



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Roberto Medeiros Silveira

**SÍNTESE DE COMPLEXOS DE ÍONS LANTANÍDEOS COM SAIS DE
POTÁSSIO DOS ÁCIDOS CICLOBUTANO-1,1-DICARBOXÍLICO E
MALEÂMICOS SUBSTITUÍDOS VISANDO APLICAÇÕES
BIOLÓGICAS**

CAMPO GRANDE, MS

2018

Roberto Medeiros Silveira

**SÍNTESE DE COMPLEXOS DE ÍONS LANTANÍDEOS COM SAIS DE
POTÁSSIO DOS ÁCIDOS CICLOBUTANO-1,1-DICARBOXÍLICO E
MALEÂMICOS SUBSTITUÍDOS VISANDO APLICAÇÕES
BIOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Doutorado - da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito final para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines.

Coorientador: Prof. Dr. Roberto da Silva Gomes.

CAMPO GRANDE, MS

2018



Ata de Defesa de Tese
Programa de Pós-Graduação em Química
Doutorado

Aos trinta dias do mês de janeiro do ano de dois mil e dezoito, às treze horas e trinta minutos, no Anfiteatro do Instituto de Química - Unidade XI, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Marco Antonio Utrera Martines (UFMS), Adilson Beatriz (UFMS), Cicero Rafael Cena da Silva (UFMS), Onofre Salgado Siqueira (UFMS) e Teofilo Fernando Mazon Cardoso (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho do aluno: **ROBERTO MEDEIROS SILVEIRA**, CPF 73442500125, Área de concentração em Química, do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**Síntese de Complexos de Íons Lantanídeos com Ácido Ciclobutano-1,1-Dicarboxílico e com Ácidos Maleâmicos N-Substituídos Visando Aplicações Biológicas**" e orientação de Marco Antonio Utrera Martines. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra ao aluno que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu Parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR	ASSINATURA	AValiação
Dr. Marco Antonio Utrera Martines		APROVADO
Dr. Adilson Beatriz		APROVADO
Dr. Cicero Rafael Cena da Silva		APROVADO
Dr. Onofre Salgado Siqueira		APROVADO
Dr. Teofilo Fernando Mazon Cardoso		APROVADO

RESULTADO FINAL:

Aprovação Aprovação com revisão Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Alterar título: Síntese de complexos de íons lantanídeos com sais de pirrolidina do tipo ciclobutano-1,1-dicarboxílico e maleâmicos substituídos visando aplicações biológicas.
Revisar o texto segundo sugestões da banca examinadora

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Presidente da Banca Examinadora

Aluno

Dedico este trabalho à minha esposa, que me apoiou durante toda a jornada do trabalho de Doutorado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelas oportunidades de evolução.

À minha esposa Rita Machado Oliveira pelo amor, confiança e incentivo incessantes.

Aos meus pais Neide e Hitério pelo amor e apoio em tudo que fiz.

Ao Professor Doutor Marco Antonio Utrera Martines pela oportunidade para meu crescimento profissional, compreensão e orientação.

Ao Professor Doutor Roberto da Silva Gomes pelo acolhimento do trabalho e parceria no seu desenvolvimento.

Ao Professor Doutor Cláudio Teodoro de Carvalho e sua estudante Kátia Tenório pelas análises térmicas de TGA e DSC.

Ao Professor Doutor Lincoln Carlos Silva de Oliveira e Aline Souza Herrero pelas medidas de TGA em atmosfera de nitrogênio.

À Tairine Pimentel do LP-4 pelas medidas de RMN.

Ao Professor Rodrigo Juliano Oliveira, Lucas Roberto Pessatto e Edwin José Torres de Oliveira pelos ensaios de MTT e no microscópio de fluorescência.

À Tayla Fernanda Serantoni da Silveira pelas medidas de DRX.

Às instituições: UFMS, UFGD, IFMS, CEMES, CAPES, CNPq, FUNDECT-MS.

RESUMO

Visto à gravidade do câncer e a carência de tratamentos e diagnósticos eficazes, as pesquisas nesta área buscam melhorar as propriedades de fármacos que já são utilizados, além de métodos para avaliar *in loco* a interação do fármaco com biomoléculas, possível através da luminescência. Para tanto, necessita-se desenvolver fluoróforos com baixa toxicidade, tempos de vida longos, resistências à fotodegradação e à supressão. Uma alternativa é o emprego de nanomateriais hospedeiros, visando a proteção dos fluoróforos e biosistemas mutuamente. Portanto, o presente trabalho visou à exploração do potencial citotóxico dos ligantes contendo o grupo farmacóforo 1,4-dioxo-2-butenil como os ácidos maleâmicos *N*-substituídos, e do ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico (CBDCA) (ligante do fármaco Carboplatina), integrando as propriedades ópticas e citotóxicas de lantanídeos para o diagnóstico e tratamento de câncer, além das propriedades físico-químicas e estruturais das nanopartículas de sílica mesoporosa como matriz hospedeira dos complexos. Os ligantes tiveram suas estruturas químicas confirmadas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C . A formação dos complexos de Lantânio (La^{3+}), Európio (Eu^{3+}), Térbio (Tb^{3+}) e Disprósio (Dy^{3+}) com os sais de potássio dos ligantes foi confirmada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A estequiometria dos complexos foi investigada por análises químicas como titulação complexométrica e teste de cloreto, além das técnicas de análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial de varredura (DSC) e difração de raios-X (DRX) dos resíduos de calcinação dos complexos. Os complexos de Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} foram estudados por espectroscopia de fotoluminescência, que revelou a intensa emissão na região do visível dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes derivados do CDBCA e do ácido *N*-(*p*-nitrofenil)maleâmico (ampn). As nanopartículas de sílica mesoporosa ($n\text{SiO}_2$) foram caracterizadas por espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), análise de porosidade e área superficial (BET), apresentando tamanho uniforme de poros (3,1 nm), alta área superficial específica ($617 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), arranjo de poros altamente ordenado e com simetria hexagonal ($p6mm$), além de tamanho de partículas adequado para aplicações biológicas (50 a 100 nm). O complexo de Európio com o ligante derivado do ácido *N*-(*p*-clorofenil)maleâmico (ampc), o sal de

EuCl₃.6H₂O e o ligante ampc puro, foram testados em linhagem de células de câncer de mama murino (4T1) para avaliar a potencial atividade citotóxica pelo teste de viabilidade celular com MTT [Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio]. Por fim, os complexos luminescentes de Eu³⁺ com os ligantes derivados do CDBCA e do ampn impregnados ou não em nSiO₂ foram testados como biomarcadores em células de melanoma murino (B16-F10). Destacou-se a amostra de Eu³⁺ cbdca impregnada em nSiO₂, que apresentou luminescência em pontos de isolados, indicando a possível presença desses materiais no interior das células.

Palavras-chave: Complexos de lantanídeos. Atividade anticâncer. Ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico. Ácidos maleâmicos *N*-substituídos. Biomarcador.

ABSTRACT

In view of the severity of cancer and the lack of effective treatments and diagnoses, research in this area seeks to provide alternatives to overcome these problems, mainly by improving the properties of drugs already used, as well as the development of methods to monitor the distribution of drugs in tumor cells to assess *in situ* the interaction of the drug with biomolecules, possible through luminescence. In this context the task of photonics applied to bioassays is to produce fluorophores that have low toxicity, long lifetimes, resistances to photobleaching and suppression. In order to accomplish this, researchers have chosen to use of host nanomaterials, aiming the protection of fluorophores and biosystems mutually. Therefore, the present work aimed to combine the cytotoxic potential of the ligands containing the pharmacophore group 1,4-dioxo-2-butenyl such as *N*-substituted maleamic acids and cyclobutane-1,1-dicarboxylic acid (CBDCA) (ligand of Carboplatin), integrating the optical and cytotoxic properties of lanthanides for the diagnosis and treatment of cancer, as well as the physico-chemical and structural properties of mesoporous silica nanoparticles as the host matrix for the complexes. Ligands had their chemical structures confirmed by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) of ^1H and ^{13}C . The formation of the lanthanide complexes of Lanthanum (La^{3+}), Europium (Eu^{3+}), Terbium (Tb^{3+}) and Dysprosium (Dy^{3+}) with the potassium salts of the ligands was confirmed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The stoichiometry of the complexes was investigated by chemical analysis such as complexometric titration and chloride test, as well as techniques such as the thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD) of the residues of calcined complexes. The complexes of Eu^{3+} , Tb^{3+} and Dy^{3+} were studied by photoluminescence spectroscopy, which revealed the intense emission in the visible region for the Eu^{3+} complexes with the ligands derived from the CBDCA and *N*-(*p*-nitrophenyl) maleamic acid (ampn). The mesoporous silica nanoparticles (nSiO_2) were characterized by small-angle X-ray scattering (SAXS), transmission electron microscopy (TEM), porosity and surface area analysis (BET), showing uniform pore size (3.1 nm), highly ordered pore arrangement with hexagonal symmetry ($p6mm$), as well as the small particle size, suitable for biological applications (50 to 100 nm) and high specific surface area ($617 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). The Europium complex with the ligand derived from *N*-(*p*-chlorophenyl) maleamic acid

(ampc), the salt $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and the pure ampc ligand, were tested in murine breast cancer cell line (4T1) to evaluate the potential cytotoxic activity by the MTT cell viability test [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. Finally, the luminescent complexes of Eu^{3+} with the ligands derived from the CDBCA and the ampn impregnated or not in nSiO_2 were tested as biomarkers in murine melanoma cells (B16-F10). The sample of Eu^{3+} cbdca impregnated with nSiO_2 stands out, due to luminescence at isolated points, indicating the possible presence of these materials within the cells.

Keywords: Lanthanide complexes. Anticancer activity. Cyclobutane-1,1-dicarboxylic acid. *N*-substituted maleamic acids. Biomarkers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas químicas de algumas substâncias orgânicas com atividade anticâncer.	28
Figura 2 – Estruturas químicas dos principais complexos com atividade anticâncer..	29
Figura 3 – Fragmento estrutural 1,4-dioxo-2-butenil.....	30
Figura 4 - Estrutura dos complexos cisplatina e transplatina.....	31
Figura 5 - Ilustração dos mecanismos de ação do cisplatina por formação de adutos interfito (a), intrafito (b). Formação de ligação de coordenação com uma guanina do DNA (c).	31
Figura 6 – Estrutura química e luminescência do corante orgânico Rodamina-6G. .	34
Figura 7 – Relação entre o tamanho de partícula e comprimento de onda de emissão para os pontos quânticos.	35
Figura 8 – Complexos luminescentes de lantanídeos e seus perfis espectrais.	36
Figura 9 – Representação da reação de hidrólise do CBDCE.....	43
Figura 10 – Reação de síntese dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos substituídos.....	44
Figura 11 – Esquema de síntese dos complexos de maleamatos <i>N</i> -substituídos com lantanídeos.	49
Figura 12 – Espectros de FTIR do precursor CBDCE e o ligante CBDCA formado.	58
Figura 13 – Espectro de RMN de ¹ H do ligante CBDCA.....	59
Figura 14 – Espectro de RMN de ¹³ C do ligante CBDCA.	59
Figura 15 – Espectro de RMN de ¹ H do ligante ampc.	60
Figura 16 – Espectro de RMN de ¹³ C do ligante ampc.....	61
Figura 17 - Espectro de RMN de ¹ H do ligante ampb.....	62
Figura 18 - Espectro de RMN de ¹³ C do ligante ampb.....	63
Figura 19 - Espectro de RMN de ¹ H do ligante ampn.....	64
Figura 20 - Espectro de RMN de ¹³ C do ligante ampn.....	65
Figura 21 - Espectro de RMN de ¹ H do ligante amaap.....	66
Figura 22 - Espectro de RMN de ¹³ C do ligante amaap.....	67
Figura 23 – Curvas de TGA e DSC do complexo [La ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	69

Figura 24 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Eu ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	70
Figura 25 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Tb ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	70
Figura 26 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Dy ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₅] obtidas em atmosfera de nitrogênio gasoso e razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	71
Figura 27 – Difrátogramas de raios-X de pó dos resíduos de calcinação dos complexos de La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺ com CBDCA.....	73
Figura 28 – Curvas de TGA e DSC do complexo [La(mpc) ₃ (OH ₂) ₂] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	75
Figura 29 – Curvas de TGA e DSC do complexo [La(mpn) ₃ (OH ₂) ₂] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	76
Figura 30 – Curvas de TGA do complexo [Tb(mpn) ₃ (OH ₂) ₂] obtidas em atmosfera de nitrogênio gasoso e razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	76
Figura 31 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Dy(mpn) ₃ (OH ₂) ₂] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	77
Figura 32 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Eu(maap) ₃ (OH ₂) ₃] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	77
Figura 33 – Curvas de TGA e DSC do complexo [Tb(maap) ₃ (OH ₂) ₄] obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 20°C min ⁻¹	78
Figura 34 - Difrátogramas de raios-X de pó dos resíduos de calcinação dos complexos de La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺ com ácidos maleâmicos <i>N</i> -substituídos.....	80
Figura 35 – Espectros de FTIR do ligante CBDCA e seus complexos com La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺	82
Figura 36 – Modos de coordenação de um metal com uma carboxila.....	83
Figura 37 – Espectros de FTIR do ligante ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -clorofenil)maleâmico (ampc), seu sal de potássio (K ⁺ mpc ⁻) e seus complexos com os lantanídeos La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺	85
Figura 38 – Espectros de FTIR do ligante ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -bromofenil)maleâmico (ampb), seu sal de potássio (K ⁺ mpb ⁻) e seus complexos com os lantanídeos La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺	86
Figura 39 – Espectros de FTIR do ligante ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -nitrofenil)maleâmico (ampn), seu sal de potássio (K ⁺ mpn ⁻) e seus complexos com os lantanídeos La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺	88

Figura 40 – Espectros de FTIR do ligante ácido <i>N</i> -(4-aminoantipirinil)maleâmico (amaap), seu sal de potássio (K^+maap^-) e seus complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+}	90
Figura 41 – Espectros de UV-Vis dos sais de potássio dos ligantes.	91
Figura 42 – Espectros de excitação do complexo $[Eu_2(cbdca)_3(OH_2)_4]$	93
Figura 43 – Espectro de emissão do complexo $[Eu_2(cbdca)_3(OH_2)_4]$	94
Figura 44 – Decaimento da luminescência resolvido no tempo para o complexo $[Eu_2(cbdca)_3(OH_2)_4]$	95
Figura 45 – Espectro de excitação do complexo de $[Tb_2(cbdca)_3(OH_2)_5]$	96
Figura 46 – Espectro de emissão do complexo de $[Tb_2(cbdca)_3(OH_2)_5]$ com excitação em 233 nm.	97
Figura 47 – Decaimento da luminescência resolvido no tempo para o $[Tb_2(cbdca)_3(OH_2)_5]$	98
Figura 48 – Espectros de excitação dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes ampcc, ampbb, ampnn e amaap.	99
Figura 49 – Espectros de emissão dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes ampcc, ampbb, ampnn e amaap.	100
Figura 50 – Fotos dos complexos de Eu^{3+} com cbdca e com ampnn sob irradiados com luz negra UV ($\lambda_{m\acute{a}x.} = 365\text{ nm}$).	100
Figura 51 – Imagens das nanopartículas de sílica mesoporosa obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.	101
Figura 52 – Curva de SAXS das nanopartículas de sílica mesoporosa.	102
Figura 53 – Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 a 77 K das nanopartículas de sílica mesoporosa.	103
Figura 54 – Distribuição de diâmetro de poros (D_p) das nanopartículas de sílica mesoporosa.	104
Figura 55 - Parâmetros estruturais para os materiais com arranjo hexagonal de poros.	104
Figura 56 – Espectros de FTIR dos complexos de Eu^{3+} com ampnn e com cbdca impregnados em $nSiO_2$	105
Figura 57 – Esquema ilustrativo do ensaio de citotoxicidade por MTT.	107
Figura 58 – Gráficos de viabilidade celular em diferentes doses do $EuCl_3 \cdot 6H_2O$, ligante ampcc e o complexo $[Eu(mpc)_3(OH_2)_2]$ durante 24, 48 e 72 h de contato. ...	108

Figura 59 – Gráfico comparativo da viabilidade celular de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ligante ampc e o complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ com doses de 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ após 72 h de contato. .. 109

Figura 60 – Fotos de células de melanoma murino (B16-F10) com: a) complexo de $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$, b) complexo de $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$ impregnado em nSiO_2 , c) ausência de marcação luminescente. 111

Figura 61 – Fotos capturadas de células de melanoma murino (B16-F10) com: a) Complexo de Eu^{3+} com ampn, b) Complexo de Eu^{3+} com ampn impregnado em nSiO_2 , c) ausência de marcação luminescente. 112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista materiais e reagentes utilizados.....	41
Tabela 2 – Relação dos principais equipamentos utilizados e suas respectivas marcas e modelos.....	42
Tabela 3 - Rendimentos das sínteses dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos..	45
Tabela 4 - Rendimentos das sínteses dos complexos de lantanídeos com CBDCA.	47
Tabela 5 – Rendimentos das sínteses dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos <i>N</i> -substituídos.....	58
Tabela 6 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de 1H do ligante ampb.	62
Tabela 7 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante ampb.	63
Tabela 8 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de 1H do ligante ampn.	64
Tabela 9 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante ampn.	65
Tabela 10 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de 1H do ligante amaap.	66
Tabela 11 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante amaap.	67
Tabela 12 – Relação dos teores percentuais de íons lantanídeos por amostra de complexo, calculados a partir da titulação complexométrica com EDTA padronizado.	68
Tabela 13 – Resultados dos testes de cloreto para os complexos de lantanídeos...	69
Tabela 14 – Relação dos valores de variação de massa, temperatura e número de moléculas com os eventos observados na TGA dos complexos de lantanídeos com CBDCA.	72
Tabela 15 - Comparação de dados de DRX dos resíduos de calcinação dos complexos de La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com CBDCA obtidos experimentalmente com dados obtidos no banco cristalográfico e literatura.	74

Tabela 16 – Relação dos valores de variação de massa, temperatura e número de moléculas com os eventos observados na TGA dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos <i>N</i> -substituídos.	78
Tabela 17 - Massa dos resíduos de calcinação dos complexos com ampb e comparação com os valores teóricos.	79
Tabela 18 - Dados de DRX dos resíduos de calcinação dos complexos de La ³⁺ , Eu ³⁺ , Tb ³⁺ e Dy ³⁺ com ácidos maleâmicos <i>N</i> -substituídos.	81
Tabela 19 – Valores de ν_a C=O, ν_s C-O, $\Delta\nu$ para os complexos de lantanídeos com CBDCA.....	84
Tabela 20 - Dados de FTIR do ligante ampb, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.	87
Tabela 21 - Dados de FTIR do ligante ampn, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.	88
Tabela 22 - Dados de FTIR do ligante amaap, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.	90
Tabela 23 – Parâmetros estruturais das nanopartículas de sílica mesoporosa.	104
Tabela 24 – Cálculos do teor de complexos luminescentes de Eu ³⁺ impregnados em nSiO ₂ , obtidos indiretamente por titulação com EDTA do sobrenadante.	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

amaap	Ácido <i>N</i> -(4-aminoantipirinil)maleâmico
amot	Ácido <i>N</i> -(<i>o</i> -toluil)maleâmico
ampb	Ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -bromofenil)maleâmico
ampc	Ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -clorofenil)maleâmico
ampn	Ácido <i>N</i> -(<i>p</i> -nitrofenil)maleâmico
BET	Porosimetria e análise de área superficial pelo método de BET
CBDCA	Ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico
cbdca	Ciclobutano-1,1-dicarboxilato
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FTIR	Espectroscopia Vibracional de Absorção na Região do Infravermelho
maap	<i>N</i> -(4-aminoantipirinil)maleamato
mpb	<i>N</i> -(<i>p</i> -bromofenil)maleamato
mpc	<i>N</i> -(<i>p</i> -clorofenil)maleamato
mpn	<i>N</i> -(<i>p</i> -nitrofenil)maleamato
MTT	[Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio]
nSiO ₂	Nanopartículas de sílica mesoporosa
PL	Fotoluminescência
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SAXS	Espalhamento de raios-X a baixo ângulo
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
TGA	Análise Termogravimétrica
UV-Vis	Espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível

LISTA DE SÍMBOLOS

$n \rightarrow \pi^*$	Transição eletrônica do orbital não ligante para o orbital π antiligante
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão
λ_{ex}	Comprimento de onda de excitação
ν	Estiramento
ν_{ass}	Estiramento assimétrico
ν_s	Estiramento simétrico
τ	Tempo de vida médio do estado excitado
$\Delta\nu$	Diferença entre o estiramento assimétrico da carbonila ($\nu_{ass\ C=O}$) e o estiramento simétrico de C-O ($\nu_{s\ C-O}$)
$\delta_{(ppm)}$	Deslocamento Químico (RMN)
δ	Deformação angular
$^{2S+1}L_J$	Designação geral para termos espectroscópicos, onde $2S+1$ (S = número quântico de spin total) representa a multiplicidade, L é uma letra maiúscula (S, P, D, F, G, ...) que representa o momento angular orbital total e J é o acoplamento de Russel-Saunders que representa a interação spin-órbita ($L+S$). ex: 5D_0 representa o termo espectroscópico “quinteto D zero”.
Ln^{3+}	Denominação geral de um íon lantanídeo trivalente (3+)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1 O CÂNCER.....	25
2.1.1 Epidemiologia	25
2.1.2 Causas	26
2.1.3 Diagnósticos convencionais	26
2.1.4 Tratamentos	26
2.1.5 A Química no combate ao câncer	27
2.1.5.1 <i>Síntese de compostos orgânicos com atividade anticâncer</i>	29
2.1.5.2 <i>Complexos com atividade anticâncer</i>	30
2.1.5.2.1 <i>Lantanídeos para o tratamento do câncer</i>	31
2.2 LUMINESCÊNCIA PARA APLICAÇÕES BIOLÓGICAS.....	33
2.3 NANOMATERIAIS PARA APLICAÇÕES BIOLÓGICAS.....	36
2.4 DESAFIOS DA ÁREA	38
3 OBJETIVO GERAL	39
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
4 METODOLOGIA	41
4.1 MATERIAIS	41
4.2 EQUIPAMENTOS	42
4.3 PARTE EXPERIMENTAL	43
4.3.1 Síntese dos ligantes	43
4.3.1.1 <i>Síntese do ligante CBDCA</i>	43
4.3.1.2 <i>Síntese dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos N-substituídos</i>	44
4.3.2 Caracterização dos ligantes	46
4.3.3 Síntese dos complexos	46
4.3.3.1 <i>Síntese dos complexos de lantanídeos com CBDCA</i>	46
4.3.3.2 <i>Síntese dos complexos de lantanídeos com maleamatos N-substituídos</i>	47
4.3.4 Caracterização dos complexos	50
4.3.4.1 <i>Análises químicas</i>	50
4.3.4.2 <i>Análises térmicas</i>	50
4.3.4.3 <i>Difração de Raios-X de pó (DRX)</i>	51

4.3.4.4 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	52
4.3.4.5 Espectroscopia de Fotoluminescência (PL)	52
4.3.5 Síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa (nSiO₂).....	53
4.3.6 Caracterização de nSiO₂.....	53
4.3.7 Impregnação dos complexos luminescentes em nSiO₂	54
4.3.8 Metodologia dos ensaios biológicos.....	55
4.3.8.1 Linhagem celular e condições de cultivo.....	55
4.3.8.2 Avaliação da viabilidade celular pela técnica do MTT	55
4.3.8.3 Análise estatística	56
4.3.8.4 Captura de imagens dos complexos luminescentes puros ou impregnados em nSiO ₂ com células de melanoma murino (B16-F10)	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES.....	57
5.1.1 Caracterização do CBDCA.....	57
5.1.2 Caracterização dos ácidos maleâmicos N-substituídos.....	60
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS.....	67
5.2.1 Análises químicas dos complexos	68
5.2.2 Análise térmica dos complexos com CBDCA.....	69
5.2.3 Difratogramas de raios-X dos resíduos de calcinação dos complexos com CBDCA	73
5.2.4 Análise térmica dos complexos com ácidos maleâmicos N-substituídos	74
5.2.5 Difratogramas de raios-X dos resíduos de calcinação dos complexos com ácidos maleâmicos N-substituídos	79
5.2.6 FTIR dos complexos com CBDCA	81
5.2.7 FTIR dos complexos com ácidos maleâmicos N-substituídos	84
5.2.8 Espectroscopias de UV-Vis e de fotoluminescência.....	91
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA ..	101
5.4 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS	106
5.4.1 Citotoxicidade.....	106
5.4.2 Imagens dos complexos luminescentes puros ou impregnados em nSiO₂ em contato com células de melanoma murino (B16-F10)	110

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	113
REFERÊNCIAS	115

1 INTRODUÇÃO

Embora muitos definam a Química Inorgânica como a química de todos os elementos exceto carbono, ela é um ramo da Química que se mistura com outros campos do conhecimento sobre a matéria, dos quais faz uso de seus conceitos e fundamentos como a reatividade dos compostos orgânicos, os modelos físico-químicos e as técnicas instrumentais da química analítica. Compostos de coordenação, química de (nano) materiais multifuncionais, compostos organometálicos, catalisadores heterogêneos, estudos em bioinorgânica, geoquímica, dentre outros, compõem os tópicos mais clássicos dos quais há grande contribuição da Química Inorgânica (SHRIVER et al., 2008b).

Destaca-se em especial a química dos compostos de coordenação (ou dos complexos), que permitiu avançar no entendimento e aplicação de novas teorias de ligação química, para explicar as propriedades químicas e físicas de compostos inorgânicos como cor, magnetismo e condutividade elétrica. Trata-se de um conjunto de ideias que envolvem o estudo de compostos que possuem interação entre bases de Lewis (doadores de elétrons), chamados de ligantes (orgânicos ou inorgânicos), com um metal que age como ácido de Lewis (receptor de elétrons). Essa interação denominada ligação coordenada, provém do preenchimento de orbitais vazios do metal com os elétrons do ligante, e confere características distintas dos compostos iônicos ou orgânicos (HOUSECROFT, SHARPE, 2012a).

Os compostos de coordenação receberam a denominação de “complexos” devido à característica dos metais dos blocos *d* e *f* em formarem ligações que não seguem as regras usuais de acordo com sua valência (HOUSECROFT, SHARPE, 2012a). Como exemplo, pode-se citar a grande quantidade de complexos de metais de transição com número de coordenação (número de átomos doando par de elétrons para formar ligação) igual a 6, mesmo com valência 1+, 2+, e 3+. A explicação desse fenômeno é fundamentada de acordo com a Teoria de Werner, que postula que para formar complexos os metais tendem a satisfazer tanto sua valência primária (relacionada ao NOX) quanto a secundária (relacionada ao número de coordenação) (BASOLO, JOHNSON, 1964). Assim, os ligantes iônicos contribuem para a estabilização do estado de oxidação do metal, e os ligantes neutros, por sua vez, interagem com o metal doando elétrons aos orbitais disponíveis do metal, satisfazendo a valência secundária.

Existem numerosas aplicações dos complexos nas mais variadas áreas desde a indústria química, como os catalisadores de Ziegler-Natta para polimerização do etileno (BASOLO, JOHNSON, 1964); na medicina, para diagnóstico, terapia, e estudos da sua interação com biomoléculas (COMBY, BÜNZLI, 2007; SANTOS, 2013; YANG et al., 2015; CHOW et al., 2016; ABBASI et al., 2017); catálise assimétrica em síntese orgânica e reações redox (CAO et al., 2015); descontaminação ambiental por quelação (CHAUHAN, PANT, NIGAM, 2015); além de estarem presentes na própria natureza como na clorofila, enzimas, proteínas e vitaminas.

Outra contribuição significativa da Química Inorgânica é no desenvolvimento de novos materiais, já que a maioria dos compostos inorgânicos ocorre na Natureza no estado sólido - principal estado físico estudado na Química de Materiais (SHRIVER et al., 2008a). O entendimento e domínio da química dos compostos em estado sólido são fundamentais para o estudo de muitos materiais inorgânicos importantes, tais como ligas, os sais simples de metais, os pigmentos inorgânicos, as zeólitas e os supercondutores de alta temperatura (SHRIVER et al., 2008a).

O simples fato de proporcionar as mais diversas aplicações tecnológicas já faz da área de materiais extremamente atraente. Não bastasse isso, o surgimento de novas propriedades físicas dos sólidos em escala nanométrica (10^{-9} metros), desafia os pesquisadores a concentrar esforços nesse campo. Como exemplo, citam-se as propriedades ópticas de nanopartículas de semicondutores ou de metais, que passam a ter emissão luminosa em diferentes comprimentos de onda dependendo do tamanho da partícula, provenientes de efeitos de confinamento quântico de elétrons e lacunas eletrônicas. Isso implica numa série de possíveis aplicações como em tecnologia de informação, biologia, sensoriamento e energia (SHRIVER et al., 2008b).

Haja vista as novas propriedades originadas em nanoescala, seu usufruto permite a nanotecnologia ser aplicada em uma gama de possibilidades, dentre as quais, incluem tópicos mais citados na literatura como: nanomedicina (terapias, diagnósticos (RIEHMANN et al., 2009), biomateriais (ZHANG, 2003) e toxicologia) (OBERDÖRSTER, OBERDÖRSTER, OBERDÖRSTER, 2005), óptica e fotônica (OZBAY, 2006) (laseres, LEDs, telecomunicação), nanobiotecnologia (SARIKAYA et al., 2003) (sensoriamento), dispositivos eletrônicos e de gravação magnética (transistores (TANS, VERSCHUEREN, DEKKER, 1998), processadores, discos

rígidos, etc), catálise (BELL, 2003), energia (células solares (LAW et al., 2005), células a combustível (DILLON et al., 1997)), entre outros.

Nesse contexto, a combinação das potencialidades das linhas de pesquisa em compostos de coordenação e em química de nanomateriais é promissora no desenvolvimento de materiais com propriedades físicas e químicas de grande relevância para a Ciência, e é esse um dos pontos de fomento deste trabalho.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A presente seção descreve uma compilação de dados acerca dos estudos sobre o Câncer, além de evidenciar as contribuições da Química na produção de quimioterápicos para o tratamento e no desenvolvimento de materiais luminescentes para o diagnóstico.

2.1 O CÂNCER

Câncer é um termo genérico dado a um grupo vasto de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo se espalhar para outras regiões do corpo. Estas células tendem a ser agressivas, dividindo-se rapidamente e determinando a formação de tumores ou neoplasias malignas (INCA, 2008).

2.1.1 Epidemiologia

Os estudos epidemiológicos em nível mundial mais recentes revelam que em 2012, houve 14,1 milhões de novos casos de câncer no mundo, e causaram 8,2 milhões de mortes. Praticamente metade desses novos casos surgiu na Ásia, com 48%, Europa com 24% e América com 20% dos registros (TORRE et al., 2015). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2015), o câncer foi responsável por 8,8 milhões de mortes naquele ano, o que significa 1 em cada 6 mortes no mundo.

Os dados revelam ainda, que apesar da taxa de incidência ser alta em países desenvolvidos, novos casos estão surgindo principalmente nas regiões menos desenvolvidas. Nos Estados Unidos, houve uma estimativa que no ano de 2017 seriam registrados 1.688.780 novos casos e 600.920 mortes relacionadas ao câncer (SIEGEL, MILLER, JEMAL, 2017).

Globalmente, dos 14,1 milhões de novos casos, 57% ocorreram em regiões menos desenvolvidas. Os dados mais alarmantes referem-se à discrepância na taxa de mortalidade, que é expressivamente maior em regiões mais pobres, o que provavelmente está associado à dificuldade no acesso dos tratamentos de câncer que são de alto custo. Como tendência, estima-se que surgirão 21,4 milhões de novos pacientes com câncer até o ano de 2032 (TORRE et al., 2015).

2.1.2 Causas

A grande maioria dos casos de câncer são provenientes de exposição a carcinógenos. Um agente carcinogênico pode provocar danos ao DNA de uma célula normal e desencadear processos irreparáveis. Há uma ampla lista de possíveis carcinógenos como: ataques de vírus, parasitas, fungos e bactérias, exposição desprotegida à luz solar, luz UV e outras radiações ionizantes como raios-X, uso de tabaco, hormônios em níveis desregulados, consumo de álcool, poeira de madeira, consumo de carnes processadas, dietas pobres em fibras, obesidade, estilos de vida sedentários, além da não amamentação de bebês, podem contribuir para o desenvolvimento de câncer (BLACKADAR, 2016).

2.1.3 Diagnósticos convencionais

A maioria dos cânceres é inicialmente reconhecida por causa do aparecimento de sinais ou sintomas, ou ainda através de triagem. Muitos pacientes alheios à sua real patologia só despertam atenção clínica para o câncer quando estão sendo tratados por outras doenças não relacionadas. Assim, em muitos casos, o câncer é detectado incidentalmente, e já em estágios avançados. As pessoas com suspeita de câncer são investigadas com exames médicos que incluem exames de sangue, raios-X, tomografia computadorizada e endoscopia, mas o diagnóstico definitivo da maioria dos casos malignos deve ser confirmado através de exame histológico das células cancerosas por um patologista (EMOLE, 2012).

Quando um tumor maligno alcança cerca de 1 cm de diâmetro, torna-se detectável pelos métodos diagnósticos disponíveis e contém cerca de 10⁹ células. Acredita-se que é necessário um longo período de tempo para o tumor alcançar este tamanho, talvez alguns anos. Ele apresenta tempos diferentes de duplicação em momentos diferentes de sua história natural e, em alguns deles, bem antes desta detecção provavelmente já ocorreu a metastatização hematogênica (INCA, 2008).

2.1.4 Tratamentos

O tratamento dos tumores inclui cirurgias, radioterapia e quimioterapia, que é a administração de agentes antineoplásicos, com a finalidade de alterar o

funcionamento das células doentes, induzindo sua morte. Embora seja um tratamento eficaz para muitos tipos de câncer, a quimioterapia, assim como outros tratamentos de câncer, pode causar efeitos colaterais (MACHADO, 2000). Os tipos e a intensidade dos efeitos colaterais variam de pessoa para pessoa, conforme o tipo de medicamento utilizado, localização do câncer, a dose de tratamento e saúde da pessoa. Contornar os efeitos colaterais provocados pela quimioterapia mantendo a atividade citotóxica do agente quimioterápico constitui o principal desafio no tratamento do câncer.

Além disso, os principais problemas relacionados ao tratamento do câncer são o limitado arsenal terapêutico, a alta toxicidade dos tratamentos disponíveis e as dificuldades de diagnóstico, tornando a detecção de alguns tipos de câncer tardia ou imprecisa. Atualmente, a indústria farmacêutica investe uma considerável parte de seu orçamento no desenvolvimento de novos fármacos para o câncer. Diversos protótipos se mostram promissores, mas são barrados nos testes clínicos devido a características farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas (EMOLE, 2012).

2.1.5 A Química no combate ao câncer

A química desempenha um papel fundamental na medicina, pois permite aos pesquisadores criar fármacos, entender efeitos de ação biológica *versus* toxicidade, efeitos colaterais e mecanismos de ação no organismo. Na área do câncer, a principal ferramenta da química é desenvolver agentes para a quimioterapia. Esses agentes consistem em fármacos utilizados para destruir células neoplásicas, com a finalidade de evitar, inibir ou pelo menos controlar o crescimento indiscriminado de tecidos.

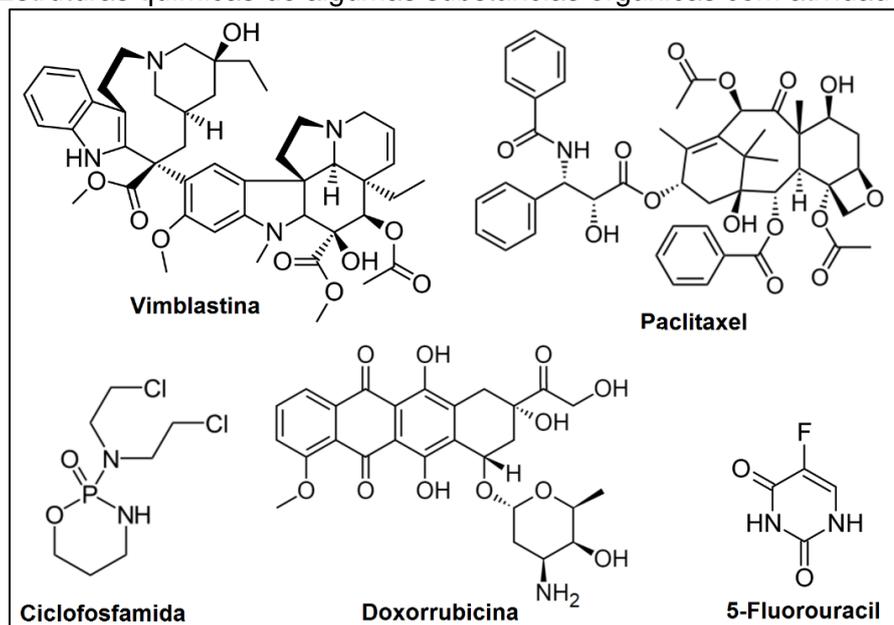
Em geral, as células cancerígenas crescem mais rápido do que as células normais, e é nessa principal característica que o agente antineoplásico ataca, pois elas são mais sensíveis a estes compostos do que as células normais. Por esse motivo, vários compostos com a atividade antitumoral apresentam efeitos colaterais indesejados, já que existem algumas células normais que crescem rapidamente, como por exemplo, os folículos capilares, o epitélio intestinal, além de células do sistema imunológico (AVENDAÑO, MENÉNDEZ, 2015).

Os medicamentos utilizados na quimioterapia podem ser classificados, por exemplo, pelo seu mecanismo de ação como antimetabólitos inibidores de ação

hormonal, fotossensibilizadores (produção de espécies radiculares), agentes alquilantes de DNA, intercaladores de DNA, inibidores de topoisomerase, inibidores mitóticos, dentre outros (AVENDAÑO, MENÉNDEZ, 2015).

Os compostos com atividade anticâncer podem ainda ser classificados como orgânicos e inorgânicos. Exemplos clássicos de algumas moléculas orgânicas utilizadas na quimioterapia são a vimblastina, doxorrubicina, paclitaxel, ciclofosfamida e 5-fluoracil (Figura 1).

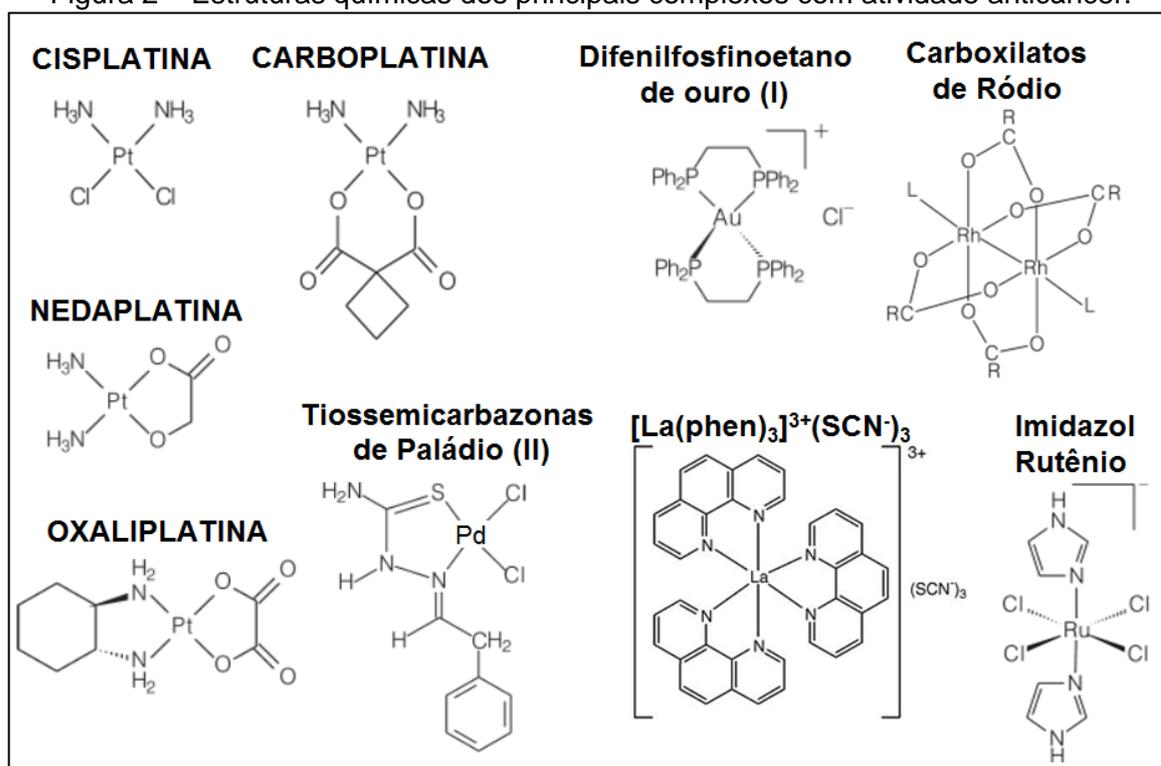
Figura 1 – Estruturas químicas de algumas substâncias orgânicas com atividade anticâncer.



Fonte: adaptado de (FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005).

Na classe dos compostos inorgânicos com relevante atividade antitumoral, citam-se os complexos de platina como cisplatina, carboplatina, oxaliplatina e nedaplatina; além de complexos de outros metais de transição como tiossemicarbazonas de paládio, imidazol com rutênio, carboxilatos de ródio, bis[1,2-bis(difenilfosfino)etano]ouro (I); e os complexos de lantanídeos como o isotiocianato (tris)fenantrolina de lantânio (III) (Figura 2).

Figura 2 – Estruturas químicas dos principais complexos com atividade anticâncer.



Fonte: baseado na referência (FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005).

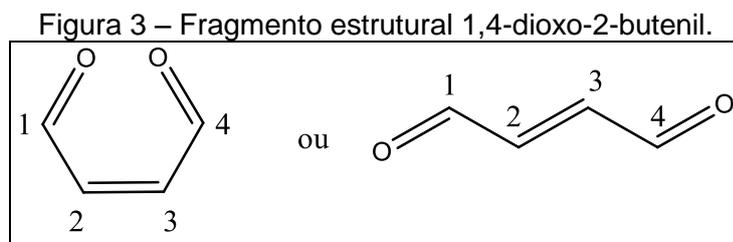
2.1.5.1 Síntese de compostos orgânicos com atividade anticâncer

A maioria dos compostos orgânicos ativos contra o câncer é de origem natural ou tem precursores advindos de produtos naturais, como por exemplo, a vimblastina e a vincristina, que são compostos citotóxicos obtidos a partir do fungo *Fusarium oxysporum* isolado da planta *Catharanthus roseus*, conhecida como vinca de Madagascar (KUMAR et al., 2013); a doxorrubicina, que é um potente agente quimioterápico isolado de bactérias *Streptomyces peucetius var. caesius* (NAKANO, SOE, CODD, 2015); além do taxol, isolado das cascas da árvore *Taxus brevifolia*, conhecida como Teixo do Pacífico (RAO, 1993). O fato dos processos de obtenção desses compostos bioativos contra o câncer ocorrerem em sua maioria pelo isolamento químico de plantas e organismos dificulta e encarece os métodos de tratamento. Além disso, suas estruturas químicas são por vezes extremamente complexas inviabilizando o controle sintético eficiente desses compostos.

Nesse cenário, os pesquisadores têm recorrido ao desenvolvimento de trabalhos focados em determinar relações entre estrutura-atividade biológica, partindo do estudo de pequenos fragmentos estruturais que tem potencial efeito nos

processos bioquímicos celulares e realizando diversas modificações moleculares racionais para avaliar a potencialização ou a atenuação da atividade biológica.

Seguindo esses mesmos objetivos, destaca-se o trabalho de Jha e colaboradores (2010), que identificou a citotoxicidade do fragmento 1,4-dioxo-2-butenil (Figura 3) ao preparar compostos contendo esse grupo como ácidos *N*-arilmaleâmicos e seus ésteres, ácidos *N*-arilfumarâmicos e seus ésteres, *N*-arilmaleimidias, *N*-aril isomaleimidias, dentre outros. O estudo revelou ainda que, fatores como a distância e o ângulo entre os átomos de carbono e oxigênio com relação ao anel aromático, o grupo substituinte no anel aromático, e a conformação desses compostos, interferem na resposta biológica de citotoxicidade às células com câncer.



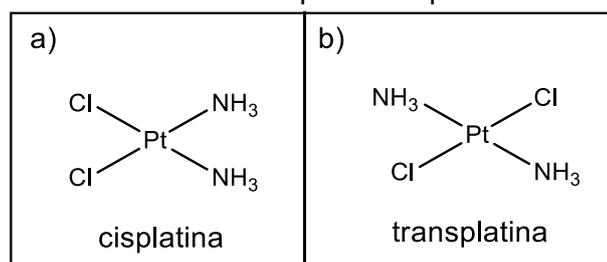
Fonte: Autoria própria.

2.1.5.2 Complexos com atividade anticâncer

Inicialmente, a comunidade científica se dedicava principalmente ao estudo de compostos orgânicos sintéticos e produtos naturais, na busca por substâncias ativas contra o câncer. Após a descoberta das propriedades antitumorais do complexo *cis*-diaminodicloroplatina (II) (cisplatina – Figura 4a), houve uma verdadeira revolução na Química de Coordenação, e várias pesquisas convergiram para o desenvolvimento de metalofármacos, principalmente de platina e ou metais de transição (FONTES, CÉSAR, BERLDO, 2005).

Na época do estudo pioneiro com o complexo cisplatina, relatou-se que a utilização desse complexo promovia a regressão total de tumor do tipo sarcoma em 36 dias, enquanto o seu isômero, *trans*-diaminodicloroplatina (II) (transplatina – Figura 4b) se mostrava inativo (+) (FONTES, CÉSAR, BERLDO, 2005).

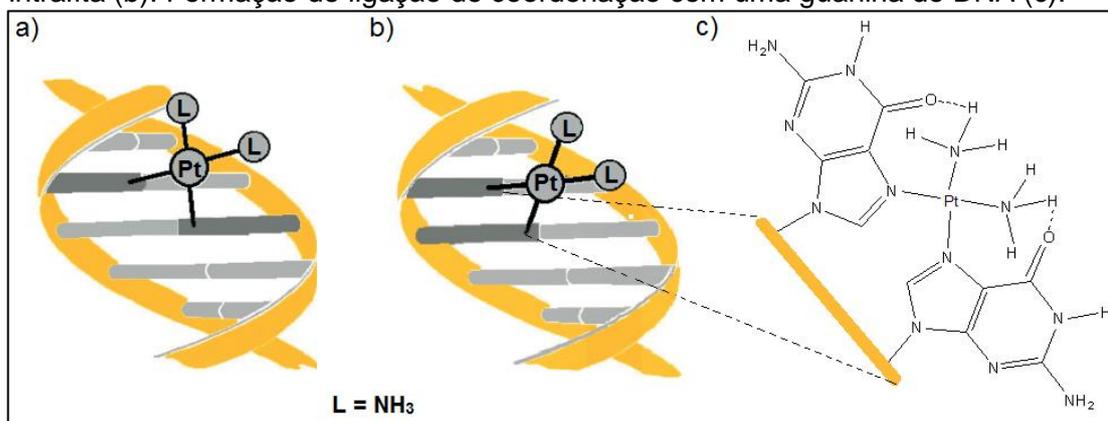
Figura 4 - Estrutura dos complexos cisplatina e transplatina.



Fonte: Autoria própria.

Mais tarde, outros trabalhos foram desenvolvidos para entender os possíveis mecanismos de ação do cisplatina. Concluiu-se que se formam ligações de coordenação da platina com um dos átomos de nitrogênio da guanina (Figura 5c) ou de adenina, que são bases nitrogenadas do DNA. Esses adutos mono e bifuncionais no DNA (uma ou duas ligações com o DNA) podem ser interfita ou infrafita, conforme apresentado na Figura 5a e 5b. Acredita-se que a formação desses adutos seja responsável pela sua atividade antitumoral, uma vez que interferem no funcionamento normal das células, provocando lesões no DNA difíceis de serem reparadas e levando à morte celular (FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005).

Figura 5 - Ilustração dos mecanismos de ação do cisplatina por formação de adutos interfita (a), intrafita (b). Formação de ligação de coordenação com uma guanina do DNA (c).



Fonte: adaptado de (FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005).

2.1.5.2.1 Lantanídeos para o tratamento do câncer

Os complexos de íons Lantanídeos tem atraído a atenção dos pesquisadores da área de química inorgânica medicinal por haver relatos na literatura de que alguns possuem atividade anticâncer, como o complexo $\{[La(phen)_3]^{3+}(SCN^-)_3\}$ que demonstrou ser capaz de controlar o crescimento tumoral de adenocarcinomas de

cólon enxertados em ratos, em doses comparáveis a do cisplatina (HEFFETER, 2006).

Vários complexos derivados de quinolinol di-halo substituídos com lantanídeos foram sintetizados e apresentaram resultados animadores. Descobriu-se que complexos de Sm^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} , Ho^{3+} , Gd^{3+} e Dy^{3+} com o ligante 5,7-dicloro-8-quinolinol interagem mais fortemente com o DNA do que o ligante, com a intercalação como o modo de ligação mais provável (CHEN et al., 2011; CHEN et al. 2013). Mais notavelmente, os complexos de Dy^{3+} e de Er^{3+} (com $\text{IC}_{50} = 18,3 \pm 1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e $\text{IC}_{50} = 31,5 \pm 1,2 \text{ nmol L}^{-1}$, respectivamente) demonstraram ser altamente citotóxicos em relação às células de carcinoma hepatocelular humano (BEL-7404), enquanto tanto a cisplatina ($\text{IC}_{50} = 132,8 \pm 1,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) quanto os sais correspondentes $\text{Dy}(\text{NO}_3)_3$ e $\text{Er}(\text{NO}_3)_3$ apresentaram pouca ou nenhuma citotoxicidade (CHEN et al., 2011). Para os complexos dos íons Sm^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} , Ho^{3+} , verificou-se que eles apresentaram uma citotoxicidade mais elevada quando comparados ao ligante sozinho e seus respectivos sais, sugerindo um efeito sinérgico sobre a coordenação do quinolinol com os íons Ln^{3+} (CHEN et al., 2013).

Outros trabalhos envolvendo complexos de lantanídeos com relevante atividade anticâncer foram desenvolvidos com o ligante oxoglaucina com os íons Y^{3+} e Dy^{3+} . O destaque foi para o complexo de Dy^{3+} que provoca danos no DNA de células de carcinoma hepatocelular (HepG2), resultando em interrupção e apoptose do ciclo celular na fase S. Os resultados demonstraram ainda, que este composto inibiu efetivamente o crescimento do tumor no modelo de xenoenxerto de rato (BEL-7402) e apresentou maior segurança *in vivo* do que o cisplatina (WEI et al., 2015).

Há outros trabalhos com lantanídeos relatando o sucesso desses complexos em aplicações no combate ao câncer. DONNELLY et al. (2004) concluíram que uma texapirina de Gadolínio (MGd) é um modulador eficaz da oxigenação tumoral. A MGd se mostrou efetiva para aumentar a oxigenação de tumores de mama (EMT6) sem aumentar a oxigenação de um tecido normal próximo, favorecendo potenciais aplicações em adjuvantes de radioterapia.

Hussein e colaboradores (2012) desenvolveram complexos trivalentes de Európio e Térbio com o ligante ácido 2-tioacético-benzotiazol, que apresentaram atividade contra tumores de mama e de fígado, comparáveis ao cisplatina. Além disso, os compostos apresentaram efeito anti-angiogênico, ou seja, inibem a vascularização de tumores.

Há mais do que três décadas de aplicações comerciais de complexos contendo gadolínio (ácido gadopentético (Magnevist®) e ácido gadotérico (Artirem®) como agentes de contraste de exames de ressonância magnética para aquisição de imagens de câncer (MAGERSTÄDT, 1986). No mesmo cenário, radioisótopos de lantanídeos como ^{177}Lu foram usados em imagens e terapia de câncer (LARSON, 2015).

Os lantanídeos ainda possuem outras propriedades que os tornam elementos versáteis para aplicações multifuncionais. Possuem número de oxidação tipicamente 3+, mas alguns podem adotar valências 2+ (Eu, Yb) e 4+ (Ce, Tb), com valores de potencial de redução entre -2,37 a -2,29 V. Isso é interessante pois podem ser preparados complexos com capacidade de clivagem oxidativa do DNA, o que pode levar à morte de uma célula com câncer. A clivagem oxidativa promovida por complexos frequentemente ocorre de acordo com o ciclo redox associado aos íons metálicos. Assim, o potencial redox dos metais são informações úteis para avaliar a habilidade de clivagem de DNA pelos complexos, sendo que se observa maior tendência de clivagem para compostos com potencial redox mais negativo (Jiang, 2007). Além disso, a estabilidade redox dos íons Ln^{3+} os torna altamente adequados para aplicações celulares na presença de agentes redutores biológicos como o ascorbato e os tióis, com a vantagem adicional de propriedades luminescentes favoráveis devidos às transições $4f \leftrightarrow 5d$, transferência de carga e $f \leftrightarrow f$ (BÜNZLI, 2015).

2.2 LUMINESCÊNCIA PARA APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

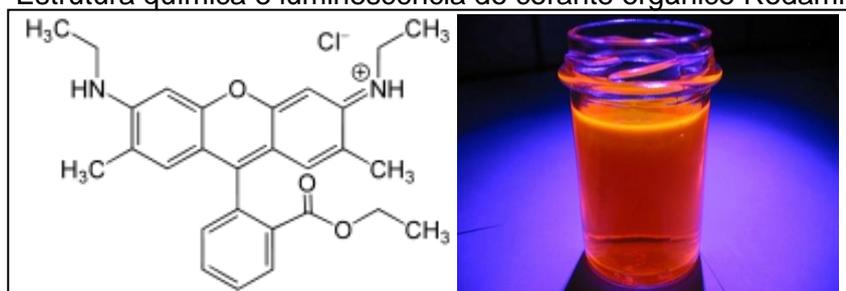
Para entender melhor a estrutura e a função dos sistemas biológicos, os pesquisadores das áreas de biologia celular e da bioquímica almejam métodos que minimamente perturbem os sistemas vivos. O desenvolvimento de sondas ópticas emissoras é essencial para melhorar a observação de processos de sinalização e reconhecimento intracelular, além de auxiliar no monitoramento dos processos de recombinação, replicação, danos e reparos no DNA, transcrição do RNA, controle do ciclo celular e alterações genômicas (MONTGOMERY et al., 2009). Dessa forma, a inserção eficiente de sondas na célula promove uma visualização mais efetiva desses processos, melhorando o diagnóstico de doenças genéticas, tais como o câncer (CHEN, GERION, 2004).

Para elucidar essas relações, a marcação luminescente é uma ferramenta poderosa na obtenção de imagens celulares. Essa técnica usa o fenômeno da luminescência de compostos com o objetivo de marcar alvos específicos para o estudo celular. Após a excitação da sonda, os fótons emitidos a partir da sonda podem ser observados por espectroscopia ou microscopia e codificam informações sobre seus ambientes em sua energia, vida e polarização. Tais sondas ópticas podem ser baseadas em fluoróforos orgânicos, pontos quânticos, proteínas recombinantes ou complexos metálicos emissivos (MONTGOMERY et al., 2009).

Em geral, compostos que possuem grande mobilidade de elétrons podem apresentar propriedades ópticas interessantes e podem ser usados como fluoróforos. Essa mobilidade pode ser fruto da presença de grupos cromóforos capazes de absorver luz, insaturações, transferência de carga para íons metálicos, confinamento quântico, entre outros fatores (WANG et al., 2006).

Os fluoróforos orgânicos, tais como corantes e proteínas fluorescentes (Figura 6), são amplamente utilizadas devido à sua facilidade de utilização e baixo custo. Por outro lado, elas têm uma série de desvantagens, como tempos de vida de emissão curtos, tipicamente da ordem de nanossegundos, fotobranqueamento por exposição prolongada à luz, sobreposição espectral por apresentarem bandas de emissão largas e uma baixa relação sinal-ruído, causada pela alta difusão molecular em meios biológicos.

Figura 6 – Estrutura química e luminescência do corante orgânico Rodamina-6G.



Fonte: <http://www.flickr.com/photos/sapient_homunculus/18798285/>. Acesso em: 30 dez. 2017

Os pontos quânticos inorgânicos, que são nanopartículas de semicondutores tais como sulfetos, selenetos e óxidos de metais pesados, cuja emissão pode ser facilmente ajustada para vários comprimentos de onda proveniente do efeito de confinamento quântico de elétrons obtido pelo simples controle de tamanho de partícula (Figura 7). Estes materiais têm uma série de vantagens sobre os

fluoróforos orgânicos convencionais, principalmente pela maior sensibilidade e estabilidade. No entanto, têm problemas para fins biológicos, tais como a toxicidade, custo elevado, emissão descontínua por cintilação óptica e, por vezes podem apresentar estados não emissores em meios biológicos, exigindo a utilização de concentrações mais elevadas para se obter o brilho e contraste desejados.

Figura 7 – Relação entre o tamanho de partícula e comprimento de onda de emissão para os pontos quânticos.

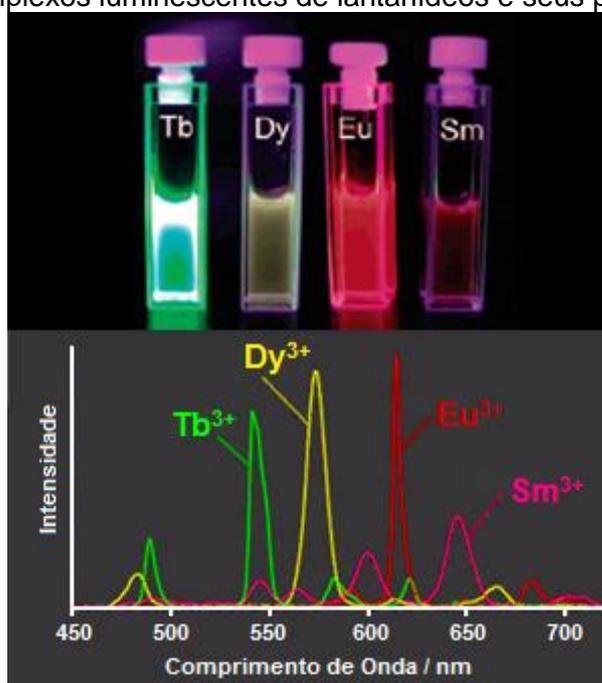


Fonte: Disponível em: <http://docplayer.ru/53237198-Razrabotka-immunohromatograficheskikh-test-sistem-dlya-ekspressnogo-detektirovaniya-antibiotikov.html>. Acesso em 30 dez. 2017.

A terceira classe de fluoróforos é composta por complexos metálicos, essencialmente os lantanídeos trivalentes como térbio (Tb^{3+}), disprósio (Dy^{3+}), európio (Eu^{3+}) e samário (Sm^{3+}), como apresentado na Figura 8. A luminescência desses íons provém de transições eletrônicas internas dos orbitais $4f$, que são blindados pelos orbitais $5s^2$ e $5p^6$. Devido a esse efeito de blindagem, estes compostos são muito conhecidos pelas suas bandas de emissão estreitas e longos tempos de vida, evitando a sobreposição espectral. Quando coordenados com moléculas orgânicas insaturadas, formam complexos com intensidades altas de luminescência principalmente pela transferência de energia do ligante para o íon metálico e proteção a supressores externos. Além do mais, apresentam maior fotoestabilidade, grandes deslocamentos de Stokes (diferença energética entre a

absorção e emissão), luminescência com tempos de vida longos comparados aos corantes. Entretanto, há algumas limitações em sua utilização direta, devido à supressão da luminescência por grupos O-H, como por exemplo, nas moléculas de água (BINNEMANS, 2009). Nesse contexto, os complexos de lantanídeos podem ser utilizados como sondas biológicas, observando o comportamento espectroscópico de bandas sensíveis à coordenação de biomoléculas das células no metal. Isso possibilita uma ferramenta extra no estudo dos possíveis mecanismos de ação de complexos antitumorais a base de lantanídeos.

Figura 8 – Complexos luminescentes de lantanídeos e seus perfis espectrais.



Fonte: Disponível em: <<http://www.fscanltd.com/2.html>>. Acesso em 30 Aug. 2017.

Sendo assim, o grande desafio da fotônica aplicada a bioensaios é produzir materiais que resolvam ou amenizem os problemas de toxicidade, tempos de vida curtos, fotodegradação e supressão, em um único dispositivo. A saída a que os pesquisadores têm recorrido é o emprego de nanomateriais hospedeiros, visando a proteção dos fluoróforos e biosistemas mutuamente.

2.3 NANOMATERIAIS PARA APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Na tentativa de encontrar tratamentos que possibilitem não só tratar as neoplasias como também diminuir os efeitos colaterais associados, o mercado

farmacêutico atual tem focado na busca de novos fármacos, mas também no aperfeiçoamento de fármacos utilizados convencionalmente para o tratamento de tumores. Uma alternativa para o aprimoramento dos tratamentos oferecidos atualmente é o uso de sistemas de liberação controlada por meio de nanodispositivos.

Os sistemas de liberação controlada de fármacos têm o objetivo de prolongar e melhorar o controle da administração das substâncias, possibilitando a redução da dose administrada e, conseqüentemente, a diminuição de seus efeitos colaterais. Várias técnicas vêm sendo desenvolvidas e aplicadas para se promover uma liberação controlada, a fim de regular a sua velocidade de liberação e manter seu nível terapêutico constante por um maior período de tempo (liberação de ordem zero). Assim, para administrar agentes terapêuticos a células tumorais *in vivo*, é necessário superar os seguintes problemas: (i) resistência a fármacos ao nível do tumor devido a barreiras fisiológicas (mecanismos não baseados em células), (ii) resistência a fármacos a nível celular (mecanismos celulares), e (iii) distribuição, biotransformação e remoção de fármacos anticâncer no corpo (BRIGGER, DUBERNET, COUVREUR, 2012).

O desenvolvimento de possíveis fármacos com atividade anticâncer, como complexos metálicos, administrados com o auxílio nanomateriais hospedeiros, pode gerar maior eficácia no tratamento e diminuição dos efeitos colaterais, através da liberação gradativa do fármaco (*drug delivery*). Para tanto, recorre-se à funcionalização desses nanomateriais com receptores específicos de células tumorais, agregando especificidade ao tratamento do câncer (MOGHIMI, HUNTER, MURRAY, 2001).

Nesse âmbito, as nanopartículas de sílica mesoporosa ($n\text{SiO}_2$) reúnem excelentes atributos para serem aplicadas como nanodispositivos carreadores de fármacos e fluoróforos: são biocompatíveis (HUDSON et al., 2008), possuem tamanhos de partícula e de poros ajustáveis, podem ser facilmente funcionalizadas, tem estabilidade em água, além de possuir alta área superficial (400 – 1200 m² por grama), tornando-as excepcionais adsorventes de uma grande quantidade das moléculas de interesse (HOFFMANN et al., 2006; WATERMANN, BRIEGER, 2017).

2.4 DESAFIOS DA ÁREA

Visto à gravidade do câncer e a carência de tratamentos e diagnósticos eficazes, as pesquisas nesta área buscam viabilizar alternativas para contornar estes problemas, principalmente pela melhora das propriedades de fármacos e de nanocarreadores, a fim de diminuir a toxicidade para células saudáveis e evitar efeitos colaterais indesejados. Outro foco é a possibilidade de monitorar, com auxílio da luminescência, a distribuição de fármacos em células com câncer e avaliar *in loco* a interação do fármaco por biomoléculas específicas, fornecendo informações a respeito dos possíveis mecanismos de ação.

Assim, o presente projeto visa à exploração do potencial dos ligantes contendo o grupo farmacóforo 1,4-dioxo-2-butenil como os ácidos maleâmicos *N*-substituídos, e do ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico (CBDCA) (ligante do fármaco Carboplatina), integrando as propriedades ópticas e citotóxicas de lantanídeos para o diagnóstico e tratamento de câncer, além das propriedades físico-químicas e estruturais das nanopartículas de sílica mesoporosa como matriz hospedeira dos complexos, visando proteger os fluoróforos e biosistemas reciprocamente.

3 OBJETIVO GERAL

A ideia central consiste em investigar complexos de lantanídeos visando compostos com atividade anticâncer e com propriedades luminescentes adequadas para monitoramento da distribuição do fármaco nas células tumorais.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar complexos dos lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com o ligante CBDCA.
- Sintetizar e caracterizar ligantes orgânicos derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos.
- Preparar complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com ácidos maleâmicos *N*-substituídos.
- Avaliar a fotoluminescência dos complexos sintetizados.
- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de sílica mesoporosa ($n\text{SiO}_2$).
- Impregnar os complexos luminescentes em ($n\text{SiO}_2$).
- Realizar testes biológicos de atividade citotóxica dos complexos preparados.
- Avaliar a aplicação dos complexos puros ou impregnados nas nanopartículas na aquisição de imagens de células.

4 METODOLOGIA

Esta seção foi dividida em materiais, equipamentos, parte experimental, técnicas de caracterização e metodologia de ensaios biológicos.

4.1 MATERIAIS

Os materiais e reagentes estão listados na Tabela 1. Todos reagentes foram usados diretamente como recebidos pelos fornecedores.

Tabela 1 – Lista materiais e reagentes utilizados.

Descrição	Pureza	Marca
4-amino antipirina	≥ 95%	Sigma®
4-bromoanilina	97%	Aldrich®
4-cloroanilina	99%	Carlo Erba®
4-nitroanilina	99%	Acros Organics®
acetato de etila	99,5%	Vetec®
acetato de sódio	99%	Dinâmica®
ácido acético glacial	99,5 – 100,5%	Vetec®
ácido clorídrico concentrado	37%	Vetec®
ácido nítrico concentrado	≥ 65%	Sigma-Aldrich®
anidrido maleico	99%	Aldrich®
antibiótico penicilina/estreptomicina – 10.000u/mL/10.000µg/mL (Lote 150.317TB)	-	LGC®
bicarbonato de sódio	99,7 – 100,3%	Synth®
brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólio (MTT)	-	Invitrogen®
carbonato de cálcio	99%	Synth®
ciclobutano-1,1-dicarboxilato de dietila (CBDCE)	≥ 98%	Sigma-Aldrich®
cloreto de amônio	99,5%	Dinâmica®
cloreto de európio (III) hexaidratado (EuCl ₃ .6H ₂ O)	99,9%	Sigma-Aldrich®
cloreto de lantânio (III) heptaidratado (LaCl ₃ .7H ₂ O)	99,9%	Sigma-Aldrich®
cloreto de térbio (III) hexaidratado (TbCl ₃ .6H ₂ O)	99,9%	Sigma-Aldrich®
dimetilssulfóxido (DMSO)	99,9%	Sigma-Aldrich®
etanol absoluto	99,8%	Dinâmica®
éter dietílico	98%	Dinâmica®
etilenodiaminotetraacetato de sódio di-hidratado (Na ₂ EDTA.2H ₂ O)	99 – 101%	Grupo Química®
hexano	98,5%	Dinâmica®
hidróxido de amônio	28 – 30%	Vetec®
hidróxido de potássio	85%	Synth®
iodo ressublimado	99,8%	Vetec®
meio de cultura DMEM (<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>)	-	Gibco®
Metanol	99,8%	Vetec®
metanol grau espectroscópico (UV HPLC)	99,9%	Sigma-Aldrich®
nitrato de disprósio (III) hidratado (Dy(NO ₃) ₃ .xH ₂ O)	99,9%	Sigma-Aldrich®

nitrato de prata	99,8%	Dinâmica®
o-toluidina	≥ 98%	Sigma-Aldrich®
Piridina	99%	Vetec®
placa de cultivo celular de 96 poços modelo k12-096	-	Kasvi®
placas de sílica gel sobre folhas de alumínio para cromatografia em camada delgada, com indicador de fluorescência de 254 nm	-	Aldrich®
preto de eriocromo-T	-	Vetec®
sal tetrassódico de alaranjado de xilenol	-	Merck®
soro bovino fetal (SBF)	-	Gibco®
sulfato de sódio anidro	99%	Vetec®

Fonte: Autoria própria.

4.2 EQUIPAMENTOS

Os principais equipamentos utilizados no trabalho estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 – Relação dos principais equipamentos utilizados e suas respectivas marcas e modelos.

Descrição	Marca	Modelo
Analizador de área superficial por medida volumétrica de adsorção de gás	BEL Japan	Belsorp-mini
Analizador térmico simultâneo	Netzsch	STA 449 F3 Jupiter
Analizador termogravimétrico	TA instruments	Q50
Difratômetro de raios-X de pó	Bruker	D2 Phaser
Dispositivo de espalhamento de raios-X a baixo ângulo	Inel	-
Escâner de placas de imagens de raios-X	Fujifilm	FLA-7000
Espectrofluorímetro	Horiba Jobin Yvon	Fluorolog-3
Espectrofotômetro de absorção molecular na região do UV-Vis	Varian	Cary 50
Espectrofotômetro para análise de placas ELISA	Robonik	Readwell Touch
Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier	Jasco	FT/IR-4100
Espectrômetro de ressonância magnética nuclear	Bruker	DPX300
Estufa para incubação	Thermo Scientific	3111
Microscópio eletrônico de transmissão	FEI Phillips	CM30
Minicentrífuga	IKA	Mini-G

Fonte: Autoria própria.

4.3 PARTE EXPERIMENTAL

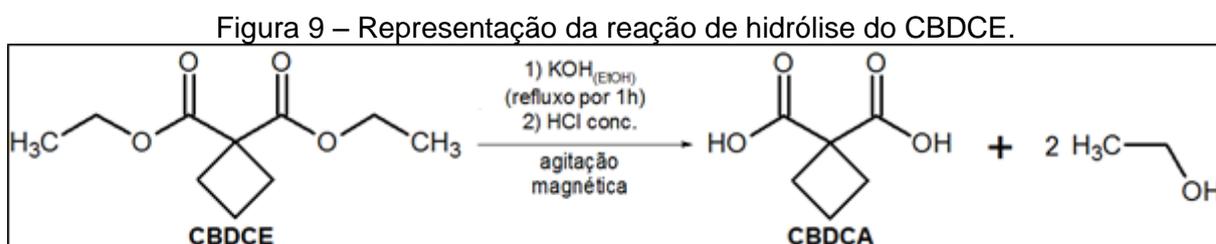
Esta seção relata os procedimentos experimentais de síntese e caracterização dos ligantes, dos complexos, das nanopartículas de sílica mesoporosa, além de descrever a metodologia dos ensaios biológicos.

4.3.1 Síntese dos ligantes

A presente seção relata a síntese dos ligantes derivados de CBDCA e dos ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

4.3.1.1 Síntese do ligante CBDCA

O ligante CBDCA foi preparado a partir da hidrólise alcalina do precursor ciclobutano-1,1-dicarboxilato de dietila com KOH em meio etanólico, seguida de acidificação do sal orgânico formado, de acordo com o procedimento descrito na literatura, com algumas adaptações (Figura 9) (NIMITZ, 1991).



Fonte: Autoria própria.

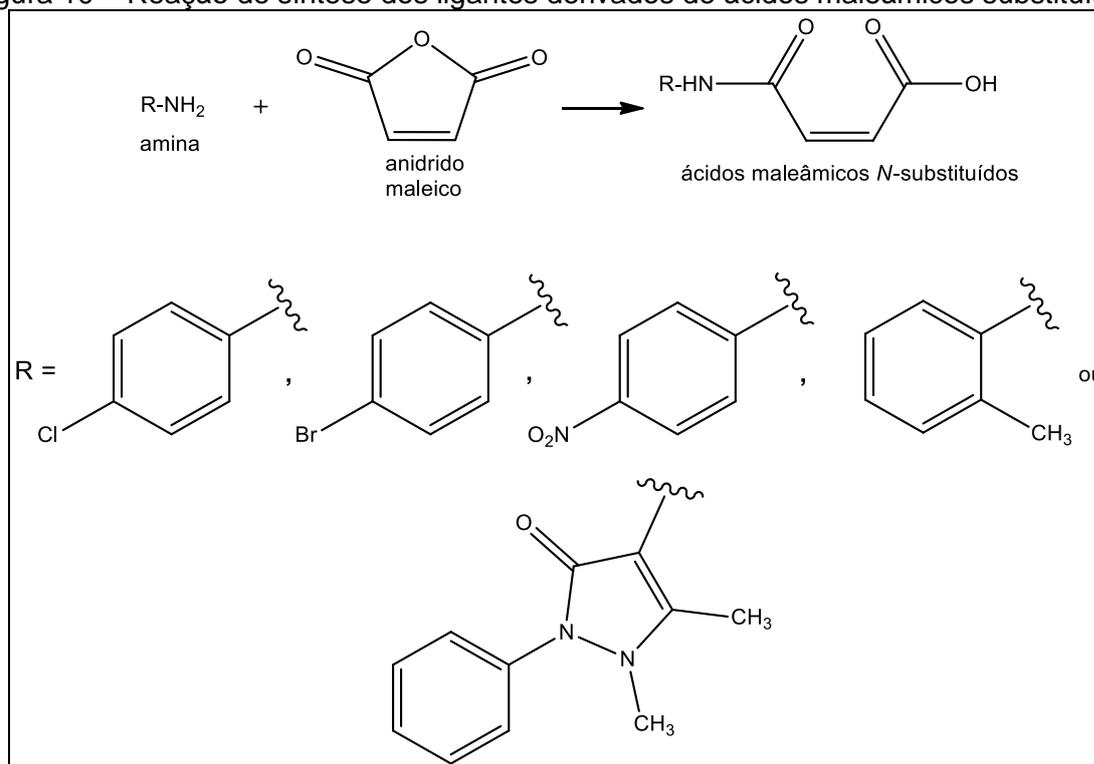
Inicialmente, preparou-se uma solução saturada de KOH em etanol absoluto, adicionando-se cerca de 5,0 g de KOH em 25 mL de solvente. Em seguida, a solução foi submetida à agitação em banho ultrassônico para auxílio da dissolução. À esta solução foram adicionados 5,72 mL de CBDCE ($3,0 \times 10^{-2}$ mol), e então a mistura foi submetida a refluxo por 1 h. O solvente foi removido por destilação simples, formando uma pasta de cor amarelada. Adicionou-se 12 mL de água ultrapura para dissolver a pasta, e depois o balão foi colocado num banho de gelo até a solução atingir a temperatura inferior a 15 °C. Posteriormente, realizou-se a acidificação da solução anterior com HCl concentrado (cerca de 8,4 mL). O produto foi extraído em funil de separação com 25 mL de éter dietílico por três vezes. Os

extratos da fase etérea foram reunidos e secos com sulfato de sódio anidro. Filtrou-se a mistura para remover o sal secante, e o filtrado foi evaporado até à secura num evaporador rotativo sob vácuo. Por fim, a purificação do produto foi realizada por recristalização com um mínimo de acetato de etila, fornecendo cristais esbranquiçados de ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico (CBDCA) puro. O rendimento do procedimento foi de 24%.

4.3.1.2 Síntese dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos

Os ligantes derivados de ácidos maleâmicos substituídos foram sintetizados pela reação entre diversas aminas primárias e o anidrido maleico, de acordo com a reação mostrada na Figura 10. As aminas utilizadas foram *para*-cloro anilina, *para*-bromo anilina, *para*-nitroanilina, *orto*-toluidina e 4-aminoantipirina.

Figura 10 – Reação de síntese dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos substituídos.



Fonte: Autoria própria.

O protocolo realizado foi baseado na referência (JHA et al., 2010) com algumas modificações. Inicia-se pela dissolução de 1,981 g (20 mmol) de anidrido maleico em 50 mL de éter dietílico. Em seguida, sob agitação magnética, adiciona-se gota a gota 20 mmol da amina correspondente dissolvida em 20 mL de éter

dietílico, e mantém-se a mistura em agitação constante por 1 hora à temperatura ambiente. Por fim, o precipitado é filtrado, lavado com éter dietílico, metanol gelado e posteriormente seco em estufa a 70 °C por 2 horas.

Os compostos foram submetidos à análise por cromatografia em camada delgada (CCD) para avaliar qualitativamente a pureza dos produtos formados. A eluição foi realizada em placa de sílica gel sobre alumínio (5x4 cm), com a fase móvel composta de hexano, acetato de etila e ácido acético em razão volumétrica de 6:4:1, e a revelação foi feita com vapores de iodo em câmara fechada. As amostras sintetizadas com anilinas *para*-substituídas apresentaram uma única mancha, sugerindo pureza. Para os demais ligantes a CCD mostrou a presença de duas manchas e, portanto, necessitaram de outras etapas de purificação, conforme descrito a seguir.

O produto da reação com a *orto*-toluidina foi submetido à extração ácido-base para separá-lo dos materiais de partida. Para tanto, a mistura foi adicionada a uma solução aquosa saturada de NaHCO₃, promovendo uma dissolução fracionada em que parte do precipitado foi dissolvida (ácido *N*-(*o*-toluil)maleâmico) e outra parte de cor escura permaneceu insolúvel (*orto*-toluidina). Esta porção insolúvel foi removida por filtração, e o filtrado foi submetido à acidificação com HCl concentrado, em banho de gelo, fornecendo um precipitado amarelo palha. Esse precipitado foi lavado com água gelada para remover o excesso de HCl, e seco a 70°C por 3 horas. Posterior análise por CCD indicou êxito na separação.

No caso do ligante preparado com 4-aminoantipirina, após as lavagens mencionadas no procedimento geral o precipitado foi recristalizado em metanol a quente, e novamente lavado com metanol gelado. Este procedimento possibilitou a purificação eficiente do ligante, que foi ratificada por CCD.

Os rendimentos de cada síntese estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimentos das sínteses dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos.

Composto	SIGLA	Rendimentos (%)
Ácido <i>N</i>-(<i>p</i>-clorofenil)maleâmico	ampc	82
Ácido <i>N</i>-(<i>p</i>-bromofenil)maleâmico	ampb	66
Ácido <i>N</i>-(<i>p</i>-nitrofenil)maleâmico	ampn	70
Ácido <i>N</i>-(<i>o</i>-toluil)maleâmico	amot	14
Ácido <i>N</i>-(4-aminoantipirinil)maleâmico	amaap	64

Fonte: Autoria própria.

4.3.2 Caracterização dos ligantes

Os produtos das reações de síntese dos ligantes foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C num espectrômetro de 7,05 Tesla, 300,13 MHz (frequência do hidrogênio). As amostras foram preparadas pela dissolução de cerca de 30 mg para 1 mL de solvente deuterado: o CBDCA foi dissolvido em metanol (CD_3OD) e os ácidos maleâmicos *N*-substituídos (ampc, ampb, ampn, amaap) foram dissolvidos em dimetilssulfóxido (DMSO-D_6). A integração dos sinais dos espectros de RMN de ^1H foi realizada com o software SpinWorks 3, a partir do processamento dos arquivos FID obtidos nas medidas.

Os ligantes foram analisados por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) para avaliar o perfil óptico de absorbância nessa região espectral. As amostras foram preparadas pela dissolução de cerca de 1 mg em 3 mL de metanol com grau espectroscópico (UV HPLC).

4.3.3 Síntese dos complexos

A presente seção descreve a síntese dos complexos dos lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com os sais de potássio do CBDCA e dos ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

4.3.3.1 Síntese dos complexos de lantanídeos com CBDCA

Os complexos dos íons lantanídeos trivalentes ($\text{Ln}^{3+} = \text{La}^{3+}, \text{Eu}^{3+}, \text{Tb}^{3+}, \text{Dy}^{3+}$) com o sal de potássio do ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico (CBDCA) foram preparados pela desprotonação do ligante seguida de adição de solução do sal de cada lantanídeo.

Primeiramente, cerca de 0,0865 g ($6,0 \times 10^{-4}$ mol) do ligante CBDCA foram dissolvidos em 4 mL de metanol. Em seguida, adicionou-se aproximadamente 5 mL de solução metanólica de KOH $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ até atingir $\text{pH} = 7,0$, sob agitação constante. À esta mistura foram adicionados, gota a gota, 4 mL de solução aquosa do sal de cada lantanídeo ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Dy}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, totalizando $4,0 \times 10^{-4}$ mol de lantanídeo por complexo. Nesta etapa ocorre

a formação de precipitado branco. Adiciona-se mais 2 mL de metanol para lavar a parede do frasco, e então a mistura final é mantida em agitação magnética constante por 2 horas à temperatura ambiente. O precipitado é separado por filtração à vácuo, lavado com água ultrapura seguida de metanol, e por fim, seco em estufa a 50 °C por 1 h. O rendimento da síntese de cada complexo está listado na Tabela 4.

Tabela 4 - Rendimentos das sínteses dos complexos de lantanídeos com CBDCA.

Complexo*	Rendimento (%)
La ³⁺	60
Eu ³⁺	69
Tb ³⁺	68
Dy ³⁺	66

Nota: * A coluna dos complexos foi preenchida somente com os íons para fins de identificação. Fonte: Autoria própria.

4.3.3.2 Síntese dos complexos de lantanídeos com maleamatos N-substituídos

A síntese dos complexos foi realizada pela desprotonação dos ligantes com base para produção de maleamatos, seguida de adição da solução de lantanídeo com razão molar 1:3 (mol Ln³⁺:mol ligante). Não foram preparados os complexos com o ligante amot, pois a síntese deste teve um baixo rendimento.

Os complexos dos ligantes ampc e ampb foram igualmente preparados. Inicialmente, 9x10⁻⁴ mol do ligante (0,203 g de ampc ou 0,243 g de ampb) foram dissolvidos em 10 mL de metanol com auxílio de aquecimento. Em seguida, adicionou-se cerca de 3 mL (~9x10⁻⁴ mol) de solução metanólica de KOH a 0,3 mol L⁻¹ até a atingir pH = 7,0. Depois foram adicionados 3 mL (3x10⁻⁴ mol) de solução aquosa de cada lantanídeo (LaCl₃.7H₂O, EuCl₃.6H₂O, TbCl₃.6H₂O e Dy(NO₃)₃.xH₂O) a 0,1 mol L⁻¹, e as misturas foram mantidas sob agitação magnética constante a temperatura ambiente por 12 h. Verifica-se a formação de precipitados amarelos-palha, exceto para o complexo de La³⁺ que permanece dissolvido. Os sólidos foram separados por filtração, lavados com água ultrapura e metanol, e secos em estufa a 60°C por 12 h.

A precipitação do complexo de La³⁺ foi realizada pela adição de 10 mL de acetona à mistura, seguida de aquecimento para evaporação do excesso de solvente. Após concentrado o meio para um volume total de 5 mL, ocorreu a formação de um sólido gelatinoso que ficou aderido ao recipiente da mistura. Ao

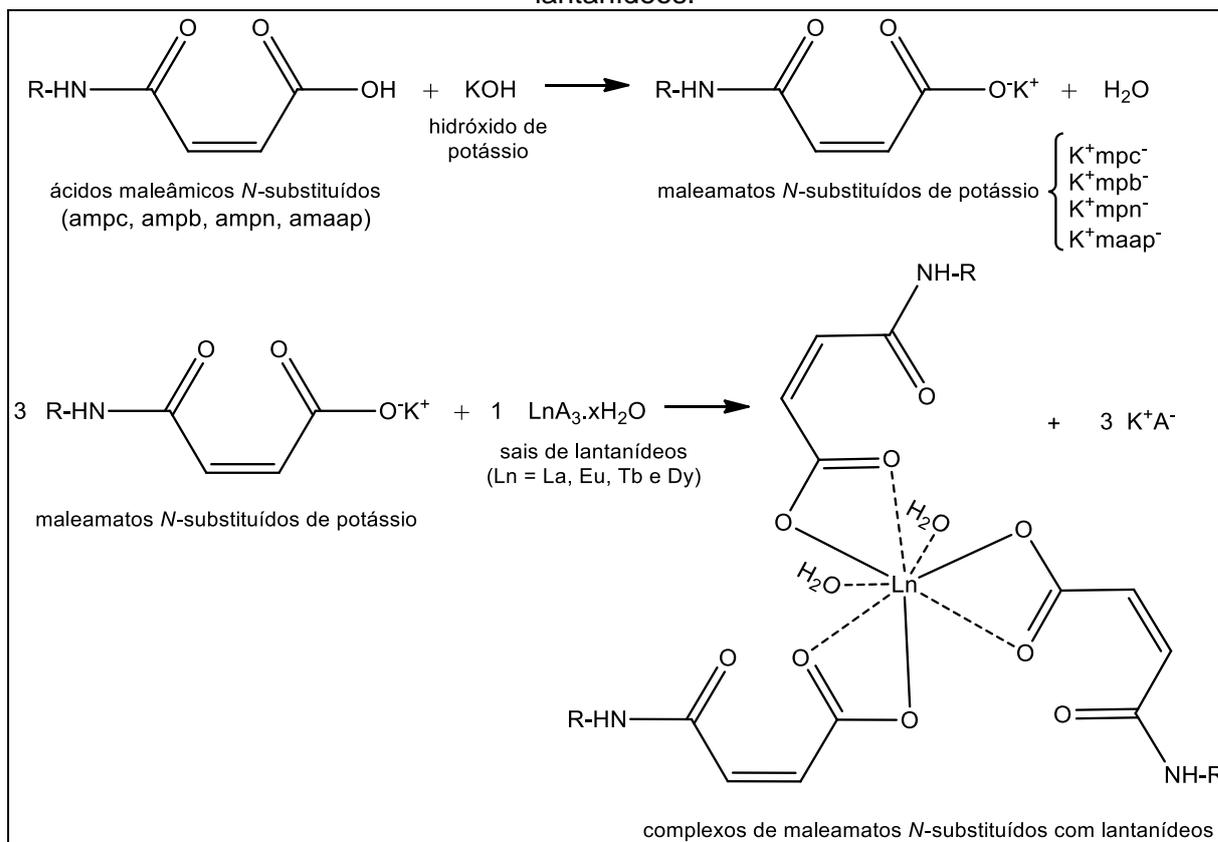
adicionar água, formou-se então um precipitado esbranquiçado, que foi filtrado, lavado com água e seco em estufa a 60°C por 12 h.

Para os complexos com o ligante amp_n, o preparo foi ligeiramente diferente devido à baixa solubilidade do ligante em metanol. Antes da adição da solução de lantanídeo, misturou-se o ligante suspenso em metanol com a base de KOH, e aqueceu-se a mistura a aproximadamente 70°C para auxiliar na dissolução. Em seguida, sob agitação magnética constante, adiciona-se gota a gota a solução de lantanídeo à mistura ainda quente. Cessa-se o aquecimento, e a mistura foi então mantida em agitação constante a temperatura ambiente por 12 h. Neste caso, todos os lantanídeos formaram precipitados, que foram filtrados, lavados com água, secos em estufa a 60°C por 12 h.

Os complexos sintetizados com o ligante amaap seguiram o procedimento similar ao dos ligantes amp_c e amp_b, com algumas alterações. O ligante amaap é pouco solúvel em metanol, portanto, foram adicionados 5 mL de água ultrapura à mistura de reação, e após adição de solução de KOH ocorreu a dissolução completa. Não ocorreu precipitação dos complexos, então o meio foi concentrado por evaporação dos solventes em chapa de aquecimento até próximo à secura, e a secagem foi concluída em estufa a 70°C. Por fim, os complexos foram lavados com metanol e novamente secos em estufa.

A Figura 11 mostra o esquema das reações de síntese dos complexos de lantanídeos com ligantes derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

Figura 11 – Esquema de síntese dos complexos de maleamatos *N*-substituídos com lantanídeos.



Fonte: Autoria própria.

Os rendimentos das sínteses dos complexos estão listados na Tabela 5.

Tabela 5 – Rendimentos das sínteses dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

Ligante	Complexos*	Rendimentos (%)
ampc	La ³⁺	39
	Eu ³⁺	80
	Tb ³⁺	77
	Dy ³⁺	66
ampb	La ³⁺	14
	Eu ³⁺	78
	Tb ³⁺	75
	Dy ³⁺	72
ampn	La ³⁺	48
	Eu ³⁺	82
	Tb ³⁺	76
	Dy ³⁺	75
amaap	La ³⁺	54
	Eu ³⁺	88
	Tb ³⁺	83
	Dy ³⁺	85

Nota: * A coluna dos complexos foi preenchida somente com os íons para fins de identificação. Fonte: Autoria própria.

4.3.4 Caracterização dos complexos

Esta seção relata a metodologia empregada na caracterização da estequiometria dos complexos por análises químicas, termogravimétricas e difração de raios-X do pó dos resíduos de calcinação dos complexos, além de técnicas como espectroscopias no infravermelho e de fotoluminescência.

4.3.4.1 Análises químicas

A determinação do teor de lantanídeos nos complexos foi realizada por titulação complexométrica com EDTA. A solução titulante de EDTA foi previamente padronizada com solução de CaCO_3 a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ como padrão primário, utilizando indicador preto de eriocromo-T e tampão de amônio ($\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$) com $\text{pH} = 10,0$. O CaCO_3 foi previamente seco em estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 h, dissolvido em um mínimo de solução aquosa de HCl (1+1 (V/V)), e a solução foi evaporada para eliminar o excesso de ácido. Adicionou-se vermelho de metila, e em seguida, o pH foi corrigido com solução diluída de NH_4OH até pH próximo a 5,0.

Para a titulação dos lantanídeos, dissolveu-se cerca de 10 mg de amostra de cada complexo em um mínimo de ácido nítrico concentrado (3 a 5 gotas) e 2 mL de água ultrapura. Essas soluções contendo as amostras foram cuidadosamente evaporadas sucessivas vezes até próximo à *secura* para eliminar o excesso de ácido. Por fim, foi adicionado 2 mL de água, 2 mL de solução tampão acetato ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-\text{Na}^+$) em $\text{pH} 6,0$, 5 gotas de piridina, e 10 gotas de solução de alaranjado de xilenol 0,1 % (m/V) como indicador. Os procedimentos de titulação foram realizados em triplicata, utilizando agitação magnética com aquecimento brando ($\sim 35^\circ\text{C}$), e uma microbureta digital (LYLE, RAHMAN, 1963).

4.3.4.2 Análises térmicas

A razão metal / ligante foi estimada por análise termogravimétrica (TGA) simultânea à calorimetria diferencial de varredura (DSC) e os dados experimentais foram tratados através do software Origin Pro 8.1. Para tanto, foram utilizados cadinhos de alumina com massas de amostra próximas de 8,0 mg no fluxo de gás de purga (ar sintético) de 50 mL min^{-1} e taxa de aquecimento otimizada para 20°C

min⁻¹. As amostras que apresentaram anomalias nas curvas de TGA como os complexos de La³⁺ e Dy³⁺ com amaap, e Dy³⁺ com cbdca foram refeitas em outro equipamento de análise termogravimétrica, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até 900 °C em atmosfera de N₂ (g), com fluxo de 80 mL min⁻¹, utilizando cadinho de platina como suporte.

Para as amostras de complexos de La³⁺, Eu³⁺, Tb³⁺ e Dy³⁺ com o ligante ampb, não foi realizada medida de TGA e, portanto, efetuou-se somente a análise gravimétrica quantitativa clássica para determinação da razão metal / ligante. Para tanto, os cadinhos foram previamente preparados empregando-se limpeza com água régia (HCl / HNO₃ 1+1), seguida de água ultrapura e calcinação a 600 °C por 2 horas. Espera-se esfriar em dessecador, e então se afere a massa do cadinho vazio. A amostra é então adicionada ao cadinho e submetida à calcinação a 1000 °C em forno mufla comum. Novamente, espera-se esfriar o cadinho contendo a amostra em um dessecador e a massa do resíduo de calcinação é obtida pela diferença entre a massa do cadinho contendo a amostra e o cadinho vazio.

4.3.4.3 Difração de Raios-X de pó (DRX)

Para ratificar a presença somente de óxidos de lantanídeos nos resíduos de TGA, realizou-se calcinação de aproximadamente 100 mg de cada complexo da temperatura ambiente até 1000 °C em forno mufla comum, similarmente ao efetuado pelo analisador térmico (mesma faixa de temperaturas, razão de aquecimento e atmosfera de ar). Os resíduos de calcinação foram submetidos à Difração de Raios-X de pó (DRX) e os difratogramas foram comparados com o banco de dados do equipamento e com a literatura. Para o preparo das amostras, o pó dos resíduos foi colocado em um suporte de vidro com cavidades concêntricas, e a superfície da amostra foi alinhada com auxílio de uma lâmina de vidro. Utilizou-se fonte monocromática de raios-X de Cu com comprimento de onda de 1,54184 Å, operando a 30 kV e 10 mA. A varredura foi realizada numa escala de 2θ entre 8 e 60°, com passo de 0,05°, 5 segundos de intervalo entre passos e a rotação a 15 RPM.

4.3.4.4 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A formação dos complexos foi avaliada por FTIR em um espectrômetro operando no modo de transmissão, faixa espectral de 4000-400 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , e número de varreduras igual a 30. As pastilhas foram feitas com cerca de 1% (m/m) de amostras diluídas em KBr e os pós foram comprimidos em uma prensa por 10 t.cm^{-2} de pressão durante 1 a 2 minutos.

4.3.4.5 Espectroscopia de Fotoluminescência (PL)

As medidas de PL foram realizadas sob as mesmas condições instrumentais para todas as amostras, detalhadas na Tabela 4. Para tanto, utilizou-se um espectrofluorímetro equipado com uma lâmpada de xenônio contínua de 450 Watts como fonte de excitação. Os sinais foram normalizados pela intensidade da lâmpada de excitação, e as emissões foram corrigidas no programa de aquisição de dados. Todos os experimentos foram conduzidos à temperatura ambiente.

Tabela 4 – Condições experimentais para aquisição dos espectros de fotoluminescência para os complexos de Európio e Térbio.

Parâmetro	Experimentos			
	Complexos de Eu^{3+}		Complexos de Tb^{3+}	
	Excitação	Emissão	Excitação	Emissão
Comprimento de onda de excitação (nm)	-	400	-	284
Comprimento de onda de emissão (nm)	612	-	550 e 564	-
Largura de banda de excitação (nm)	1	3	1	3
Largura de banda de emissão (nm)	1	1	1	3
Incremento (nm)	1	1	0,5 e 1	1
Intervalo espectral (nm)	200 – 300	430 – 750	200 – 240	300 – 750
	330 – 600		280 – 540	
Tempo de Integração (s)	0,1	0,1	0,1	0,1
Sinal Coletado	S1c/R1	S1/R1	S1c/R1	S1/R1

Legenda: S1 = Sinal do monocromador de emissão; S1c = Sinal corrigido do monocromador de emissão; R1 = Sinal da lâmpada. Fonte: Autoria própria.

Para determinação dos tempos de vida, experimentos de decaimento de fluorescência foram realizados com uma lâmpada de xenônio pulsada, com largura de pulso de 50 μs . Exceto para comprimentos de onda de excitação, os parâmetros de aquisição de dados foram os mesmos para todas as amostras: tempo de

integração entre pulsos de 100 ms, num intervalo experimental entre 0,5 e 4,0 ms, tempo de ciclo de 61 ms, e número de pulsos por ciclo de 10.

4.3.5 Síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa ($n\text{SiO}_2$)

A síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa ($n\text{SiO}_2$) foi realizada de acordo com Chen e colaboradores (2008), com algumas adaptações.

Primeiramente, dissolveu-se 1,0 g de CTAB em 480 mL de água ultrapura em um balão de fundo redondo. Depois foram adicionados 1,4 mL de uma solução de NaOH $5,0 \text{ mol L}^{-1}$, e mistura foi deixada em agitação vigorosa por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, colocou-se a mistura em banho de óleo a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 15 minutos, sobre a qual foram adicionados 6,7 mL de TEOS com agitação vigorosa (aproximadamente 900 RPM) e o sistema de refluxo foi montado com agitação constante por 2 horas na mesma velocidade. O precipitado foi centrifugado a 4500 RPM por 30 minutos, lavado com água ultrapura 3 vezes, seco em estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas e cuidadosamente triturado em almofariz de ágata. A calcinação foi realizada com taxa de aquecimento de $1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ da temperatura ambiente até $500 \text{ }^\circ\text{C}$, e mantida nesta temperatura por mais 5 horas. O rendimento foi cerca de 69%.

4.3.6 Caracterização de $n\text{SiO}_2$

O tamanho das partículas e a imagem da rede dos poros foram obtidos por microscopia eletrônica de transmissão (TEM). As amostras foram preparadas pela dispersão do pó em etanol, submetidas a ultrassom por 5 min, e depositadas sobre um suporte de cobre revestido com carbono.

Experimentos de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) foram realizados num equipamento com sistema detecção em placas de imagens. As amostras foram preparadas espalhando-se o pó sobre uma fita adesiva, e em seguida, vedou-se o sistema com o mesmo lado aderente. A digitalização das placas foi realizada num escâner de placas, e as imagens obtidas foram transcritas e integradas pelo programa Fit-2D. O feixe monocromático de raios X foi de $1,54 \text{ \AA}$ com feixe e foco horizontal. Os “*beam-stoppers*” horizontal e vertical foram usados para absorver o feixe de raios X direto e refletido, respectivamente.

Para análise das curvas de SAXS, calcularam-se os valores das distâncias periódicas de espalhamento (d_{hkl}) para todos os sinais, pela equação (KLOTZ et al., 2000):

$$d_{hkl} = \frac{2\pi}{q}$$

onde q é o vetor espalhamento. O valor de d_{hkl} para o sinal de maior intensidade corresponde à distância interplanar de poros (d -spacing), isto é, a distância média entre poros adjacentes. Em seguida, a definição da simetria de poros e seu respectivo grupo espacial foram realizados pelo cálculo da razão entre d -spacing / d_{hkl} , o qual fornece valores constantes dependentes de cada tipo estrutura de poros. Por fim, os valores da razão calculada foram comparados com os dados da literatura (CHEN et al., 2008).

O parâmetro de célula unitária (a_0) para o sistema hexagonal foi estimado com base no valor calculado de d -spacing, através da equação (TUEL, 1999):

$$a_0 = \frac{2 \cdot d_{100}}{\sqrt{3}}$$

O método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) foi empregado para análise de superfície específica (S_{BET}) e diâmetro de poros (D_p) através de experimentos de adsorção e dessorção de N_2 à temperatura constante de -196°C (77 K). Para tanto, cerca de 20 mg de amostra foram previamente degasadas a 150°C por 12 horas. Para o sistema hexagonal, a espessura da parede inorgânica (t_w) foi estimada pela equação (TUEL, 1999):

$$t_w = a_0 - D_p$$

4.3.7 Impregnação dos complexos luminescentes em $n\text{SiO}_2$

Os complexos de Eu^{3+} com *cbdca* e com *ampn* foram impregnados nas nanopartículas de sílica mesoporosa pela mistura dos complexos em solução de DMSO com $n\text{SiO}_2$ previamente ativada em estufa à 105°C por 12 h. Para tanto, adicionou-se cerca de 45 mg de complexo em 4 mL de DMSO e 60 mg de $n\text{SiO}_2$ ativada (razão molar complexo / $n\text{SiO}_2$ de 5%). A dissolução do complexo com *cbdca* foi feita com auxílio de aquecimento a 60°C por cerca de 15 minutos antes da adição de $n\text{SiO}_2$. A mistura foi então submetida à agitação magnética a 50°C por 12 h. O precipitado foi separado por centrifugação a 6500 RPM, em seguida lavado com

metanol, e seco em estufa a 70°C por 12 h. O sobrenadante inicial foi reunido com o sobrenadante de lavagem e a mistura foi titulada com EDTA conforme escrito anteriormente (item 4.3.4.1).

4.3.8 Metodologia dos ensaios biológicos

Esta seção descreve a metodologia utilizada nos ensaios biológicos de citotoxicidade pelo método do MTT e de biomarcação luminescente.

4.3.8.1 Linhagem celular e condições de cultivo

Para o ensaio do MTT foi utilizado a linhagem celular 4T1 (adenocarcinoma mamário murino), oriundas do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram mantidas em crescimento em frascos de cultura celular de 75 cm² contendo 10 mL de meio de cultura DMEM, suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF), 0,1% de antibiótico (penicilina/estreptomicina – 10.000u/mL/10.000µg/mL) e atmosfera úmida com temperatura controlada em estufa a 37°C e 5 % de CO₂.

4.3.8.2 Avaliação da viabilidade celular pela técnica do MTT

A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio colorimétrico com o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) com modificações. As células foram distribuídas em placas de cultivo celular e semeadas em poços contendo 0,33 cm² de área de crescimento, na concentração de 2,5x10⁴ de células por poço. Após estabilização e adesão celular por 24 h, as placas foram tratadas com os compostos EuCl₃.6H₂O, o ligante ampc puro, e o complexo [Eu(mpc)₃(OH₂)₂] com as concentrações de 0,625; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0; 160,0 e 320,0 µg/mL durante os intervalos de tempo de 24, 48 e 72 h. Após o tempo de tratamento, as células foram submetidas à solução de MTT (0,005 g de MTT; 5 mL de tampão fosfato-salino; 10 mL de meio DMEM, sem SBF) por 4 horas em estufa com atmosfera úmida e controlada a 37°C e 5% de CO₂. Após a incubação, o meio de cultura contendo o MTT foi removido e então foi acrescentado 100 µL de DMSO em cada poço para diluição dos cristais de sal de formazan formados. Para cada composto, foram realizadas triplicatas independentes utilizando 5 poços para cada

repetição. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (ELISA) com filtro de 540 nm. A viabilidade celular (expressa em porcentagem) foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \frac{\text{Média da Absorbância do grupo tratado} \times 100}{\text{Média da Absorbância do grupo sem tratamento}}$$

4.3.8.3 *Análise estatística*

Para comparar os resultados quantitativos das diferentes amostras foram utilizados testes paramétricos (ANOVA -Bonferroni, de Kruskal-Wallis) e empregados de acordo com a natureza da distribuição dos dados. As análises foram realizadas com o software GraphPad Prism versão 6.01. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$ em todos os casos.

4.3.8.4 *Captura de imagens dos complexos luminescentes puros ou impregnados em nSiO₂ com células de melanoma murino (B16-F10)*

As imagens dos complexos luminescentes de Eu³⁺ cdbca e Eu³⁺ mpn impregnados ou não em nSiO₂ em contato com células de melanoma murino (linhagem B16-F10), foram capturadas por um aparelho celular direcionado à um microscópio óptico invertido, com excitação dos complexos realizada com lâmpada UV de 365 nm e 5 mW de potência. Para tanto, adicionou-se cerca de 10 mg de amostra em 1 mL do meio DMEM (mesmo meio de cultura de crescimento das células B16-F10). Removeu-se o meio de cultura das células e substituiu-se pelo meio contendo o composto testado. Em seguida, as células permaneceram em repouso por 2 h à temperatura ambiente, e removeu-se novamente o sobrenadante para a captura das imagens.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente seção contempla os resultados e discussão do trabalho, apresentando as caracterizações dos ligantes, dos complexos e das nanopartículas de sílica mesoporosa, e por fim, a aplicação dos materiais nos testes biológicos propostos.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

Nesta seção serão discutidas as caracterizações dos ligantes CBDCA e derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

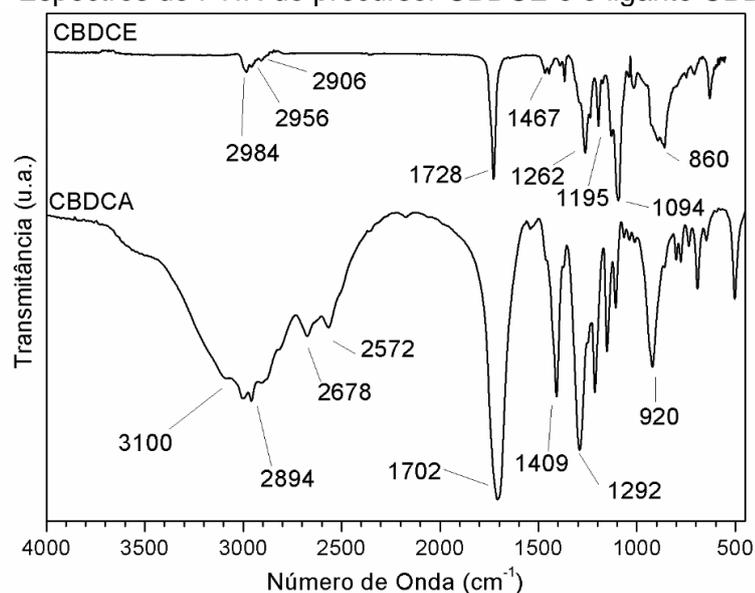
5.1.1 Caracterização do CBDCA

O ácido ciclobutano-1,1-dicarboxílico (CDBCA) foi preparado a partir da hidrólise alcalina do seu precursor, o diéster ciclobutano-1,1-dicarboxilato de dietila (CBDCE).

Preliminarmente, realizou-se a espectroscopia de infravermelho (FTIR) para avaliar o produto formado da reação de hidrólise alcalina do diéster precursor (ver Figura 12).

Diferentemente do material de partida, observa-se claramente a alteração do padrão espectral na região entre 3500 e 2300 cm^{-1} , que demonstra o surgimento de uma banda intensa e larga, característica de estiramento da ligação O-H ($\nu_{\text{O-H}}$) de ácidos carboxílicos (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002). Os valores de estiramento da ligação C=O ($\nu_{\text{C=O}}$) para o produto (1702 cm^{-1}) também foram menores que do material de partida (1728 cm^{-1}), fato que já é esperado quando comparamos um ácido carboxílico e um éster. Os demais dados de modos vibracionais e valores de absorções estão listados na Tabela 5.

Figura 12 – Espectros de FTIR do precursor CBDCE e o ligante CBDCA formado.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 – Dados de FTIR do CBDCA.

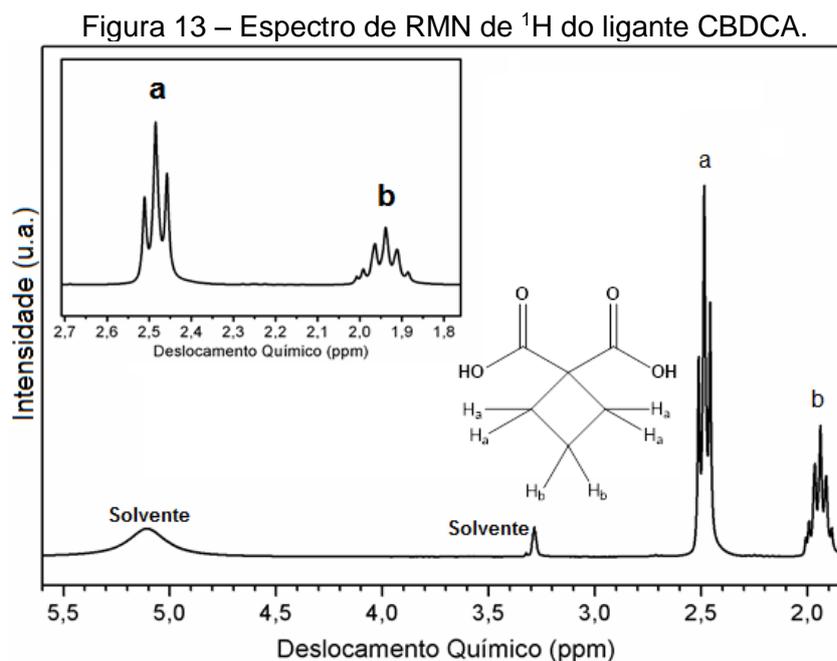
Modo Vibracional	Número de Onda / cm ⁻¹
v O-H	3100
v C-H	2678 e 2572
v C=O	1702
v C-O	1292 e 1100
δ O-H fora do plano	920
δ C-H	1409

Fonte: Autoria própria.

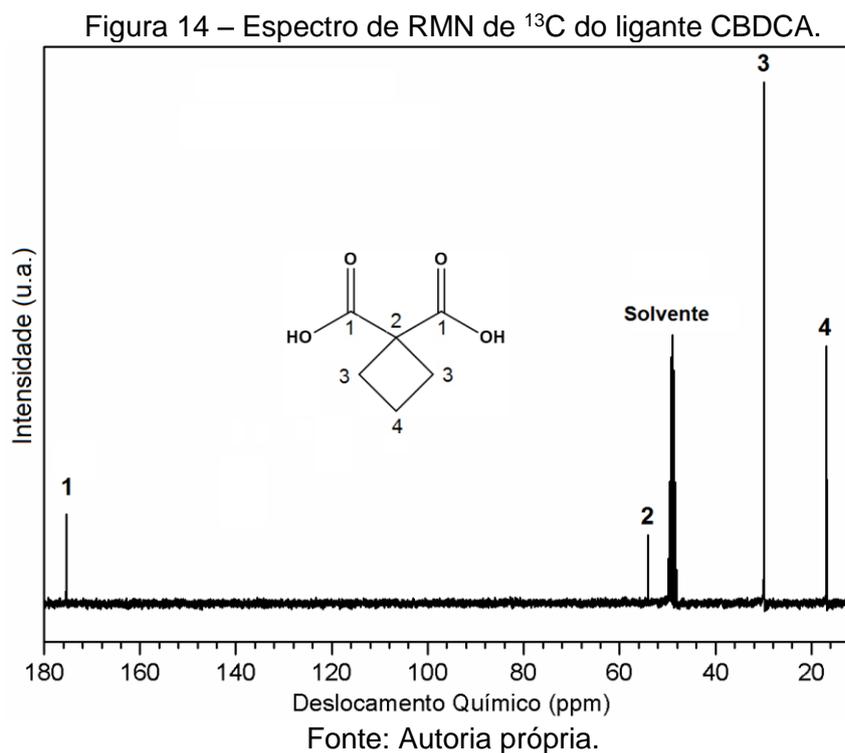
A formação do produto foi confirmada pelos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, conforme mostram as Figuras 13 e 14, respectivamente, e comparando-os aos dados da literatura (KHARAT et al., 2016; FREY, RANFORD, SADLER, 1993).

O espectro de RMN de ¹H mostra um triplete na região de deslocamento químico δ_(ppm) próximo a 2,5 ppm, característico de hidrogênios metilênicos de cicloalcanos substituídos, que foi atribuído ao sinal dos hidrogênios assinalados como H_a, vizinhos comuns ao par de hidrogênios H_b. A integração dos sinais sugere 4 hidrogênios para este sinal, corroborando a atribuição deste triplete. Nota-se também a presença de um sinal com δ_(ppm) por volta de 1,95 ppm, com padrão de multiplicidade do tipo quintupeto, referente ao sinal dos hidrogênios H_b, vicinais aos quatro hidrogênios H_a. Neste caso a integração dos sinais sugere 2 hidrogênios, confirmando a atribuição. Os sinais em 3,3 e 5,1 ppm correspondem aos sinais dos hidrogênios do metanol residual no solvente deuterado.

Nos espectros de RMN de ^{13}C do CBDCA (Figura 16), evidencia-se 4 sinais com deslocamentos químicos em 174,5, 54,0, 29,9 e 16,8 ppm, assinalados como carbonos 1, 2, 3 e 4, respectivamente (KHARAT, et al. 2016). Os sinais em torno de 49 ppm são dos carbonos do metanol deuterado. Esses dados estão de acordo com a literatura (FREY, RANFORD, SADLER, 1993).



Nota: A imagem inserida se refere à ampliação do espectro na região entre 2,7 e 1,8 ppm.
Fonte: Autoria própria.



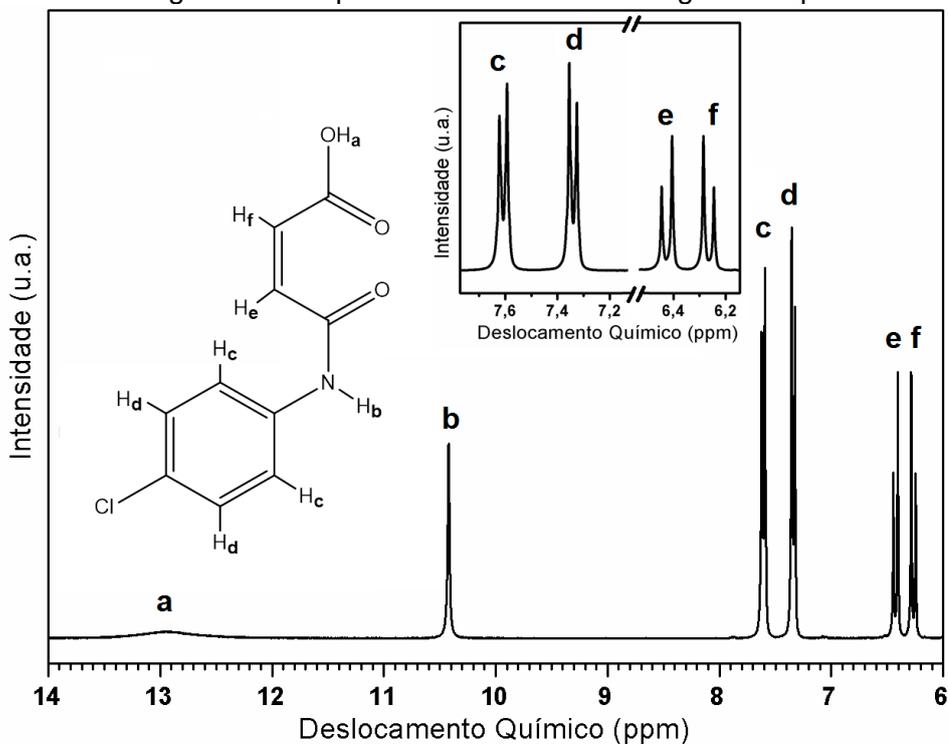
Fonte: Autoria própria.

5.1.2 Caracterização dos ácidos maleâmicos *N*-substituídos

A confirmação da estrutura dos ligantes derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos foi realizada por experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C .

A Figura 15 mostra o espectro de RMN de ^1H do ligante ampc. Observando a região espectral entre 6 e 14 ppm, nota-se a presença de 6 sinais referentes aos hidrogênios denominados a, b, c, d, e, f na estrutura representada na Figura 15. O sinal pouco intenso e alargado em torno 12,92 ppm se refere ao próton H_a da carboxila do ligante ampc, ao passo que o singlete em 10,42 ppm é atribuído ao hidrogênio H_b ligado ao nitrogênio da amida. Pode-se perceber ainda a presença de 2 sinais do tipo dublete em 7,61 e 7,34 ppm, referente aos hidrogênios H_c e H_d do anel aromático, além de 2 dubletes em 6,43 e 6,27 ppm, atribuídos aos hidrogênios olefínicos H_e e H_f do núcleo maleâmico. A integração dos sinais sugere a proporção 1 : 1 : 2 : 2 : 1 : 1 para os hidrogênios H_a , H_b , H_c , H_d , H_e e H_f , respectivamente, ratificando a atribuição realizada para cada sinal.

Figura 15 – Espectro de RMN de ^1H do ligante ampc.

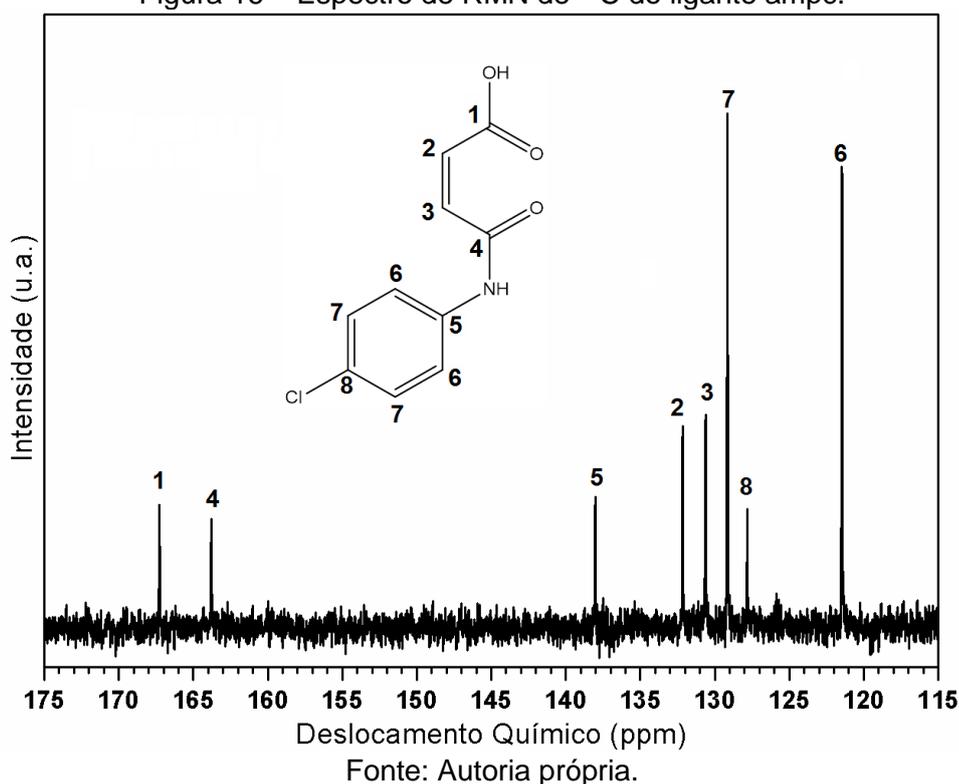


Nota: A imagem inserida se refere à ampliação do espectro na região entre 7,8 e 6,1 ppm.
Fonte: Autoria própria.

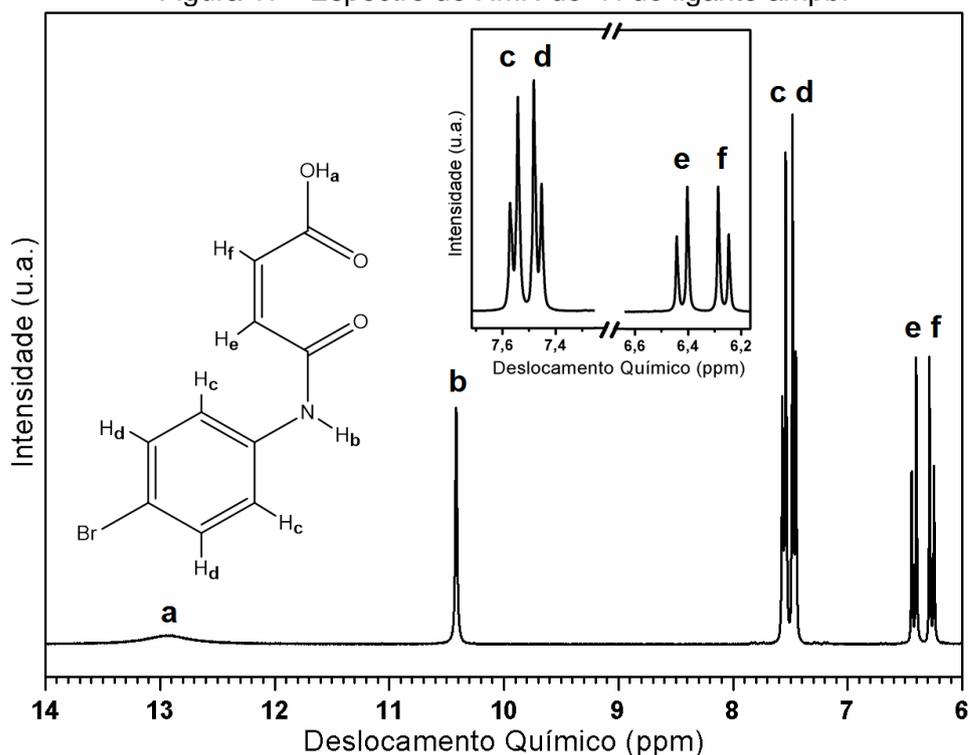
O espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampc está mostrado na Figura 16, na qual é possível notar a presença de dois sinais mais deslocados em 167,3 e 163,8 ppm, assinalados como 1 e 4, provenientes dos carbonos das carbonilas do grupo carboxílico e do grupo amida, respectivamente. Além desses, percebe-se a presença dos sinais em 132,2 e 130,6 ppm, atribuídos aos carbonos olefínicos 2 e 3 característicos de ácidos maleâmicos. Os sinais em 138,1 e 127,8 ppm pertencem aos carbonos do anel aromático substituídos pelo nitrogênio e cloro (carbonos 5 e 8 respectivamente), ao passo que os demais carbonos do anel aromático apresentaram sinais em 129,2 e 121,5 ppm (carbonos 7 e 6, respectivamente).

Combinando os dados de RMN de ^1H e ^{13}C para o ligante ampc, pode-se confirmar o êxito na síntese deste ligante.

Figura 16 – Espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampc.



O espectro de RMN de ^1H do ligante ampb (Figura 17) apresentou grande semelhança com o espectro do ligante ampc, apresentando ligeiro deslocamento do sinal dos hidrogênios H_c do anel aromático para menores valores de $\delta_{(\text{ppm})}$. Os demais sinais estão listados na Tabela 6.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H do ligante ampb.

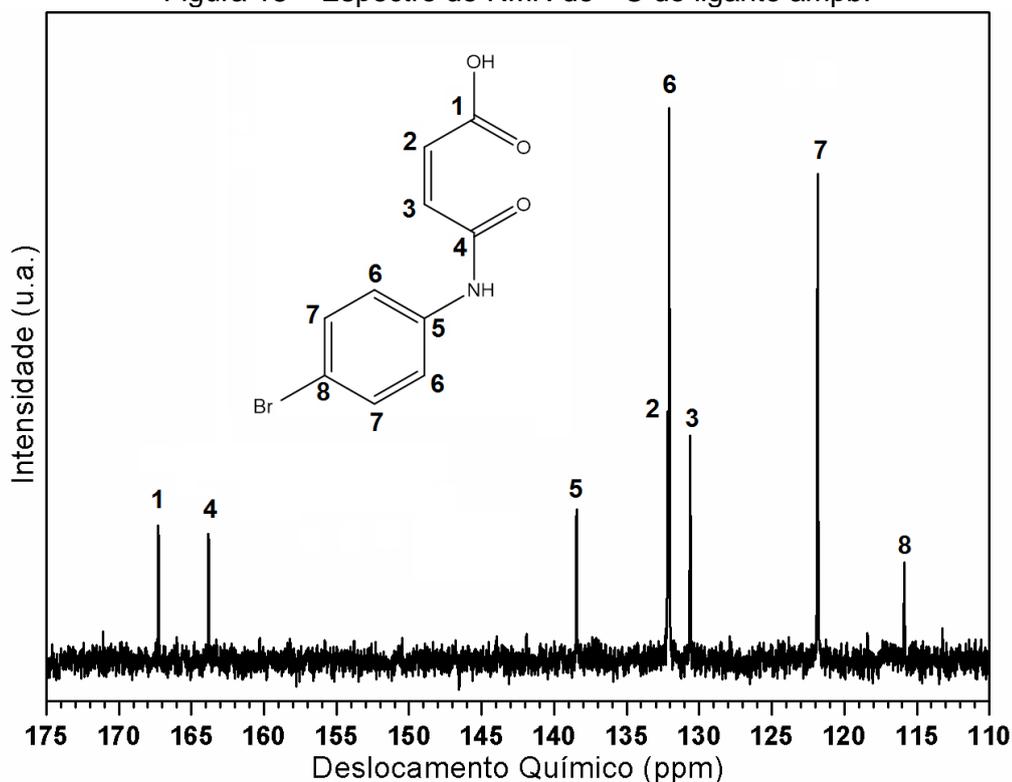
Nota: A imagem inserida se refere à ampliação do espectro na região entre 7,7 e 6,2 ppm.
Fonte: Autoria própria.

Tabela 6 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^1H do ligante ampb.

Tipo de Hidrogênio	a	b	c	d	e	f
δ (ppm)	12,92	10,42	7,56	7,46	6,42	6,27
Multiplicidade	singlete	Singlete	dublete	dublete	dublete	dublete
Integração	1	1	2	2	1	1

Fonte: Autoria própria.

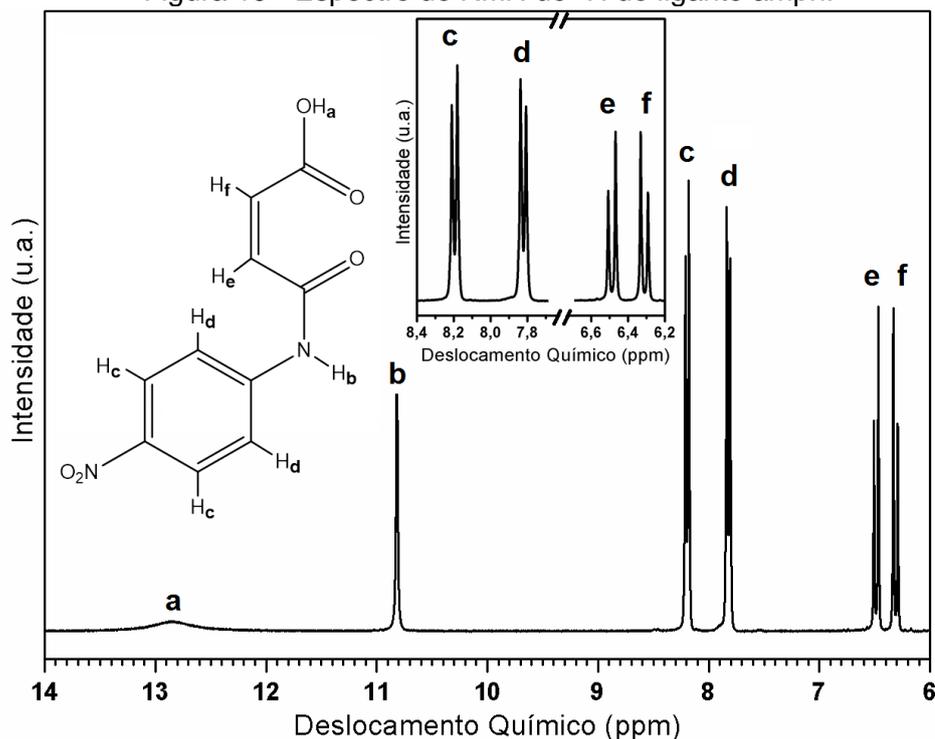
O espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampb (Figura 18) também apresentou semelhança com o espectro do ampc, exceto pelo deslocamento do sinal do carbono 8 para menores valores de $\delta_{(\text{ppm})}$. O Bromo é um substituinte menos eletronegativo que o Cloro, o que torna o carbono mais protegido e, portanto, apresenta sinal em campo mais alto (equivalente à uma frequência de ressonância menor). Os demais valores de $\delta_{(\text{ppm})}$ para os sinais de RMN de ^{13}C do ligante ampb estão listados na Tabela 7.

Figura 18 – Espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampb.Tabela 7 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante ampb.

Tipo de Carbono	1	2	3	4	5	6	7	8
δ (ppm)	167,3	132,2	130,6	163,8	138,5	132,1	121,8	115,9

Fonte: Autoria própria.

O ligante ampn apresentou espectro de RMN de ^1H com padrão de multiplicidade de sinais similar aos análogos amp c e amp b, sendo dois singletes e quatro dubletes (Figura 19). No entanto, no caso do ligante ampn, o grupo nitro ligado ao anel aromático provocou deslocamento dos sinais dos hidrogênios vicinais para maiores valores de $\delta_{(\text{ppm})}$ devido a maior desproteção promovida pelo efeito de ressonância que retira elétrons do anel aromático. Os demais valores dos sinais de RMN de ^1H do ligante ampn estão listados na Tabela 8.

Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H do ligante ampn.

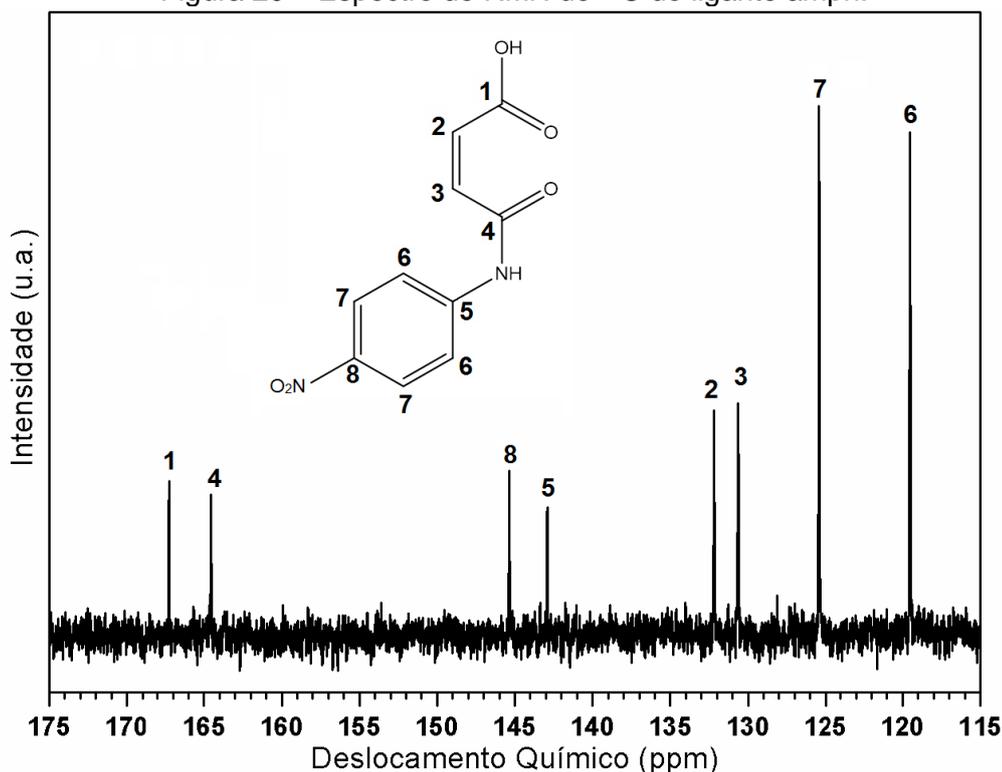
Nota: A imagem inserida se refere à ampliação do espectro na região entre 8,4 e 6,2 ppm.
 Fonte: Autoria própria.

Tabela 8 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^1H do ligante ampn.

Tipo de Hidrogênio	a	b	c	d	e	f
δ (ppm)	12,92	10,82	8,20	7,82	6,49	6,31
Multiplicidade	singlete	singlete	dublete	dublete	dublete	dublete
Integração	1	1	2	2	1	1

Fonte: Autoria própria.

Semelhantemente, ao observado no espectro de RMN de ^1H , pode-se perceber que no espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampn (Figura 20) houve deslocamentos dos sinais dos carbonos do anel aromático, principalmente para o carbono de número 8, ligado diretamente ao grupo nitro, para maiores valores de $\delta_{(\text{ppm})}$. Da mesma maneira, o grupo nitro sendo um forte retirante de elétrons do anel aromático torna o carbono ligado diretamente a ele mais desblindado ao efeito do campo magnético e, dessa forma, apresenta uma ressonância em campo mais baixo (maior frequência ou ainda maior $\delta_{(\text{ppm})}$). Os demais valores de $\delta_{(\text{ppm})}$ dos sinais de RMN de ^{13}C estão listados na Tabela 9.

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C do ligante ampn.

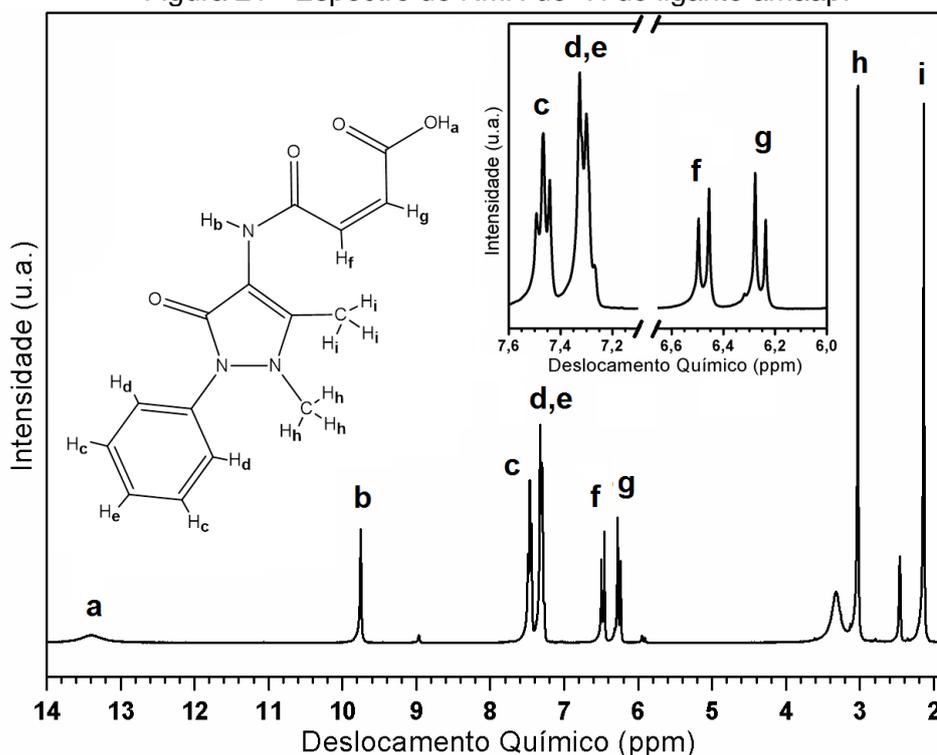
Fonte: Autoria própria.

Tabela 9 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante ampn.

Tipo de Carbono	1	2	3	4	5	6	7	8
δ (ppm)	167,3	132,2	130,6	164,5	142,9	119,5	125,4	145,4

Fonte: Autoria própria.

A imagem da Figura 21 representa o espectro de RMN de ^1H do ligante amaap. Nota-se a presença dos sinais característicos dos Hidrogênios do núcleo maleâmico denominados H_a , H_b , H_f e H_g , em 13,74, 9,75, 6,48 e 6,26 ppm, respectivamente. Além disso, é possível identificar os sinais dos hidrogênios do grupo antipirínico, sendo H_c , H_d e H_e os hidrogênios aromáticos e H_i e H_h os hidrogênios metílicos. A integração dos sinais confirma a atribuição proposta. Os demais valores de $\delta_{(\text{ppm})}$ estão listados na Tabela 10.

Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H do ligante amaap.

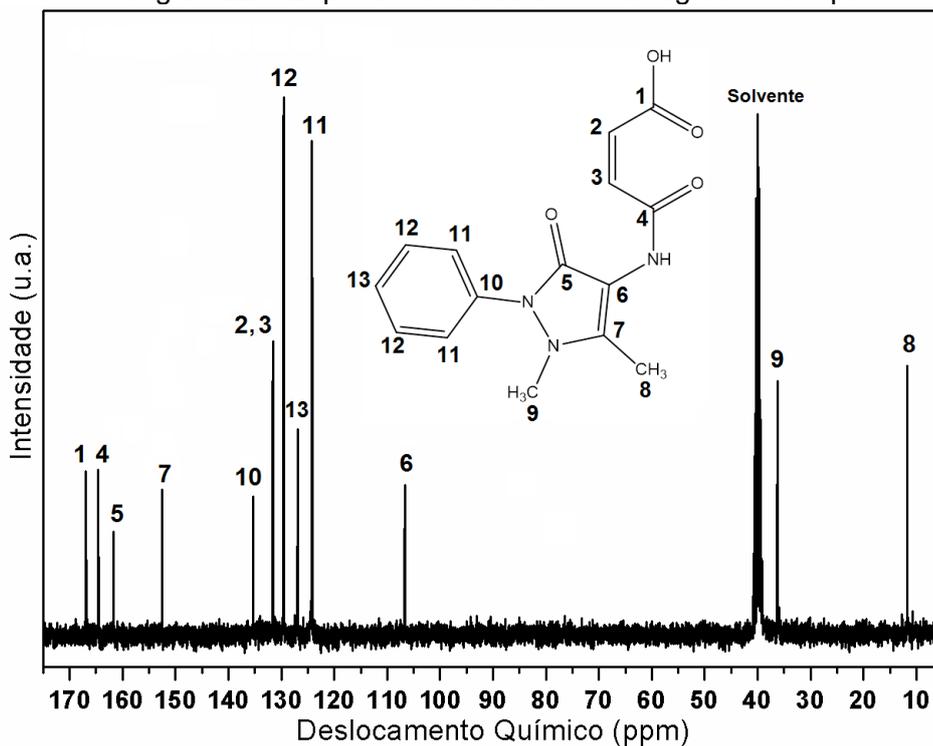
Nota: A imagem inserida se refere à ampliação do espectro na região entre 7,6 e 6,0 ppm.
Fonte: Autoria própria.

Tabela 10 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^1H do ligante amaap.

Tipo de Hidrogênio	a	b	c	d, e	f	g	h	i
δ (ppm)	13,34	9,75	7,47	7,31	6,48	6,26	3,03	2,14
Multiplicidade	singlete	Singlete	triplete	-	dublete	dublete	Singlete	Singlete
Integração	1	1	2	3	1	1	3	3

Fonte: Autoria própria.

No espectro de RMN de ^{13}C do ligante amaap (Figura 22) é possível verificar a presença dos sinais característicos dos carbonos 1, 2, 3 e 4 do núcleo maleâmico em 166,9, 131,6 (sinais sobrepostos dos carbonos 2,3) e 164,6 ppm, respectivamente. O grupo antipirirnil pode ser identificado pelo surgimento de novos sinais, destacando-se o sinal do carbono 5 de carbonila de lactama em 161,7 ppm, e das metilas 8 e 9 em 11,7 e 36,3 ppm, respectivamente. Os demais valores de $\delta_{(\text{ppm})}$ dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante amaap estão listados na Tabela 11.

Figura 22 – Espectro de RMN de ^{13}C do ligante amaap.Tabela 11 – Valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) dos sinais de RMN de ^{13}C do ligante amaap.

Tipo de carbono	δ (ppm)
1	166,9
2,3	131,6
4	164,6
5	161,7
6	106,7
7	152,6
8	11,7
9	36,3
10	135,3
11	124,2
12	129,6
13	126,9

Fonte: Autoria própria.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

A presente seção relata a caracterização dos complexos por análises químicas, termogravimétricas (TGA/DSC) e espectroscópicas (FTIR, UV-Vis, PL).

5.2.1 Análises químicas dos complexos

Os complexos de lantanídeos foram submetidos à titulação complexométrica com EDTA para determinar o teor dos íons lantanídeos e ao teste qualitativo de cloreto com solução de nitrato de prata (AgNO_3). Os resultados estão relacionados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente.

A titulação complexométrica se mostrou uma técnica precisa para quantificação de íons lantanídeos nos complexos. Em geral, os complexos apresentaram teores de lantanídeos bem próximos aos esperados teoricamente, com exceção dos complexos de Tb^{3+} e Dy^{3+} com ampc, além de La^{3+} e Dy^{3+} com amaap, que apresentaram valores superiores. Estes fatos podem estar relacionados com erros aleatórios na preparação desses complexos, seja no preparo das soluções de lantanídeos ou nas etapas de lavagem do precipitado.

Tabela 12 – Relação dos teores percentuais de íons lantanídeos por amostra de complexo, calculados a partir da titulação complexométrica com EDTA padronizado.

Ligante	Íon Ln^{3+}	Quantidade de matéria de Ln^{3+} (calculada) (mols)	Massa de Ln^{3+} (calculada) (g)	Massa de amostra (g)	% Ln^{3+} (m/m)	% Ln^{3+} (esperado)* (m/m)
cbdca	La^{3+}	$2,0719 \times 10^{-5}$	0,0029	0,0080	35,98	35,79
	Eu^{3+}	$5,0090 \times 10^{-6}$	0,0008	0,0020	38,06	37,88
	Tb^{3+}	$2,4665 \times 10^{-5}$	0,0039	0,0102	38,43	38,10
	Dy^{3+}	$2,3568 \times 10^{-5}$	0,0038	0,0100	38,30	38,63
ampc	La^{3+}	$1,2092 \times 10^{-5}$	0,0017	0,0105	16,00	16,37
	Eu^{3+}	$1,1973 \times 10^{-5}$	0,0027	0,0102	26,19	17,63
	Tb^{3+}	$2,5268 \times 10^{-5}$	0,0040	0,0110	36,51	18,29
	Dy^{3+}	$1,9369 \times 10^{-5}$	0,0031	0,0132	23,84	18,63
ampb	La^{3+}	$5,4263 \times 10^{-6}$	0,0008	0,0054	13,96	14,14
	Eu^{3+}	$1,0359 \times 10^{-5}$	0,0016	0,0105	14,99	15,27
	Tb^{3+}	$1,1346 \times 10^{-5}$	0,0018	0,0113	15,96	15,86
	Dy^{3+}	$1,2826 \times 10^{-5}$	0,0021	0,0129	16,16	16,16
ampn	La^{3+}	$1,2037 \times 10^{-5}$	0,0017	0,0106	15,77	15,78
	Eu^{3+}	$1,1572 \times 10^{-5}$	0,0018	0,0103	17,07	17,01
	Tb^{3+}	$1,2004 \times 10^{-5}$	0,0019	0,0108	17,66	17,65
	Dy^{3+}	$1,6772 \times 10^{-5}$	0,0027	0,0149	18,29	17,97
amaap	La^{3+}	$1,4589 \times 10^{-5}$	0,0020	0,0112	18,09	12,49
	Eu^{3+}	$1,1257 \times 10^{-5}$	0,0017	0,0120	14,25	13,73
	Tb^{3+}	$1,0952 \times 10^{-5}$	0,0017	0,0122	14,27	14,04
	Dy^{3+}	$2,6846 \times 10^{-5}$	0,0044	0,0113	38,61	14,54

Legenda: * baseado na inferência da fórmula nominal estipulada na síntese do complexo e nos dados de TGA. Fonte: Autoria própria.

Observando os resultados dos testes com AgNO_3 (Tabela 13), verifica-se a presença de cloreto somente nas amostras dos complexos de La^{3+} , Eu^{3+} e Tb^{3+} com

amaap. Tendo em vista o maior teor de La^{3+} obtido no complexo com amaap, pode-se inferir que parte dos íons La^{3+} deve estar na forma de sal com os íons Cl^- identificados no teste. Quanto aos complexos de Eu^{3+} e Tb^{3+} com amaap, apesar de identificarem a presença de cloreto, apresentaram teores de íons lantanídeos muito próximos aos valores teóricos, sugerindo que nestes casos os íons Cl^- podem estar interagindo com o íon potássio advindo da solução de KOH.

Tabela 13 – Resultados dos testes de cloreto para os complexos de lantanídeos.

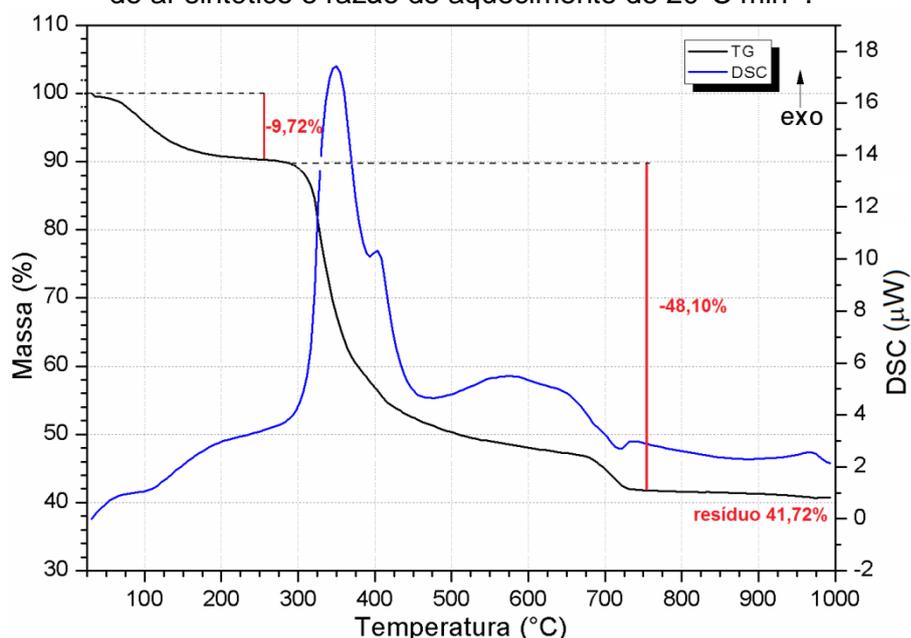
Íon Ln^{3+}	cbdca	ampc	ampb	ampn	Amaap
La^{3+}	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Eu^{3+}	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Tb^{3+}	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Dy^{3+}	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Análise térmica dos complexos com CBDCA

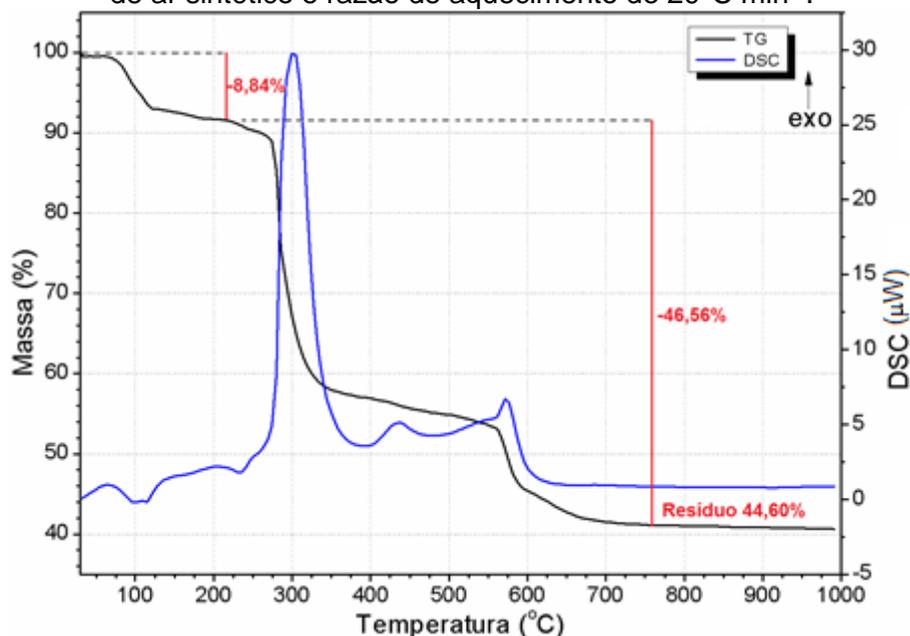
A estequiometria e comportamento térmico dos complexos dos lantanídeos com o CBDCA foram avaliados com base nas curvas de TGA e DSC (Figuras 23, 24, 25 e 26). Observa-se nas curvas de TGA três perdas significativas de massa, interpretadas como eventos de desidratação e decomposição do ligante CBDCA em duas etapas (formação de carbonatos e formação de óxidos).

Figura 23 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{La}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



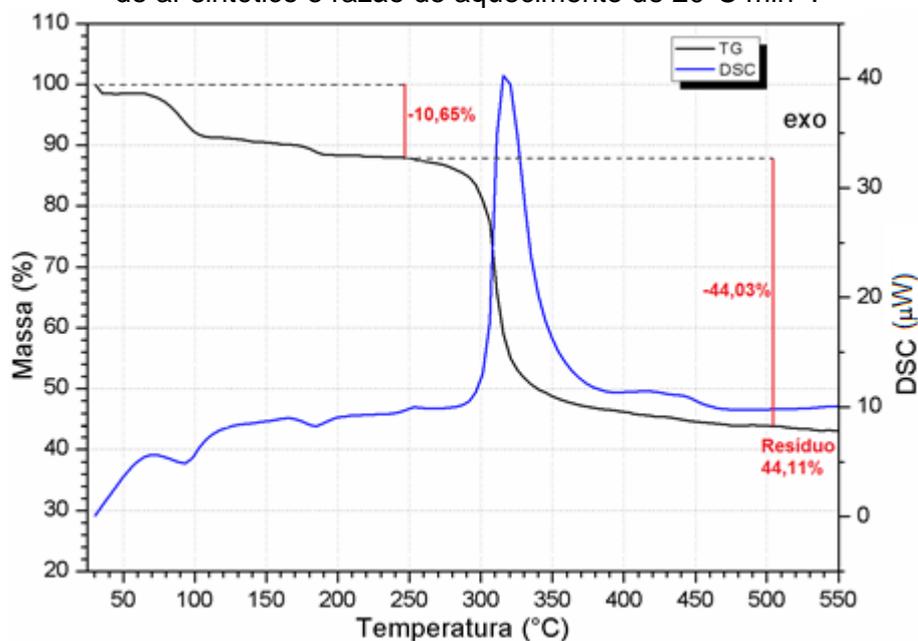
Fonte: Autoria própria

Figura 24 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



Fonte: Autoria própria.

Figura 25 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{Tb}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.

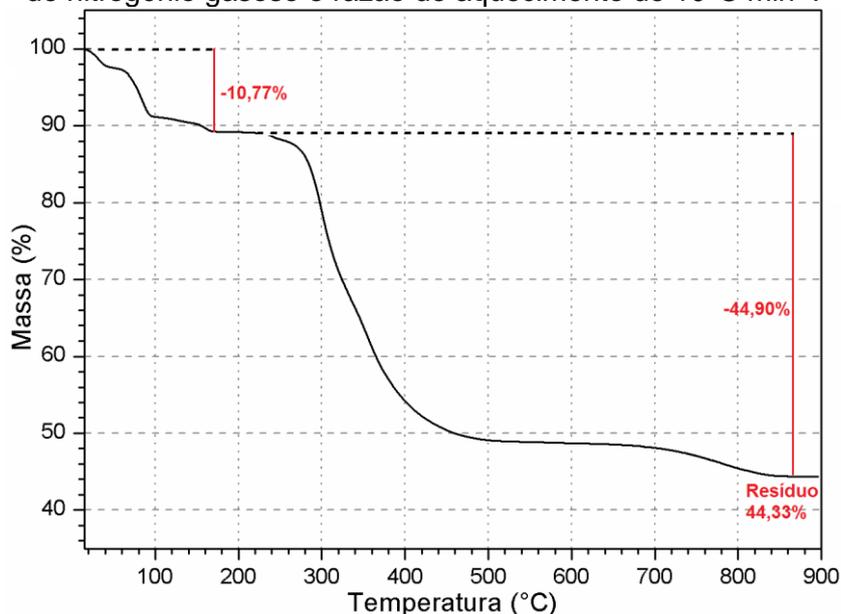


Fonte: Autoria própria.

O complexo hidratado de Lantânio é estável até 50°C (Figura 23), ao passo que os complexos de Európio e Térbio permanecem hidratados até 64°C (Figuras 24 e 25, respectivamente). Em contrapartida, o complexo de Disprósio perde prontamente uma molécula água desde o início do aquecimento até 40°C (Figura

26), o que sugere uma fraca interação com o metal, provavelmente relacionada com água de solvatação.

Figura 26 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{Dy}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$ obtidas em atmosfera de nitrogênio gasoso e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.



Nota: Não há curva de DSC para esta amostra pois a análise foi realizada num equipamento que só opera no modo TGA. Fonte: Autoria própria.

Os cálculos da variação de massa do primeiro evento, entre 50 e 253°C para o complexo de lantânio (Figura 23), sugerem que a perda de 4 moléculas de água ocorre em uma única etapa. Por outro lado, os complexos de Európio, Térbio e Disprósio perdem água em duas etapas. O complexo de Európio apresenta eliminação de 4 moléculas de água, ao passo que os complexos de Térbio e Disprósio perdem 5 moléculas de água cada um entre as faixas de temperatura de $64 - 248^\circ\text{C}$, e $16 - 174^\circ\text{C}$, respectivamente. Esses resultados são corroborados pelas curvas de DSC, que mostram sinais no sentido endotérmico (para baixo) nessas faixas de temperatura, característicos de fenômenos de desidratação. No caso do complexo de Disprósio, que apresentou comportamento diferente dos demais quanto à desidratação, atribui-se às diferentes condições experimentais na aquisição das curvas de TGA, como uso de atmosfera de N_2 (g) e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

O segundo evento envolve a decomposição do ligante CBDCA, com início a 200°C para o complexo de Disprósio, 248°C para o de Térbio, 252°C para o de Európio, e 278°C para o de Lantânio. As reações de decomposição ocorrem até

cerca de 509°C (Térbio) a 896°C (Disprósio). Estes eventos ocorrem em mais de uma etapa, evidenciados pela presença de vários sinais no sentido exotérmico (para cima) nessas faixas de temperatura. Os cálculos de variação percentual de massa indicam perdas de 3 moléculas do ligante CBDCA por complexo.

Por fim, o percentual de resíduos finais atribuídos aos óxidos de lantanídeos, se mostrou proporcional a dois átomos de lantanídeo por complexo, indicando complexos com estequiometria $[\text{La}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$, $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$, $[\text{Tb}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$ e $[\text{Dy}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$. Além disso, vale ressaltar que os resultados das titulações corroboram a estequiometria proposta. A atribuição dos resíduos de calcinação como óxidos de lantanídeos foi confirmada pelos dados DRX descritos na próxima seção.

Os resultados dos cálculos de variação percentual de massa e a estimativa do número de moléculas relacionadas com cada evento estão relacionados na Tabela 14.

Tabela 14 – Relação dos valores de variação de massa, temperatura e número de moléculas com os eventos observados na TGA dos complexos de lantanídeos com CBDCA.

	Evento	T (°C)	Δm (%) (teórico)	Δm (%) (calc.)	Nº mol. (teórico)	Nº mol. (calc.)	Estequiometria do complexo
La	I	50 – 253	9,28	9,72	4	4,19	$[\text{La}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$
	II	278 – 737	48,74	48,10	3	2,96	
	Resíduo final (La_2O_3)	-	41,98	41,72	2	1,99	
Eu	I	64 – 236	8,98	8,84	4	3,94	$[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$
	II	252 – 766	47,16	46,56	3	2,96	
	Resíduo final (Eu_2O_3)	-	43,86	44,60	2	2,03	
Tb	I	64 – 248	10,80	10,65	5	4,93	$[\text{Tb}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$
	II	248 – 509	44,39	44,03	3	2,98	
	Resíduo final* (Tb_4O_7)	-	44,81	44,11	2	1,97	
Dy	I	16 - 174	10,71	10,77	5	5,03	$[\text{Dy}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$
	II	200 - 896	44,96	44,90	3	2,99	
	Resíduo final (Eu_2O_3)	-	44,33	44,33	2	2,00	

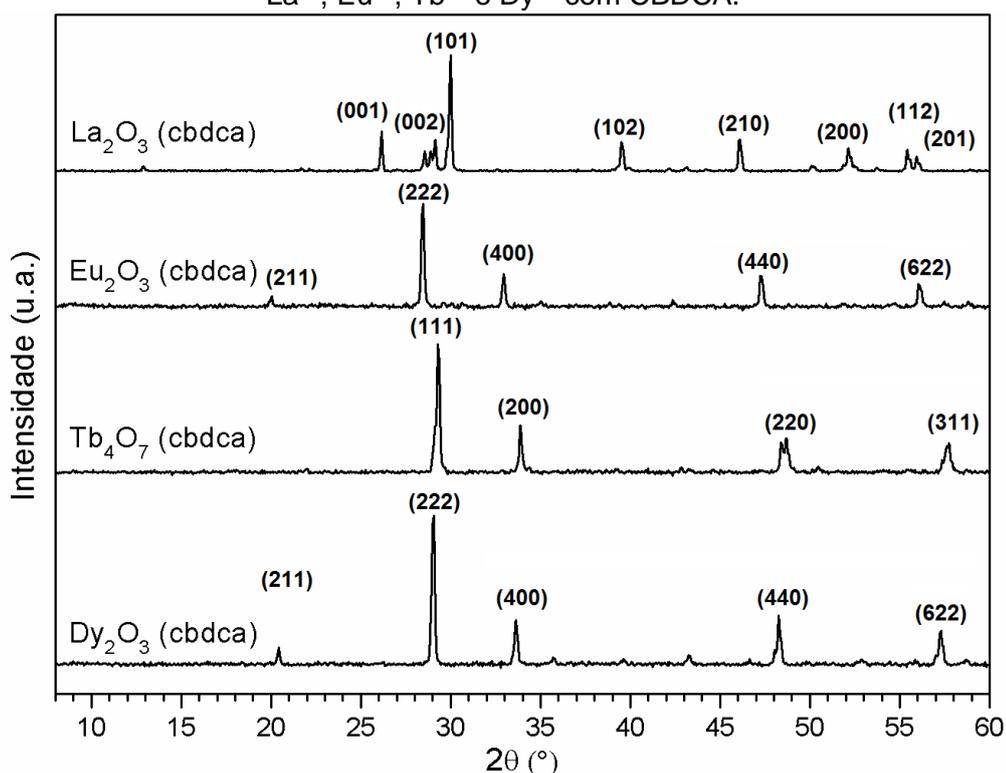
Legenda: Evento I = Desidratação do complexo. Evento II = Decomposição do CBDCA. T = Temperatura. Δm (%) (teórico) = percentual de variação de massa teórico. Δm (%) (calc.) = percentual de variação de massa calculado. Nº mol. (teórico) = Número de moléculas teórico. Nº mol. (calc.) = Número de moléculas calculado. Nota: * Foi considerado para o cálculo estequiométrico somente o resíduo intermediário Tb_4O_7 , pois este se decompõe em altas temperaturas para óxidos não estequiométricos. Fonte: Autoria própria.

5.2.3 Difratogramas de raios-X dos resíduos de calcinação dos complexos com CBDCA

Os difratogramas de raios-X dos resíduos de calcinação dos complexos de lantanídeos com o ligante CBDCA estão mostrados na Figura 27. Percebe-se claramente a alta cristalinidade do material, evidenciada pelos sinais estreitos em toda a escala de 2θ .

Todas as amostras apresentaram excelente concordância dos padrões de raios-X com aqueles relatados no banco de dados cristalográficos do equipamento e na literatura (XU et al., 2013; YAN et al., 2009; LONAPPAN et al., 2010; ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2009), sugerindo que não há mistura de fases e que os resíduos de calcinação são óxidos de lantanídeos puros. Estes fatos ratificam a estequiometria proposta para os complexos, já que os cálculos obtidos pelas medidas de TGA estão em congruência com o percentual de massa dos resíduos que foram bem caracterizados por DRX. Os demais dados cristalográficos como índices de Miller, sistema cristalino, grupo espacial e comparação de valores de 2θ entre o experimental e o do banco de dados estão relacionados na Tabela 15.

Figura 27 – Difratogramas de raios-X de pó dos resíduos de calcinação dos complexos de La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com CBDCA.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 15 - Comparação de dados de DRX dos resíduos de calcinação dos complexos de La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com CBDCA obtidos experimentalmente com dados obtidos no banco cristalográfico e literatura.

Resíduo de La_2O_3			Resíduo de Eu_2O_3		
Grupo espacial: $P\ 321\ (150)$			Grupo espacial: $Ia3\ (206)$		
Sistema: Hexagonal			Sistema: Cúbico		
$h\ k\ l$	$2\theta\ (^{\circ})$ (banco)	$2\theta\ (^{\circ})$ (experimental)	$h\ k\ l$	$2\theta\ (^{\circ})$ (banco)	$2\theta\ (^{\circ})$ (experimental)
(0 0 1)	26,162	26,15	(2 1 1)	20,048	20,05
(0 0 2)	29,16	28,55	(2 2 2)	28,501	28,45
(1 0 1)	30,018	30,00	(4 0 0)	33,027	32,95
(1 0 2)	39,573	39,50	(4 4 0)	47,404	47,25
(2 1 0)	46,159	46,10	(6 2 2)	56,246	56,05
(2 0 0)	52,236	52,15			
(1 1 2)	55,535	55,45			
(2 0 1)	56,048	55,95			

Resíduo de Tb_4O_7			Resíduo de Dy_2O_3		
Grupo espacial: $Fm3m\ (225)$			Grupo espacial: $I\ 213\ (199)$		
Sistema: Cúbico			Sistema: Cúbico		
$h\ k\ l$	$2\theta\ (^{\circ})$ (literatura)	$2\theta\ (^{\circ})$ (experimental)	$h\ k\ l$	$2\theta\ (^{\circ})$ (banco)	$2\theta\ (^{\circ})$ (experimental)
(1 1 1)	29,25	29,30	(2 1 1)	20,45	20,45
(2 0 0)	33,70	33,90	(2 2 2)	29,05	29,05
(2 2 0)	48,40	48,70	(4 0 0)	33,7	33,65
(3 1 1)	57,75	57,75	(4 4 0)	48,4	48,25
			(6 2 2)	57,46	57,30

Fonte: Banco de dados "Crystallography Open Data" do equipamento de DRX; (XU et al., 2013; YAN et al., 2009; LONAPPAN et al., 2010; ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2009).

5.2.4 Análise térmica dos complexos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos

As curvas de TGA/DSC dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos estão nas (Figuras 28 - 33). Diferentemente dos complexos com CBDCA, os complexos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos apresentaram perda de água em uma única etapa, com os eventos de desidratação iniciando entre 49 e 60°C e prosseguindo até 176 a 213°C. Na maioria dos casos os eventos de decomposição dos ligantes orgânicos foram quase que imediatamente consecutivos aos de desidratação, ocorrendo por volta de 200 – 215°C, exceto para o complexo $[\text{Eu}(\text{maap})_3]$ que permanece relativamente estável em sua forma anidra até 246°C.

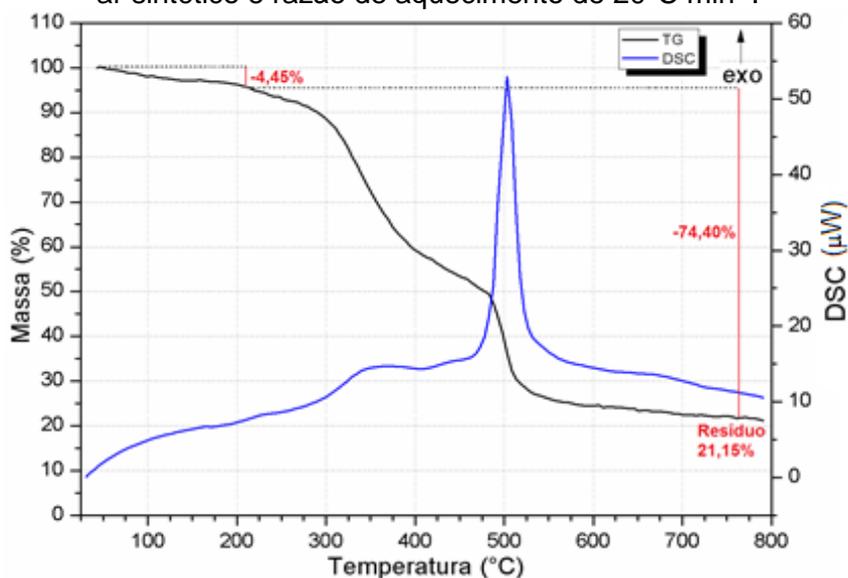
A decomposição dos ligantes manteve o padrão de ocorrer em mais de uma etapa, geralmente associada à formação de carbonatos e posteriormente formação de óxidos. Uma característica comum aos complexos com ampn é que a decomposição ocorre rapidamente e as curvas de TGA apresentam perdas de

massa praticamente instantâneas, fato típico de amostras derivados de nitrobenzeno. Um detalhe importante para as amostras contendo o ligante amaap é que, aparentemente, a decomposição do ligante ocorre de maneira mais lenta e apresenta vários sinais no sentido exotérmico da curva de DSC, sugerindo que podem estar ocorrendo diversas reações entre os produtos intermediários.

Finalmente, os resíduos finais obtidos pelas medidas de TGA dos complexos de La^{3+} com ampc, La^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com ampn, e Eu^{3+} e Tb^{3+} com amaap, sugerem que os complexos apresentam somente um íon lantanídeo por complexo, o que indica uma razão metal / ligante de 1:3. Além disso, vale ressaltar que esses resultados são concordantes com o teor de lantanídeos estimado por titulação complexométrica. A estequiometria proposta para os complexos e demais dados de TGA dos complexos estão na Tabela 16.

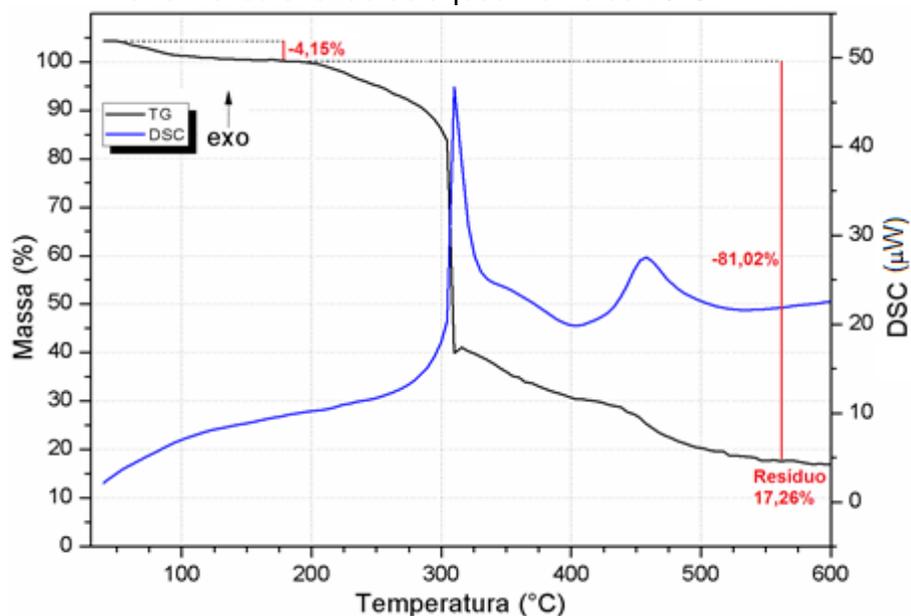
Tendo em vista o resultado das análises térmicas e químicas, observando a razão metal / ligante 1:3 e o número de moléculas de água em cada complexo, pode-se inferir que a coordenação dos ligantes derivados ácidos maleâmicos *N*-substituídos tende a ocorrer de forma bidentada, na qual 6 átomos dos ligantes atuam como doadores de elétrons (2 átomos por ligante), e as demais ligações coordenadas são preenchidas com moléculas de água até satisfazer o número de coordenação do lantanídeo, que é tipicamente 8 para os íons La^{3+} e Eu^{3+} , e 9 a 10 para Dy^{3+} e Tb^{3+} .

Figura 28 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{La}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



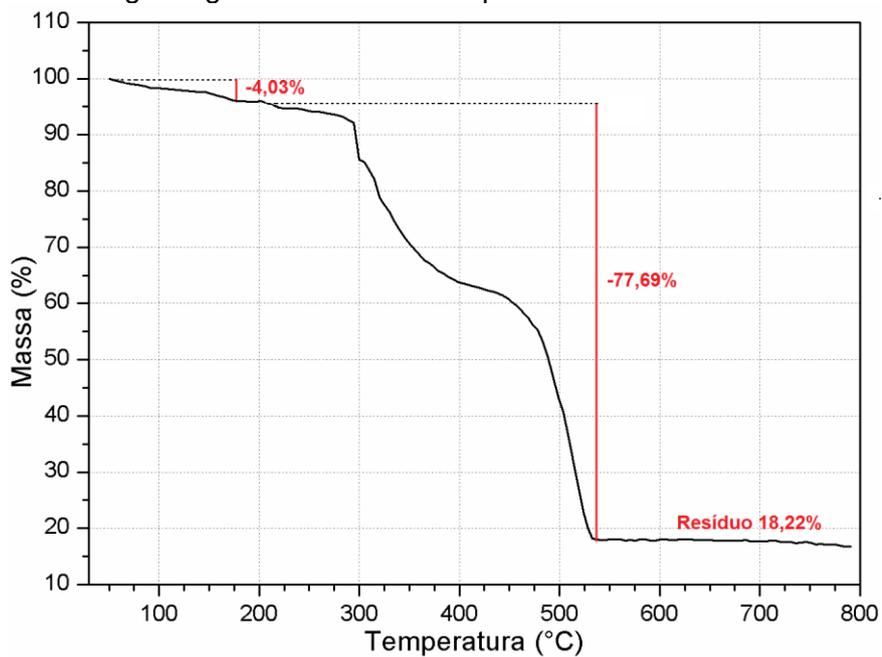
Fonte: Autoria própria.

Figura 29 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{La}(\text{mpn})_3(\text{OH}_2)_2]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



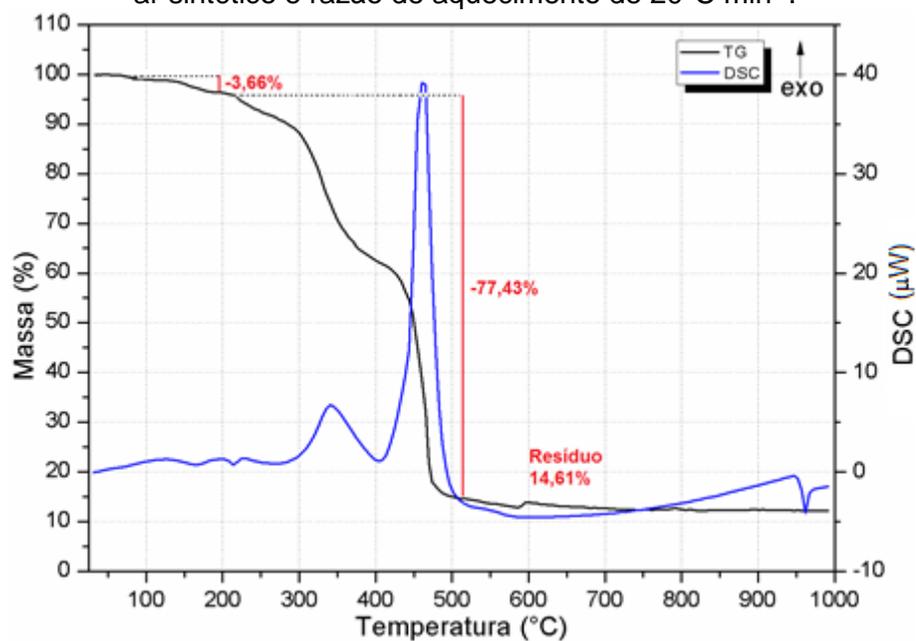
Fonte: Autoria própria.

Figura 30 – Curva de TGA do complexo $[\text{Tb}(\text{mpn})_3(\text{OH}_2)_2]$ obtidas em atmosfera de nitrogênio gasoso e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.



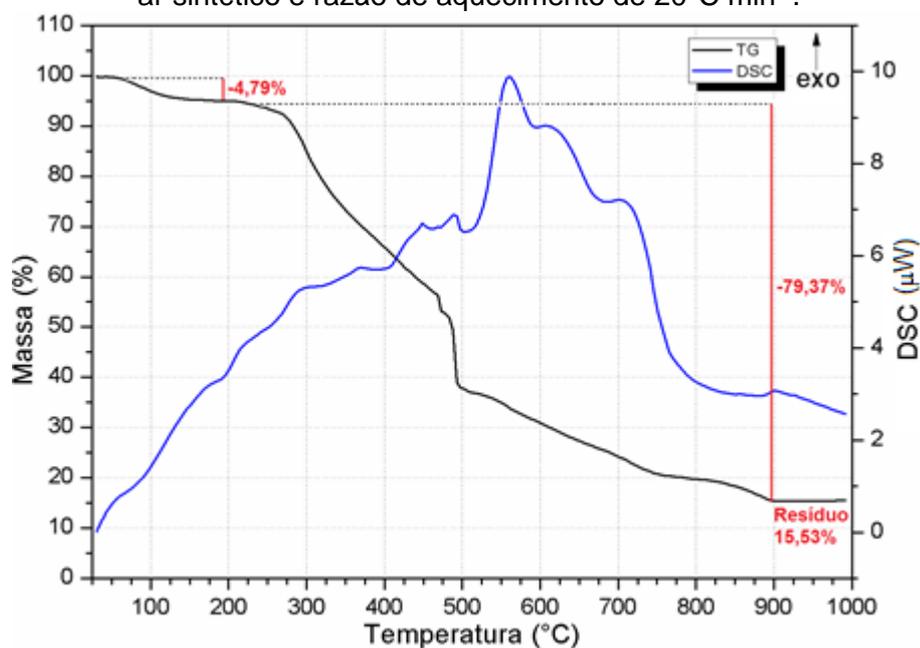
Fonte: Autoria própria.

Figura 31 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{Dy}(\text{mpn})_3(\text{OH}_2)_2]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



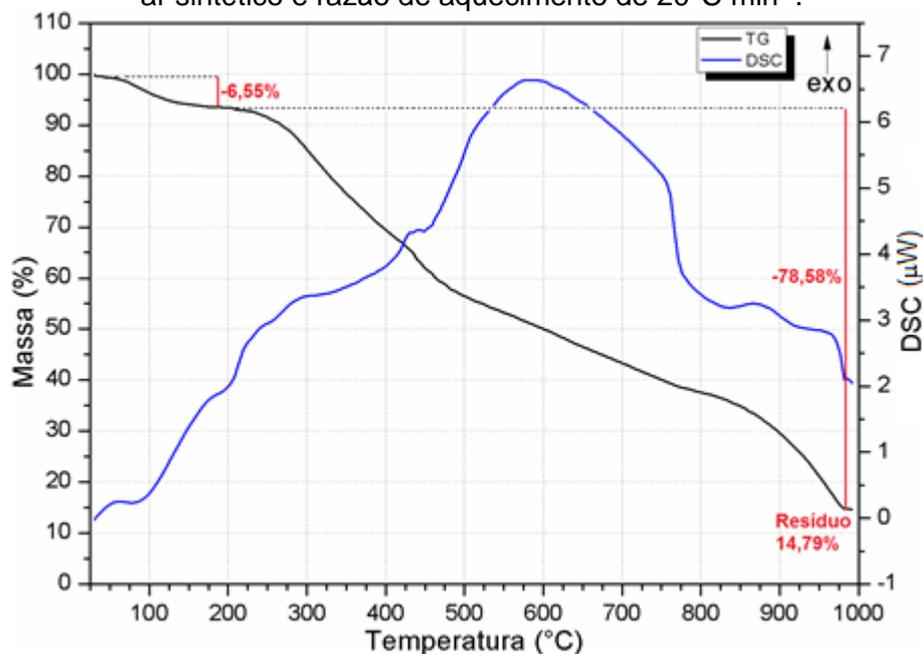
Fonte: Autoria própria.

Figura 32 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[\text{Eu}(\text{maap})_3(\text{OH}_2)_3]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



Fonte: Autoria própria.

Figura 33 – Curvas de TGA e DSC do complexo $[Tb(maap)_3(OH_2)_4]$ obtidas em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 16 – Relação dos valores de variação de massa, temperatura e número de moléculas com os eventos observados na TGA dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

	Evento	T (°C)	Δm (%) (teórico)	Δm (%) (calc.)	Nº mol. (teórico)	Nº mol. (calc.)	Estequiometria do complexo
La	I	66 – 213	4,24	4,45	2	2,10	$[La(mpc)_3(OH_2)_2]$
	II	213 – 791	76,57	74,40	3	2,91	
	Resíduo (La_2O_3)	-	19,19	21,15	1	1,10	
La	I	49 – 176	4,09	4,15	2	2,03	$[La(mpn)_3(OH_2)_2]$
	II	207 – 581	77,41	81,02	3	3,14	
	Resíduo (La_2O_3)	-	18,50	17,26	1	0,93	
Tb	I	50 – 178	4,00	4,03	2	2,02	$[Tb(mpn)_3(OH_2)_2]$
	II	202 – 533	75,69	77,69	3	3,08	
	Resíduo (Tb_2O_3)	-	20,31	18,22	1	0,90	
Dy	I	50 – 196	3,99	3,66	2	1,83	$[Dy(mpn)_3(OH_2)_2]$
	II	214 – 516	75,38	77,43	3	3,08	
	Resíduo (Dy_2O_3)	-	20,63	14,61	1	0,71	
Eu	I	55 – 189	4,88	4,79	3	2,94	$[Eu(maap)_3(OH_2)_3]$
	II	247 – 896	79,22	79,37	3	3,01	
	Resíduo (Eu_2O_3)	-	15,90	15,53	1	0,98	
Tb	I	60 – 195	6,37	6,55	4	4,11	$[Tb(maap)_3(OH_2)_4]$
	II	201 – 982	77,47	78,58	3	3,04	
	Resíduo (Tb_2O_3)	-	16,16	14,79	1	0,92	

Legenda: Evento I = Desidratação do complexo. Evento II = Decomposição do ligante orgânico. T = Temperatura. Δm (%) (teórico) = percentual de variação de massa teórico. Δm (%) (calc.) = percentual de variação de massa calculado. Nº mol. (teórico) = Número de moléculas teórico. Nº mol. (calc.) = Número de moléculas calculado. Fonte: Autoria própria.

Os complexos com ampb não foram analisados por TGA, mas foram submetidos à análise gravimétrica quantitativa clássica por calcinação e a massa dos resíduos foi registrada descontando-se o peso do cadinho vazio.

Observando os dados da Tabela 17 e confrontando-os com os resultados da titulação complexométrica, é possível determinar o teor de lantanídeos em cada complexo com o ligante ampb. Neste caso, ambas as técnicas reiteram a presença de somente um íon lantanídeo por complexo.

Tabela 17 - Massa dos resíduos de calcinação dos complexos com ampb e comparação com os valores teóricos.

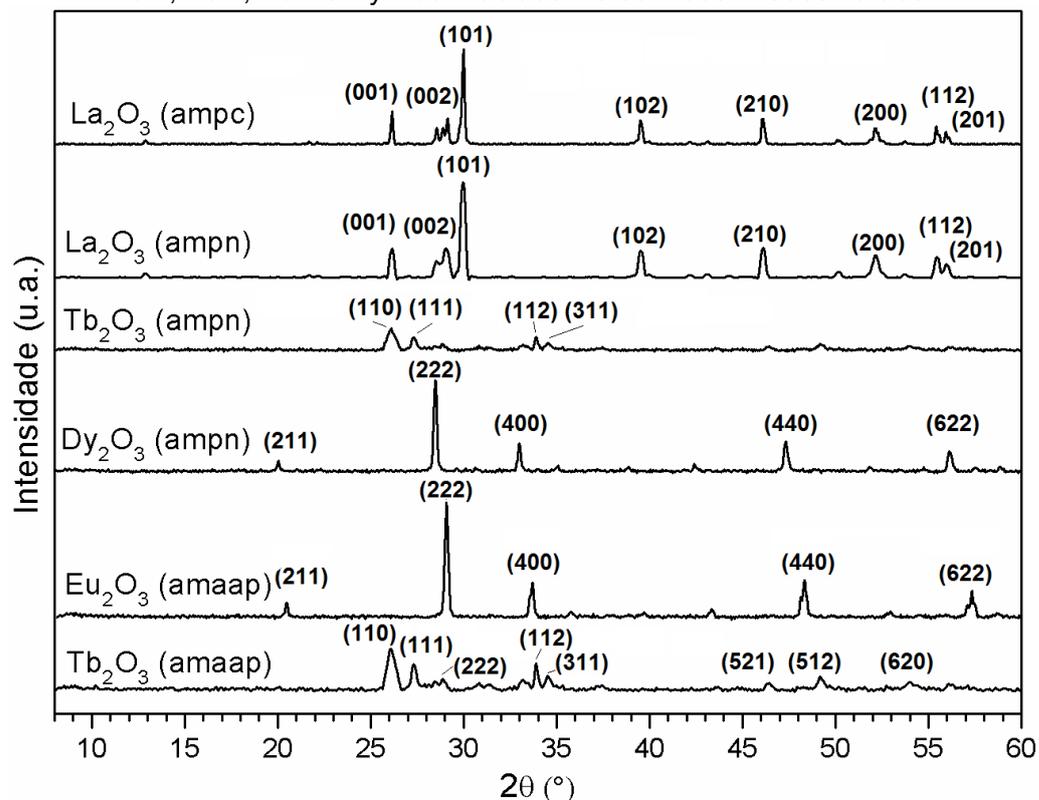
Íon	Massa do complexo (g)	Massa do resíduo (g)	% (m/m) (calculada)	% (m/m) (teórica)*	$n \text{ Ln}^{3+}$ (calculado)	$n \text{ Ln}^{3+}$ (teórico)
La³⁺	0,1002	0,0168	16,77	16,59	1,01	1
Eu³⁺	0,1014	0,0177	17,46	17,68	0,98	1
Tb³⁺	0,1008	0,0189	18,75	18,65**	1,01	1
Dy³⁺	0,1011	0,0186	18,40	18,54	0,99	1

Nota: * com base no óxido (Ln_2O_3). ** com base no Tb_4O_7 . Fonte: Autoria própria.

5.2.5 Difractogramas de raios-X dos resíduos de calcinação dos complexos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos

Os difractogramas dos resíduos de calcinação dos complexos de lantanídeos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos estão na Figura 34. As amostras contendo íons La^{3+} , Eu^{3+} e Dy^{3+} apresentaram óxidos com alta cristalinidade, com sinais de difração estreitos bem resolvidos. Em contrapartida, as amostras contendo Tb^{3+} demonstraram ter menor cristalinidade e ainda não apresentaram fase pura. Comparando-se os dados experimentais com o banco de dados do equipamento de DRX e com a literatura, nota-se a presença de uma mistura dos sistemas cristalinos de Tb_2O_3 monoclínico e cúbico. Este fato não se torna relevante para a identificação qualitativa da composição do resíduo, já que ambos os sistemas obedecem a fórmula Tb_2O_3 . Ademais, a ausência de um sinal intenso em $2\theta = 29,25^\circ$ (referente ao plano 111 do Tb_4O_7) sustenta a tese de que não deve haver íons Tb^{4+} no resíduo, e portanto, o óxido provavelmente é constituído exclusivamente de Tb_2O_3 (ZHANG et al., 2015). Os demais resíduos concordam com a fórmula Ln_2O_3 (onde $\text{Ln} = \text{La}^{3+}$, Eu^{3+} ou Dy^{3+}), conforme indicado pela grande semelhança com os padrões relatados na literatura (XU et al., 2013; YAN et al., 2009; LONAPPAN et al., 2010; ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2009).

Figura 34 - Difratomogramas de raios-X de pó dos resíduos de calcinação dos complexos de La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com ácidos maleâmicos *N*-substituídos.



Fonte: Autoria própria.

Os demais dados cristalográficos como grupo espacial, sistema cristalino, índices de Miller e a comparação dos valores de 2θ ($^\circ$) experimentais com os da literatura e do banco de dados, estão relacionados na Tabela 18.

Os resultados obtidos por DRX reafirmam a validade das estequiometrias propostas para os complexos de lantanídeos por meio de TGA, uma vez que os resíduos foram identificados como óxidos puros desses metais.

Tabela 18 - Dados de DRX dos resíduos de calcinação dos complexos de La³⁺, Eu³⁺, Tb³⁺ e Dy³⁺ com ácidos maleâmicos *N*-substituídos.

Resíduo de La₂O₃ (ampc)			Resíduo de La₂O₃ (ampn)		
Grupo espacial: P 321 (150)			Grupo espacial: P 321 (150)		
Sistema: Hexagonal			Sistema: Hexagonal		
h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)	h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)
(0 0 1)	26,162	26,15	(0 0 1)	26,162	26,10
(0 0 2)	29,16	28,55	(0 0 2)	29,16	28,75
(1 0 1)	30,018	30,00	(1 0 1)	30,018	30,00
(1 0 2)	39,573	39,50	(1 0 2)	39,573	39,50
(2 1 0)	46,159	46,10	(2 1 0)	46,159	46,10
(2 0 0)	52,236	52,15	(2 0 0)	52,236	52,25
(1 1 2)	55,535	55,45	(1 1 2)	55,535	55,45
(2 0 1)	56,048	55,95	(2 0 1)	56,048	56,00

Resíduo de Tb₂O₃ (ampn)			Resíduo de Tb₂O₃ (amaap)		
Grupo espacial: -			Grupo espacial: -		
Sistema: Cúbico / Monoclínico			Sistema: Cúbico / Monoclínico		
h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)	h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)
(1 1 0)	25,99	26,10	(1 1 0)	25,99	26,05
(1 1 1)	27,60	27,30	(1 1 1)	27,60	27,35
(1 1 2)	34,17	33,90	(2 2 2)	28,88	28,80
(3 1 1)	34,67	34,55	(1 1 2)	34,17	33,90
			(3 1 1)	34,67	34,65
			(5 2 1)	46,45	46,45
			(5 1 2)	49,46	49,20
			(6 2 0)	54,17	54,00

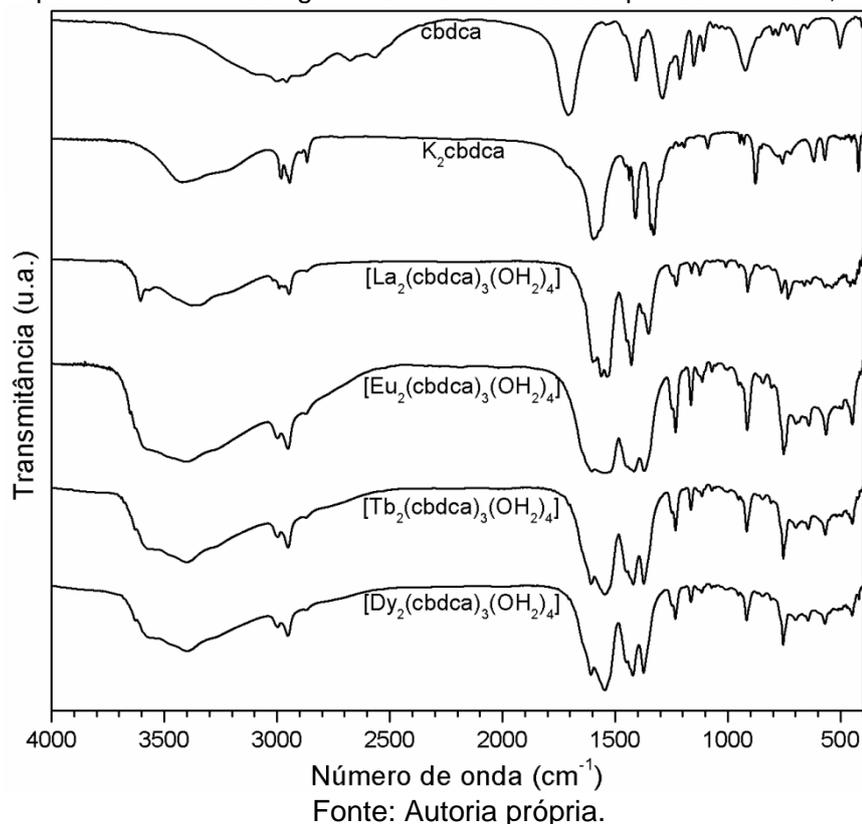
Resíduo de Eu₂O₃ (maap)			Resíduo de Dy₂O₃ (ampn)		
Grupo espacial: Ia3 (206)			Grupo espacial: I 213 (199)		
Sistema: Cúbico			Sistema: Cúbico		
h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)	h k l	2θ (°) (banco)	2θ (°) (experimental)
(2 1 1)	20,048	20,05	(2 1 1)	20,45	20,40
(2 2 2)	28,501	28,45	(2 2 2)	29,05	29,10
(4 0 0)	33,027	32,95	(4 0 0)	33,7	33,75
(4 4 0)	47,404	47,25	(4 4 0)	48,4	48,25
(6 2 2)	56,246	56,05	(6 2 2)	57,46	57,35

Fonte: Banco de dados "Crystallography Open Data" do equipamento de DRX; (XU et al., 2013; YAN et al., 2009; LONAPPAN et al., 2010; ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2009).

5.2.6 FTIR dos complexos com CBDCA

A formação dos complexos foi avaliada por FTIR. Os espectros dos complexos de La³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺ com CBDCA mostraram padrão geral semelhante (Figura 35), porém o de Eu³⁺ apresentou algumas bandas desdobradas com relação aos seus análogos.

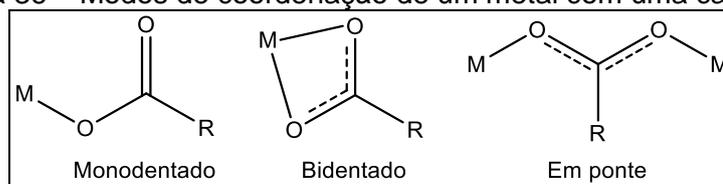
Figura 35 – Espectros de FTIR do ligante CBDCA e seus complexos com La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} .



O estiramento da carbonila ($\nu_{\text{C=O}}$) do ligante ocorre em 1702 cm^{-1} , e para os complexos houve o deslocamento para menores valores de número de onda ($1543 - 1604 \text{ cm}^{-1}$), sugerindo que houve a formação de ligação de coordenação (RZĄCZYŃSKA, BARTYZEL, 2002). Ao ocorrer a coordenação do metal na carboxila, o sistema massa-mola (ou átomo-ligação) oscila em uma frequência menor devido à maior massa do metal comparado ao hidrogênio do ácido carboxílico (NAKAMOTO, 1986). Quando átomos mais pesados estão ligados ao grupo em questão, a frequência de oscilação diminui, já que frequência e massa reduzida são inversamente proporcionais (aplicação da Lei de Hooke) (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2006). Além disso, a ligação de coordenação afeta a força da ligação C-O, pois muda o caráter da ligação π (pi) para ligação σ (sigma).

Segundo a literatura, os ácidos carboxílicos podem formar complexos de três maneiras com uma mesma carboxila: monodentado, bidentado ou em ponte (Figura 36) (NAKAMOTO, 1986).

Figura 36 – Modos de coordenação de um metal com uma carboxila.



Fonte: baseado na referência (NAKAMOTO, 1986).

Deacon e Philips (1980) estudaram uma série de complexos de acetatos combinando técnicas de difração de raios-X, Raman e FTIR, e concluíram que é possível distinguir qual modo de coordenação a carboxila adota com o metal, calculando-se a diferença da frequência de absorção entre a banda de estiramento assimétrico de C=O ($\nu_a \text{ C=O}$) e do estiramento simétrico C-O ($\nu_s \text{ C-O}$):

$$\Delta\nu = (\nu_a \text{ C=O} - \nu_s \text{ C-O})$$

Em seguida é calculado o valor de $\Delta\nu$ para um sal desse ácido carboxílico, cuja interação entre o metal e a carboxila seja puramente iônica (ex: RCOO^-Na^+), e então são comparados com os valores de $\Delta\nu$ para os complexos. Os pesquisadores relatam os resultados para as três situações de coordenação:

- Para valores de $\Delta\nu$ do complexo muito maiores que do análogo iônico, o complexo estará coordenado no modo monodentado.
- Quando os valores de $\Delta\nu$ do complexo são significativamente menores que do complexo iônico, o complexo estará bidentado na mesma carboxila.
- No caso de valores de $\Delta\nu$ do complexo comparáveis com o do iônico, trata-se de uma coordenação em ponte (uma mesma carboxila ligada a dois metais).

Os pesquisadores ressaltam ainda que as conclusões desses resultados se aplicam mais adequadamente aos ácidos carboxílicos de cadeia alquílica ou arílica de cadeia curta, principalmente os simétricos. Dessa forma, como o ligante CBDCA apresenta eixo de simetria é possível extrapolar essas observações aos dados experimentais deste trabalho. Portanto, foram calculados os valores de $\Delta\nu$ complexos de lantanídeos com CBDCA e os resultados foram comparados com os sais de potássio do mesmo ligante (Tabela 19). Para os espectros de todos os complexos, nota-se a presença de bandas em 3395 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação O-H ($\nu_{\text{O-H}}$) das moléculas de água. Para o complexo de Európio, observa-se ainda a presença de uma banda estreita em 3652 cm^{-1} , atribuída aos estiramentos simétricos e assimétricos de O-H de moléculas de água realizando

ligações de hidrogênio, típicas de cristalização de água de complexos hidratados (NAKAMOTO, 1986).

Tabela 19 – Valores de $\nu_{a\text{C=O}}$, $\nu_{s\text{C-O}}$, $\Delta\nu$ para os complexos de lantanídeos com CBDCA.

Complexo	$\nu_{a\text{C=O}}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{s\text{C-O}}$ (cm ⁻¹)	$\Delta\nu$	Modo de coordenação
[La ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄]	1564	1362	202	Bidentado
[Eu ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄]	1543	1369	174	Bidentado
[Tb ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄]	1555	1371	184	Bidentado
[Dy ₂ (cbdca) ₃ (OH ₂) ₄]	1547	1365	182	Bidentado
K ₂ cbdca	1596	1329	267	lônico

Legenda: $\nu_{a\text{C=O}}$: estiramento assimétrico C=O. $\nu_{s\text{C-O}}$: estiramento simétrico C-O. Fonte: Autoria própria.

Por se tratarem de complexos hidratados, ocorre o surgimento de novos modos vibracionais das moléculas de água: a flexão no plano (“*rocking*”) como valores entre 843 – 856 cm⁻¹, e a flexão fora do plano (“*wagging*”) com valores entre 755 – 765 cm⁻¹, ratificando a coordenação de moléculas de água aos lantanídeos (NAKAMOTO, 1986). Por fim, pode-se observar bandas em 432 a 458 cm⁻¹ relacionadas aos estiramentos das ligações Metal-Oxigênio ($\nu_{\text{M-O}}$) para todos os complexos, corroborando que a reação de formação dos complexos de lantanídeos com o ligante CBDCA foi realizada com êxito (NAKAMOTO, 1986).

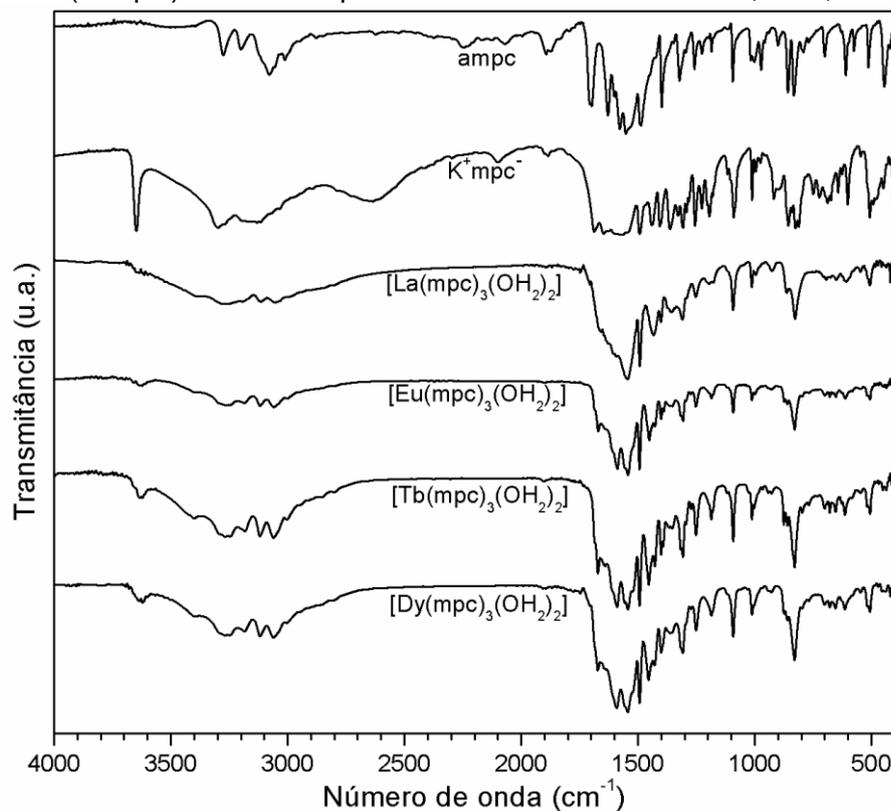
5.2.7 FTIR dos complexos com ácidos maleâmicos *N*-substituídos

Os dados de FTIR do ligante ampc, seu sal de potássio e seus complexos com La³⁺, Eu³⁺, Tb³⁺ e Dy³⁺ estão mostrados na Figura 37. No espectro do ligante ampc, pode-se notar a presença de banda de estiramento da ligação N-H de amida secundária ($\nu_{\text{N-H}}$) em 3275 cm⁻¹; estiramentos assimétricos da ligação C-H ($\nu_{as\text{C-H}}$) em 3078, 3059 e 3012 cm⁻¹ e simétricos ($\nu_{s\text{C-H}}$) em 2975 e 2877 cm⁻¹ de carbonos do anel aromático e do alceno; bandas de harmônicos ou de combinação em 3200 cm⁻¹ e entre 2251 e 1732; estiramentos das carbonilas ($\nu_{\text{C=O}}$) de ácido carboxílico e de amida em 1705 e 1698 cm⁻¹, respectivamente; estiramento da ligação C=C de alceno cis dissubstituído ($\nu_{\text{C=C alceno cis}}$) em 1629 cm⁻¹; estiramentos das ligações C=C de anel aromático ($\nu_{\text{C=C arom.}}$) em 1601 e 1487 cm⁻¹; deformação angular no plano da ligação N-H ($\delta_{\text{N-H no plano}}$) entre 1578 e 1552 cm⁻¹; estiramentos das ligações C-N ($\nu_{\text{C-N}}$) em 1398 e 1320 cm⁻¹; estiramentos das ligações C-O da carboxila ($\nu_{\text{C-O}}$) entre 1258 e 1185 cm⁻¹; estiramento da ligação C-Cl de cloreto de arila ($\nu_{\text{C-Cl}}$) em

1094 cm^{-1} ; deformação angular fora do plano da ligação O-H ($\delta_{\text{O-H f. do plano}}$) em 973 cm^{-1} ; deformação angular fora do plano da ligação C-H de anel aromático *para*-substituído ($\delta_{\text{C-H arom. f. do pl. para}}$) em 858 cm^{-1} ; deformação angular fora do plano da ligação C-H de alceno *cis* dissustituído ($\delta_{\text{C-H alceno f. do pl. cis}}$) em 699 cm^{-1} ; deformação angular fora do plano da ligação N-H ($\delta_{\text{N-H f. do pl.}}$) entre 669 e 610 cm^{-1} ; deformação angular fora do plano das ligações C=C do anel aromático e do alceno ($\delta_{\text{C=C f. do pl.}}$) em 513 e 445 cm^{-1} (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002).

Os espectros de FTIR dos complexos de lantanídeos com o ligante ampc, além de apresentarem as principais bandas do ligante, mostraram evidentes deslocamentos da banda de $\nu_{\text{C=O}}$ da carboxila de 1705 cm^{-1} para 1543 cm^{-1} (para Eu^{3+} e Tb^{3+}) e 1544 cm^{-1} (La^{3+} e Dy^{3+}), indicando a formação de ligação de coordenação por esses grupos do ligante. Pode-se ainda perceber a presença de bandas menos intensas em torno de 1690 a 1670 cm^{-1} , atribuídas a $\nu_{\text{C=O}}$ de amida. Para essas bandas não houve deslocamentos significativos, sugerindo que estes grupos interagem pouco com os metais e que provavelmente não há formação de ligação coordenada por esta região da molécula do ligante ampc.

Figura 37 – Espectros de FTIR do ligante ácido *N*-(*p*-clorofenil)maleâmico (ampc), seu sal de potássio (K^+mpc^-) e seus complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} .



Fonte: Autoria própria.

Os espectros do ligante ampb tiveram grande semelhança com aqueles preparados com o ampc, destacando a diferença apenas da presença de estiramento da ligação C-Br de brometo de arila ($\nu_{\text{C-Br}}$) em 1073 cm^{-1} (Figura 38). Os demais modos vibracionais e valores de números de onda para as principais bandas estão listados na Tabela 20 (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002). Novamente, evidenciam-se deslocamentos das bandas de $\nu_{\text{C=O}}$ de 1707 cm^{-1} para os valores de $1546 \text{ (La}^{3+}\text{)}$, $1541 \text{ (Eu}^{3+}\text{)}$, e $1543 \text{ cm}^{-1} \text{ (Tb}^{3+} \text{ e Dy}^{3+}\text{)}$, indicando a coordenação desses íons pela carboxila do ligante ampb. Similarmente ao comportamento do ligante ampc, nota-se a presença de bandas em torno de 1670 cm^{-1} , atribuídas às carbonilas do grupo amida, não coordenadas com os metais.

Figura 38 – Espectros de FTIR do ligante ácido *N*-(*p*-bromofenil)maleâmico (ampb), seu sal de potássio (K^+mpb^-) e seus complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} .

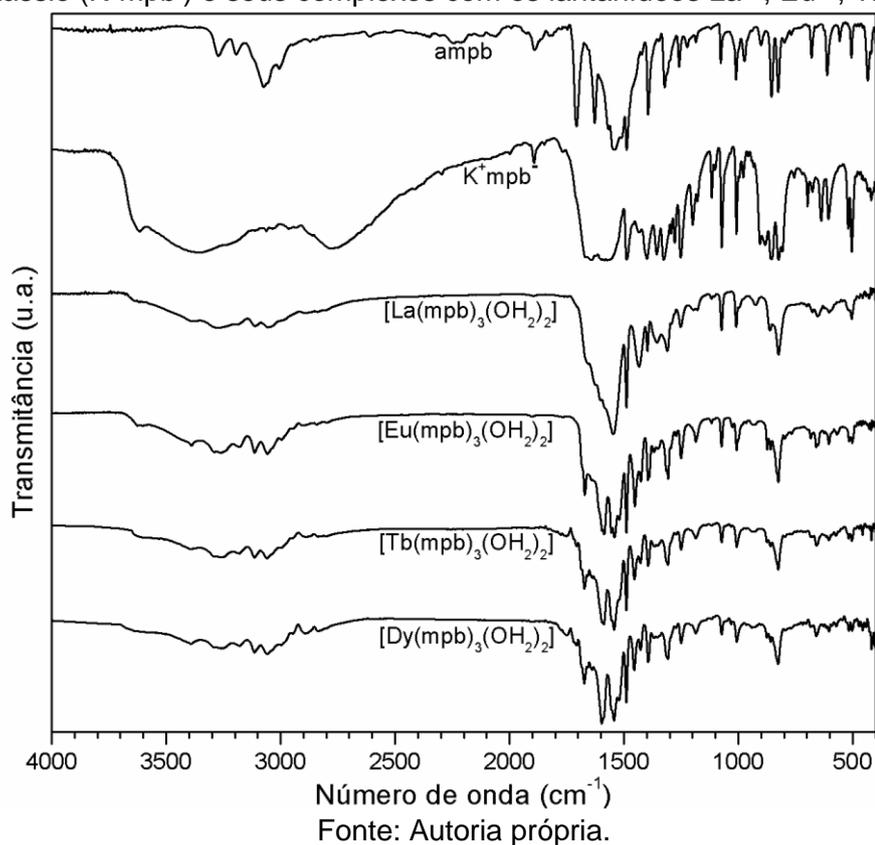


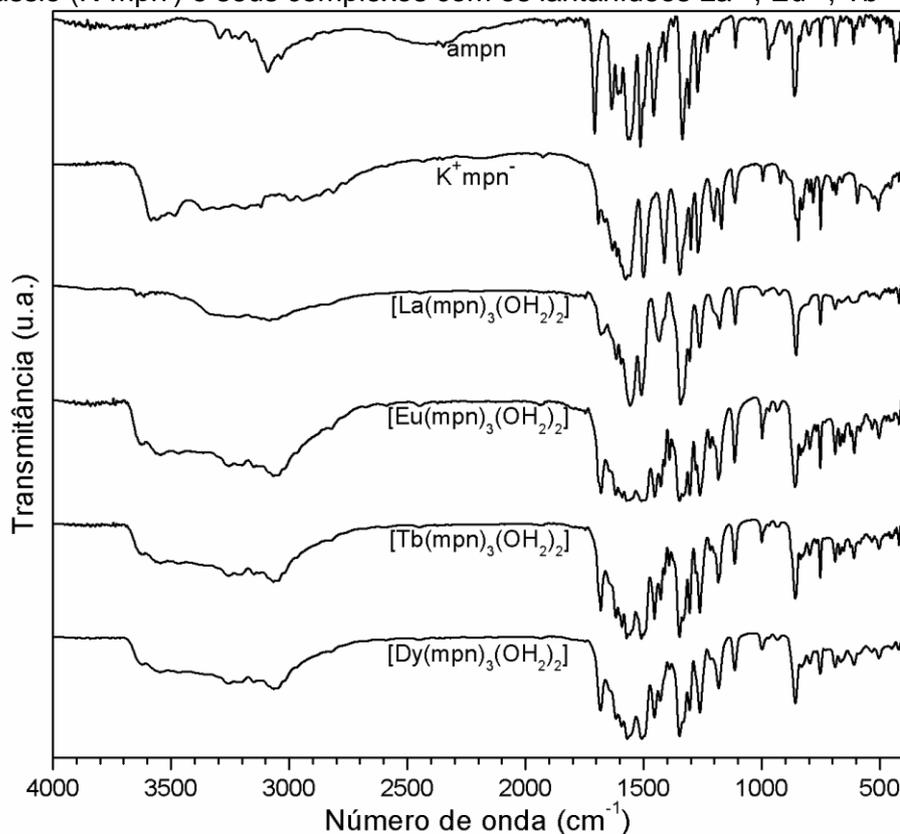
Tabela 20 - Dados de FTIR do ligante ampb, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.

Modo vibracional	Número de Onda (cm ⁻¹)
V N-H	3272
V _{ass} =C-H	3123, 3073, 3057, 3006
V _s =C-H	2946, 2871
Bandas de combinação ou harmônicas	3194, 2057 a 1825
V C=O	1707
V C=C alceno cis	1628
V C=C aromático <i>para</i> -substituído	1567 e 1487
δ N-H no plano	1539, 1510
V C-N	1395
V C-O	1322 a 1259
V C-Br	1073
δ O-H fora do plano	973
δ C-H aromático fora do plano, <i>para</i> -substituído	856
δ C-H alceno cis fora do plano	681
δ N-H fora do plano	611 a 552
δ C=C alceno ou aromático fora do plano	503, 479, 435, 420

Fonte: Autoria própria.

O espectro de FTIR do ligante ampn (Figura 39), além das bandas características de ácidos maleâmicos observadas nos espectros anteriores, mostrou bandas de absorção características de nitrocompostos aromáticos, com destaque para as intensas bandas de estiramentos assimétricos e simétricos de N=O em 1514 e 1336 cm⁻¹, respectivamente. Os demais números de onda das bandas de absorção e atribuição dos modos vibracionais estão relacionados na Tabela 21 (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002).

Figura 39 – Espectros de FTIR do ligante ácido *N*-(*p*-nitrofenil)maleâmico (ampn), seu sal de potássio (K^+mpn^-) e seus complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} .



Fonte: Autoria própria.

Tabela 21 - Dados de FTIR do ligante ampn, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.

Modo vibracional	Número de Onda (cm^{-1})
ν N-H	3293
ν_{ass} =C-H	3160, 3112, 3089, 3033
ν_s =C-H	3002, 2905, 2832
Bandas de combinação ou harmônicas	2624 a 1746
ν C=O	1707
ν C=C alceno cis	1636
ν C=C aromático <i>para</i> -substituído	1597 e 1498
δ N-H no plano	1566, 1558
ν_{ass} N=O e ν_s N=O	1514 e 1336
ν C-N	1458, 1408
ν C-O	1308 a 1271
δ O-H fora do plano	971
δ C-H aromático fora do plano, <i>para</i> -substituído	862
δ C-H alceno cis fora do plano	688
δ N-H fora do plano	612 a 571
δ C=C alceno ou aromático fora do plano	503, 471, 432

Fonte: Autoria própria.

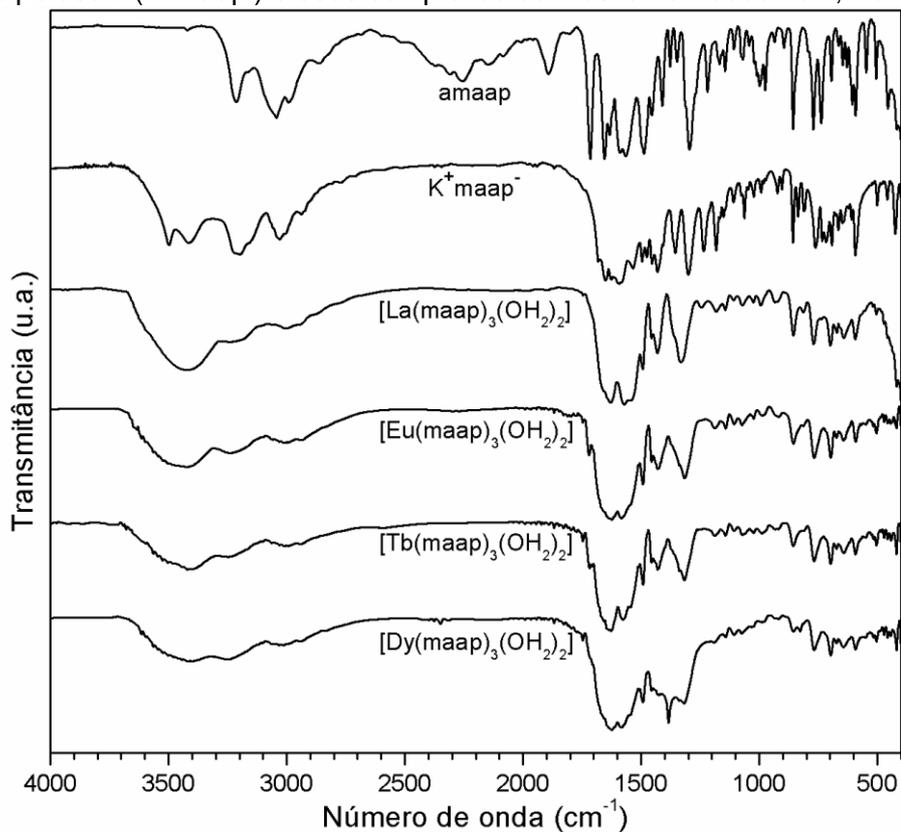
Para os complexos de lantanídeos com o ligante ampn, novamente foram constatados deslocamentos das bandas de $\nu_{C=O}$ de 1707 cm^{-1} para os valores de

1557, 1571, 1572 e 1569 cm^{-1} , para os íons La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} , respectivamente, indicando a coordenação desses íons pela carboxila do ligante ampn. Similarmente ao comportamento dos ligantes anteriormente discutidos, nota-se a presença de bandas em torno de 1680 cm^{-1} , atribuídas às carbonilas da amida, as quais não formaram ligação de coordenação com os metais, conforme sugerem os resultados de FTIR.

O espectro de FTIR do ligante amaap (Figura 40) apresentou perfil ligeiramente diferente daquele observado pelos outros ligantes. Além da presença das bandas de absorção do esqueleto do ácido maleâmico, a presença do grupo antipirínico adicionou novas bandas nos espectros, destacando-se as bandas de estiramento de carbonila de lactama *N*-fenil substituída em 1656 cm^{-1} , e das bandas de deformação angular de C-H de anel aromático monossustituído em 771 e 738 cm^{-1} . As demais atribuições de modos vibracionais e bandas de absorção estão listadas na Tabela 22 (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002).

Os complexos dos lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com o ligante amaap apresentaram evidentes deslocamentos da banda de estiramento de C=O ($\nu_{\text{C=O}}$) de ácido carboxílico de 1715 cm^{-1} para 1630, 1625, 1627 e 1624 cm^{-1} , respectivamente. Por outro lado, o sal de potássio do ligante (K^+maap^-) apresentou um deslocamento menor da banda de $\nu_{\text{C=O}}$ para 1680 cm^{-1} .

Figura 40 – Espectros de FTIR do ligante ácido *N*-(4-aminoantipirínil)maleâmico (amaap), seu sal de potássio (K^+maap^-) e seus complexos com os lantanídeos La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} .



Fonte: Autoria própria.

Tabela 22 - Dados de FTIR do ligante amaap, relacionando os modos vibracionais e os números de onda das bandas principais.

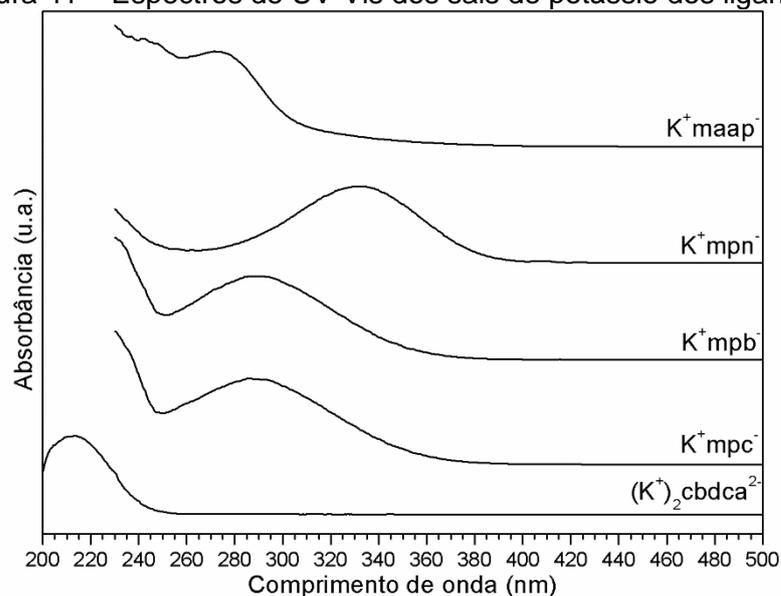
Modo vibracional	Número de Onda (cm^{-1})
V N-H	3212
V_{ass} =C-H aromático	3043
V_s C-H	2992, 2863
Bandas de combinação ou harmônicas	2500 a 1830
V C=O	1715, 1656
V C=C alceno cis	1633
V C=C aromático	1587 e 1487
δ N-H no plano	1565 a 1523
V C-N	1456, 1410, 1377
V C-O	1348, 1295
δ C-H	1220 a 1107
δ O-H fora do plano	975
δ C-H aromático mono-substituído, fora do plano	771 e 738
δ C-H alceno cis fora do plano	695
δ C-C-C	664 a 628
δ N-H fora do plano	607 e 593
δ C=C alceno ou aromático fora do plano	505, 456

Fonte: Autoria própria.

5.2.8 Espectroscopias de UV-Vis e de fotoluminescência

Preliminarmente, realizou-se espectroscopia de UV-Vis para investigar o comportamento de absorvância dos sais de potássio dos ligantes como objetivo de auxiliar os experimentos de excitação na espectroscopia de fotoluminescência. Os espectros estão apresentados na Figura 41.

Figura 41 – Espectros de UV-Vis dos sais de potássio dos ligantes.



Fonte: Autoria própria.

Todos os espectros demonstraram bandas largas na região do UV, característicos de compostos orgânicos. O sal ciclobutano-1,1,-dicarboxilato de potássio (K_2cbdca) apresentou absorção entre 200 e 250 nm com comprimento de onda máximo de absorção centrada em 214 nm. Essa banda corresponde à transição eletrônica dos elétrons dos orbitais não-ligantes para os orbitais π antiligantes ($n \rightarrow \pi^*$) das carboxilas. A ocorrência de bandas nessa região já era esperada, uma vez que este ligante não possui ligações duplas conjugadas.

Por outro lado, ao se observar os espectros dos maleamatos *N*-substituídos de potássio, nota-se a ocorrência de bandas de absorção em maiores comprimentos de onda, com baricentros em 286 nm (K^+mpc^-), 290 nm (K^+mpb^-), 331 nm (K^+mpn^-) e 271 nm (K^+maap^-), que podem ser atribuídas às transições eletrônicas dos elétrons dos orbitais π ligantes para os orbitais π antiligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$). Nesses casos, a presença de ligações duplas conjugadas e grupos cromóforos no anel aromático

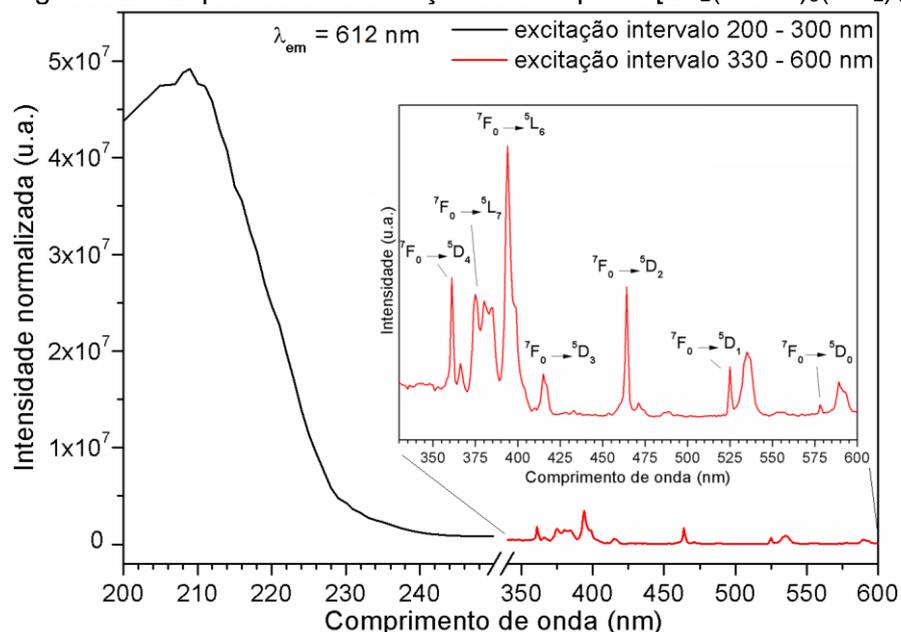
diminui a diferença energética entre os orbitais moleculares ocupados de mais alta energia (HOMO) e os orbitais moleculares não ocupados de menor energia (LUMO), e como consequência, aumenta-se o comprimento de onda de absorção, já que a energia é inversamente proporcional ao comprimento de onda (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2006).

Os espectros de luminescência dos complexos de Európio, Térbio e Disprósio com o ligante CDBCA foram estudados por espectroscopia de fotoluminescência (PL). No entanto, serão discutidos somente os complexos de Európio e Térbio, já que o complexo de Disprósio com CDBCA não apresentou luminescência significativa.

Esta técnica analisa a intensidade luminosa emitida pela amostra em diferentes comprimentos de onda, a partir da sua excitação com lâmpadas ou lasers contínuos. Os sinais refletem os níveis de energia envolvidos nas transições eletrônicas, e permitem entender possíveis mecanismos de transferência de energia entre espécies da amostra. Na aquisição de um espectro de excitação, seleciona-se um comprimento de onda no qual se acredita que a amostra tenha emissão, e o equipamento faz a varredura de quais comprimentos de onda ocorre maior absorção de luz. No caso da emissão ocorre o inverso. A amostra é excitada com uma luz de comprimento de onda de sua máxima absorção, e o equipamento detecta quais comprimentos de onda tem maior intensidade emitida.

A Figura 42 mostra um espectro de excitação do complexo $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$ em estado sólido, monitorando a emissão em 612 nm. Pode-se perceber uma banda larga entre 200 – 230 nm, com máximo em 209 nm, atribuída às transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ nas carboxilas do ligante CBDCA. Na região espectral de 330 a 600 nm, verifica-se uma série de sinais estreitos, que podem ser relacionados às transições eletrônicas internas dos orbitais $4f$ do Európio. Essas transições envolvem absorção de luz pelo íon no estado fundamental (7F_0) para estados excitados (${}^5D_{J=4-0}$ e ${}^5L_{7,6}$) (CARNALL, FIELDS, RAJNAK, 1968). Se compararmos as intensidades relativas das duas regiões espectrais, é notável que a banda referente ao ligante é muito mais intensa do que os sinais de absorção do íon Eu^{3+} . Isso já era esperado já que as absorvidades molares dos lantanídeos são baixas quando comparadas àquelas das moléculas orgânicas.

Figura 42 – Espectros de excitação do complexo $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$.



Nota: O gráfico inserido é a ampliação da região entre 330 a 600 nm. Fonte: Autoria própria.

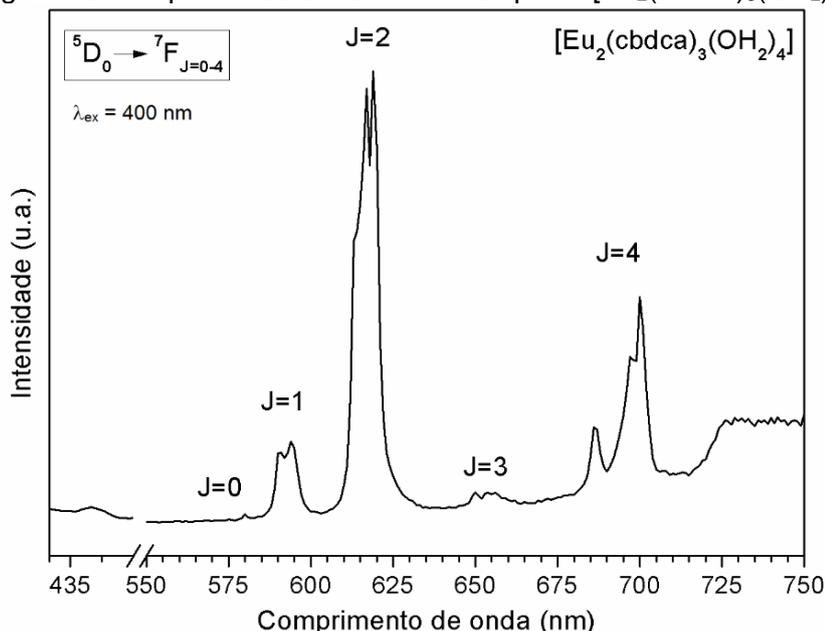
O perfil da luminescência do complexo de európio com cbdca está mostrado no espectro de emissão da Figura 43. O espectro apresenta as bandas de emissão correspondentes às transições intraconfiguracionais dos orbitais $4f^6$ do íon Eu^{3+} , assinaladas como $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_{J=0-5}$. A banda de maior intensidade corresponde à transição do estado excitado $^5\text{D}_0$ para o multipletto fundamental $^7\text{F}_2$, que ocorre entre 610 e 625 nm, e é responsável pela intensa cor rosada desse complexo. Esta é uma transição que ocorre por mecanismo de dipolo elétrico forçado e por acoplamento dinâmico, e é hipersensível ao ambiente ligante, constituindo-se como uma poderosa fonte de informações acerca da vizinhança desse íon. Logo, esta característica se torna atrativa para no âmbito de aplicações biológicas como sonda luminescente, já que as interações do íon Eu^{3+} com biomoléculas podem afetar diferentemente essa transição (RICHARDSON, 1982; COMBY, BÜNZLI, 2007).

As regras de seleção de dipolos elétricos proíbem as transições nas subcamadas $4f$, mas elas podem ocorrer porque essas regras são relaxadas por vários mecanismos. Um importante deles é o acoplamento com modos vibracionais, no qual uma vibração molecular altera temporariamente a geometria ao redor do íon metálico e, portanto, sua simetria. Outros mecanismos que relaxam as regras de seleção são a mistura J e a mistura com funções de onda de paridade oposta, tais como orbitais $5d$. Em vista da blindagem dos orbitais $4f$, o grau de mistura permanece pequeno, assim como as forças dos osciladores das transições $f-f$. Como

consequência, a excitação direta dos íons Lantanídeos dificilmente produzirá materiais altamente luminescentes (CARNALL, FIELDS, RAJNAK, 1968).

A excitação indireta por meio de um ligante que transfere energia para o íon lantanídeo é conhecida como efeito de antena, e é uma forma de melhorar a absorção de luz pelo complexo e intensificar a emissão, já que geralmente os ligantes são orgânicos e possuem uma grande absorvidade molar (COMBY, BÜNZLI, 2007). No caso do complexo de Eu^{3+} com cbdca, não se verifica transferência de energia entre o ligante CBDCA e o íon európio, pois ao realizar a excitação no comprimento de onda máximo de absorção do ligante (209 nm), o complexo não apresenta emissão intensa. Isso devido aos estados excitados do ligante estarem em níveis de energia muito altos com relação ao estado excitado $^5\text{D}_0$ do európio.

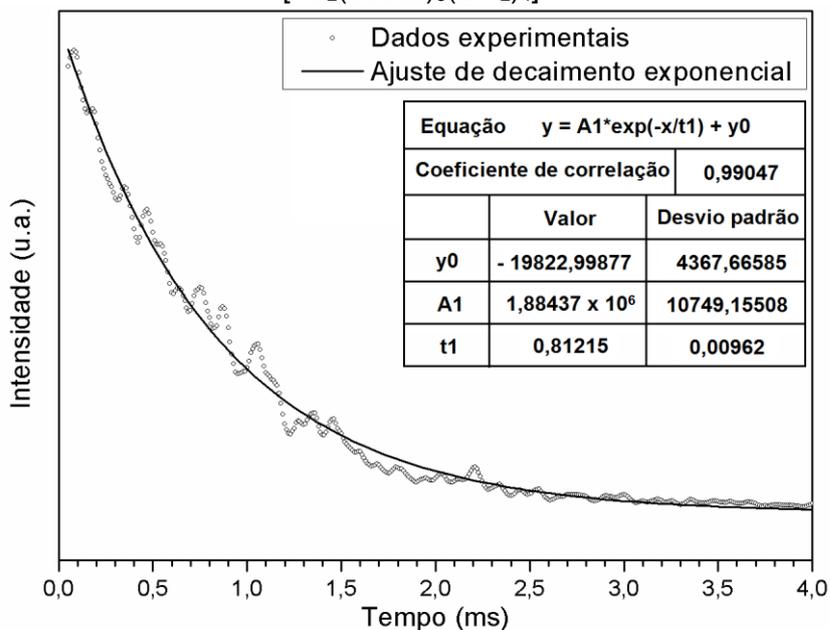
Figura 43 – Espectro de emissão do complexo $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$.



Nota: para melhor visualização, o espectro está descontinuado entre 450 e 550 nm. Fonte: Autoria própria.

O tempo de vida para a transição principal do Európio ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$) foi estimado por ajuste das curvas de decaimento exponencial da luminescência (Figura 44), e o tempo de vida médio foi estimado em 0,81 ms.

Figura 44 – Decaimento da luminescência resolvido no tempo para o complexo $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$.

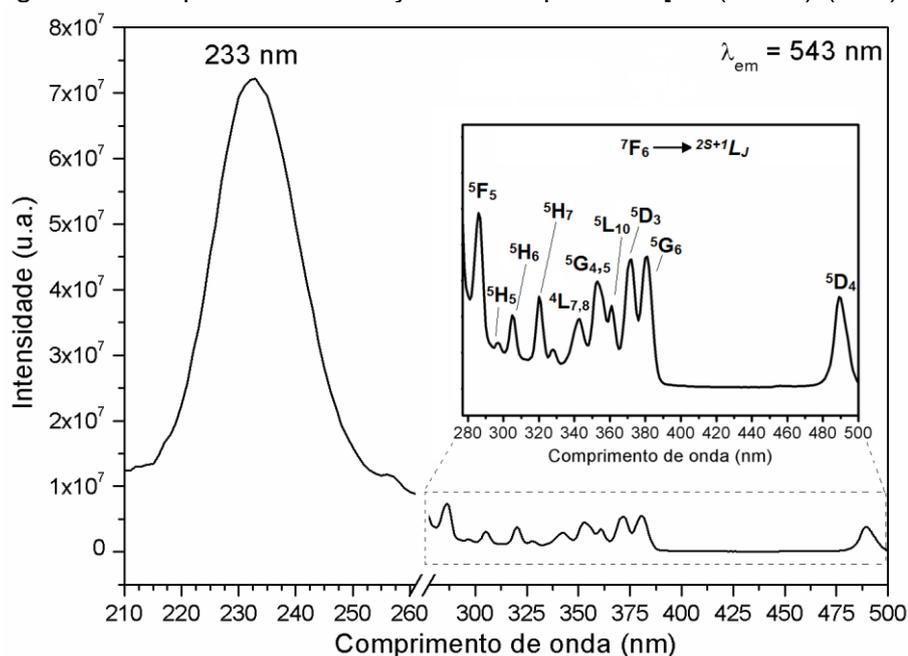


Nota: a tabela inserida relaciona os parâmetros calculados pelo ajuste de decaimento exponencial de primeira ordem. Fonte: Autoria própria.

Para o complexo de Tértbio, o espectro de excitação (Figura 45) foi realizado monitorando o comprimento de onda de emissão em 543 nm. Semelhantemente ao complexo de európio, é possível notar a presença de uma banda larga na região entre 200 – 260 nm, com baricentro em 233 nm, que foi atribuída à transição eletrônica do tipo $n \rightarrow \pi^*$ nas carboxilas do ligante CBDCA.

Na região entre 280 a 500 nm do espectro de excitação, é evidente a presença de vários sinais estreitos, característicos das absorções nos níveis de energia interna dos orbitais $4f^8$ íon Tértbio. As transições eletrônicas foram atribuídas à excitação do estado fundamental 7F_6 , para os demais estados excitados 5F_5 , 5H_5 , 5H_7,10 , $^4L_{7,8}$, $^5G_{4-6}$ e 5D_4 (CARNALL, FIELDS, RAJNAK, 1968; DOUSTI, AMJAD, 2015).

Figura 45 – Espectro de excitação do complexo de $[\text{Tb}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$.

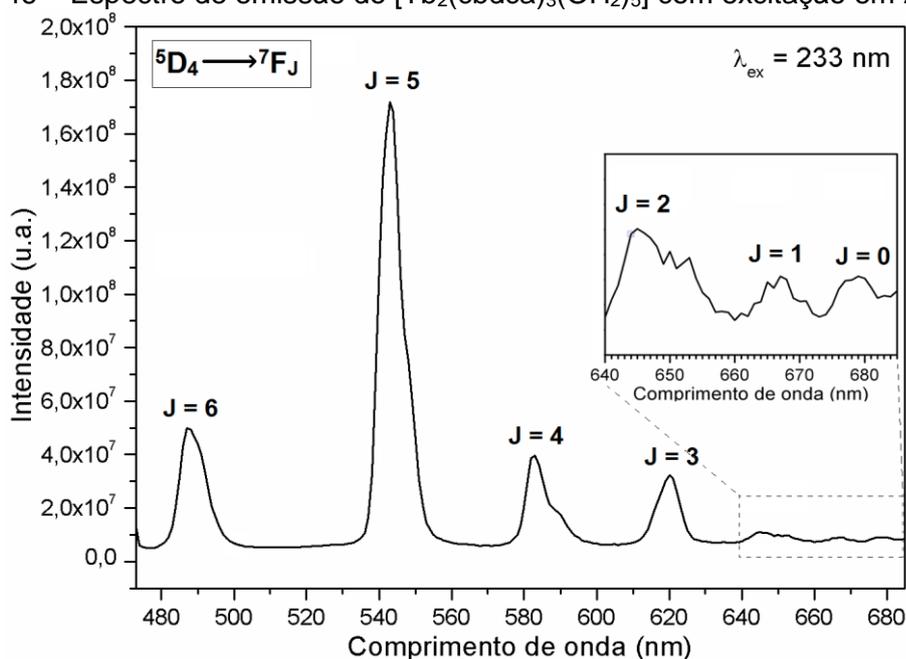


Fonte: Autoria própria.

A emissão do complexo de térbio com excitação em 233 nm está representada na Figura 46. O comportamento encontrado é característico de compostos fotoluminescentes de térbio, com sinais bem resolvidos em 487, 543, 583, 620, 645, 667 e 679 nm, atribuídos às transições eletrônicas internas dos orbitais $4f^8$ do Térbio do estado excitado 5D_4 aos multipletos fundamentais $^7F_{J=6-0}$, respectivamente. A banda mais intensa, com baricentro em 543 nm, é responsável pela coloração verde da emissão luminosa deste complexo.

Além disso, como a excitação com comprimento de onda no máximo de absorção do ligante CBDCA (233 nm) ocasionou a presença de bandas intensas no espectro de emissão, pode-se inferir que há uma transferência de energia eficiente do ligante para o íon Térbio pelo chamado efeito antena, destacando o CBDCA como um ligante promissor para a sensibilização da fotoluminescência desse lantanídeo.

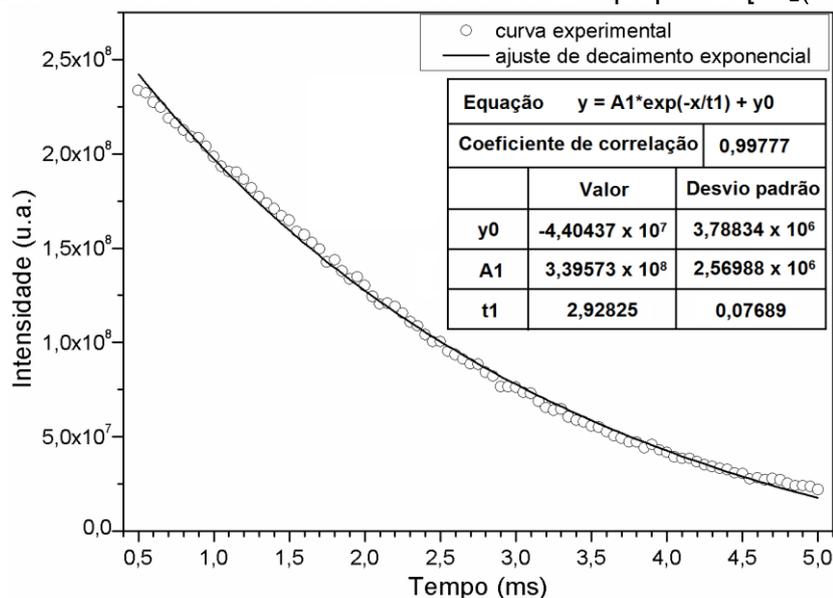
Figura 46 – Espectro de emissão do $[\text{Tb}_2(\text{cbdc})_3(\text{OH}_2)_5]$ com excitação em 233 nm.



Fonte: Autoria própria.

Realizou-se a medida de decaimento da luminescência resolvido no tempo para o complexo de térbio, com excitação fixa em 233 nm e emissão fixa em 543 nm. Observando a Figura 47, percebe-se que a curva experimental teve excelente concordância com a curva ajustada do tipo decaimento exponencial de primeira ordem, evidenciada pelo coeficiente de correlação (R) de 0,99777. Além disso, ao aplicar o logaritmo apresentou uma única inclinação, indicando que o complexo $[\text{Tb}_2(\text{cbdc})_3(\text{OH}_2)_5]$ apresenta apenas um tempo de vida médio. Esse fato indica uma homogeneidade do ambiente químico, sugerindo que o metal tem a mesma simetria ao longo do seio do complexo em estado sólido.

O tempo de vida da luminescência com emissão em 543 nm foi estimado em cerca de 2,93 milissegundos, que é considerado longo comparado aos fluoróforos orgânicos como corantes do tipo fluoresceína e rodamina, os quais apresentam tempos de vida da ordem de nanossegundos. O longo tempo de vida apresentado é uma característica interessante para que, após a excitação, a luminescência persista por mais tempo para servir como sonda da interação do complexo com biomoléculas diversas. Dessa forma, um possível fármaco luminescente poderia ter sua atividade biológica mais facilmente monitorada em microscópio de fluorescência, para auxiliar no entendimento e elucidação dos seus mecanismos de ação.

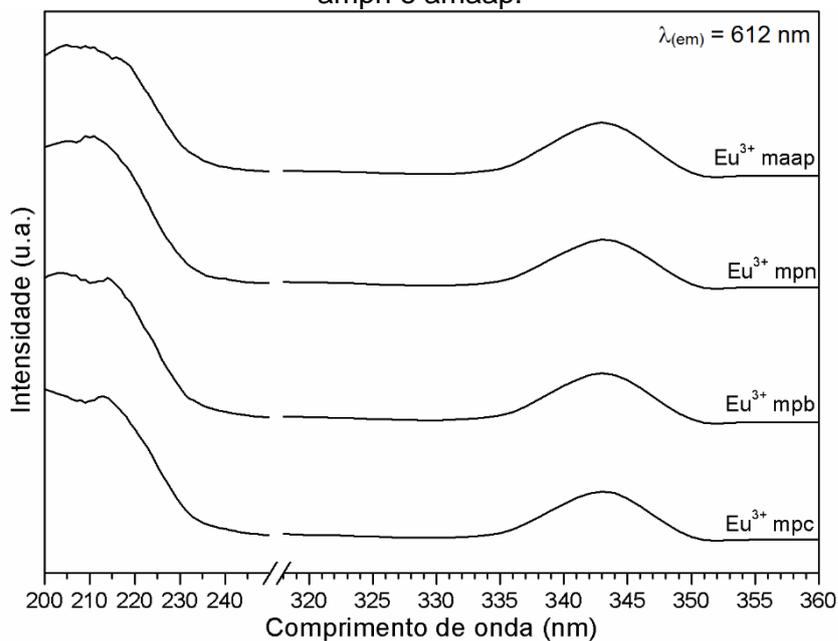
Figura 47 – Decaimento da luminescência resolvido no tempo para o $[\text{Tb}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_5]$.

Nota: a tabela inserida relaciona os parâmetros calculados pelo ajuste de decaimento exponencial de primeira ordem. Fonte: Autoria própria.

A espectroscopia de fotoluminescência dos complexos dos lantanídeos Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} com ácidos maleâmicos *N*-substituídos revelou que para esta classe de ligantes, somente os complexos com íons Eu^{3+} apresentaram luminescência e, portanto, apenas estes serão discutidos abaixo.

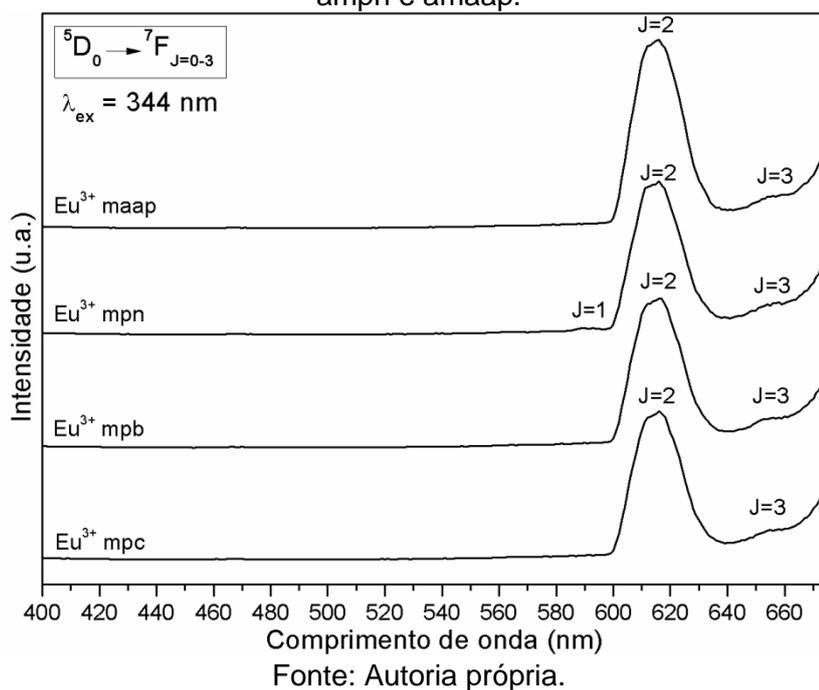
Os espectros de excitação dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes amp_c, amp_b, amp_n e amaap, com monitoramento do comprimento de onda de emissão em 612 nm, estão apresentados na Figura 48. É possível observar a grande semelhança entre todos os espectros. Nota-se a presença de uma banda de absorção larga na região entre 200 e 240 nm, com baricentro em 214 nm, e outra banda de menor intensidade entre 333 e 352 nm, com máximo em 344 nm. Essas bandas estão relacionadas com as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ dos ligantes, respectivamente.

Figura 48 – Espectros de excitação dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes ampc, ampb, ampn e amaap.



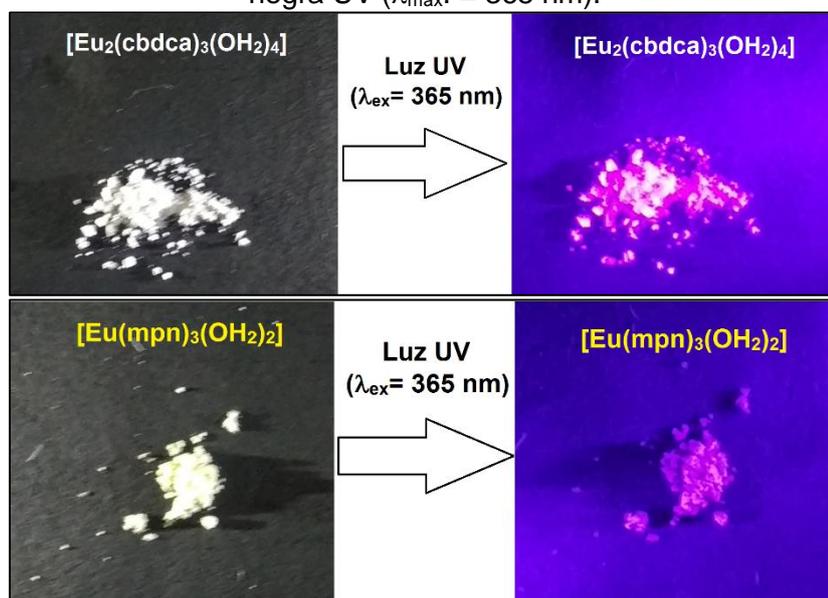
A Figura 49 apresenta os espectros de emissão dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes ampc, ampb, ampn e amaap, com comprimento de onda de excitação de 344 nm. Novamente, observa-se a similaridade dos espectros, com ligeira discrepância para o complexo de Eu^{3+} com ampn que apresentou um sinal adicional de baixa intensidade em 590 nm. Os sinais de emissão ocorreram em 590, 612 e 654 nm, e são atribuídos às transições eletrônicas intraconfiguracionais $4f \rightarrow 4f$ entre o estado excitado $^5\text{D}_0$ para o multiplete fundamental $^7\text{F}_J$ com $J=1, 2$ e 3 , respectivamente. O perfil simétrico do sinal em 612 nm (transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$) sugere que para estes complexos haja uma homogeneidade de ambientes químicos, já que esta transição é hipersensível ao campo ao redor do íon Eu^{3+} (BÜNZLI, 2015).

Figura 49 – Espectros de emissão dos complexos de Eu^{3+} com os ligantes ampc, ampb, ampn e amaap.



Uma inspeção visual dos pós dos complexos sintetizados quando são excitados por luz negra comum ($\lambda_{\text{máx.}} = 365 \text{ nm}$) revela que os complexos de Eu^{3+} com cbdca e Eu^{3+} com ampn foram os que apresentaram luminescência mais intensa nessa condição (Figura 50) e, portanto, foram selecionados para os testes com células no microscópio.

Figura 50 – Fotos dos complexos de Eu^{3+} com cbdca e com ampn sob irradiados com luz negra UV ($\lambda_{\text{máx.}} = 365 \text{ nm}$).

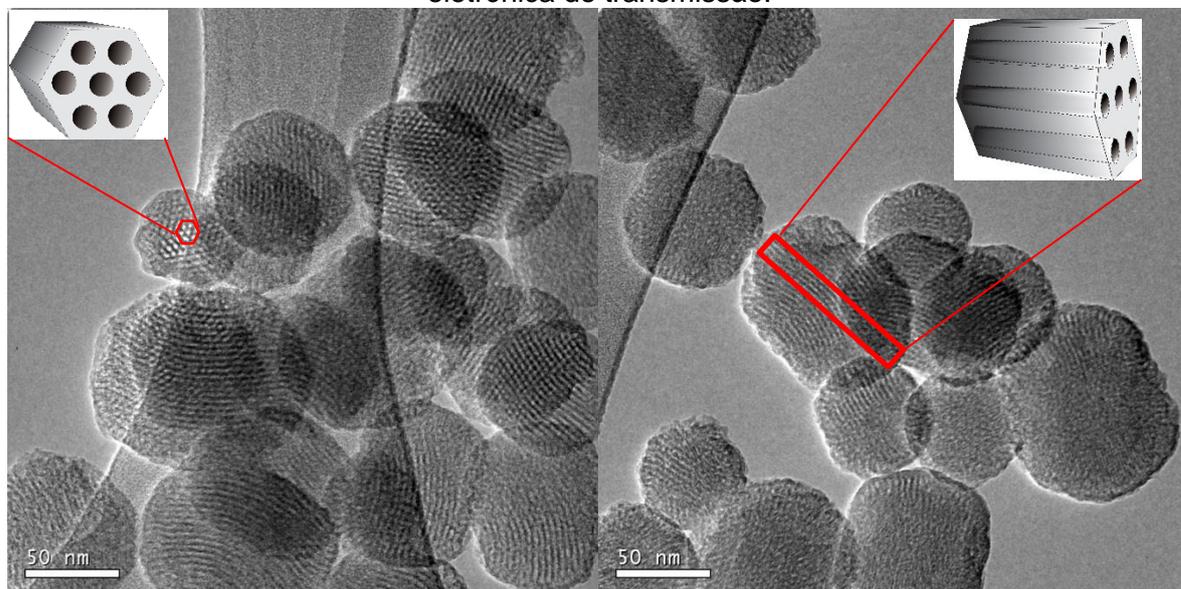


5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA

As imagens da Figura 51 foram obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Esta técnica é uma ferramenta poderosa para adquirir informações sobre a estrutura interna de diversos materiais, a partir da interação da amostra com um feixe de elétrons que a atravessa. Materiais porosos, como as nanopartículas de sílica mesoporosa, apresentam uma grande diferença de densidade eletrônica entre a parede inorgânica do sólido e o vazio do poro. Por este motivo os elétrons atravessam a amostra mais facilmente pelos poros do que pelo interior preenchido do material. Quando o detector reconhece uma maior intensidade de elétrons, a imagem gerada apresenta pontos mais claros. Dessa forma, podemos distinguir nas imagens onde estão localizados os poros do material.

Observa-se nas micrografias de TEM que as nanopartículas de sílica mesoporosa apresentam tamanho entre 50 e 100 nm, além de um conjunto de poros visivelmente bem ordenado e que estão arranjados em uma disposição hexagonal.

Figura 51 – Imagens das nanopartículas de sílica mesoporosa obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.



Nota: As imagens inseridas nas micrografias representam as imagens obtidas em diferentes direções do feixe de elétrons ao atingir a amostra.

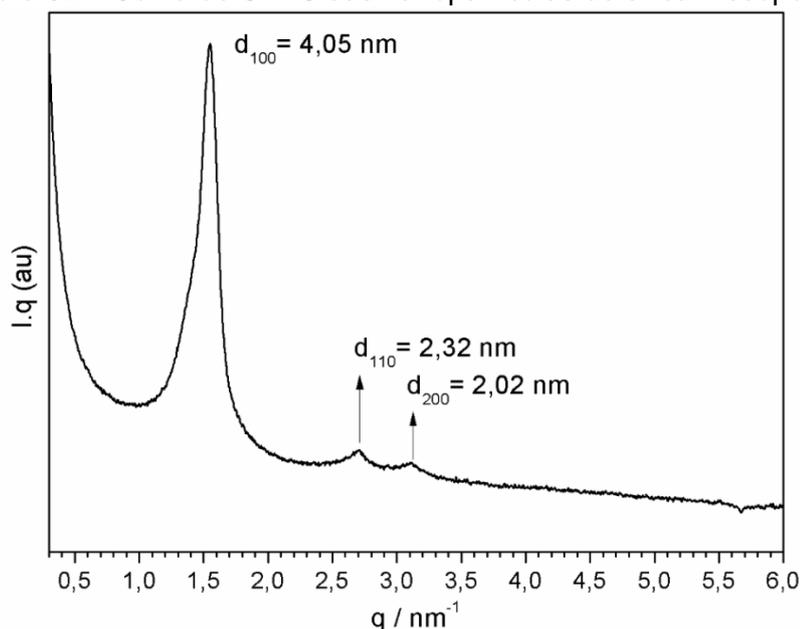
Fonte: Autoria própria.

O arranjo de poros e o grupo espacial (simetria) foram avaliados por experimentos de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS). Trata-se de uma técnica sensível ao ordenamento periódico em escala nanométrica, ou seja,

identifica possíveis repetições estruturais ao longo de todo o material. Os raios-X são incididos na amostra a qual espalha a radiação em diversos ângulos. Essas ondas interferem construtiva e destrutivamente, produzindo sinais com maior ou menor intensidade. Os detectores monitoram intensidades de espalhamento tipicamente abaixo de 5° , fornecendo informações da ordem de nanômetros. No caso de materiais mesoporosos a técnica de SAXS é útil, pois os diversos parâmetros estruturais (parâmetros de célula unitária, diâmetros de poros, distância interplanar de poros) se encontram nesta escala de tamanho.

A curva de SAXS da Figura 52 mostra três sinais bem definidos, com valores de d_{hkl} apresentando valores de 4,05, 2,32, e 2,02 nm, com razão de entre d -spacing / d_{hkl} de $1:\sqrt{3}:\sqrt{4}$, que foram atribuídos ao espalhamento de raios X nos planos (100), (110), e (200), respectivamente. Esses referidos planos estão destacados em cada sinal da Figura 52, e são característicos de uma simetria hexagonal bidimensional (grupo espacial $p6mm$). Este resultado está de acordo com a literatura (BECK et al., 1992), que relata uma organização micelar do surfactante CTAB em forma de cilindros dispostos hexagonalmente. Como o surfactante tem participação direta na moldagem dos poros do material durante a formação da sílica, obviamente a maneira com que as micelas do surfactante estão organizadas em solução refletirá diretamente na simetria que os poros assumem.

Figura 52 – Curva de SAXS das nanopartículas de sílica mesoporosa.

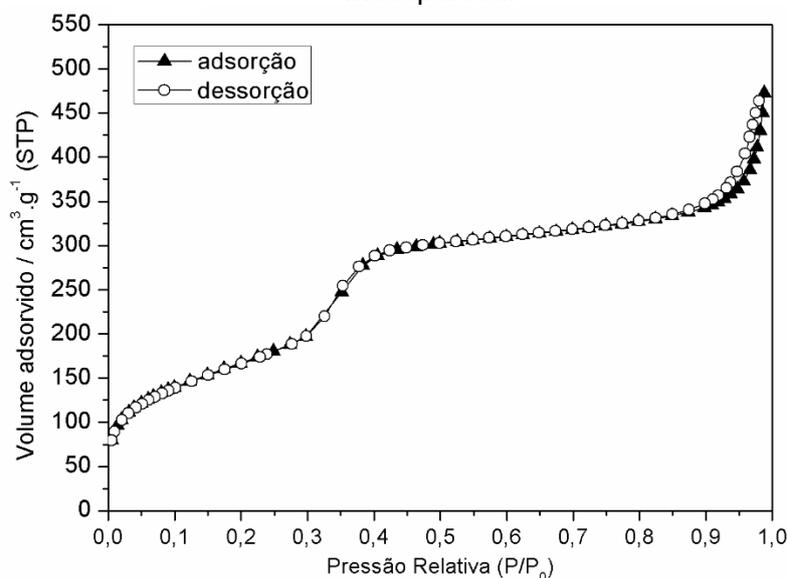


Fonte: Autoria própria.

As estimativas da área superficial e da distribuição do diâmetro de poros foram realizadas pelo método de BET, por meio dos experimentos de adsorção e dessorção de N₂ a 77 K. Analisando a Figura 53, nota-se um perfil de curva que pode ser classificada como do tipo IV segundo as recomendações da IUPAC (SING et al., 1985). Percebe-se ainda, a sobreposição das curvas de adsorção e dessorção, indicando uma alta homogeneidade de poros e, por consequência, sugerindo a presença de canais alinhados paralelamente (KRUK, JARONIEC, SAYARI, 1997).

As nanopartículas de sílica mesoporosa apresentaram uma alta área superficial, estimada em 617 m² g⁻¹, o que as tornam excepcionais adsorventes. No âmbito de aplicações biológicas, materiais com alta área superficial podem carregar grandes dosagens de compostos bioativos e ainda liberá-los de maneira gradual, respeitando os limites fisiológicos de toxicidade e mantendo a concentração em níveis terapêuticos (WANG et al., 2009). Neste contexto, as nanopartículas de sílica mesoporosa podem ser consideradas potenciais matrizes hospedeiras de compostos bioativos, já que além de ter uma alta área superficial, são inertes e biocompatíveis (HUDSON et al., 2008).

Figura 53 – Isotermas de adsorção e dessorção de N₂ a 77 K das nanopartículas de sílica mesoporosa.

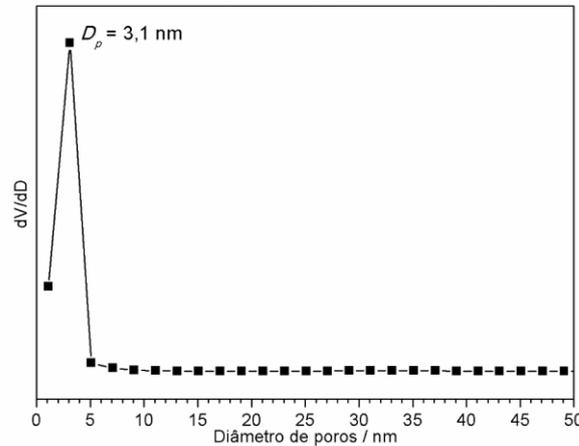


Fonte: Autoria própria.

A curva de distribuição de diâmetro de poros (Figura 54) mostrou um perfil estreito, comprovando homogeneidade de tamanhos, com valor médio em 3,1 nm.

As demais características estruturais como o parâmetro de célula unitária e espessura da parede inorgânica, estão listadas na Tabela 23.

Figura 54 – Distribuição de diâmetro de poros (D_p) das nanopartículas de sílica mesoporosa.



Legenda: dV/dD é a derivada do volume desorvido de N_2 pelo diâmetro de poros.

Fonte: Autoria própria.

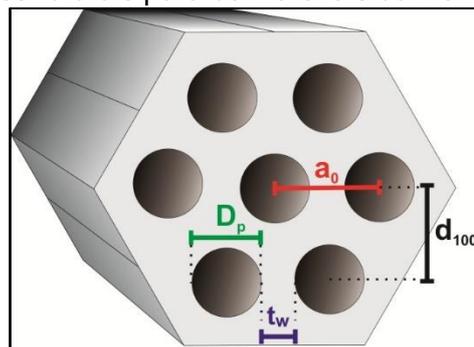
Tabela 23 – Parâmetros estruturais das nanopartículas de sílica mesoporosa.

S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	D_p (nm)	a_0 (nm)	d_{100} (nm)	t_w (nm)
617	3,10	4,67	4,05	1,57

Fonte: Autoria própria.

A Figura 55 mostra os parâmetros estruturais para os materiais com arranjo hexagonal de poros.

Figura 55 - Parâmetros estruturais para os materiais com arranjo hexagonal de poros.



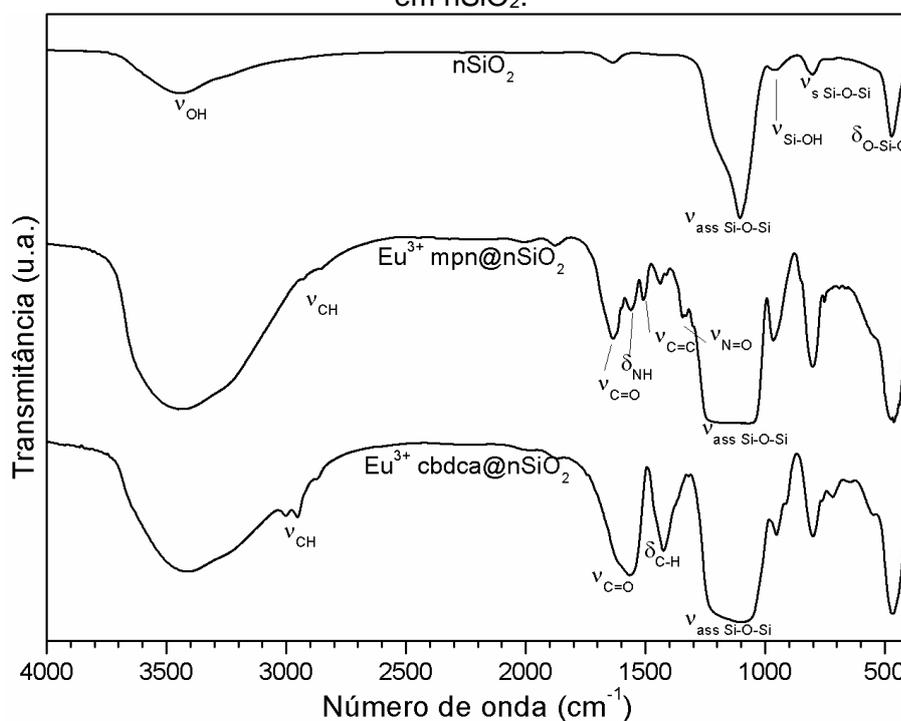
Fonte: referência (SILVEIRA, 2013).

As nanopartículas de sílica mesoporosa ($nSiO_2$) foram utilizadas como hospedeiras para adsorver os complexos luminescentes de Eu^{3+} com cbdca e Eu^{3+} com ampn e testá-los como biomarcadores nas células com câncer.

A amostras de $nSiO_2$ contendo os complexos luminescentes foram avaliadas por FTIR para confirmar a adsorção (Figura 56). No espectro de $nSiO_2$, observam-se bandas em: 3448 cm^{-1} , atribuída ao ν_{OH} dos grupos silanóis da sílica e de moléculas

de água adsorvidas; 1104 cm^{-1} atribuída ao $\nu_{\text{ass Si-O-Si}}$; 960 cm^{-1} devido ao ($\nu_{\text{Si-OH}}$), 802 cm^{-1} pelo ($\nu_{\text{s Si-O-Si}}$); e 467 cm^{-1} pela deformação angular ($\delta_{\text{O-Si-O}}$), característicos de sílica. Os espectros das amostras contendo os complexos apresentaram, além das bandas características de sílica, as principais bandas dos grupos funcionais dos ligantes, como ν_{CH} em torno 2900 cm^{-1} , $\nu_{\text{C=O}}$ de carboxila em 1634 cm^{-1} , δ_{NH} em 1561 cm^{-1} , $\nu_{\text{C=C}}$ em 1509 cm^{-1} e $\nu_{\text{s N=O}}$ em 1331 cm^{-1} , para o complexo de Eu^{3+} com ampn; além de $\nu_{\text{C=O}}$ em 1564 cm^{-1} e δ_{CH} em 1424 cm^{-1} para o complexo de Eu^{3+} com cbdca (CHALMERS, GRIFFITHS, 2002). Portanto, de acordo com os espectros de FTIR, pode-se concluir que houve êxito na impregnação dos complexos.

Figura 56 – Espectros de FTIR dos complexos de Eu^{3+} com ampn e com cbdca impregnados em nSiO_2 .



Fonte: Autoria própria.

O teor de Európio nas amostras indiretamente foi estimado por titulação do sobrenadante do processo de impregnação, diferenciando-se o número de mols de Eu^{3+} inicialmente adicionado ao meio e o número de mols de Eu^{3+} no sobrenadante. O resultado dos cálculos está na Tabela 24.

Tabela 24 – Cálculos do teor de complexos luminescentes de Eu^{3+} impregnados em nSiO_2 , obtidos indiretamente por titulação com EDTA do sobrenadante.

Amostra	n_{inicial} (mol)	n_{snt} (mol)	$n_{\text{Eu}^{3+}}$ (mol)	Razão mol complexo / mol nSiO_2 (%)
Eu^{3+} cdbca @ nSiO_2	$4,9856 \times 10^{-5}$	$2,3891 \times 10^{-5}$	$2,5965 \times 10^{-5}$	1,3
Eu^{3+} mpn @ nSiO_2	$5,0363 \times 10^{-5}$	$3,1388 \times 10^{-5}$	$1,8975 \times 10^{-5}$	1,9

Legenda: @ = impregnado em; n_{inicial} = número de mols inicialmente adicionado para impregnação; n_{snt} = número de mols de Eu^{3+} titulado no sobrenadante; $n_{\text{Eu}^{3+}}$ = número de mols de Eu^{3+} estimado em nSiO_2 ($n_{\text{inicial}} - n_{\text{snt}}$). Fonte: Autoria própria.

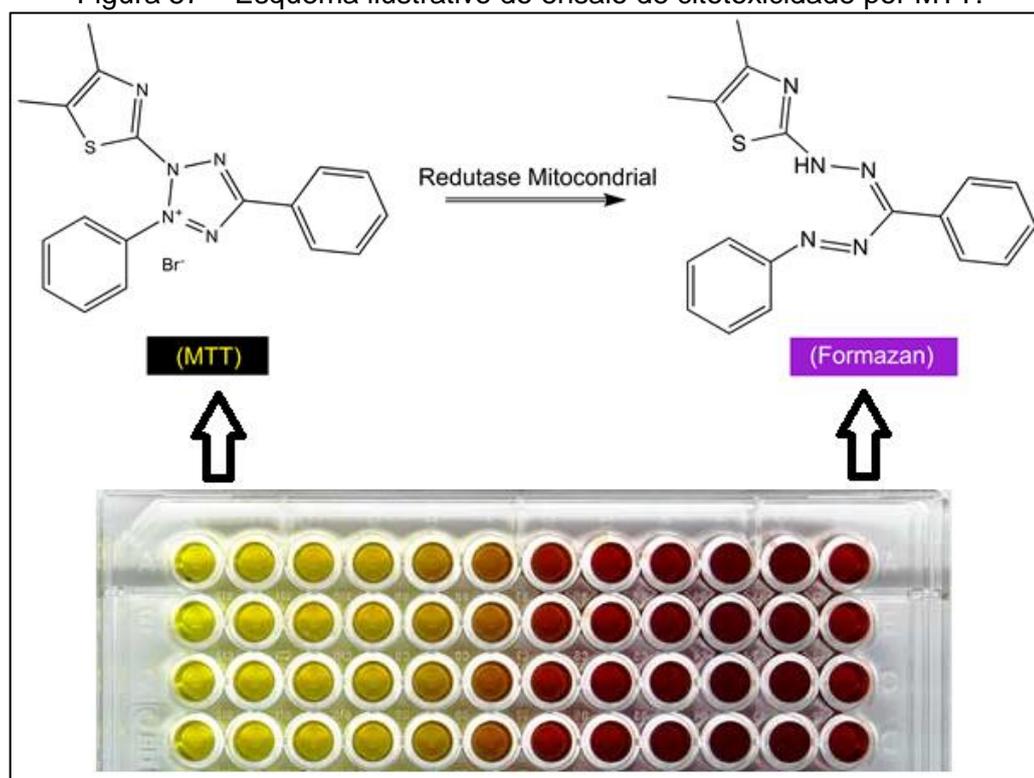
5.4 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Nesta seção serão apresentados os resultados de aplicações biológicas como o ensaio de citotoxicidade por MTT com os complexos, e imagens de microscopia de células de câncer do tipo melanoma em contato com complexos que apresentaram luminescência, impregnados ou não em nanopartículas de sílica mesoporosa.

5.4.1 Citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade pelo método colorimétrico com MTT analisa a viabilidade celular após o tratamento com o composto testado. Uma célula classificada como viável apresenta enzimas como as desidrogenases mitocondriais, que são responsáveis pela catálise das reações de oxirredução na cadeia respiratória. Portanto, a identificação da atividade dessas enzimas fornece uma informação precisa se a célula ainda está viva após a exposição à substância testada. Este reconhecimento de atividade enzimática é realizado quando ocorre a transformação do corante MTT de coloração amarela para o sal de Formazan, de coloração roxa, indicando que houve a clivagem do anel tetrazólio do MTT (Figura 57). Um composto considerado citotóxico causa a morte das células e, conseqüentemente, não apresentam mais enzimas ativas para clivar o MTT que permanece amarelado, indicando uma perda de viabilidade celular (MOSMANN, 1983).

Figura 57 – Esquema ilustrativo do ensaio de citotoxicidade por MTT.



Fonte: adaptado de < <http://slideplayer.com.br/slide/11703785/>>. Acesso em 26 out. 2017.

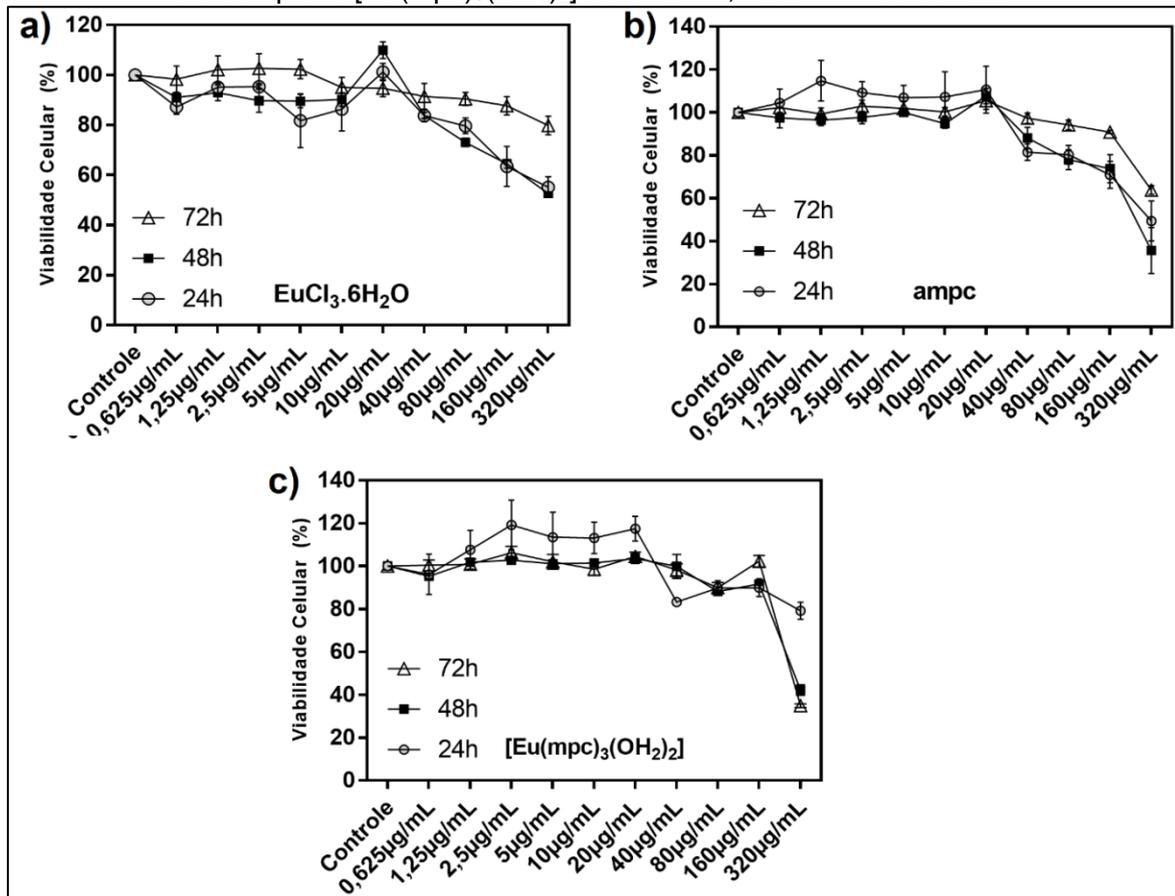
Preliminarmente foram avaliados o complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$, o sal de európio $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, e o ligante ampc puro por 24, 48 e 72 h, com o objetivo de entender a origem da citotoxicidade em caso de resultados positivos.

A partir das Figuras 58 a e b, pode-se perceber que nas doses de 0,625 a 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e em todos os intervalos de tempo, os compostos $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o ligante orgânico ampc apresentaram redução da viabilidade celular somente nas concentrações de 40, 80, 160 e 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$, apesar de não apresentarem redução abaixo de 50% da população de controle. Isso nos permite concluir que o $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ou ampc sozinhos não apresentam atividade citotóxica relevante. O ligante ampc puro por sua vez, apresentou redução da viabilidade celular significativa somente com dose de 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ por um período de contato de 48 h (Figura 58 b). Posterior análise com 72 h mostra que há um aumento na viabilidade celular nessa mesma dose, sugerindo que não há inibição da proliferação celular, ou seja, ampc não possui atividade citostática.

Ao observar as curvas do complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ na Figura 58c, nota-se que não há redução da viabilidade celular significativa para qualquer dosagem durante o período de 24 h. No entanto, nota-se que a partir de 48 h, a dose de 320

$\mu\text{g/mL}$ reduz a viabilidade celular para cerca de 42% e em 72 h atinge 35%. Esses fatos indicam que o complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ tem atividade citotóxica e citostática mais acentuada que seus precursores $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o ligante ampc.

Figura 58 – Gráficos de viabilidade celular em diferentes doses do $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ligante ampc e o complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ durante 24, 48 e 72 h de contato.



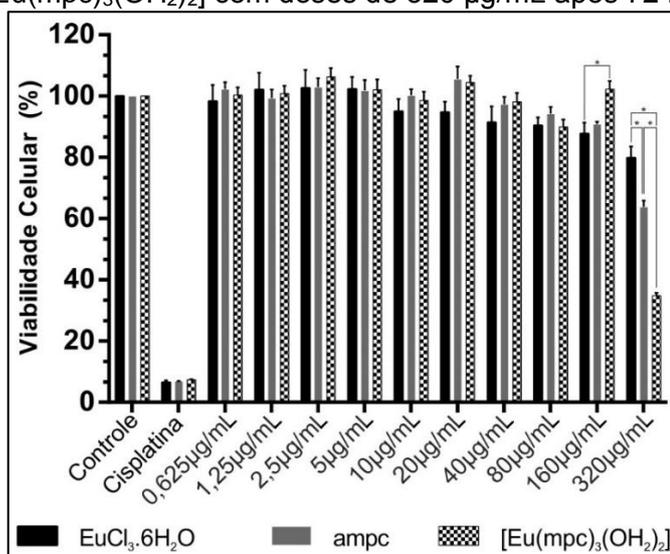
Fonte: Autoria própria.

Essa potencialização do efeito citotóxico após a complexação pode estar relacionada com o novo ambiente químico encontrado no grupo carboxílico, que é a região da molécula de ampc que forma a ligação de coordenação. De acordo com Jha e colaboradores (2010), o grupo carboxílico dos ácidos maleâmicos tem natureza polar, o que dificulta a permeabilidade desses compostos para dentro da célula, já que eles necessitam transpassar a camada lipídica de caráter apolar para acessar o citoplasma. Essa observação foi corroborada pela comparação das atividades citotóxicas dos respectivos ésteres de ácidos *N*-arilmaleâmicos com seus precursores ácidos, os quais apresentaram aumento na resposta biológica citotóxica após a esterificação. Nesse contexto, ligante ampc complexado com o Európio tem a

polaridade da sua carboxila alterada, já que os elétrons que antes estavam disponíveis para se moverem por ressonância na carboxila estão preenchendo os orbitais do európio, o que pode afetar sua permeabilidade na célula. Além dessas constatações, decorre que os carbonos olefínicos do grupo maleâmico são os principais responsáveis pela atividade citotóxica de ácidos *N*-arilmaleâmicos (JHA et al., 2010), e por estarem conjugados com a carboxila que forma a ligação de coordenação também são afetados após a interação com o metal Eu^{3+} .

O gráfico da Figura 59 apresenta a comparação do comportamento dos três compostos com doses de 320 $\mu\text{g/mL}$ no intervalo de tempo de 72 h ao fármaco cisplatina. Verifica-se que não ocorreu diferença significativa, com exceção das concentrações de 160 e 320 $\mu\text{g/mL}$. Observou-se um aumento significativo da proliferação celular na dose de 160 $\mu\text{g/mL}$ $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$, e diminuição ($p < 0,005$) na dose de 320 $\mu\text{g/mL}$ quando comparados aos compostos precursores. Pode-se perceber ainda, que somente o complexo apresentou redução da viabilidade celular, atingindo valores de 35%, frente cerca de 7% quando foi utilizado o fármaco cisplatina (dose 44 $\mu\text{g/mL}$). Portanto, conclui-se que o complexo testado tem pouca atividade citotóxica contra as células de adenocarcinoma de mama murino (4T1).

Figura 59 – Gráfico comparativo da viabilidade celular de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ligante ampc e o complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ com doses de 320 $\mu\text{g/mL}$ após 72 h de contato.



Fonte: Autoria própria.

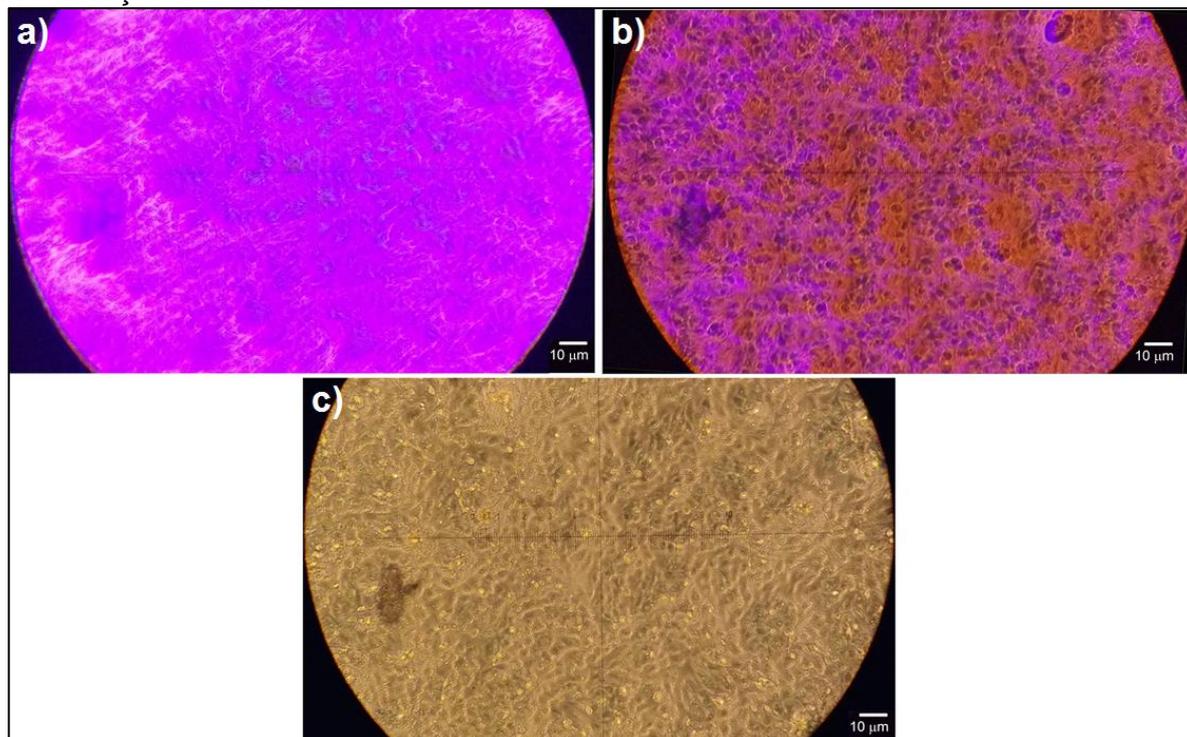
5.4.2 Imagens dos complexos luminescentes puros ou impregnados em nSiO₂ em contato com células de melanoma murino (B16-F10)

O ensaio de marcação das células B16-F10 foi realizado para avaliar preliminarmente o comportamento dos complexos luminescentes puros ou impregnados em nSiO₂ quanto à sua distribuição e presença nas células.

A Figura 60, apresenta a comparação das imagens de células B16-F10 marcadas com o complexo puro, [Eu₂(cbdca)₃(OH₂)₄] impregnado em nSiO₂ e ausência de marcação. No primeiro quadro (Figura 60a), nota-se a intensa luminescência do complexo [Eu₂(cbdca)₃(OH₂)₄] puro quando irradiado por luz UV, com a presença de regiões mais brilhantes onde a concentração do composto é provavelmente maior. Devido à alta saturação da imagem com a luz emitida, não foi possível observar com clareza as células marcadas com o complexo puro.

O complexo [Eu₂(cbdca)₃(OH₂)₄] impregnado em nSiO₂ possibilitou uma melhor visualização das células já que é possível perceber a luminescência em pontos mais isolados, sugerindo a presença do material dentro de algumas células (Figura 60b). Acredita-se que a matriz de nSiO₂ por permitir uma distribuição homogênea dos complexos nos poros possibilita que mesmo uma baixa concentração de complexo (cerca 1,3% mol complexo / mol nSiO₂), o material permaneça com uma intensidade de luminescência adequada.

Figura 60 – Fotos de células de melanoma murino (B16-F10) com: a) complexo de $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$, b) complexo de $[\text{Eu}_2(\text{cbdca})_3(\text{OH}_2)_4]$ impregnado em nSiO_2 , c) ausência de marcação luminescente.

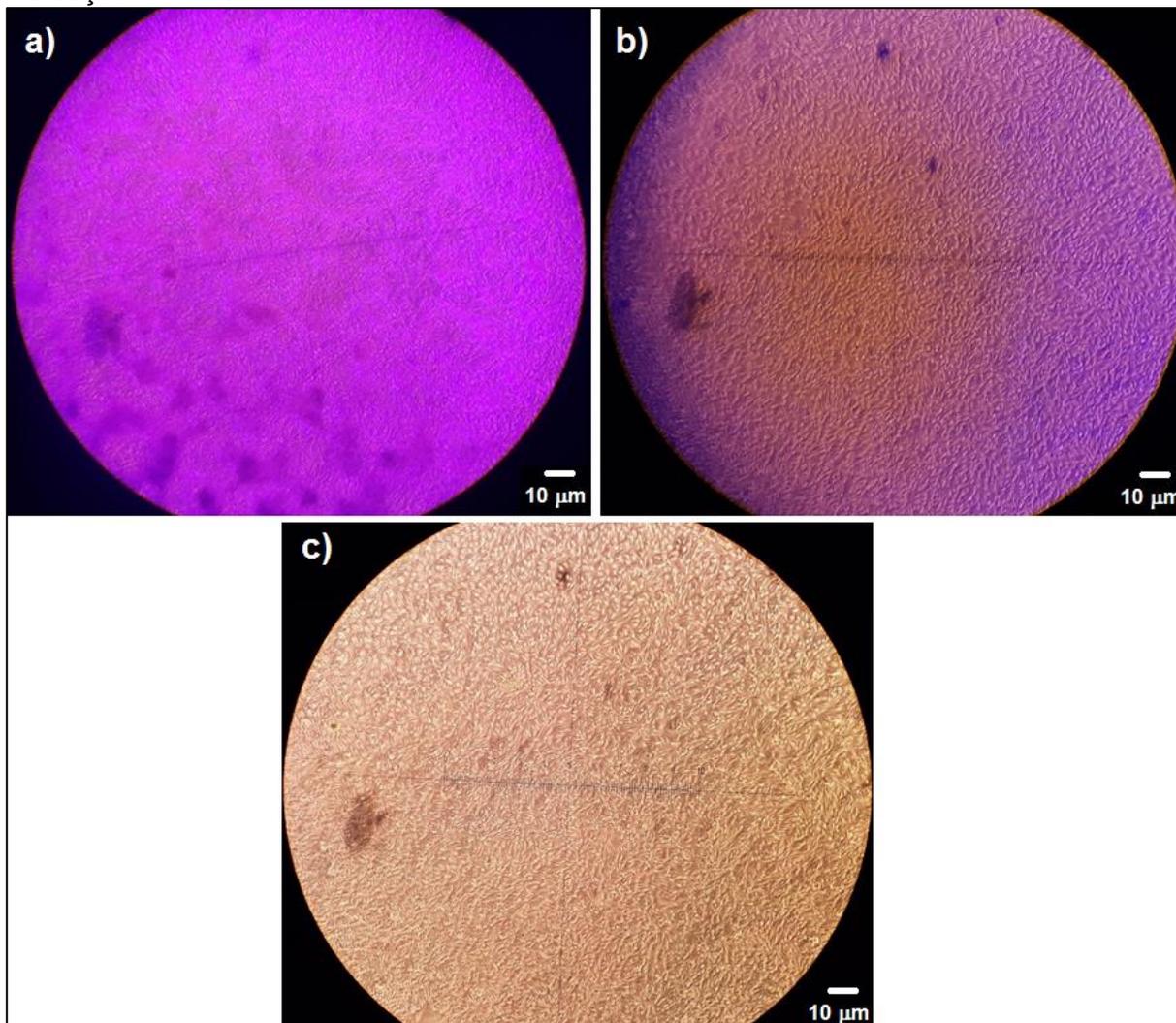


Fonte: Autoria própria.

Para o teste com complexo de Eu^{3+} com ampn em contato com as células B16-F10 (Figura 61a), observa-se uma intensidade relativa de luminescência menor que o complexo com cbdca. O complexo aparenta estar bem distribuído na cultura de células, porém, tal como o complexo com cbdca, não foi possível notar visualizar o contorno das células. Isso provavelmente pode estar relacionado com uma maior difusão do complexo puro em comparação com o seu análogo impregnado em nSiO_2 .

Diferentemente do complexo puro, o complexo de Eu^{3+} ampn impregnado em nSiO_2 se distribuiu mais próximo das bordas do poço contendo as células (Figura 61b). Além disso, esta amostra permitiu uma melhor visualização das células do que o complexo puro, já que a luminescência estava relativamente menos intensa. Em contrapartida, nota-se que a intensidade luminosa aparenta estar “contínua”, indicando que provavelmente o material não está no interior da célula.

Figura 61 – Fotos capturadas de células de melanoma murino (B16-F10) com: a) Complexo de Eu^{3+} com ampn, b) Complexo de Eu^{3+} com ampn impregnado em nSiO_2 , c) ausência de marcação luminescente.



Fonte: Autoria própria.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho relatou o êxito na síntese dos ligantes como o ácido ciclobutano-1,1,-dicarboxílico (CBDCA) e os ácidos maleâmicos *N*-substituídos, suportados por dados de RMN e FTIR. Confirmou-se também a formação de complexos dos lantanídeos (Ln^{3+}) La^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} , segundo os resultados de FTIR. O estudo por esta técnica ainda revelou que o modo de coordenação dos ligantes aos lantanídeos ocorre predominantemente de forma bidentada na mesma carboxila.

As análises químicas combinadas à análise termogravimétrica (TGA) e aos dados de difração de raios-X de pó (DRX) dos resíduos de calcinação dos complexos permitiram determinar a estequiometria dos complexos.

O estudo por espectroscopia de fotoluminescência (PL) mostrou que os complexo de Európio e de Térbio com o ligante CBDCA tem emissão intensa na região do visível apresentando longos tempos de vida (0,81 e 2,93 ms, respectivamente). Os complexos de Európio com ligantes derivados de ácidos maleâmicos *N*-substituídos apresentaram luminescência na região do visível, ao passo que os outros complexos de Térbio e Disprósio não apresentaram luminescência relevante.

As nanopartículas de sílica mesoporosa foram sintetizadas com tamanho adequado para aplicações biológicas (< 100 nm), com estrutura de poros bem ordenada e disposta em um arranjo hexagonal, além de alta área superficial específica. Os complexos luminescentes de Eu^{3+} com cdbca e com mpn foram impregnados com êxito, conforme indicaram os resultados de FTIR e titulação indireta do sobrenadante.

O quimioterápico cisplatina (dose 44 $\mu\text{g}/\text{mL}$) demonstrou atividade citotóxica em todos os tempos testados, validando o ensaio do MTT. O complexo $[\text{Eu}(\text{mpc})_3(\text{OH}_2)_2]$ apresentou pouca atividade citotóxica com doses de 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ após 48 h e 72 h de contato, frente às células de adenocarcinoma de mama murino (linhagem 4T1). Observou-se ainda que a complexação do ligante ampc com o Európio potencializa o efeito citotóxico.

Os complexos luminescentes de Eu^{3+} com cdbca e com mpn em contato com as células de melanoma murino (B16-F10) apresentaram intensa luminescência observada no microscópio óptico com excitação externa no UV (365 nm),

apresentando boa distribuição dos compostos no poço contendo as células. O complexo de Eu^{3+} com cdbca impregnado em nanopartículas de sílica apresentou luminescência em pontos isolados, indicando a possível presença desses materiais no interior das células.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, Z. et al. New Ni(II) complexes involving symmetrical bidentate N,O-donor Schiff base ligands: synthesis at ambient temperature, crystal structures, electrochemical study, antioxidant and cytotoxic activities. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 70, n.18, p. 3132-3146, Sept. 2017.
- AVENDAÑO, C.; MENÉNDEZ, J. C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs**. 2ª edição, Elsevier, 2015.
- BASOLO, F.; JOHNSON, R. C. **Introduction and Historical Development**. In: ___. **Coordination chemistry**. Menlo Park: Benjamin/Cummings, 1964. cap. 1, 180 p.
- BECK, J. et al. A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates. **Journal of The American Chemical Society**, [s.l.], v. 114, n. 27, p. 10834-10843, Dec. 1992.
- BELL, A. T. The Impact of Nanoscience on Heterogeneous Catalysis. **Science**, Washington, v. 299, n. 5613, p. 1688-1691, Mar. 2003.
- BINNEMANS, K. Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 109, n. 9, p. 4283-4374, Apr. 2009.
- BLACKADAR, C. B. Historical review of the causes of cancer. **World Journal of Clinical Oncology**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 54-86, Feb. 2016.
- BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 64, p. 24–36, May 2012.
- BÜNZLI, J.-C. G. On the design of highly luminescent lanthanide complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], v. 293–294, p. 19–47, June 2015.
- CAO, Z-Y et al. Recent advances in the use of chiral metal complexes with achiral ligands for application in asymmetric catalysis. **Catalysis Science & Technology**, [s.l.], v. 5, n. 7, p. 3441-3451, Mar. 2015.
- CARNALL, W. T.; FIELDS, P. R.; RAJNAK, K. Spectral Intensities of the Trivalent Lanthanides and Actinides in Solution. II. Pm³⁺, Sm³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺, and Ho³⁺. **The Journal of Chemical Physics**, [s.l.], v. 49, n. 10, p. 4412-4422, Nov. 1968.
- CHALMERS, J. M.; GRIFFITHS, P. R.; **Handbook of vibrational spectroscopy**. New York: John Wiley & Sons, 2002.
- CHAUHAN, G.; PANT, K. K.; NIGAM, K. D. P.; Chelation technology: a promising green approach for resource management and waste minimization. **Environmental Science: Processes & Impacts**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 12-40, Jan. 2015.
- CHEN, F.; GERION, D. Nanocrystal-Peptide Conjugates for Long-term, Nontoxic Imaging and Nuclear Targeting in Living Cells. **Nano Letters**, [s.l.], v. 4, n. 10, p. 1827-1832, Sept. 2004.

CHEN, H.; HE, J. Fine control over the morphology and structure of mesoporous silica nanomaterials by a dual-templating approach. **Chemical Communications**, London, n. 37, p. 4422-4424, July 2008.

CHEN, Z.-F et al. Synthesis, crystal structure, cytotoxicity and DNA interaction of 5,7-dichloro-8-quinolinolato-lanthanides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 59, p. 194-202, Jan. 2013.

CHEN, Z.-F. et al. Cytotoxicity of Dihalo-Substituted 8-Quinolinolato-Lanthanides. **Dalton Transactions**, [s.l.], v. 40, n. 8, p. 1684-1692, Feb. 2011.

CHOW, C. Y. et al. Ga³⁺/Ln³⁺ Metallacrowns: A promising family of highly luminescent lanthanide complexes that covers visible and near-infrared domains. **Journal of the American Chemical Society**, [s.l.], v. 138, n. 15, p. 5100-5109, 2016.

COMBY, S.; BÜNZLI, J.-C. G. Lanthanide near-infrared luminescence in molecular probes and devices. **Handbook of Physics and Chemistry of Rare Earths**, v. 37, cap. 235, 2007.

DEACON, G. B.; PHILLIPS, R. J.; Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 33, n. 3, p. 227-250, Feb. 1980.

DILLON, A. C. et al. Storage of hydrogen in single-walled carbon nanotubes. **Nature**, London, v. 386, n. 6623, p. 377-379, Mar. 1997.

DONNELLY, E. et al. Effects of texaphyrins on the oxygenation of emt6 mouse mammary tumors. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, [s.l.], v. 58, n. 5, pp. 1570-1576, Jan. 2004.

DOUSTI, M. R.; AMJAD, R. J. Enhanced green emission of terbium-ions-doped phosphate glass embedding metallic nanoparticles, **Journal of Nanophotonics**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 093068, June 2015.

EMOLE, J. **Cancer diagnosis and treatment: An overview for the general practitioner**. In: CAPELLI, Oreste. **Primary care at a glance - Hot topics and new insights**. [s.l.]: InTech, 2012. Cap. 11, p. 175-186.

FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H.; A química inorgânica no tratamento do câncer. **Química Nova na Escola**, [s.l.], n. 5, p. 13-18, Jul. 2005.

FREEMAN, A. J.; WATSON, R.E. Theoretical Investigation of Some Magnetic and Spectroscopic Properties of Rare-Earth Ions. **Physical Reviews**, [s.l.], v. 127, n. 6, p. 2058-2075, Sept. 1962.

FREY, U.; RANFORD, J. D.; SADLER, P. J.; Ring-opening reactions of the anticancer drug carboplatin: RMN characterization of cis-[Pt(NH₃)₂(CBDCA-O)(5'-

GMP-N7)] in solution. **Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 32, n. 8, p. 1333–1340, Apr. 1993.

GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, [s.l.], v. 26, n. 18, p. 3995–4021, June 2005.

HEFFETER, P. et al. Anticancer activity of the lanthanum compound [tris(1,10-phenanthroline)lanthanum(III)]trithiocyanate (KP772; FFC24). **Biochemical pharmacology**, [s.l.], v. 71, p. 426–440, Jan. 2006.

HOFFMANN, F. et al. Silica-Based Mesoporous Organic–Inorganic Hybrid Materials. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 45, n. 20, p. 3216–3251, May 2006.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Acids, bases and ions in aqueous solution**. In: __. **Inorganic Chemistry**, 4th ed. London: Pearson, 2012a. cap. 7, p. 225–236.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **The f-block metals: lanthanoids and actinoids**. In: __. **Inorganic Chemistry**, 4th. ed. London: Pearson, 2012b. cap. 27, p. 1002–1032.

HUDSON, S. P. et al. The biocompatibility of mesoporous silicates. **Biomaterials**, [s.l.], v. 29, n. 30, p. 4045–4055, Aug. 2008.

HUO, Q. et al. Organization of Organic Molecules with Inorganic Molecular Species into Nanocomposite Biphase Arrays. **Chemistry of Materials**, [s.l.], v. 6, n. 8, p. 1176–1191, Aug. 1994.

HUSSEIN, B. H. M. et al. A novel anti-tumor agent, Ln(III) 2-thioacetate benzothiazole induces anti-angiogenic effect and cell death in cancer cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 99–109, Feb. 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA (Brasil). **Fisiopatologia do câncer**. In: _____. **Ações de enfermagem no controle do câncer: Uma proposta de integração ensino-serviço**. 3. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2008. Cap. 2, p. 48–77.

JAL, P. K.; PATEL, S.; MISHRA, B. K. Chemical modification of silica surface by immobilization of functional groups for extractive concentration of metal ions. **Talanta**, [s.l.], v. 62, n. 5, p. 1005–1028, Apr. 2004.

JHA, A. et al. Derivatives of aryl amines containing the cytotoxic 1,4-dioxo-2-butenyl pharmacophore. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, [s.l.], v. 20, p. 1510–1515, Jan. 2010.

JIANG, Q. et al. Design of artificial metallonucleases with oxidative mechanism. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, n. 15–16, p. 1951–1972, Aug. 2007.

KHARAT, A. N. et al. Synthesis and characterization of anticancer drugs based on platinum. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 465–470, Dec. 2016.

KISELV, A. V.; LYGIN, V. I. **Infrared Spectra of Surface Compounds**, New York: Wiley, 1975.

KLOTZ, M. et al. The True Structure of Hexagonal Mesophase-Templated Silica Films As Revealed by X-ray Scattering: Effects of Thermal Treatments and of Nanoparticle Seeding. **Chemistry of Materials**, [s.l.], v. 12, n. 6, p. 1721-1728, May 2000.

KRUK, M.; JARONIEC, M.; SAYARI, A. Application of Large Pore MCM-41 Molecular Sieves To Improve Pore Size Analysis Using Nitrogen Adsorption Measurements. **Langmuir**, [s.l.], v.13, n. 23, p. 6267-6273, Sept. 1997.

KUMAR, A. et al. Isolation, purification and characterization of vinblastine and vincristine from endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Catharanthus roseus*. **Plos One**, [s.l.], v. 8 n. 9, p. 1-10, Sept. 2013.

LARSON, S. M. et al. Radioimmunotherapy of Human Tumours. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], v. 15, p. 347-360, July 2015.

LAW, M. et al. Nanowire dye-sensitized solar cells. **Nature Materials**, London, v. 4, n. 6, p. 455-459, May 2005.

LONAPPAN, D. et al. Unusually large structural stability of terbium oxide phase under high pressure. **Journal of Alloys and Compounds**, [s.l.], v. 490, n. 1-2, p. 47-49, Feb. 2010.

LYLE, S. J.; RAHMAN, Md. M. Complexometric titration of yttrium and the lanthanons– I: A comparison of direct methods. **Talanta**, [s.l.], v. 10, n. 11, p. 1177-1182, Nov. 1963.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 237-247, Jul. 2000.

MAGERSTÄDT, M. et al. Gd(DOTA): An alternative to Gd(DTPA) as a T1,2 relaxation agent for NMR imaging or spectroscopy. **Magnetic Resonance in Medicine**, [s.l.], v.3, n.5, 808-812, Oct. 1986.

MOGHIMI, S. M.; HUNTER, A. C.; MURRAY, J. C. Long-Circulating and Target-Specific Nanoparticles: Theory to Practice. **Pharmacological Reviews**, [s.l.], v. 53, n. 2, p. 283-318, June 2001.

MONTGOMERY, C. P. et al. Cell-Penetrating Metal Complex Optical Probes: Targeted and Responsive Systems Based on Lanthanide Luminescence. **Accounts of Chemical Research**, [s.l.], v. 42, n. 7, p. 925-937, July 2009.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, [s.l.], v. 65, p. 55-63, June 1983.

NAKAMOTO, K.; **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4ª edição, New York: John Wiley & Sons, 1986.

NAKANO, I.; SOE, C. Z.; CODD, R. Isolation of doxorubicin from a bacterial culture using immobilised metal ion affinity chromatography. **RSC Advances**, [s.l.], v. 58, n. 5, p. 46437–46442, May 2015.

NIMITZ, J. S. **Experiments in Organic Chemistry: From Microscale to Macroscale**. Prentice-Hall, 1991.

OBERDÖRSTER, G.; OBERDÖRSTER, E.; OBERDÖRSTER, J. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. **Environmental Health Perspectives**, [s.l.], v. 113, n. 7, p. 823-839, July 2005.

Organização Mundial da Saúde. Website. Disponível em: <www.who.int/cancer/en>. Acesso em: 29 Dec. 2017.

OZBAY, E. Plasmonics: Merging Photonics and Electronics at Nanoscale Dimensions. **Science**, Washington, v. 311, n. 5758, p. 189-193, Jan. 2006.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, [s.l.], v. 85, n. 22, p. 3533–3539, Nov. 1963.

RAO, K. V. Taxol and related taxanes. I. Taxanes of *Taxus brevifolia* bark. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 521–524, April 1993.

RICHARDSON, F. S. Terbium (III) and Europium (III) Ions as Luminescent Probes and Stains for Biomolecular Systems. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 82, n. 5, p. 541-552, Oct. 1982.

RIEHMANN, K. et al. Nanomedicine: Challenge and Perspectives. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 48, n. 15, p. 872–897, Jan. 2009.

RIVERA, V. A. G.; FERRI, F. A., MAREGA JUNIOR, E. **Localized Surface Plasmon Resonances: Noble Metal Nanoparticle Interaction with Rare-Earth Ions**. In: KIM, K. Y. **Plasmonics – Principles and Applications**. [s.l.]: InTech, 2012. cap. 11, p. 283-312.

RZĄCZYŃSKA, Z.; BARTYZEL, A. Synthesis and characterization of complexes of rare earth elements with 1,1-cyclobutanedicarboxylic acid. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapeste, vol. 68, p. 937–949, Jan. 2002.

SANTOS, M. A. Chemistry and applications of metal complexes. **Dalton Transactions**, [s.l.], v. 42, p. 5957-5959, 2013.

SARIKAYA, M. et al. Molecular biomimetics: nanotechnology through biology. **Nature Materials**, London, v. 2, n. 9, p. 577-585, Sept. 2003.

SHRIVER, D. F. et al. **As estruturas dos sólidos simples**. In: __. **Química Inorgânica**. Tradução por Roberto de Barros Faria e Cristina Maria Pereira dos Santos, 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008a. cap. 3, p. 93-132.

SHRIVER, D. F. et al. **Nanociência, nanomateriais e nanotecnologia**. Ibidem 2008b, cap. 24, p. 665-699.

SHRIVER, D. F. et al. **Os metais do bloco f**. Ibidem, 2008c, cap. 22, p. 594-607.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A., D.V.M. Cancer Statistics, 2017. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 67, n. 1, p. 7-30, Jan./Feb. 2017.

SILVEIRA, R. M. **SÍLICA MESOPOROSA E COMPLEXOS LUMINESCENTES DE LANTANÍDEOS VISANDO APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**. 2013. 126p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª edição, LTC, 2006.

SING, K. S. W. et al. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (recommendations), **Pure and Applied Chemistry**, [s.l.], v. 57, n. 4, p. 603–619, 1985.

TANS, S. J.; VERSCHUEREN, A. R. M.; DEKKER, C. Room-temperature transistor based on a single carbon nanotube. **Nature**, London, v. 393, n. 6680, p. 49-52, May 1998.

TORRE, L. A. et al. Global Cancer Statistics, 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 65, n. 2, p. 87-108, Mar./Apr. 2015.

TUEL, A. Modification of mesoporous silicas by incorporation of heteroelements in the framework. **Microporous and Mesoporous Materials**, [s.l.], v. 27, n. 2-3, p. 151–169, Feb. 1999.

WANG, F. et al. Luminescent nanomaterials for biological labelling. **Nanotechnology**, [s.l.], v. 17, n.1, p. R1–R13, Jan. 2006.

WANG, G. et al. Functionalized mesoporous materials for adsorption and release of different drug molecules: A comparative study. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 182, n. 7, p.1649–1660, Apr. 2009.

WATERMANN, A; BRIEGER, J. Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles in Cancer. **Nanomaterials**, [s.l.], v. 7, n. 7, p. 189-206, July 2017.

WEI, J.-H. et al. Water-Soluble Oxoglucine-Y(III), Dy(III) Complexes: *In Vitro and In Vivo* Anticancer Activities by Triggering DNA Damage, Leading to S Phase Arrest and Apoptosis. **Dalton Transactions**, [s.l.], v. 44, n. 25, p. 11408–11419, May 2015.

XU, Z. et al. Preparation and luminescence of $\text{La}_2\text{O}_3:\text{Ln}^{3+}$ ($\text{Ln}^{3+} = \text{Eu}^{3+}, \text{Tb}^{3+}, \text{Dy}^{3+}, \text{Sm}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Ho}^{3+}, \text{Tm}^{3+}, \text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$) microspheres. **RSC Advances**, [s.l.], v. 3, n. 5, p. 1410-1419, Jan. 2013.

YAN, T. et al. Facile synthesis, characterization, formation mechanism and photoluminescence property of Eu_2O_3 nanorods. **Journal of Alloys and Compounds**, [s.l.], v. 487, n. 1-2, p. 483-488, Nov. 2009.

YANG, Y. et al. Review: Bismuth complexes: synthesis and applications in biomedicine. **Journal of Coordination Chemistry**, [s.l.], v. 68, n. 3, p. 379-397, Jan. 2015.

ZHANG, N. et al. Lanthanide hydroxide nanorods and their thermal decomposition to lanthanide oxide nanorods. **Materials Chemistry and Physics**, [s.l.], v. 114, n. 1, p. 160–167, Mar. 2009.

ZHANG, S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. **Nature Biotechnology**, New York, v. 21, p. 1171-1178, Sept. 2003.

ZHANG, Y. et al. Three-dimensionally ordered macroporous Pr_6O_{11} and Tb_4O_7 with mesoporous walls: Preparation, characterization, and catalytic activity for CO oxidation. **Catalysis Today**, [s.l.], v. 245, p. 28-36, May 2015.