

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

POLI-LÍQUIDOS IÔNICOS E COMPLEXOS SOLÚVEIS DE Eu^{3+} e Tb^{3+} :
BIOIMAGEMAMENTO CELULAR SELETIVO

Taynara Rezende Machado

ORIENTADOR: Prof. Dr. Brenno Amaro da Silveira Neto

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Oliveira Rodrigues

BRASÍLIA, DF – BRASIL

2015



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

POLI-LÍQUIDOS IÔNICOS E COMPLEXOS SOLÚVEIS DE Eu^{3+} e Tb^{3+} :
BIOIMAGEMAMENTO CELULAR SELETIVO

Dissertação apresentada ao programa de Pós-
Graduação em Química como pré-requisito
para a obtenção do título de Mestre

Taynara Rezende Machado

ORIENTADOR: Prof. Dr. Brenno Amaro da Silveira Neto

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Oliveira Rodrigues

BRASÍLIA, DF – BRASIL

2015

FOLHA DE APROVAÇÃO

Taynara Rezende Machado

“Poli-Líquidos Iônicos e Complexos Solúveis de Eu^{3+} e Tb^{3+} : Bioimageamento Celular Seletivo”

Dissertação apresentada à banca examinadora como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Química pelo Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da Universidade de Brasília (UnB).

Aprovada em 7 de agosto de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Brenno Amaro da Silveira Neto - IQ/UnB
(Presidente)

Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa - FCE/UnB
(Membro Titular)

Prof^a Dr^a Maria Lucilia dos Santos - IQ/UnB
(Membro Titular)

Prof. Dr. Carlos Kleber Zago de Andrade - IQ/UnB
(Membro Suplente)

Dedicatória

Em memória de minha avó Conceição, que se orgulhava tanto em ter uma neta “estudada”, mas partiu tão de repente que não teve tempo de ver a conclusão desse trabalho. Espero que esteja assistindo de camarote, e fazendo piadas da minha cara, como sempre fez, só que agora em um plano diferente... No céu!!! Te amo vovó.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde, sabedoria e calma. Agradeço-o também por ter colocado tantas pessoas maravilhosas em meu caminho.

Aos meus pais, William e Misna, meu irmão Daniel, meus avós e toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

Em especial agradeço ao meu marido, Davi Pedro pela paciência, pelo incentivo, pela força e principalmente pelo carinho. Valeu a pena toda distância, todo sofrimento, todas as renúncias. Valeu a pena esperar, hoje estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso empenho! Esta vitória é nossa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Brenno Amaro por se disponibilizar a me orientar, contribuindo com seu conhecimento para o meu aprendizado. Pelos puxões de orelha e abraços nas horas necessárias e também por ter me incentivado a crescer como profissional e, principalmente, como pessoa

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcelo Rodrigues por todo apoio durante a realização desse trabalho e por ter me ajudado nas horas que mais precisei de apoio aqui em Brasília.

Aos professores Fabricio Machado e José Raimundo Corrêa (meu amigo JR) não tenho palavras para agradecer toda contribuição para a execução desse trabalho, sempre presente nas discussões, dúvidas, correções e principalmente pela amizade e carinho, muito obrigada!

Ao prof. Dr. Wender (Pavão Shine Rabeta de vagalume) por sempre se preocupar comigo, se disponibilizar a me ajudar incondicionalmente, e por me fazer sorrir em momentos que chorar parecia ser a única solução.

Agradeço o Pedro Pimenta por ter me auxiliado durante o início do meu trabalho, e se dedicado a me ensinar, com paciência, o que eu não sabia nem errar. Agradeço também o carinho, a preocupação e as cervejas.

Agradeço minhas companheiras: Carla, Suzana, Weslany e Julia (a agregada), por deixar nossa casinha tão acolhedora, e por fazer minhas noites mais felizes e completas.

Agradeço minha amiga Marina por ser tão especial em minha vida, pelas horas de mendas, conversas, catracadas e muitas risadas. Obrigada MaLina!

E mesmo que eu gaste um bilhão de palavras, ainda assim não conseguirei agradecer completamente a Júlia por tudo que ela fez por mim, me acolher de cara, se tornar tão especial em minha vida, me abraçar, amparar, aconselhar e, principalmente, me acompanhar em tudo. Julinha, você não imagina quão grande foi sua contribuição para que em continuasse aqui, e se hoje estou defendendo, acredite, você tem uma grande parcela de culpa viu =).

Aos meus amigos do LaQuiMet (Alberto, Rômulo, Pedro, Haline, Thyago, Tiago, Roberto, Gisele, Pedro Guilherme, Letícia) pela amizade, companheirismo, apoio e disponibilidade recebidos durante esses 2 anos.

À UnB, aos técnicos, estagiários, professores do Instituto de Química por todo apoio concedido. Ao Prof. Peter que gentilmente corrigiu o *abstract* desse trabalho.

Aos professores por aceitarem fazer parte da banca examinadora.

Resumo

Este trabalho apresenta a síntese, caracterização e aplicação de complexos ionicamente marcados de európio (III) e térbio (III) como sondas fluorescentes em ensaios de bioimageamento. Estes novos complexos foram obtidos a partir de um líquido iônico de função específica (inédito) e sua posterior polimerização. De acordo com os dados de calorimetria diferencial de varredura e análises termogravimétricas os complexos apresentaram-se termicamente mais estáveis quando comparados com seus monómeros precursores e respectivos polímeros ausente de metais. Outras técnicas de caracterização, como RMN, ATR-FTIR, fluorescência e cromatografia de permeação em gel confirmou a síntese bem sucedida de complexos marcados ionicamente e seus polímeros.

As análises de FTIR-ATR e fluorescência sugerem que clusters de água auto-organizadas suprimem a emissão de luz dos complexos. Na verdade, o baixo rendimento quântico de fluorescência é uma consequência do acoplamento vibrônico das moléculas de água. Todos os complexos foram submetidos a experimentos de imagem celular. Os resultados forneceram evidências de que estes complexos foram eficazes e seletivos na distinção das diferentes organelas dentro da célula. Alguns dos complexos (VAIEu) foram seletivos para os endossomos precoces e tardios, enquanto outros (VAITb) associaram ao retículo endoplasmático. Além disso, VAIEu- β dicetona acumulou em vesículas citoplasmáticas, PVAIEu associado com lisossomos, complexos PVAITb foram seletivos para retículo endoplasmático e PVAIEu- β dicetona apresentou associação para vesículas e endossomos, tanto precoces e tardios.

ABSTRACT

This work presents the synthesis, characterization, and the application of ionically tagged complexes of europium(III) and terbium(III) as fluorescent probes in cellular bio imaging. These new complexes were obtained from an ionic liquid of specific function and their post polymerization. According to thermogravimetric and differential scanning calorimetry data the polymerized complexes were thermally more stable than the precursor monomers and respective polymers absent of metals. In particular, the glass transition temperature was higher in metalated polymerized complexes. Other characterization techniques, namely NMR H1 and C13, FTIR-ATR, fluorescence and gel permeation chromatography confirmed the successful synthesis of ionically tagged complexes and their polymers.

FTIR-ATR and fluorescence analysis suggest that self-organized water clusters suppress the light emission of ionically tagged complexes and their polymers. In fact, the low quantum yield of fluorescence is a consequence of the vibronic coupling with water molecules. All complexes were submitted to experiments of cellular imaging. Results provided evidence that these complexes were effective and selective in the distinction of different organelles within the cell. Some of the complexes (**VAIEu**) were selective for early and late endosomes, while others (**VAITb**) were associated with the endoplasmic reticulum. Moreover, **VAIEu- β diketone** accumulated in cytoplasmic vesicles, **PVAIEu** associated with lysosomes, **PVAITb** complexes were selective for endoplasmic reticulum and **PVAIEu- β diketone** presented association to vesicles and endosomes, both early and late.

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 Líquidos iônicos poliméricos | 1 |
| 1.2 Aplicação de íons lantanídeos no imageamento celular | 2 |
| 1.3 Líquidos Iônicos..... | 3 |
| 1.4 Polímeros Funcionais | 7 |
| 1.5 Lantanídeos..... | 8 |
| 1.6 Imageamento Celular | 13 |
| 2. Objetivos | 16 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 17 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 17 |
| 3. Resultados e Discussão | 18 |
| 3.1 Síntese dos complexos poliméricos fluorescentes | 19 |
| 3.2 Infravermelho..... | 23 |
| 3.3 Análises termogravimétricas | 27 |
| 3.4 Calorimetria diferencial de varredura | 33 |
| 3.5 Cromatografia de permeação em gel (GPC)..... | 37 |
| 3.6 Espectroscopia de fluorescência | 39 |
| 3.7 Tempo de vida de fluorescência (τ) | 46 |
| 3.8 Imageamento celular | 51 |
| 4. Conclusões e Perspectivas | 63 |
| 4.1 Conclusões e Perspectivas..... | 64 |
| 5. Sessão Experimental | 65 |
| 5.1 Equipamentos..... | 66 |
| 5.2 Síntese dos compostos | 68 |
| 6. Anexo..... | 70 |
| 6.1 Espectros de RMN..... | 71 |

Lista de Abreviações e Acrônimos

| | |
|-------------|---|
| CIS | Cruzamento intersistema |
| \bar{D}_M | Dispersão de massa molar |
| DSC | Calorimetria diferencial de varredura |
| DTA | Análises térmicas diferenciais |
| GPC | Cromatografia de permeação em gel |
| LIIs | Líquidos Iônicos |
| Ln | Lantanídeos |
| LO | Ligante orgânico |
| MCF | Microscopia confocal de fluorescência |
| MCVL | Microscopia confocal de varredura a laser |
| M_n | Massa molar numérico média |
| M_n/M_w | Distribuição de massas molares |
| M_w | Massa molar ponderal média |
| M_z | Peso molecular ponderal médio |
| NC | Número de coordenação |
| PLIs | Polímeros de líquidos iônicos |
| PVAI | Poli-cloreto de 1-vinil-3- <i>N</i> -carboximetilimidazólio |
| TC | Transferência de carga |
| T_g | Temperatura de transição vítrea |
| TGA | Análises de termogravimétricas |
| TR | Terras-raras |
| TSILs | Líquidos iônicos de tarefas específicas |
| VAI.Cl | Cloreto de 1-Metil-3- <i>N</i> -carboxivinilimidazólio |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Representações dos arranjos estruturais em 3-D de um cristal iônico. | 3 |
| Figura 2. Ilustração das duas principais modalidades 3-D de LIs imidazólios:.. | 4 |
| Figura 3. Alguns exemplos de LIs funcionalizados. (Adaptada da ref. ²)..... | 5 |
| Figura 4. Algumas aplicações de LIs (Adaptada ref. ⁴)..... | 5 |
| Figura 5. Funções de onda de átomos hidrogenóides para os orbitais do Cério (Ce). | 10 |
| Figura 6. Representação esquemática do mecanismo de sensibilização de Ln. | 11 |
| Figura 7. Princípio óptico da microscopia confocal..... | 14 |
| Figura 8. Compostos VAI.Cl e PVAI (precursores). Compostos VAIEu , VAITb , VAIEu-βdicetona , PVAIEu , PVAITb , PVAIEu-βdicetona (produtos finais). . | 19 |
| Figura 9. Espectros de FTIR-ATR dos monômeros..... | 24 |
| Figura 10. Espectros de FTIR-ATR do polímero e seus complexos. | 25 |
| Figura 11. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAI.Cl em (a), PVAI em (b). | 28 |
| Figura 12. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAI.Eu em (a), PVAIEu em (b)..... | 30 |
| Figura 13. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAIEu-βdicetona em (a), PVAIEu-βdicetona em (b)..... | 31 |
| Figura 14. Curvas das análises de termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAITb em (a), PVAITb em (b). | 32 |
| Figura 15. Calorimetria diferencial de varredura do VAI.Cl (monômero) e do PVAI (polímero)..... | 34 |
| Figura 16. Calorimetria diferencial de varredura do VAIEu (monômero) e do PVAIEu (polímero). | 35 |
| Figura 17. Calorimetria diferencial de varredura do VAITb (monômero) e do PVAITb (polímero). | 36 |
| Figura 18. Calorimetria diferencial de varredura do VAIEu-βdicetona em (a) (monômero) e do PVAIEu-βdicetona em (b) (polímero). | 36 |
| Figura 19. Funcionamento de uma coluna de exclusão por tamanho. | 37 |
| Figura 20. Espectros de emissão do VAI (preto) e PVAI (vermelho). | 39 |

| | |
|--|----|
| Figura 21. Espectros de emissão do VAIEu (preto) e PVAIEu (vermelho). | 40 |
| Figura 22. Espectros de emissão do VAITb (preto) e PVAITb (vermelho). | 41 |
| Figura 23. Espectros de emissão do VAIEu-βdicetona (preto) e PVAIEu-βdicetona (vermelho). | 42 |
| Figura 24. Espectros de excitação do VAIEu (preto) e do PVAIEu (vermelho). | 43 |
| Figura 25. Espectros de excitação do VAIEu-βdicetona (preto) e PVAIEu-βdicetona (vermelho)..... | 44 |
| Figura 26. Espectros de excitação do VAITb (preto) e PVAITb (vermelho)..... | 45 |
| Figura 27. Curvas de decaimento de tempo de vida do VAIEu (a) e do PVAIEu (b)..... | 48 |
| Figura 28. Curvas de decaimento de tempo de vida do VAIEu- βdicetona (a) e do PVAIEu- βdicetona | 49 |
| Figura 29. Curvas de decaimento de tempo de vida do VAITb (a) e do PVAITb | 50 |
| Figura 30. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-H a direita) incubadas com VAIEu | 52 |
| Figura 31. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com VAITb | 53 |
| Figura 32. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com PVAIEu | 55 |
| Figura 33. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com PVAITb | 57 |
| Figura 34. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com VAIEu-βdicetona | 59 |
| Figura 35. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com PVAIEu-βdicetona | 61 |

Lista de Esquemas

| | |
|---|----|
| Esquema 1. Síntese do líquido iônico funcionalizado VAI.CI (monômero)..... | 20 |
| Esquema 2. Síntese do polímero PVAI | 20 |
| Esquema 3. Síntese dos complexos derivados do VAI.CI com Eu^{3+} e Tb^{3+} | 21 |
| Esquema 4. Síntese dos complexos derivados de PVAI com Eu^{3+} e Tb^{3+} | 21 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Elementos pertencentes ao grupo dos lantanídeos, seus respectivos símbolos, configurações eletrônicas e raio iônico, para complexos $[Ln(H_2O)_8]^{3+}$ (adaptada da ref. ³⁸)..... | 9 |
| Tabela 2. Valores encontrados de estiramento e deformação para o Ligante VAI.Cl e complexos VAIEu ; VAIEu-βdicetona ; VAITb | 23 |
| Tabela 3. Valores dos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação CO e valores de $\Delta_{ASS-SIM}$ para o ligante VAI.Cl e dos complexos VAIEu e VAITb e VAIEu-βdicetona | 24 |
| Tabela 4. Valores de estiramento e deformação o polímero PVAI e seus complexos. PVAIEu , PVAIEu-βdicetona e PVAITb | 26 |
| Tabela 5. Valores dos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação CO e valores de $\Delta_{ASS-SIM}$ para o ligante PVAI e dos complexos PVAIEu e PVAITb e PVAIEu-βdicetona | 26 |
| Tabela 6. Valores da temperatura de transição vítrea (T_g) dos compostos: VAI.Cl , VAIEu , VAIEu-βdicetona , VAITb , PVAI , PVAIEu , PVAIEu-βdicetona e PVAITb | 35 |
| Tabela 7. Valores de M_n , M_w , e M_n/M_w encontrados para PVAI e PVAITb | 38 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Líquidos iônicos poliméricos

Líquidos iônicos (LIs) possuem propriedades físico-químicas singulares, tais como, boa estabilidade térmica e química, alta condutividade elétrica, grande janela eletroquímica, elevada polaridade, pressão de vapor desprezível, não inflamabilidade, miscibilidade com uma vasta gama de solventes orgânicos, boa extratibilidade para muitos materiais orgânicos, inorgânicos e organometálicos, estruturas químicas de propriedades moduláveis.¹⁻³

Com o advento da classe de líquidos iônicos de funções específicas (TSILs, *task-specific ionic liquids*, do inglês)⁴ houve uma melhora significativa em termos de seletividade, sensibilidade e limites de detecção específicos em estudos alvo-analitos. Em TSILs funções orgânicas são introduzidas na cadeia catiônica e/ou aniônica dos LIs, aumentando assim suas possibilidades de aplicação.⁵

Nos últimos anos têm havido um interesse crescente no desenvolvimento de materiais versáteis que sejam íons condutores, apresentem propriedades físico-químicas estáveis, suscetíveis a modificações químicas e que possam operar dentro de um ambiente biológico. Recentemente, o interesse centrou-se no desenvolvimento de polímeros solúveis em água, em especial os polímeros de líquidos iônicos (PLIs) devido ao seu potencial para processos químicos verdes e boa biocompatibilidade.⁶

PLIs são polímeros sintetizados à partir de monômeros de LIs ou TSILs, que geralmente apresentam maior estabilidade, viscosidade e resistência mecânica, melhor capacidade de processamento, flexibilidade e durabilidade, quando comparados com seus monômeros,⁷ ao mesmo tempo que exibem semelhante solubilidade e seletividade dos monômeros.⁸

Considerando todas as vantagens oferecidas pelos PLIs e admitindo-se que algumas propriedades como solubilidade, polaridade, viscosidade, densidade e outras propriedades físico-químicas podem ser moduladas com a seleção de contra-íons adequados e, ainda, sabendo-se que cátions imidazólios e ânions haletos exibem características hidrofílicas, conclui-se que a combinação desses poderá resultar na obtenção de PLIs com maior solubilidade e afinidade para um meio específico, no caso de interesse, água.^{8,9}

1.2 Aplicação de íons lantanídeos no imageamento celular

O bioimageamento tornou-se atualmente uma ferramenta poderosa na pesquisa biológica, pois oferece uma abordagem única que permite a visualização dos detalhes morfológicos das células e compreensão de diferentes aspectos e funções organelares.^{10,11} Dentre as várias técnicas de bioimageamento, o imageamento por fluorescência destaca-se pois oferece medições com alta resolução espacial (na ordem de nanômetros), temporal (cerca de microssegundo para milissegundo) e condições fisiológicas para realização das análises. No entanto, esta técnica de imageamento é altamente dependente do uso de sondas fluorescentes que apresentam propriedades fotofísicas e químicas específicas como fotoestabilidade e baixa citotoxicidade.¹² Uma sonda útil deve responder seletivamente ao seu alvo pretendido em um complexo sistema biológico que contém uma série de analitos concorrentes. Assim, melhorias nas propriedades da luminescência e seletividade desses marcadores visam uma localização celular mais precisa e uma diferenciação dos seus componentes.¹³

Derivados de íons lantanídeos têm atraído o interesse da comunidade científica devido as suas propriedades ópticas únicas tais como: grande deslocamento de Stokes, longo tempo de vida de luminescência (até milissegundos), bandas de emissão estreitas, fotoestabilidade, baixa citotoxicidade, boa permeabilidade da parede celular e outros.¹⁴

Apesar da enorme quantidade de trabalhos disponíveis na literatura acerca de complexos de lantanídeos luminescentes, muitos desafios e dificuldades ainda são relatados, como falta de estabilidade em água, necessidade de unidades cromóforas com grandes forças de oscilador acessíveis a comprimentos de onda para gerar o efeito de antena e, principalmente, pela dificuldade de obtenção de complexos hidrossolúveis estáveis.¹⁵

Uma estratégia recente mostrou que a complexação de LIs hidrofílicos obtiveram complexos hidrossolúveis de lantanídeos estáveis,⁹ neste sentido, o presente trabalho propõe o design de novas sondas luminescentes que agreguem as características dos PLIs (solubilidade e seletividade) com as boas

características de luminescência de íons lantanídeos, os quais possam ser aplicados como sondas fluorescentes para imageamento celular *in vivo*.

1.3 Líquidos Iônicos

Quando P. Walden, em 1914, relatou pela primeira vez um sal orgânico, nitrato de etil-amônio ($[\text{EtNH}_3][\text{NO}_3]$), e descreveu suas propriedades físicas, sendo a mais peculiar seu ponto de fusão de 13-14 °C, não se imaginava o quão promissor seria essa classe de sais, que foram denominados mais tarde de líquidos iônicos.¹⁶

Líquidos Iônicos (LIs) possuem muitas propriedades únicas tais como: maior estabilidade química e térmica, alta condutividade elétrica, janela eletroquímica alargada, elevada polaridade, pressão de vapor desprezível, não inflamabilidade, miscibilidade com uma vasta gama de solventes orgânicos, boa extratibilidade para muitos materiais orgânicos, inorgânicos e organometálicos, estruturas químicas ajustáveis e características físico-químicas específicas.^{1,2,17}

Dupont¹⁷ define LIs como sendo compostos que se fundem abaixo de 100 °C, geralmente formados por íons (normalmente cátions orgânicos) coordenados fracamente entre si, que apresentam estrutura supramolecular tridimensionalmente organizada (Figura 1) e como característica não são inflamáveis e têm pressão de vapor muito baixa.

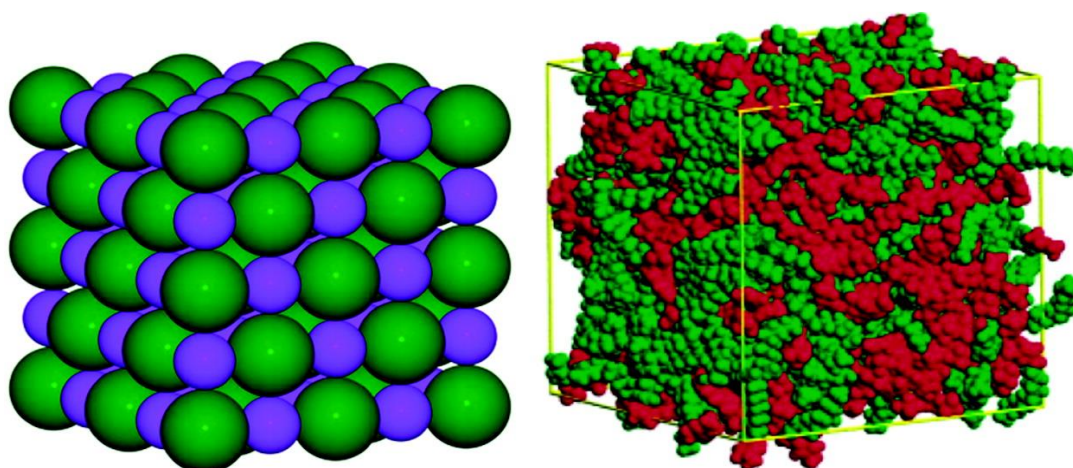


Figura 1. Representações dos arranjos estruturais em 3-D de um cristal iônico exibindo uma estrutura de ordenação de carga de um sal clássico (esquerda) e um arranjo de um sal de LI moderno, 1-alkil-3-metilimidazol (à direita), que apresenta regiões polares (vermelho) e apolares (verde) (Adaptada da ref.¹⁷).

Mesmo que sais fundidos clássicos e LIs sejam regidos principalmente por interações eletrostáticas (interações de Coulomb), a assimetria molecular presente em pelo menos um dos íons em LIs faz com que mudanças significativas nas propriedades físicas e químicas desses sais os diferenciem dos sais fundidos clássicos. Devido as interações iônicas, essa assimetria se opõe à forte carga de ordenação, que promoveria a cristalização do sistema como acontece nos sais fundidos. Outra diferença que torna esses sais tão especiais é explicado pelo “efeito entrópico” onde a presença de uma rede cooperativa de ligações de hidrogênio entre os cátions e ânions induzem a direcionalidade estrutural.¹⁷

Dentre os LIs existentes, os imidazólios atraem bastante atenção por formarem uma rede de interações ao longo dos eixos dos cátions e ânions, conectados por ligações de hidrogênio que consiste no envolvimento de, usualmente, três ânions para cada cátion imidazólio que por sua vez, cada ânion é envolvido por pelo menos três cátions.² Na Figura 2 é possível observar como ocorre o empacotamento da rede cristalina dos LIs imidazólios e conseqüentemente a formação de canais livres devido a presença de ligações de hidrogênio.

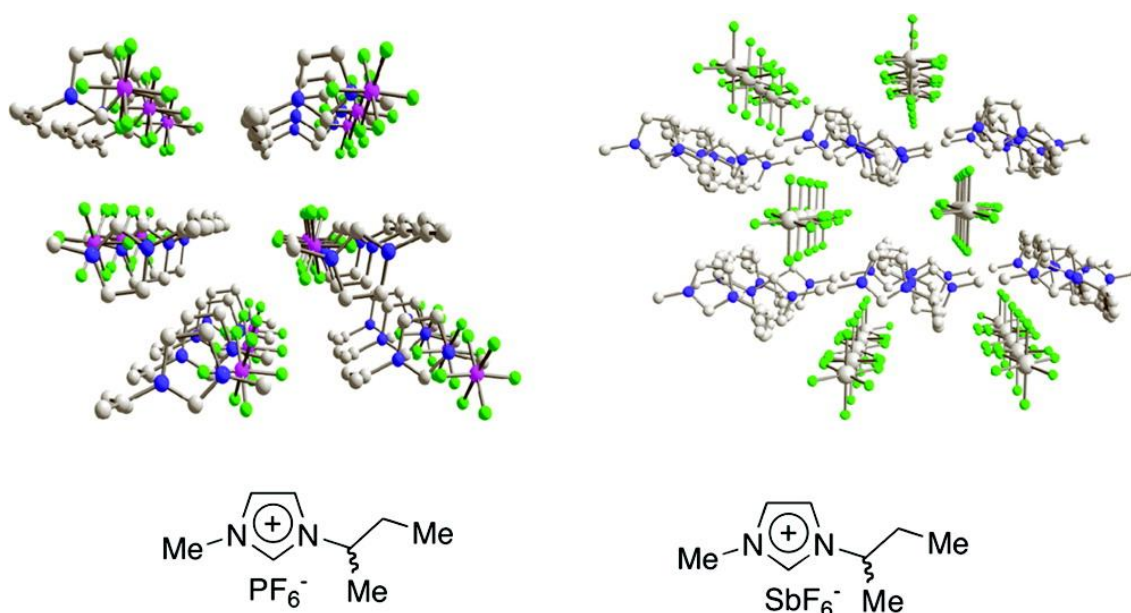


Figura 2. Ilustração das duas principais modalidades 3-D de LIs imidazólios: Em ambos os casos são observados a formação de canais livres por meio de ligações de hidrogênio. (Adaptada da ref.¹⁷).

LIs imidazólios possuíam apenas grupamentos alquílicos como cadeias laterais, nas posições 1 e 3 do anel imidazólio até que, nos últimos anos, desenvolveu-se a última geração de LIs,⁴ onde funções orgânicas foram introduzidas, principalmente na cadeia lateral do nitrogênio 1, aumentando assim as possibilidades de aplicação dos LIs. Essa nova classe de LIs denominou-se LIs de TSILs. Alguns exemplos de LIs funcionalizados estão representados na Figura 3.¹⁸

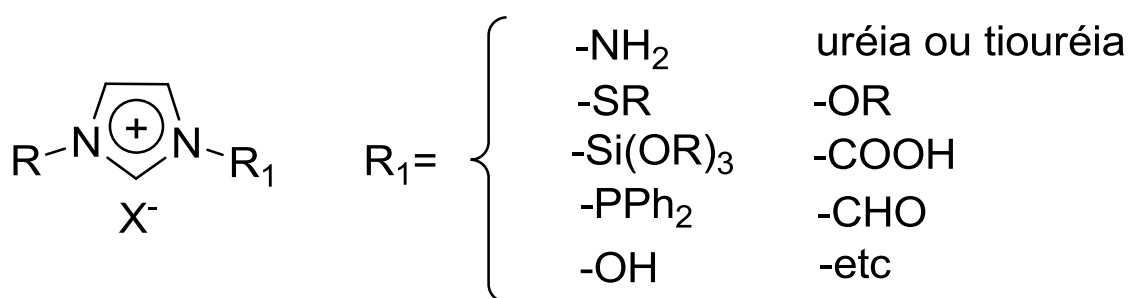


Figura 3. Alguns exemplos de LIs funcionalizados. (Adaptada da ref.²).

Com o advento dos TSILs, esses foram investigados para as mais diversas aplicações na área de Química, entretanto, sua principal utilização foi em química verde como substitutos de solventes orgânicos voláteis nas atividades industriais e de pesquisa.¹⁹ Com o desenvolvimento de pesquisas voltadas a tecnologia dos TSILs, hoje é possível encontrar um número crescente de aplicações desses sais, alguns exemplos são apresentados na Figura 4.⁴

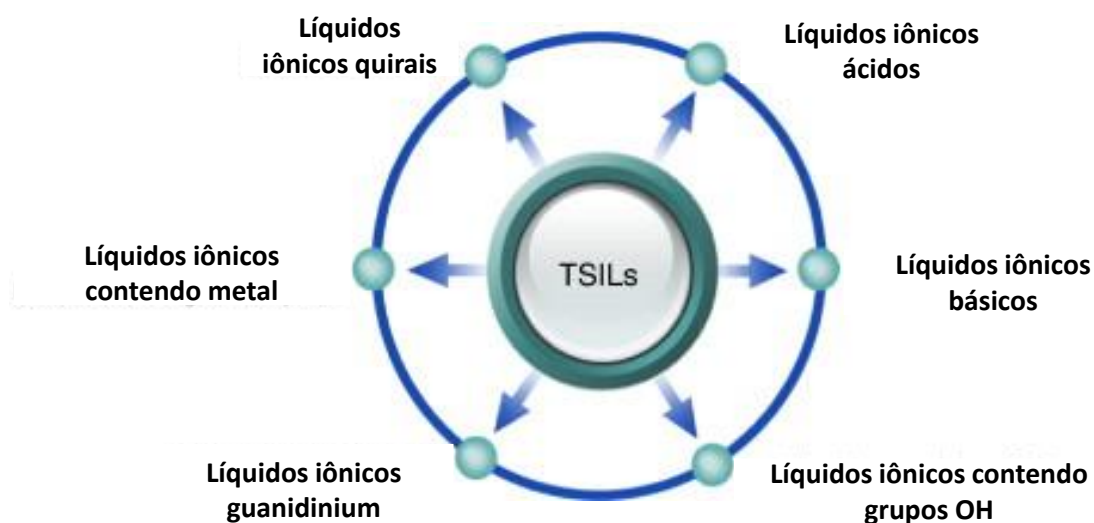


Figura 4. Algumas aplicações de LIs (Adaptada ref.⁴).

Outros campos de aplicação dos LIs são: eletroquímica,²⁰ química analítica,²¹ energia,²² nanotecnologia,^{23,24} biotecnologia,^{25,26} e dos polímeros^{27,28} entre outros. Esses compostos também despertam interesse na química de materiais poliméricos como: Solventes verdes em processos de polimerização,²⁹ modificação pós-polimerização,³⁰ co-catalisadores, iniciadores em reações de polimerização,³¹ aditivos para polímeros especiais e no desenvolvimento de polímeros funcionais.³²

1.4 Polímeros Funcionais

Nos últimos anos têm havido um interesse crescente no desenvolvimento de materiais versáteis que sejam íons condutores, apresentem propriedades físico-químicas estáveis, sejam suscetíveis a modificações químicas, e que possa operar dentro de um ambiente biológico. Recentemente, o interesse centrou-se na desenvolvimento de polímeros solúveis em água, advindos de LIs devido a sua potencial aplicação em processos químicos verdes e biocompatibilidade por atender aos quesitos citados anteriormente.³³

PLIs são uma nova classe de polieletrólitos funcionais que apresentam algumas propriedades únicas dos LIs, como condutividade iônica, estabilidade química e térmica, e de acordo com a seleção do contra-íon há a possibilidade de ajuste de polaridade, além de exibirem as propriedades de polímero intrínsecas na estrutura.³⁴ PLIs apresentam algumas propriedades de estado sólido específicas como: São materiais amorfos, esse fato deve-se provavelmente a mobilidade do contra-ânion o que inviabiliza os processos de cristalização.³⁵

PLIs receberam esse nome por possuírem na estrutura macromolecular pelo menos uma unidade monomérica característica do LIs no entanto, até o presente momento não há uma definição clara estabelecida para essa nova classe de materiais.³⁵ PLIs têm sido amplamente estudados nas áreas de química de polímeros, ciência dos materiais, catálise, separação, química analítica e eletroquímica por combinarem as propriedades de LIs e polímeros. Assim, PLIs possuem amplo campo de aplicação que, até o momento, foram pouco explorados quanto a sua funcionalização.⁸

Para a arquitetura de PLIs, LIs imidazólio são excelentes alternativas devido suas fortes interações internas através de emparelhamento π - π e interações de hidrogênio, essas interações farão com que o polímero resultante forme microfases com canais com regiões polares e apolares no polímero resultante.¹⁷

1.5 Lantanídeos

Os lantanídeos (Ln), foram conhecidos inicialmente como "terras-raras", dada sua ocorrência em forma de óxidos ou "terras", em linguagem arcaica. Atualmente tem-se encontrado novas jazidas de minerais contendo terras-raras (TR), no entanto a dificuldade de extração encarece sua produção. Os elementos, ou metais de TR compõe um conjunto de 17 elementos químicos que inclui o escândio (Sc), o ítrio (Y) e os 15 elementos da série dos lantanídeos [do lantânio (La) ao lutécio (Lu)]. Os elementos de TR são conhecidos desde 1787. Entretanto, somente em 1913, com o uso da espectrografia de raios X, pelo físico inglês Henry Moseley, foi possível determinar o número exato de lantanídeos que completaria o conjunto de elementos de TR.^{36,37}

Os Ln estão compreendidos entre os elementos de número atômico 57 e 71. Estes elementos apresentam como característica o preenchimento do subnível 4f e estado de oxidação mais comum 3⁺. Os elementos pertencentes à família dos Ln com suas respectivas configurações eletrônicas no estado de oxidação 3⁺ e raio iônico, com número de coordenação igual a 8 podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Elementos pertencentes ao grupo dos lantanídeos, seus respectivos símbolos, configurações eletrônicas e raio iônico, para complexos $[\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$ (adaptada da ref.³⁸).

| Elemento | Símbolo | Número Atômico (Z) | Configuração Ln^{3+} | Estados Fundamentais Ln^{3+} |
|-------------|---------|--------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| Lantânio | La | 57 | $[\text{Xe}] 4f^0$ | $^1\text{S}_0$ |
| Cério | Ce | 58 | $[\text{Xe}] 4f^1$ | $^2\text{F}_{5/2}$ |
| Praseodímio | Pr | 59 | $[\text{Xe}] 4f^2$ | $^3\text{H}_4$ |
| Neodímio | Nd | 60 | $[\text{Xe}] 4f^3$ | $^4\text{I}_{9/2}$ |
| Promécio | Pm | 61 | $[\text{Xe}] 4f^4$ | $^5\text{I}_4$ |
| Samário | Sm | 62 | $[\text{Xe}] 4f^5$ | $^6\text{H}_{5/2}$ |
| Európio | Eu | 63 | $[\text{Xe}] 4f^6$ | $^7\text{F}_0$ |
| Gadolínio | Gd | 64 | $[\text{Xe}] 4f^7$ | $^8\text{S}_{7/2}$ |
| Térbio | Tb | 65 | $[\text{Xe}] 4f^8$ | $^7\text{F}_6$ |
| Disprósio | Dy | 66 | $[\text{Xe}] 4f^9$ | $^6\text{H}_{15/2}$ |
| Hólmio | Ho | 67 | $[\text{Xe}] 4f^{10}$ | $^5\text{I}_8$ |
| Érbio | Er | 68 | $[\text{Xe}] 4f^{11}$ | $^4\text{I}_{15/2}$ |
| Túlio | Tm | 69 | $[\text{Xe}] 4f^{12}$ | $^3\text{H}_6$ |
| Itérbio | Yb | 70 | $[\text{Xe}] 4f^{13}$ | $^2\text{F}_{7/2}$ |
| Lutécio | Lu | 71 | $[\text{Xe}] 4f^{14}$ | $^1\text{S}_0$ |

É possível observar uma tendência na diminuição do raio iônico com o aumento do número atômico, a esse efeito, dá-se o nome de contração lantanídica. Esse fenômeno ocorre quando o aumento da carga nuclear supera o aumento da repulsão intereletrônica, como nos Ln há primeiramente o preenchimento dos orbitais mais internos 4f, aumenta-se a carga nuclear efetiva sobre os elétrons mais externos resultando numa atração mais intensa sobre os elétrons dos orbitais 5s, 5p (e 6s, no caso dos átomos neutros).^{39,40}

Na formação de complexos os elétrons mais internos dos orbitais 4f são blindados pelos elétrons mais externos 5s e 5p como representado na Figura 5. Essa blindagem é responsável pelas propriedades de luminescência específicas dos Ln, pois a emissão desses íons é devida as transições internas 4f-4f intraconfiguracionais. Como o orbital 4f parcialmente preenchido é bem protegido pelos orbitais 5s e 5p, os ligantes na primeira e segunda esfera de coordenação perturbam os íons Ln de forma muito limitada, assim as transições ópticas são geralmente muito finas.⁴¹

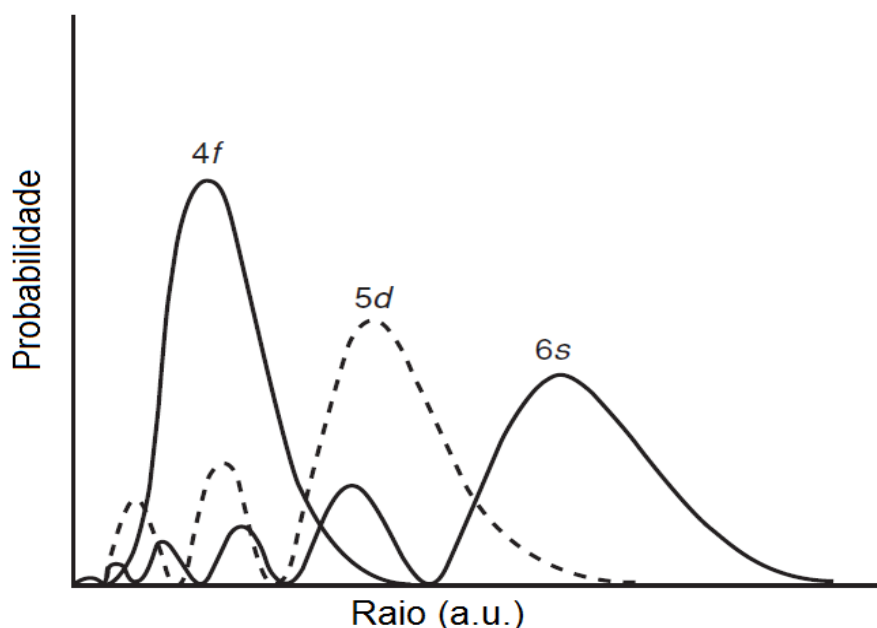


Figura 5. Funções de onda de átomos hidrogenóides para os orbitais do Cério (Ce). (Adaptada da ref.³⁹).

O preenchimento gradual dos orbitais 4f também é responsável pelas propriedades magnéticas e espectroscópicas muito particulares desses elementos. No que se refere as propriedades espectroscópicas, a configuração eletrônica $4f^n$ gera um grande número de níveis eletrônicos, com energias bem definidas e são característicos para cada íon Ln específico.

Tanto o processo de excitação quanto o de emissão dos Ln ocorrem devido a transições internas f-f. Estas transições são proibidas pela regra de seleção de Laporte ($\Delta l = \pm 1$) e de spin ($\Delta S = 0$), portanto possuem baixa absorvidade molar, ϵ ca. $10 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, apresentam-se na forma de bandas finas devido ao grande deslocamento de Stokes e suas transições ópticas são geralmente caracterizadas por tempos de vida longos, de microssegundos a milissegundos.³⁸ Como os Ln não apresentam boa absorvidade, logo a emissão também será de baixa intensidade.

Com o intuito de melhorar a intensidade luminescente dos Ln, moléculas orgânicas são complexadas ao metal promovendo um mecanismo de transferência de energia, onde o ligante absorve a radiação em uma primeira etapa, e transfere a energia absorvida para o metal, tal fenômeno é conhecido como “efeito antena”.⁴²

Dois tipos de sensibilizadores clássicos são usados para produzir o efeito antena: Eles podem ser um quelante ou uma unidade próxima ao quelante. Quando se tem o primeiro caso, o Ln pode ter dupla função: atuar como ácido de Lewis, sendo responsável pelo aumento da força aceptora do ligante dipolar, conseqüentemente, reduzindo a energia de transferência de carga (TC) de relaxação do estado excitado e ser a porção luminescente do complexo. A presença de TC induz uma modificação completa do processo de sensibilização. Geralmente, a sensibilização de lantanídeos pode ocorrer de três formas simultâneas ou isoladas, como mostrado na Figura 6.⁴³

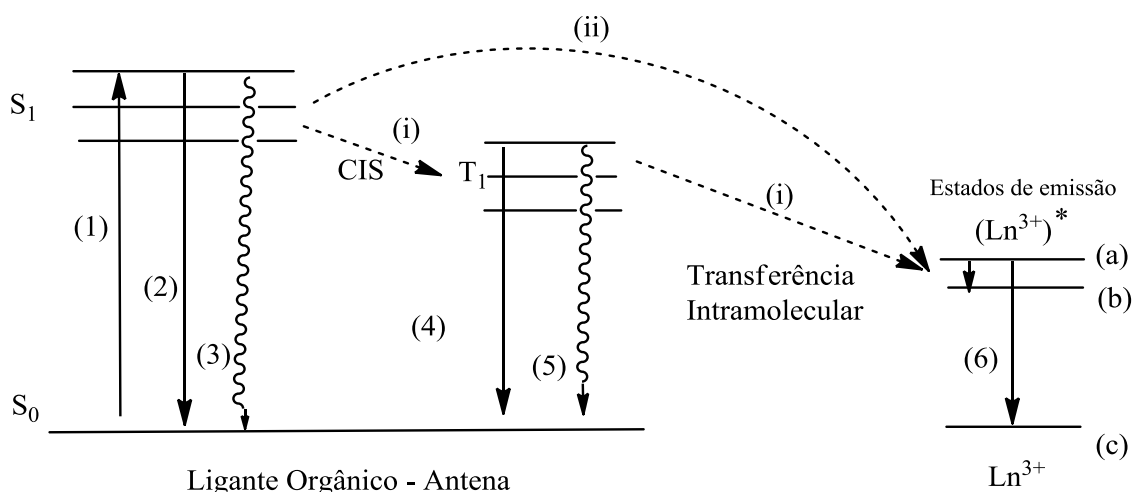


Figura 6. Representação esquemática do mecanismo de sensibilização de Ln. Em (1) absorção de energia do ligante provocando uma transição do singlete fundamental (S_0) para o singlete excitado (S_1). Decaimento vibracional no singlete excitado em (2). Decaimento do singlete excitado (S_1) para o singlete fundamental (S_0) fluorescência em (3). Cruzamento inter-sistema (CIS) em (i) do estado singlete excitado (S_1) para o tripleto (T_1). Decaimento vibracional T_1 - S_0 em (4). Decaimento do tripleto (T_1) para o singlete fundamental (S_0) por fosforescência (5). Transferência de energia ligante→metal, via tripleto (i). Decaimento radiativo 5D_0 - 7F_J (6). (Adaptado da ref.⁴⁴).

O ligante absorve energia (1), sai do seu estado fundamental (S_0) para seu estado excitado (S_1), transfere energia diretamente (ii) para o estado excitado do lantanídeo (a), decai não radiativamente populando o estado de menor energia (b) que decai não radiativamente (6) para o estado fundamental (c).⁴⁵

- O estado excitado singlete (S_1) pode decair radiativamente por fluorescência (2) ou não-radiativamente (3) para o estado fundamental (S_0), mas também podem ser submetidos a cruzamento intersistema (CIS) para

preencher o estado de tripleto (T_1) que translada energia para os estados de menor energia (a) e (b) do Ln, que então decai radiativamente para o estado fundamental (c), o estado tripleto também pode decair por fosforescência radiativamente (4) ou não-radiativamente (5).⁴⁴

As verificações espectroscópicas experimentais de diferentes sistemas levam a concluir que esses sistemas distintos apresentam predominância de um ou de outro mecanismo.

Para que se estabeleça uma ligação metal-ligante é necessário interação química entre o Ln e o ligante orgânico (LO), para que essa interação ocorra, deve-se satisfazer o princípio de Pearson de que ácidos duros preferem bases duras e ácidos moles preferem bases moles. Os Ln são ácidos duros, portanto preferem bases duras. Desta forma, ligantes com pontos de coordenação com átomos de oxigênio e nitrogênio são candidatos a formarem complexos de Ln.⁴⁶

1.6 Imageamento Celular

Os processos biológicos acontecem em escalas espaciais e temporais de várias ordens de magnitude, a nível macromolecular, que podem ser vistos a olho nu, e níveis micromoleculares, só observáveis com a ajuda de um microscópio. Os processos que acontecem em grandes escalas são relativamente fáceis de se observar, no entanto, processos celulares acontecem em dimensões microscópicas, fato esse que dificulta observações experimentais e compreensão da “maquinaria celular”.⁴⁷

Dentre as várias técnicas de bioimageamento, a microscopia confocal de fluorescência tem despertado grande interesse para aplicação em diagnósticos celulares, pois essa técnica oferece medições com alta resolução espacial (cerca de nanômetros) e temporal (cerca de microssegundo para milissegundo), alta sensibilidade, versatilidade e especificidade e condições fisiológicas para realização das análises. No entanto, faz-se necessário o uso de agentes fluorescentes, que sejam foto-estáveis e apresentem baixa citotoxicidade.¹²

Essa técnica microscópica fornece uma abordagem eficiente e única para estudar células vivas e fixadas através da introdução de fluoróforos especificamente orientados para moléculas e organelas de interesse. Enquanto a seletividade é conseguida principalmente por meio das sondas fluorescentes, o aumento do contraste é realizado no próprio microscópio.⁴⁸

Três componentes básicos estão presentes em qualquer microscópio de luz, independentemente do tipo: (1) uma fonte de iluminação; (2) uma lente de ampliação; (3) e um dispositivo de aquisição de imagem, como ilustrado na Figura 7.

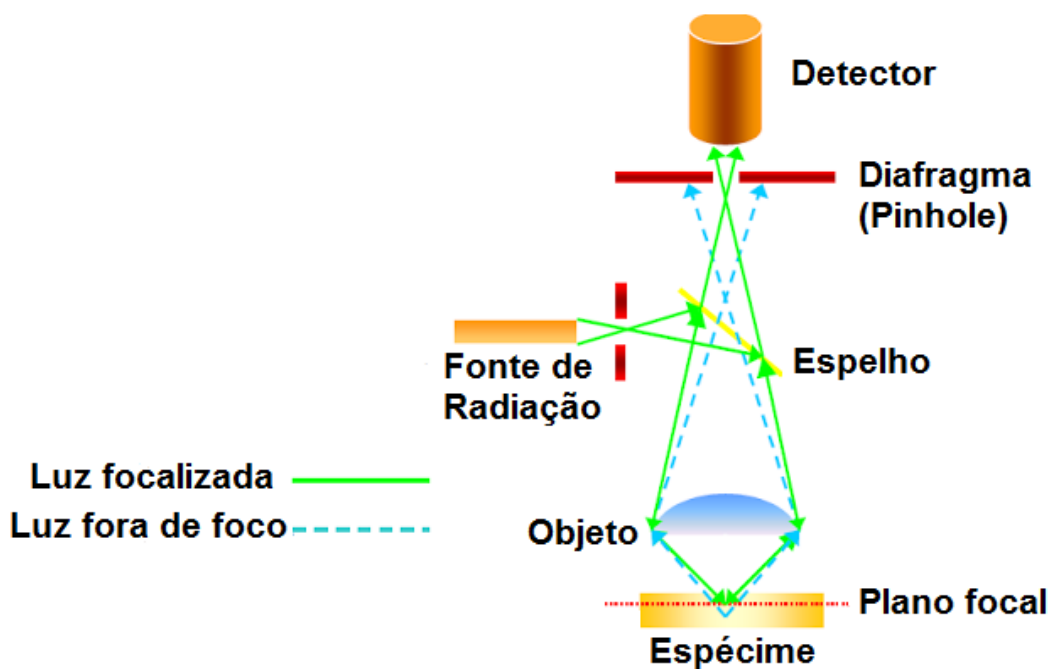


Figura 7. Princípio óptico da microscopia confocal. Luz fora do plano focal está excluído da medição por uma abertura adicional (pinhole).

Recentemente lasers estão sendo usados como fonte de iluminação na microscopia confocal de fluorescência (MCF) por produzir luz de alta intensidade e não necessitar de filtro de excitação por serem fonte de luz monocromática.

A técnica de microscopia que faz uso de laser como fonte de iluminação é denominado como microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). Essencialmente, na MCVL um feixe laser é focado sobre a amostra e uma imagem é construída pixel-a-pixel, recolhendo os fótons emitidos com detecção simultânea ponto-a-ponto. Uma característica fundamental da MCVL é sua capacidade de obter imagens focalizadas de várias profundidades dentro da amostra; um processo chamado "corte óptico". Assim, uma das principais vantagens de microscopia de fluorescência é o aumento acentuado no sinal das estruturas marcadas e moléculas.⁴⁹

Para adquirir imagens de fluorescência de uma célula faz-se necessário dois requisitos: marcação específica da célula e uma resolução de tempo que é suficientemente elevada para gravar dinâmicas relevantes na célula. Em geral, dois tipos de sondas são utilizadas para resolução de imagem: proteínas fluorescentes e sondas não-geneticamente codificadas, como compostos

orgânicos luminescentes, complexos inorgânicos, como complexos de íons lantanídeos, nanopartículas luminescentes e pontos quânticos.^{11,48,50}

Encontra-se na literatura resultados significativos tais como o desenvolvimento de uma sonda capaz de atuar como rastreador para estudar o caminho de ácidos graxos (e derivados) em células vivas,⁵¹ marcador seletivo para íons de zinco que, conseqüentemente possam ajudar a rastrear desordens metabólicas associadas com variações desses íons nas células.⁵² Investigação de processos oxidativos em lipídios com o uso de uma sonda fluorescente (BODIPY®).⁵³

2. Objetivos

2. 1 Objetivo Geral

O presente trabalho objetiva a síntese, caracterização e aplicação de novas sondas luminescentes que agreguem as características dos PLIs (solubilidade e estabilidade físico-química) com as boas características de luminescência de íons lantanídeos, os quais possam ser aplicados como sondas fluorescentes para imageamento celular *in vivo*.

2. 2 Objetivos Específicos

- i. Sintetizar um LI de função específica e a partir deste sintetizar uma nova classe de PLIs.
- ii. Complexar o LI e o PLI a íons lantanídeos com o intuito de obter seis complexos hidrossolúveis e estáveis.
- iii. Caracterizar o LI, o PLI e os complexos através de diferentes técnicas espectroscópicas (RMN, FTIR-ATR, Fluorescência), análises térmicas (TGA com DTA, DSC), cromatográficas(GPC).
- iv. Estudar as propriedades fotofísicas das redes de coordenação através da espectroscopia de luminescência, medidas de tempos de vida dos estados excitados das emissões.
- v. Realizar testes de imageamento celular para avaliar os com complexos obtidos como sondas fluorescentes seletivas para marcação celular em análises de microscopia confocal.

3. Resultados e Discussão

3.1 Síntese dos complexos poliméricos fluorescentes

A Figura 8 apresenta as estruturas das moléculas sintetizadas para a execução deste trabalho.

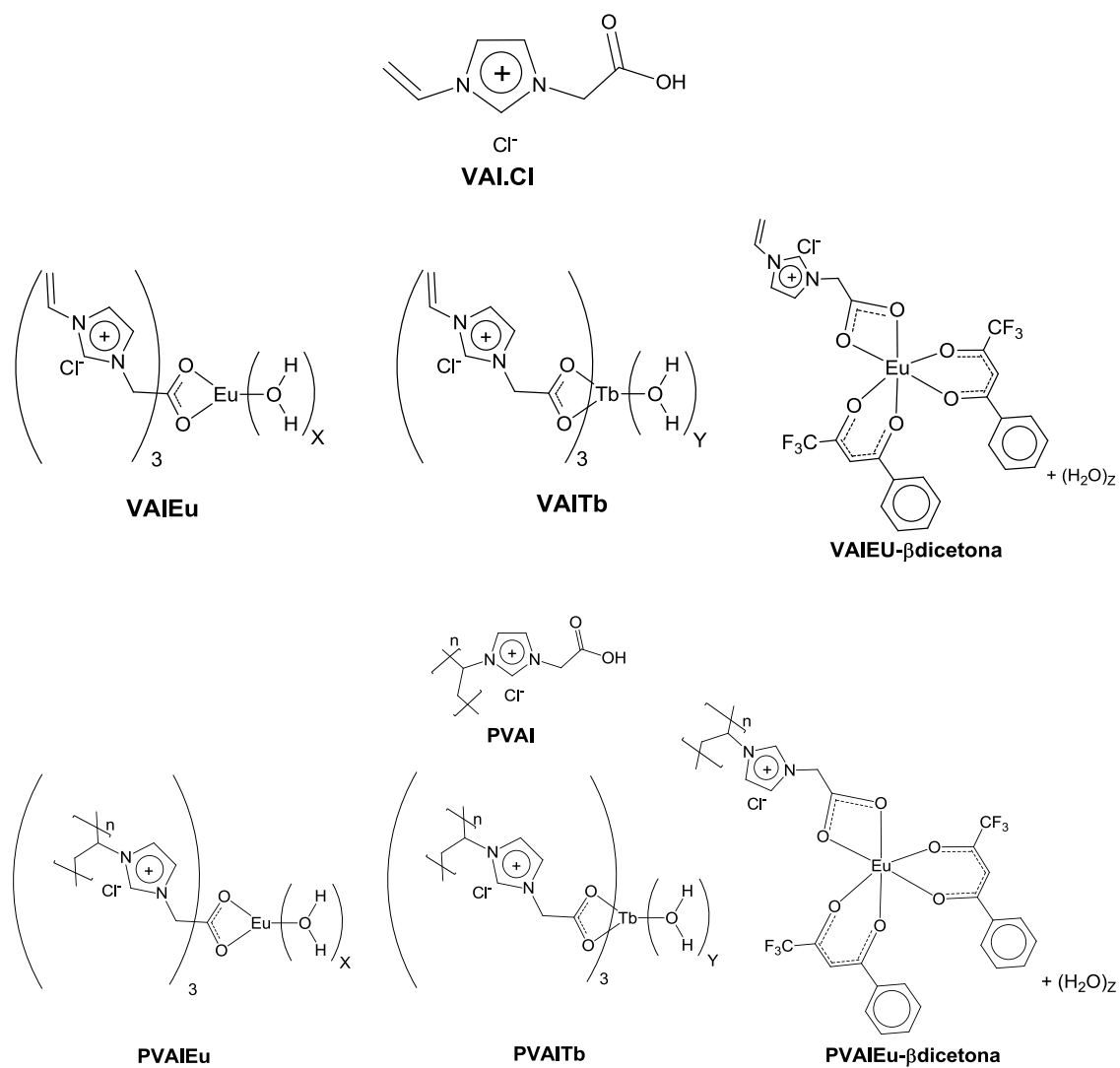
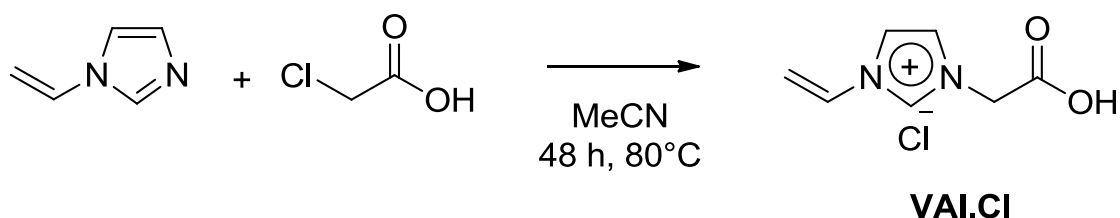


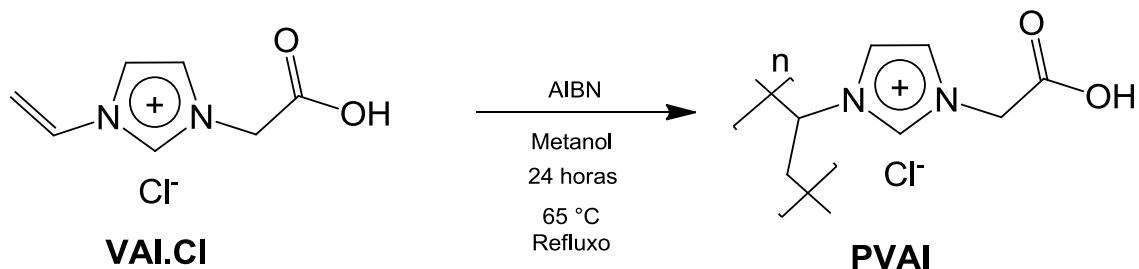
Figura 8. Compostos **VAI.Cl** e **PVAI** (precursores). Compostos **VAIEu**, **VAITb**, **VAIEu-βdicetona**, **PVAIEu**, **PVAITb**, **PVAIEu-βdicetona** (produtos finais).

Para a obtenção do **VAI.Cl** realizou-se uma reação de substituição nucleofílica do tipo S_N2 entre o vinilimidazol e ácido cloroacético levando a formação do Cloreto de 1-metil-3-*N*-carboxivinilimidazólio (**VAI.Cl**) com 92% de rendimento. (Esquema 1).



Esquema 1. Síntese do líquido iônico funcionalizado **VAI.Cl** (monômero).

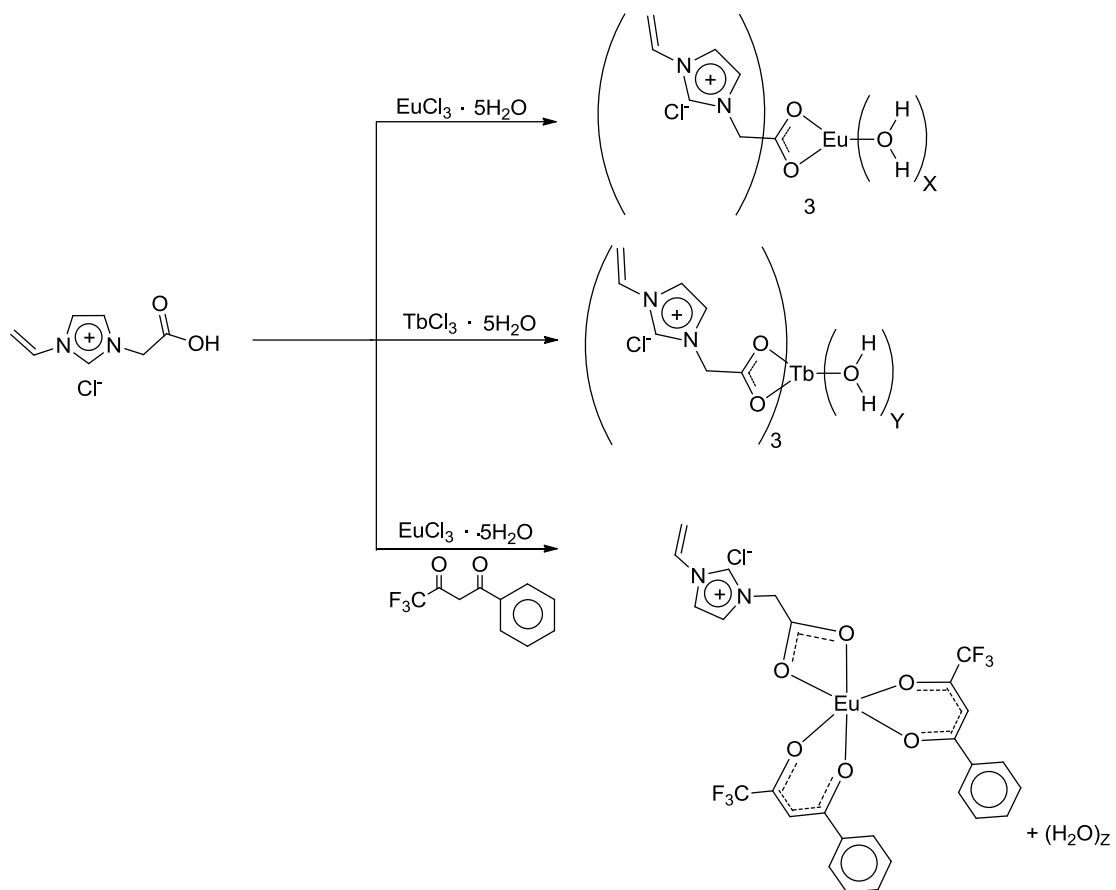
Para a obtenção do polímero **PVAI** realizou-se uma reação de polimerização radicalar com o monômero **VAI.Cl** (Esquema 2). O produto obtido ao final da síntese foi lavado exaustivamente com acetato de etila e acetonitrila para retirada do monômero que não reagiu. Ao final da lavagem o produto foi seco sob vácuo e o rendimento obtido foi de 85%.



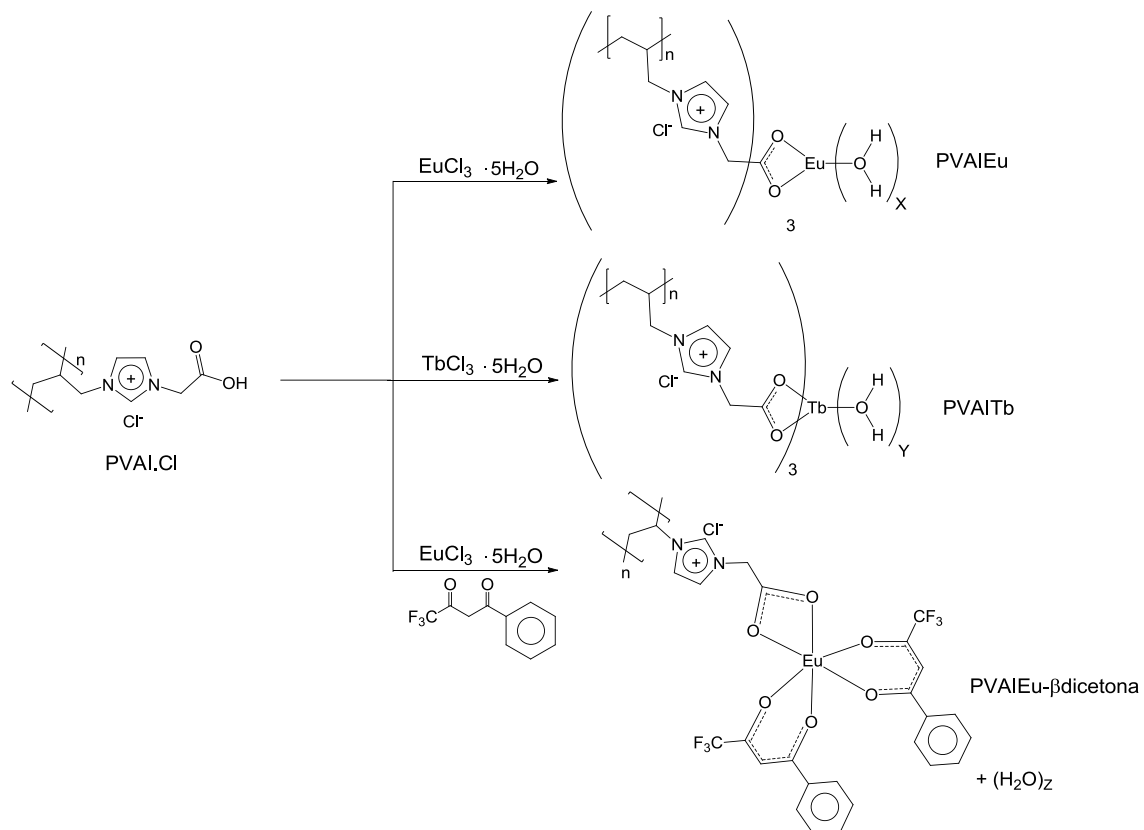
Esquema 2. Síntese do polímero **PVAI**.

A partir do **VAI.Cl** e **PVAI**, quatro novos complexos de Tb³⁺ e Eu³⁺ hidrossolúveis foram sintetizados como mostra o Esquema 3 e 4.

Os compostos **VAI.Cl** e **PVAI** foram submetidos a uma reação de complexação com os íons lantanídeos Eu³⁺ e Tb³⁺ para a formação dos complexos desejados: **VAIEu**, **VAITb**, **VAIEu-βdicetona**, **PVAIEu**, **PVAITb**, **PVAIEu-βdicetona**.



Esquema 3. Síntese dos complexos derivados do **VAI.Cl** com Eu^{3+} e Tb^{3+} .



Esquema 4. Síntese dos complexos derivados de **PVAI** com Eu^{3+} e Tb^{3+} .

Na síntese dos complexos o pH deve ser rigorosamente controlado para que grupos HO⁻ não complexem ao íon Ln³⁺ e não interfiram na formação do produto de interesse.

De forma geral, o monômero e o polímero foram obtidos em bons rendimentos e nas reações de complexação os rendimentos são quantitativo.

Os produtos obtidos ao final de cada etapa foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho (FTIR-ATR), GPC, fluorescência e análises térmicas (TGA com DTA). Testes biológicos de imageamento celular também foram realizados afim de explorar possíveis aplicações dessa nova classe de complexos luminescentes solúveis em água.

3.2 Infravermelho

Os espectros de infravermelho do **VAI.CI** (Figura 9) apresentam uma banda em 1741 cm^{-1} característica do estiramento C=O do ácido carboxílico, que sofre deslocamento para menores números de onda (1617 , 1621 e 1614 cm^{-1}) ao ser complexado aos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} respectivamente. Essa diminuição dos valores de estiramento deve-se ao aumento da ressonância do grupo carboxilato gerado, que resulta numa diminuição na constante de força de ambas as ligações CO e, por sua vez, uma diminuição na energia da ligação resultando num menor número de onda.

As bandas em 3423 , 3345 e 3390 cm^{-1} são referentes aos estiramentos O–H das águas presentes na esfera de coordenação dos complexos de **VAIEu**, **VAIEu- β dicetona** e **VAITb**, respectivamente. Outros sinais atribuídos a cada produto estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores encontrados de estiramento e deformação para o Ligante **VAI.CI** e complexos **VAIEu**; **VAIEu- β dicetona**; **VAITb**.

| | VAI.CI | VAIEu | VAIEu-βdicetona | VAITb |
|--|-------------------------------------|-----------------------|---|-----------------------|
| ν OH Ácido carboxílico | 3442 cm^{-1} (OH livre) | Ausente | Ausente | Ausente |
| ν OH H ₂ O coordenação | Ausente | 3423 cm^{-1} | 3345 cm^{-1} | 3390 cm^{-1} |
| ν =CH | 3124 cm^{-1} | 3133 cm^{-1} | 3114 cm^{-1} | 3112 cm^{-1} |
| ν_{ass} C=O | 1741 cm^{-1} | 1621 cm^{-1} | 1614 cm^{-1} | 1617 cm^{-1} |
| ν_{sim} C=O | 1394 cm^{-1} | 1384 cm^{-1} | 1290 cm^{-1} | 1373 cm^{-1} |
| ν C=C vinílico | 1648 cm^{-1} | Banda sobreposta | Banda sobreposta | Banda sobreposta |
| δ CO | 1203 cm^{-1} | Ausente | Ausente | Ausente |
| δ CH imidazol | 1170 cm^{-1} | 1178 cm^{-1} | 1182 cm^{-1} | 1174 cm^{-1} |
| δ =CH de aromáticos | Ausente | Ausente | 701 e 767 cm^{-1} | Ausente |

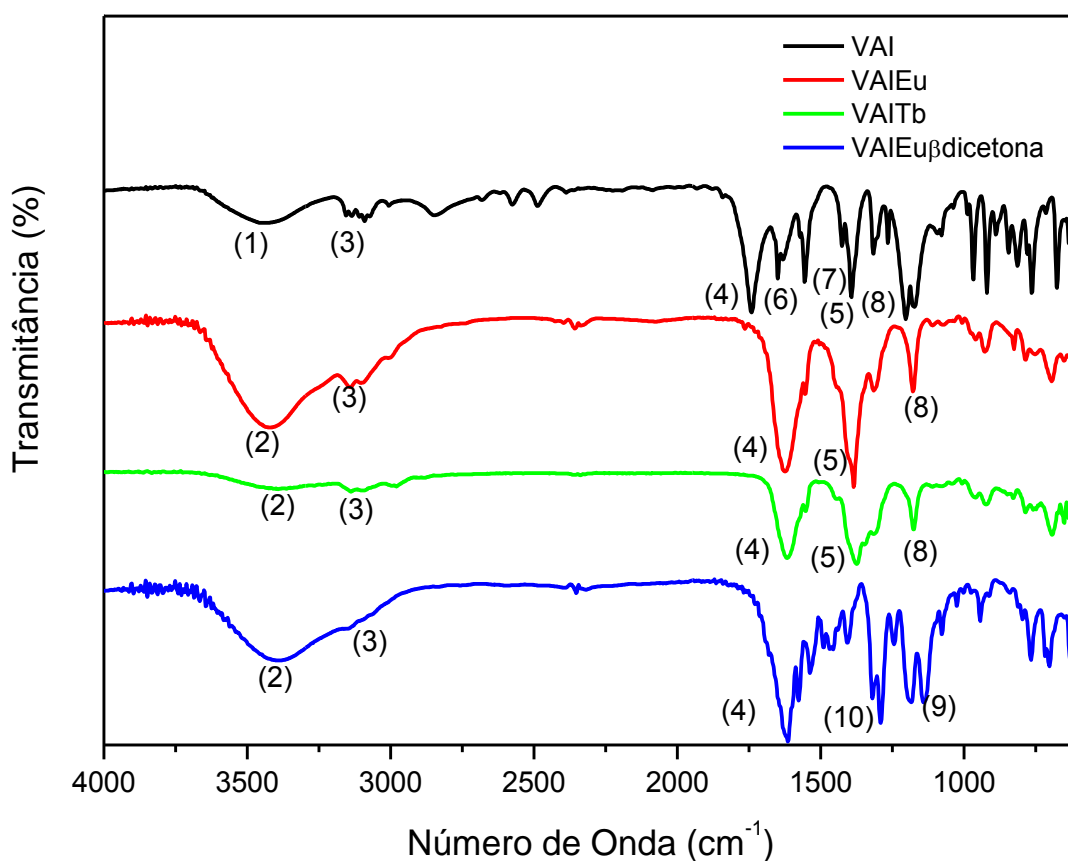


Figura 9. Espectros de FTIR-ATR dos monômeros. De cima para baixo tem-se: **VAI** (preto), **VAIEu** (vermelho), **VAITb** (verde) e **VAIEu-βdicetona** (azul).

É possível observar ainda o caráter bidentado do carboxilato coordenado ao metal, através da comparação entre os $\Delta_{ASS-SIM}$ das espécies de carboxilato livre e complexado, onde $\Delta_{ASS-SIM}$ é a diferença entre os modos vibracionais assimétrico e simétrico, respectivamente, do estiramento deste grupo.⁵⁴ A Tabela 3 mostra os valores de estiramento simétrico e assimétrico do grupo carboxilato, bem como os valores calculados de $\Delta_{ASS-SIM}$ para o ligante livre e complexado.

Tabela 3. Valores dos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação CO e valores de $\Delta_{ASS-SIM}$ para o ligante **VAI.Cl** e dos complexos **VAIEu** e **VAITb** e **VAIEu-βdicetona**.

| | VAI.Cl | VAIEu | VAIEu-β-dicetona | VAITb |
|--|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| $\nu_{ass} C=O$ | 1741 cm ⁻¹ | 1621 cm ⁻¹ | 1614 cm ⁻¹ | 1617 cm ⁻¹ |
| $\nu_{sim} C=O$ | 1394 cm ⁻¹ | 1384 cm ⁻¹ | 1290 cm ⁻¹ | 1373 cm ⁻¹ |
| $\Delta_{ASS-SIM}$ (cm ⁻¹) | 347 cm ⁻¹ | 237 cm ⁻¹ | 324 cm ⁻¹ | 244 cm ⁻¹ |

Isso acontece porque a coordenação monodentada faz com que os átomos de oxigênio percam sua equivalência. A consequência é um aumento em $\nu_{\text{ASS}}(\text{CO}_2)$, e uma diminuição em $\nu_{\text{SIM}}(\text{CO}_2)$ e, por sua vez, um aumento na separação entre as frequências de vibração relativamente ao ligante livre. Assim sendo, define-se que Δ seja a diferença entre os modos vibracionais para o ligante livre, e Δ' a diferença entre estes modos vibracionais para o carboxilato complexado. Caso $\Delta > \Delta'$, o caráter do ligante é bidentado, por outro lado, caso $\Delta < \Delta'$, o caráter do ligante é monodentado. Como observado, $\Delta > \Delta'$, ou seja, a análise mostra que o caráter do **VAl.CI** nos complexos **VAlEu** e **VAlTb** e **VAlEu- β dicetona** é bidentado.

Um comportamento semelhante nos deslocamentos de algumas bandas foi observado para os complexos poliméricos, fato esse que evidencia a formação dos complexos quando se utiliza como ligante o **PVAI** (Figura 10).

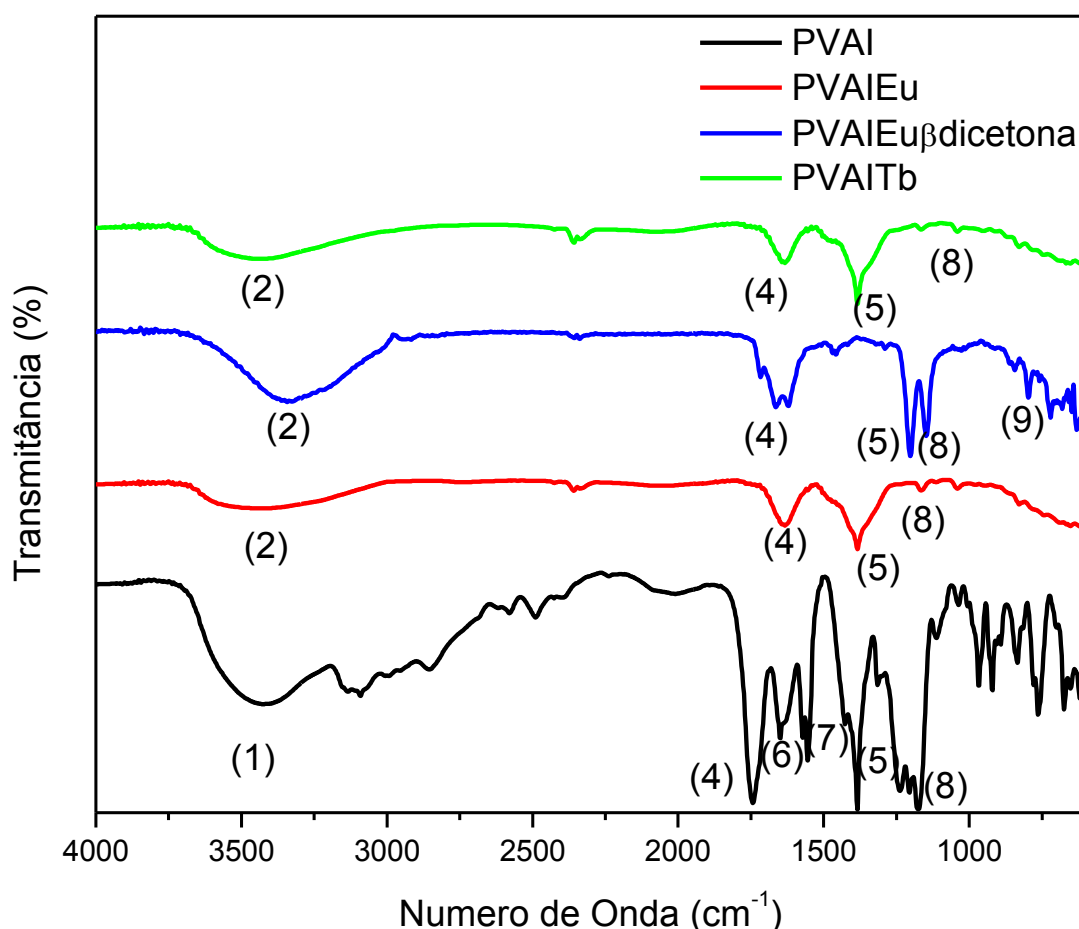


Figura 10. Espectros de FTIR-ATR do polímero e seus complexos. De baixo para cima: **PVAI** (preto), **PVAIEu** (vermelho), **PVAIEu- β dicetona** (azul) e **PVAITb** (verde).

Os valores atribuídos para deformação e estiramento das principais ligações de cada produto são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de estiramento e deformação o polímero **PVAI** e seus complexos. **PVAIEu**, **PVAIEu- β dicetona** e **PVAITb**.

| | PVAI | PVAIEu | PVAIEu-βdicetona | PVAITb |
|--|---|-----------------------|--|-----------------------|
| ν OH Ácido carboxílico | 3417 cm ⁻¹ (OH associado) | Ausente | Ausente | Ausente |
| ν OH H ₂ O coordenação | Ausente | 3448 cm ⁻¹ | 3361 cm ⁻¹ | 3475 cm ⁻¹ |
| ν =CH | 3124 cm ⁻¹ | Ausente | Ausente | Ausente |
| ν_{ass} C=O | 1745 cm ⁻¹ | 1639 cm ⁻¹ | 1648 cm ⁻¹ | 1641 cm ⁻¹ |
| ν_{sim} C=O | 1240 cm ⁻¹ | 1386 cm ⁻¹ | 1203 cm ⁻¹ | 1382 cm ⁻¹ |
| ν C=C vinílico | 1648 cm ⁻¹ | Banda sobrepota | Banda sobrepota | Banda sobrepota |
| δ CO | 1384 cm ⁻¹ | Ausente | Ausente | Ausente |
| δ CH imidazol | 1174 cm ⁻¹ | 1162 cm ⁻¹ | 1147 cm ⁻¹ | 1166 cm ⁻¹ |
| δ =CH de aromáticos | Ausente | Ausente | 721 e 798 cm ⁻¹ | Ausente |

É possível observar o caráter bidentado do carboxilato coordenado ao metal, também para os complexos poliméricos, através da comparação entre os $\Delta_{\text{ASS-SIM}}$ das espécies de carboxilato livre e complexado. A Tabela 5 mostra os valores de estiramento simétrico e assimétrico do grupo carboxilato, bem como os valores calculados de $\Delta_{\text{ASS-SIM}}$ para o ligante livre e complexado.

Tabela 5. Valores dos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação CO e valores de $\Delta_{\text{ASS-SIM}}$ para o ligante **PVAI** e dos complexos **PVAIEu** e **PVAITb** e **PVAIEu- β dicetona**.

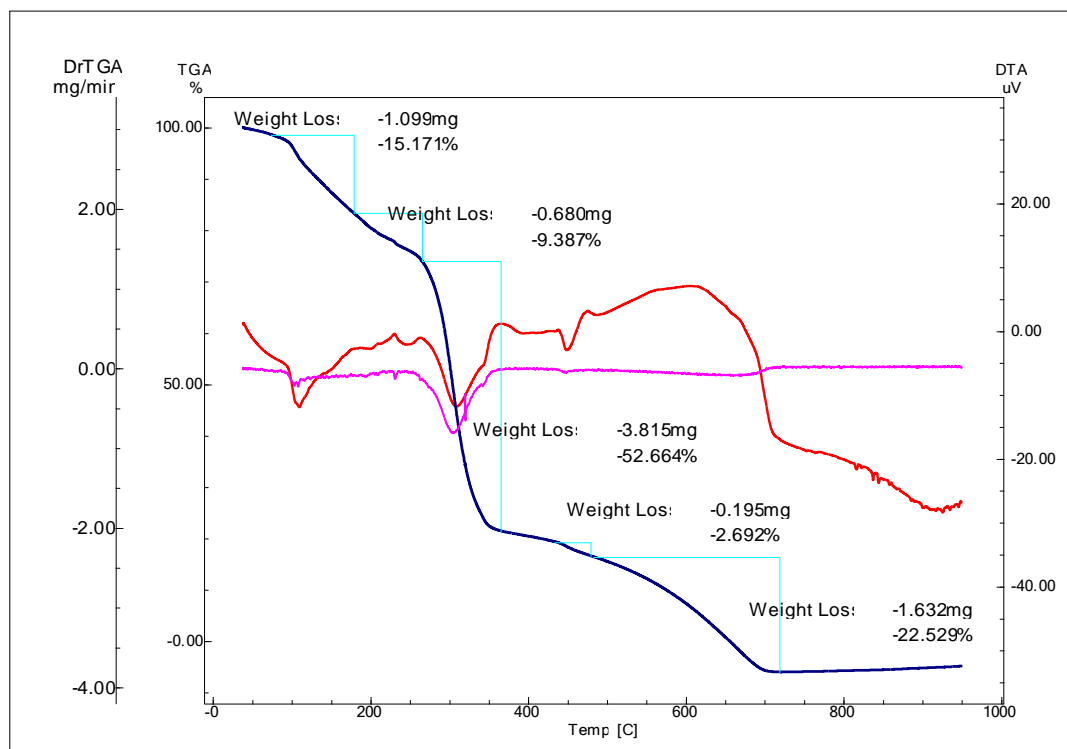
| | PVAI | PVAIEu | PVAIEu-βdicetona | PVAITb |
|---|-----------------------|-----------------------|--|-----------------------|
| ν_{ass} C=O (cm ⁻¹) | 1745 cm ⁻¹ | 1639 cm ⁻¹ | 1648 cm ⁻¹ | 1641 cm ⁻¹ |
| ν_{sim} C=O (cm ⁻¹) | 1240 cm ⁻¹ | 1386 cm ⁻¹ | 1203 cm ⁻¹ | 1382 cm ⁻¹ |
| $\Delta_{\text{ASS-SIM}}$ (cm ⁻¹) | 505 cm ⁻¹ | 253 cm ⁻¹ | 445 cm ⁻¹ | 259 cm ⁻¹ |

3.3 Análises termogravimétricas

A análise termogravimétrica é útil na avaliação das perdas de massa com o aumento da temperatura de modo que pode-se avaliar a estabilidade térmica do material. As análises por TGA/DTA das amostras **VAI.CI**, **PVAI**, **VAIEu**, **PVAIEu**, **VAIEu- β dicetona**, **PVAIEu- β dicetona**, **VAITb** e **PVAITb** foram conduzidas adotando-se um intervalo de temperatura de 25 °C à 1100 °C em atmosfera de N₂ (30 mL min⁻¹) com uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

As curvas de TGA/DTA de **VAI.CI** e **PVAI** (Figura 11) mostram cinco eventos distintos de decomposição térmica. As duas etapas iniciais correspondem à desidratação parcial (53 – 169 °C e 75 – 177 °C) e total (179 – 213 °C e 177 – 264 °C) das amostras com eliminação de moléculas de água adsorvidas na superfície dos compostos. Após a plena desidratação do composto os processos caracterizados pela decomposição térmica das cadeias carbônicas lineares e a carbonização do material acontecem em três etapas bem definidas. O início da degradação das cadeias lineares acontece na faixa de temperatura 233 – 279 °C para o monômero **VAI.CI** e de 264 – 364 °C para o polímero **PVAI**, com perda de massa de 22% e 55% respectivamente. Em seguida a carbonização dos materiais acontecem numa faixa de temperatura entre 348 – 856 °C (**VAI.CI**) e 479 – 719 °C (**PVAI**) com eventual eliminação de 28% e 23% de massa. Como era esperado o material polimérico apresenta maior estabilidade térmica com temperaturas de degradação superiores quando comparadas as etapas de degradação do monômero. Esse fato pode ser explicado devido ao aumento da cadeia principal e organização tridimensional supramolecular, característica dos LIs.

(a)



(b)

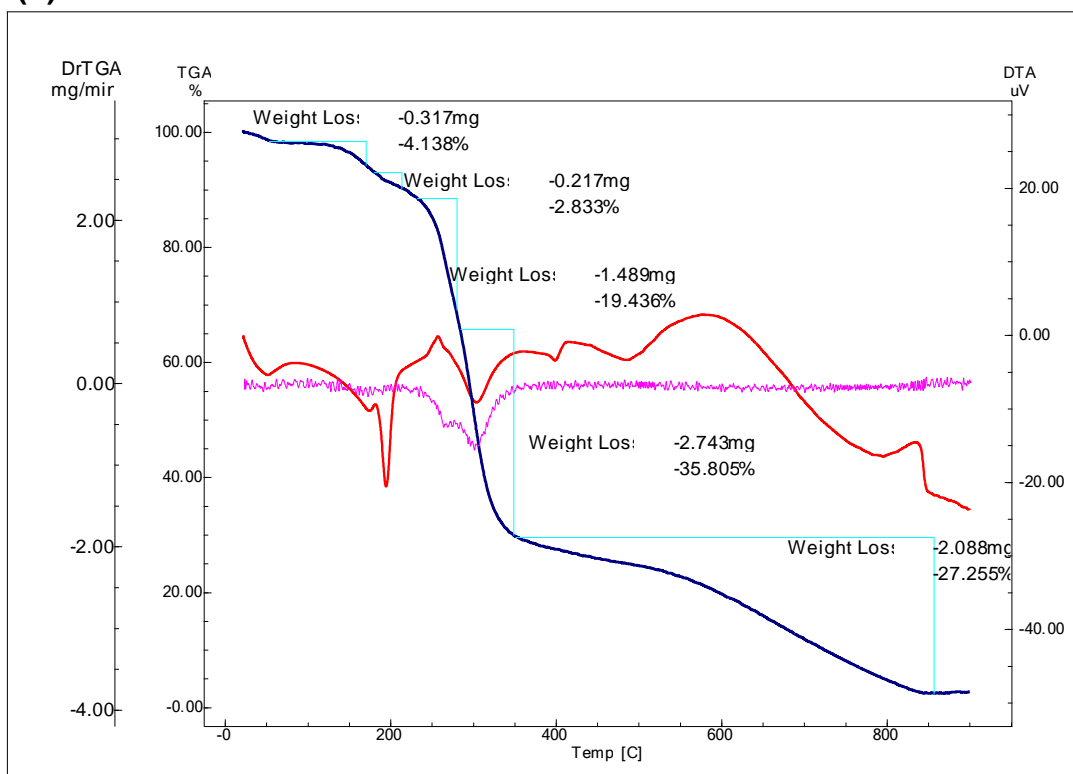


Figura 11. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAI.CI em (a), PVAI em (b).

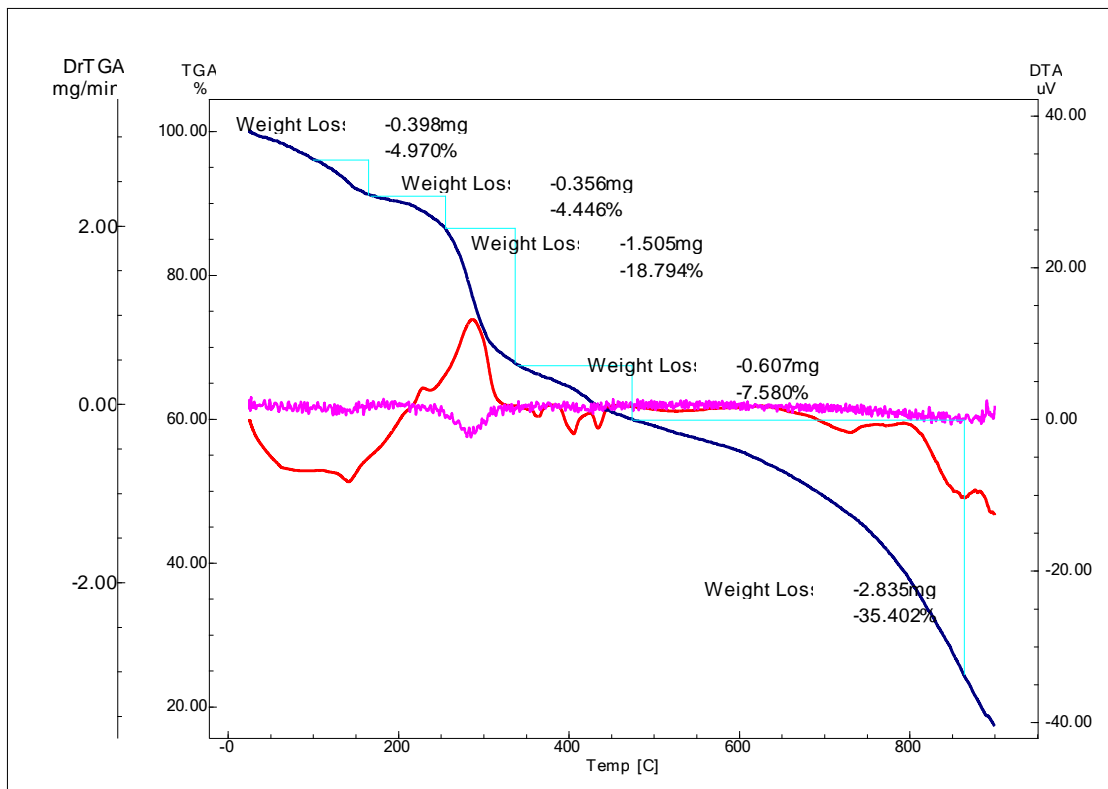
| | Faixas de temperatura | | | | |
|---------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|
| VAI. CI | 53-169 °C | 179-213 °C | 233-279 °C | 279-348 °C | 348-856 °C |
| PVAI.CI | 75- 177 °C | 177-264 °C | 264-364 °C | 434-479 °C | 479-719 °C |

Os gráficos de TG/DTG com DTA para os complexos luminescentes de Eu^{3+} e Tb^{3+} apresentam similaridades quanto ao número de eventos de decomposição térmica inerentes aos respectivos compostos. As curvas de TG e DTG dos compostos **VAIEu** (Figura 12a), **VAIEu- β dicetona** (Figura 13 a), **VAITb** e **PVAITb** (Figura 14 a e b) mostram dois eventos de degradação térmica na faixa de 53 – 255 °C constatados como água coordenada ao metal e moléculas de água hóspedes ocupando os poros das redes ou a superfície dos compostos.⁵⁵ Para os compostos **PVAIEu** (Figura 12b) e **PVAIEu- β dicetona** (Figura 13b) o evento de desidratação acontece em uma única etapa com perda de 12% e 6% respectivamente.

A decomposição da cadeia carbônica do **VAIEu- β dicetona**, **VAITb** e **PVAITb** se dá em duas etapas nos intervalos de temperatura de 233 – 445 °C (**VAIEu- β dicetona**), 250 – 620 °C (**VAITb**) e 274 – 689 °C (**PVAITb**) com perda de 42%, 69% e 40%, respectivamente. Para o **VAIEu**, **PVAIEu** e **PVAIEu- β dicetona** o evento de decomposição ocorre em três etapas no intervalo de temperatura de 255 – 473 °C (**VAIEu**) 232 – 730 °C (**PVAIEu**) e 218 – 559 °C (**PVAIEu- β dicetona**) com perdas de massa equivalentes a 62%, 63% e 34%, respectivamente.

Na última etapa dos processos de decomposição ocorre a carbonização dos complexos, sendo que esse estágio em todas as redes de coordenação dos monômeros são iniciados acima de 450 °C e terminam em aproximadamente 870 °C. Para as redes poliméricas, o estágio de carbonização se inicia acima de 700 °C e finda em torno de 950 °C, comprovando maior estabilidade térmica para complexos com ligantes poliméricos. O resíduo resultante da degradação térmica é referente à formação de óxidos de Ln, Eu_2O_3 e Tb_2O_3 .

(a)



(b)

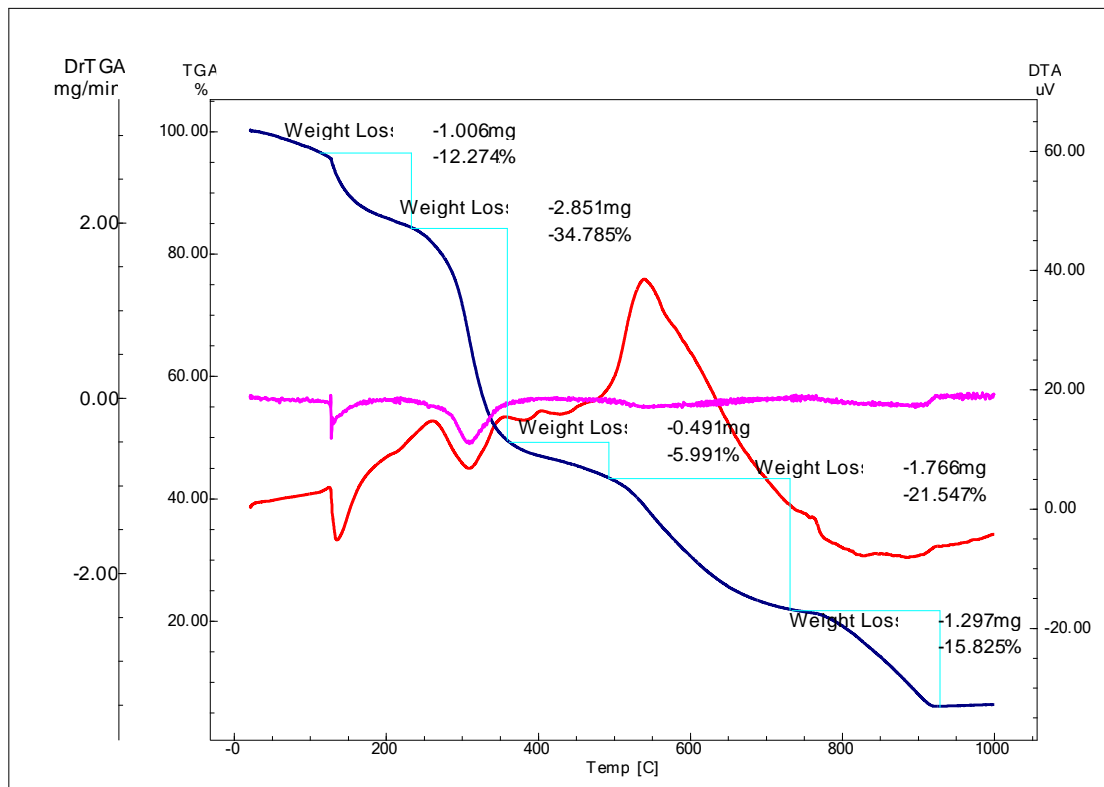
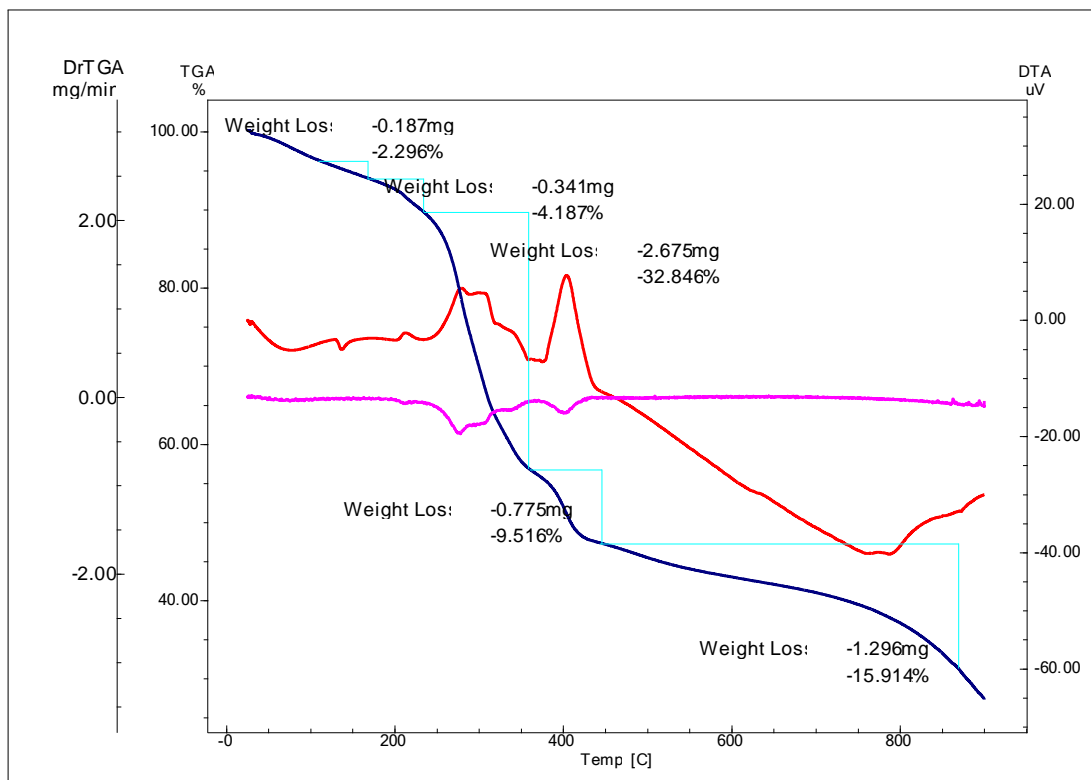


Figura 12. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAI.Eu em (a), PVAIEu em (b).

Faixas de temperatura

| | | | | | |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| VAIEu | 99-164 °C | 164-255 °C | 255-337 °C | 337-473 °C | 473-864 °C |
| PVAIEu | 114-232 °C | 232-358 °C | 358-492 °C | 492-730 °C | 740-928 °C |

(a)



(b)

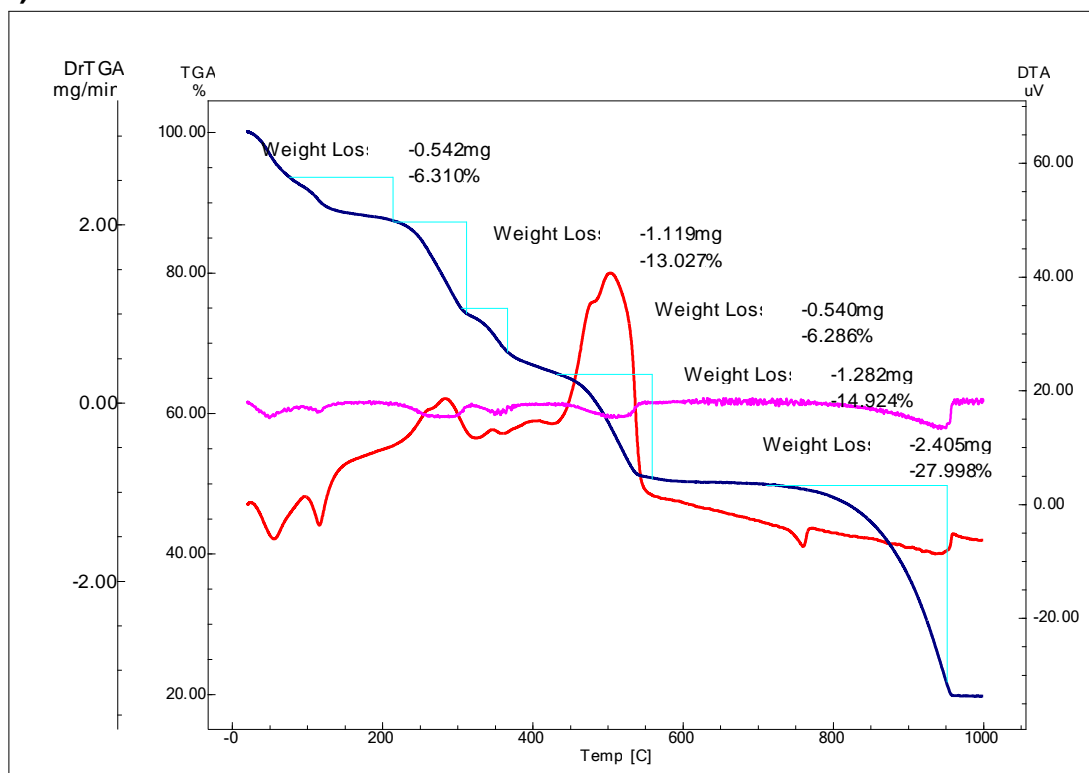
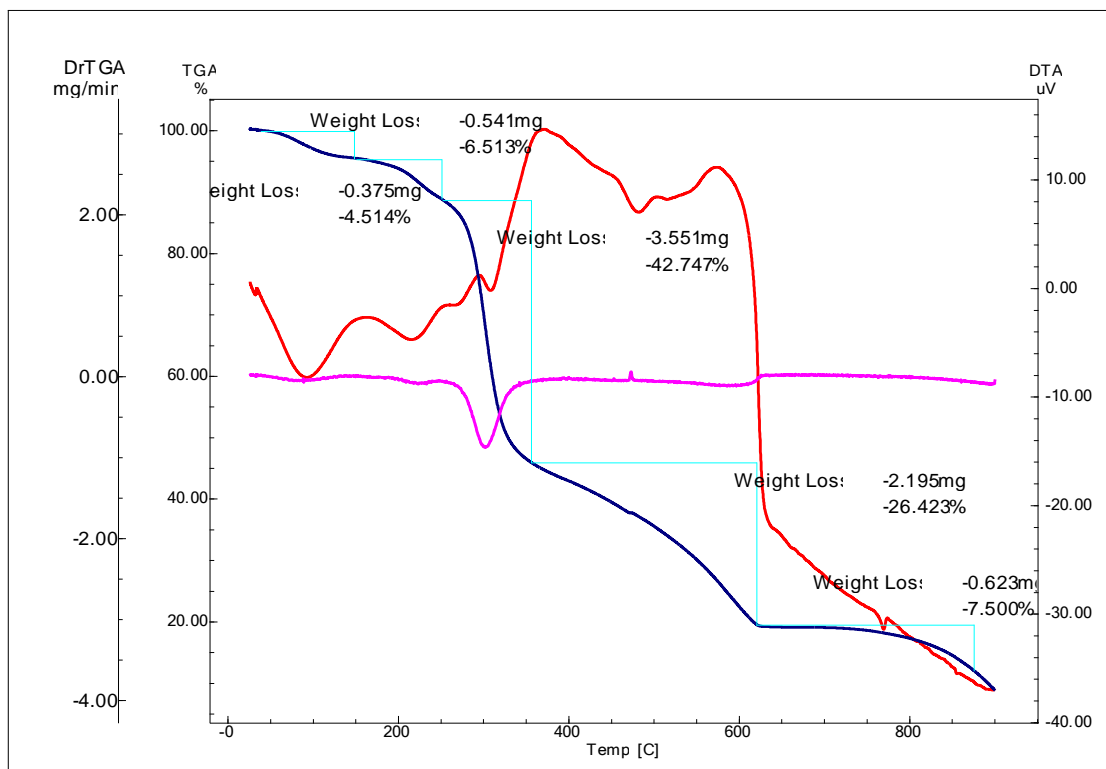


Figura 13. Curvas das análises termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAIEu- β -dicetona em (a), PVAIEu- β -dicetona em (b).

Faixas de temperatura

| | | | | | |
|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| VAIEu- β -dicetona | 111-167 °C | 167-233 °C | 233-357 °C | 357-445 °C | 445-868 °C |
| PVAIEu- β -dicetona | 92-151 °C | 218-311 °C | 311-366 °C | 432-559 °C | 727-951 °C |

(a)



(b)

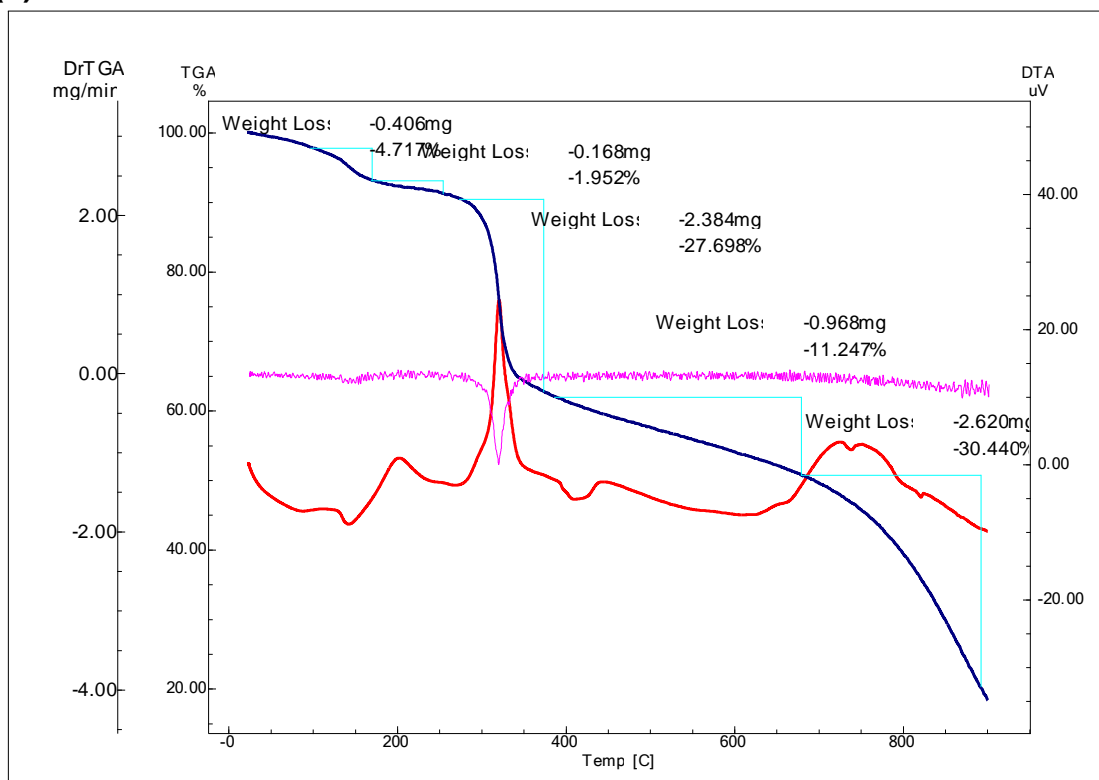


Figura 14. Curvas das análises de termogravimétricas (TGA) e das análises térmicas diferenciais (DTA) do VAITb em (a), PVAITb em (b).

Faixas de temperatura

| | 60-148 °C | 148-250 °C | 250-355 °C | 355-620 °C | 760-876 °C |
|---------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| VAITb | 60-148 °C | 148-250 °C | 250-355 °C | 355-620 °C | 760-876 °C |
| PVAITb | 99-169 °C | 169-253 °C | 274-373 °C | 387-689 °C | 679-892 °C |

3.4 Calorimetria diferencial de varredura

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) tem como princípio fundamental a medida da diferença de entalpia ou fluxo de calor de um material em relação a uma amostra de referência durante o processo de aquecimento e resfriamento da análise. A técnica de DSC pode ser utilizada para medir e avaliar diferentes propriedades químicas e físicas, dentre estas é possível determinar a temperatura de transição vítrea dos materiais (T_g). A transição vítrea é uma transição termodinâmica de segunda ordem, em que há aumento da mobilidade das cadeias auto organizadas e conseqüentemente mudança na capacidade calorífica da amostra, fazendo com que haja uma mudança na linha de base do DSC.⁵⁶

A mobilidade de uma cadeia polimérica determina as características físicas do produto. Através dessa característica é possível entender o comportamento termomecânico do polímero de interesse. Para determinação da T_g o material a ser analisado é submetido a um aquecimento partindo de uma temperatura muito baixa para valores mais altos, que permite com que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade. Abaixo da T_g o material encontra-se no estado vítreo, em que não há energia interna suficiente para permitir o deslocamento de uma cadeia com relação a outra por mudanças conformacionais.⁵⁷

A Figura 15 mostra o DSC dos materiais **VAI.Cl** e **PVAI**, na qual pode-se observar as transições vítreas em 20 °C e 52 °C, respectivamente. O aumento da transição vítrea para o polímero deve-se ao aumento da massa molar da cadeia polimérica, esse aumento tende a reduzir o volume livre dentro do fluido, esse fator dificulta a mobilidade das moléculas e a mudança de conformação do polímero, assim a existência de cadeias poliméricas geram pontos rígidos na estrutura, diminuindo a mobilidade, conseqüentemente, aumentando a T_g .

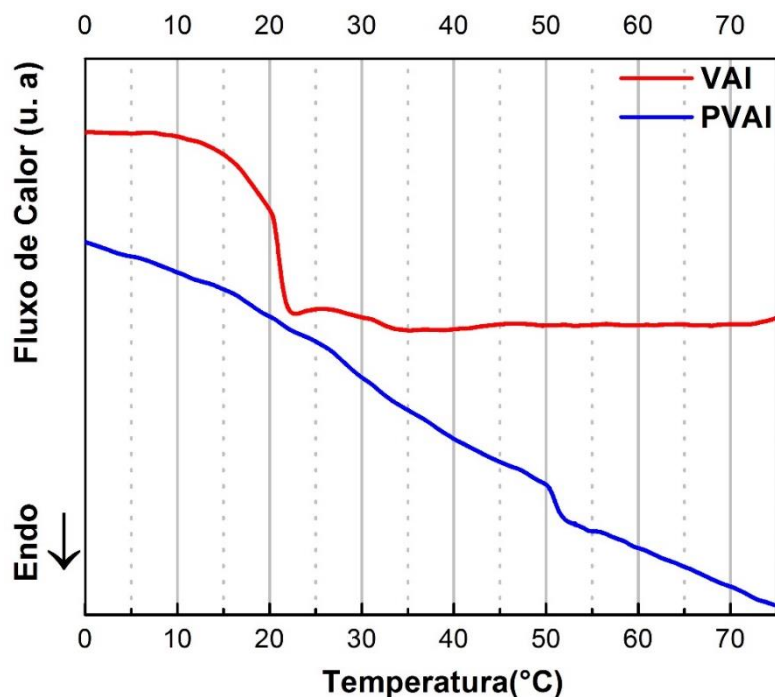


Figura 15. Calorimetria diferencial de varredura do **VAI.Cl** (monômero) e do **PVAI** (polímero).

Quando analisamos os monômeros e os polímeros complexados, o comportamento de aumento da T_g também é observado, no entanto, nessas amostras, a T_g é ainda maior quando comparadas ao polímero puro. Esse fenômeno pode ser explicado pela presença de um grupo lateral volumoso (Eu^{3+} e Tb^{3+}) que tendem a ancorar a cadeia polimérica, exigindo maiores níveis de energia para que a cadeia adquira mobilidade^{56,58} como podem ser observados nas figuras: Figura 16, Figura 17 e Figura 18.

Esse fato ainda é coerente com o valor encontrado para a T_g de **PVAITb** (62 °C) sendo o maior valor de todas as amostras, haja visto que o íon Têrbio possui maior massa molar quando comparado ao Európio, presente nos outros complexos.⁵⁹ Na Tabela 6 encontram-se todos os valores admitidos para a T_g dos compostos em análise.

Tabela 6. Valores da temperatura de transição vítrea (T_g) dos compostos: **VAI.CI**, **VAIEu**, **VAIEu- β dicetona**, **VAITb**, **PVAI**, **PVAIEu**, **PVAIEu- β dicetona** e **PVAITb**.

| Amostra | Temperatura de Transição Vítrea |
|--|---------------------------------|
| VAI.CI | 20 °C |
| VAIEu | 29 °C |
| VAIEu-βdicetona | 26 °C |
| VAITb | 20 °C |
| PVAI | 52 °C |
| PVAIEu | 40 °C |
| PVAIEu-βdicetona | 46 °C |
| PVAITb | 62 °C |

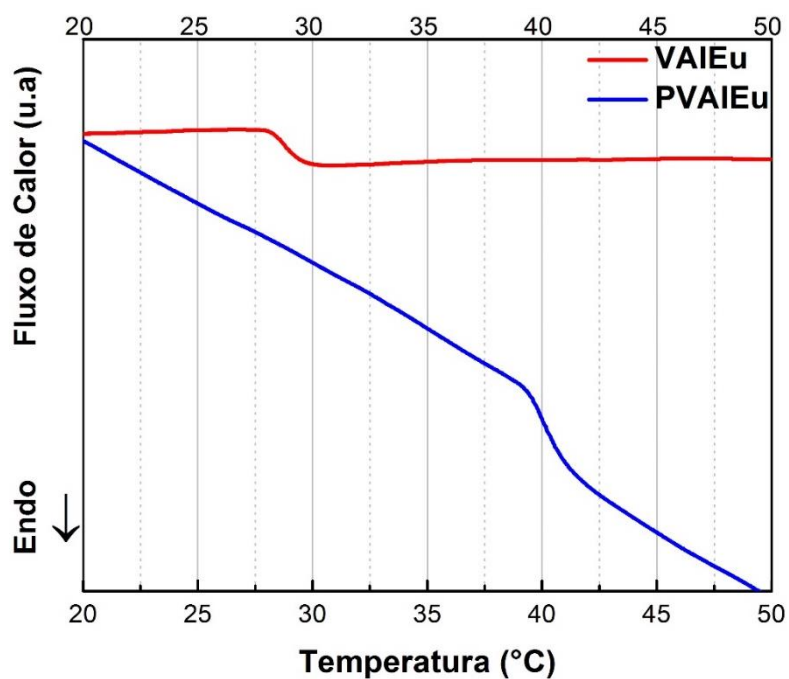


Figura 16. Calorimetria diferencial de varredura do **VAIEu** (monômero) e do **PVAIEu** (polímero).

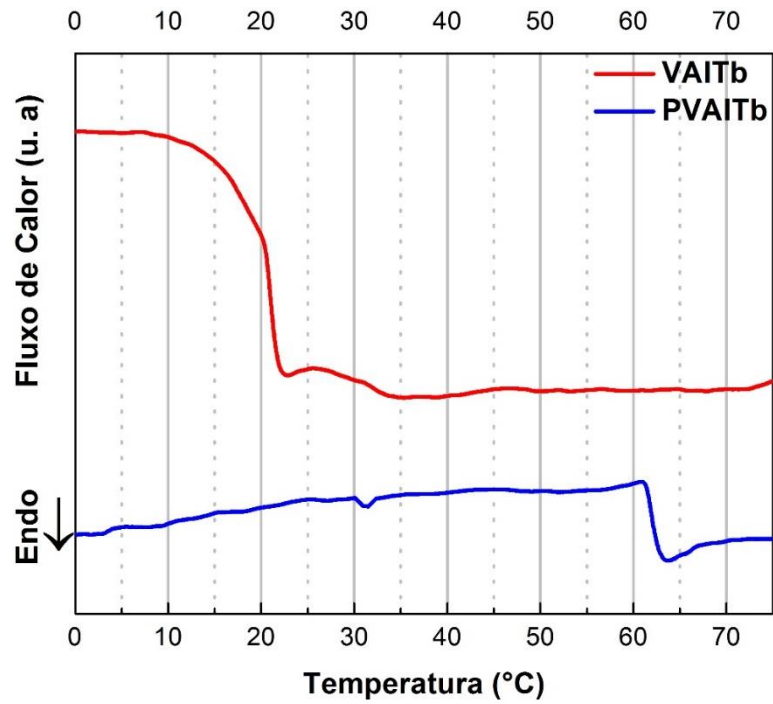


Figura 17. Calorimetria diferencial de varredura do **VAITb** (monômero) e do **PVAITb** (polímero).

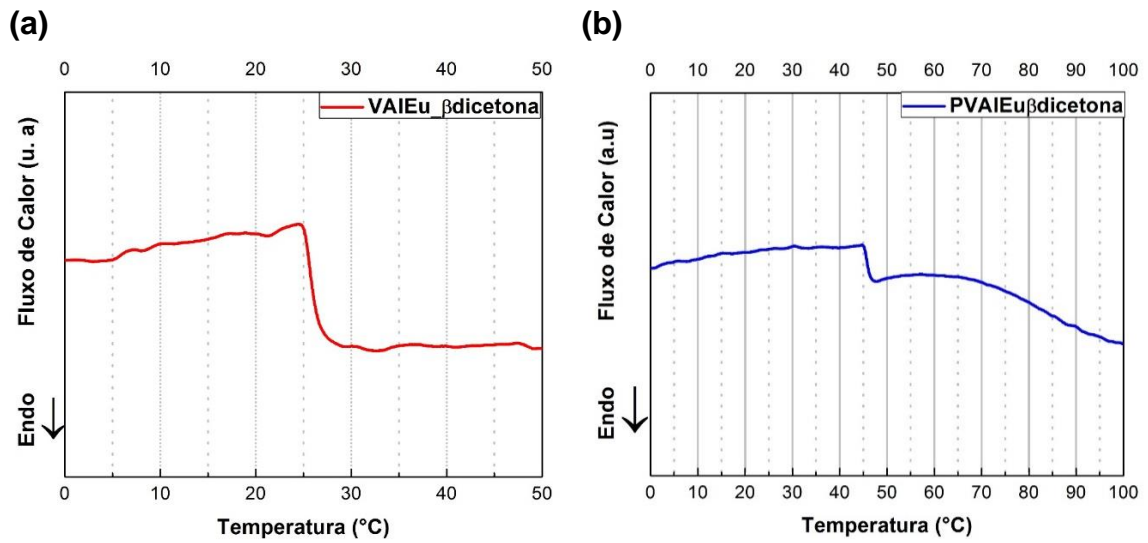


Figura 18. Calorimetria diferencial de varredura do **VAIEu-βdicetona** em (a) (monômero) e do **PVAIEu-βdicetona** em (b) (polímero).

3.5 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

O GPC, é uma técnica utilizada na determinação das massas molares dos polímeros formados, em que os materiais serão analisados a partir dos diferentes tamanho que possam possuir. A cromatografia de permeação em gel é uma técnica de cromatografia líquida, caracterizada por apresentar uma fase móvel, responsável por solubilizar e carrear o material durante a análise, e uma fase estacionária, que será responsável por separar o material nas diferentes frações por tamanhos de cadeia. A fase estacionária geralmente é uma coluna preenchida com um copolímero de estireno/divinilbenzeno, microparticulado de porosidade específica, responsável por separar as cadeias poliméricas de acordo com o seu tamanho como mostrado na Figura 19.⁶⁰

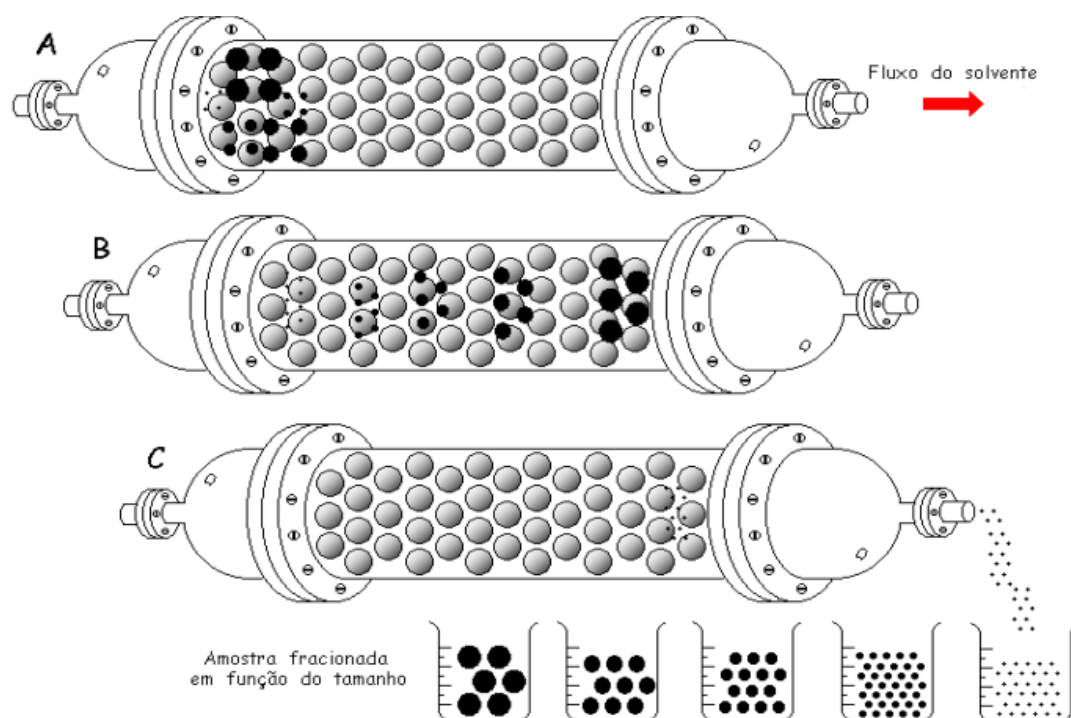


Figura 19. Funcionamento de uma coluna de exclusão por tamanho. (Adaptada da ref.⁶¹).

Vários tipos de massas molares médias podem ser encontrados de acordo com o cálculo matemático sendo as mais utilizadas: **M_n**, **M_w**.⁶²

- Massa molar numérica média (M_n)

A M_n , é definida como sendo a massa molar de todas as cadeias, dividida pelo número total de cadeias, assim, essa massa molar analisa o número de cadeias presentes na amostra geral.

- Massa molar ponderal média (M_w)

A M_w é outra maneira de se calcular a massa molar média, onde a massa molar de cada fração contribui de maneira ponderada para o cálculo da média.

Com base nos valores das massas molares médias (M_w e M_n) resultantes da distribuição de massa molar determina-se a dispersão de massa molar (D_M). Esse valor é sempre maior ou igual a 1. Quando M_w é igual M_n tem-se um polímero monodisperso, ou seja, todas as cadeias têm o mesmo comprimento (mesma concentração). Quando a diferença entre M_w e M_n é pequena, a dispersão de massa molar é dita estreita e quando não, é dita larga.⁵⁶

Na Tabela 7 estão sumarizadas as massas molares médias (Massa molar numérico média (M_n), Massa molar ponderal média (M_w) e polidispersividade (M_n/M_w)). Os resultados de GPC indicaram a formação de polímeros com elevadas massas molares, 19.782 u.m.a para o **PVAI** e 18.331 u.m.a para o **PVAITb**.

Tabela 7. Valores de M_n , M_w , e M_n/M_w encontrados para **PVAI** e **PVAITb**

| Amostra | M_n | M_w | M_n/M_w |
|---------------|--------|--------|-----------|
| PVAI | 19.782 | 35.790 | 1.809 |
| PVAITb | 18.331 | 19.098 | 1.042 |

Quando comparadas entre si, observamos que a amostra **PVAI** possui M_n menor que a de **PVAITb** ao passo que o contrário era o esperado. Essa discrepância de resultados é explicada pelo fato de complexos de metais sofrerem descomplexação durante a análise cromatográfica. Com o resultado de M_n/M_w inferior a 2,0 para as duas amostras é possível afirmar que a reação predominante para a formação dos polímeros foi de condensação.⁶³

3.6 Espectroscopia de fluorescência

A Figura 20 mostra os espectros de emissão no estado estacionário do monômero e seu respectivo polímero, adquiridos em solução aquosa.

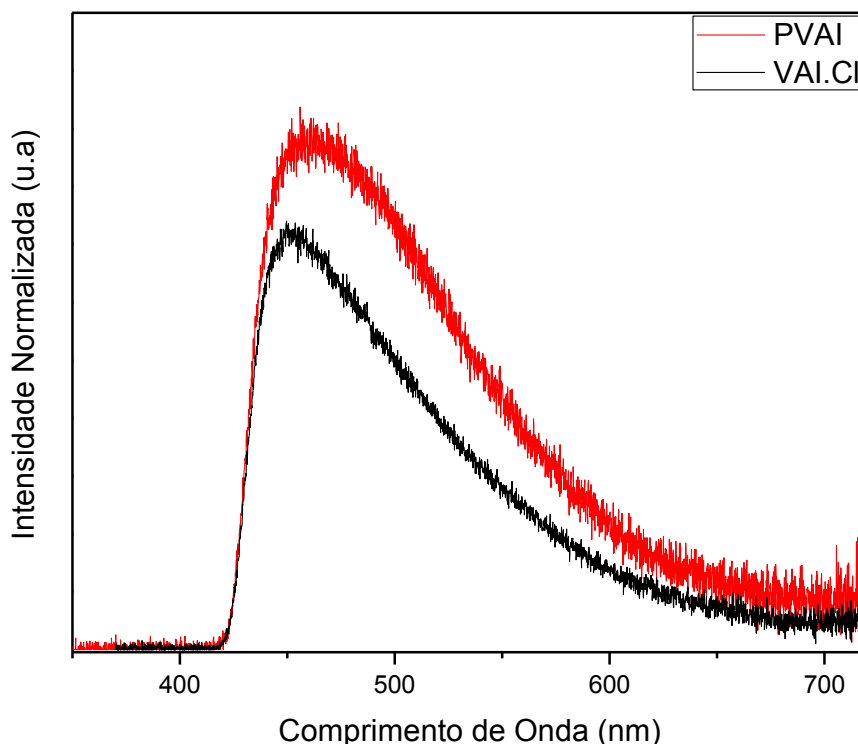


Figura 20. Espectros de emissão do **VAI** (preto) e **PVAI** (vermelho).

Os espectros de emissão do **VAI.Cl** e **PVAI** apresentam uma banda larga centrada em ≈ 450 nm típica das transições $\pi - \pi^*$ do grupo imidazol.⁹

A presença do ligante ionicamente marcado e a geometria com a qual este se coordenou ao centro metálico teve uma influência direta nos padrões de emissão dos compostos, no que diz respeito às transições geradas e suas respectivas intensidades.

Os espectros dos complexos **VAIEu**, **PVAIEu** (Figura 21) **VAIEu- β dicetona**, **PVAIEu- β dicetona** (Figura 23) e **VAITb**, **PVAITb** (Figura 22) apresentam as transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$ e $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ típicas dos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} e bandas largas centradas em 451 nm e 465 nm, atribuídas aos ligantes orgânicos **VAI.Cl** e **PVAI**, respectivamente. Estes resultados são um indicativo de que a excitação indireta dos centros emissores não é um canal fotofísico eficiente. Resultados semelhantes são encontrados na literatura, em que líquidos iônicos atuam como antena mas com sensitização reduzida,

produzindo assim, complexos de baixa luminescência, quando irradiados com UV.⁹

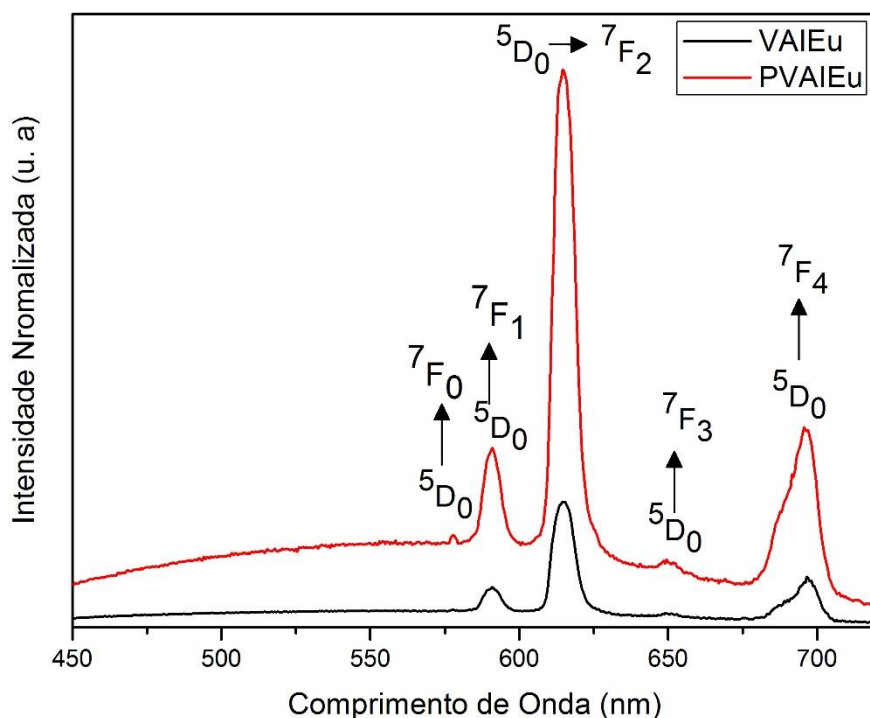


Figura 21. Espectros de emissão do **VAIEu** (preto) e **PVAIEu** (vermelho).

Os espectros mostram a existência de apenas um sinal correspondente à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ de baixa intensidade.⁶⁴ De acordo com as regras de seleção para as transições regidas pelo mecanismo de dipolo elétrico, a presença dessa transição indica que há pelo menos um sítio de simetria sem centro de inversão, observadas apenas se o grupo de simetria referente ao sítio de coordenação for C_n , ou C_{nv} , ou C_s .⁶⁵⁻⁶⁷ Desta maneira, os espectros de emissão do **VAIEu**, **PVAIEu**, **VAIEu- β dicetona** e **PVAIEu- β dicetona** também revelam indícios de mais de uma espécie em equilíbrio em solução. Nockemann mostra que a especiação de Ln em TSILs apesar de pouco abordada na literatura, de fato pode ocorrer.^{9,68}

A transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ de média intensidade é permitida por dipolo magnético, portanto insensível ao ambiente químico e ganha intensidade relativa em compostos com centro de inversão.^{66,69}

Com maior intensidade no espectro, a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ é fortemente afetada por mudanças no ambiente químico, sendo conhecida como hipersensitiva. Essa transição é dipolo elétrico induzida. Segundo o formalismo

de Judd, em ambientes onde há ausência de um centro de inversão, as regras de paridade não se aplicam, de maneira que as transições $4f^6 \rightarrow 4f^6$ se tornam transições entre os estados.⁶⁶

Quanto mais simétrico o sítio em que o íon está inserido maior a intensidade da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$, e essa também é influenciada quando há a presença de estruturas na forma de dímeros ou polímeros. Assim, a formação da estrutura polimérica do **PVAI** também é comprovada observando os espectros de emissão dos complexos poliméricos.⁷⁰

Os espectros de emissão dos complexos de Tb^{3+} são apresentados na Figura 22. As transições $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ típicas do íon Tb^{3+} não são hipersensitivas e não há transições controladas puramente pelo mecanismo de dipolo magnético, esses dois fatores impossibilitam atribuições referentes ao ambiente químico de coordenação do íon Tb^{3+} e dos respectivos cálculos usando a teoria Judd-Ofelt.⁷¹

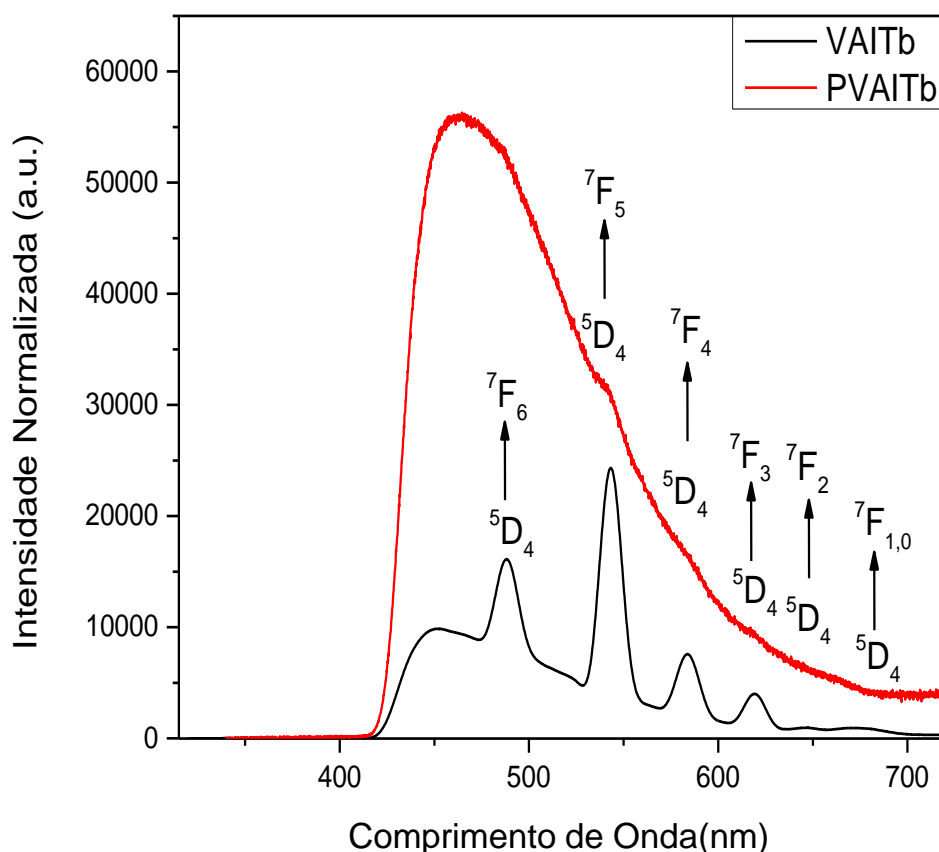


Figura 22. Espectros de emissão do **VAITb** (preto) e **PVAITb** (vermelho).

No intuito de melhorar a transferência de carga metal-ligante, novos complexos foram projetados, com a razão de um ligante **VAI.CI** ou **PVAI**, e dois ligantes β -dicetonados para cada íon Eu^{3+} , a fim de manter a solubilidade em água e intensificar a resposta luminescente dos complexos. Os complexos obtidos de európio contendo ligante β -dicetonado apresentam espectros (Figura 23) dominados pelos padrões de emissão $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ do íon Eu^{3+} . A transição hipersensitizada, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, é responsável por 79% e 76 % dos espectros de **VAIEu β -dicetona** e **PVAIEu β -dicetona** integrados. As amostras apresentam uma intensa coloração vermelho sob radiação ultravioleta em 395 nm, e a banda do ligante não é observada nos espectros desses complexos, o que sugere a boa transferência de carga metal-ligante.

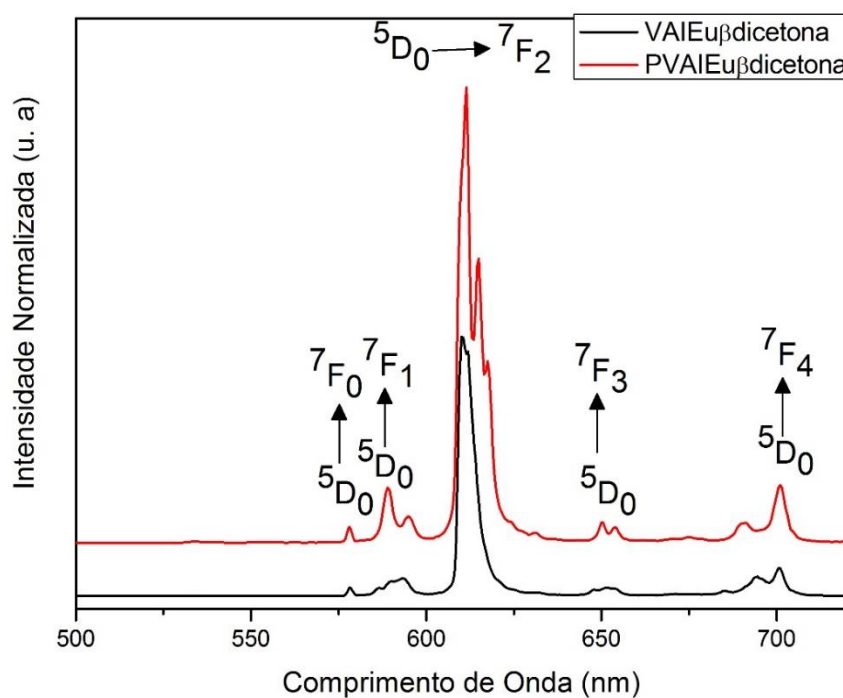


Figura 23. Espectros de emissão do **VAIEu- β -dicetona** (preto) e **PVAIEu- β -dicetona** (vermelho).

Também foram obtidos os espectros de excitação dos complexos à temperatura ambiente, através do monitoramento das transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ do Eu^{3+} e $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$ do Tb^{3+} . Os espectros resultantes dos complexos de Eu^{3+} ,

Figura 24 e Figura 25, apresentam uma larga banda centrada em 340 nm, que é típica para a transição $S_0 \rightarrow S_1$ do ligante orgânico.⁶⁴

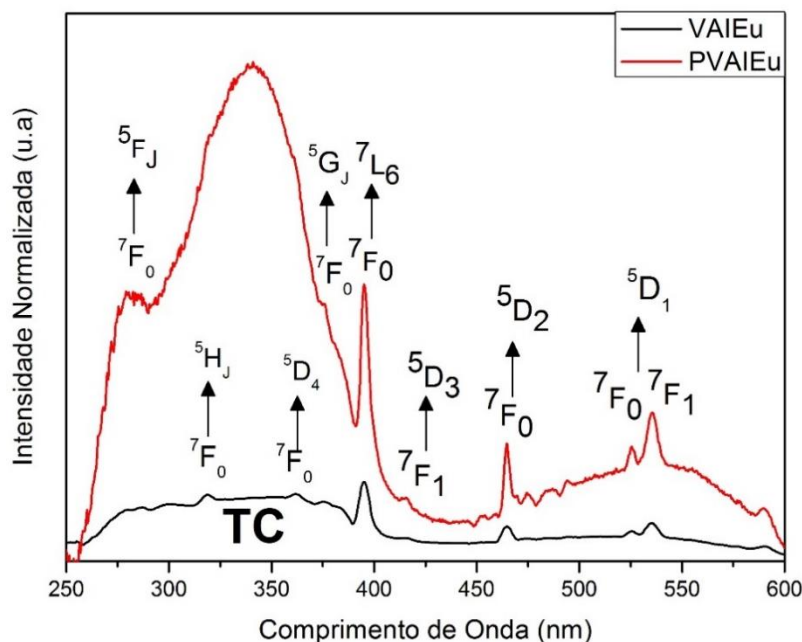


Figura 24. Espectros de excitação do **VAIEu** (preto) e do **PVAIEu** (vermelho). A presença de banda de transferência de carga (TC), são observadas nos dois compostos.

Os espectros de excitação dos complexos são dominados por um padrão de linhas finas, característicos das transições 4f-4f dos íons Ln^{3+} . Isso significa que o caminho fotofísico, principal responsável pela luminescência dessas amostras, é dado através de excitação direta do metal. Ainda assim, nos espectros de excitação há uma banda larga centrada em 340 nm mostrando que o **VAI.CI** e o **PVAI** atuam como ligante antena, ainda que a sensibilização seja reduzida. Isso fez com que a emissão no vermelho (**VAIEu** e **PVAIEu**) e no verde (**VAITb** e **PVAITb**) dos complexos fossem pouco intensas, quando irradiados com UV.⁹

Os espectros dos complexos com ligantes β dicetonados em suas estruturas (Figura 25) apresentam uma larga da banda de excitação designada ao ligante em 320 nm que confirma a predominância de um processo indireto de excitação do metal, ou seja, a transferência de energia inter-sistema ligante \rightarrow metal é determinante para a intensa luminescência observada nessas amostras. Algumas bandas inerente às transições características da excitação direta do íon Eu^{3+} também puderam ser observadas.⁷¹

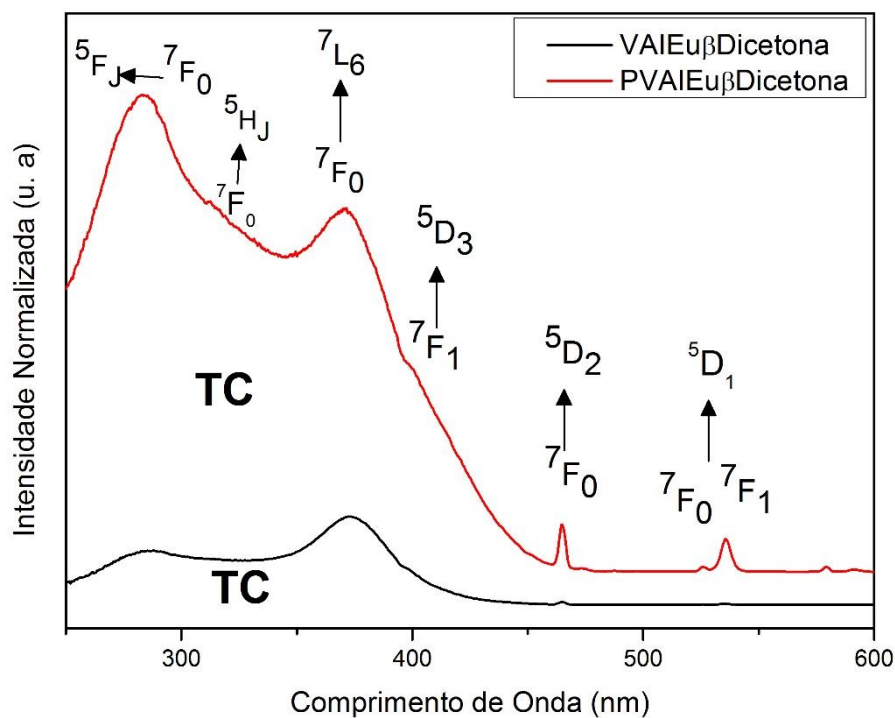


Figura 25. Espectros de excitação do **VAIEu-βdicetona** (preto) e **PVAIEu-βdicetona** (vermelho).

Os espectros de excitação dos compostos **VAITb** e **PVAITb** adquiridos a temperatura ambiente monitorando a transição mais intensa $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ (545 nm), são apresentados na Figura 26. A presença de uma larga banda centrada em 388 nm e 397 nm referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do ligante **VAI.Cl** e **PVAI**, respectivamente, evidencia que a fotossensibilização através do processo indireto (via ligante) é responsável pela luminescência do material.⁹

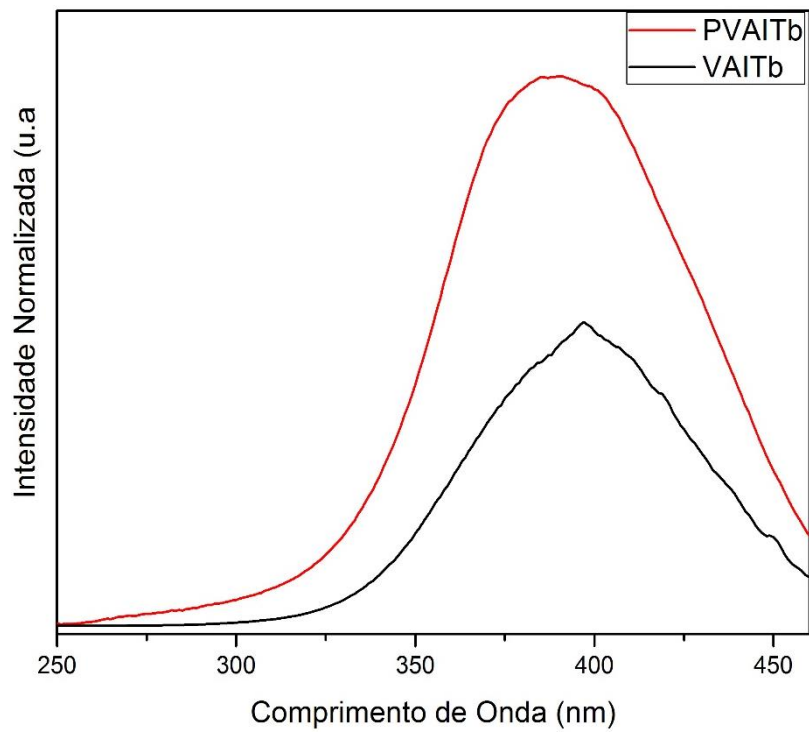


Figura 26. Espectros de excitação do **VAITb** (preto) e **PVAITb** (vermelho).

3.7 Tempo de vida de fluorescência (τ)

O tempo de vida de fluorescência (τ) é o tempo médio que um fluoróforo permanece no estado eletronicamente excitado S_1 após excitação por uma fonte de radiação. O τ é definido como o inverso da soma das constantes de velocidade para todos os processos de despovoamento do estado S_1 .⁷²

A emissão de um fóton de fluorescência a partir de um fluoróforo não ocorre numa altura fixa. Em vez disso, uma distribuição de tempos é observada, que pode ser descrita por uma função de decaimento exponencial ou, no caso de múltiplos centros emissores, uma soma de n exponenciais.⁴⁹

Uma expressão para o tempo-de-vida de luminescência pode ser facilmente obtida considerando um sistema de dois níveis. Considerando que ambos os processos radiativos e não-radiativos atuam no decaimento da população do estado excitado, o tempo-de-vida do estado emissor é dado pela equação 1. Onde: $N(t)$ é o número de espécies no estado excitado em um tempo t após a excitação.

$$dN(t)/dt = (A_{rad} + A_{nrad})N(t) \quad \text{Equação 1}$$

Os termos A_{rad} e A_{nrad} são as taxas de decaimentos radiativos e não-radiativos, respectivamente. Derivando-se a Equação 1, obtêm-se uma expressão que evidencia um decaimento exponencial da população do estado excitado (Equação 2). Onde, $A_{total} = A_{rad} + A_{nrad}$.⁶⁴

$$N(t) = N_0 \exp(-A_{total} t) \quad \text{Equação 2}$$

Nas medidas de luminescência o número de moléculas no estado excitado não é medido diretamente, mas sim, a intensidade de luminescência que é proporcional à $N(t)$. Portanto, na equação 2, $N(t)$ e N_0 podem ser substituídos pelos respectivos valores de intensidade $I(t)$ e I_0 .

$$I(t) = I_0 \exp(-A_{total} t) \quad \text{Equação 3}$$

A taxa de decaimento total e o tempo-de-vida do estado emissor, são relacionados pela expressão: $A_{total} = 1/\tau$.⁶⁴ A partir da curva de decaimento de luminescência, o tempo-de-vida do estado emissor e, conseqüentemente A_{total} , é calculado através de um ajuste da curva $I(t)$ versus t ou $\ln I(t)$ versus t . Deve-

se ressaltar que o primeiro tipo de curva exibe um comportamento exponencial, enquanto que o segundo representa uma reta.

Do ponto de vista gráfico, este último permite uma análise direta de possíveis desvios dos dados ajustados. Assim, pode-se afirmar que para um decaimento monoexponencial temos:

$$I(t) = I_0 \left(\exp \left(-\frac{t}{\tau} \right) \right)$$

Equação 4

No entanto, a interação de complexos em superfícies sólidas, pode gerar um ambiente altamente heterogêneo. Assim, várias espécies emissoras podem estar presentes nesses sistemas, havendo a necessidade de curvas de decaimento multiexponencial.⁷³ Portanto, a intensidade de luminescência é dada como um somatório das contribuições de cada espécie, evidenciado, na Equação 5: Em que n representa o número total de espécies emissoras no material.

$$I(t) = \sum_{i=1}^n I_i \left(\exp \left(-\frac{t}{\tau_i} \right) \right)$$

Equação 5

Quando o decaimento de luminescência de um sistema é multiexponencial, a maneira natural de definir um tempo de decaimento médio é dado pela Equação 6.^{73,74} Onde I_i são os fatores pré-exponenciais ou amplitude e τ_i representa o valor do tempo de vida para cada componente.

$$\langle \tau \rangle = \frac{\sum I_i \tau_i^2}{\sum I_i \tau_i}$$

Equação 6

Neste contexto, os dados de decaimento de luminescência dos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} nos compostos estudados no presente trabalho foram analisados com base nos gráficos de $\ln I(t)$ versus t .

As curvas de tempo de vida para os complexos **VAIEu** e **PVAIEu** foram obtidas após excitação a 395 nm, enquanto se monitorava a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$ (Figura 27). A curva de decaimento do **VAIEu** apresentou um bom ajuste bi exponencial com tempos de vida de 0,25 e 0,73 ms, à temperatura ambiente. Esse curto tempo de vida está associado ao canal de decaimento não-radiativo controlando os processos de relaxação, devido ao acoplamento vibrônico com

as moléculas de água complexadas diretamente ao Ln haja visto que os osciladores da ligação O-H são responsáveis pelo maior efeito de supressão dos estados excitados do íon Eu^{3+} .⁷⁵ O mesmo processo explica o baixo tempo de vida médio τ_m 0,40 ms do complexo **PVAIEu**. Por se tratar de um polímero com a possibilidade de diferentes populações de Eu^{3+} emissores utilizou-se o τ_m com o intuito de minimizar o efeito desses vários estados emissores no cálculo do tempo de vida.

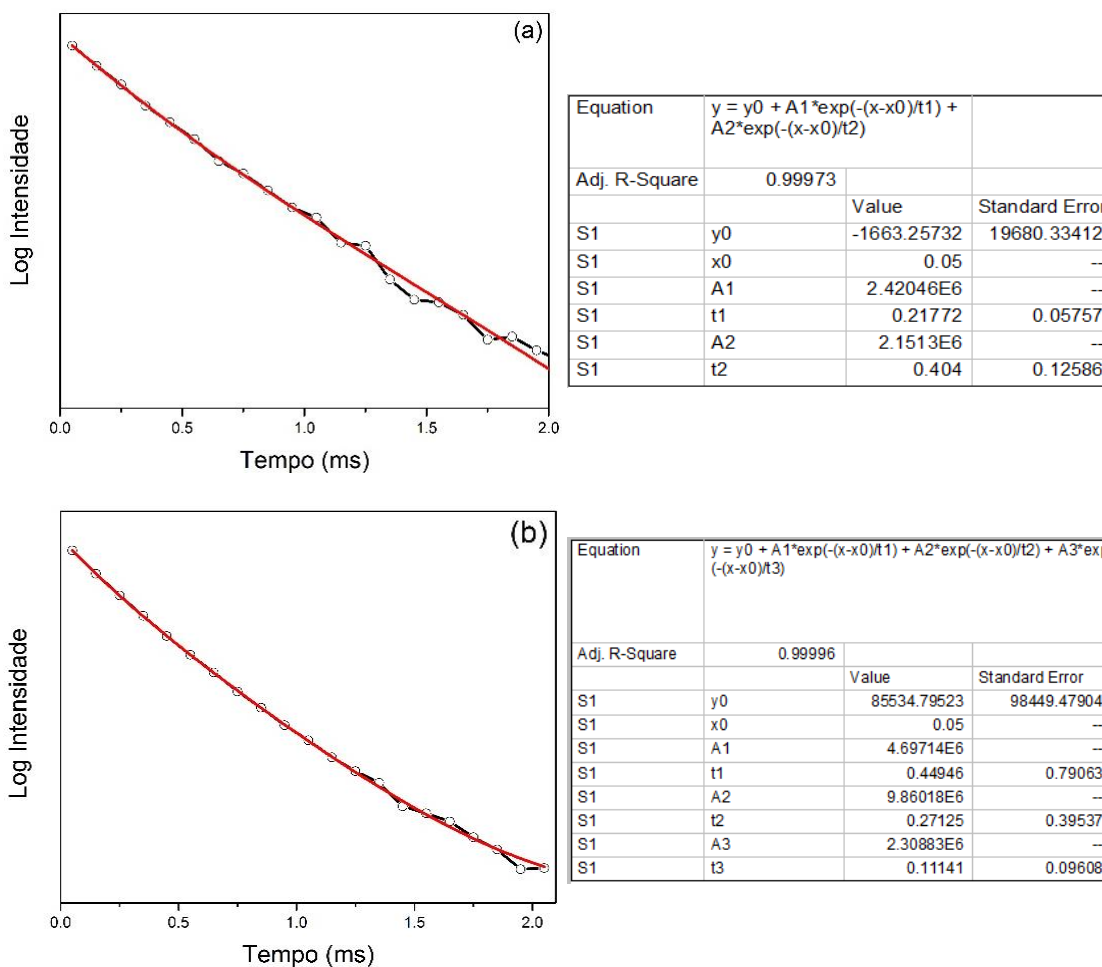


Figura 27. Curvas de decaimento de tempo de vida do VAIEu (a) e do PVAIEu (b) adquiridos em temperatura ambiente, através das excitações em 395nm, durante o monitoramento das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ do Eu^{3+} . As linhas vermelhas sólidas correspondem ao melhor ajuste, $R^2 > 0,99$.

As curvas de tempo de vida para os complexos **VAIEu- β dicetona** e **PVAIEu- β dicetona** foram obtidos após excitação a 375 nm, enquanto se monitorava a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ Eu^{3+} a 615 nm (Figura 28).

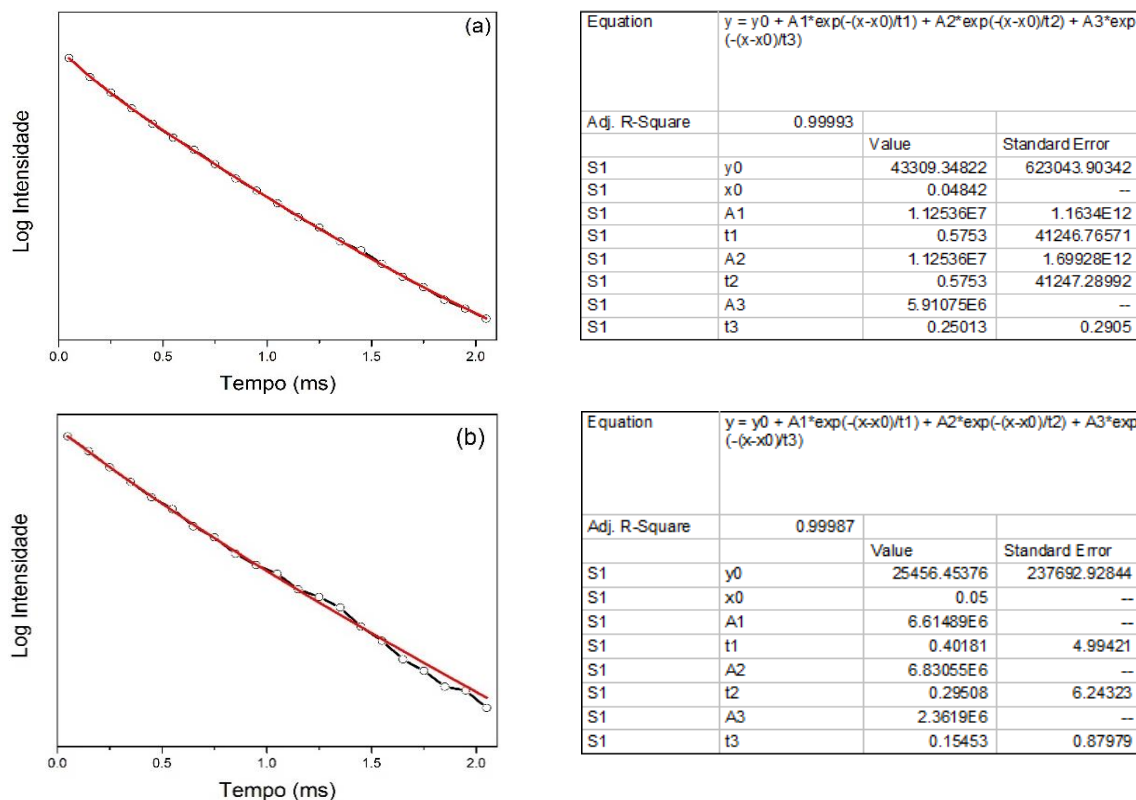


Figura 28. Curvas de decaimento de tempo de vida do **VAIEu-βdicetona** (a) e do **PVAIEu-βdicetona** (b) adquiridos em temperatura ambiente, através das excitações em 395nm, durante o monitoramento das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ do Eu^{3+} . As linhas vermelhas sólidas correspondem ao melhor ajuste, $R^2 > 0,99$.

Os tempos de vida para esses dois complexos foram melhores ajustados por uma curva de decaimento multiexponencial definidos com tempos de vida médios de τ_m 0,585 ms para **VAIEu-βdicetona** e τ_m de 0,39 ms para o polímero **PVAIEuβdicetona**. Para esses complexos, as águas coordenadas diretamente ao Eu^{3+} também interferiram de forma a suprimir os estados emissores do Ln reduzindo assim o tempo de vida de luminescência desses compostos.

A curva de decaimento do estado excitado 5D_4 , obtida a temperatura ambiente pelo monitoramento da transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$, está apresentada na Figura 29. Os complexos **VAITb** e **PVAITb** também apresentaram tempos de vida relativamente baixos quando comparados com outros complexos de Tb^{3+} .⁷⁶⁻⁷⁹

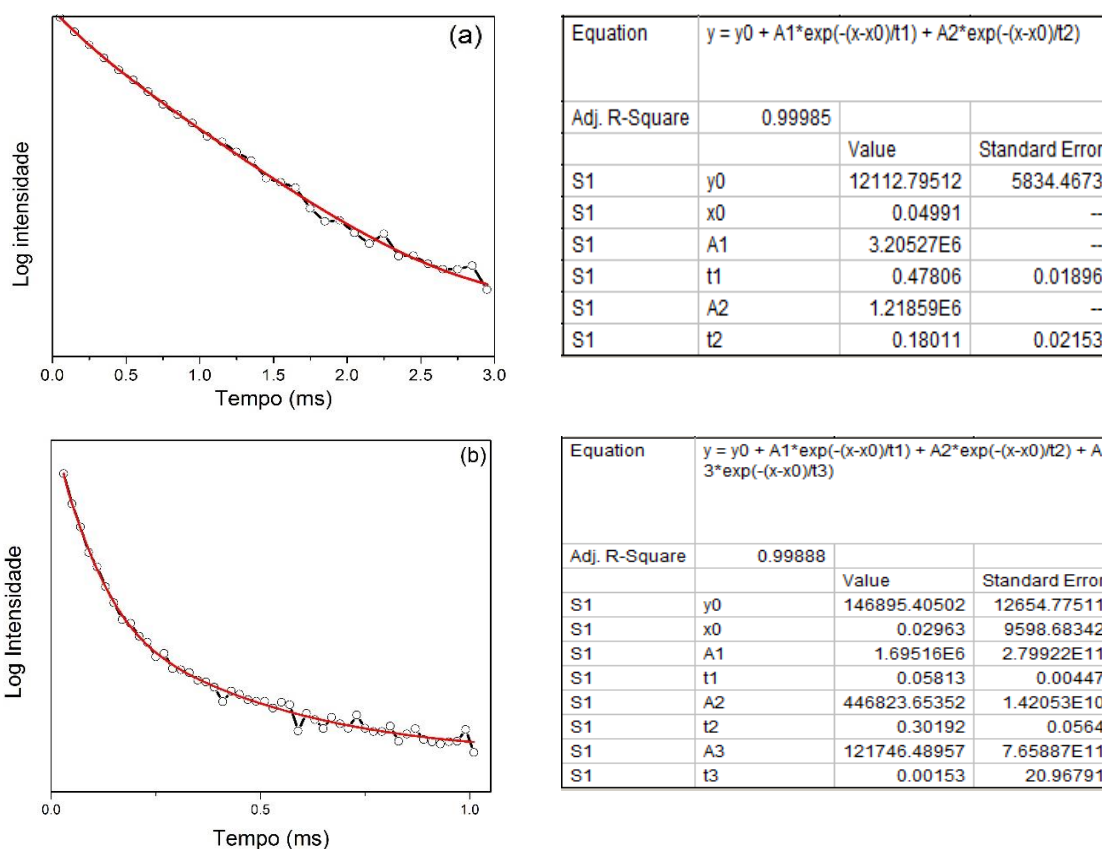


Figura 29. Curvas de decaimento de tempo de vida do **VAITb** (a) e do **PVAITb** (b) adquiridos em temperatura ambiente, através das excitações em 396 nm e 310 nm, respectivamente, durante o monitoramento das transições $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ do Tb^{3+} . As linhas vermelhas sólidas correspondem ao melhor ajuste, $R^2 > 0,99$.

Os valores encontrados para o **VAITb** foram de τ_1 0,48 ms e τ_2 0,18 ms quando ajustados a uma curva de decaimento bi exponencial e para o complexo **PVAITb** o tempo de vida médio foi de 0,325 ms. Esses valores diminutos também podem ser atribuídos aos osciladores O-H das moléculas de água coordenadas. Ainda é possível inferir que a energia do estado excitado tripleto encontra-se abaixo do estado emissor $^5D_4'$ considerando que o processo de retrotransferência de energia é um dos principais mecanismos de supressão da luminescência de complexos de Tb^{3+} .⁸⁰

3.8 Imageamento celular

Superada a limitação de obtenção de complexos de Ln solúveis em água, os mesmos foram finalmente testados como sondas em experiências de bioimageamento para marcar células de câncer MCF-7. Em primeiro lugar, observa-se que ambos os complexos foram capazes de transpor a membrana celular e nenhuma precipitação foi observada durante os ensaios celulares, características altamente desejadas.

As amostras incubadas com **VAIEu** mostraram um padrão de coloração difuso por todo citoplasma da célula (Figura 30 imagens de AC e EG). Já as amostras incubadas com **VAITb** mostraram um padrão de coloração menos difuso, que foi associado com a região perinuclear das células, e correlacionada com a região do retículo endoplasmático (Figura 31, imagens A-C e E-G).

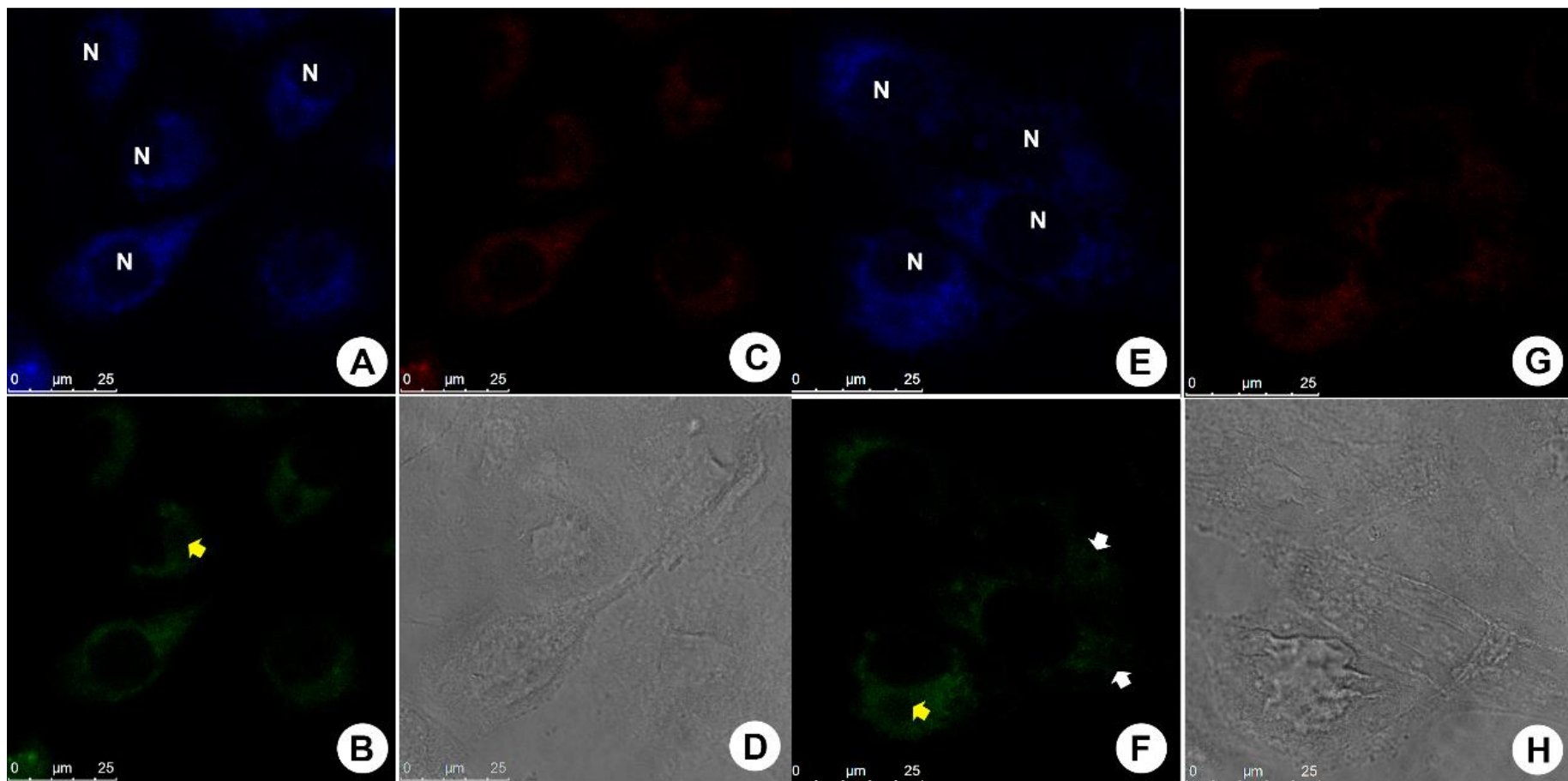


Figura 30. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-H a direita) incubadas com **VAIEu**. Imagens de A-C e E-G mostram o padrão de multi-emissão (azul, verde e vermelho). A região nuclear (N) é mostrada por um vazio central, as cavidades secundárias (indicadas pelas setas brancas e amarelas) pode ser associadas a endossomos precoces e tardios, respectivamente, devido a sua forma, tamanho e posição celular. Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos de células normais. Barra de referência de 25 µm.

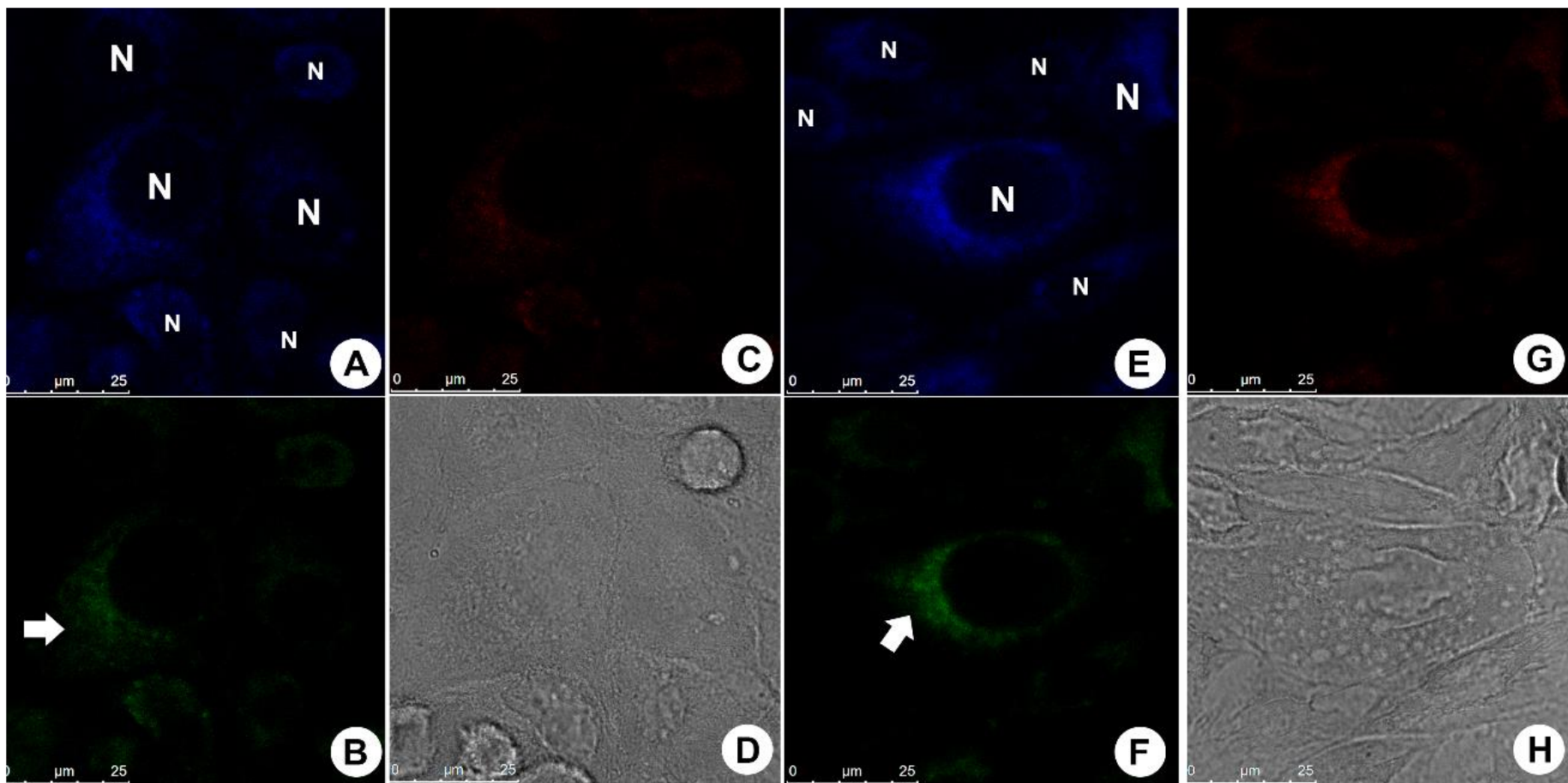


Figura 31. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com **VAITb**. As imagens de A-C e E-G mostram o padrão multi-emissivo (azul, verde e vermelho). O vazio central referenciado como (N) é a região nuclear, o aspecto de coloração na região perinuclear está correlacionada com a região do retículo endoplasmático (setas brancas). Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos de células normais. Barra de referência de 25 μm .

Ambos os compostos mostraram padrões multi emissivos por fluorescência (azul, verde e vermelho), nenhuma afinidade para a região nuclear e eram permeáveis à membrana plasmática, tal como mostrado por coloração de amostras vivas (Figura 30 e Figura 31). Curiosamente, foram observados espaços vazios nos citoplasmas das células para amostras vivas e fixadas De acordo com o tamanho e a forma dos espaços vazios, esses podem ser endossomos precoces (na região periférica da célula, indicados por setas brancas) e endossomos tardios (região perinuclear, indicados por setas amarelas) (Figura 30).

As amostras incubadas com **PVAIEu** mostraram um padrão de coloração específico no citoplasma da célula. Este composto parece estar acumulado em vesículas que, devido a sua dimensão e posição da célula perinuclear, poderia ser endossomos ou lisossomos tardios (Figura 32 imagens E-G cabeça da seta).

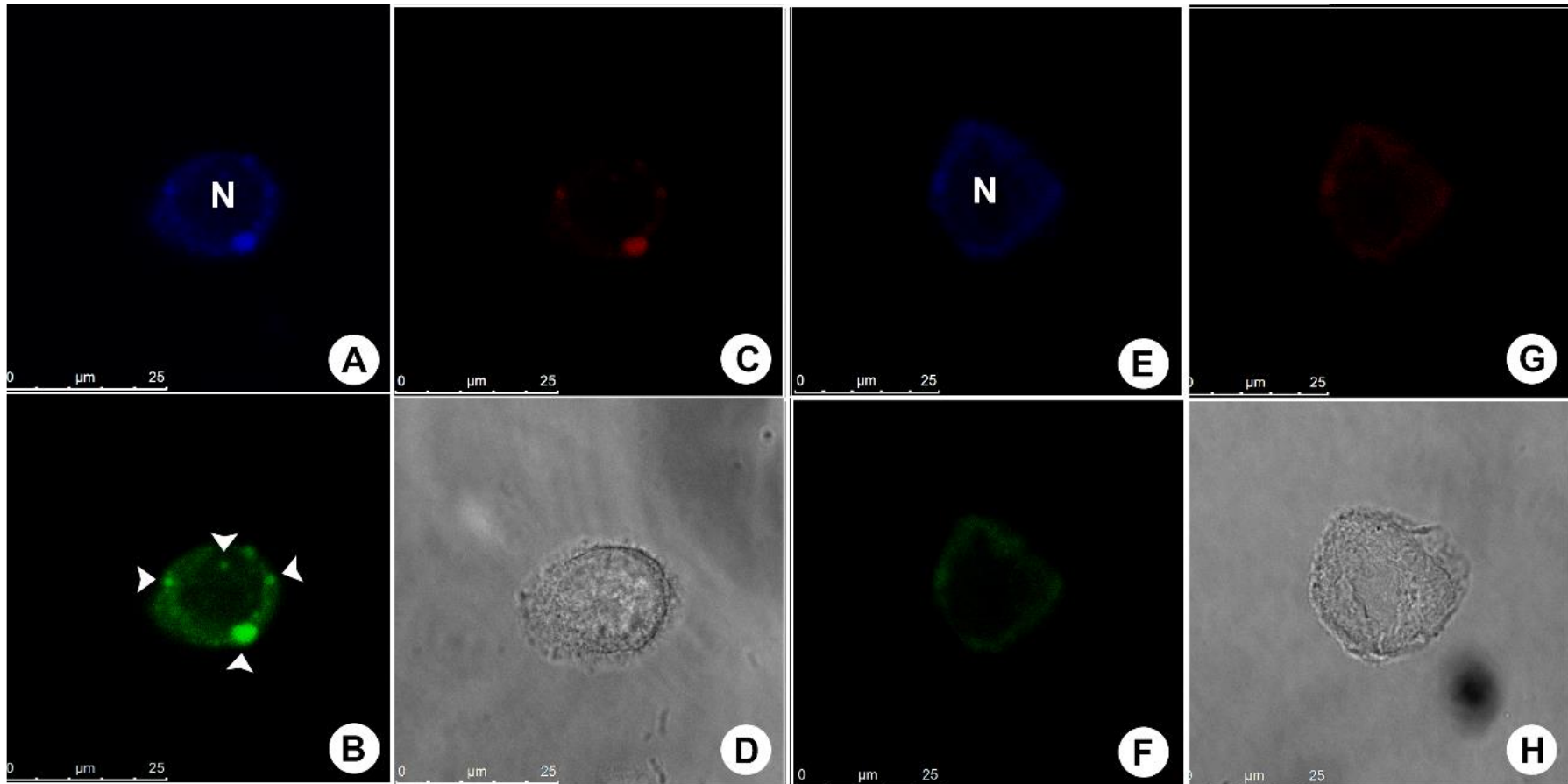


Figura 32. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com **PVAIEu**. Imagens de AC e EG mostrar o padrão de multi emissão (azul, verde e vermelho). O vazio central referenciado como (N) é a região nuclear. Interessantemente, em células vivas o aspecto de coloração sugerem uma acumulação de vesículas que podem ser no fim dos endossomos (cabeças de seta). Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos células normais. Barra de referência de 25 µm.

As amostras incubadas com **PVAITb** também mostraram um padrão de marcação menos difuso, e foram encontradas associadas com a região perinuclear das células. Devido à distribuição, podemos especular que este composto pode estar acumulado no retículo endoplasmático (Figura 33 imagens AC e EG). Também foram observados espaços vazios (cabeças da setas Figura 33) no citosol da célula para ambas as células vivas e fixadas.

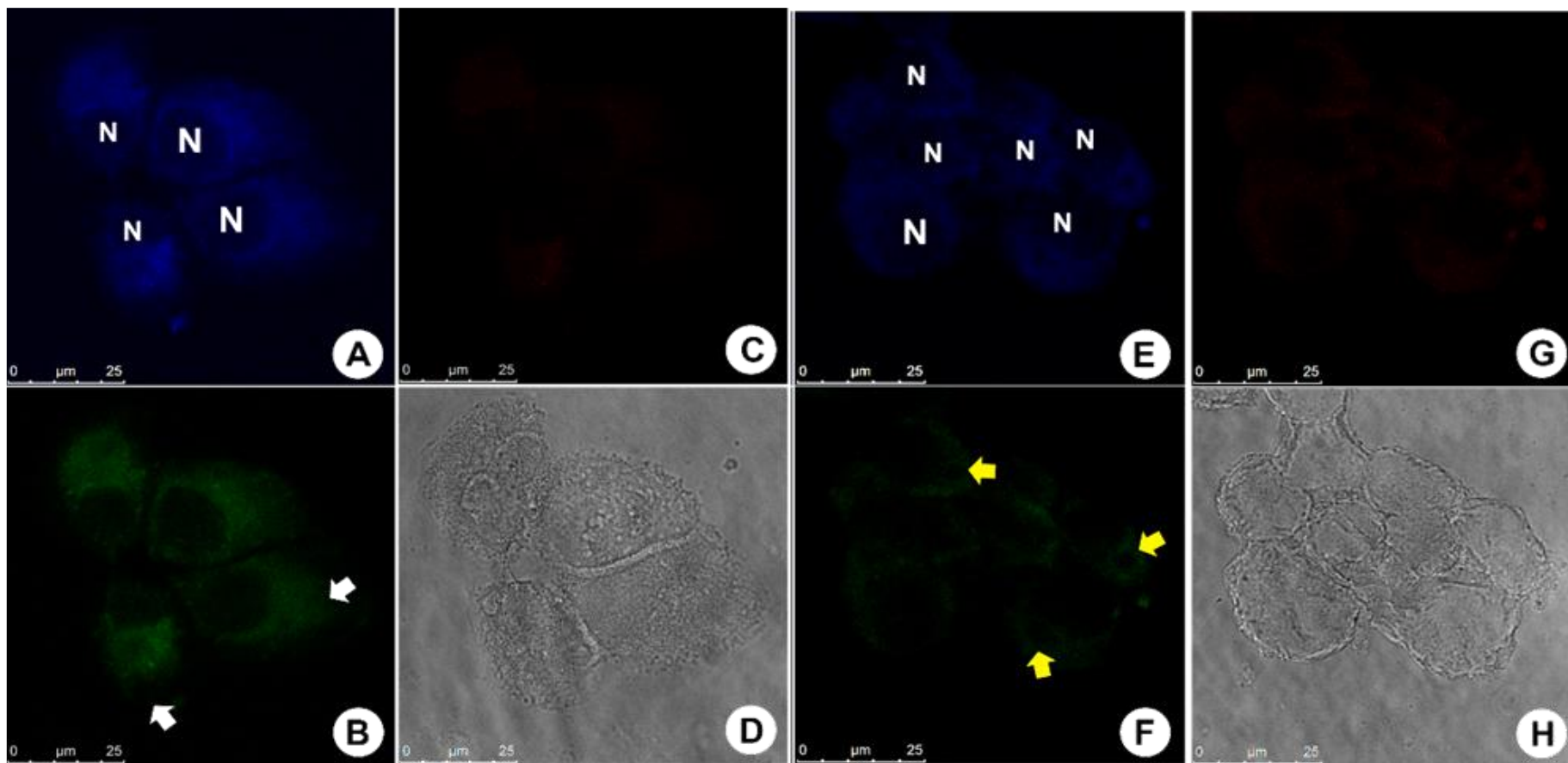


Figura 33. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com **PVAITb**. Imagens de A-C e E-G mostraram padrões multi-emissivos (azul, verde e vermelho). O vazio central referenciado como (N) é a região nuclear. O aspecto de coloração na região perinuclear está correlacionado com a região do retículo endoplasmático. Ambas as amostras (vivas e fixadas) mostram vazios no citoplasma da célula que podem ser endossomos precoces e tardios (setas brancas e amarelas), devido a sua posição, forma e tamanho. Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos células normais. Barra de referência de 25 μm .

Devido ao tamanho, a forma e a posição dos vazios centrais no citosol, infere-se que esses podem ser endossomos precoces e tardios no qual o composto pode ter sido excluído ou não introduzido. Ambos os compostos mostraram vários padrões de emissão (azul, verde e vermelho), nenhuma afinidade para a região nuclear e eram permeáveis à membrana plasmática, tal como mostrado por coloração das amostras incubadas em células vivas (Figura 32 e Figura 33). As amostras incubadas com **VAIEu- β dicetona** mostraram um padrão de marcação específica no citoplasma da célula, associada à região nuclear. Também foi observado um padrão de coloração granular associado ao **VAIEu- β dicetona** quando incubadas com células vivas (Figura 34 imagens A-D), que pode indicar a acumulação em vesículas. As amostras fixadas mostram uma coloração perinuclear, sem o padrão granular (Figura 34 imagens E-G).

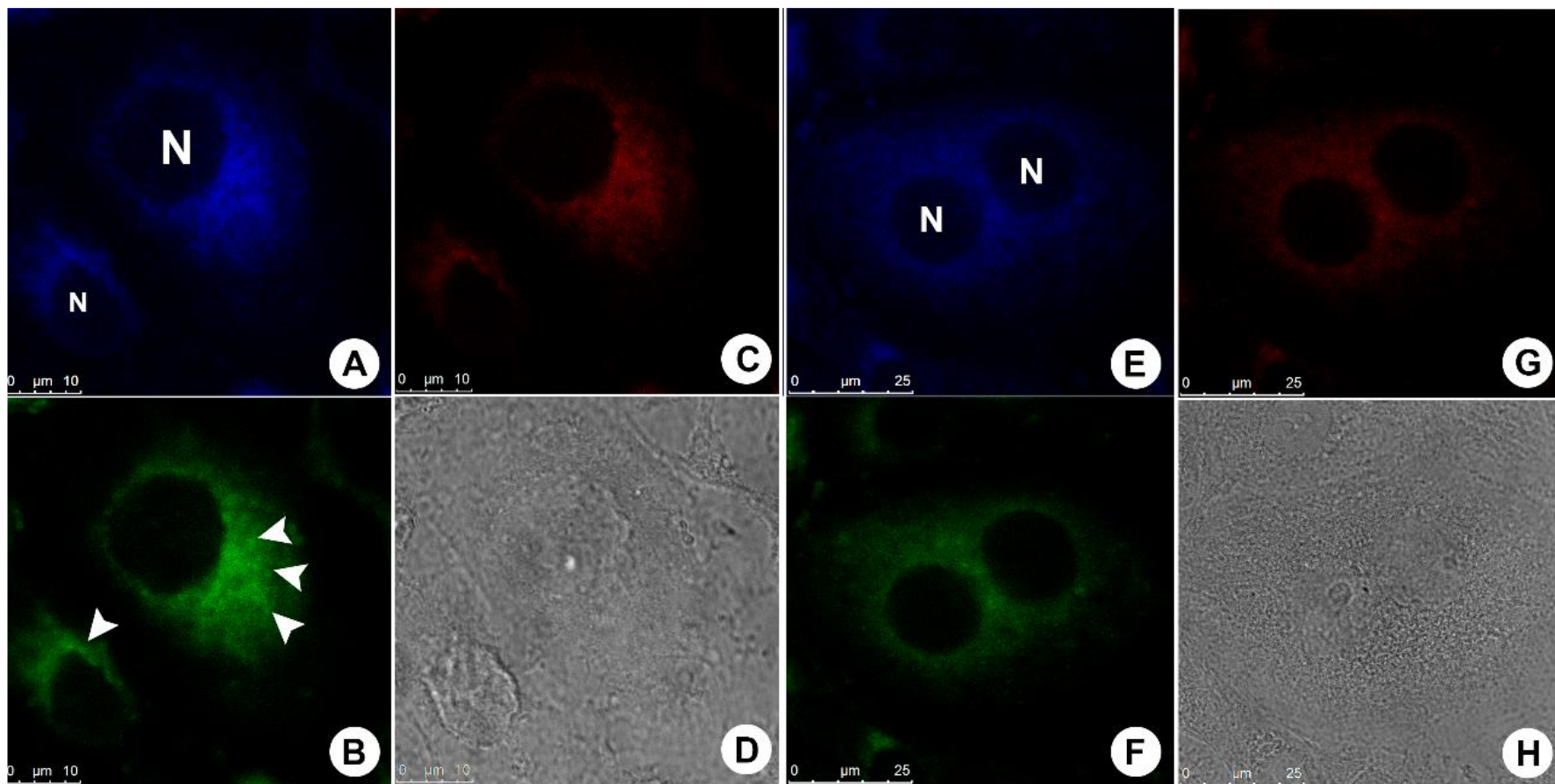


Figura 34. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com **VAIEu- β dicetona**. Imagens de A-C e E-G mostram o padrão de multi emissão (azul, verde e vermelho). O vazio central referenciado como (N) é a região nuclear. As células vivas (imagens A-C) mostram um aspecto de coloração granular sugerindo que o composto foi acumulado em vesículas do citoplasma (cabeças de seta). As células fixadas mostram a mesma coloração perinuclear sem aspectos granulares. Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos células normais. Barra de referência de 25 μ m.

As amostras incubadas com **PVAIEu- β dicetona** mostram um padrão de marcação específica no citoplasma da célula associada à região nuclear (Figura 35, imagens A-C). Também foi observado um acúmulo deste composto em vesículas perto da membrana plasmática que está correlacionada com endossomos tardios, devido ao seu tamanho, forma e posição celular (Figura 35, imagens A-C, ver cabeças de seta).

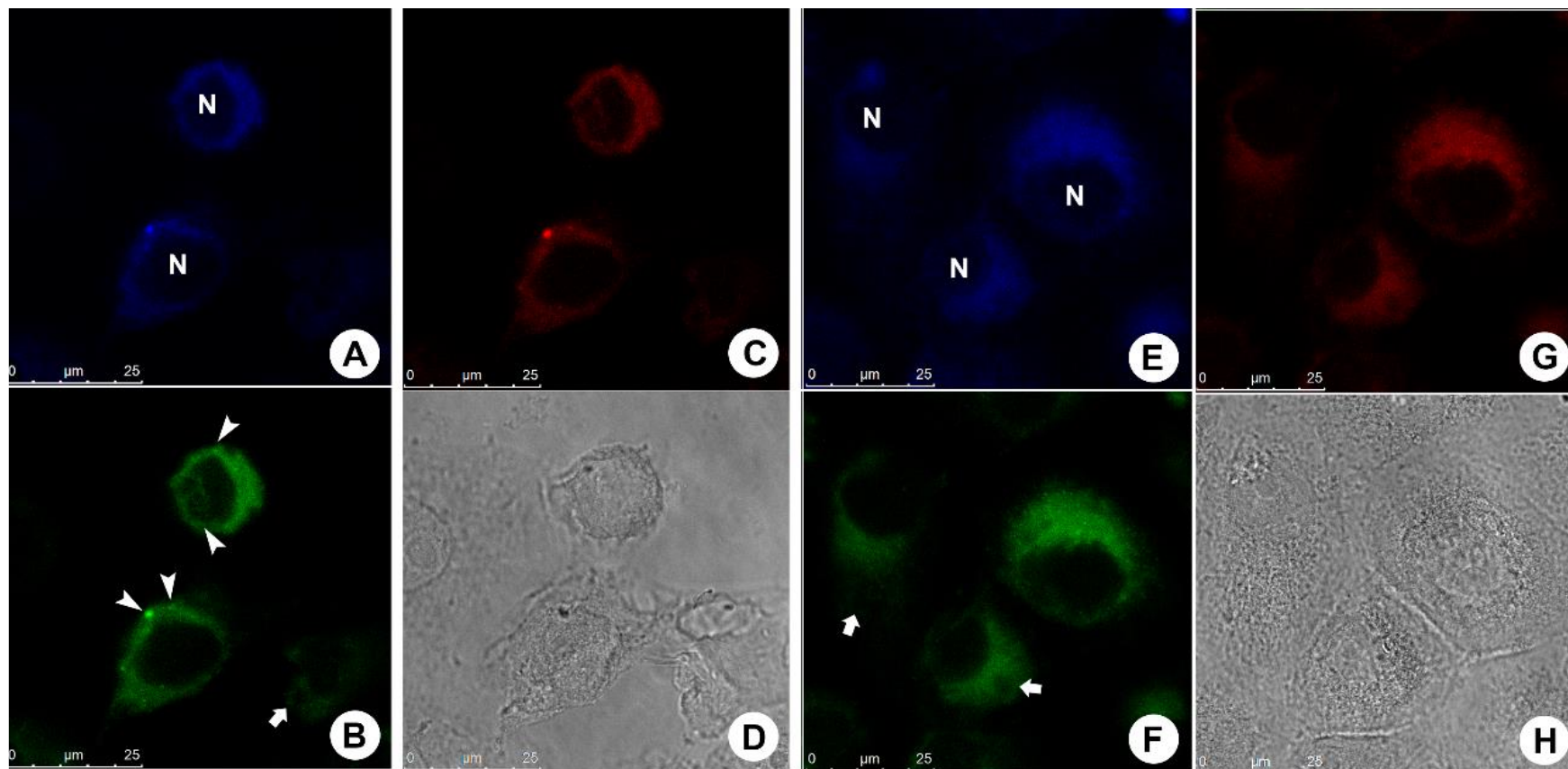


Figura 35. Células MCF-7 vivas (A-D a esquerda) e fixadas (E-G a direita) incubadas com PVAIEu- β dicetona. Imagens de A-C e E-G mostrar o padrão de multi emissão (azul, verde e vermelho). O vazio central referenciado como (N) é a região nuclear. As imagens obtidas em células vivas mostram uma acumulação do composto em vesículas no citosol (cabeças de seta) próximo ao núcleo, provavelmente de endossomos tardios (devido a sua forma, tamanho e posição celular). Coloração perinuclear específicos (imagens A-C e E-G). Ambas as amostras mostram vazios no citosol celular (setas brancas), que pode ser endossomos precoces e tardios devido a sua posição, forma e tamanho. Imagens de D e H mostram os aspectos morfológicos células normais. Barra de referência de 25 μ m.

Esses aspectos morfológicos estão de acordo com o que já foi observado em ensaios de bioimageamento realizados com outros compostos contendo Eu^{3+} quando incubadas com células vivas⁹ (Figura 32 imagens A-C). As amostras fixadas mostram a coloração perinuclear usual sem o padrão granular (Figura 35 imagens E-G), tal como já observado para compostos contendo Tb^{3+} quando incubadas com células fixadas (Figura 33 E-G). Curiosamente, observou-se vazios nucleares no citoplasma de células de ambas as amostras vivas e fixadas, (Figura 35) devido sua forma, tamanho e posições, podem ser endossomos precoces. Estes vazios indicaram que esse composto não apresentou nenhuma afinidade para as organelas do citosol. Efeitos citotóxicos não foram detectados, resultando em alterações morfológicas externas das células. A morfologia celular normal é mostrada por meio de imagens de contraste de fase (imagens Figura 30 – Figura 35 D e H).

4. Conclusões e Perspectivas

4.1 Conclusões e Perspectivas

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho pode-se sintetizar, caracterizar e aplicar essas novas classes de sondas luminescentes ionicamente marcadas. Oito novos compostos foram preparados sendo um PLIs, denominado PVAI, quatro complexos de európio e dois de térbio. Os compostos foram caracterizados por RMN, IV, análises térmicas, bem como suas propriedades fotofísicas foram investigados por meio de análises espectrofluorimétricas.

A espectroscopia de fluorescência permitiu identificar as limitações e fontes de supressão da luminescência que afetaram o rendimento quântico de alguns complexos. Tanto a energia do estado tripleto quanto a absorção de energia dos osciladores O-H são fatores contribuintes.

Esses complexos compõem uma classe atrativa de novos compostos estáveis e solúveis em água, com elevado potencial como uma nova família de sondas moleculares para aplicação em bioimageamento. Todos os complexos foram testados em experimentos de imageamento celular como sondas luminescentes. Além disso, as diferentes seletividades apresentadas pelos complexos (quando comparados entre si) abrem um novo caminho para o desenho racional de novos bioprobes fluorescentes seletivos com base nas estratégias aqui descritas.

Com os resultados deste trabalho, propostas para novas moléculas com estruturas derivadas de PLIs com propriedades luminescentes foram elaboradas, com o objetivo de se aprimorar ainda mais as propriedades espectroscópicas compostos derivados desses ligantes.

5. Sessão Experimental

5.1 Equipamentos

- **RMN:** Os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN foram registrados em espectrômetro Bruker Avance III 600MHz. Magneto Supercondutor ASCEND, Sonda BBFO e software Advanced II HD consol, utilizando como solvente D_2O ($\delta = 4,88$ ppm) e CD_3OD ($\delta = 3,31, 4,78$ ppm e $49,2$ ppm). Os deslocamentos químicos expressos em δ (ppm) com referência ao TMS ($\delta = 0$ ppm), e os padrões de acoplamentos definidos por: s (singleto), d (duplete), t (tripleto), m (multiplete), dd (duplo duplete), td (triplo duplete), dt (duplo tripleto) e bl (banda larga).
- **FTIR-ATR:** Os espectros de IV foram adquiridos em espectrômetro Varian 640 IR operando com *software Varian Resolution*. Os espectros realizados em ATR foram obtidos pela média de 32 *scans* em uma escala de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} . Os experimentos obtidos em cela de KBr tiveram a média de 16 *scans* e escala de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . Todos os espectros foram coletados a $19\text{ }^\circ\text{C}$ (temperatura da sala do equipamento).
- **Espectrofotômetro de Fluorescência:** Os espectros de fotoluminescência foram adquiridos em: Espectrofluorímetro Lumina Thermo Scientific e *software Luminous*, equipado com uma fotomultiplicadora Hamamatsu e lâmpada de Xe de 400 W. As medidas foram realizadas com 300 *scans*, com voltagem de 600 V, tempo de integração 20, *slit* de excitação com abertura de 2,5 nm e *slit* de emissão com abertura de 10 nm.
- **Espectrofotômetro de fluorescência - Curvas de decaimento de tempo de vida:** Os tempos de vida de luminescência foram coletados em um espectrofluorímetro FLUOROLOG3 ISA/Jobin- Yvon equipado com uma fotomultiplicadora Hamamatsu R928P, um fosforímetro SPEX 1934 D, uma lâmpada de Xe de 450 W e uma lâmpada de Xe-Hg de 150 W. Todos os espectros foram corrigidos para a resposta espectral dos monocromadores, e o detector via correção espectral fornecida pelo fabricante. As soluções aquosas foram preparadas com concentração de 1.00 mmolar.

➤ **Analisadores térmicos:** As curvas de TGA/DTA foram obtidas em analisador térmico Shimadzu (modelo DTG-60H) em atmosfera de N₂ com vazão de 30 mL min⁻¹ do gás em cadinho de platina e aquecimento de 30 °C a 950 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. As curvas de DSC foram adquiridas em um analisador térmico Shimadzu modelo: DSC-60 (Shimadzu Scientific Instruments) em atmosfera de hélio e nitrogênio com vazão de 30 mL min⁻¹ do gás em panelinha de alumínio. As análises seguiram o mesmo perfil: rampa de aquecimento de -80 °C a 200 °C, arrefecimento de 200 °C a 80 °C, e uma outra rampa de aquecimento de -80 °C a 200 °C. As taxas de aquecimento e arrefecimento foram constantes (10 °C min⁻¹) e os dados obtidos a partir da segunda rampa de aquecimento foram utilizados para determinar a temperatura de transição vítrea.

➤ **Cromatografia de permeação em gel (GPC):** As análises de cromatografia de exclusão por tamanho foram realizadas no Cromatógrafo GPC Max ve 2001, GPC *Solvent/Sample Module*, Viscotec. Com as seguintes condições de análise: Vazão: 0,8 mL min⁻¹; Temperatura: 40 °C; Volume de injeção: 110 µL; Composição fase móvel: água deionizada com 0,1 M NaNO₃ e 0,02% azida sódica; Concentração da amostra: 5 mg mL⁻¹; Tipo de coluna (set de colunas, faixa de MM): 3 colunas SB-806M com limite de exclusão 2x10⁷ (colunas com recheio misto) Volume de exclusão: 45 mL; Tipos de detectores: viscosimétrico, UV, IR, espalhamento de luz; Padrões utilizados: PEO 19K é utilizado como calibrante e Dextran como referência.

➤ **Microscopia confocal de varredura a LASER:** As imagens celulares foram obtidas em microscópio confocal de varredura a *Laser* Leyca, modelo TCS SP5. As imagens foram adquiridas com laser operando a 25% de potência, em modo de duas varreduras por linha e com “pinhole” em abertura de 0,95 µm.

5.2 Síntese dos compostos

Para a obtenção do **VAI.Cl** realizou-se uma reação de substituição nucleofílica do tipo S_N2 entre o vinilimidazol e ácido cloroacético levando a formação do Cloreto de 1-metil-3-*N*-carboxivinilimidazólio (**VAI.Cl**) (Esquema 1) com 92% rendimento.

Síntese do VAI.Cl. Em um balão de duas bocas e atmosfera inerte, adicionou-se 6,25 g de ácido cloroacético (66 mmol) solubilizado em 20 mL de acetonitrila. Em intervalos de 30 minutos alíquotas de 1 mL de vinilimidazol foram adicionadas a mistura reacional de modo a completarem o total de 5,195 g de vinilimidazol necessários para a reação, (53 mmol). A mistura é mantida por 48h a uma temperatura de 80 °C. O produto formado (um sólido branco) foi lavado exaustivamente com acetato de etila. Para garantir a remoção total de quaisquer impurezas, lavou-se o sólido também com acetonitrila (\approx 10 mL) e, ao final desse procedimento, o sólido branco foi seco sob alto vácuo. Ao final do processo obteve-se rendimento de 92%.

Síntese do PVAI. Realizou-se uma reação de polimerização radicalar com o monômero **VAI.Cl** (Esquema 2). O produto obtido ao final da síntese foi lavado exaustivamente com acetato de etila e acetonitrila para retirada do monômero que não reagiu. Ao final da lavagem o produto foi seco sob vácuo e o rendimento obtido foi de 85%.

Em tubo de schlenck adicionou-se uma mistura de 2g de **VAI.Cl** (10 mmol), 0,28g de 2, 2- azobis(2-metilpropilonitrila) (1,3 mmol; 11,2%), e 8 mL de metanol e sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida o tubo é vedado e aquecido a 70°C por 48 horas. Após o término da reação o solvente foi removido em rotaevaporador e o sólido obtido: Poli-cloreto de 1-vinil-3-*N*-carboximetilimidazólio (**PVAI**), foi lavado exaustivamente com acetato de etila e seco sob alto vácuo. A partir do **VAI.Cl** e **PVAI**, quatro novos complexos de Tb^{3+} e Eu^{3+} hidrossolúveis foram sintetizados. (Vide Esquema 3 e Esquema 4).

Os complexos foram obtidos solubilizando em 30 mL de água destilada, 0,17 mmol de $Eu(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ ou de $Tb(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ e 0,53 mmol de **VAI.Cl** (ou **PVAI**) mantidos sob agitação e temperatura ambiente por 30 minutos. Para os

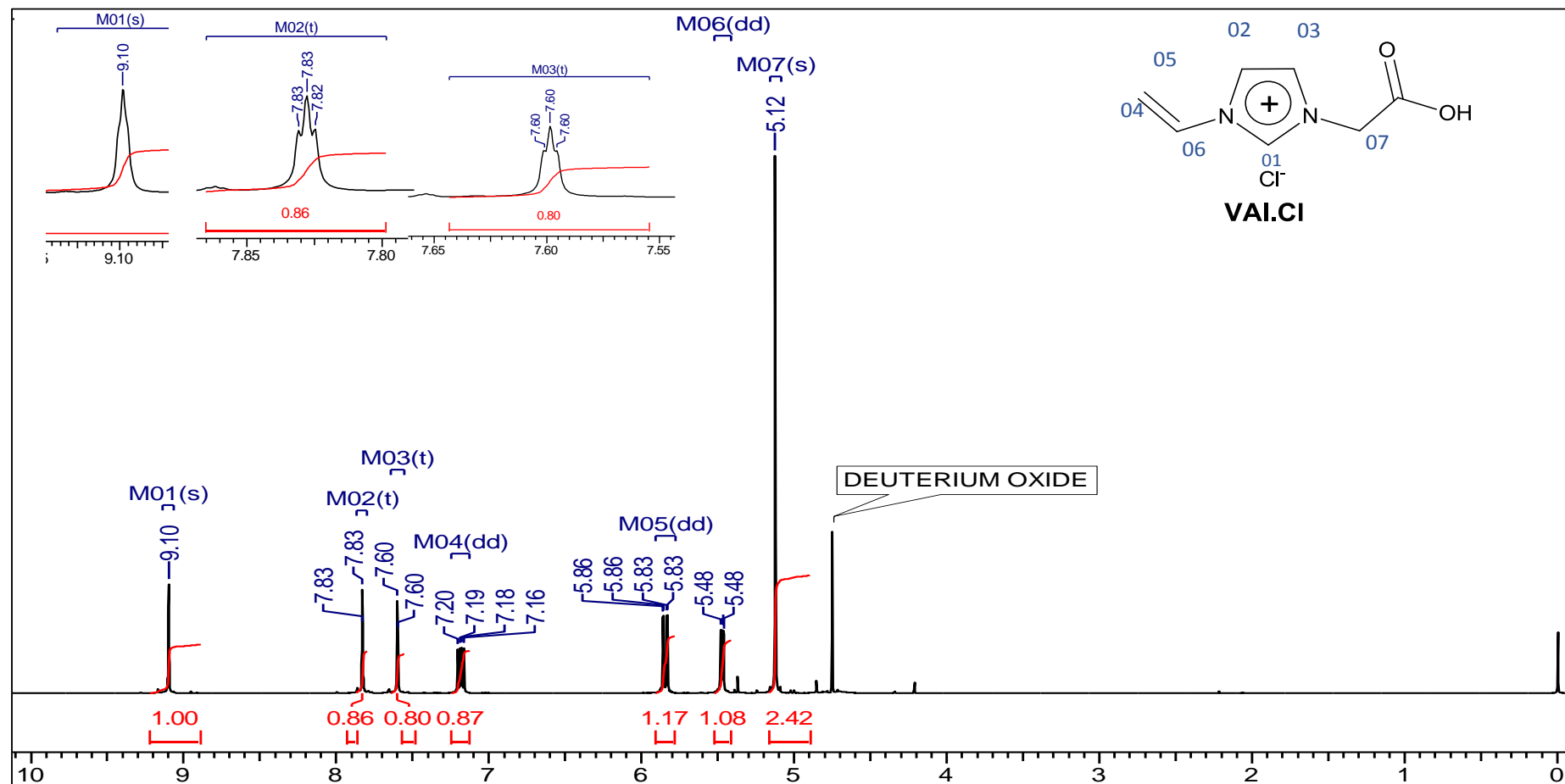
complexos com 4,4,4-Trifluoro-1-fenil-1,3-butanodiona utilizou-se 2 equivalentes de β dicetona e 1 equivalente de **VAI.CI** (ou **PVAI**).

Para essas reações é fundamental o ajuste do pH até 6. Assim, uma solução etanólica de KOH foi preparada e gotejada lentamente ao meio reacional.⁹ A solução é então rotaevaporada e o sólido seco sob alto vácuo. Os rendimentos das sínteses de complexação são quantitativos.

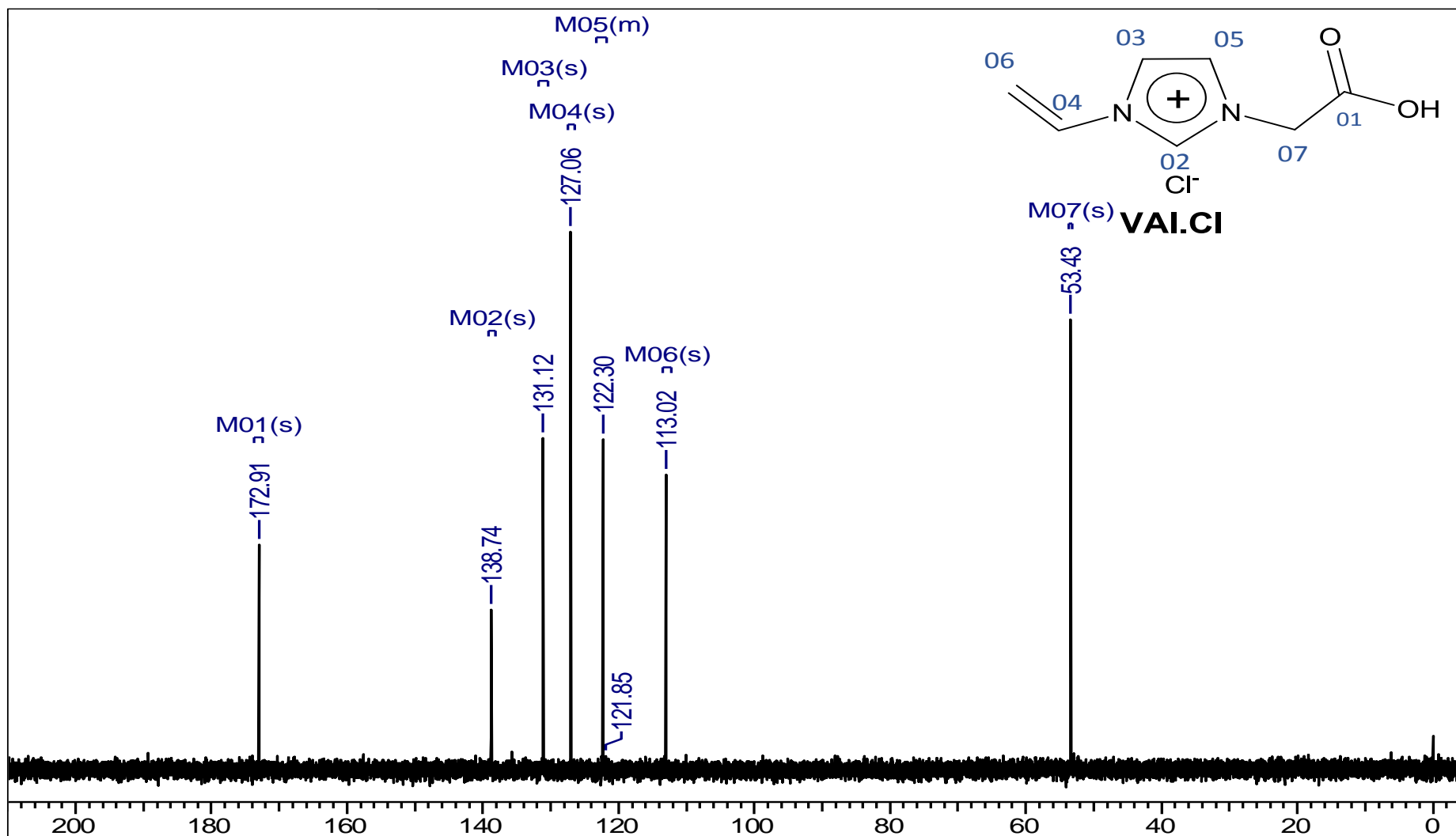
6. Anexos

6.1 Espectros de RMN

VAI.CI

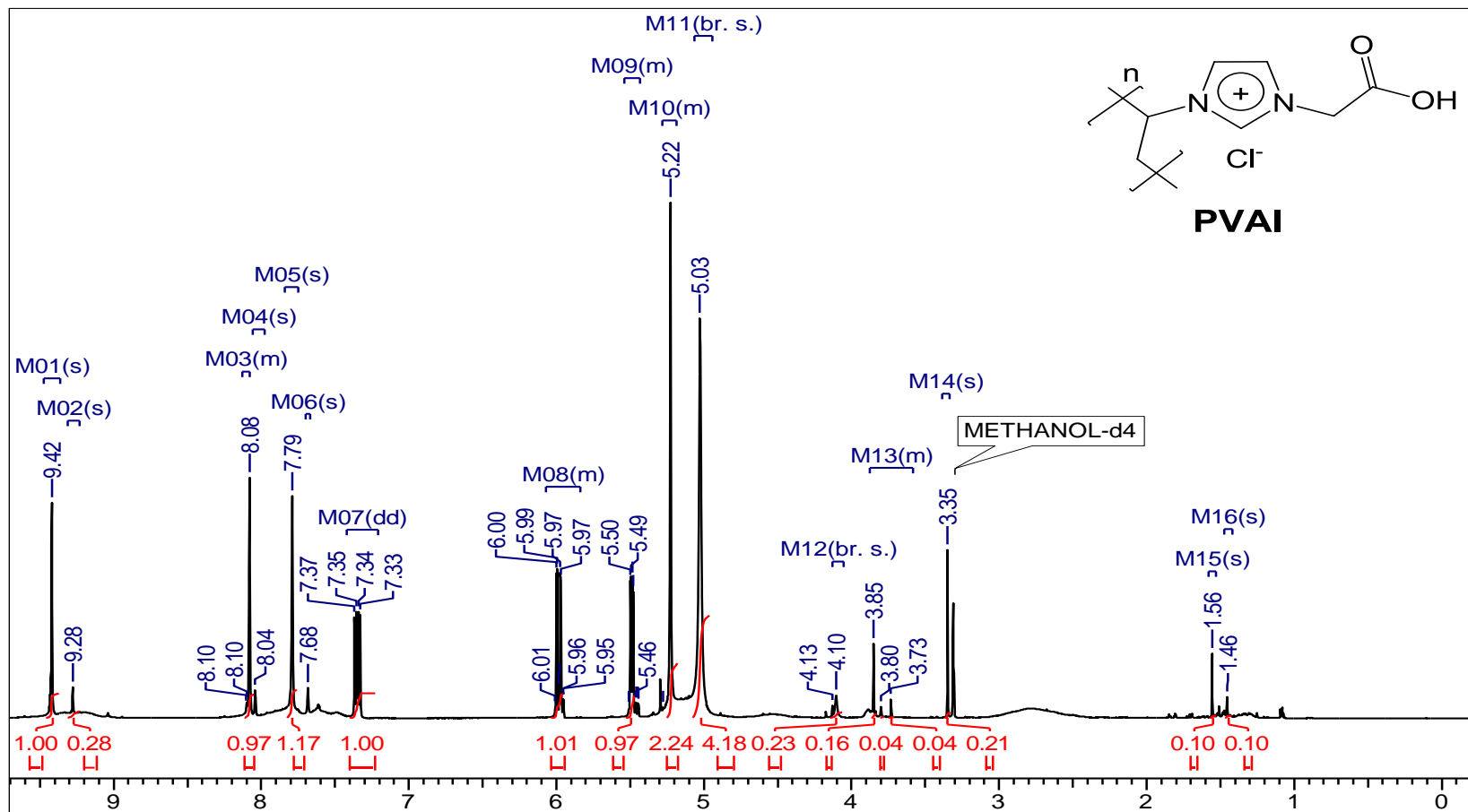


¹H RMN do **VAI.CI** (600 MHz, D₂O) δ ppm: 9,10 (1 H, s), 7,83 (1H, t, J = 1,8 Hz), 7,60 (1 H, t, J = 1,8 Hz), 7,19 (1H, dd, J = 15,4 e 8, 8 Hz), 5,85 (1H, dd, J = 15,6 e 2,8), 5,48 (1 H, dd, J = 8,8 e 2,9), 5,13 (1H, s).

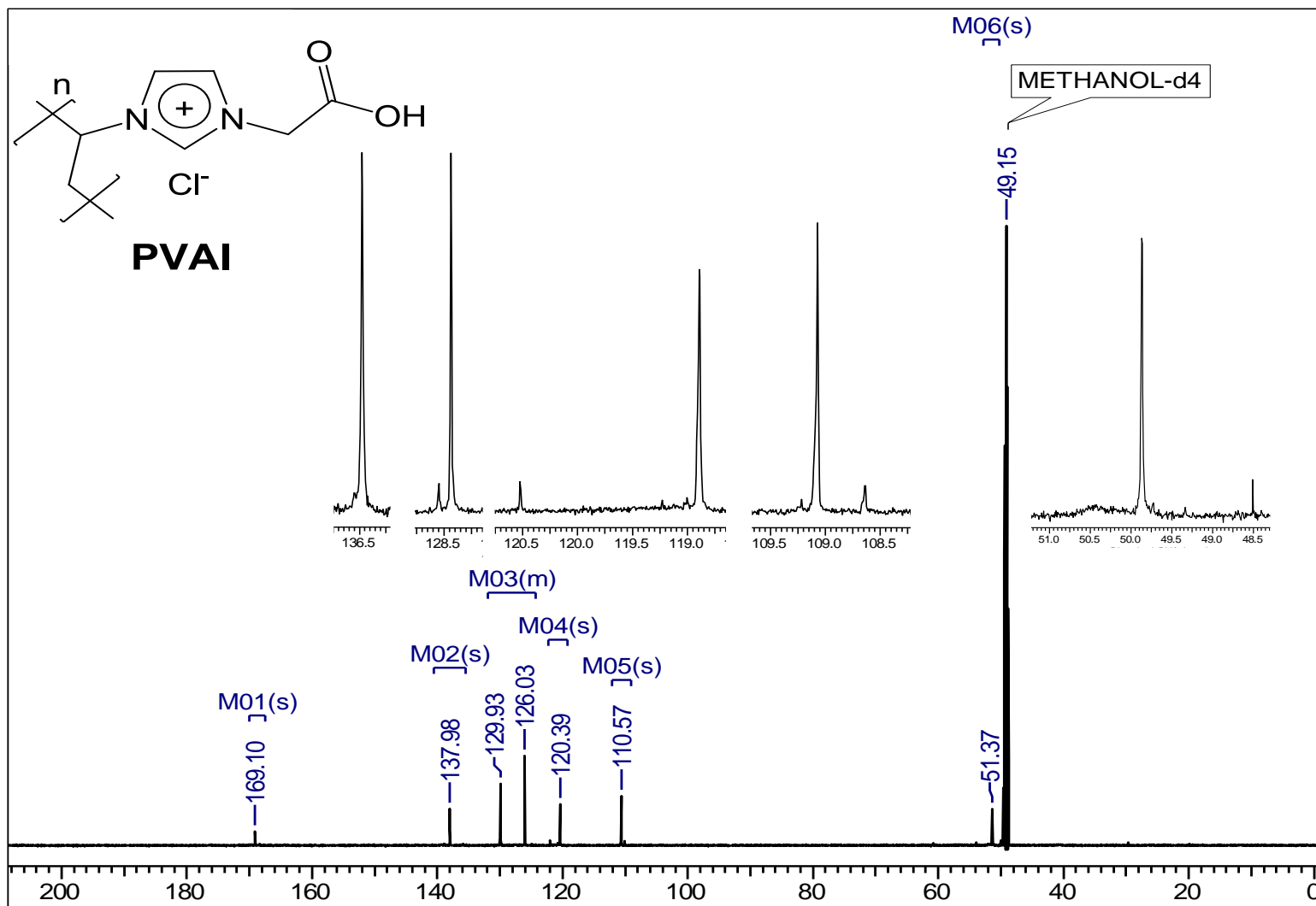


¹³C RMN do **VAI.Cl** (150 MHz, D₂O) δ ppm: 172,9, 138,7, 131,1, 127,0, 122,3, 113,0, 53,4.

PVAI

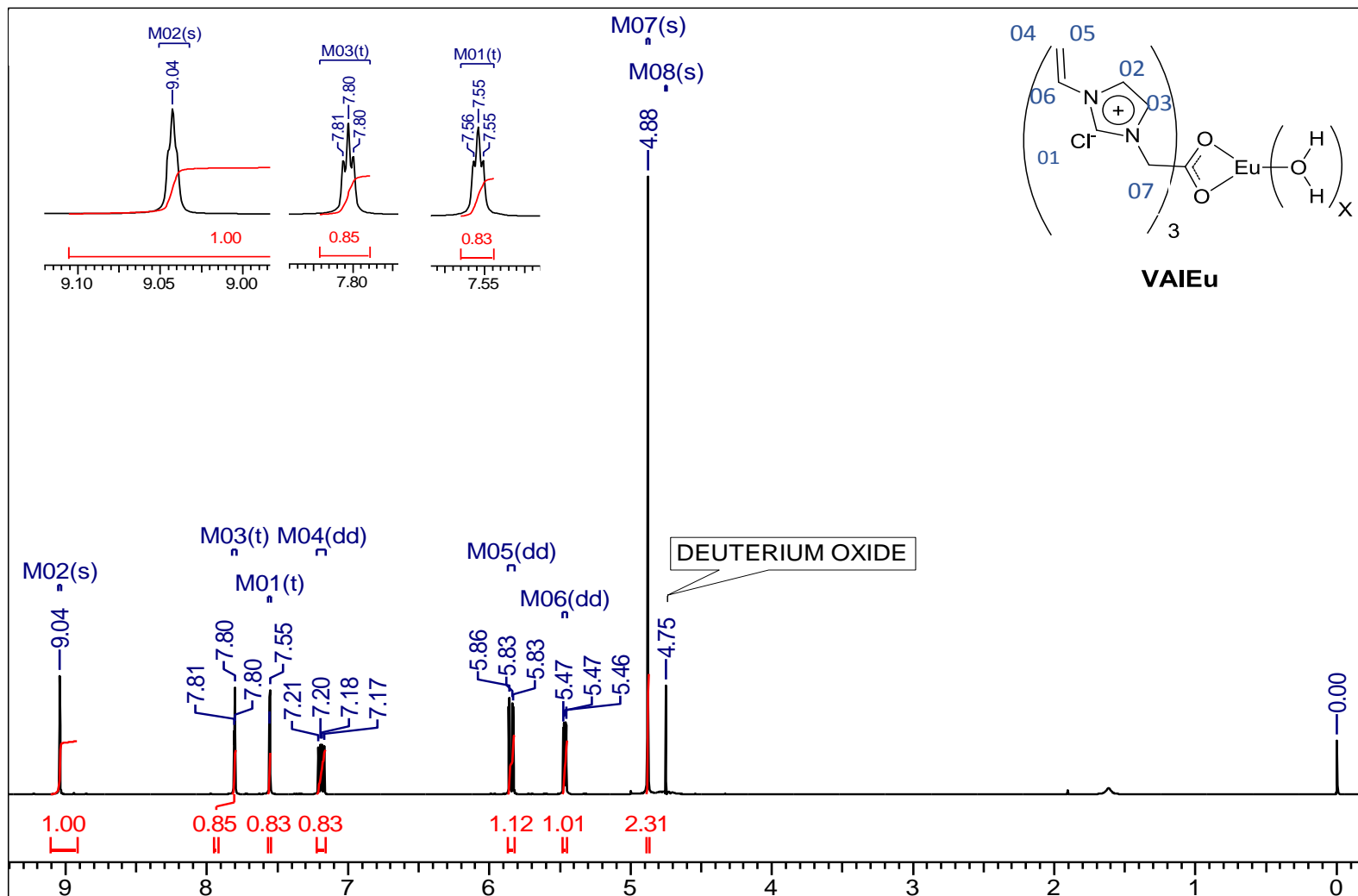


^1H RMN do **PVAI** (600 MHz, CD_3OD), δ ppm: 9,42 (1 H, s), 9,28 (1 H, s), 8,10 (1 H, m), 8,08 (1 H, d, $J_{\text{HH}} = 1,8$ Hz), 8,04 (1 H, m), 7,79 (1 H, s) 7,68 (2 H, s) 7,35 (11 H, dd, $J_{\text{HH}} = 15,6$ e $8,6$ Hz), 6,00 (5 H, d, $J_{\text{HH}} = 2,6$ Hz), 5,98 (1 H, d, $J_{\text{HH}} = 2,9$ Hz), 5,97 (5 H, d, $J_{\text{HH}} = 2,9$ Hz), 5,95 (1 H, d, $J_{\text{HH}} = 2,6$ Hz), 5,49 (10 H, dd, $J_{\text{HH}} = 8,8$ e $2,9$ Hz), 5,45 (1 H, dd, $J_{\text{HH}} = 8,6$ e $2,8$ Hz) 5,30 (1 H, s), 5,22 (24 H, s), 5,03 (46 H, s), 4,10 (2 H, s), 3,85(2 H, s), 3,73 (2 H, s), 3,35 (2 H, s), 1,48 (1 H, s), 1,06 (1 H, m).

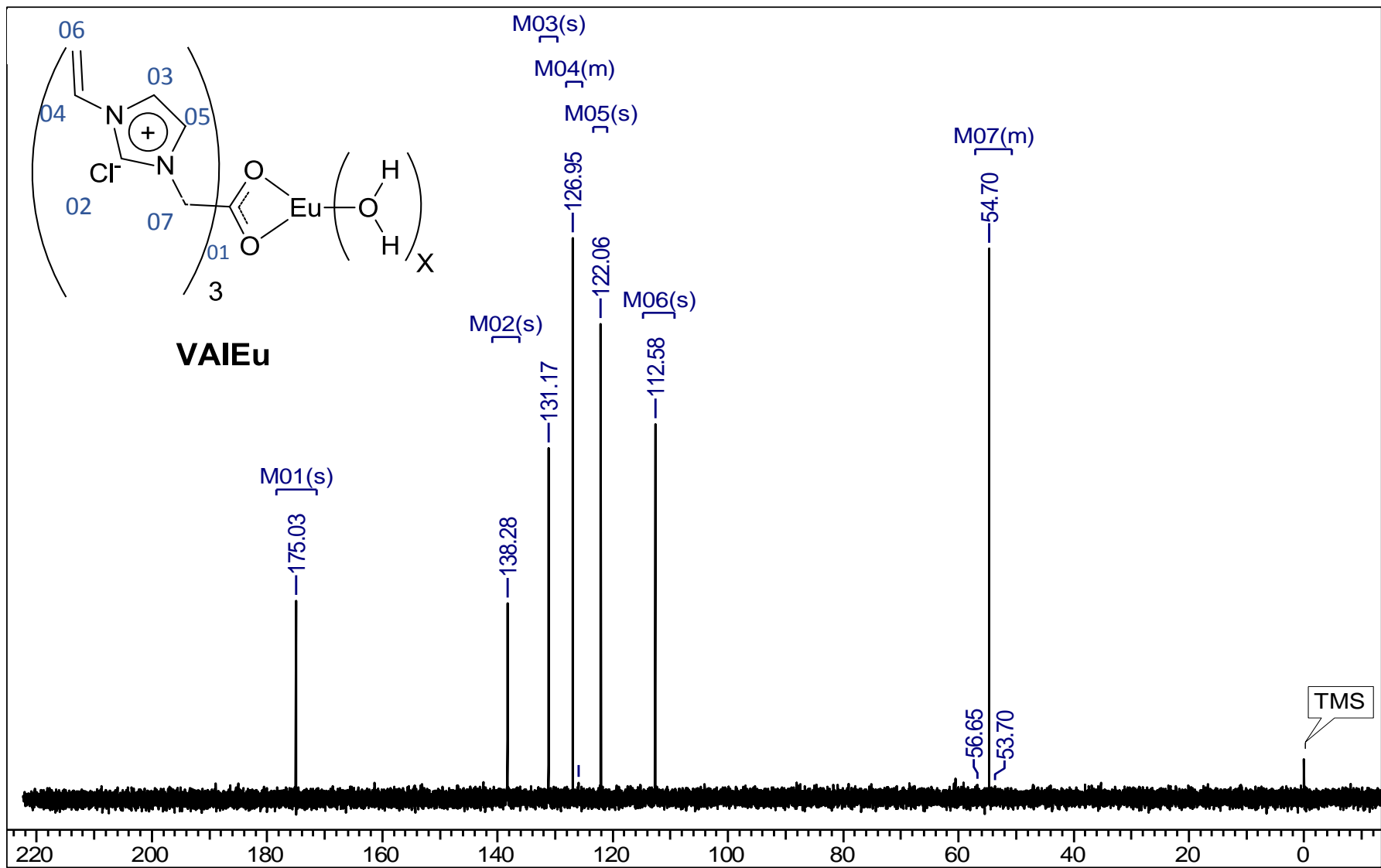


³¹P RMN do **PVAI** (150 MHz, CD₃OD) δ ppm: 169,1, 168,3, 137,9, 135,8, 129,9, 126,0, 120,3, 124,8, 122,0, 110,7, 110,5, 110,1, 60,8, 53,9, 51,3, 29,6, 19,8.

VAIEu

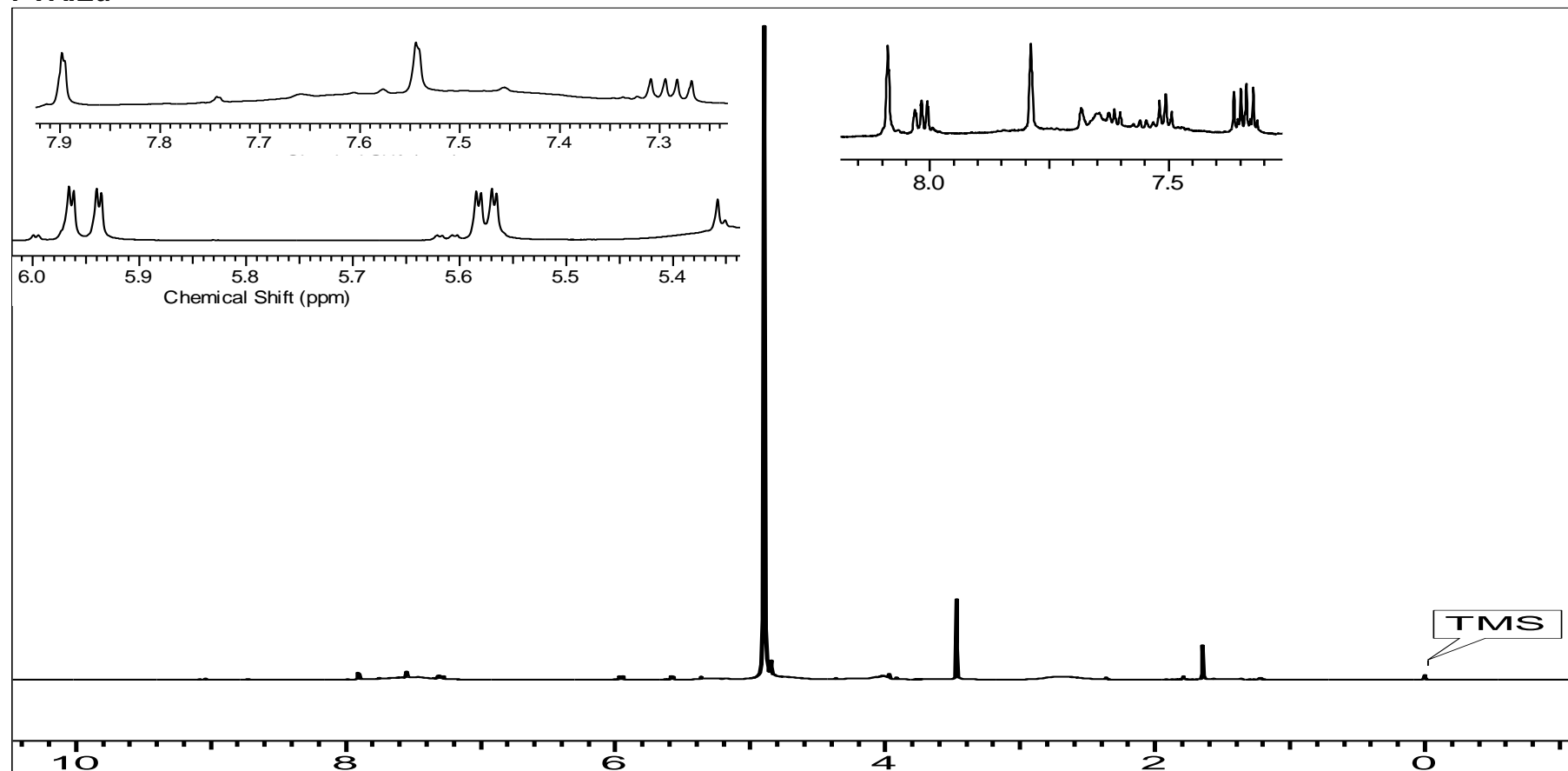


¹H RMN do **VAIEu** (600 MHz, D₂O) δ ppm: 9,04 (1 H, s), 7,81 (1 H, s), 7,56 (1 H, t, $J = 1,8$ Hz), 7,19 (1 H, dd, $J = 15,6$ e $8,6$ Hz), 5,85 (1 H, dd, $J = 15,8$ e $2,9$), 5,47 (1 H, dd, $J = 8,6$), 4,75 (1 H, s).

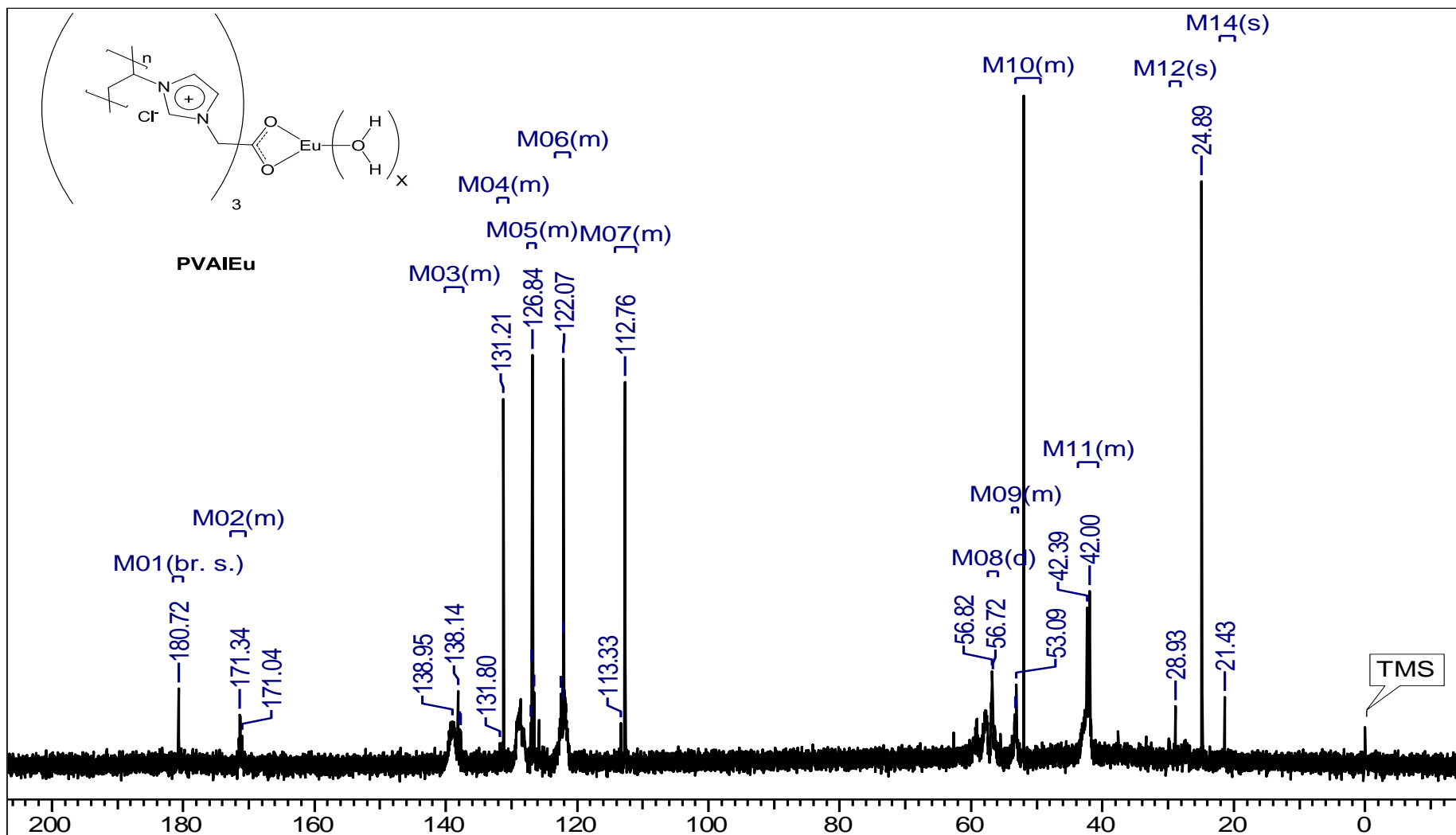


¹³C RMN do **VAIEu** (150 MHz, D₂O) δ ppm: 175,0, 138,2, 131,1, 126,9, 122,0, 112,5, 54,7.

PVAIEu

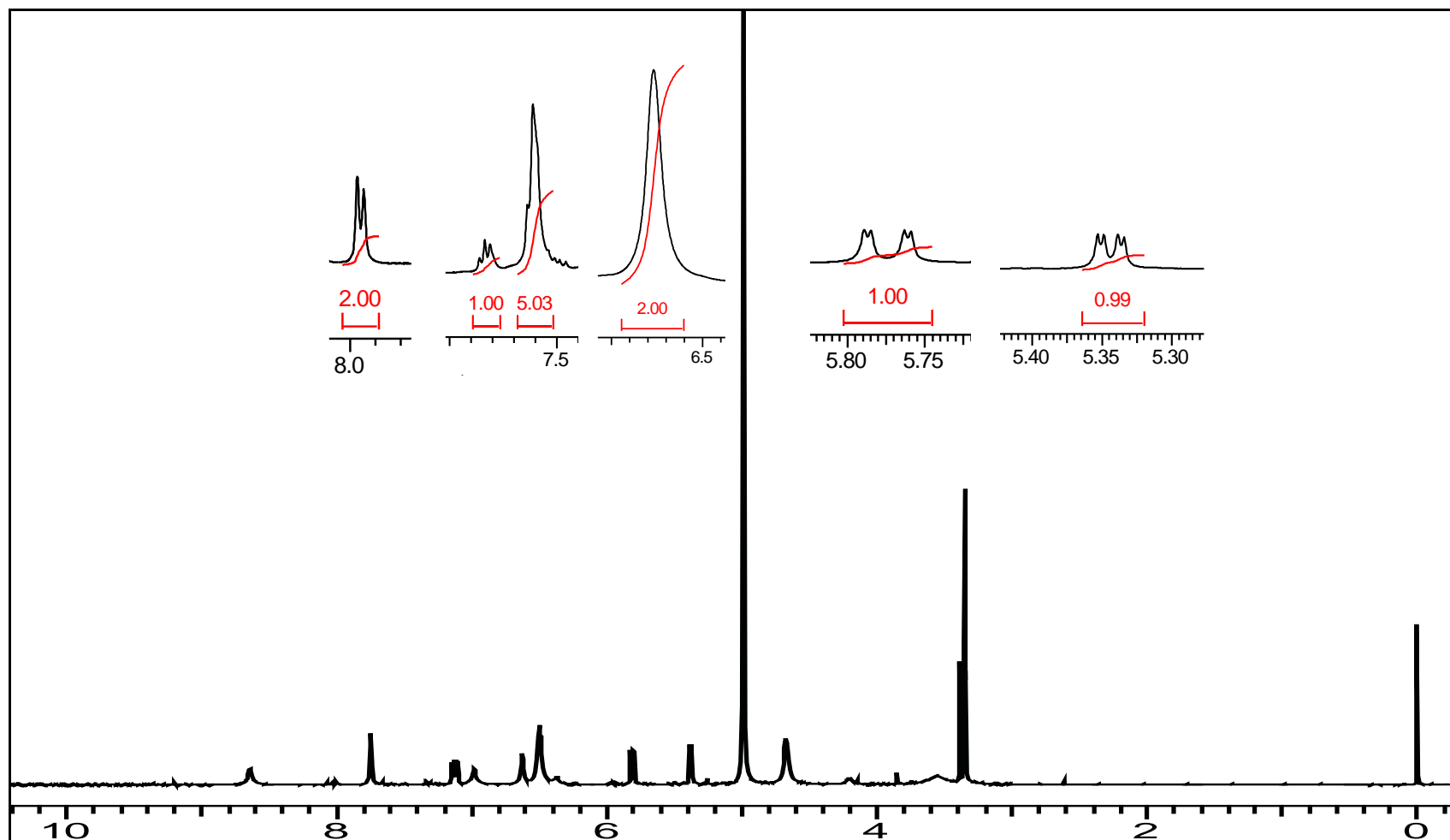


^1H RMN do **PVAIEu** (600 MHz, D_2O): δ ppm: 9,39 (3 H, s), 9,25 (1 H, s), 8,09 (3 H, m), 8,02 (4 H, m), 7,79 (4 H, s) 7,69 (2 H, s) 7,61 (4 H, m), 7,51(4 H, m) 7,34(6 H, m) 6,61 (31 H, m) 6,47 (64 H, s) 5,99 (4 H, d, $J=2,6$), 5,97 (1 H, d, $J=2,9$ Hz), 5,95 (5 H, d, $J=2,9$ Hz), 5,75 (1 H d, $J=2,6$ Hz), 5,51 (10 H, dd, $J=8,8$ e $2,9$ Hz), 5,46 (1 H, dd, $J=8,6$ e $2,8$ Hz) 5,27 (1 H, s), 5,17 (24 H, s), 4,57 (31 H, s), 4,17 (1 H, s), 3,86 (7 H, s), 3,43 (35 H, s), 2,63 (2 H, s), 1,71 (1H, s), 1,66 (1 H, s), 1,51 (3 H, s), 1,18 (2 H, d, $J=5,9$).

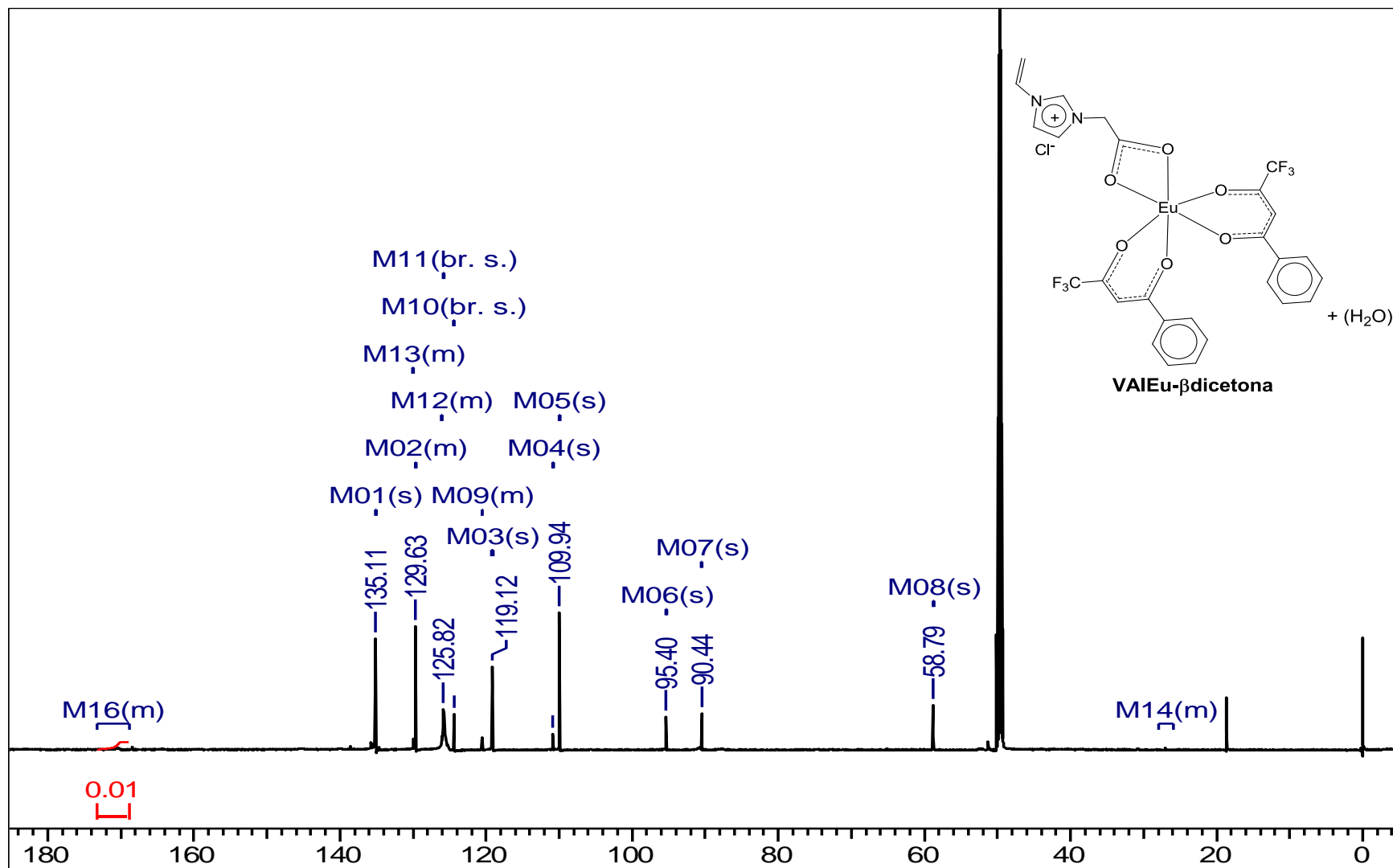


¹³C RMN PVAIEu (150 MHz, D₂O), δ ppm: 180,7, 171,3, 139,0, 138,1, 131, 2, 128,7, 126,8, 126,5, 125,8, 122,0, 113,3, 112,7, 59,2, 57,7, 56,7, 53,3, 53,0, 52,0, 42,3, 42,0, 28,9, 24,8, 21,4.

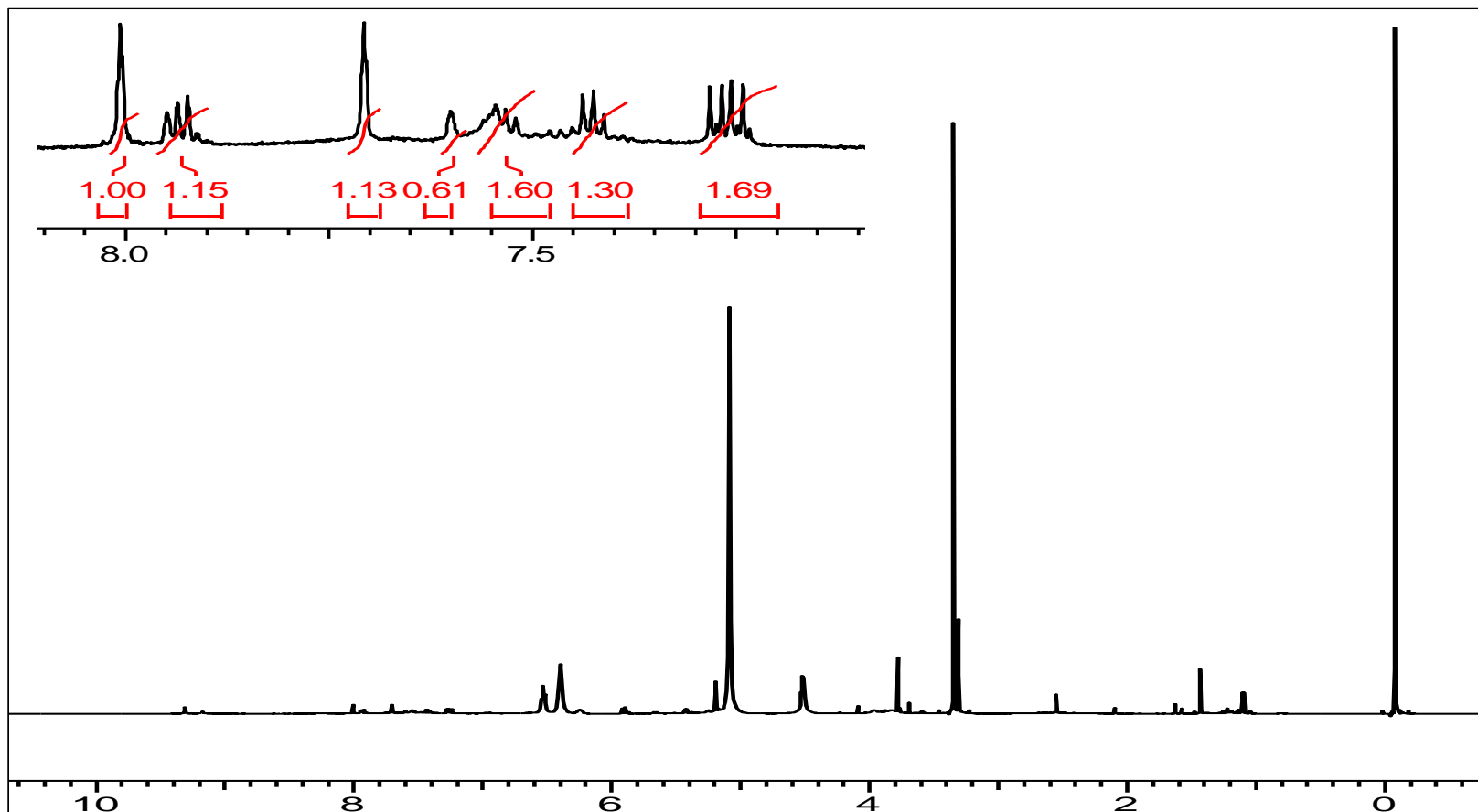
VAI.Eu- β dicetona



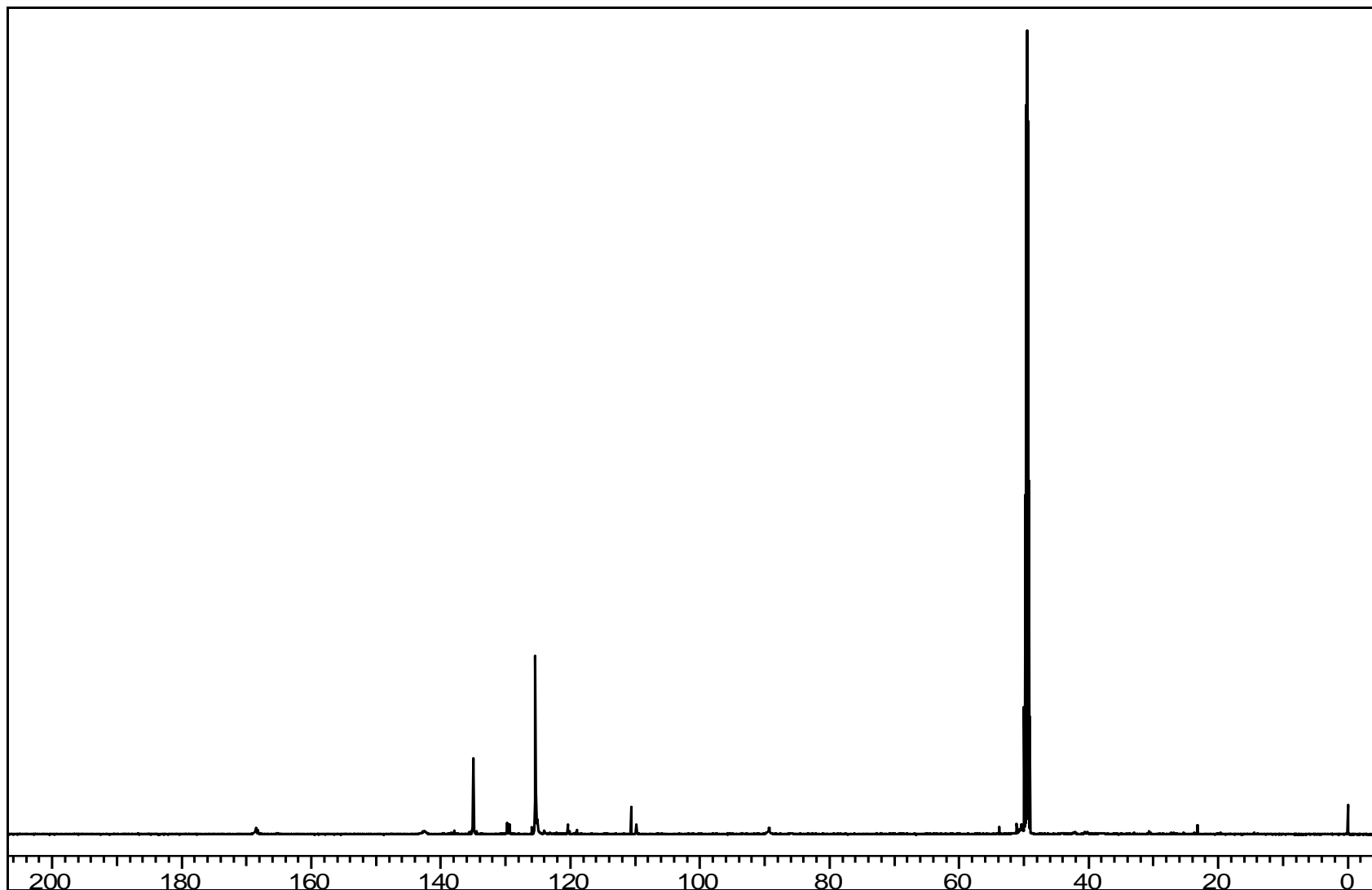
^1H RMN do **VAIEu- β dicetona** (600 MHz, CD_3OD): δ ppm 9,32 (1 H, s) 8,00 (1 H, d), 7,9 (1 H, d) 7,75 (1 H, d), 7,4 (2 H, s) 7,25 (2 H, dd) 7,17 (2 H, dd, $J= 15,6$ e $8,6$ Hz), 6,89 (2 H, dd, $J= 15,4$ e $8,88$ Hz) 5,89 (1 H, dd, $J= 15,4$ e $2,6$ Hz), 5,61 (1 H, dd, $J= 15,4$ e $2,2$ Hz), 5,41 (1 H, dd, $J= 15,4$ e $2,6$ Hz) 3,35 (2 H, s).



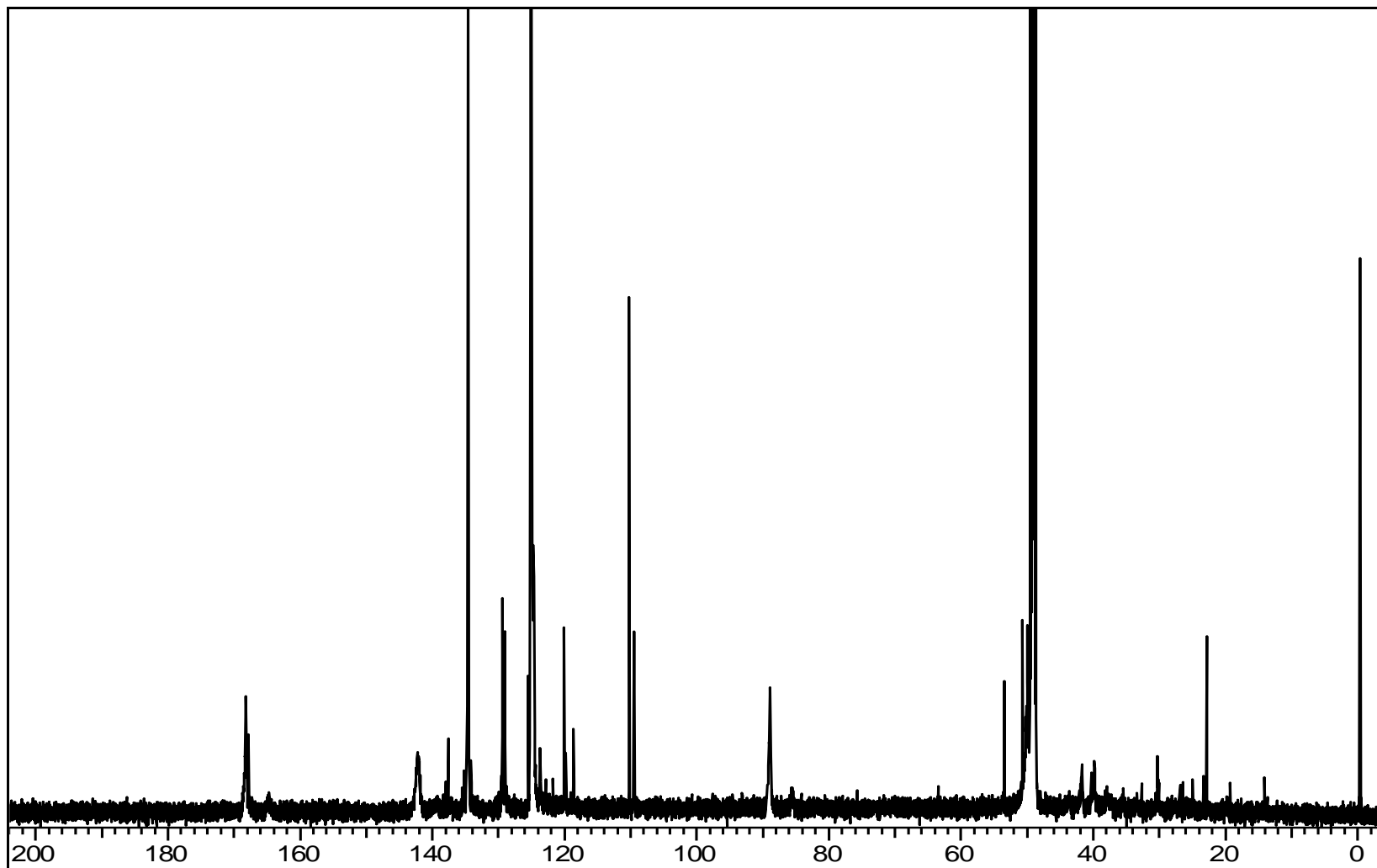
¹³C RMN do **VAIEu-βdicetona** (150 MHz, CD₃OD): δ ppm: 171,0, 135,1, 129,6, 129,6, 125,8, 124,3, 120,5, 119,1, 110,8, 109,9, 95,4, 90,4, 58,7, 26,9.



^1H RMN do **PVAIEu- β dicetona** (600 MHz, CD_3OD) δ ppm: 9,31 (1 H, s) 9,17 (1 H, s) 8,01(1 H, bl), 7,93 (1 H, m) 7,71 (1 H, bl), 7,6 (1 H, bl) 7,53 (1 H, bl), 7,42 (1 H, q), 7,26 (2 H, dd) 6,96 (1 H, bl), 6,53 (4 H, t, $J_{HH} = 7,3$ Hz) 6,4 (1 H, bl) 6,25 (1 H, bl), 5,92 (1 H, dd) 5,89 (1 H, dd), 5,66 (1 H, dd), 5,43 (1 H, dd) 5,38 (1 H, dd) 5,25 (1 H, dd) 5,19 (1 H, s), 4,52 (6 H, s), 4,09 (1 H, s), 3,88 (1 H, m), 3,78 (1 H, s), 3,69 (1 H, m), 3,35 (8 H, s), 2,55 (1 H, s), 2,1 (1 H, m), 1,63 (1 H, m), 1,57 (1 H, m), 1,43 (1 H, s), 1,11 (1 H, d), 1,05 (1 H, m).



^{13}C RMN do **PVAIEu- β dicetona** (150 MHz, CD_3OD) sem ampliação.



^{13}C RMN do **PVAEu- β -dicetona** (150 MHz, CD_3OD), δ ppm 168,7, 168,1, 142,5, 137,9, 134,9, 129,9, 129,3, 125,9, 125,4, 123,9, 122,0, 120,4, 120,1, 119,0, 110,6, 109,8, 89,3, 86,0, 53,7, 51,0, 50,3, 42,2, 40,3, 30,5, 26,7, 25,3, 23,6, 23,2, 19,6, 14,4.

Referências Bibliográficas

- (1) Mai, N. L.; Ahn, K.; Koo, Y.-M. *Process Biochem.* **2014**, *49*, 872-881.
- (2) Santos, C. E. A.; Alencar, M. A. R. C.; Migowski, P.; Dupont, J.; Hickmann, J. M. *Chem. Phys.* **2012**, *403*, 33-36.
- (3) Zheng, D.; Dong, L.; Huang, W.; Wu, X.; Nie, N. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2014**, *37*, 47-68.
- (4) Yue, C.; Fang, D.; Liu, L.; Yi, T.-F. *J. Mol. Liquid.* **2011**, *163*, 99-121.
- (5) Yu, H.; Ho, T. D.; Anderson, J. L. *TrAC Trend. Anal. Chem.* **2013**, *45*, 219-232.
- (6) Burns, C. T.; Lee, S.; Seifert, S.; Firestone, M. A. *Polym. Advan. Technol* **2008**, *19*, 1369-1382.
- (7) Wang, X.; Xing, L.; Shu, Y.; Chen, X.; Wang, J. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *837*, 64-69.
- (8) Mecerreyes, D. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 1629-1648.
- (9) Diniz, J. R.; Correa, J. R.; Moreira, D. d. A.; Fontenele, R. S.; de Oliveira, A. L.; Abdelnur, P. V.; Dutra, J. D. L.; Freire, R. O.; Rodrigues, M. O.; Neto, B. A. D. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 10199-10205.
- (10) Kim, J.-H.; Park, K.; Nam, H. Y.; Lee, S.; Kim, K.; Kwon, I. C. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 1031-1053.
- (11) D. Neto, B. A.; Corrêa, J. R.; Carvalho, P. H. P. R.; Santos, D. C. B. D.; Guido, B. C.; Gatto, C. C.; Oliveira, H. C. B. d.; Fasciotti, M.; Eberlin, M. N.; Silva Jr., E. N. d. *J. Braz. Chem. Soc.* **2012**, *23*, 770-781.
- (12) Tsang, M.-K.; Chan, C.-F.; Wong, K.-L.; Hao, J. *J. Lumin.* **2015**, *157*, 172-178.
- (13) Chan, J.; Dodani, S. C.; Chang, C. J. *Nat Chem* **2012**, *4*, 973-984.
- (14) Wang, Z.-S.; Kawauchi, H.; Kashima, T.; Arakawa, H. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 1381-1389.
- (15) Weibel, N.; Charbonnière, L. J.; Guardigli, M.; Roda, A.; Ziessel, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4888-4896.
- (16) Petkovic, M.; Seddon, K. R.; Rebelo, L. P. N.; Silva Pereira, C. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1383-1403.
- (17) Dupont, J. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1223-1231.
- (18) Wender, H.; de Oliveira, L. F.; Migowski, P.; Feil, A. F.; Lissner, E.; Prechtel, M. H. G.; Teixeira, S. R.; Dupont, J. In *J. Phys. Chem. C*; American Chemical Society: 2010; Vol. 114, p 11764-11768.
- (19) Betz, D.; Altmann, P.; Cokoja, M.; Herrmann, W. A.; Kühn, F. E. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 1518-1540.

- (20) Mazloum-Ardakani, M.; Khoshroo, A.; Hosseinzadeh, L. *Sensor. Actuat. B Chem.* **2014**, *204*, 282-288.
- (21) Ma, J.; Hong, X. *J. Environ. Manage.* **2012**, *99*, 104-109.
- (22) Rojas, M. F.; Bernard, F. L.; Aquino, A.; Borges, J.; Vecchia, F. D.; Menezes, S.; Ligabue, R.; Einloft, S. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2014**, *392*, 83-88.
- (23) Wang, B.; Hao, J.; Li, Q.; Li, H. *International Journal of Thermal Sciences* **2014**, *83*, 89-95.
- (24) França, J. M. P.; Reis, F.; Vieira, S. I. C.; Lourenço, M. J. V.; Santos, F. J. V.; Nieto de Castro, C. A.; Pádua, A. A. H. *J. Chem. Therm.* **2014**, *79*, 248-257.
- (25) D'Arrigo, P.; Allegretti, C.; Tamborini, S.; Formantici, C.; Galante, Y.; Pollegioni, L.; Mele, A. *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2014**, *106*, 76-80.
- (26) Deive, F. J.; Rodríguez, A.; Rebelo, L. P. N.; Marrucho, I. M. *Separation and Purification Technology* **2012**, *97*, 205-210.
- (27) Liu, S.; Zhou, L.; Yu, S.; Xie, C.; Liu, F.; Song, Z. *Biomass and Bioenergy* **2013**, *57*, 238-242.
- (28) Nguyen, V. H.; Haldorai, Y.; Pham, Q. L.; Noh, S. K.; Lyoo, W. S.; Shim, J.-J. *Eur. Polym. J.* **2010**, *46*, 2190-2198.
- (29) Kubisa, P. *Progress in Polymer Science* **2009**, *34*, 1333-1347.
- (30) Coupillaud, P.; Vignolle, J.; Mecerreyes, D.; Taton, D. *Polymer* **2014**, *55*, 3404-3414.
- (31) Kiesewetter, M. K.; Shin, E. J.; Hedrick, J. L.; Waymouth, R. M. *Macromolecules* **2010**, *43*, 2093-2107.
- (32) Yuan, J.; Antonietti, M. *Polymer* **2011**, *52*, 1469-1482.
- (33) Burns, C. T.; Lee, S.; Seifert, S.; Firestone, M. A. *Polymers for Advanced Technologies* **2008**, *19*, 1369-1382.
- (34) Mudraboyina, B. P.; Obadia, M. M.; Abdelhedi-Miladi, I.; Allaoua, I.; Drockenmuller, E. *Eur. Polym. J.* **2015**, *62*, 331-337.
- (35) Yuan, J.; Mecerreyes, D.; Antonietti, M. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1009-1036.
- (36) de Bettencourt-Dias, A. *Luminescence of Lanthanide Ions in Coordination Compounds and Nanomaterials*; John Wiley & Sons, 2014.
- (37) Hänninen, P.; Härmä, H. *Lanthanide luminescence: photophysical, analytical and biological aspects*; Springer, 2011; Vol. 7.
- (38) Binnemans, K. *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 4283-4374.
- (39) Cotton, S. In *Lanthanide and Actinide Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd: 2006, p 9-22.
- (40) Martins, T. S.; Isolani, P. C. *Química Nova* **2005**, *28*, 111-117.
- (41) Chan, W. T. K.; Wong, W.-T. *Polyhedron*.

- (42) Shiraishi, Y.; Furubayashi, Y.; Nishimura, G.; Hirai, T. *Journal of Luminescence* **2007**, *127*, 623-632.
- (43) D'Aléo, A.; Pointillart, F.; Ouahab, L.; Andraud, C.; Maury, O. *Coordination Chemistry Reviews* **2012**, *256*, 1604-1620.
- (44) Zaitoun, M. A.; Al-Tarawneh, S. *Journal of Luminescence* **2011**, *131*, 1795-1801.
- (45) Uh, H.; Petoud, S. *Comptes Rendus Chimie* **2010**, *13*, 668-680.
- (46) Manna, D.; Ghanty, T. K. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 11060-11069.
- (47) Bag, N.; Wohland, T. *Annual Review of Physical Chemistry* **2014**, *65*, 225-248.
- (48) Huang, B.; Bates, M.; Zhuang, X. *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 993-1016.
- (49) Ishikawa-Ankerhold, H. C.; Ankerhold, R.; Drummen, G. P. C. *Molecules* **2012**, *17*, 4047-4132.
- (50) Fernandez-Suarez, M.; Ting, A. Y. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2008**, *9*, 929-943.
- (51) Mota, A. A. R.; Carvalho, P. H. P. R.; Guido, B. C.; de Oliveira, H. C. B.; Soares, T. A.; Correa, J. R.; Neto, B. A. D. *Chemical Science* **2014**, *5*, 3995-4003.
- (52) Divya, K. P.; Sreejith, S.; Ashokkumar, P.; Yuzhan, K.; Peng, Q.; Maji, S. K.; Tong, Y.; Yu, H.; Zhao, Y.; Ramamurthy, P.; Ajayaghosh, A. *Chemical Science* **2014**, *5*, 3469-3474.
- (53) Raudsepp, P.; Brüggemann, D. A.; Andersen, M. L. *Free Radical Biology and Medicine* **2014**, *70*, 233-240.
- (54) Do, L. H.; Hayashi, T.; Moënne-Loccoz, P.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1273-1275.
- (55) Rodrigues, C. V.; Luz, L. L.; Dutra, J. D. L.; Junior, S. A.; Malta, O. L.; Gatto, C. C.; Streit, H. C.; Freire, R. O.; Wickleder, C.; Rodrigues, M. O. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 14858-14866.
- (56) CANEVAROLO, S. V. *Artliber Editora* **2002**, *1*, 280.
- (57) Kittel, C. *Phys. Rev. B* **1949**, *75*, 972-974.
- (58) Angell, C. A. *J. Phys. Chem. Solids* **1988**, *49*, 863-871.
- (59) Li, S. *Luminescence* **2012**, *27*, 242-245.
- (60) Van Krevelen, D. W.; Te Nijenhuis, K. In *Properties of Polymers (Fourth Edition)*; by, D. W. V. K., Nijenhuis, K. T., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2009, p 7-47.
- (61) http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Cromatografia+Em+Gel&lang=3; Vol. 2015.
- (62) Mancini, S. D.; Matos, I. G.; Almeida, R. F. *Polímeros Ciência e Tecnologia* **2004**, *14*, 69-73.

- (63) Moreira, J. C.; Wang, S. H. *Polímeros* **2004**, *14*, 171-175.
- (64) Pavithran, R.; Saleesh Kumar, N. S.; Biju, S.; Reddy, M. L. P.; Junior, S. A.; Freire, R. O. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2184-2192.
- (65) Niyama, E.; Brito, H. F.; Cremona, M.; Teotonio, E. E. S.; Reyes, R.; Brito, G. E. S.; Felinto, M. C. F. C. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2005**, *61*, 2643-2649.
- (66) Tanner, P. A. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 5090-5101.
- (67) Binnemans, K.; Van Herck, K.; Görrler-Walrand, C. *Chem. Phys. Lett.* **1997**, *266*, 297-302.
- (68) Yegorova, A.; Karasyov, A.; Duerkop, A.; Ukrainets, I.; Antonovich, V. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2005**, *61*, 109-116.
- (69) de Mello Donegá, C.; Junior, S. A.; de Sá, G. F. *J. Alloys Compd.* **1997**, *250*, 422-426.
- (70) Sá Ferreira, R. A.; Nobre, S. S.; Granadeiro, C. M.; Nogueira, H. I. S.; Carlos, L. D.; Malta, O. L. *J. Lumin.* **2006**, *121*, 561-567.
- (71) Mason, J. *Magn. Reson. Chem.* **1990**, *28*, 737-738.
- (72) López-Ruiz, N.; Hernández-Bélanger, D.; Carvajal, M. A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Palma, A. J.; Martínez-Olmos, A. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, *216*, 595-602.
- (73) Martínez Martínez, V.; López Arbeloa, F.; Bañuelos Prieto, J.; López Arbeloa, I. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*, 7443-7450.
- (74) Ma, Y.; Wang, H.; Liu, W.; Wang, Q.; Xu, J.; Tang, Y. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113*, 14139-14145.
- (75) Rodrigues, M. O.; Dutra, J. D. L.; Nunes, L. A. O.; de Sá, G. F.; de Azevedo, W. M.; Silva, P.; Paz, F. A. A.; Freire, R. O.; A. Júnior, S. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 19951-19957.
- (76) Kaiheriman, M.; Sidike, A.; Maimaitinasier, A.; Rehemani, A.; Rouzi, B. *J. Lumin.* **2015**, *157*, 411-415.
- (77) Kesavulu, C. R.; Almeida Silva, A. C.; Dousti, M. R.; Dantas, N. O.; de Camargo, A. S. S.; Catunda, T. *J. Lumin.*
- (78) Guo, Y.; Cui, Z.; Jia, G.; Zhao, S.; Wang, H.; Deng, D.; Huang, L.; Xu, S. *J. Lumin.* **2014**, *151*, 201-205.
- (79) Samanta, S.; Pal, A.; Basu Roy, M.; Ghosh, S. *J. Lumin.* **2008**, *128*, 1689-1700.
- (80) Latva, M.; Takalo, H.; Mikkala, V.-M.; Matachescu, C.; Rodríguez-Ubis, J. C.; Kankare, J. *J. Lumin.* **1997**, *75*, 149-169.