemical Record*, 17(8), 775-802.
31. Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., Hahn, S. M., Hamblin, M. R., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. C., & Golab, J. (2011). Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(4), 250-281.
32. Baskaran, R., Lee, J., & Yang, S. G. (2018). Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. *Biomaterials research*, 22(1), 1-8.
33. Janzen, E. G., Radicals, S. F., Traps, D., & Historical, A. (2012). A critical review of spin trapping. *Free Radicals in Biology V4*, 4, 115.
34. Janzen, E. G., & Blackburn, B. J. (1968). Detection and identification of short-lived free radicals by an electron spin resonance trapping technique. *Journal of the American Chemical Society*, 90(21), 5909-5910.
35. Likhstenshtein, G. I. (2020). *Nitroxides: Brief History, Fundamentals, and Recent Developments* (Vol. 292). Springer Nature.
36. Berliner, L. J., & Reuben, J. (Eds.). (2012). *Spin labeling: theory and applications* (Vol. 8). Springer Science & Business Media.
37. Forrester, A. R., & Thomson, R. H. (1964). Stable nitroxide radicals. *Nature*, 203(4940), 74-75.
38. Villamena, F. A., & Zweier, J. L. (2004). Detection of reactive oxygen and nitrogen species by EPR spin trapping. *Antioxidants and redox signaling*, 6(3), 619-629.
39. Ouari, O., Hardy, M., Karoui, H., & Tordo, P. (2010). Recent developments and applications of the coupled EPR/Spin trapping technique (EPR/ST). *Electron paramagnetic resonance*, 22, 1-40.
40. Ameta, R., Solanki, M. S., Benjamin, S., & Ameta, S. C. (2018). Photocatalysis. In *Advanced oxidation processes for waste water treatment* (pp. 135-175). Academic Press.
41. Bahruji, H., Bowker, M., Davies, P. R., Al-Mazroai, L. S., Dickinson, A., Greaves, J., James, D., Millard, L., & Pedrono, F. (2010). Sustainable H<sub>2</sub> gas production by photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 216(2-3), 115-118.
42. Li, S. H., Liu, S., Colmenares, J. C., & Xu, Y. J. (2016). A sustainable approach for lignin valorization by heterogeneous photocatalysis. *Green Chemistry*, 18(3), 594-607.
43. Ithisuphalap, K., Zhang, H., Guo, L., Yang, Q., Yang, H., & Wu, G. (2019). Photocatalysis and photoelectrocatalysis methods of nitrogen reduction for sustainable ammonia synthesis. *Small Methods*, 3(6), 1800352.
44. Barciszewska, A. M. (2021). Elucidating of oxidative distress in COVID-19 and methods of its prevention. *Chemico-Biological Interactions*, 344, 109501.
45. N-TERT-BUTYL-ALPHA-PHENYLNITRONE. Chemicalbook. CAS, 3376-24-7. [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB8469861.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB8469861.htm) (accessed 2021-10-21). water solubility obtained from Chemicalbook Services (CAS RN: 3376-24-7).
46. Scarpa, M., Stevanato, R., Viglino, P., & Rigo, A. (1983). Superoxide ion as active intermediate in the autoxidation of ascorbate by molecular oxygen. Effect of superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 258(11), 6695-6697.

47. Hayyan, M., Alakrach, A. M., Hayyan, A., Hashim, M. A., & Hizaddin, H. F. (2017). Superoxide ion as oxidative desulfurizing agent for aromatic sulfur compounds in ionic liquid media. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(2), 1854-1863.
48. Afanas'ev, I. B. (2017). *Superoxide Ion: Chemistry and Biological Implications: Oxygen Radicals in Biology*. CRC press
49. Haseloff, R. F., Mertsch, K., Rohde, E., Baeger, I., Grigor'ev, I. A., & Blasig, I. E. (1997). Cytotoxicity of spin trapping compounds. *FEBS letters*, 418(1-2), 73-75.
50. Schaefer, C. F., Janzen, E. G., West, M. S., Poyer, J. L., & Kosanke, S. D. (1996). Blood chemistry changes in the rat induced by high doses of nitronyl free radical spin traps. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(4), 427-436.
51. Tabner, B. J., Turnbull, S., El-Aganf, O. M. A., & Allsop, D. (2001). Production of reactive oxygen species from aggregating proteins implicated in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 507-517.
52. Zhao, H., Joseph, J., Zhang, H., Karoui, H., & Kalyanaraman, B. (2001). Synthesis and biochemical applications of a solid cyclic nitron spin trap: a relatively superior trap for detecting superoxide anions and glutathyl radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(5), 599-606
53. Frejaville, C., Karoui, H., Tuccio, B., le Moigne, F., Culcasi, M., Pietri, S., Lauricella, R., & Tordo, P. (1994). 5-Diethoxyphosphoryl-5-methyl-1-pyrroline N-oxide (DEPMPO): a new phosphorylated nitron for the efficient In Vitro and In Vivo spin trapping of oxygen-centred radicals. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (15), 1793-1794.
54. Hardy, M., Chalier, F., Ouari, O., Finet, J. P., Rockenbauer, A., Kalyanaraman, B., & Tordo, P. (2007). Mito-DEPMPO synthesized from a novel NH<sub>2</sub>-reactive DEPMPO spin trap: a new and improved trap for the detection of superoxide. *Chemical communications*, (10), 1083-1085.
55. O'Connor, A. E., Gallagher, W. M., & Byrne, A. T. (2009). Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, 85(5), 1053-1074.
56. Vicente, M. G. (2001). Porphyrin-based sensitizers in the detection and treatment of cancer: recent progress. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 1(2), 175-194.
57. He, W., Liu, Y., Wamer, W. G., & Yin, J. J. (2014). Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 49-63.
58. Moan, J., & Wold, E. (1979). Detection of singlet oxygen production by ESR. *Nature*, 279(5712), 450-451.
59. Lion, Y., Delmelle, M., & Van de Vorst, A. (1976). New method of detecting singlet oxygen production. *Nature*, 263(5576), 442-443.
60. Nosaka, Y., Natsui, H., Sasagawa, M., & Nosaka, A. Y. (2006). Electron spin resonance studies on the oxidation mechanism of sterically hindered cyclic amines in TiO<sub>2</sub> photocatalytic systems. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(26), 12993-12999.

61. 2,2,6,6 Tetramethyl-4-piperidinol. Chemicalbook. CAS, 2403-88-5.  
[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB8213644.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB8213644.htm) (accessed 2021-10-21). pKa obtained from Chemicalbook Services (CAS RN: 2403-88-5).
62. Gupta, J., & Bahadur, D. (2018). Defect-mediated reactive oxygen species generation in Mg-substituted ZnO nanoparticles: efficient nanomaterials for bacterial inhibition and cancer therapy. *ACS omega*, 3(3), 2956-2965.
63. Gomes, A., Fernandes, E., & Lima, J. L. (2006). Use of fluorescence probes for detection of reactive nitrogen species: a review. *Journal of fluorescence*, 16(1), 119-139.
64. Carrington, A., & McLachlan, A. D. (1967). *Introduction to magnetic resonance with applications to chemistry and chemical physics*. Harper & Row.
65. Spaeth, J. M., Niklas, J. R., & Bartram, R. H. (2012). *Structural analysis of point defects in solids: an introduction to multiple magnetic resonance spectroscopy* (Vol. 43). Springer Science & Business Media.
66. Cohen-Tannoudji, C., Diu, B., Laloe, F., & Dui, B. (2006). *Quantum Mechanics* (2 vol. set).
67. Nascimento, R. F. D., Lima, A. C. A. D., Barbosa, P. G. A., & Silva, V. P. A. D. (2018). *Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos*.
68. Victória, H. F., Ferreira, D. C., José Filho, B. G., Martins, D. C., Pinheiro, M. V., de AM Sáfar, G., & Krambrock, K. (2022). Detection of singlet oxygen by EPR: The instability of the nitroxyl radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 180, 143-152.
69. da Silveira Santos, F., da Silveira, C. H., Nunes, F. S., Ferreira, D. C., Victória, H. F., Krambrock, K., Chaves, O. A., Rodembusch, F. S., & Iglesias, B. A. (2020). Photophysical, photodynamical, redox properties and BSA interactions of novel isomeric tetracationic peripheral palladium (II)-bipyridyl porphyrins. *Dalton Transactions*, 49(45), 16278-16295.
70. Safar, G. A., Gontijo, R. N., Fantini, C., Martins, D. C., Idemori, Y. M., Pinheiro, M. V., & Krambrock, K. (2015). Enhanced oxygen singlet production by hybrid system of porphyrin and enriched (6, 5) single-walled carbon nanotubes for photodynamic therapy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(8), 4344-4350.
71. Chen, L., Yamane, S., Mizukado, J., Suzuki, Y., Kutsuna, S., Uchimar, T., & Suda, H. (2015). ESR study of singlet oxygen generation and its behavior during the photo-oxidation of P3HT in solution. *Chemical Physics Letters*, 624, 87-92.
72. Song, Y. Z., An, J., & Jiang, L. (1999). ESR evidence of the photogeneration of free radicals (GDHB<sup>-</sup>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>) and singlet oxygen (1O<sub>2</sub>) by 15-deacetyl-13-glycine-substituted hypocrellin B. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1472(1-2), 307-313.
73. Rozantzev, E. G., & Neiman, M. B. (1964). Organic radical reactions involving no free valence. *Tetrahedron*, 20(1), 131-137.
74. Takajo, T., Kurihara, Y., Iwase, K., Miyake, D., Tsuchida, K., & Anzai, K. (2020). Basic Investigations of Singlet Oxygen Detection Systems with ESR for the Measurement of Singlet Oxygen Quenching Activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 68(2), 150-154.

75. Mothilal, K. K., Inbaraj, J. J., Gandhidasan, R., & Murugesan, R. (2004). Photosensitization with anthraquinone derivatives: optical and EPR spin trapping studies of photogeneration of reactive oxygen species. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, *162*(1), 9-16.
76. Yadav, D. K., Kruk, J., Sinha, R. K., & Pospíšil, P. (2010). Singlet oxygen scavenging activity of plastoquinol in photosystem II of higher plants: electron paramagnetic resonance spin-trapping study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1797*(11), 1807-1811.
77. Ando, T., Yoshikawa, T., Tanigawa, T., Kohno, M., Yoshida, N., & Kondo, M. (1997). Quantification of singlet oxygen from hematoporphyrin derivative by electron spin resonance. *Life sciences*, *61*(19), 1953-1959.
78. Nakamura, K., Ishiyama, K., Ikai, H., Kanno, T., Sasaki, K., Niwano, Y., & Kohno, M. (2011). Reevaluation of analytical methods for photogenerated singlet oxygen. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 1107120096-1107120096.
79. Stoll, S., & Schweiger, A. (2006). EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. *Journal of magnetic resonance*, *178*(1), 42-55.
80. Windle, J. J. (1981). Hyperfine coupling constants for nitroxide spin probes in water and carbon tetrachloride. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, *45*(3), 432-439.
81. Heintz, W. (1874). Ammonia derivatives of acetone. *Chemisches Zentralblatt*, 372.
82. Francis, F. (1927). Preparation of triacetoneamine hydrate, *Journal of the Chemical Society*, 2897-2898.
83. Sosnovsky, G., & Konieczny, M. (1977). Preparation of Triacetoneamine, I. *Zeitschrift für Naturforschung B*, *32*(3), 328-337.
84. Vardanyan, R. (2017). *Piperidine-based drug discovery*. Elsevier.
85. Ciriminna, R., & Pagliaro, M. (2010). Industrial oxidations with organocatalyst TEMPO and its derivatives. *Organic Process Research & Development*, *14*(1), 245-251.
86. Wu, H., Song, Q., Ran, G., Lu, X., & Xu, B. (2011). Recent developments in the detection of singlet oxygen with molecular spectroscopic methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *30*(1), 133-141.
87. Chihiro Kurokawa. (2018). *Effects of Hydrogen Peroxide Concentration and Activation Time on Hydroxyl Radical Generation and the Bleaching Effect* (Doctoral dissertation, Universidade de Showa).
88. Symonyan, M. A., & Nalbandyan, R. M. (1979). Generation of superoxide radicals in alkaline solutions of hydrogen peroxide and the effect of superoxide dismutase on this system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *583*(3), 279-286.
89. Koppenol, W. H., & Butler, J. (1977). Mechanism of reactions involving singlet oxygen and the superoxide anion. *FEBS letters*, *83*(1), 1-6.
90. Poupko, R., & Rosenthal, I. (1973). Electron transfer interactions between superoxide ion and organic compounds. *The Journal of Physical Chemistry*, *77*(13), 1722-1724.
91. Konovalova, T. A., Lawrence, J., & Kispert, L. D. (2004). Generation of superoxide anion and most likely singlet oxygen in irradiated TiO<sub>2</sub> nanoparticles modified by carotenoids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, *162*(1), 1-8.

92. Silva, I. F., Teixeira, I. F., Rios, R. D., do Nascimento, G. M., Binatti, I., Victória, H. F., Krambrock, K., Cury, L. A., Teixeira, A. P. C., & Stumpf, H. O. (2021). Amoxicillin photodegradation under visible light catalyzed by metal-free carbon nitride: An investigation of the influence of the structural defects. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123713.
93. Acunha, T. V., Victória, H. F., Krambrock, K., Marques, A. C., Costa, L. A. S., & Iglesias, B. A. (2020). Photophysical and electrochemical properties of two trans-A 2 B-corroles: differences between phenyl or pyrenyl groups at the meso-10 position. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22(29), 16965-16977.
94. José Filho, B. G., Bruziquesi, C. G., Rios, R. D., Castro, A. A., Victória, H. F., Krambrock, K., Mansur, H. S., Siniterra, R. D., Ramalho, T. C., Pereira, M. C., & Oliveira, L. C. (2021). Selective visible-light-driven toxicity breakdown of nerve agent simulant methyl paraoxon over a photoactive nanofabric. *Applied Catalysis B: Environmental*, 285, 119774.
95. Della Rocca, D. G., Victoria, H. F., Moura-Nickel, C. D., Scaratti, G., Krambrock, K., De Noni, A., Vilar, V. J. P., José, H. J., & Moreira, R. F. (2021). Peroxidation and photo-peroxidation of pantoprazole in aqueous solution using silver molybdate as catalyst. *Chemosphere*, 262, 127671.
96. Andrade, P. H., Gomes, A. L., Palhares, H. G., Volkringer, C., Moissette, A., Victória, H. F., Hatem, N. M. A., Krambrock, K., Houmard, M., & Nunes, E. H. (2022). Post-synthetic modification of aluminum trimesate and copper trimesate with TiO<sub>2</sub> nanoparticles for photocatalytic applications. *Journal of Materials Science*, 57(7), 4481-4503.
97. Alcamand, H., Oliveira, H., Gabriel, J., Bruziquesi, C., Oliveira, L., Gonçalves, B., Victória, H. F., Krambrock, K., Houmard, M., & Nunes, E. (2022). Environmentally friendly synthesis of imine using LaMnO<sub>3</sub> as a catalyst under continuous flow conditions. *Materials Letters*, 316, 132053.
98. Quadrado, R. F., Vitoria, H. F., Ferreira, D. C., Krambrock, K., Moreira, K. S., Burgo, T. A., Iglesias, B. A., & Fajardo, A. R. (2022). Hybrid polymer aerogels containing porphyrins as catalysts for efficient photodegradation of pharmaceuticals in water. *Journal of Colloid and Interface Science*, 613, 461-476.
99. Tisoco, I., Donatoni, M. C., Victória, H. F. V., de Toledo, J. R., Krambrock, K., Chaves, O. A., de Oliveira, K. T., & Iglesias, B. A. (2022). Photophysical, photooxidation, and biomolecule-interaction of meso-tetra (thienyl) porphyrins containing peripheral Pt (ii) and Pd (ii) complexes. Insights for photodynamic therapy applications. *Dalton Transactions*, 51(4), 1646-1657.
100. Fraga, F. C., Della Rocca, D. G., José, H. J., Victória, H. F., José Filho, B. G., Krambrock, K., Castellón, E. R., & Moreira, R. D. F. P. M. (2022). Evaluation of reactive oxygen species and photocatalytic degradation of ethylene using  $\beta$ -Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> composites. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 114102.
101. Jose Filho, B. G., Gomes, G. H. M., Silva, I. F., Rios, R. D. F., D., Victoria, H. F., Krambrock, K., Pereira, M. C., & Oliveira, L. C. (2022). Photocatalytic reduction of levulinic acid using thermally modified niobic acid. *Chemical Engineering Journal*, 137935.
102. Barata, J. F., Neves, M. G. P., Faustino, M. A. F., Tomé, A. C., & Cavaleiro, J. A. (2017). Strategies for corrole functionalization. *Chemical reviews*, 117(4), 3192-3253.

103. Teo, R. D., Hwang, J. Y., Termini, J., Gross, Z., & Gray, H. B. (2017). Fighting cancer with corroles. *Chemical reviews*, 117(4), 2711-2729.
104. Aviezer, D., Cotton, S., David, M., Segev, A., Khaselev, N., Galili, N., Gross, Z., & Yayon, A. (2000). Porphyrin analogues as novel antagonists of fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor receptor binding that inhibit endothelial cell proliferation, tumor progression, and metastasis. *Cancer Research*, 60(11), 2973-2980.
105. Liang, X., Mack, J., Zheng, L. M., Shen, Z., & Kobayashi, N. (2014). Phosphorus (V)-corrole: Synthesis, spectroscopic properties, theoretical calculations, and potential utility for in vivo applications in living cells. *Inorganic chemistry*, 53(6), 2797-2802.
106. Velásquez, A., Souza, R. A. D., Passalacqua, T. G., Ribeiro, A. R., Scontri, M., Chin, C. M., de Almeida, L., Del Cistia, M. L., da Rosa, J. A., Mauro, A. E., & Graminha, M. A. (2016). Antiprotozoal activity of the cyclopalladated complexes against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27, 1032-1039.
107. Basso, G., Cargnelutti, J. F., Oliveira, A. L., Acunha, T. V., Weiblen, R., Flores, E. F., & Iglesias, B. A. (2019). Photodynamic inactivation of selected bovine viruses by isomeric cationic tetraplatinated porphyrins. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 23(09), 1041-1046.
108. Saprín, A. N., & Piette, L. H. (1977). Spin trapping and its application in the study of lipid peroxidation and free radical production with liver microsomes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 180(2), 480-492.
109. Steiner, M. G., & Babbs, C. F. (1990). Quantitation of the hydroxyl radical by reaction with dimethyl sulfoxide. *Archives of biochemistry and biophysics*, 278(2), 478-481.
110. Dabestani, R., Reszka, K. J., Davis, D. G., Sik, R. H., & Chignell, C. F. (1991). SPECTROSCOPIC STUDIES OF CUTANEOUS PHOTOSENSITIZING AGENTS—XVI. ISPERSE BLUE 35. *Photochemistry and photobiology*, 54(1), 37-42.
111. Mason, R. P., Hanna, P. M., Burkitt, M. J., & Kadiiska, M. B. (1994). Detection of oxygen-derived radicals in biological systems using electron spin resonance. *Environmental health perspectives*, 102(suppl 10), 33-36.
112. Xue, J., Ma, S., Zhou, Y., Zhang, Z., & He, M. (2015). Facile photochemical synthesis of Au/Pt/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> with plasmon-enhanced photocatalytic activity for antibiotic degradation. *ACS applied materials & interfaces*, 7(18), 9630-9637.
113. Moura, F. C., Rios, R. D., & Galvão, B. R. (2018). Emerging contaminants removal by granular activated carbon obtained from residual Macauba biomass. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(26), 26482-26492.
114. Byrne, J. A., & Eggins, B. R. (1998). Photoelectrochemistry of oxalate on particulate TiO<sub>2</sub> electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 457(1-2), 61-72.
115. de García, S. O., Pinto, G. P., Encina, P. G., & Mata, R. I. (2013). Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. *Science of the Total Environment*, 444, 451-465.

116. Ledwith, A., Russell, P., & Sutcliffe, L. H. (1973). Alkoxy radical intermediates in the thermal and photochemical oxidation of alcohols. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 332(1589), 151-166.
117. Katz, M. J., Mondloch, J. E., Totten, R. K., Park, J. K., Nguyen, S. T., Farha, O. K., & Hupp, J. T. (2014). Simple and compelling biomimetic metal-organic framework catalyst for the degradation of nerve agent simulants. *Angewandte Chemie*, 126(2), 507-511.
118. Bobbitt, N. S., Mendonca, M. L., Howarth, A. J., Islamoglu, T., Hupp, J. T., Farha, O. K., & Snurr, R. Q. (2017). Metal-organic frameworks for the removal of toxic industrial chemicals and chemical warfare agents. *Chemical Society Reviews*, 46(11), 3357-3385.
119. Tang, X., Zeng, X., Li, Z., Hu, L., Sun, Y., Liu, S., Lei, T., & Lin, L. (2014). Production of  $\gamma$ -valerolactone from lignocellulosic biomass for sustainable fuels and chemicals supply. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 608-620.
120. Moustani, C., Anagnostopoulou, E., Krommyda, K., Panopoulou, C., Koukoulakis, K. G., Bakeas, E. B., & Papadogianakis, G. (2018). Novel aqueous-phase hydrogenation reaction of the key biorefinery platform chemical levulinic acid into  $\gamma$ -valerolactone employing highly active, selective and stable water-soluble ruthenium catalysts modified with nitrogen-containing ligands. *Applied Catalysis B: Environmental*, 238, 82-92.
121. Kuwahara, Y., Kango, H., & Yamashita, H. (2017). Catalytic transfer hydrogenation of biomass-derived levulinic acid and its esters to  $\gamma$ -valerolactone over sulfonic acid-functionalized UiO-66. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(1), 1141-11.
122. Jenkins, C., Murphy, D., Rowlands, C., & Egerton, T. (1997). EPR study of spin-trapped free radical intermediates formed in the heterogeneously-assisted photodecomposition of acetaldehyde. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (12), 2479-2486.
123. Britigan, B. E., Pou, S., Rosen, G. M., Lilleg, D. M., & Buettner, G. R. (1990). Hydroxyl radical is not a product of the reaction of xanthine oxidase and xanthine. The confounding problem of adventitious iron bound to xanthine oxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 265(29), 17533-17538.
124. Buettner, G. R. (1987). Spin Trapping: ESR parameters of spin adducts 1474 1528V. *Free radical biology and medicine*, 3(4), 259-303.

Cite this: *Dalton Trans.*, 2020, 49, 16278

## Photophysical, photodynamical, redox properties and BSA interactions of novel isomeric tetracationic peripheral palladium(II)-bipyridyl porphyrins†

Fabiano da Silveira Santos,<sup>a</sup> Carolina H. da Silveira,<sup>b</sup> Fábio Souza Nunes,<sup>c</sup> Daniele C. Ferreira,<sup>d</sup> Henrique F. V. Victória,<sup>d</sup> Klaus Krambrock,<sup>d</sup> Otávio A. Chaves,<sup>e</sup> Fabiano S. Rodembusch<sup>ib</sup> <sup>a</sup> and Bernardo A. Iglesias<sup>ib</sup> <sup>\*b</sup>

New isomeric tetra-cationic porphyrins containing peripheral [Pd(bpy)Cl]<sup>+</sup> units attached to pyridyl substituents were synthesized and fully characterized. The porphyrins present an intense Soret band located in the blue spectral region and an additional four weaker red-shifted Q bands in the visible spectral region (about 500–700 nm). The obtained Strickler–Berg parameters indicate fully spin and symmetry allowed transitions for all the observed absorption bands. Both porphyrins present two fluorescence emission bands, an intense one located around 650 nm and an additional weak red-shifted emission at ~710 nm. Fluorescence decay time profiles were obtained showing bi-exponential decay. The interaction of the porphyrins with bovine serum albumin (BSA) was studied in detail by a fluorescence quenching method and molecular docking analysis. In addition, the photodynamical activity of the porphyrins in the photooxidation of BSA was determined and compared with the light-induced formation of reactive oxygen species (ROS) by electron paramagnetic resonance (EPR) allied with the spin trapping method. The results show that the Pd(II)-bipyridyl tetra-cationic porphyrins are promising candidates for the photooxidation of biological substrates used in photodynamic therapy (PDT).

Received 20th March 2020,  
Accepted 1st May 2020DOI: 10.1039/d0dt01063d  
rsc.li/dalton

### Introduction

Porphyrins are widely used as sensitizers in photodynamic therapy (PDT) and in photoinactivation of microorganisms (a-PDT), which is mainly due to their good photostability, high singlet oxygen yield and their specific interaction with biomolecules.<sup>1</sup> Different physical and chemical factors determine their use for specific applications in PDT such as charge, aggregation state and hydrophobicity.<sup>2</sup> The formation of reac-

tive oxygen species (ROS) is the fundamental role in photodynamic processes since this technique uses a combination of photosensitizer, oxygen and light to produce reactive species. Among the reaction mechanisms are type I mechanism that produces species such as hydroxyl (<sup>•</sup>OH) and superoxide (<sup>•</sup>O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radicals and type II mechanism that generates mainly singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>).<sup>3,4</sup> Being highly reactive, ROS can oxidize biological substrates such as DNA, proteins and other organic compounds.<sup>5–8</sup>

Since the activity of cisplatin molecules on tumor cells was discovered, other species were tested and evaluated for their ability to interact with DNA. Thus, since palladium(II) compounds belong to the platinum family, with quadratic-planar geometry, structurally similar to cisplatin, such compounds may be used to evaluate the effect of their presence on the interaction with biomolecules.<sup>10,11</sup> According to the literature, derivatives containing Pd(II) ions generate reactive oxygen species and have interesting activities against microorganisms such as bacteria and fungi strains. In this way, Navarro and collaborators in 2008 reported the anti-leishmanial activity of Pd(II) derivatives containing coordinated polypyridyl ligands in the metal center.<sup>12</sup> In 2016, Velásquez and co-workers reported the activity of cyclopalladated complexes against

<sup>a</sup>Grupo de pesquisa em Fotoquímica Orgânica Aplicada, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>b</sup>Laboratório de Bioinorgânica e Materiais Porfirínicos, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Av. Roraima 1000, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: bernardopga@gmail.com

<sup>c</sup>Departamento de Química, Universidade Federal Do Paraná, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil

<sup>d</sup>Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>e</sup>Instituto SENAI de Inovação em Química Verde, Rua Moraes e Silva Nº 53, Maracanã, 20271030 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/D0DT01063D



Cite this: *Phys. Chem. Chem. Phys.*,  
2020, 22, 16965

## Photophysical and electrochemical properties of two *trans*-A<sub>2</sub>B-corroles: differences between phenyl or pyrenyl groups at the *meso*-10 position†

Thiago V. Acunha,<sup>a</sup> Henrique F. V. Victória,<sup>b</sup> Klaus Krambrock,<sup>b</sup>  
Amanda C. Marques,<sup>c</sup> Luiz Antônio S. Costa  and Bernardo A. Iglesias \*<sup>a</sup>

The present study reports on the optical and photophysical properties of *trans*-A<sub>2</sub>B-corroles possessing pyrenyl units attached at the *meso*-10-position and compares them with those of model *trans*-A<sub>2</sub>B-corroles having phenyl substituents at that position. In contrast to the model *meso*-substituted corrole, the new pyrenyl-corrole shows slightly red-shifted absorption bands and blue-shifted emission, slightly higher fluorescence quantum yield, and more importantly, it shows better photo-stability under white-light illumination. Theoretical calculations were used to determine the electronic transitions and geometries of the singlet and triplet excited states (TD-DFT and NTO). Moreover, we demonstrate that the pyrenyl-corrole in analogy to previously studied model corroles is able to generate reactive oxygen species (ROS) under visible light using photo-degradation of 1,3-diphenylisobenzofuran (DBPF), a singlet oxygen quencher, and EPR spectroscopy allied with the spin-trapping method is used for identifying singlet oxygen species. The results show that the pyrenyl unit attached at the *meso*-10-position of the corrole increases the photo-stability and efficiency in ROS generation compared to the phenyl substituent.

Received 2nd May 2020,  
Accepted 1st July 2020

DOI: 10.1039/d0cp02364g

rsc.li/pccp

### Introduction

The corrole molecular structure is quite similar to that of porphyrin, with four molecules of pyrrole. However, the absence of *meso*-carbon in the macrocycle structure causes a direct pyrrole–pyrrole bond and alters other conformational and electronic properties.<sup>1</sup> Corroles are aromatic molecules because they have 18 delocalized p-electrons and satisfy the Hückel's rule.<sup>2</sup> These characteristics endow the corrole derivatives with properties, which can be appreciated for specific purposes, such as medicinal,<sup>3,4</sup> biological,<sup>5–8</sup> photobiological,<sup>9–11</sup> material chemistry,<sup>12,13</sup> and photophysical applications.<sup>14–17</sup>

The synthesis of *meso*-substituted corroles was first reported by Gross *et al.*<sup>18,19</sup> and Paolesse *et al.*<sup>20</sup> in 1999, who used

pentafluorinated aldehydes (C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>) and pyrroles as starting materials. Later, Gryko *et al.* synthesized *meso*–*trans*-substituted corroles using aromatic aldehydes and dipyrromethane<sup>21,22</sup> and Koszarna *et al.* synthesized *meso*–*trans*-substituted corroles in two-steps using a mixture of MeOH : H<sub>2</sub>O (1 : 1) as the solvent and tetrachloro-1,4-benzoquinone (*p*-chloranil) as the oxidizing agent.<sup>23,24</sup>

Regarding the photophysical properties, the UV-visible spectra of corroles present electronic transitions quite similar to those of porphyrin analogues. The observed bands correspond to the electronic transitions between four frontier orbitals of the macrocyclic ring of corrole, as postulated in the past by Gouterman in 1961.<sup>25</sup> In general, the Soret band or B-band, which has high intensity, is commonly observed in the 400–450 nm range. Other electronic transitions, however, of lower intensities, are also observed in the 500–700 nm range (Q bands).<sup>23,26</sup> In a similar way to porphyrins, the presence of 18-p-conjugated electrons, low symmetry, and electronic properties of the substituents in the corrole structure enable fluorescence properties and characteristic fluorescence emission with two electronic transitions in the 600–800 nm range<sup>21,27,28</sup> is expected to appear. If energetically possible, the corroles, in their excited state, can perform an intersystem crossing process, which occurs from the excited state (S<sub>1</sub>) to the triplet state (T<sub>1</sub>).<sup>29,30</sup> From this excited state,

<sup>a</sup> Laboratório de Biomorgânica e Materiais Porfirínicos, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Av. Roraima 1000, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: bernardopgg@gmail.com

<sup>b</sup> Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> NEQC – Núcleo de Estudos em Química Computacional, Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Campus Universitário s/n, 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d0cp02364g



Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)

## Peroxidation and photo-peroxidation of pantoprazole in aqueous solution using silver molybdate as catalyst



Daniela G. Della Rocca <sup>a</sup>, Henrique F.V. Victória <sup>b</sup>, Camilla Daniela Moura-Nickel <sup>a</sup>,  
Gidiane Scaratti <sup>a</sup>, Klaus Krambrock <sup>b</sup>, Agenor De Noni <sup>a</sup>, Vítor J.P. Vilar <sup>c</sup>,  
Humberto Jorge José <sup>a</sup>, Regina F.P.M. Moreira <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Energy and Environment (LEMA), Department of Chemical and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina (UFSC), 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil

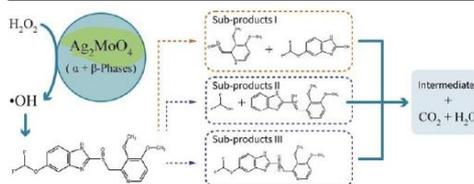
<sup>b</sup> Department of Physics, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Laboratory of Separation and Reaction Engineering - Laboratory of Catalysis and Materials (LSRE-LCM), Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Porto, Rua Do Dr. Roberto Frias, 4200-465, Porto, Portugal

### h i g h l i g h t s

- Facile synthesis of  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  with both **a** and **b**-phases.
- **a**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ , **b**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  catalyst showed photocatalytic activity under visible light.
- Efficient oxidation of pantoprazole by catalytic peroxidation with  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ .
- Mechanistic route for pantoprazole degradation via  $\cdot\text{OH}$  radicals is proposed.
- Almost complete toxicity removal of PAN and its by-products was observed in 2 h.

### g r a p h i c a l a b s t r a c t



### a r t i c l e i n f o

#### Article history:

Received 17 April 2020

Received in revised form

25 June 2020

Accepted 9 July 2020

Available online 11 August 2020

Handling Editor: Jun Huang

#### Keywords:

 $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ 

Photocatalysis

### a b s t r a c t

In this study, silver molybdate was used as a catalyst in different oxidation processes to degrade pantoprazole (PAN) from aqueous suspension. The catalyst was synthesized using a controlled precipitation method and characterized by XRD, FTIR spectroscopy, BET analysis, Zeta potential, FEG-SEM/EDS, DRS and EPR. The **a**- and **b**-phases of  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  were identified as crystalline structure of the butterfly-shaped particles. The metastable **a**-phase could be completely converted into **b**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  by thermal treatment at 300 °C. The band gap energy of **b**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$  ( $E_g \approx 3.25$  eV) is slightly higher than for as-prepared catalyst (**a**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ , **b**- $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ) ( $E_g \approx 3.09$  eV), suggesting that as-prepared catalyst should be active under visible light. PAN is sensible to UV light irradiation, and the addition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  as electron acceptor enhanced the mineralization rate. In the catalytic UV-based reactions, high PAN oxidation efficiencies were obtained (>85%) but with low mineralization (32–64%). Catalytic peroxidation and photocatalytic peroxidation under visible light showed the highest PAN oxidation efficiency, leading to its

**Abbreviations:**  $\cdot\text{OH}$ , Hydroxyl radical;  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ , Silver molybdate; AOP, Advanced oxidation processes; DMPO, 5,5-dimethyl-pyrroline N-oxide; DRS, UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy; DTA, Differential thermal analysis;  $E_{cb}$ , Conduction band energy; EDS, Energy dispersive spectrometer;  $E_g$ , Band gap energy; EPR, Electron paramagnetic resonance;  $E_{vb}$ , Valence band energy; FEG-SEM, Field emission gun scanning electron microscopy; FTIR, Fourier transform infrared spectroscopy; PAN, Pantoprazole; PBN, alpha-phenyl N-tertiary-butyl nitron; PVP, Polyvinylpyrrolidone; ROS, Reactive oxygen species;  $S_{BET}$ , Brunauer-Emmett-Teller surface area; TEMP, 2,2,6,6-tetramethylpiperidine; TGA, Thermogravimetric analysis; TOC, Total organic carbon; UV, Ultraviolet; Vis, Visible;  $V_p$ , Total pore volume; XRD, X-ray diffraction.

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [daniela.gier.dellarocca@grad.ufsc.br](mailto:daniela.gier.dellarocca@grad.ufsc.br) (D.G. Della Rocca), [henrivic@hotmail.com](mailto:henrivic@hotmail.com) (H.F.V. Victória), [camillanickel@gmail.com](mailto:camillanickel@gmail.com) (C.D. Moura-Nickel), [gidiane@gmail.com](mailto:gidiane@gmail.com) (G. Scaratti), [klaus@fisica.ufmg.br](mailto:klaus@fisica.ufmg.br) (K. Krambrock), [agenorjunior@ufsc.br](mailto:agenorjunior@ufsc.br) (A. De Noni), [vilar@fe.up.pt](mailto:vilar@fe.up.pt) (V.J.P. Vilar), [humbertojose@ufsc.br](mailto:humbertojose@ufsc.br) (H.J. José), [regina.moreira@ufsc.br](mailto:regina.moreira@ufsc.br), [regina.moreira@enq.ufsc.br](mailto:regina.moreira@enq.ufsc.br) (R.F.P.M. Moreira).

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127671>

0045-6535/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Hazardous Materials

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jhazmat](http://www.elsevier.com/locate/jhazmat)

## Amoxicillin photodegradation under visible light catalyzed by metal-free carbon nitride: An investigation of the influence of the structural defects

Ingrid F. Silva<sup>a</sup>, Ivo F. Teixeira<sup>b</sup>, Regiane D.F. Rios<sup>a</sup>, Gustavo M. do Nascimento<sup>c</sup>,  
 Ildefonso Binatti<sup>d</sup>, Henrique F.V. Victória<sup>e</sup>, Klaus Krambrock<sup>e</sup>, Luiz A. Cury<sup>e</sup>,  
 Ana Paula C. Teixeira<sup>a,\*</sup>, Humberto O. Stumpf<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 13565-905, Brazil

<sup>c</sup> Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH), Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, 09210-580, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Química, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 30421-169, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>e</sup> Departamento de Física, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

### ARTICLE INFO

Editor: L. Eder

**Keywords:**  
 Carbon nitrides  
 Metal-free  
 Amoxicillin  
 Visible region  
 Photocatalysis

### ABSTRACT

Herein, the structural defects of metal-free polymeric carbon nitrides were controlled by making use of different precursors in their syntheses, i.e. melamine (CN-M) and thiourea (CN-T), as well as a 1:1 mixture of them (CN-1M:1 T). By controlling the structural defects, the electronic, morphological and chemical properties were modified. Additionally, the activities of synthesized PCNs were evaluated for amoxicillin photodegradation under visible light irradiation (16 mW cm<sup>-2</sup>). The results of photocatalytic tests showed that CN-T material has better efficiency (100 % removal within 48 h), which is directly related to the greater number of defects present in its structure with consequent improvement of electron-hole pairs separation efficiency. The CN-T material showed excellent stability with only 13 % decrease in its photocatalytic activity after the third cycle. A mechanism for amoxicillin degradation by CN-T was proposed based on the ESI-MS and the *in situ* EPR allied with spin trapping method investigations.

### 1. Introduction

Environmental pollution is a recurring problem facing humankind, which hinders sustainable development and represents a threat to human health and life (Ong et al., 2016). Contaminants of emerging concerns (CECs) are a class of pollutants that are not removed or eliminated by conventional water treatment for human consumption and are not regulated by current environmental laws (Sauvé and Desrosiers, 2014). CECs are considered "emergent" since there is little information in literature about the possible problems that they could cause to human health and the environment. Examples of CECs are pesticides, nanoparticles, pharmaceuticals, synthetic hormones, flame retardants, plasticizers, and others (Sauvé and Desrosiers, 2014). Among the commonly encountered CECs, antibiotics have attracted considerable attention due to their continued overuse in humans, livestock and aquaculture, their presence in wastewater and their harmful effects on living ecosystems (Xue et al., 2015). These drugs are released into the aquatic environment

through various sources, such as the pharmaceutical industry, hospital effluents, excretion of humans and animals, inadequate drug disposal in landfills and sewage networks causing environmental pollution (Xue et al., 2015; Pinto et al., 2019). Antibiotic residues in aqueous systems have the potential to induce negative environmental effects, even at low concentrations, including antibiotic resistance, ecosystem disturbances and possible risks to human health through potable water and the food chain (Xue et al., 2015; Moura et al., 2018).

In this context, with the objective to enable sustainable economic growth, preserving the environment, photocatalytic degradation of pollutants and environmental remediation are important concerns (Ong et al., 2016; Lin et al., 2020; Lin et al., 2019a; Lin et al., 2019b; Lin et al., 2018; Colombari et al., 2020). Semiconductor-mediated photocatalysis has become the focus of recent research on antibiotic waste treatment because it is a green and efficient technology compared to conventional techniques (Ong et al., 2016; Cao et al., 2015; Teixeira et al., 2018). Due to their electronic structure and unique physicochemical properties,

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [stumpf@ufmg.br](mailto:stumpf@ufmg.br) (H.O. Stumpf).

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123713>

Received 19 May 2020; Received in revised form 10 August 2020; Accepted 11 August 2020

Available online 19 August 2020

0304-3894/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Catalysis B: Environmental

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/apcatb](http://www.elsevier.com/locate/apcatb)

## Selective visible-light-driven toxicity breakdown of nerve agent simulant methyl paraoxon over a photoactive nanofabric

José B.G. Filho<sup>a</sup>, Carlos G.O. Bruziquesi<sup>a</sup>, Regiane D.F. Rios<sup>a</sup>, Alexandre A. Castro<sup>d</sup>, Henrique F. V. Victória<sup>b</sup>, Klaus Krambrock<sup>b</sup>, Alexandra A.P. Mansur<sup>c</sup>, Herman S. Mansur<sup>c</sup>, Ruben D. Siniterra<sup>a</sup>, Teodorico C. Ramalho<sup>d</sup>, Márcio C. Pereira<sup>e</sup>, Luiz C.A. Oliveira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>b</sup> Department of Physics, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Department of Metallurgical and Materials Engineering, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>d</sup> Department of Chemistry, Federal University of Lavras (UFLA), 37200-900, Lavras, MG, Brazil

<sup>e</sup> Institute of Science, Engineering and Technology, Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM), 39803-371, Teófilo Otoni, MG, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Visible light photocatalysis  
Electrospinning  
Nanofibers  
Chemical warfare degradation  
Nanofabric

### ABSTRACT

An efficient photocatalytic nanofabric (NbOFe-NF) based on polycaprolactone (PCL) and immobilized iron niobate (NbOFe) nanoparticles was produced through the electrospinning technique and applied to the photodegradation of methyl paraoxon (MP), a highly neurotoxic chemical warfare simulant. Photocatalytic tests were conducted in the absence of any solvent, relying only on the fabric, substrate, and visible light radiation. As a result, an excellent conversion of 94.5 % of MP was obtained in 48 h of photocatalysis. Furthermore, the photoactive nanofabric proved to be extremely selective, converting MP and its original organophosphate product into less toxic compounds. This entire process was exclusively photocatalytic, through  $h^+$  and OH produced from ambient humidity.

### 1. Introduction

Compounds with highly harmful health effects have been used as a weapon since man began to understand the chemical nature [1]. Despite the scars left by these powerful weapons in world wars, even today, their use is stimulated by geopolitical conflicts. Recent episodes in Syria have left global authorities concerned about the chemical warfare agents (CWA). In April 2017, the United Nations reported that the Syrian government used sarin gas, an extremely toxic synthetic organophosphorus compound with chemical formula  $C_4H_{10}FO_2P$ , to attack the oppositionists in the city of Khan Sheikhun, where it left 87 fatalities and more than 300 injured [2]. These types of terrorist attacks are unpredictable, fatal, and all nations are vulnerable to them. Furthermore, there are still no technologies to efficiently protect civilians or soldiers from chemical warfare skin exposure [3,4].

Heterogeneous photocatalysis has shown to be one of the most promising techniques for the destruction of CWA since it is possible to use solar light as a trigger for this process [5–7]. However, few materials have good photoactivity under visible light irradiation, which

corresponds to the largest fraction of the solar spectrum [8–10]. Another obstacle is the disposal of solids in the form of suspension, which dramatically limits their application [11,12]. Studies have been carried out for the immobilization of heterogeneous photocatalysts in polymeric materials targeting the destruction of toxic compounds [4,11,13–19]. Despite the publications on the subject, there is no work in the literature using a photoactive nanofabric built by the electrospinning technique for the degradation of CWA in the absence of solvents (i.e. only the substrate, polymeric matrix and semiconductor), only in this way is it possible to approach a real chemical attack and evaluate the nanofabric activity in the detoxification of these deadly compounds.

Based on such premises, an amorphous photocatalyst with bandgap energy in the visible range of the solar spectrum, the NbOFe, was synthesized and immobilized on PCL nanofibers through the electrospinning technique. The resulting photocatalytic nanofabric, the NbOFe-NF, was applied to the visible photodegradation (without any solvent) of MP, its products were detected by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and the reaction mechanism was determined by theoretical calculations and EPR measurements allied to the

\* Corresponding author.

E-mail address: [leao@ufmg.br](mailto:leao@ufmg.br) (L.C.A. Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.119774>

Received 20 June 2020; Received in revised form 26 November 2020; Accepted 28 November 2020

Available online 9 December 2020

0926-3373/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Catalysis B: Environmental

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/apcatb](http://www.elsevier.com/locate/apcatb)

## A promising approach to transform levulinic acid into $\gamma$ -valerolactone using niobic acid photocatalyst and the accumulated electron transfer technique

José B.G. Filho<sup>a,\*</sup>, Regiane D.F. Rios<sup>a</sup>, Carlos G.O. Bruziquesi<sup>a</sup>, Daniele C. Ferreira<sup>b</sup>, Henrique F.V. Victória<sup>b</sup>, Klaus Krambrock<sup>b</sup>, Márcio C. Pereira<sup>c</sup>, Luiz C.A. Oliveira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>b</sup> Department of Physics, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Institute of Science, Engineering, and Technology, Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM), 39803-371, Teófilo Otoni, MG, Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Photocatalysis  
Biomass conversion  
 $\gamma$ -valerolactone  
Photoreduction  
Accumulated  
Electron transfer

### ABSTRACT

The photocatalytic production of  $\gamma$ -valerolactone (GVL) from levulinic acid (LA) was performed using the UV-assisted accumulated electron transfer technique. For this purpose, a commercial niobic acid (HY-340) produced by Companhia Brasileira Metalurgia e Mineralurgia (CBMM) was used as photocatalyst. HY-340 showed higher efficiency in ethanol (a hole scavenger) and additional contact time with the substrate (48 h in the dark) after the reaction under UV light. Longer illumination time leads to the conversion of by-products to GVL with maximum selectivity of 44.7%. Electron paramagnetic resonance (EPR) measurements allied with the spin trapping method indicated the reduction process occurs through the transfer of H<sup>•</sup>. Finally, O<sub>2</sub> pulse titration was developed to quantify the electrons accumulated in the HY-340 conduction band. From this experiment, a significant TOF value was calculated to  $3.3 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  considering that experiments were conducted at room temperature and ambient pressure.

### 1. Introduction

For several centuries, derivatives of fossil compounds have been supplying our demand for energy and chemicals. Despite this, little is known about the longevity of its reserves, and the scarcity of non-renewable sources can intensify the geopolitical frictions [1–4]. The chemical conversion of lignocellulosic biomass is one of the most sustainable alternatives to fossil inputs since this feedstock can be extracted from non-edible biomass as crop wastes [5–8]. Plant biomass is composed of lignin, cellulose, and hemicellulose. Cellulose and hemicellulose represent the most substantial fraction of lignocellulosic biomass, reaching up to 50% and 35% of their composition, respectively. Their polymeric structures are composed of carbohydrates that, in their monomeric form, can be easily converted into platform molecules [6,7,9,10].

In 2004, the United States Department of Energy published the "Top Value-Added Chemicals From Biomass," a document that lists the platform molecules with the highest potential for producing a family of chemicals with commercial value. Among the listed molecules is levulinic acid (LA) that can be produced from both C5 and C6 sugars and

converted to downstream products like  $\gamma$ -valerolactone (GVL) [11–13]. GVL is a colorless, stable, and low vapor pressure liquid. These and other properties give GVL a broad spectrum of applications ranging from green solvent to fuel additive [4,7,14,15]. The synthesis of higher GVL yield from LA consists of two steps: i) reduction of LA to  $\gamma$ -hydroxyvaleric acid (GHV), and ii) Fischer esterification (or intra-esterification) of GHV to GVL [9,13,16] (Figure S1).

The limiting step is the selective reduction of the LA carbonyl group [3–5]. Usually, H<sub>2</sub> is used to hydrogenate the LA into GVL catalytically. However, noble metals, toxic and unstable complexes, and high hydrogen pressures are required, which makes the process expensive, dangerous, and less sustainable [2,8,10,15,17–19]. Acidity-catalyzed reactions such as the Meerwein-Ponndorf-Verley reduction (MPV) and catalytic transfer hydrogenation (CTH) has been extensively studied as an alternative to conventional catalytic hydrogenation [4,6,15,16, 20–22]. Despite that, these reactions demand temperature, and good yields are limited to the use of secondary alcohols. Hence, it becomes necessary to develop new alternatives for selective reduction. Heterogeneous photocatalysis has been a topic widely studied since the publication by Fujishima and Honda in 1972 [23]. As heterogeneous

\* Corresponding authors at: Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil.  
E-mail addresses: [balenagabriel@gmail.com](mailto:balenagabriel@gmail.com) (J.B.G. Filho), [leao.ufmg@gmail.com](mailto:leao.ufmg@gmail.com) (L.C.A. Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.119814>

Received 5 October 2020; Received in revised form 20 November 2020; Accepted 4 December 2020

Available online 10 December 2020

0926-3373/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Cite this: *Dalton Trans.*, 2022, 51,  
1646

## Photophysical, photooxidation, and biomolecule- interaction of *meso*-tetra(thienyl)porphyrins containing peripheral Pt(II) and Pd(II) complexes. Insights for photodynamic therapy applications†

Isadora Tisoco,<sup>a</sup> Maria Carolina Donatoni,<sup>b</sup> Henrique Fernandes Vieira Victória,<sup>c</sup>  
José Roberto de Toledo,<sup>c</sup> Klaus Krambrock,<sup>c</sup> Otávio Augusto Chaves,<sup>d</sup>  
Kleber Thiago de Oliveira and Bernardo Almeida Iglesias \*<sup>a</sup>

We report the synthesis and characterization of two novel tetra-cationic porphyrins, containing Pt(II) or Pd(II) polypyridyl complexes attached at the peripheral position of N<sub>4</sub>-macrocycle. Compounds were characterized through elemental analysis, molar conductivity, cyclic voltammetry, and spectroscopy analysis. Photophysical and photobiological parameters were also evaluated. Also, the binding capacity of each porphyrin with human serum albumin (HSA) was determined by UV-Vis, steady-state, and time-resolved fluorescence spectroscopy, combined with molecular docking calculations. The results suggest that the interaction of these compounds is spontaneous, weak to moderate, and probably occurs at site III (subdomain IB) by non-covalent forces, including van der Waals and H-bonding. Moreover, porphyrins containing peripheral complexes improve their interactions with biomolecules, show good photostability, generate reactive oxygen species under white light studied by electron paramagnetic resonance (EPR) analysis, and promote photo-damage of HSA.

Received 21st October 2021,  
Accepted 30th December 2021

DOI: 10.1039/d1dt03565g

rsc.li/dalton

### 1. Introduction

Porphyrins are organic macrocycles widely used as sensitizers in photodynamic processes, including photodynamic therapy of cancer (PDT) and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), due to their good photostability, high reactive oxygen species (ROS) yield, and specific interaction with target biomacromolecules.<sup>1</sup> Different physicochemical factors determine both safe-use and applications of different photosensitizers (PS) in the photobiology, *e.g.*, number of charges, aggregation state, and hydrophobicity character.<sup>2</sup> The ROS formation is a fundamental role in PDT assays since the combination of photosensitizer (PS), oxygen (O<sub>2</sub>), and adequate light will produce reactive species. In this case, there are two main reac-

tion mechanisms: type I which produces radical species, *e.g.*, hydroxyl, superoxide, and hydroperoxide (·OH, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ·OOH, respectively) by electron/hole transfer, while type II might generates singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) by energy transfer processes.<sup>3</sup> Due to their high reactivity, ROS can oxidize different biological substrates and biomacromolecules, including nucleic acids, lipoproteins, and albumin.<sup>4-7</sup>

The *meso*-substituted porphyrins containing thienyl units (S atoms) can be an excellent alternative for the formation of novel peripheral cationic metalloporphyrins due to the effective complex stabilization based on bonds between thiol group and soft metal ions, *e.g.*, Pt(II), Pd(II), and Ru(II) ions.<sup>8</sup> Cationic porphyrins containing polypyridyl peripheral transition metal complexes such as Pt(II) or Pd(II) are good ROS generators and their applications in photooxidative processes have already been reported in the literature.<sup>9-12</sup> To date, there are few reports based on tetra-(pyridyl)porphyrin macrocycle as main core for photodynamic assays.<sup>13-18</sup>

Some circulatory proteins such as human or bovine serum albumins (HSA and BSA, respectively) are the most abundant plasma proteins in the mammal's bloodstream, being widely applied for pharmacokinetic studies of potential drugs.<sup>19</sup> Serum albumin plays several important roles, including regulation of plasma pressure, transport, and biodistribution of

<sup>a</sup>Department of Chemistry, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima, Santa Maria-RS, Brazil. E-mail: bernardopgq@gmail.com, bernardo.iglesias@ufsm.br

<sup>b</sup>Department of Chemistry, Federal University of São Carlos, Rod. Washington Luiz, São Carlos-SP, Brazil

<sup>c</sup>Department of Physics, Federal University of Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, Belo Horizonte-MG, Brazil

<sup>d</sup>Department of Chemistry, University of Coimbra, Rua Larga, Coimbra, Portugal

†Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d1dt03565g



Contents lists available at ScienceDirect

## Free Radical Biology and Medicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/freeradbiomed](http://www.elsevier.com/locate/freeradbiomed)

## Detection of singlet oxygen by EPR: The instability of the nitroxyl radicals

Henrique F.V. Victória<sup>a,\*</sup>, Daniele C. Ferreira<sup>a</sup>, José B.G. Filho<sup>b</sup>, Dayse C.S. Martins<sup>b</sup>,  
Maurício V.B. Pinheiro<sup>a</sup>, Gustavo de A.M. Sáfar<sup>a</sup>, Klaus Krambrock<sup>a,\*\*</sup><sup>a</sup> Departamento de Física, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil<sup>b</sup> Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Hydroxy-TEMP  
Singlet oxygen  
Redox probe  
Nitroxyl radical  
Oxidation  
Porphyrins  
Degradation  
Spin trapping  
Photodynamic therapy (PDT)

## ABSTRACT

The use of spin traps and redox probes coupled with electron paramagnetic resonance (EPR) is a method frequently applied in the evaluation of the efficiency of photosensitizers and photocatalysts in phototherapeutic and photocatalytic processes that involve reactive oxygen species. In this way, the method helps to clarify the mechanism behind photo-induced reactions. Hydroxy-TEMP is a very specific redox probe for selectively identifying and quantifying singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). In this work, the kinetics of radical generated by the oxidation products of the Hydroxy-TEMP redox probe was analyzed from EPR spectra in aqueous solutions of several water-soluble porphyrins ([H<sub>2</sub>T<sub>4</sub>MPyP](OTs)<sub>4</sub>, Na<sub>4</sub>[H<sub>2</sub>T<sub>4</sub>SPP], [H<sub>2</sub>T<sub>2</sub>MPyP](OTs)<sub>4</sub>, [ZnT<sub>4</sub>MyPyP](OTs)<sub>4</sub>, [MnT<sub>4</sub>MyPyP](OTs)<sub>5</sub>, H<sub>2</sub>T<sub>4</sub>CPP, and [H<sub>2</sub>T<sub>4</sub>TriMAPP](OTs)<sub>4</sub>) under white light illumination. Different factors such as the concentration of the redox probe, pH of the medium, and photostability of the porphyrins were evaluated. A systematic study was carried out to reveal the factors associated with stable radical degradation (TEMPOL) by illumination in the visible spectral region in systems containing photosensitizer (porphyrin) and redox probe (Hydroxy-TEMP). With the aid of EPR and gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS) techniques, the mechanism of the radical degradation and the photobleaching of porphyrins were investigated. After successive interactions with the porphyrin in its excited state, in alkaline aqueous solution (pH > 10), the free radical TEMPOL is transformed into TEMPONE until the final diamagnetic product Phorone. A protocol was elaborated to identify and quantify the generation of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> by Hydroxy-TEMP reliably, to avoid possible errors in the interpretation of efficiency of photosensitizers.

## 1. Introduction

Free radicals and reactive oxygen species (ROS) are increasingly important in chemical reactions and biological applications. Therefore, their quantification and identification are extremely important to elucidate reaction mechanisms [1–4], for example, in biological applications that promote selective cell death [5,6] with the use of therapeutic agents such as quinones, antitrypanosomal drugs, or fullerenes [7–9]. The main technique for the detection of ROS or radical species is the Electron Paramagnetic Resonance (EPR) technique, especially with the use of redox probes and spin traps. The use of EPR is justified by the high sensitivity, specificity, selectivity, and easy quantification of radical species, reasons that make this technique indispensable [10,11].

The use of the method is based on the oxidation of a redox probe or a spin trap by a specific ROS, forming a long-lived paramagnetic

compound (nitroxyl radical) detectable by EPR. ROS is a collective term that describes the chemical species formed upon incomplete reduction of oxygen such as superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>), and certain non-radical oxidizing agents such as singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) [12–16]. These species have a short lifetime, below the EPR detection limit, requiring the use of redox probes or spin traps.

Quantitative detection of singlet oxygen, through redox probes, directly assists in the evaluation of the efficiency of photosensitizers used in promising cancer treatment modalities such as photodynamic therapy (PDT) [17–19]. Among the photosensitizers (PS), we highlight the porphyrins, a group of compounds that when illuminated in a specific spectral range, generate <sup>1</sup>O<sub>2</sub> and other radicals that lead to cell death [20–22]. The generation of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> occurs through the transfer of energy in a non-radiative way between the excited state of PS and molecular oxygen in its ground state (type II mechanism). The use of redox probes such as Hydroxy-TEMP (2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidinol)

\* Corresponding author.

\*\* Corresponding author.

E-mail addresses: [henriquefvv@ufmg.br](mailto:henriquefvv@ufmg.br) (H.F.V. Victória), [klaus@fisica.ufmg.br](mailto:klaus@fisica.ufmg.br) (K. Krambrock).<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.303>

Received 9 November 2021; Received in revised form 16 December 2021; Accepted 17 December 2021

Available online 1 January 2022

0891-5849/© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Colloid and Interface Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jcis](http://www.elsevier.com/locate/jcis)

## Hybrid polymer aerogels containing porphyrins as catalysts for efficient photodegradation of pharmaceuticals in water



Rafael F.N. Quadrado <sup>a</sup>, Henrique F.V. Vitoria <sup>b</sup>, Daniele C. Ferreira <sup>b</sup>, Klaus Krambrock <sup>b</sup>, Kelly S. Moreira <sup>c</sup>, Thiago A.L. Burgo <sup>c</sup>, Bernardo A. Iglesias <sup>d,†</sup>, André R. Fajardo <sup>a,†</sup>

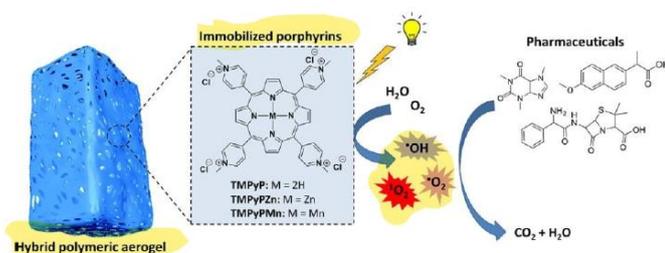
<sup>a</sup> Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos (LaCoPo), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Capão do Leão s/n, 96010-900 Pelotas, RS, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Física, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Coulomb Electrostatic and Mechanochemistry Laboratory, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Campus Camobi, Santa Maria, RS, Brazil

<sup>d</sup> Laboratório de Bioinorgânica e Materiais Porfirínicos, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Campus Camobi, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil

### graphical abstract



### article info

**Article history:**  
Received 26 November 2021  
Revised 13 December 2021  
Accepted 1 January 2022  
Available online 11 January 2022

**Keywords:**  
Advanced oxidative processes  
Aerogels  
Catalysis  
Emerging contaminants  
Supported materials  
Porphyrins

### abstract

Polymer aerogels of poly(acrylic acid)/poly(vinyl alcohol) (labeled as CPA) were prepared and tested as support materials for different cationic porphyrin organocatalysts (denoted as TMPPyP, TMPPyZn, or TMPPyMn). The hybrid aerogels were characterized by various techniques, while their catalytic activity was investigated towards the photodegradation of amoxicillin (AMX), caffeine (CAF), and naproxen (NPX) under artificial visible light. Photodegradation experiments revealed that the CPA-TMPPyMn aerogel shows superior catalytic potential when compared to the others aerogels or the “free” TMPPyMn porphyrin. All pharmaceuticals were quickly degraded (before 60 min) and high COD removal rates (greater than 95%) were achieved at pH 7.0 and room temperature. The CG-MS data confirm the complete degradation of all tested pharmaceuticals catalyzed by CPA-TMPPyMn. Recycling experiments revealed that this hybrid aerogel keeps its photocatalytic efficiency for at least 15 reuse runs. In short, this original photocatalytic system is promising to mediate the removal of pharmaceutical contaminants from the aqueous medium.

© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [bernardopq@gmail.com](mailto:bernardopq@gmail.com), [bernardo.iglesias@ufsm.br](mailto:bernardo.iglesias@ufsm.br) (B.A. Iglesias), [andre.fajardo@pq.cnpq.br](mailto:andre.fajardo@pq.cnpq.br) (A.R. Fajardo).

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.01.002>  
0021-9797/© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.



## Post-synthetic modification of aluminum trimesate and copper trimesate with TiO<sub>2</sub> nanoparticles for photocatalytic applications

Pedro H. M. Andrade<sup>1,2,\*</sup> , Ana L. M. Gomes<sup>1</sup>, Hugo G. Palhares<sup>1</sup>, Christophe Volkringer<sup>3</sup>, Alain Moissette<sup>2</sup>, Henrique F. V. Victória<sup>4</sup>, Nádia M. A. Hatem<sup>4</sup>, Klaus Krambrock<sup>4</sup>, Manuel Houmard<sup>5</sup>, and Eduardo H. M. Nunes<sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Metalúrgica E de Materiais, Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>2</sup>Laboratoire de Spectroscopie Pour Les Interactions, La Réactivité Et L'Environnement, Université de Lille—Sciences et Technologies, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

<sup>3</sup>Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Artois, UMR 8181, UCCS—Unité de Catalyse Et Chimie du Solide, 59000 Lille, France

<sup>4</sup>Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>5</sup>Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

Received: 26 September 2021

Accepted: 20 December 2021

Published online:

28 January 2022

 The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

### ABSTRACT

Organic pollutants have been a significant source of concern in recent years due to their facile dissemination and harmful effects. In this work, two different metal–organic frameworks (MOFs) were initially prepared by hydrothermal treatment, namely aluminum trimesate (MIL-100(Al)) and copper trimesate (HKUST-1). These materials were subsequently submitted to a post-synthetic modification step to grow titania nanoparticles on their surface. Anatase nanoparticles with sizes around 5 nm were successfully anchored on MIL-100(Al), and the concentration of TiO<sub>2</sub> in this sample was about 68 wt.%. This is the first time that this composite (TiO<sub>2</sub>@MIL-100(Al)) is reported in the literature. It showed an improved photocatalytic activity, removing 90% of methylene blue ( $k_{app} = 1.29 \text{ h}^{-1}$ ), 55% of sodium diclofenac ( $k_{app} = 0.21 \text{ h}^{-1}$ ), and 62% of ibuprofen ( $k_{app} = 0.37 \text{ h}^{-1}$ ) after four hours of illumination with UV-A light. A significant concentration (14  $\mu\text{M}$ ) of reactive oxygen species (ROS) was detected for this composite. HKUST-1 showed a structural collapse during its post-synthetic modification, leading to a non-porous material and providing fewer sites for the heterogeneous nucleation of titania. This behavior led to a low concentration of rutile nanoparticles on HKUST-1 (9 wt.%). However, the obtained composite (TiO<sub>2</sub>@HKUST) also showed an improved photoactivity compared to HKUST-1, increasing the photodegradation rates evaluated for methylene blue

Handling Editor: Andrea de Camargo.

Address correspondence to E-mail: mapedroh@gmail.com; eduardo.nunes@demet.ufmg.br

<https://doi.org/10.1007/s10853-021-06842-w>

 Springer



Contents lists available at ScienceDirect

Materials Letters

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/matlet](http://www.elsevier.com/locate/matlet)

## Environmentally friendly synthesis of imine using $\text{LaMnO}_3$ as a catalyst under continuous flow conditions

Himad Alcamand<sup>\*</sup>, Henrique Oliveira, José Gabriel, Carlos Bruziquesi, Luiz Oliveira, Bruno Gonçalves, Henrique Victória, Klaus Krambrock, Manuel Houmard, Eduardo Nunes

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Perovskite  
Sol-gel method  
Imine synthesis  
Continuous flow

### ABSTRACT

Perovskite-type  $\text{LaMnO}_3$  obtained by the sol-gel method was used as a catalyst for imine synthesis in a continuous flow system. The catalytic results revealed that the increase in temperature improves the catalytic activity of  $\text{LaMnO}_3$ , enhancing its conversion efficiency and selectivity. At 260 °C the system showed the best result for conversion (>88%) and selectivity (>93%). No organic solvent was used in the catalytic reactions, representing an important advantage in terms of simplicity and safety.

### 1. Introduction

Imines play a key role in the synthesis of fine chemicals in many sectors, including the agricultural, biological, and pharmaceutical industries. The C=N bonds observed in the structure of imines have versatile organic transformations [1]. Heterogeneous catalysts have been employed in the oxidative coupling of alcohols and amines [2], using solvents such as benzene and mesitylene in strongly basic media and long reaction times [3].  $\text{LaMnO}_3$  is a promising material for heterogeneous catalysis due to the coexistence of manganese as  $\text{Mn}^{3+}/\text{Mn}^{4+}$  in its structure, its high capacity for oxygen adsorption and reduction, and the high mobility of  $\text{O}^{2-}$  ions in its lattice [4]. We report here for the first time a straightforward synthesis of imine by the oxidative coupling of benzyl alcohol to aniline using  $\text{LaMnO}_3$  as the catalyst and a continuous flow system. No organic solvent was used, which represents a great advantage in terms of simplicity and safety. Moreover, this approach reduces the need for subsequent physicochemical extraction and purification steps.

### 2. Materials and methods

#### 2.1. Synthesis

$\text{LaMnO}_3$  was prepared by the sol-gel method [5].  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (99.99%, Sigma-Aldrich) and  $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (97%, Sigma-Aldrich) were used as precursors, while citric acid monohydrate (CA) (99.99%,

Sigma-Aldrich) was used as a complexing agent. The molar ratio of CA/(La/Mn) was kept at 1. Nitrates and CA were dissolved separately in deionized water. The as-prepared solution was heated in air at 80 °C and stirred to evaporate water. Subsequently, the obtained gel was air-dried at 120 °C for 2 h and then ground into a fine powder using an agate mortar. This powder was subsequently calcined in air at 700 °C for 5 h using a heating rate of 1 °C·min<sup>-1</sup>.

#### 2.2. Characterizations

X-ray diffraction (XRD) was carried out on a Philips-PANalytical PW 1710 diffractometer at a step size of 0.06° (2θ) and using  $\text{CuK}\alpha$  radiation. Transmission electron microscopy (TEM), energy dispersive spectroscopy (EDS), and selected area electron diffraction (SAED) were carried out with an FEI Tecnai G2-20 SuperTwin microscope at an accelerating voltage of 200 kV.  $\text{N}_2$  desorption/adsorption isotherms were obtained at -196 °C on a Quantachrome Autosorb IQ2 after outgassing under vacuum at 150 °C for 12 h. The specific surface area (SSA) was obtained by the BET method and the pore size distribution by the BJH model considering the desorption branch. Hydrogen temperature-programmed reduction ( $\text{H}_2$ -TPR) was performed in a fixed bed quartz reactor with a Quantachrome ChemBet 3000 analyzer. Electron Paramagnetic Resonance (EPR) was conducted on an X-band MiniScope MS400 (Magnetech, Germany) spectrometer operating at 40 mW of microwave power, modulation field of 100 kHz with amplitude of 0.2 mT, magnetic field centered at 337 mT, scan time of 60 s and 4096

<sup>\*</sup> Corresponding authors.

E-mail addresses: [himadalcamand@gmail.com](mailto:himadalcamand@gmail.com) (H. Alcamand), [eduardo.nunes@demet.ufmg.br](mailto:eduardo.nunes@demet.ufmg.br) (E. Nunes).

<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.132053>

Received 17 January 2022; Received in revised form 4 March 2022; Accepted 7 March 2022

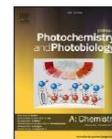
Available online 9 March 2022

0167-577X/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Photochemistry &amp; Photobiology, A: Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jphotochem](http://www.elsevier.com/locate/jphotochem)

## Evaluation of reactive oxygen species and photocatalytic degradation of ethylene using $\beta$ - $\text{Ag}_2\text{MoO}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4$ composites

Fernanda Cristina Fraga<sup>a</sup>, Daniela Gier Della Rocca<sup>a</sup>, Humberto Jorge José<sup>a</sup>, Henrique F. V. Victória<sup>b</sup>, José Balena Gabriel Filho<sup>b</sup>, Klaus Krambrock<sup>b</sup>, Enrique Rodríguez-Castellón<sup>c</sup>, Regina de Fátima Peralta Muniz Moreira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemical and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC 88040-900, Brazil

<sup>b</sup> Department of Physics, Federal University of Minas Gerais, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Sciences, University of Málaga, 29071 Málaga, Spain

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Ethylene  
Reactive oxygen species  
Photocatalysis  
Heterojunction  
Silver molybdate  
Carbon nitride

### ABSTRACT

The photocatalytic degradation of ethylene is an efficient technology applied to the fruit ripening control. When photocatalytic reactions remove ethylene from the storage and transportation environment of fruits and vegetables, the respiration rate decreases, and the quality of food is preserved for a long time. It is well known that photocatalysis involves the photogeneration of electron-hole pairs ( $e^-/h^+$ ) under light irradiation, separation, and migration of charges on the material surface, oxidation and reduction reactions involving electrons and holes pairs, and charge recombination on the catalyst surface. In this study, we report the syntheses, characterization, and evaluation of photocatalytic activity of the  $\beta$ - $\text{Ag}_2\text{MoO}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4$  photocatalysts to degrade ethylene in the gas phase under UV-A irradiation. The effect of the  $\beta$ - $\text{Ag}_2\text{MoO}_4/\text{g-C}_3\text{N}_4$  ratio on reactive oxygen species (ROS) generation and increasing the electron/hole charge separation is evaluated in detail. Under UV-A illumination and the absence of water, superoxide radicals are most efficiently produced in hybrid samples containing a higher  $\text{g-C}_3\text{N}_4$  percentage, but lower  $\text{O}_2^-$  amount is formed in pure  $\text{g-C}_3\text{N}_4$ . The hybrid samples containing higher amounts of  $\text{g-C}_3\text{N}_4$  are more efficient to degrade ethylene because of better  $e^-$  and  $h^+$  charge separation and superoxide radicals' formation, which participate in ethylene degradation.

### 1. Introduction

In recent years, hybrids of semiconducting photocatalysts heterojunctions with graphitic carbon nitride ( $\text{g-C}_3\text{N}_4$ ) have been investigated as promising in photocatalytic applications, due to their adequate bandgap for visible light absorption, as well as accessible syntheses, with easy availability and non-toxic precursors [1,2]. Graphitic carbon nitride has been successfully synthesized by a thermal polymerization method using nitrogen precursors, such as dicyandiamide, melamine, urea, and thiourea [3–8]. However, its application alone is scarce due to the fast electron-hole pairs recombination of electrons and holes [3]. For

that, the combination with another semiconductor can reduce the recombination rate, and enable better photocatalytic activity [5,9–13].

Silver molybdate compounds present different molecular structures depending on the method used in their syntheses [14–17]. The  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$

form can be applied as photoluminescent material, conducting glass, biological sterilizer, and photocatalyst [18–23]. This compound presents two crystalline structures: tetragonal ( $\alpha$ -phase, metastable) and cubic ( $\beta$ -phase, stable thermodynamics) [24]. Besides that, different morphologies can be obtained, depending on the synthesis conditions, like that was obtained by Cui et al. [25], Singh et al. [16], Kumar et al. [15], Wang et al. [17].

The combination of two or more photocatalysts may enhance the charge separation and shrinking the band gap energy and, therefore, the possibility to be active under visible light [26–30]. Moreover, many authors developed novel materials that combine carbon nitride and silver compounds, making possible their use as photocatalysts in aqueous suspension, as reported by Pandiri et al. [31], Zhang and Ma [32], and Liu et al. [33] using different methods for synthesis. Nevertheless, the application of these hybrid photocatalysts for gas-phase

\* Corresponding author at: Federal University of Santa Catarina (UFSC), Department of Chemical and Food Engineering (EQA), Campus Trindade, CX. Postal 476, 88010-970 Florianópolis, SC, Brazil.

E-mail address: [regina.moreira@ufsc.br](mailto:regina.moreira@ufsc.br) (R. de Fátima Peralta Muniz Moreira).

<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2022.114102>

Received 29 April 2022; Received in revised form 3 June 2022; Accepted 15 June 2022

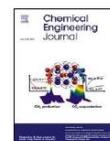
Available online 17 June 2022

1010-6030/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Chemical Engineering Journal

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cej](http://www.elsevier.com/locate/cej)

## Photocatalytic reduction of levulinic acid using thermally modified niobic acid

José B.G. Filho<sup>a,\*</sup>, Gustavo H.M. Gomes<sup>a</sup>, Ingrid F. Silva<sup>a,d</sup>, Regiane D.F. Rios<sup>a</sup>, Henrique F.V. Victória<sup>b</sup>, Klaus Krambrock<sup>b</sup>, Marcio C. Pereira<sup>c</sup>, Luiz C.A. Oliveira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>b</sup> Department of Physics, Federal University of Minas Gerais (UFMG), 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Institute of Science, Engineering, and Technology, Federal University of Juiz de Fora and Murici Valley (UFVJM), 39803-371 Teófilo Otoni, MG, Brazil

<sup>d</sup> Department of Colloid Chemistry, Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Am Mühlenberg 1, D-14476 Potsdam, Germany

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Photocatalysis  
Niobium oxide  
Oxide defects  
Biomass conversion  
Oxygen vacancies  
Structural defects

### ABSTRACT

After the discovery that commercial niobic acid (Ho) is able to reduce the levulinic acid in value added molecules, Ho was thermally treated at 200 °C, 400 °C, and 600 °C, generating the niobium oxides H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> and H<sub>3</sub> and the photocatalytic improvement towards reduction was investigated. Although the higher temperatures significantly decreased the specific surface area, it was important to remove surface hydroxyl groups and create the T and TT-Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> phase mixture in H<sub>3</sub> which were responsible for its best performance (36.4% of conversion and almost 99% of selectivity for reduced products). To further improve the H<sub>3</sub> photoactivity, an identical synthesis was performed in H<sub>2</sub> flow to produce oxygen vacancies in the structure of the new photocatalyst (H<sub>3</sub>OV). This simple modification method increased ~7% of products yield, which is the best photocatalytic result obtained for pure niobium oxides so far, and proved that it is possible to significantly increase photocatalytic performance without laborious modifications. The electronic and structural differences between H<sub>3</sub> and H<sub>3</sub>OV were investigated by XRD Rietveld refinement, EPR, HR-TEM, DRS and SAED analyses.

### 1. Introduction

Levulinic acid (LA) is one of the most promising molecules derived from lignocellulosic biomass [1,2]. LA can be obtained directly through the dehydration of both furfuraldehyde and 5-hydroxymethylfurfural (HMF) [3,4]. Due to carboxyl and carbonyl functional groups, it is possible to synthesize various products with different applications, such as fuel additives, food flavorings, pesticides, polymeric precursors, green solvents, plasticizers, resins, and other platform molecules [5]. Although several methods transform this versatile compound, none is as promising and sustainable as heterogeneous photocatalysis [6–9].

Heterogeneous photocatalysis occurs when the semiconductor absorbs photons with equivalent or higher energy than that necessary to overcome the bandgap, promoting the transition of electrons ( $e^-$ ) from the valence band (VB) to the conduction band (CB), leaving holes ( $h^+$ ) in VB. The  $e^-/h^+$  pairs can permeate the semiconductor's entire structure, and most of the time, they recombine and return their energy to the medium as photons and/or phonons. On the other hand, when the photogenerated charges reach the surface of the photocatalyst, they can

react with adsorbed species; the  $h^+$  oxidize electron donors and the  $e^-$  reduce electron acceptors [10].

The mechanism behind this technique may seem straightforward, but it is quite the opposite. When it involves organic molecules, the reactions take place via radicals that make the system extremely complex [11]. Furthermore, it is not easy to correlate the steady-state surface properties with the reaction path. Unlike many conventional catalytic systems, "photocatalytic sites" have a very short lifetime [12]. These are the main reasons behind the scarcity of articles focused on photocatalytic conversion and the mechanism assessment of versatile molecules such as levulinic acid [13].

Recently, some photocatalytic systems have been designed to add value to lignocellulosic biomass platform molecules, most of them based on TiO<sub>2</sub> [7,13,14]. Despite the good photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> (mainly for oxidation purposes, via photogenerated holes, because its conduction band energy level is not so negative [15,16]), its overrated application limits the knowledge about the potential of other promising semiconductors for this type of chemical transformation. The Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> is a semiconductor that has been gaining visibility in the heterogeneous

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [balenagabriel@gmail.com](mailto:balenagabriel@gmail.com) (J.B.G. Filho), [leao.ufmg@gmail.com](mailto:leao.ufmg@gmail.com) (L.C.A. Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137935>

Received 26 April 2022; Received in revised form 16 June 2022; Accepted 3 July 2022

Available online 6 July 2022

1385-8947/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.