

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC  
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIAS E MATERIAIS  
AVANÇADOS

Hebert Freitas dos Santos

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COM USO  
DAS PROPRIEDADES FOTOQUÍMICAS DE AGREGADOS DE FENOTIAZINAS**

Santo André – SP  
2019

Hebert Freitas dos Santos

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COM USO DAS  
PROPRIEDADES FOTOQUÍMICAS DE AGREGADOS DE FENOTIAZINAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nanociências e Materiais Avançados da Universidade Federal do ABC, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nanociências e Materiais Avançados. Linha de pesquisa: Síntese de nanopartículas de ouro a partir de agregados de fenotiazinas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iseli Lourenço Nantes Cardoso

Coorientadora: Dr<sup>a</sup> Carolina Gregorutti dos Santos

Santo André – SP  
2019

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC  
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Santos, Hebert Freitas dos

Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro com uso das propriedades fotoquímicas e fotofísicas de agregados de fenotiazinas / Hebert Freitas dos Santos. — 2019.

83 fls. : il.

Orientadora: Iseli Lourenço Nantes Cardoso

Coorientadora: Carolina Gregorutti dos Santos

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do ABC, Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados, Santo André, 2019.

1. Nanotecnologia. 2. Fenotiazinas. 3. Nanopartículas de ouro. 4. Síntese verde. I. Cardoso, Iseli Lourenço Nantes. II. Santos, Carolina Gregorutti dos. III. Programa de Pós-Graduação em

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca no dia da defesa, sob responsabilidade única do(a) autor(a) e com a anuência do(a) orientador(a).

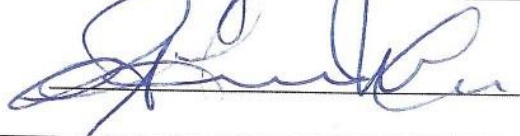
Santo André/SP

13 de junho de 2019

Assinatura do(a) autor(a):

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H. L.', written over a horizontal line.

Assinatura do(a) orientador(a):

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. L.', written over a horizontal line.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

**Fundação Universidade Federal do ABC**

**Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados**

Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP

CEP 09210-580 · Fone: (11) 4996-0017

ppg.nanomat@ufabc.edu.br

**FOLHA DE ASSINATURAS**

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Hebert Freitas dos Santos, realizada em 14 de março de 2019:

Prof.(a) Dr.(a) **Iseli Lourenço Nantes-Cardoso** (Universidade Federal do ABC) – Presidente

Prof.(a) Dr.(a) **Márcia Tsuyama Escote** (Universidade Federal do ABC) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Dalmo Mandelli** (Universidade Federal do ABC) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Mariselma Ferreira** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Hueder Paulo Moisés de Oliveira** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente



Universidade Federal do ABC

Dedico este trabalho ao conhecimento, objeto tão valioso para o desenvolvimento de novas tecnologias e possibilidades para melhoria da qualidade de vida dos seres vivos e proteção do meio ambiente.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu o dom da vida para que eu pudesse vivenciar esta etapa da minha formação intelectual e científica.

Agradeço à Profa. Dra. Iseli, que com tanto respeito, atenção e humildade, me orientou durante todo meu projeto e por todos os desafios a mim confiados para que eu evoluísse e me tornasse um profissional melhor.

Agradeço à minha coorientadora Dra. Carolina pela paciência, dedicação, atenção e pelas dicas e por todo o apoio durante meu ciclo de estudos e pesquisa.

À equipe do laboratório que me recebeu com tanto carinho e que me auxiliaram em todos os momentos nos quais precisei de seus valiosos conhecimentos. Juliana, Erica, David, Elisângela, Reis e Adrianne, muito obrigado.

Aos queridos Carin e Fernandinho do laboratório 701-3, obrigado por sempre me ajudarem nessa caminhada.

Aos comentários enriquecedores da Banca Examinadora para que a qualidade final dessa dissertação fosse digna do título de Mestre, meu sincero obrigado.

Às amigas Grace e Renata que tive a honra de conhecer e trabalhar durante esta jornada e que tenho tanto apreço e as quero levar para a eternidade, gratidão.

Ao Grupo do Barulho, amigos que me fazem sorrir e estão comigo nos momentos mais difíceis, agradeço a compreensão que sempre tiveram comigo e todos os momentos bons que vivemos e viveremos juntos.

Belmiro, Celene, Jaqueline e Família Chimello, meus grandes ombros amigos, tenho orgulho de poder agradecê-los por estarem comigo vivenciando mais essa conquista.

Aos professores Alexandre Lanfredi, Fanny Costa e Márcia Escote pelo apoio nas análises por imagem e magnéticas e por acreditarem no meu trabalho, no meu potencial e por todas as explicações pacientemente dadas, meu muito obrigado.

Ao professor Hueder, por ceder material de estudo e amostras e sempre estar presente nas discussões dos resultados e aprimorando meu conhecimento.

Ao CNPq, UFABC e CAPES pela bolsa de estudos e pela oportunidade de me favorecer condições de me dedicar integralmente e da melhor forma possível a este projeto de pesquisa.

À Central Experimental Multiusuário da UFABC pelo suporte experimental e aos técnicos pela gentileza e prestatividade de sempre, muito obrigado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Se, por alguma catástrofe, todo conhecimento científico fosse destruído e somente uma única sentença pudesse ser transmitida para a próxima geração de criaturas, qual seria a frase que conteria mais informações com poucas palavras? **TODAS AS COISAS SÃO FEITAS DE ÁTOMOS!**”

Richard Feynman



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura do Azul de Metileno.....	16
<b>Figura 2.</b> Estrutura básica e derivados do núcleo tiazínico. ....	20
<b>Esquema 1.</b> Diagrama de Jablonski.....	21
<b>Esquema 2.</b> Esquema do processo de fotossensibilização do $AM^+$ .....	22
<b>Esquema 3.</b> Comportamento fotoquímico da fenotiazina. ....	23
<b>Figura 3.</b> Transição de energia nos orbitais moleculares das fenotiazinas.....	25
<b>Figura 4.</b> Formas zwitteriônicas da resina Chelex® 100 de acordo com a variação de pH. O grupo R representa a cadeia de estireno-divinilbenzeno, a qual possui estrutura indicada na figura.....	27
<b>Esquema 4.</b> Mecanismo de síntese de nanopartículas metálicas de ouro.....	28
<b>Figura 5.</b> Interação da superfície de NPs metálicas com a luz. ....	30
<b>Figura 6.</b> Mudança na coloração de uma suspensão de nanopartículas de ouro em água devido ao processo de agregação, na presença de 4 - mercaptopiridina. ....	31
<b>Figura 7.</b> Aparato experimental para a síntese do cátion radical a partir da $PHT^+$ . ....	33
<b>Figura 8.</b> Aparato experimental para a síntese do cátion-radical a partir da $PHA^+$ .....	344
<b>Figura 9.</b> Espectro de absorção do cátion radical em $H_2O$ . Em A o espectro atribuído a $PHT^{2+\bullet}$ e em B o espectro atribuído a $PHA^{2+\bullet}$ . Os insertos correspondem ao estado inicial e após irradiação de cada fenotiazina. ....	400
<b>Figura 10.</b> Diagrama de orbital molecular do cátion radical dimérico no qual as origens da energia de estabilização ( $E_{CR}$ ) a banda espectral de ressonância de carga ( $h\nu_{CR}$ ) estão indicadas. ....	42
<b>Figura 11.</b> Estrutura da CC8.....	42
<b>Figura 12.</b> Cátion radical de $PHA^+$ borbulhada com $N_2$ (A) e sem adição de $N_2$ (B). ....	44
<b>Figura 13.</b> Espectros de EPR da $PHT^+$ irradiada. Em (A) o cátion-radical foi medido sem adição de DMPO e em (B) com adição de DMPO. A imagem (A) mostra a solução contendo o cátion radical sem adição de DMPO e em (B) após adição do captador de spin. ....	45
<b>Figura 14.</b> Espectro da $PHA^+$ em DMPO. A curva vinho corresponde ao DMPO diluído em água deionizada, a curva laranja ao DMPO + $PHA^+$ em visível escuro e a curva roxa ao DMPO + $PHA^+$ em visível sob luz visível.....	46
<b>Figura 15.</b> Espectro do cátion radical da $PHA^+$ com variação de pH. A curva vinho corresponde ao cátion radical em pH 4, a curva cinza em pH 9 e a curva azul corresponde à solução de pH 9 reacificada para pH 4.....	466
<b>Figura 16.</b> Espectros do equilíbrio cátion radical – EF da $PHT^+$ (A) e da $PHA^+$ (B). Em (A) a curva roxa corresponde à concentração de 0,5% de 1,4-dioxano e a curva verde 1% de 1,4-	

dioxano. Em (B) a curva amarela corresponde à concentração de 0,5% de 1,4-dioxano e a curva laranja 1% de 1,4-dioxano. ....	477
<b>Figura 17.</b> Espectro da dispersão da PHT <sup>+</sup> em clorofórmio. ....	488
<b>Figura 18.</b> Efeito do solvente no equilíbrio cátion radical/estado fundamental para a PHA <sup>+</sup> no escuro. ....	51
<b>Figura 19.</b> Efeito do solvente no equilíbrio cátion radical/estado fundamental para a PHA <sup>+</sup> irradiada. ....	51
<b>Figura 20.</b> Espectro do cátion radical (PHT <sup>2+•</sup> ) em dispersão aquosa (linha verde), o espectro da resina Chelex® 100 após agitação na dispersão de PHT <sup>2+•</sup> (linha vermelha) e o espectro do sobrenadante (linha azul) após incorporação da fração rosa no Chelex® 100 (A). Em (B) o espectro da PHA <sup>2+•</sup> cátion radical em dispersão aquosa (linha roxa), o espectro da resina Chelex® 100 após agitação na dispersão de PHA <sup>2+•</sup> (linha vermelha) e o espectro do sobrenadante após incorporação da fração rosa no Chelex® 100 (linha azul). Os inserts mostram as dispersões dos cátions radicais e suas respectivas incorporações na resina. ....	53
<b>Esquema 5.</b> Alcalinização do meio reacional e incorporação do cátion radical na resina Chelex® 100. ....	54
<b>Figura 21.</b> Espectros do efeito do ácido acético sobre o cátion radical PHT <sup>2+•</sup> . ....	55
<b>Figura 22.</b> Espectros atribuídos à formação de AgNPs. Em (A) a linha vermelha é atribuída ao sobrenadante PHT <sup>•</sup> antes da adição de AgNO <sub>3</sub> e a linha verde após adição do sal. Em (B) a linha azul é atribuída ao sobrenadante da PHA <sup>•</sup> e a linha rosa após adição de AgNO <sub>3</sub> . ....	566
<b>Figura 23.</b> Espectros atribuídos as AuNPs formadas após adição de sal de ouro em diferentes concentrações (0,1 a 0,7 mM) nos sobrenadantes redutores PHT <sup>•</sup> (A) e da PHA <sup>•</sup> (B). As soluções foram irradiadas por 10 min sob UV curto a 1 m da lâmpada. Os inserts mostram as cores obtidas para cada concentração de sal de ouro. ....	577
<b>Figura 24.</b> Representação da estabilização de AuNPs. ....	59
<b>Figura 25.</b> Espectros de XPS para os elementos químicos S, Au, O e N a partir das amostras 0,1 mM e 0,7 mM de AuNP sintetizadas a partir da PHT <sup>•</sup> . ....	600
<b>Figura 26.</b> Espectros de XPS para os elementos químicos S, Au, O e N a partir das amostras 0,1 mM e 0,7 mM de AuNP sintetizadas a partir da PHA <sup>•</sup> . ....	611
<b>Figura 27.</b> Imagem de FEG das AuNPs 0,5 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHT <sup>•</sup> . O inserto é um fragmento da imagem obtida ampliado. ....	666
<b>Figura 28.</b> Imagem de FEG das AuNPs 0,6 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHA <sup>•</sup> . O inserto é um fragmento da imagem obtida ampliado. ....	677
<b>Figura 29.</b> Estrutura do CTAB. ....	69
<b>Figura 30.</b> Espectros atribuídos a AuNP 0,7 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHT <sup>•</sup> com adição de CTAB 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM, respectivamente. A linha azul é atribuída as AuNPs 0,7 mM e a linha vermelha é atribuída ao comportamento das AuNPs após 6 dias da adição do detergente. ....	69

<b>Figura 31.</b> Espectros atribuídos a AuNP 0,7 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHA <sup>•</sup> com adição de CTAB 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM , respectivamente. A linha laranja é atribuída as AuNPs 0,7 mM e a linha vermelha é atribuída ao comportamento das AuNPs após 6 dias da adição do detergente. ....	700
<b>Figura 32.</b> Estrutura do ânion Citrato. ....	711
<b>Figura 33.</b> Espectros atribuídos às AuNPs sintetizadas a partir da PHT <sup>•</sup> (A) e para as sintetizadas a partir da PHA <sup>•</sup> (B) após adição de CTAB 5 mM (linha vermelha) e após a adição de citrato de sódio 100 mM sobre as amostras com o detergente (linha preta).....	711
<b>Esquema 6.</b> Processo de agregação das AuNPs com citrato de sódio. Os hexágonos laranjas representam o recobrimento das AuNPs (círculo roxo) com CTAB. As linhas verdes representam as interações .....	722

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de Potencial Zeta de AuNPs sintetizadas com diferentes concentrações de $\text{Au}^{3+}$ para a PHT•.....	655
Tabela 2. Valores de Potencial Zeta de AuNPs sintetizadas com diferentes concentrações de $\text{Au}^{3+}$ para a PHA•.....	655

## LISTA DE SIGLAS

AM<sup>+</sup> - Azul de metileno

AgNP – Nanopartícula de prata

AuNP – Nanopartícula de ouro

BTOA - Brometo de tetraoctilamônio

CTAB – Brometo de cetiltrimetilamônio

DMPO – 5,5-dimetilpirrolina-N-óxido

DMSO - Dimetilsulfóxido

EDX - *Energy-dispersive X-ray spectroscopy*

EF – Estado fundamental

EPR – *Electron paramagnetic resonance*

eV – elétron-volt

FESEM – *Field Emission Scanning Electron Microscopy*

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital*

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*

mM - milimolar

nm - nanômetro

NP – Nanopartícula

NTA – *Nanoparticle Tracking Analysis*

pH – Potencial hidrogeniônico

PHA<sup>+</sup> - Fenoanilina no estado fundamental

PHA<sup>2+•</sup> – cátion radical da fenoanilina

PHA<sup>•</sup> – forma reduzida da fenoanilina

PHT<sup>+</sup> - Núcleo fenotiazínico no estado fundamental

PHT<sup>2+•</sup> – cátion radical do núcleo da fenotiazina

PHT<sup>•</sup> - forma reduzida do núcleo da fenotiazina

SAXS – *Small angle X-ray scattering*

SOMO – *Singly Occupied Molecular Orbital*

TEM - *Transmission electron microscopy*

UV – Ultravioleta

UV-vis – Ultravioleta - visível

XPS - *X-ray photoelectron spectroscopy*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	16
<b>2. OBJETIVOS</b>	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	19
3.1 Fenotiazinas	19
3.1.1 Estrutura e Propriedades fotoquímicas e fotofísicas de fenotiazinas	20
3.1.2 Cátion radical	24
3.2 Chelex® 100	25
3.3 Nanopartículas de ouro	27
3.3.1 Mecanismo de síntese	28
3.3.2 As diferentes cores das AuNPs	29
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	32
4.1 Materiais	32
4.1.1 Reagentes	32
4.1.2 Equipamentos	333
4.2 Métodos	333
4.2.1 Síntese do cátion radical e da espécie redutora e separação das espécies utilizando a resina Chelex® 100	333
4.2.1.1 Fenotiazina	333
4.2.1.2 Fenoanilina	344
4.3 Caracterização do cátion radical da PHT <sup>+</sup>	355
4.3.1 Caracterização do estado de agregação do cátion radical da PHA <sup>+</sup> com 1,4 – dioxano	355
4.3.2 Caracterização do estado de agregação do cátion radical PHT <sup>2+•</sup> com ácido acético	366
4.3.3 Caracterização do estado de agregação do cátion radical PHT <sup>2+•</sup> em clorofórmio	366
4.4 Caracterização do cátion radical da PHA <sup>+</sup>	366
4.4.1 Caracterização da síntese do cátion radical PHA <sup>2+•</sup> com DMPO	366
4.4.2 Caracterização do estado de agregação do cátion radical PHA <sup>2+•</sup> em solventes	377
4.4.3 Caracterização do estado de agregação do cátion radical PHA <sup>2+•</sup> com 1,4 – dioxano	377

4.4.4 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHA}^{2+\bullet}$ pela variação de pH .	37
<b>4.5 Caracterização química com <math>\text{AgNO}_3</math> das espécies redutoras <math>\text{PHT}^\bullet</math> e <math>\text{PHA}^\bullet</math> .....</b>	<b>37</b>
<b>4.6 Síntese e caracterização de AuNPs.....</b>	<b>38</b>
4.6.1 Metodologia para síntese de AuNPs.....	38
4.6.2 Caracterização das AuNPs.....	38
4.6.3 Modulação do diâmetro das AuNPs com CTAB e citrato de sódio .....	39
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>5.1 Formação e caracterização do cátion radical da <math>\text{PHT}^+</math> e da <math>\text{PHA}^+</math> .....</b>	<b>40</b>
<b>5.2 Incorporação do cátion radical na resina Chelex® 100 .....</b>	<b>522</b>
<b>5.3 Efeito de solventes na resina Chelex® 100 incorporada com a <math>\text{PHT}^{2+\bullet}</math> .....</b>	<b>544</b>
5.3.1 Efeito do ácido acético glacial na resina Chelex® 100 incorporada com a $\text{PHT}^{2+\bullet}$ .....	544
<b>5.4 Obtenção e caracterização das AuNPs .....</b>	<b>56</b>
5.4.1 Modulação dos agregados de AuNPs para possível aplicação .....	68
<b>6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>733</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>75</b>

## RESUMO

Nesta dissertação foram estudadas as propriedades fotoquímicas e fotofísicas da fenotiazina ( $\text{PHT}^+$ ) e da fenoanilina ( $\text{PHA}^+$ ) moduladas pelo estado de agregação dos corantes. As fenotiazinas no estado agregado, em diferentes solventes, formam o par cátion radical e forma reduzida quando irradiadas com luz UV e visível. Nos agregados, o cátion radical é estabilizado, de tal modo que é possível ser analisado por técnicas espectroscópicas. O cátion radical ( $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$ ) pode ser capturado pela resina Chelex®100 de tal modo que a forma reduzida ( $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$ ) permanece em solução e pode ser utilizada como agente redutor para a síntese de nanopartículas metálicas, de ouro e prata. O procedimento experimental consistiu em irradiar ambas fenotiazinas em  $\text{H}_2\text{O}$ , sendo a  $\text{PHT}^+$  irradiada em comprimento de onda 254 nm e a  $\text{PHA}^+$  em luz visível. A formação do cátion radical se deve a fotoexcitação de uma molécula presente no agregado que, ao atingir o estado tripleto, reage com uma molécula vizinha no estado fundamental para dar origem ao  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$ . A formação do cátion radical foi corroborada pela coloração rosa da suspensão que foi eliminada pela adição do captador de spin DMPO, pelo típico espectro de UV-visível com pico em torno de 520 nm, e, no caso de  $\text{PHT}^{2+\bullet}$ , por medidas diretas de EPR. Como a estabilidade do cátion radical depende da agregação, sua formação e razão em relação ao estado fundamental, foi avaliada em diferentes solventes. Consistentemente, em solventes de menor polaridade, houve um aumento da razão do estado fundamental/cátion radical, sendo que, em algumas condições, o cátion radical foi em parte convertido em sulfóxido. Quando a forma reduzida dos corantes foi separada do cátion radical, a adição de sal de prata ou de ouro ao meio levou à formação das correspondentes nanopartículas metálicas. A síntese das nanopartículas metálicas foi favorecida pela irradiação das amostras com luz UV (254 nm) durante 10 minutos. Para as nanopartículas de ouro (AuNPs) foi testado o efeito da concentração do sal metálico,  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , na faixa de 0,1 mM a 0,7 mM. As AuNPs foram caracterizadas por UV-vis, potencial zeta ( $\zeta$ ), XPS (do inglês *X-ray Photoelectron Spectroscopy*), NTA (do inglês *Nanoparticle Tracking Analysis*) e FESEM (do inglês *Field Emission Scanning Electron Microscopy*). As AuNPs sintetizadas com  $\text{PHT}^\bullet$  tinham tamanho em torno de 7 nm e formaram agregados de baixa polidispersividade com tamanho médio de  $69 \pm 0,56$  nm. As AuNPs sintetizadas com uso de  $\text{PHA}^\bullet$  ficaram polidispersas em forma e tamanho com a presença de formas anisotrópicas (esféricas, placas triangulares e hexagonais). Os agregados de AuNPs sintetizadas com  $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$  foram dispersos com a adição do surfactante catiônico CTAB. A desagregação pode ser revertida com o uso de citrato de sódio capaz de fazer ligações cruzadas com as AuNPs então recobertas com o detergente. Essa capacidade de agregação e desagregação reversível das AuNPs pode ter aplicação em operações de lógica Booleana. O cátion radical imobilizado em resina apresentou promissora aplicação catalítica quanto a oxidação de etanol puro em acetaldeído. Portanto, o sistema Chelex®100/cátion radical e solução da forma redutora constitui uma plataforma de síntese química e de nanopartículas metálicas por mecanismo verde e de uma etapa reacional.

**Palavras chave:** fenotiazinas, cátion radical, nanopartículas de ouro, síntese verde.



## ABSTRACT

In the present dissertation, the photochemical and photophysical properties of phenothiazine ( $\text{PHT}^+$ ) and phenoaniline ( $\text{PHA}^+$ ) modulated by the aggregation state of the dyes were studied. The phenothiazines in the aggregated state and in different solvents formed the pair radical cation and the reduced form, when irradiated with UV light and visible. In the aggregates, the radical cation remained stable and it is possible to be analyzed by spectroscopic techniques. The radical cation ( $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$ ) can be trapped by the Chelex®100 resin in such a way that the reduced form ( $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$ ) remained in solution and could be used as a reducing agent for the synthesis of metallic nanoparticles, gold and silver. The experimental procedure consisted in irradiating both phenothiazines in  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{PHT}^+$  being irradiated at the wavelength of 254 nm and  $\text{PHA}^+$  with visible light. The formation of the radical cation is due to the photoexcitation of a molecule present in the aggregate that, at the triplet state, reacts with a neighboring molecule in the ground state generating  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$ . The formation of the radical cation was corroborated by the pink color of the suspension that was eliminated by the addition of the spin trapping DMPO, by the typical UV-visible spectrum with a peak around 520 nm, and in the case of  $\text{PHT}^{2+\bullet}$ , by direct measurements of EPR. Considering that the stability of the radical cation depends on the aggregation, its formation and ratio to the ground state, was evaluated in different solvents. Consistently, in lower polarity solvents, there was an increase in the ground state/radical cation ratio, and in some conditions, the radical cation was partially converted to the sulfoxide derivative. When the reduced forms of the dyes were separated from the radical cation, the addition of silver or gold salts in the medium led to the formation of the corresponding metallic nanoparticles. The synthesis of metallic nanoparticles was favored by irradiating the samples with UV light (254 nm) for 10 min. For the gold nanoparticles (AuNPs) the effect of the metal salt concentration,  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , at the range of 0.1 mM to 0.7 mM was tested. AuNPs were characterized by UV-vis, zeta potential ( $\zeta$ ), XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy), NTA (Nanoparticle Tracking Analysis) and FESEM (Field Emission Scanning Electron Microscopy). AuNPs synthesized with  $\text{PHT}^\bullet$  presented size around 7 nm and formed low polydispersity aggregates with mean size 69 nm. AuNPs synthesized with  $\text{PHA}^\bullet$  were polydisperse in shape and size with the presence of anisotropic (spherical, triangular and hexagonal plates) forms. The aggregates of AuNPs synthesized with  $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$  were dispersed with the addition of the cationic surfactant CTAB. The dispersion could be reversed with the use of sodium citrate that is able to crosslink the AuNPs then coated with the detergent. This ability reversible aggregation of AuNPs can be applied in Boolean logic operations. The resin-immobilized radical cation showed promising catalytic application for the oxidation of pure ethanol to acetaldehyde. Therefore, the Chelex®100/radical cation system and the solution of the corresponding reducing species form a platform of chemical synthesis and fabrication of metallic nanoparticles by a green and one pot mechanism.

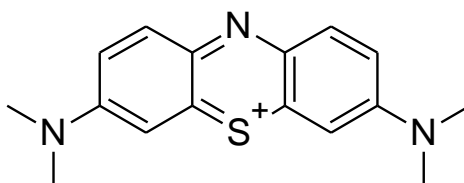
**Keywords:** phenothiazines, radical cation, gold nanoparticles, green synthesis.

## 1 INTRODUÇÃO

A motivação inicial desta dissertação advém de estudos anteriores a respeito da fotoquímica e fotofísica de derivados tiazínicos realizados por Rodrigues *et al* (2006), Santos (2009), Miranda (2016) e do aproveitamento dos produtos formados nesse tipo de síntese. Na tese de doutorado defendida por Miranda (2016), as nanopartículas de ouro (AuNPs) geradas a partir do derivado fenotiazínico azul de metileno ( $AM^+$ ) imobilizado em resina Chelex® 100, foram testadas em termos de viabilidade celular com o objetivo de avaliar o potencial de aplicação dessas AuNPs como nanocarreadores de fármacos para combate de tumores, proteínas e porfirinas, por exemplo.

O azul de metileno, Figura 1, em seu estado fundamental, pode, dependendo do tipo e concentração de solvente, apresentar-se na forma de dímeros, ou seja, duas moléculas idênticas interagem para diminuição da energia total do sistema.

**Figura 1.** Estrutura do Azul de Metileno.



No estado fundamental possui coloração azul, é solúvel em  $H_2O$  e quando é adicionada resina Chelex® 100 (vide página 27), os grupos carboxílicos do polímero promovem forte interação eletrostática com o corante tiazínico. Sob irradiação de luz branca ou vermelha, há separação de carga dos pares do dímero e há a formação de um cátion radical e de uma espécie radicalar redutora (forma leuco). A resina antes azul passa a apresentar-se incolor, indicando a formação da forma reduzida. Ao adicionar sal de ouro, a espécie redutora oxida, ouro reduz e são formadas as AuNPs (MIRANDA, 2016).

A pesquisa apresentada neste projeto objetivou sintetizar e caracterizar as propriedades fotoquímicas e fotofísicas da fenotiazina ( $PHT^+$ ) e da fenoanilina ( $PHA^+$ ), comparando rotas de síntese estabelecidas a partir do que já era conhecido para o  $AM^+$  e verificando as diferenças de comportamento físico-químico entre as 3 moléculas e verificar se a  $PHT^+$  e a  $PHA^+$  geram espécie radicalar redutora e possuem aplicabilidade na formação, assim como o  $AM^+$ , de AuNPs e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).

Diversas são as metodologias já estabelecidas por rotas fotoquímicas com H<sub>2</sub>O e outros solventes ou por aquecimento para a preparação de suspensões coloidais de ouro e, dessa forma, um novo processo tão eficiente quanto os já descritos na literatura para a mesma síntese foi estudado para apresentar uma rota verde, reduzindo gasto de energia, uso de diversos reagentes e remediação da geração de resíduos. O método clássico para síntese de AuNPs é o Turkevich (KIMLING *et al.*, 2006; ROHIMAN *et al.*, 2011), o qual se baseia no aquecimento (~100°C) de uma solução aquosa de sal de ouro e adição de citrato de sódio e agitação constante até que após 15 minutos as AuNPs começam a nuclear e crescer e serem estabilizadas pelo próprio citrato, que além de funcionar como agente redutor, também é agente estabilizante de superfície. As AuNPs formadas por este método podem estar entre 9 e 120 nm. Um segundo método de sintetizar AuNPs seria pelo método de Brust para partículas de diâmetro inferior a 10 nm, no qual a solução aquosa de sal de ouro será primeiro adicionada a brometo de tetraoctilamônio (BTOA) em tolueno para transferência do complexo tetracloriaurato (III) da fase aquosa para a fase orgânica e a essa fase será adicionada dodecanotiol e na sequência solução aquosa de boro-hidreto de sódio e o sistema fica 3h sob agitação, passando depois por separação de fases, rotoevaporação e lavagem, acondicionamento em local escuro, precipitação, separação e armazenamento (SHAH *et al.*, 2014). Uma terceira metodologia envolve a formação de núcleos de AuNPs pela redução com boro-hidreto de sódio e adição dos núcleos formado em solução aquosa de sal de ouro e adição de ácido ascórbico e um agente de direção de estrutura para que as formas anisotrópicas (estruturas de diferentes geometrias) das AuNPs possam ser obtidas. Outras técnicas envolvem microrganismos, plantas e frutas cítricas (SHAH *et al.*, 2014).

Em vista de todas as técnicas supracitadas, qual seria a vantagem do método experimental proposto neste trabalho para formação de AuNPs? A resposta seria a rapidez, pois a obtenção levou 10 minutos sob irradiação em 254 nm, a não necessidade de aquecimento e a não utilização de diversos reagentes além dos próprios tiazínicos para obtenção do agente redutor. No que tange a geração de resíduos, o cátion radical imobilizado na resina que não teria utilidade, uma vez que apenas o sobrenadante foi usado para a síntese de AuNPs, apresentou provável potencial poder catalítico na oxidação de etanol a etanal.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Caracterizar a fotoquímica e fotofísica da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$ , a interação de ambas com a resina Chelex® 100 e a síntese de AuNPs.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Observar a formação de agregados da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$  em solventes próticos e apróticos. O favorecimento da forma agregada possibilita que as espécies oxidada (cátion-radical) e reduzida sejam formadas;
- b) Irradiar em comprimento de onda específico (254 nm) a  $\text{PHT}^+$ , a qual possui pequena solubilidade em água, para formação do cátion-radical solúvel.
- c) Alterar pH para modular o estado de agregação do cátion-radical;
- d) Avaliar, através do DMPO, em visível claro e escuro, a formação de adutos entre o captador de spin e o cátion-radical.
- e) Observar a redução de citocromo c a partir da espécie redutora formada e separada do cátion-radical imobilizado na resina Chelex® 100 após a irradiação.
- f) Sintetizar AuNPs em condição controlada de radiação eletromagnética, valendo-se da fotossensibilidade das tiazinas de partida e da obtenção da espécie redutora após irradiação;
- g) Controlar, com CTAB e Citrato de sódio, o diâmetro das AuNPs, baseado na estabilização que o detergente exerce sobre as AuNPs e o efeito contrário causado pelo citrato de sódio, diminuindo a barreira energética para que as AuNPs voltem a aglomerar.
- h) Avaliar mediante alguns solventes a reatividade do cátion-radical imobilizado em resina Chelex® 100 para futuras aplicações.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Fenotiazinas

Fenotiazinas (em inglês *phenotiazines*), cujo núcleo do qual se derivam suas variações pode ser representado pela sigla PHT<sup>+</sup>, constituem uma classe de fármacos classificada como antipsicótica e neuroléptica e tiveram seus primeiros usos a partir dos anos 1950 em tratamentos veterinários (GROSS, 2001). Sua função é promover a tranquilização sem fazer com que o paciente adormeça e pode potencializar a ação analgésica de fármacos, assim como melhorar a atividade anestésica de medicamentos sobre o sistema respiratório. Seu efeito sedativo se dá pelo bloqueio da neurotransmissão de dopamina e serotonina no sistema nervoso central. Sua administração junto à morfina, timoanalépticos, anestésicos, hipnóticos, anticolinérgicos, anti-histamínicos, succinilcolina, antiarrítmico, deve ser evitada, visto que aumentam sua toxicidade (ELISEI *et al.*, 2002). A utilização das fenotiazinas N-substituídas é estabelecida pelo tipo e posição do substituinte lateral, pois afetam fortemente as propriedades redox, fotofísica e fotoquímica do fármaco (BRUNTON, LAZO & PARKER, 2005).

Dentre suas várias aplicações, estudos como o apresentado por Arena *et al* (2009) demonstram que sobre animais dóceis a droga apresenta boa eficácia, enquanto que em animais ariscos a sedação não é efetiva. Pesquisas realizadas por Santos *et al* (2013) mostraram que as propriedades antioxidantes do núcleo fenotiazínico associado às membranas mitocondriais e lipossomos, quando inserida uma concentração de PHT<sup>+</sup> 5μM, foi capaz de proteger lipídios e o citocromo c da membrana mitocondrial contra ações de agentes pro-oxidantes, aprisionando tais agentes redutores.

Estudos biológicos, químicos, físico-químicos e fotoquímicos envolvendo fenotiazinas têm sido realizados para a caracterização de suas propriedades farmacêuticas e aplicabilidade (PIETTE *et al.*, 1986, ZHELEV *et al.*, 2004). Particularmente, a caracterização do comportamento fotoquímico das fenotiazinas têm despertado crescente interesse, pois esses compostos promovem fotossensibilização em pacientes que utilizam este medicamento no tratamento de esquizofrenia (ELISEI *et al.*, 2002, VIOLA *et al.*, 2003).

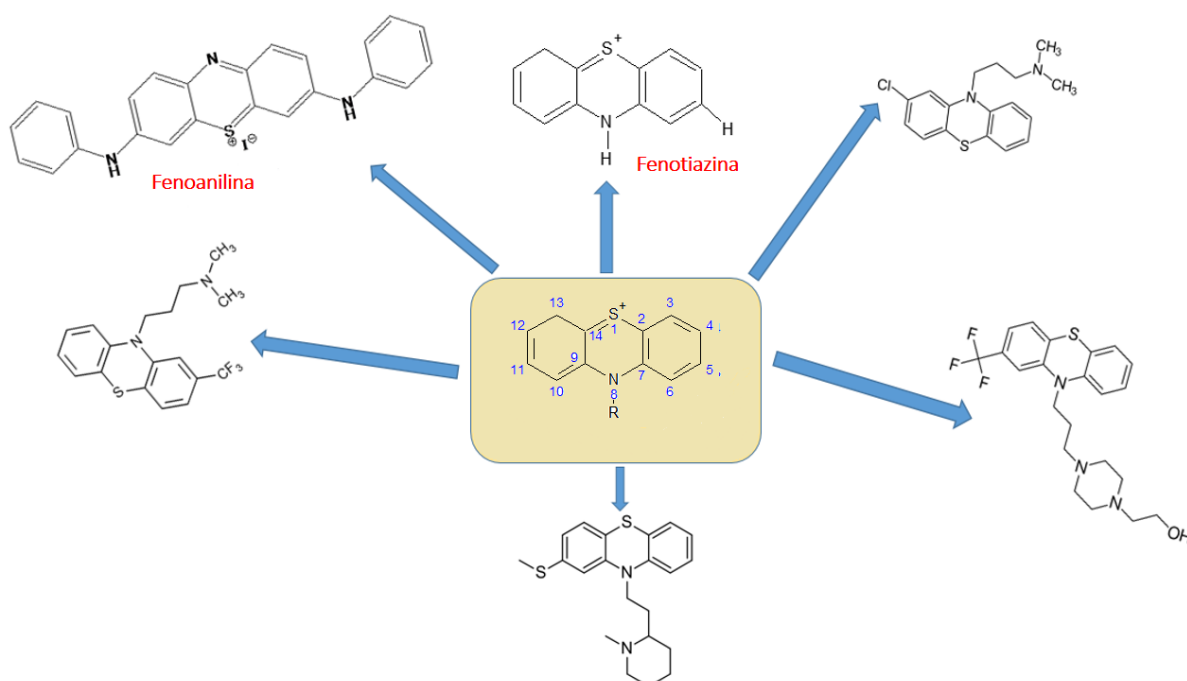
A Leishmaniose, seja ela cutânea ou visceral, provocada pelo protozoário *Leishmania braziliensis*, cujos principais sintomas são feridas purulentas (cutânea), perda de massa, indisposição, palidez e inchaços no baço e fígado (visceral), teve tratamento quimioterápico fotodinâmico, no qual a fenotiazina ou seus derivados foram usados concomitantemente à radiação para avaliar a eficácia do tratamento. Os resultados dos testes mostraram que um

decréscimo e, portanto, letalidade do protozoário, quando comparados aos grupos de controle, foi significativo, sendo que em cloreto de tolônio (azul de toluidina O) os resultados foram melhor alcançados (GONTIJO; MELO, 2004; BASTOS *et al.*, 2012)

### 3.1.1 Estrutura e Propriedades fotoquímicas e fotofísicas de fenotiazinas

As estrutura do núcleo fenotiazínico ( $\text{PHT}^+$ ) é formada por três anéis, dos quais dois são benzênicos, que se ligam através do 3º por átomos de enxofre oxidado e nitrogênio. As cadeias laterais ligadas em diferentes posições da  $\text{PHT}^+$  explicam a variedade desses compostos.

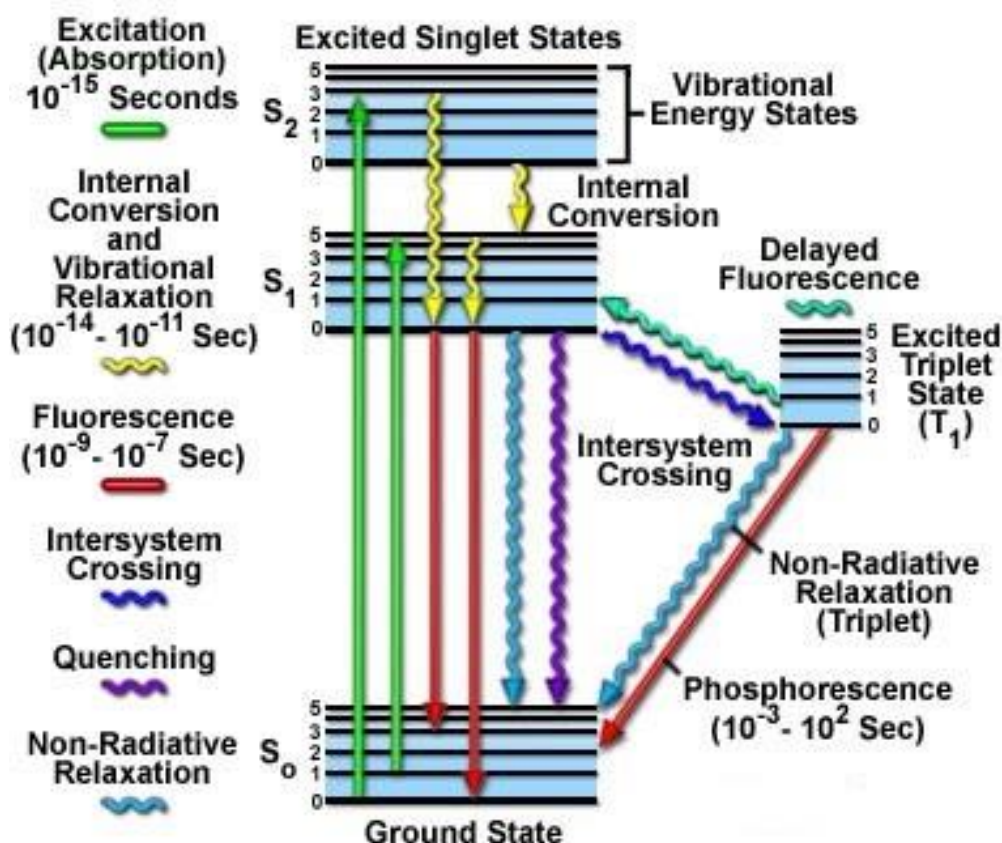
**Figura 2.** Estrutura básica e derivados do núcleo tiazínico.



As fenotiazinas, de acordo com suas características físico-químicas, podem ser agrupadas em alifáticas (clorpromazina, promazina, trifluorpromazina), piperidínicas (tioridazina, mepazina, pipotiazina), piperazínicas (trifluoperazina (TFP), tiopropazato, ilufenazina) e azafenotiazinas (protipencilil, isotipendil, oxipendil). São substâncias sólidas, solúveis em solventes orgânicos, hidrófobas, e na presença de ácidos formam sais hidrossolúveis, não apresentam alta toxicidade. Os derivados fenotiazínicos reagem como ácidos fracos, apresentando  $\text{pK}_a$  para protonação do nitrogênio da amina entre 4,5 e 7,8, dependendo da cadeia lateral  $\text{R}_1$  nessa posição. Para aminas terciárias, o valor de  $\text{pK}_a$  fica pouco acima do fisiológico, podendo gerar espécies iônicas e neutras (BORGES *et al.*, 2010).

As fenotiazinas apresentam fotossensibilidade e a reação fotoquímica e a fotofísica para geração de cátions-radicais pode ser explicada a partir dos conceitos já descritos e demonstrados para espécies fotoexcitadas através do Diagrama de Jablonski, conforme Esquema 1:

Esquema 1. Diagrama de Jablonski.



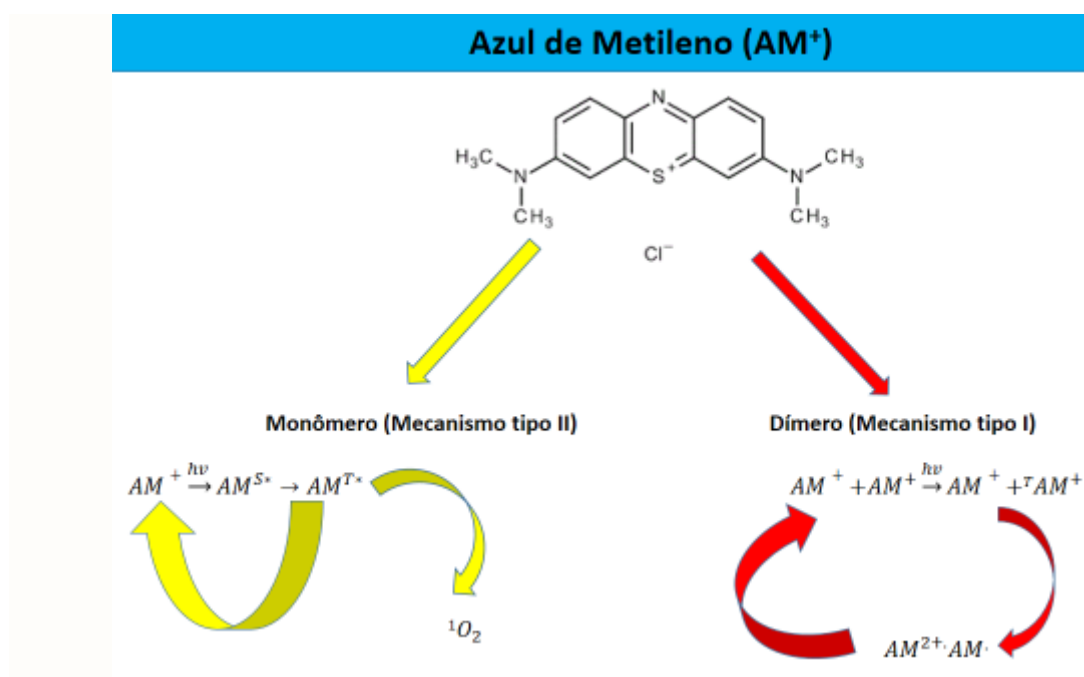
Fonte: Lichtman e Conchello, 2005.

Neste diagrama, na transição eletrônica promovida pela radiação eletromagnética, além do spin e quantum envolvido, há a contribuição da mudança nos níveis vibracional e rotacional das espécies. Fótons absorvidos fazem com que uma população de moléculas saia do estado fundamental  $S_0$  para qualquer nível vibracional do estado singlete. Na conversão interna, por relaxação vibracional (duração entre  $10^{-13}$  s e  $10^{-11}$  s) sem emissão de radiação, os elétrons excitados são levados ao primeiro nível vibracional do primeiro estado singlete, de acordo com a Regra de Kasha, sendo que essa transição pode ocorrer por transferência de energia vibracional para outras moléculas, como solventes, através de colisões. Parte do fóton absorvido será convertido em calor e o restante será radiação fluorescente ou fosforescente. Numa competição entre os estados de energia mais baixos singlete e triplete (cruzamento intersistema), parte da energia é transferida ao estado triplete através de um processo sem

emissão de radiação. Cada quantum de radiação absorvida por uma molécula poliatômica normal tem uma probabilidade equivalente entre os estados de energia mais baixa excitados da molécula (TURRO, 2012). O estado triplete possui maior tempo de vida ( $\tau$ ) que o estado singlete ( $\tau > 1 \mu\text{s}$  para o triplete e  $\tau \sim 1 \text{ ns}$  para o singlete), pois neste estado há inversão do spin do elétron excitado, o que gera um estado proibido para retorno ao estado fundamental, visto o princípio da exclusão de Pauli. Sendo assim, as reações bimoleculares, como a ocorrida na  $\text{PHT}^+$  e na  $\text{PHA}^+$  e no  $\text{AM}^+$ , são favorecidas no estado triplete.

Baseado neste diagrama, moléculas que apresentam fotossensibilidade, podem reagir via mecanismo tipo I e tipo II, sendo o mecanismo tipo I responsável pela formação de espécies radicalares, conforme mostrado para o  $\text{AM}^+$  no Esquema 2:

**Esquema 2.** Esquema do processo de fotossensibilização do  $\text{AM}^+$ .



Fonte: Machado, 2000; Miranda, 2016.

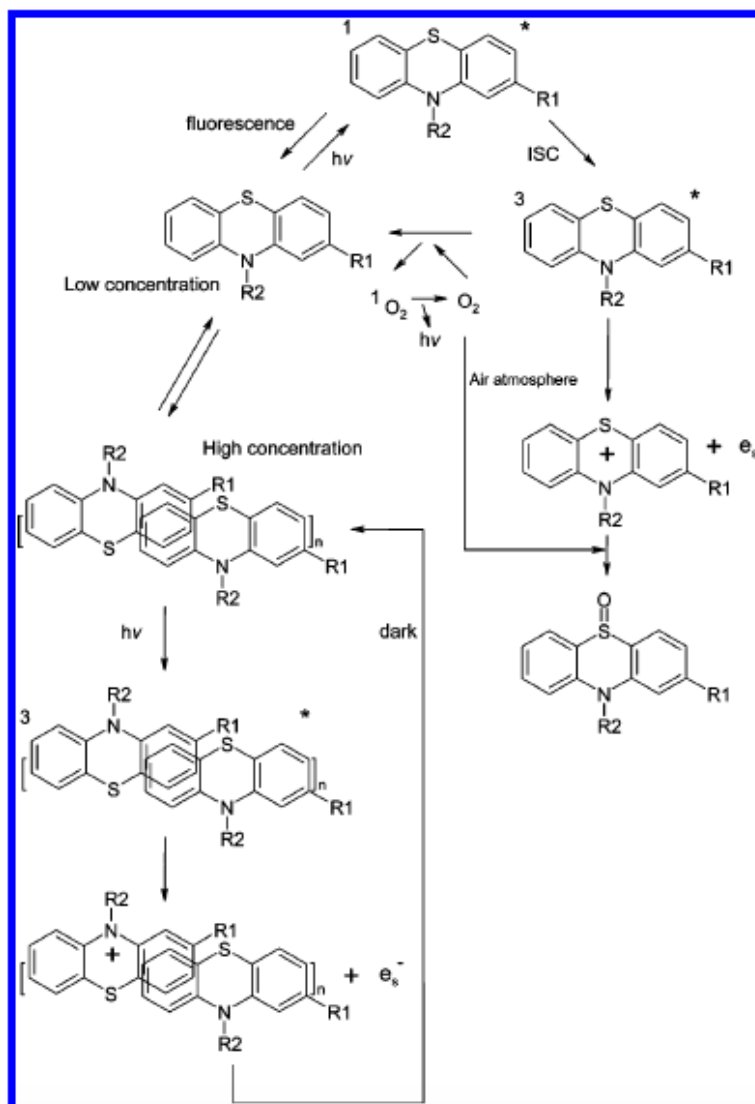
Uma espécie fotossensível no estado singlete fundamental  $\text{S}_0$  é excitada a partir da absorção de radiação e levada a um estado  $\text{S}_n$  de alta energia. Este estado é bastante instável e por emissão de fluorescência e calor, pode retornar rapidamente ao estado  $\text{S}_0$ . Todavia, por cruzamento intersistema, um estado excitado  $\text{S}_n$  pode passar para um estado triplete excitado  $\text{T}_n$ , de maior tempo de vida, que pode decair emitindo fosforescência ou perdendo a energia de excitação na forma de calor ou transferindo, por mecanismo do tipo II, energia ao oxigênio molecular para formação do oxigênio singlete (altamente reativo, podendo ser utilizado em Terapia Fotodinâmica). Alternativamente, pelo mecanismo tipo I, a espécie fotossensível pode



transferir elétrons ou hidrogênio a outra molécula e formar radicais reativos com oxigênio, podendo formar subsequentemente sulfóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila (CASTANO *et al.*, 2004; AGOSTINIS *et al.*, 2011).

A distribuição de elétrons  $\pi$  nas moléculas de fenotiazinas N-substituídas nas posições R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>, pode levar a formação de radicais livres (UDSIN, ECKERT e FORREST, 1980). Partindo-se desse estudo, sob presença de luz ultravioleta (UV), Esquema 3, os elétrons  $\pi$  das fenotiazinas são fotoexcitados e podem atingir o primeiro estado singlete ou outro, dependendo da energia de excitação ou do solvente utilizado, sendo a absorção monofotônica ou bifotônica. Tanto a PHT<sup>+</sup> quanto a PHA<sup>+</sup> reagem preferencialmente via mecanismo tipo I. O Esquema 3 mostra o comportamento fotoquímico da PHT<sup>+</sup> sob irradiação UV, o qual se aplica pra a PHA<sup>+</sup>, porém esta irradiada em luz visível:

**Esquema 3.** Comportamento fotoquímico da fenotiazina.



Fonte: Santos, 2009.

A fenotiazina no seu estado fundamental, quando irradiada sob UV (254 nm) vai para o estado excitado singlete (I), podendo decair para o estado fundamental exibindo fluorescência, ou passa por um cruzamento intersistemas indo para o seu estado excitado triplete (II). Este pode doar energia para o oxigênio molecular ( $O_2$ ), gerando o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e a molécula volta para o seu estado fundamental (III), ou agregado do estado excitado triplete reage com um agregado no estado fundamental que lhe transfere 1 elétron (IV) e gera o cátion radical (V) e a espécie redutora (VI). Para a  $PHT^+$  e a  $PHA^+$  a subsequente estabilização no agregado (VII) impede a reação deste com o oxigênio atmosférico para formação do respectivo sulfóxido, pois há estabilização do radical por conta da agregação (RODRIGUES *et al.*, 2006; INPL, 2011). O comportamento fotoquímico descrito no Esquema 3 é análogo para outras tiazinas como a TFP, TR e FP. Para o azul de metileno não são observados agregados, pois a reação principal para esta tiazina forma sulfóxidos e peróxido de hidrogênio, visto que a reoxidação neste caso é dependente do oxigênio molecular (MIRANDA, 2016).

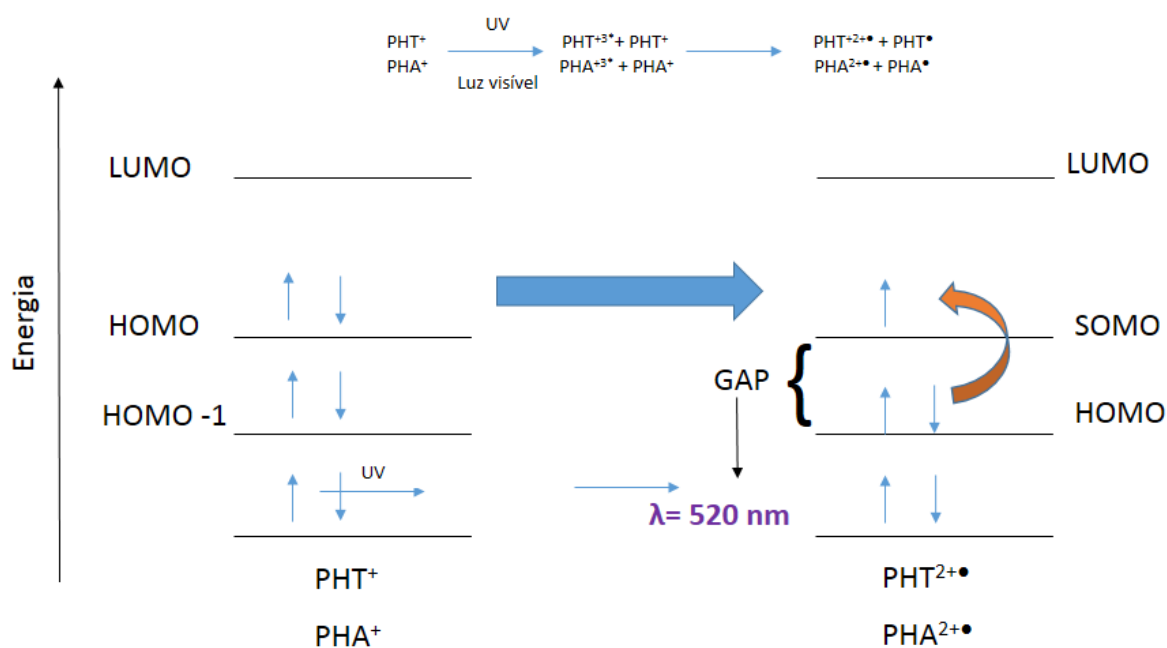
### 3.1.2 Cátion radical

Os núcleos fenotiazínicos apresentam propriedades analíticas bastante interessantes, principalmente ao que tange a sua oxidação através de agentes como  $K_2Cr_2O_7$ ,  $NH_4VO_3$ ,  $Ce(SO_4)_2$ ,  $KBrO_3$ ,  $KIO_3$ ,  $KIO_4$ ,  $NaNO_2$ ,  $H_2O_2$ , através de ação fotoquímica da radiação UV, sendo estes processos, segundo KOJLO *et al.* (2001), formadores de produtos coloridos, como o cátion radical da  $PHT^+$  e da  $PHA^+$  e a estabilidade do radical catiônico depende do tipo de substituição lateral, da acidez do meio de reação e do tipo e concentração do ácido usado em sistemas tamponados (LEVY *et al.*, 1972, SACKETT e McCREERY, 1981), assim como o tipo de solvente. Em alguns casos a reação oxidativa das fenotiazinas N-substituídas em meio ácido pode levar a estabilização do radical colorido (KOJLO *et al.*, 2001, RODRIGUES *et al.*, 2006). Todavia, outros métodos mostram que a formação do produto colorido pode ocorrer em meio básico (pH 7,4), e que este produto pode ser extraído do meio alcalino por solventes orgânicos (PUZANOWSKA-TARASIEWICZ *et al.*, 2005).

Até o estudo publicado por Rodrigues *et al.* (2006), não havia nenhuma publicação que relacionasse a estabilização do cátion radical com a formação de agregados que impedissem a reação deste com o oxigênio atmosférico para formação do respectivo sulfóxido. Os autores descobriram que quando há formação de dímeros (no caso do  $AM^+$ ) ou um agregado supramolecular (no caso da  $PHT^+$  e da  $PHA^+$ ), a proximidade dos orbitais de moléculas diferentes induz à separação dos níveis de energia HOMO (do inglês *Highest Occupied*

*Molecular Orbital*) e LUMO (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Esta separação produz subníveis vibracionais com energias individuais características, ligeiramente diferentes umas das outras. Esta interação resulta numa redução da energia da orbital ocupado pelo par de elétrons e no aumento da energia do orbital SOMO. Em agregados, cuja influência é mútua, há tantos subníveis que não se percebe sua natureza discreta: formam um *continuum*. O orbital SOMO (do inglês *Singly Occupied Molecular Orbital*) de radicais livres reage com o LUMO ou o HOMO de energia mais semelhante ao seu (HONÓRIO, 2018). Estando os níveis separados e o cátion radical sendo um ácido de Lewis, a transição eletrônica será do tipo HOMO-SOMO, de mais baixa energia. A Figura 3 mostra essa transição para a fotoionização da  $\text{PHT}^+$ :

**Figura 3.** Transição de energia nos orbitais moleculares das fenotiazinas.

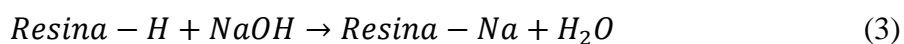
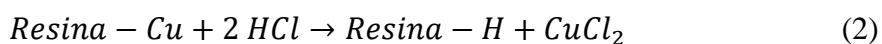


Por serem hidrofóbicas, as moléculas de fenotiazina formam agregados em água e na presença de radiação UV formam o par  $\text{PHT}^{2+\bullet}/\text{PHT}^\bullet$ , estabilizado pelo estado de agregação. A estabilidade termodinâmica se dará justamente por causa do desdobramento de energia de orbitais ocasionado pelo estado de agregação (RODRIGUES *et al.*, 2006).

### 3.2 Chelex® 100

A resina Chelex® 100, além de apolar, apresenta muitos grupos carboxílicos em sua estrutura, o que a torna promissora para imobilização por apolaridade e força iônica do cátion

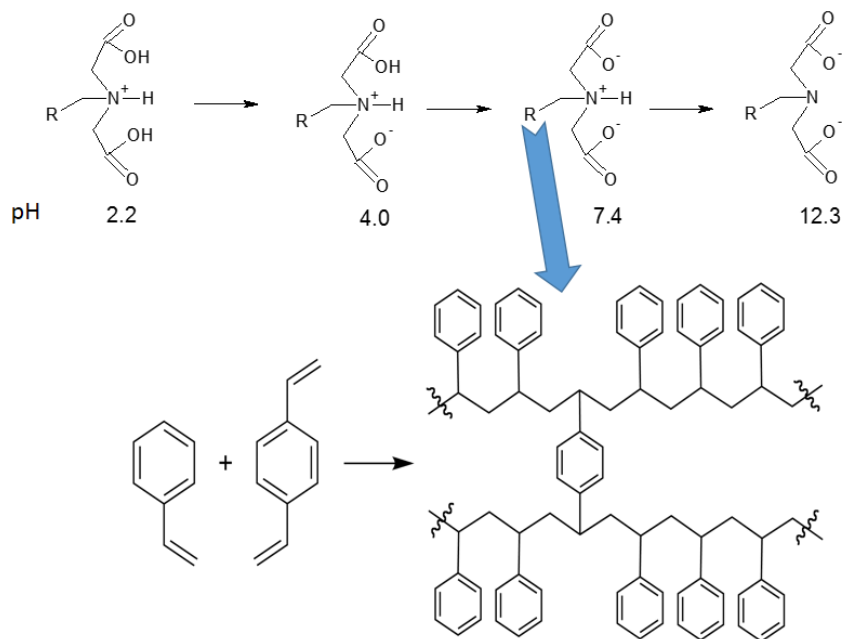
radical e assim, separar a espécie oxidada da reduzida formadas após irradiação da  $PHT^+$  e da  $PHA^+$ . É uma resina amorfa, sendo um copolímero formada por estireno e divinilbenzeno com íons iminoacetato emparelhados que lhe dá a característica de ser formador de complexos, incolor, praticamente insolúvel em água, sólida em condições ambiente, com alta afinidade por íons polivalentes de metais de transição. É usado, diferentemente do Chelex® 20, o qual é aplicado para remoção de metais em escala de águas residuais sem preocupação com pureza analítica, para ultrapurificar tampões e reagentes iônicos, eliminando contaminantes metálicos sem alterar a concentração de íons não-metálicos. Outras aplicações da resina visam a remoção de metais da ATP, remoção de ferro de bactérias, remoção de cálcio de tampões, remoção de impurezas paramagnéticas de oligonucleotídeos para análise de RMN (Ressonância Magnética Nuclear). Em trabalhos, como o de Barea, Pardini e Gushiken (2004), a resina Chelex® 100 é usada como método de extração de DNA, pois quebra íons que são catalisadores na quebra do material genético e se liga a outros produtos derivados do sangue que possam inibir reações de polimerização de cadeia, cujo foco é amplificar regiões específicas do genoma. No trabalho dos autores citados, o objetivo era comparar distintas metodologias para extração do DNA. Nesse caso, foi utilizado o Chelex® 100 na forma de pó que necessita ser diluído antes do uso. Além disso, a diluição tem que ser feita com, no máximo, uma semana de antecedência, pois após esse prazo sua atividade é prejudicada e a confiabilidade nos resultados fica comprometida. Pode, de acordo com Walsh P. S. *et al.* (1991), suportar aquecimentos a 100°C (283 K) sem sofrer modificações estruturais ou tornar-se termoplástica. É classificada como uma resina de troca catiônica fracamente ácida em virtude de seus grupos carboxílicos, mas difere de trocadores comuns por conta de sua alta seletividade para íons metálicos e sua força de adesão muito maior (NOBEL e HERCULES, 2000). É regenerada de maneira eficiente em ácido diluído e no caso da forma sódica, em duas etapas, como mostrado nas equações 2 e 3, usando uma resina com cobre como exemplo:



A base usada para regeneração, na Equação 2, dependerá do metal a ser reincorporado no Chelex® 100. Tem atividade em meio básico, neutro e em soluções fracamente ácidas de pH igual ou superior a 4. Possui estabilidade na faixa de pH 2-14. Em pH baixo atua como trocador aniônico (NOBEL e HERCULES, 2000). A Figura 4 mostra as formas zwitteriônicas

(aquela na qual o composto apresenta cargas opostas em átomos distintos dentro da própria molécula) do Chelex® 100 em função do pH:

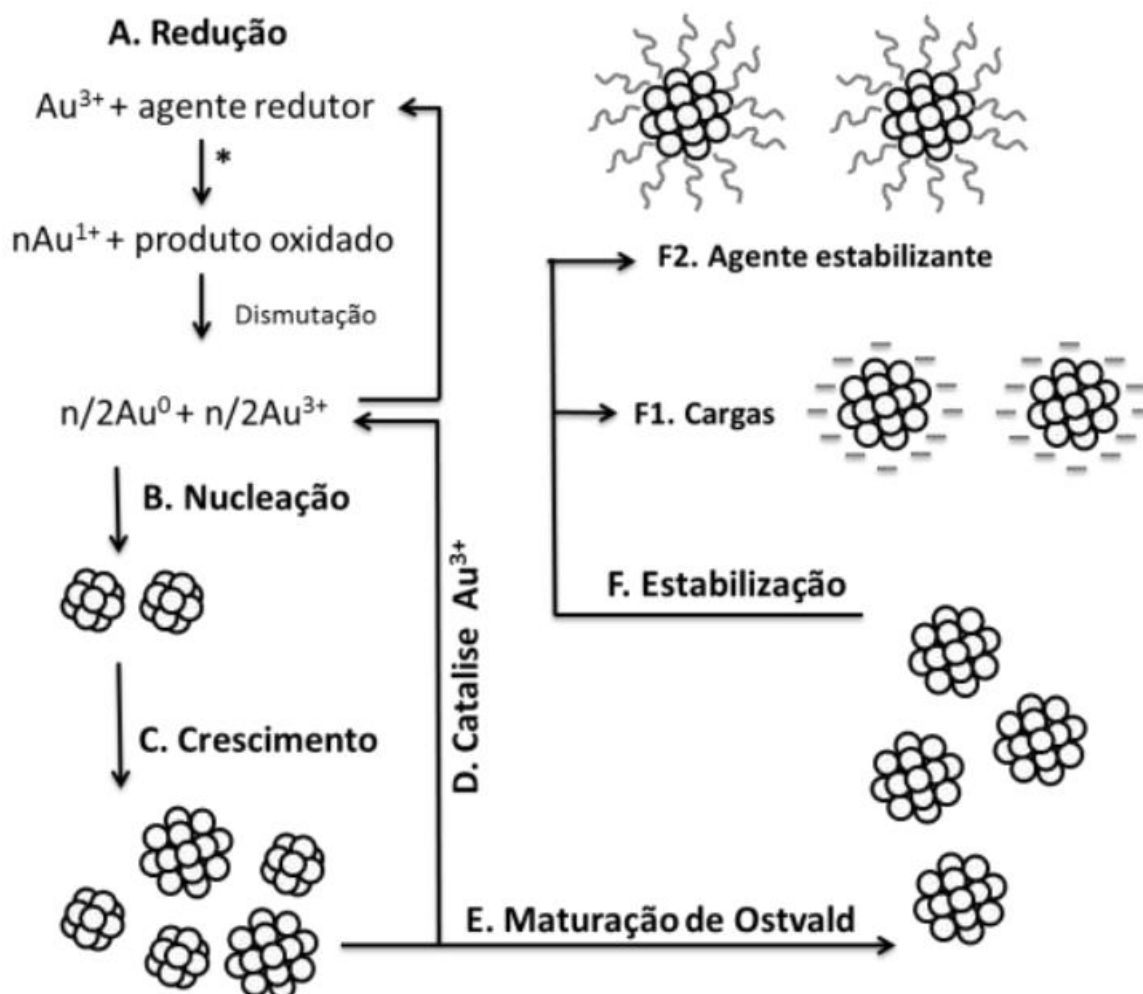
**Figura 4.** Formas zwitteriônicas da resina Chelex® 100 de acordo com a variação de pH. O grupo R representa a cadeia de estireno-divinilbenzeno, a qual possui estrutura indicada na figura.



### 3.3 Nanopartículas de ouro

Diversos métodos de síntese de AuNPs tem sido descritos na literatura (SHAH *et al.*, 2014) e um dos objetivos a partir das propriedades fotoquímicas e fotofísicas da PHT<sup>+</sup> e da PHA<sup>+</sup> é sintetizar a partir da espécie redutora apresentada no Esquema 3, AuNPs por uma metodologia mais simples e *ecofriendly*. Devido às suas propriedades magnéticas e ópticas, as AuNPs são utilizadas, por exemplo, na indução de hipertermia localizada para a destruição de tumores ou na radioterapia para o cancro (as AuNPs, por possuírem ressonâncias plasmônicas altamente ajustáveis, têm a capacidade de absorver luz e converter rapidamente a energia luminosa absorvida em energia calorífica localizada e esta propriedade pode ser aproveitada para causar morte térmica das células cancerígenas num processo chamado de tratamento hipertérmico/fototérmico do cancro, o qual é minimamente invasivo e com mínimos efeitos colaterais) tomografia computadorizada e terapia fotodinâmica (DUBE *et al.*, 2019; SARDAR *et al.*, 2009; YU PAN *et al.*, 2012). Outro estudo tem mostrado a aplicação de AuNPs em sensores eletroquimioluminescentes (GU *et al.*, 2018) para determinação de dopamina em soro de ratos.

## 3.3.1 Mecanismo de síntese

**Esquema 4.** Mecanismo de síntese de nanopartículas metálicas de ouro.

Fonte: Miranda (2016)

De acordo com o Esquema 4 apresentado, a primeira etapa para a síntese de nanopartículas metálicas como as AuNPs é a **REDUÇÃO**, na qual os íons  $Au^{3+}$  provenientes do sal de ouro ganham 2 elétrons e o ouro assume, então, a forma  $Au^{1+}$ , que posteriormente sofre dismutação (reação redox onde um elemento é ao mesmo tempo oxidado e reduzido) e gera  $Au^0$  e  $Au^{3+}$ . O  $Au^{3+}$  proveniente da dismutação é novamente reduzido pelo agente redutor, tornando o processo relativo a ele, cíclico. O ouro metálico ( $Au^0$ ) formado passa para a etapa de **NUCLEAÇÃO**, na qual surgem os primeiros núcleos que sofrerão subsequente crescimento. Nesta operação unitária, caracterizada pela transferência de massa e quantidade de movimento, a “*driving force*” para a formação dos núcleos é a supersaturação do sistema, tornando-o muito instável e sob agitação ou não (as próprias paredes podem funcionar como um agente inicializador da nucleação, visto que as nanoestruturas estão em movimento e se chocarão com

ela), para que haja choque e transferência de movimento entre as NPs, os primeiros núcleos são formados. Esse início de formação é denominado nucleação primária (CHEN YEH *et al.*, 2012). Os pequenos núcleos formados podem ainda fragmentar-se, gerando novos núcleos (nucleação secundária). Para que a nucleação, a partir do sistema supersaturado, seja possível, existe um raio crítico,  $R_c$  para a formação da partícula, o qual determina se as espécies nucleadas estarão solubilizadas ou terão condições energéticas (energia livre de Gibbs) suficiente para crescer.

A fase de **CRESCIMENTO** ocorre por adição molecular por difusão assim que a concentração crítica de supersaturação diminui, cessando a nucleação e fazendo com que as partículas menores cresçam rapidamente devido a maior energia motriz e maior transferência de quantidade de movimento. Após o processo de crescimento, enquanto algumas AuNPs passam para o estágio da **CATÁLISE**, onde a superfície negativa das partículas crescidas contribui para a redução de mais íons  $Au^{3+}$ , outras maiores continuam a crescer (**MATURAÇÃO DE OSTWALD**) e as menores, devido a diminuição da concentração dos reagentes, deixam de crescer e começam a se dissolver, visto que há diminuição da supersaturação do sistema e consequente diminuição do raio crítico dos núcleos (CHEN YEH *et al.*, 2012).

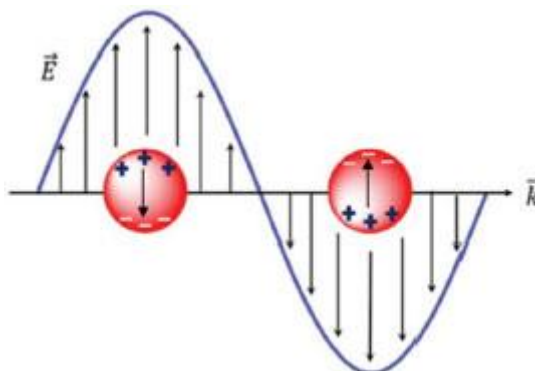
Subsequente à maturação, as nanopartículas formadas tendem a agregação para diminuir a energia total do sistema. Para controlar a formação do estado agregado, podem ser utilizados dois métodos de **ESTABILIZAÇÃO**: repulsão de cargas superficiais ou adição de agente estabilizante (PARVEEN, 2017).

### 3.3.2 As diferentes cores das AuNPs

As diferentes cores de nanopartículas metálicas produzidas estão relacionadas com o diâmetro, o tipo de ligante (moléculas que interagem com as NPs), solvente (mudando a constante dielétrica) e geometria (mudando condições de energia superficial) e esse fato relaciona-se diretamente com o confinamento quântico e com a mudança da Ressonância Plasmônica de Superfície. De acordo com o modelo de Mie proposto em 1908, em conjunto ao modelo de Drude, pequenas partículas desenvolvem polarização superficial na presença de um campo elétrico aplicado. Sendo assim, nanopartículas metálicas interagem com o campo elétrico da luz incidente sobre elas, porém como NPs são menores que o comprimento de onda da luz, os elétrons livres da superfície interagem coletivamente com o campo elétrico incidente, gerando impulsos que se propagam na forma de ondas, denominadas plasmônicas (OLSON *et*

*al.*, 2015; SANTOS, 2016). O resultado dessa interação é uma separação de cargas superficiais, conforme Figura 5:

**Figura 5.** Interação da superfície de NPs metálicas com a luz.



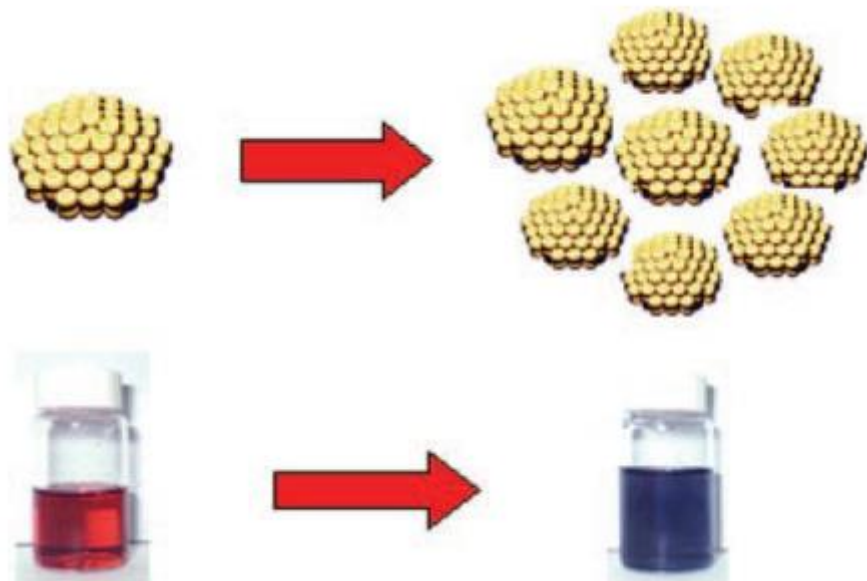
Fonte: Santos, 2016.

O dipolo elétrico formado pode entrar em ressonância com o campo elétrico da luz (isso dependerá da geometria da NP e do comprimento de onda incidente), resultando em um fenômeno simultâneo de absorção e espalhamento da luz, dando origem a um espectro que pode ser medido por espectrofotometria Uv-vis. O pico máximo da banda plasmônica corresponde à condição de ressonância plasmônica e é característico de cada NP e dependerá dos fatores citados no início desta subseção (TOMA, 2016). Cada oscilação coletiva gera diferentes distribuições de carga e a absorção total é a sobreposição de todas as oscilações coletivas de diferentes energias, ou seja, de todas as condições de ressonância plasmônica para aquela determinada amostra (BONIFÁCIO, 2006; EL-SAYED, 2011; ZHANG *et al.*, 2013).

A cor das nanopartículas depende da densidade de estados eletrônicos e do diâmetro das nanopartículas. Com dimensões entre 2 e 10 nm, as nanopartículas de ouro apresentam intensa coloração vermelha (Figura 6), devido a transições entre as bandas eletrônicas que acomodam os elétrons superficiais (bandas de plasmons superficiais). Entretanto, ao sofrer agregação (acoplamento plasmônico), as nanopartículas passam a exibir uma coloração tendendo ao violeta ( $\lambda = 650$  nm), pois há um aumento na densidade de estados eletrônicos e consequente diminuição da energia de transição entre as bandas (BURDA *et al.*, 2005; TOMA e BONIFÁCIO, 2006).



**Figura 6.** Mudança na coloração de uma suspensão de nanopartículas de ouro em água devido ao processo de agregação, na presença de 4 - mercaptopiridina.



Fonte: Toma, Bonifácio e Anaissi 2005.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Reagentes

- Fenotiazina ( $C_{12}H_9NS$ ) – Fluka
- Fenoanilina ( $C_{24}H_{18}IN_3S$ )
- Água deionizada – modelo Water System Milli-Q (Massachusetts, EUA)
- Etanol absoluto anidro - Carlo Erba Reagents
- Ácido acético glacial 100% - Merck
- Acetaldeído - Fluka
- Chelex® 100 forma sódio, 50-100 Mesh – Sigma Aldrich
- DMPO - Sigma Aldrich
- Solução 50 mM de  $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$  – Sigma Aldrich
- Solução 50 mM de CTAB – Merck
- 1,4 – dioxano anidra (99,8%) – Sigma Aldrich
- Solução 60 mM de  $AgNO_3$  - Synth
- Solução 1 mM de Citrato de sódio diidratado – SAFC
- Solução 60 mM de  $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$  – Sigma Aldrich
- Solução 300 mM de HCl - Synth
- Solução 300 mM de NaOH - Synth
- Solução 50 mM de ácido acético - Merck
- Clorofórmio - Synth
- Acetonitrila - Synth
- Metanol - Synth
- DMF – Sigma Aldrich
- DMSO – Sigma Aldrich
- Isopropanol - Merck
- Acetona - Synth

#### 4.1.2 Equipamentos

- Agitador de barra magnética IKA® BH1
- Balança analítica Shimadzu ATX224
- Centrífuga Eppendorf MiniSpin Plus
- Lâmpada germicida 36W/HO 80W - GPH843T5L/HO/4P-SE – 254nm UV Bravo
- pHmetro Hanna instruments H 2221

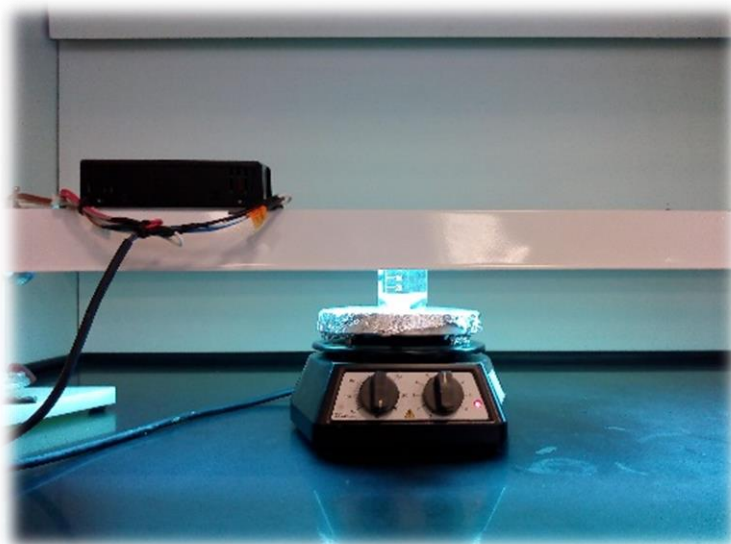
#### 4.2 Métodos

##### 4.2.1 Síntese do cátion radical e da espécie redutora e separação das espécies utilizando a resina Chelex® 100

###### 4.2.1.1 Fenotiazina

Aproximadamente 0,035g de PHT<sup>+</sup> foram adicionadas a 10 mL de água deionizada e o sistema permaneceu sob agitação constante por 3h (até apresentar coloração rosa/roxo, indicando a formação do cátion radical) sob irradiação da lâmpada germicida 36W/HO 80W - GPH843T5L/HO/4P-SE – 254nm UV Bravo. A massa e volume adotados proposta teve o objetivo de aumentar o gradiente de concentração de cátion radical após irradiação e reduzir a quantidade de precipitado formado durante a reação fotoquímica. A distância entre a amostra e a fonte de irradiação foi de 2 cm. A Figura 7 representa o aparato experimental montado para esta síntese.

**Figura 7.** Aparato experimental para a síntese do cátion radical a partir da PHT<sup>+</sup>.



A dispersão colorida obtida foi centrifugada por 3 minutos a 14.000 rpm (rotações por minuto) na Centrífuga Eppendorf MiniSpin Plus para separação de sólidos em suspensão não dissolvidos. Para cada 2 mL de coloide foi adicionada uma massa de 0,25 g de resina Chelex® 100 para imobilização do agregado de cátion radical e separação da espécie redutora. O espectro atribuído ao cátion radical foi medido no espectrofotômetro fotodiodo Thermo Scientific Evolution 220, em cubeta de quartzo com o caminho de óptico de 1 cm e uma fenda de luz de 0,5 mm. A linha base foi realizada em água e a leitura foi realizada na faixa de comprimento de onda entre 800 nm e 250 nm, com velocidade de varredura 300 nm/min, tempo de integração 0,20 s, largura de banda 2 nm e intervalo de dados 1,00 nm. Para o sobrenadante também foi obtido espectro de absorção no intuito de verificar a baixa concentração de cátion radical, visto que este foi imobilizado pela resina Chelex® 100.

#### 4.2.1.2 Fenoanilina

Aproximadamente 1 mg de  $\text{PHA}^+$  foram adicionadas a 7,5 mL de água deionizada e o sistema permaneceu sob agitação constante por 1h (até apresentar coloração rosa/roxo) sob irradiação visível. Uma vez que a  $\text{PHA}^+$  é mais solúvel em  $\text{H}_2\text{O}$ , uma massa menor para que se atinja uma concentração significativa da espécie radicalar é necessária. Volume maior de solvente implica em obtenção de concentração baixa de cátion radical. A Figura 8 representa o aparato experimental montado para esta síntese.

**Figura 8.** Aparato experimental para a síntese do cátion-radical a partir da  $\text{PHA}^+$ .



A dispersão colorida obtida foi centrifugada por 3 minutos a 14.000 rpm (rotações por minuto) na Centrífuga Eppendorf MiniSpin Plus para separação de sólidos em suspensão não dissolvidos. Para cada 2 mL de coloide foi adicionada uma massa de 0,5 g de resina Chelex® 100 para imobilização do cátion radical. O espectro atribuído ao cátion radical foi conduzido no espectrofotômetro fotodiodo Thermo Scientific Evolution 220, em cubeta de quartzo com o caminho de óptico de 1 cm e uma fenda de luz de 0,5 mm. A linha base foi realizada em água e a leitura foi realizada na faixa de comprimento de onda entre 800 nm e 250 nm, com velocidade de varredura 300 nm/min, tempo de integração 0,20 s, largura de banda 2 nm e intervalo de dados 1,00 nm. Para o sobrenadante também foi obtido espectro de absorção no intuito de verificar a ausência de cátion radical, visto que este foi imobilizado pela resina Chelex® 100.

### **4.3 Caracterização do cátion radical da PHT<sup>+</sup>**

#### **4.3.1 Caracterização do estado de agregação do cátion radical da PHA<sup>+</sup> com 1,4 – dioxano**

Os agregados de cátion radical estabilizam-se em água, por hidrofobicidade, e em meios mais apolares, a tendência é que assim que formados, desagreguem e desloquem o equilíbrio cátion radical/estado fundamental no sentido do estado fundamental (EF). Portanto, esta análise tem por objetivo verificar a desagregação e deslocamento do equilíbrio do cátion radical da PHA<sup>+</sup> para o EF, partindo-se de soluções aquosas de 1,4-dioxano 0,5%, e 1%. O 1,4-dioxano é um solvente apolar de constante dielétrica 2,3, ao contrário da água que é um meio polar de constante dielétrica 80. Para a PHT<sup>+</sup>, o teste com 1,4-dioxano foi realizado sob irradiação da lâmpada germicida 36W/HO 80W - GPH843T5L/HO/4P-SE – 254nm UV Bravo e sob aquecimento em 50°C (323 K) em frascos fechados. O espectro atribuído ao experimento realizado foi conduzido no espectrofotômetro fotodiodo Thermo Scientific Evolution 220, em cubeta de quartzo com o caminho de óptico de 1 cm e uma fenda de luz de 0,5 mm. A linha base foi realizada em cada concentração percentual de 1,4-dioxano e a leitura foi realizada na faixa de comprimento de onda entre 800 nm e 250 nm, com velocidade de varredura 300 nm/min, tempo de integração 0,20 s, largura de banda 2 nm e intervalo de dados 1,00 nm. As demais análises UV-vis, exceto quando mencionado, foram realizadas nas mesmas condições de medida, variando apenas o solvente utilizado para linha de base.

#### 4.3.2 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHT}^{2+\bullet}$ com ácido acético

O estudo será voltado a entender a força iônica do meio sobrenadante adicionado à resina com o radical livre e a estabilidade do radical nesse meio caso o cátion radical se transfira para ele. Em 1g de Chelex® 100 incorporado com o cátion radical foi adicionado ácido acético glacial puro e 50%, respectivamente. O sistema ficou em rotação lenta por 24h.

#### 4.3.3 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHT}^{2+\bullet}$ em clorofórmio

Assim como para a  $\text{PHA}^+$ , dependendo do tipo de solvente, os agregados podem ser favorecidos no equilíbrio, mas com o aumento da solubilidade no meio, a desagregação e deslocamento para o EF é favorecida. Foram adicionados 0,035g de  $\text{PHT}^+$  em 0,5 mL de clorofórmio, sem irradiação e a amostra permaneceu em repouso durante 20 minutos para avaliar o efeito deste solvente no deslocamento do equilíbrio entre o estado fundamental e o cátion radical.

### 4.4 Caracterização do cátion radical da $\text{PHA}^+$

#### 4.4.1 Caracterização da síntese do cátion radical $\text{PHA}^{2+\bullet}$ com DMPO

O DMPO é um captador de spin utilizado em EPR (do inglês *Electron Paramagnetic Resonance*) para detectar espécies contendo elétrons desemparelhados, ou seja, espécies paramagnéticas. Em geral, esta condição verifica-se quando a espécie é um radical livre, como é o caso do cátion radical. Para a  $\text{PHT}^+$ , já foi obtido espectro de EPR para o cátion radical ( $\text{PHA}^{2+\bullet}$ ) em solução 50% de ácido acético. Apenas para corroboração dos resultados de que a  $\text{PHA}^+$  também forma cátion radical após irradiação, em dois frascos, A e B, foram adicionados 3 mL de água deionizada e 5  $\mu\text{L}$  de DMPO (adição de DMPO em ambiente escuro, pois este reagente é fotossensível). No frasco A, sob ausência de luz, foi adicionado ~ 0,3 mg de  $\text{PHA}^+$  e o sistema foi mantido sob agitação. Ao frasco B adicionou-se a mesma massa, porém em ambiente com luz visível e esse também ficou sob agitação. Ambos permaneceram 1 h 30 min nas condições citadas. A interação entre o DMPO e o cátion radical formado faz com que a coloração característica da espécie radicalar não seja vista a olho nu. Para a  $\text{PHT}^+$  esse teste não é possível, pois para gerar o cátion radical em água, meio no qual a  $\text{PHT}^+$  é insolúvel, é necessária irradiação em UV e, sendo o DMPO fotossensível, o resultado obtido neste experimento não apresentaria confiabilidade.

#### 4.4.2 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHA}^{2+\bullet}$ em solventes

Dependendo do tipo de solvente, o equilíbrio  $\text{PHA}^{2+\bullet}/\text{EF}$  pode ser deslocado, favorecendo mais uma forma que outra. Quanto menor a polaridade, mais desfavorecida é a estabilidade do agregado contendo a forma  $\text{PHA}^{2+\bullet}$ , levando o cátion radical a consequente formação de sulfóxido. Baseado nesta descrição, foram preparados 9 sistemas contendo 0,4 mg de  $\text{PHA}^+$  em 3 mL de etanol, metanol, acetonitrila, DMSO, acetona, butanol, isopropanol e solução 50% de ácido acético e  $\text{H}_2\text{O}$ , para avaliar o efeito do solvente no estado de agregação e deslocamento do equilíbrio químico, sob irradiação UV a 1m das amostras e no escuro, avaliando a interferência tanto do solvente quanto da irradiação. O teste em luz UV foi realizado no início da irradiação e após 30 min.

#### 4.4.3 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHA}^{2+\bullet}$ com 1,4 – dioxano

Esta análise tem por objetivo verificar o deslocamento do equilíbrio  $\text{PHA}^{2+\bullet}/\text{EF}$  partindo-se de soluções aquosas de 1,4-dioxano 0,5% e 1%, com massa ~ 2mg de  $\text{PHA}^+$  sob aquecimento em 50°C (323 K) em frascos fechados. Com isso, haverá elucidação sobre o efeito do solvente no estado de agregação do radical catiônico.

#### 4.4.4 Caracterização do estado de agregação do cátion radical $\text{PHA}^{2+\bullet}$ pela variação de pH

Conforme descrito na subseção 3.1.2, o pH influencia na formação e estabilidade do cátion radical e neste experimento o objetivo foi verificar o comportamento dessa espécie com a variação de pH e prever se a forma radicalar é reversível com o valor reajustado de pH na condição inicial da amostra. Para uma alíquota de 1000  $\mu\text{L}$  de  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  foi realizada titulação com adição de volumes de 1  $\mu\text{L}$  de NaOH 300 mM até que o pH inicialmente em 4 passasse para 9. Atingido este valor de pH, a solução foi reacidificada para pH 4 com HCl 300 mM. As variações de pH foram medidas no pHmetro Hanna instruments H 2221.

### 4.5 Caracterização química com $\text{AgNO}_3$ das espécies redutoras $\text{PHT}^\bullet$ e $\text{PHA}^\bullet$

Após imobilização do cátion radical  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  e consequente separação das formas reduzidas ( $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$ ), estas tiveram sua capacidade redutora testada na síntese de

nanopartículas metálicas de prata (AgNP) a partir do sal  $\text{AgNO}_3$ . Este ensaio foi realizado pipetando-se 990  $\mu\text{L}$  de espécie redutora e 10  $\mu\text{L}$  de solução 60 mM de  $\text{AgNO}_3$ .

#### 4.6 Síntese e caracterização de AuNPs

Após irradiação da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$ , formação e imobilização do cátion radical  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  na resina Chelex® 100 e separação dos sobrenadantes contendo as espécies reduzidas  $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$  e os resultados consistentes com a formação de nanopartículas metálicas através do teste da prata, foi estabelecida uma rota de síntese e caracterizações para formação de AuNPs.

##### 4.6.1 Metodologia para síntese de AuNPs

Em 7 eppendorfs adicionar respectivamente 1,67  $\mu\text{L}$ , 3,33  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$ , 6,66  $\mu\text{L}$ , 8,33  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$ , 11,7  $\mu\text{L}$ , da solução estoque 60 mM de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Completar o volume até 1 mL com  $\text{PHT}^\bullet$  e irradiar em lâmpada UV ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) por 10 min. Mesmos procedimentos para o sobrenadante contendo a  $\text{PHA}^\bullet$ .

##### 4.6.2 Caracterização das AuNPs

As técnicas de caracterização das AuNPs e sua superfície foram realizadas a partir das seguintes técnicas:

- UV-vis** (ultravioleta-visível): obtenção de espectro atribuído às AuNPs (cujo gráfico sugere o estado de agregação e dispersão das AuNPs) no espectrofotômetro fotodiodo Thermo Scientific Evolution 220, em cubeta de quartzo com o caminho de óptico de 1 cm e uma fenda de luz de 0,5 mm. A linha base foi realizada com água e a leitura foi realizada na faixa de comprimento de onda entre 800 nm e 250 nm, com velocidade de varredura 300 nm/min, tempo de integração 0,20 s, largura de banda 2 nm e intervalo de dados 1,00 nm.
- XPS** (*X-ray photoelectron spectroscopy*): identificação de elementos químicos na superfície. Ensaio realizado no equipamento XPS Thermo Scientific, fonte Al K-Alpha+ 1486.6 eV.
- Potencial Zeta**: as medidas de carga na superfície das AuNPs foram obtidas no equipamento Zetasizer Nano SZ da Malvern da Central Multiusuário UFABC – Campus



Santo André, com as configurações padrões do equipamento, sendo água o solvente. A cubeta capilar utilizada foi a DTS 1070, da Malvern.

- d) **FESEM** (*Field Emission Scanning Electron Microscopy*): as imagens de FESEM AuNPs para análise de morfologia e polidispersão foram realizadas no equipamento FESEM JMS-6701F – fabricante Jeol - da Central Multiusuário UFABC – Campus Santo André. O equipamento possui EDS (do inglês *Energy Dispersive Spectroscopy*) para medida de análise elementar. A amostra foi preparada sobre placa de silício, sendo disposta 1 gota do material a ser analisado sobre a superfície e banho seco de 40°C (313 K) por 10 min até a superfície apresentar-se seca.
- e) **NTA** (*Nanoparticle Tracking Analysis*): as medidas de diâmetro de AuNPs considerando o recobrimento foram realizadas no equipamento NS 300 da Malvern.

#### 4.6.3 Modulação do diâmetro das AuNPs com CTAB e citrato de sódio

Formadas as AuNPs, estas tendem termodinamicamente a agregação para diminuição da energia total do sistema, já que é característico de sistemas nanoparticulados possuírem alta energia superficial. Para manipular a agregação de AuNPs é necessário o uso de agentes estabilizantes como o CTAB e é possível reagregar AuNPs com uso de agentes como o citrato de sódio que façam ligações cruzadas. Para desagregar as AuNPs foram preparadas soluções aquosas do detergente nas concentrações 0,5, 2,5,5 e 10 mM, de modo a estabelecer a menor condição para que seja verificada a desagregação.

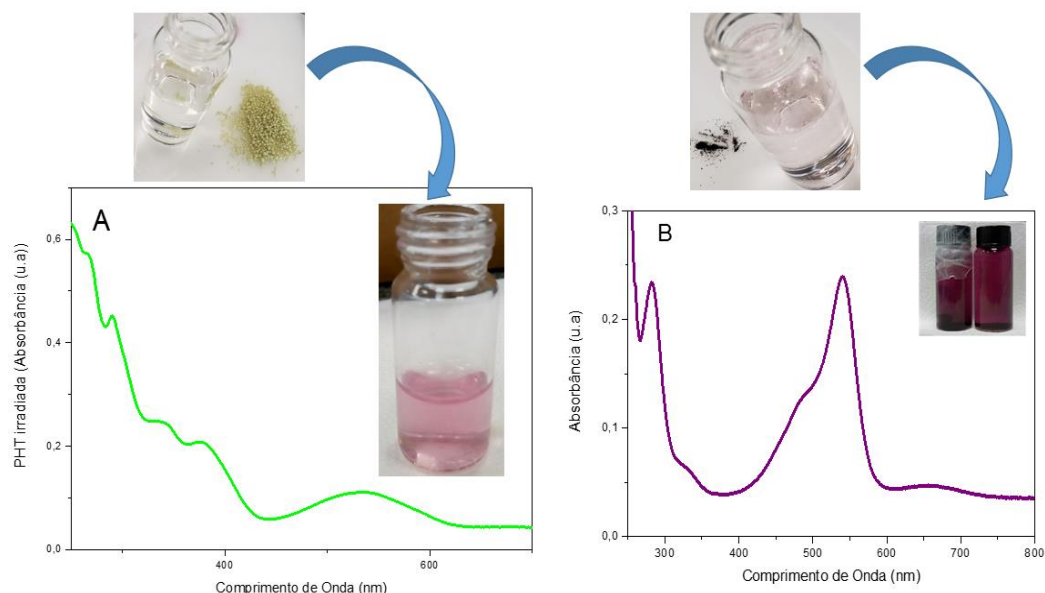
A mistura foi guardada durante 6 dias, efetuada leitura dos espectros e sobre 792 µL das amostras AuNP 0,7 mM/ 5 mM CTAB foram adicionados 8 µL de citrato de sódio 100 mM e os espectros foram lidos após 24h da adição.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Formação e caracterização do cátion radical da PHT<sup>+</sup> e da PHA<sup>+</sup>

A síntese de cátion radical de fenotiazinas via fotoquímica e por HRP, por exemplo, é reportada em trabalhos como os publicados, respectivamente, por Mohan e Mital (1995) e Muraoka e Miura (2003). De acordo com os dados obtidos por Mohan e Mital (1995), após medidas em laser de femtosegundos, a banda de absorção característica de cátion radical de fenotiazinas tem pico máximo em torno de 520 nm. Este mesmo valor de absorção foi encontrado em estudos de fenotiazinas como os de Christensen *et al* (2018), Rodrigues *et al* (2006), Santos *et al* (2013) e. Dessa forma, a PHT<sup>+</sup> e a PHA<sup>+</sup>, ambos compostos tiazínicos, são estruturas passíveis de sofrer reação redox e gerar os respectivos cátions radicais. Após a irradiação nas condições experimentais pré determinadas para a PHT<sup>+</sup> e para a PHA<sup>+</sup>, respectivamente, e conhecendo o pico de absorção máximo em torno de 520 nm, a Figura 9 mostra o espectro atribuído ao cátion radical PHT<sup>2+•</sup> após irradiação UV (254 nm) (A) e a absorção atribuída ao cátion radical PHA<sup>2+•</sup> (B):

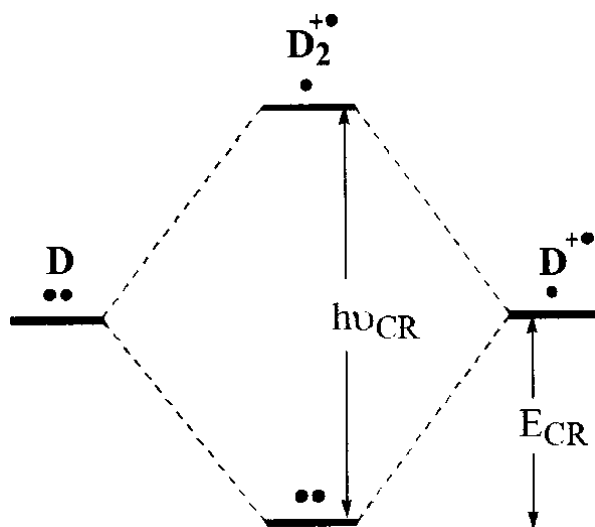
**Figura 9.** Espectro de absorção do cátion radical em H<sub>2</sub>O. Em A o espectro atribuído a PHT<sup>2+•</sup> e em B o espectro atribuído a PHA<sup>2+•</sup>. Os inserts correspondem ao estado inicial e após irradiação de cada fenotiazina.



Pelas bandas apresentadas nos espectros, atribui-se que ambas as fenotiazinas formaram cátion radical, pois apresentaram picos próximos ao teórico de 520 nm (MINAKATA *et al.*, 1991). A diferença encontrada para a PHA<sup>+</sup> advém das diferenças estruturais e do tipo de

agregado radicalar formado por este composto. As bandas observadas no UV são características dos anéis aromáticos presentes e a coloração apresentada ao final de ambas reações é característica da presença do cátion radical (KOJLO *et al.*, 2001; RODRIGUES *et al.*, (2006); SANTOS *et al.*, 2010), cuja formação se dá quando os agregados de  $\text{PHT}^+$  e  $\text{PHA}^+$  no estado fundamental são irradiados e a fotoexcitação gera o estado singlete e através do cruzamento intersistemas a molécula atinge o estado excitado tripleto, reagindo com um agregado no estado fundamental que lhe transfere 1 elétron, gerando o par cátion radical/espécie reduzida (GHOSH *et al.*, 1997; HALL, BUETTNER, CHIGNELL, 1991 e BUETTNER *et al.*, 1898, RODRIGUES *et al.*, 2006; UDSIN, ECKERT e FORREST, 1980). Os radicais catiônicos formados pelas fenotiazinas são altamente estáveis em água devido à agregação e Kochi *et al* (2000) descreve que, de forma geral, a associação de radicais catiônicos aromáticos ( $\text{D}^{+\bullet}$ ) com o doador de pares eletrônicos (D) para formar o dímero paramagnético  $(\text{D}^{+\bullet})_2$  é acompanhada de dramática mudança de cor. Os autores estudaram o octametilbifenileno por UV-vis, EPR e cristalografia de Raio-X. e verificaram que existe uma similaridade em termos da exigência geométrica e aparecimento de novas bandas de absorção entre os clássicos complexos de doador/aceptor (EDA) e os radicais catiônicos diméricos  $(\text{D}^{+\bullet})_2$ . Ambos são, assim, complexos de transferência de carga de Mulliken, no qual a carga positiva é completamente (igualmente) deslocada sobre o doador (D) e o acceptor ( $\text{D}^{+\bullet}$ ). Em um complexo de transferência de Mulliken, no estado fundamental, as forças de van der Waals mantêm as moléculas unidas e quase não há transferência de carga. No entanto, quando o complexo D/  $\text{D}^{+\bullet}$  é excitado por um comprimento de onda específico, a transferência de carga se intensifica e a estrutura iônica contribui majoritariamente para o estado excitado e formação do cátion radical. O desdobramento de orbitais diminui a energia do radical catiônico, conferindo-lhe estabilidade, uma vez que os elétrons do doador ocuparão um nível de energia mais baixo ( $t_{2g}$ ), aumentando a energia de estabilização entre os orbitais moleculares. A Figura 10 mostra o diagrama de orbital molecular do cátion radical dimérico no qual as origens da energia de estabilização ( $E_{CR}$ ) a banda espectral de ressonância de carga ( $h\nu_{CR}$ ) estão indicadas.

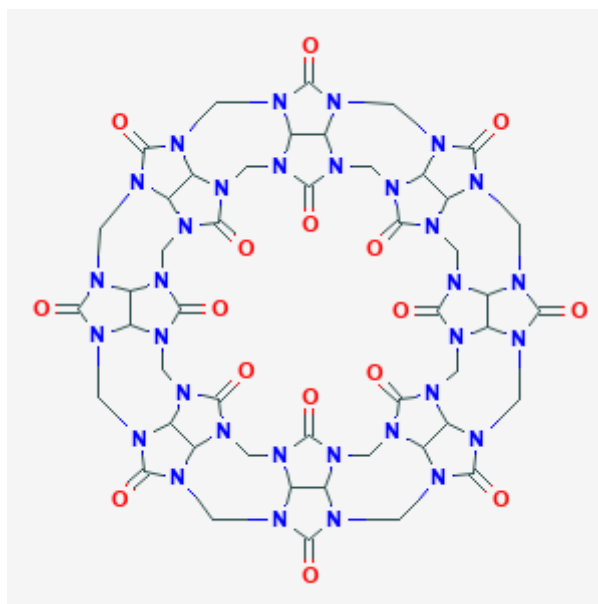
**Figura 10.** Diagrama de orbital molecular do cátion radical dimérico no qual as origens da energia de estabilização ( $E_{CR}$ ) a banda espectral de ressonância de carga ( $h\nu_{CR}$ ) estão indicadas.



Fonte: Kock *et al.*, 2000.

Esses estudos também podem ajudar a entender melhor o comportamento diferenciado do tiazínico azul de metileno como dímeros na estrutura da CC8 (cucurbiturila-8 -  $C_{48}H_{48}N_{32}O_{16}$ ) e como grandes agregados na estrutura do Chelex® 100. A estrutura da CC8 está representada na Figura 11:

**Figura 11.** Estrutura da CC8.



Fonte: Grishaeva *et al.*, 2017.

Os mesmos autores afirmam que o acoplamento eletrônico ótimo em complexos EDA requer um arranjo cofacial de doador e aceptor com uma separação interplanar de  $3,5 \text{ \AA}$  que é similar ao que tem sido encontrado para doador/aceptor de complexos excitados

eletronicamente e excímeros. Portanto, esses arranjos podem ser favorecidos para azul de metileno e outras fenotiazinas em Chelex® 100 e não em dímeros no interior de CC8. Dados preliminares obtidos para azul de metileno incorporado em gelatina e agarose, nas quais não obteve-se a forma leuco após irradiação, sugerem que, nessas matrizes o azul de metileno não se organiza com o arranjo necessário para a separação de carga estável e posterior dismutação dos radicais neutros (reduzidos com um elétron) na sua forma leuco (reduzido com dois elétrons). Aqui cabe fazer uma importante distinção entre o comportamento dos agregados de azul de metileno em Chelex® 100 com os agregados das outras fenotiazinas estudadas. O azul de metileno é um corante catiônico bastante solúvel em água, sendo que em soluções aquosas apresenta-se em equilíbrio entre as formas monoméricas (pico máximo em 664 nm) e as formas diméricas (pico máximo em 610 nm). O equilíbrio se desloca para a forma dimérica com o aumento da concentração do corante em solução. Quando se adiciona uma massa de Chelex® 100 em solução de azul de metileno, o corante é inteiramente capturado pela resina a qual adquire a cor azul escuro. Quando se irradia a resina contendo o azul de metileno, esse sofre progressivo branqueamento que é reversível quando se retira a fonte de luz e a suspensão é agitada. Somente em Chelex® 100 os agregados de azul de metileno apresentaram esse comportamento. Para o azul de metileno não detectou-se em solução a formação do cátion radical estável em solução irradiada, porém quando agregado em Chelex® 100, absorbância na região de 500 nm é detectada. No caso das demais fenotiazinas, incluindo os antipsicóticos, a PHT<sup>+</sup> e a PHA<sup>+</sup>, não há significativa imobilização em Chelex® 100 quando estão em solução aquosa (caso dos antipsicóticos que são solúveis em água) ou apresentam baixíssima solubilidade em água, o que impede testar incorporação em Chelex® 100 a partir da dispersão aquosa. Sendo assim, para essas fenotiazinas a solubilização depende da formação prévia do radical catiônico mediante irradiação com luz UV, sendo a forma radicalar capaz de ser imobilizada em Chelex® 100 por força iônica.

Outro fator que confere estabilidade extra para as fenotiazinas, como a PHA<sup>+</sup>, é a presença de anéis aromáticos como cadeia lateral substituindo um dos átomos de hidrogênio da estrutura. Esses anéis conferem à molécula uma energia adicional de estabilização, o que diminui a necessidade de tempos elevados de exposição à luz para formação e estabilidade do cátion radical. A deslocalização das cargas nos orbitais p e as estruturas de ressonância do anel benzênico são os responsáveis pela estabilidade das ligações do dieno conjugado (SOLOMONS e FRYHLE, 2000). Já o radical da PHT<sup>+</sup> não possui a mesma estabilidade e tempo de vida elevado, pois as substituições laterais são átomos de hidrogênio, o que implica sua transformação mais rápida no respectivo sulfóxido. Se Mohan e Mital (1995) fizeram a medida

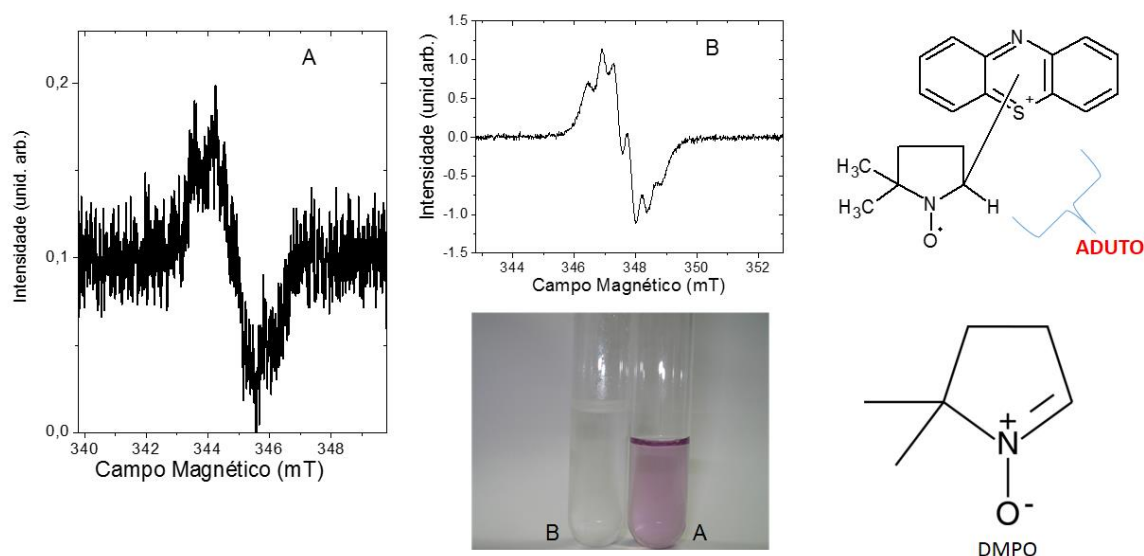
do pico de absorção máxima em laser de femtosegundos, uma análise UV-vis possui tempo de coleta de dados da ordem de segundos ou até mesmo minutos, o que significa que algum tipo de organização estrutural favorece a estabilidade do radical catiônico para que sua medida possa ser feita via UV-vis. Rodrigues *et al* (2006) identificou que o estado agregado favorece a estabilização do cátion radical, mas isso se a espécie for formada em altas concentrações (3 mM), pois em concentrações baixas (5  $\mu$ M) reage com oxigênio molecular e forma sulfóxido. Como forma de caracterizar a influência do oxigênio molecular na síntese de radical de  $\text{PHA}^+$ , duas dispersões coloidais de cátion radical foram preparadas, sendo que na amostra **A** foi borbulhado  $\text{N}_2$  e o sistema foi vedado, enquanto na amostra **B** não houve adição de gás nitrogênio, de acordo com a Figura 12:

**Figura 12.** Cátion radical de  $\text{PHA}^+$  borbulhada com  $\text{N}_2$  (**A**) e sem adição de  $\text{N}_2$  (**B**).



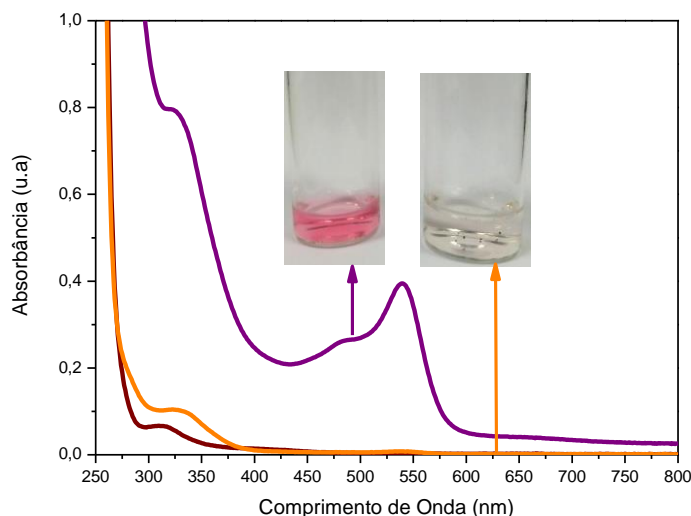
Observou-se que as amostras A e B obtiveram a mesma coloração e os espectros apresentaram-se iguais ao da Fig. 9. Sendo assim, o oxigênio não causou qualquer tipo de interferência na formação do radical catiônico para este derivado fenotiazínico, corroborando com a assertiva de que o estado de agregação do cátion radical gerado fotoquimicamente possui estabilidade, como já descrito e patenteado pelo grupo (PI 0801368-3 A2). A formação do cátion radical de  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  e  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  foi corroborada pela coloração rosa da suspensão que foi eliminada na  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  pela adição do captador de spin DMPO e, no caso de  $\text{PHT}^{2+\bullet}$ , foram realizadas medidas diretas de EPR (do inglês *Electron Paramagnetic Resonance*). Ensaio de EPR publicados por Cruz *et al* (2010) Rupérez, Conesa e Soria (1984), Rodrigues *et al* (2006) e Santos *et al* (2013), demonstram a formação de cátion radical derivado de fenotiazinas. A Figura 13 mostra o espectro obtido no EPR realizado para a  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  em solução 50 mM de ácido acético e água com e sem adição de DMPO:

**Figura 13.** Espectros de EPR da PHT<sup>+</sup> irradiada. Em (A) o cátion-radical foi medido sem adição de DMPO e em (B) com adição de DMPO. A imagem (A) mostra a solução contendo o cátion radical sem adição de DMPO e em (B) após adição do captador de spin.



Em ambos os espectros identifica-se a presença do cátion radical e o que os difere é que o espectro B possui DMPO e este também será identificado na análise. Sendo o DMPO um captador de spin, reage com o cátion radical formando um aduto estável, o que possibilita identificar o cátion radical com maior precisão. O DMPO liga-se ao radical livre através do chamado acoplamento super-hiperfino, no qual o spin do elétron desemparelhado do radical acopla-se com o spin nuclear do captador, formando um produto não radicalar. Essa ligação formada entre as espécies é acompanhada de mudança de cor, uma vez que o cátion radical não está mais livre na dispersão (GUO; QIAN; MASON, 2003). A ligação específica do DMPO com o enxofre ou nitrogênio das fenotiazinas não está claramente representado na Fig. 12, visto a necessidade de repetir essa análise e efetuar simulação computacional da ligação química entre as estruturas. Junto à PHA<sup>+</sup> na presença de luz, o DMPO não forma produtos suficientes para medidas de EPR, uma vez que a formação do cátion radical é muito mais rápida que a formação de adutos e além disso o DMPO é fotossensível e ele também pode ter reagido e por isso não ter apresentado o resultado previamente esperado. Em contrapartida, em ambiente escuro, a reação química é favorecida e a coloração rosa característica do cátion radical não fica visível a olho nu, dando o indicativo, via UV-vis, de que a interação e formação do aduto estável está ocorrendo. Vale ressaltar que para afirmar com maior propriedade que houve a formação do aduto no escuro, após o tempo de reação estabelecido no procedimento experimental, a amostra foi exposta a luz visível por 4h e, mesmo assim, não houve formação do cátion radical. A Figura 14 apresenta os resultados obtidos:

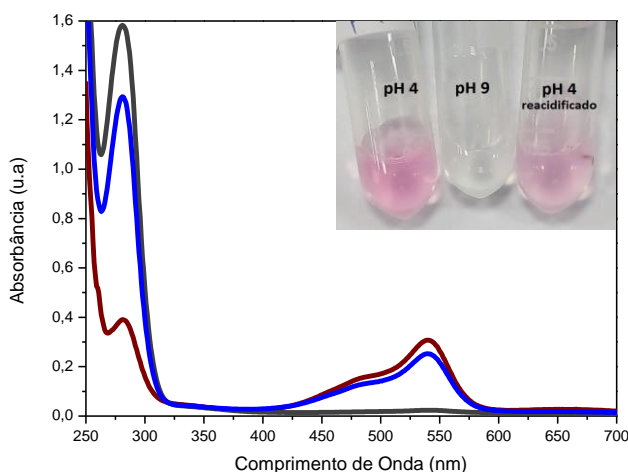
**Figura 14.** Espectro da  $\text{PHA}^+$  em DMPO. A curva vinho corresponde ao DMPO diluído em água deionizada, a curva laranja ao DMPO +  $\text{PHA}^+$  em visível escuro e a curva roxa ao DMPO +  $\text{PHA}^+$  em visível sob luz visível.



Para a  $\text{PHT}^+$  o teste do DMPO não é possível, já que para a formação do cátion radical é necessária a presença de luz UV e, sendo o DMPO fotossensível, não haveria possibilidade de detectar a formação do aduto.

Durante a reação fotoquímica de formação do cátion radical da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$ , o meio sofre acidificação e apresenta mudança de pH 6 para pH 4, o que sugere que o cátion radical estabiliza-se na forma agregada em pH ácido pelo protonamento do radical (WANG *et al.*, 2015). Dessa forma, a titulação de pH realizada para a  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  e para a  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  mostraram que apenas quando o equilíbrio está deslocado para o meio ácido o cátion radical mantém-se estável. A Figura 15 mostra os espectros do cátion radical da  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  antes (pH 4) e após alcalinização (pH 9) e após reacidificação (pH 4):

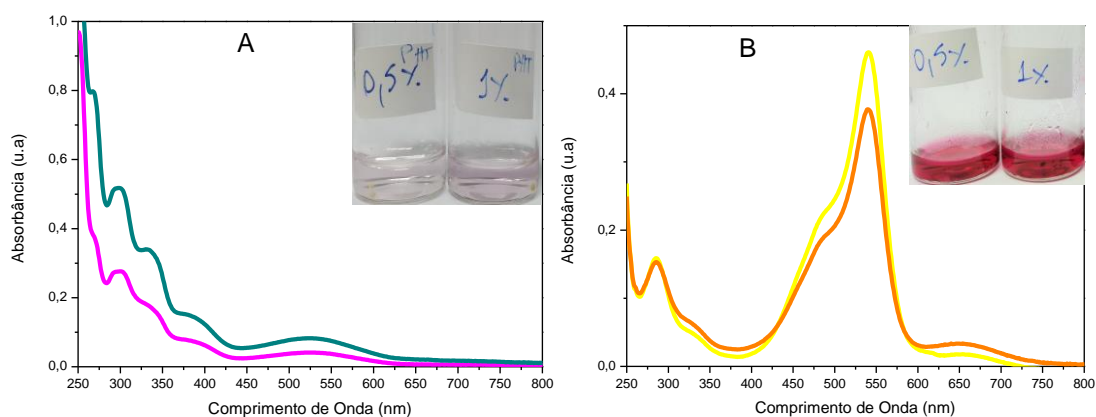
**Figura 15.** Espectro do cátion radical da  $\text{PHA}^+$  com variação de pH. A curva vinho corresponde ao cátion radical em pH 4, a curva cinza em pH 9 e a curva azul corresponde à solução de pH 9 reacificada para pH 4.





Pelos espectros obtidos é possível identificar que parte da estabilidade do cátion radical se deve ao pH ácido, pois em meios alcalinos o cátion radical não é favorecido por não haver repulsão suficiente no meio para contribuir com a manutenção e estabilização do estado agregado. Além do pH, a fotoquímica e fotofísica da PHT<sup>+</sup> e da PHA<sup>+</sup>, assim como outras fenotiazinas, são influenciadas, diretamente pelo tipo de solvente, energia de excitação e substituições em R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> (vide Fig. 2) (KELDER, DE MOL, JANSEN, 1991; ORTIZ, POYATO, FERNÁNDEZ-ALONSO, 1983; RODRIGUES *et al.*, 2006). Crowe *et al.*, 2013; Hattori *et al.*, 2008 e Rodrigues *et al.* (2006) estudaram o estado fundamental (EF) e o estado agregado de cátion radical de diferentes equilíbrios químicos de fenotiazinas como TR (Tioridazina), TFP (Trifluoperazina), FP (Flufenazina), AM<sup>+</sup>. Solventes de maior constante dielétrica tendem a favorecer o deslocamento do equilíbrio para o estado de agregação, pois o cátion radical é quase que em sua totalidade apolar e dessa maneira a formação de agregados ocorre como consequência da estabilização e dispersão que adquire em meios polares. Solventes mais apolares e, portanto, com menores constantes dielétricas, tendem a favorecer a formação do EF, que não é estável tal qual o agregado radicalar. O 1,4-dioxano (diluído em água para os testes propostos) é um solvente apolar de constante dielétrica 2,3, que favorece o deslocamento do equilíbrio para o EF, conforme mostrado na Figura 16:

**Figura 16.** Espectros do equilíbrio cátion radical – EF da PHT<sup>+</sup> (A) e da PHA<sup>+</sup> (B). Em (A) a curva roxa corresponde à concentração de 0,5% de 1,4-dioxano e a curva verde 1% de 1,4-dioxano. Em (B) a curva amarela corresponde à concentração de 0,5% de 1,4-dioxano e a curva laranja 1% de 1,4-dioxano.

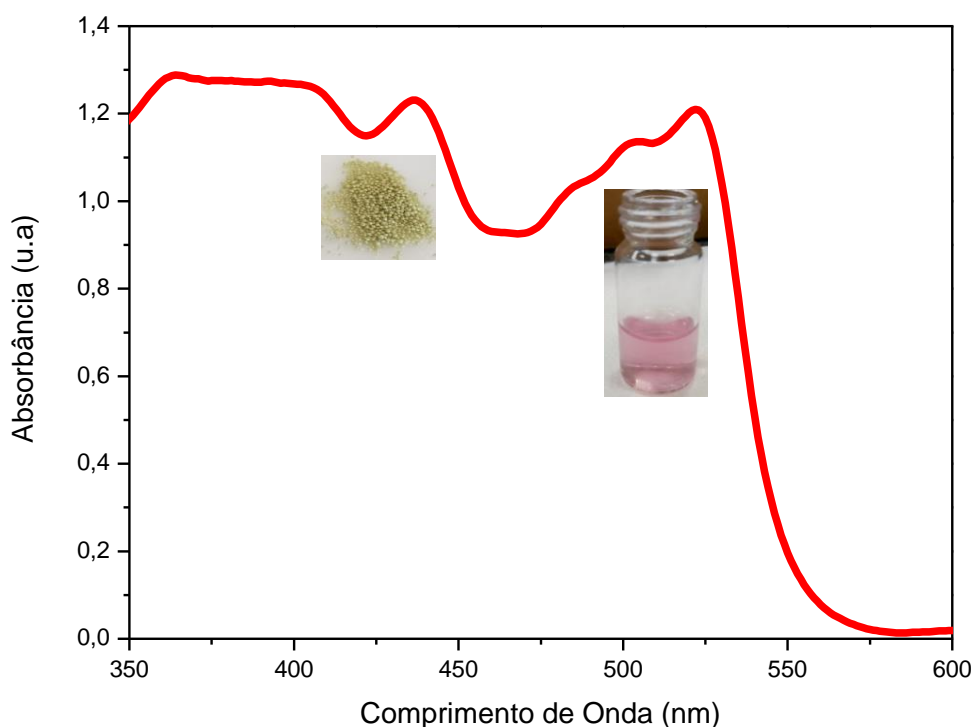


Em ambos os casos a avaliação do espectro mostra que a banda de absorção no UV não se altera, pois ela indica a presença dos anéis aromáticos nos dois compostos e independe do fato das moléculas estarem agregadas como cátion radical ou no EF. No que se refere ao deslocamento do equilíbrio, a presença e aumento da concentração de 1,4-dioxano favorece o deslocamento no sentido do EF, observado em A em 384 nm e B em 654 nm. A diferença de

comprimentos de onda no qual identifica-se o EF ocorre pela diferença estrutural e colorimétrica entre as tiazinas, o que lhes dá características diferentes de espécies no equilíbrio. A  $\text{PHA}^+$  tem maior estabilidade que a  $\text{PHT}^+$ , tanto na forma agregada quanto no EF, devido a presença de anéis aromáticos substituintes na estrutura, conferindo maior aromaticidade à molécula.

Além do 1,4-dioxano, outros solventes de diferentes constantes elétricas podem favorecer o deslocamento do equilíbrio para corroborar com o entendimento que a forma fundamental e agregada estão em condição de equilíbrio. Para a  $\text{PHT}^+$ , mesmo em solventes mais apolares, existe maior dificuldade de solubilização, necessitando de energia luminosa, neste caso vinda da lâmpada de  $\lambda = 254 \text{ nm}$ , para que a entalpia de dissolução seja suficiente para a formação de solução. Para a  $\text{PHT}^+$ , o teste foi realizado com clorofórmio puro ( $\epsilon = 4,81$ ), relativamente polar, o que favorece tanto a parte orgânica da  $\text{PHT}^+$ , quanto à parte iônica presente no enxofre de carga  $1+$ . A Figura 17 mostra o espectro atribuído a este experimento:

**Figura 17.** Espectro da dispersão da  $\text{PHT}^+$  em clorofórmio.

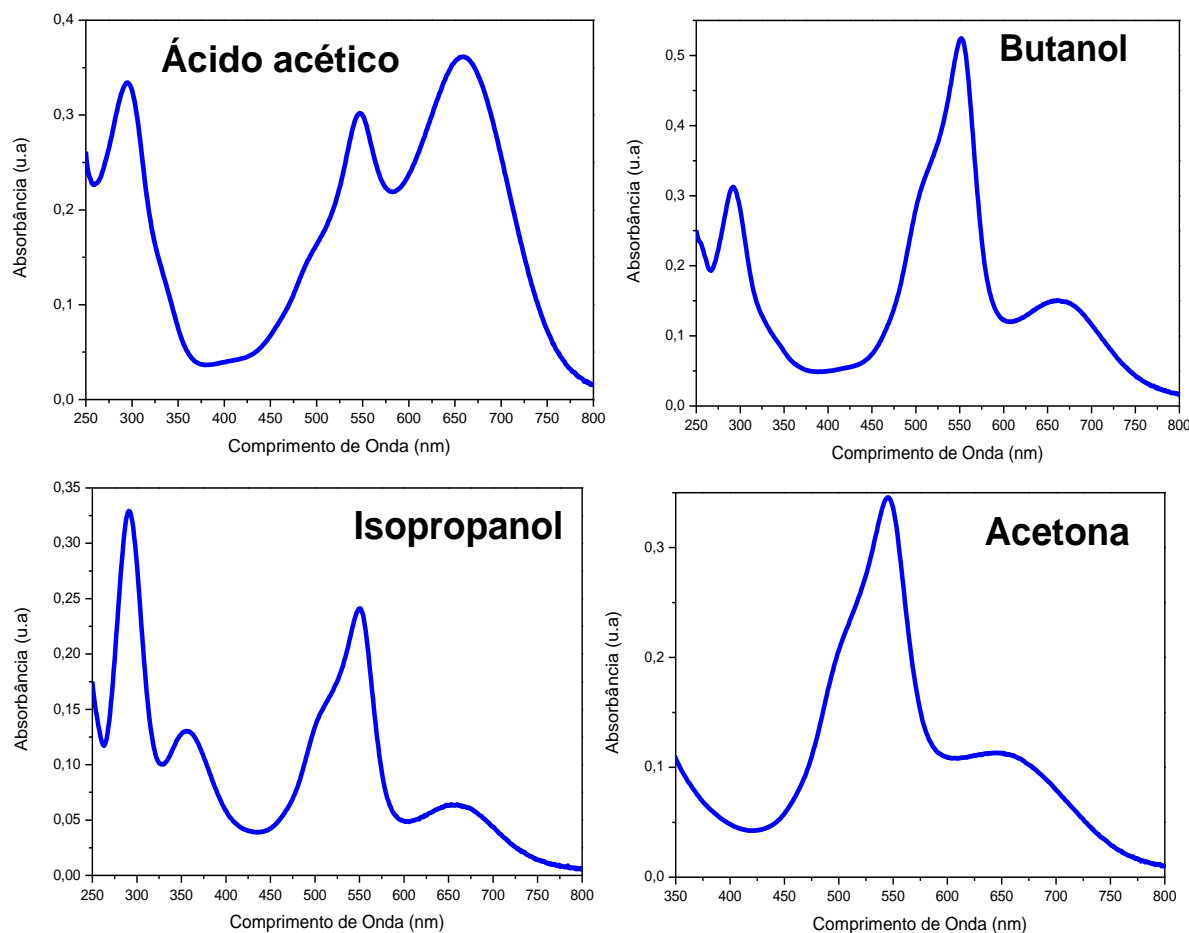


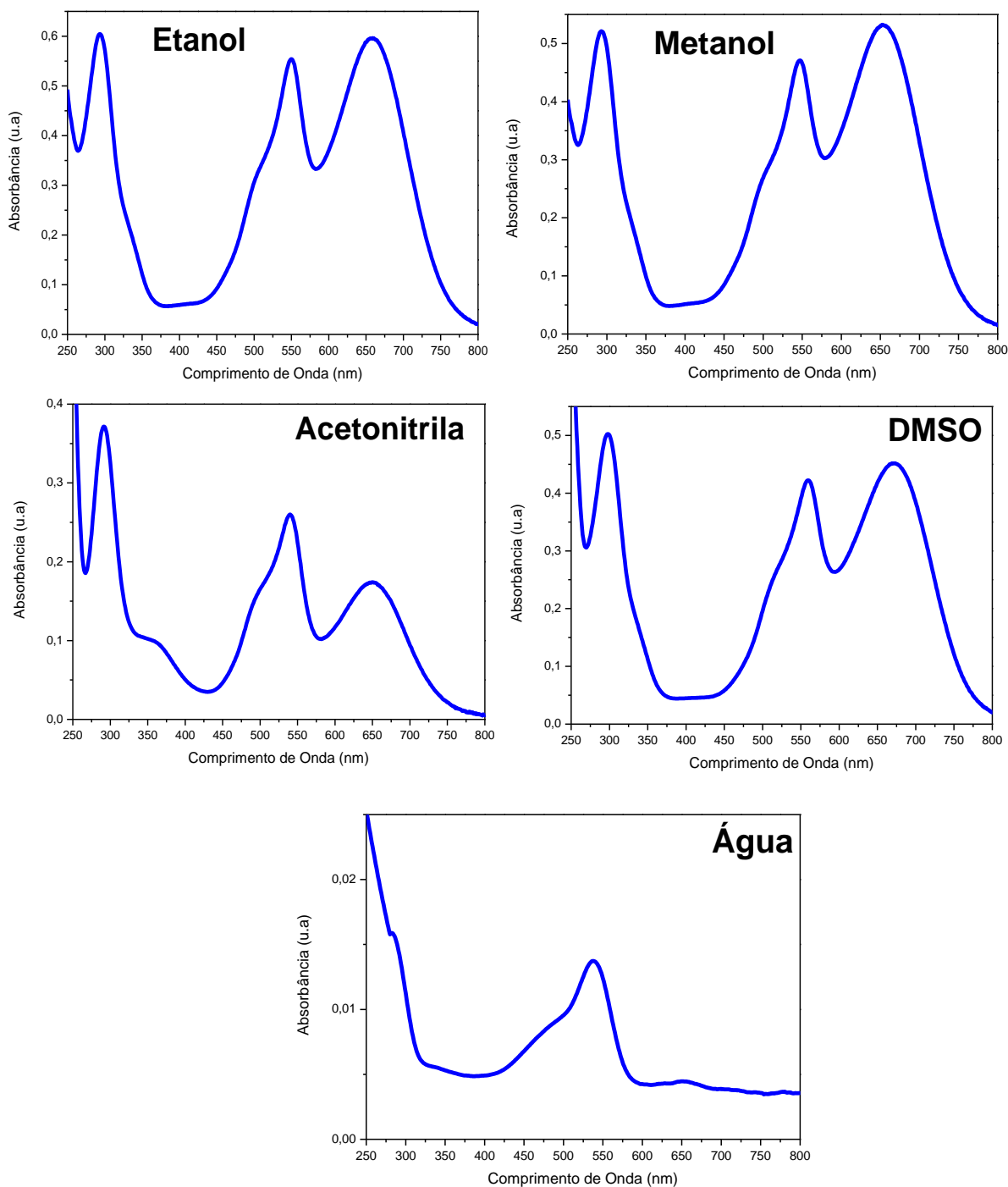
O clorofórmio, diferente da água, possibilita que a formação da bandas atribuída ao estado fundamental seja observada em conjunto com a banda característica do cátion radical, visto que por ser um solvente apolar, favorecerá a dissolução da  $\text{PHT}^+$ , corroborando com a existência de um estado de equilíbrio entre ambas. A banda do EF aparece em 400 nm, enquanto a banda do cátion radical já bem definida na literatura aparece na faixa entre 500 e 550 nm. É

possível notar pelo espectro que a banda do cátion radical ficou mais bem estruturada do que em água, deixando mais evidentes os níveis vibracionais e as excitações ocorridas na molécula, já que a interação do solvente é um fator que altera o modo vibracional das partículas. Em água há uma sobreposição dos níveis vibracionais e o que se enxerga na análise gráfica é a obtenção de banda larga.

Como a estabilidade do cátion radical depende da agregação, sua formação e razão em relação ao estado fundamental foi avaliada para a  $\text{PHA}^+$ , em diferentes solventes, no escuro e após irradiação com luz UV (254 nm). A condição sem irradiação, representada nos espectros da Figura 18, mostra o estado de equilíbrio após todas as amostras terem permanecido guardadas por 5 dias:

**Figura 18.** Efeito do solvente no equilíbrio cátion radical/estado fundamental para a  $\text{PHA}^+$  no escuro.

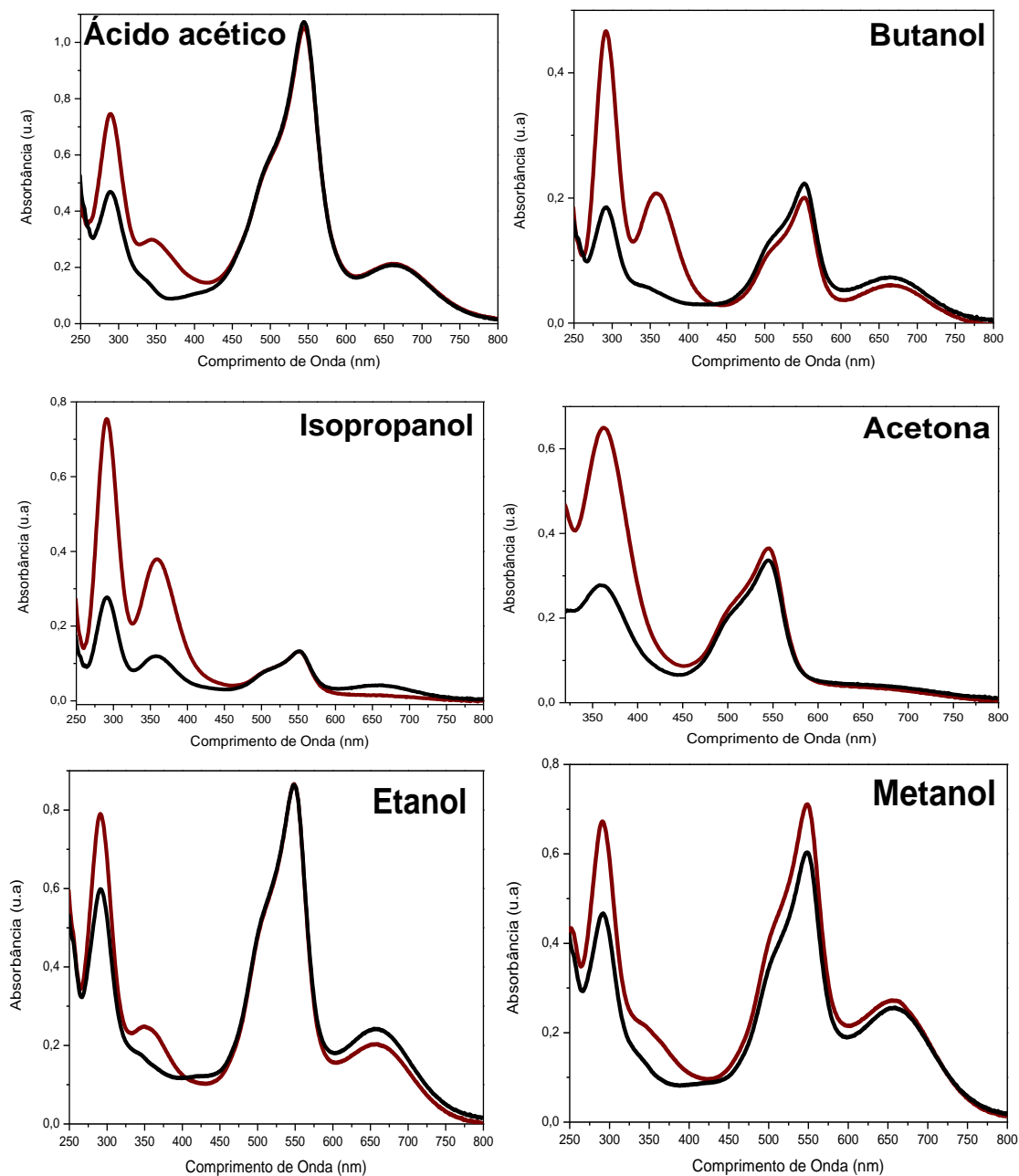


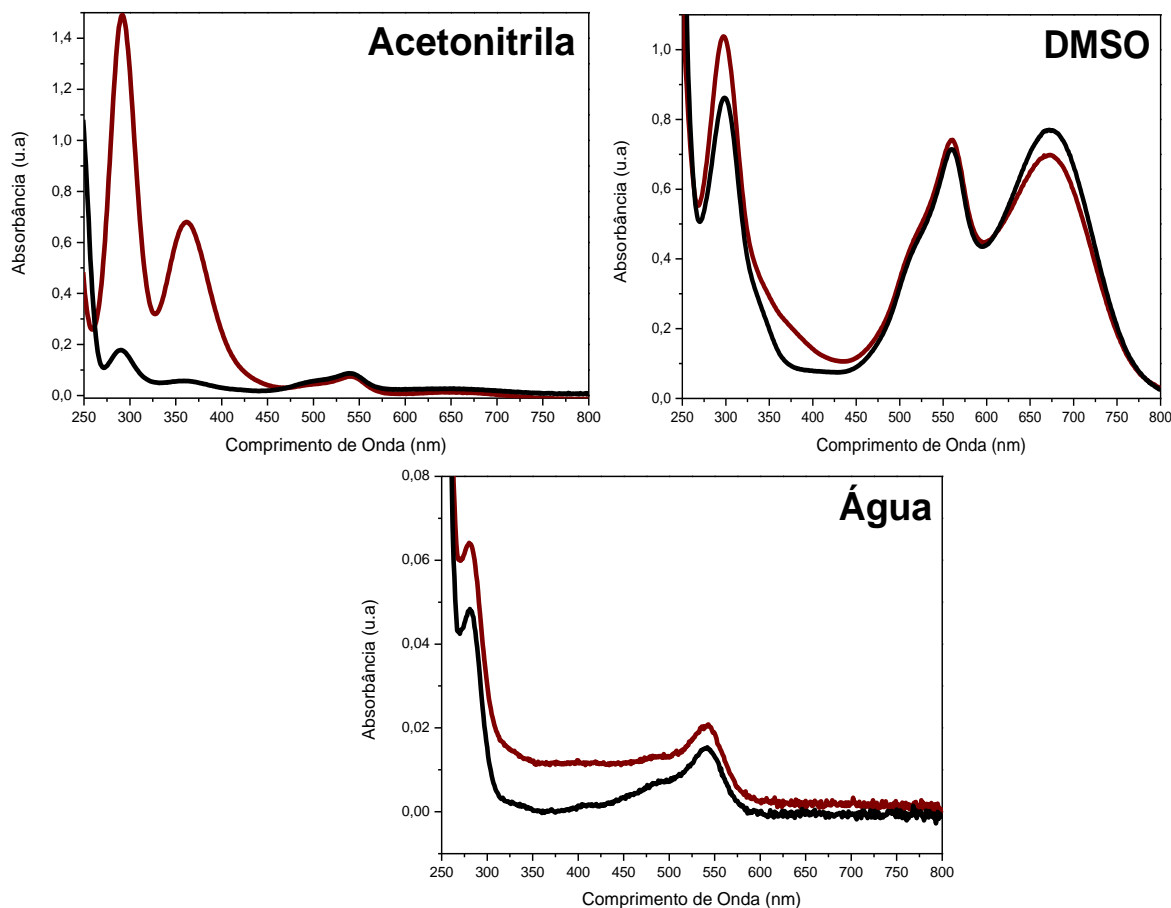


Consistentemente, em solventes de menor polaridade, houve um aumento da razão do estado fundamental/cátion radical, uma vez que a diminuição da polaridade desfavorece os agregados e consequentemente, a estabilidade do cátion radical, o que leva ao aumento da contribuição do EF. Em H<sub>2</sub>O quase não há contribuição do EF (600 nm) algo esperado visto à baixíssima solubilidade da forma fundamnetal em meios polares. Um fato a ser considerado é que a PHA<sup>+</sup>, mesmo no escuro, gera cátion radical, o que sugere um alto rendimento quântico de geração do cátion radical.

A Figura 19 mostra os espectros atribuídos à análise da razão EF/PHA<sup>2+</sup>• para a condição irradiada em luz UV, em t = 0 e t = 30 min:

**Figura 19.** Efeito do solvente no equilíbrio cátion radical/estado fundamental para a PHA<sup>+</sup> irradiada.





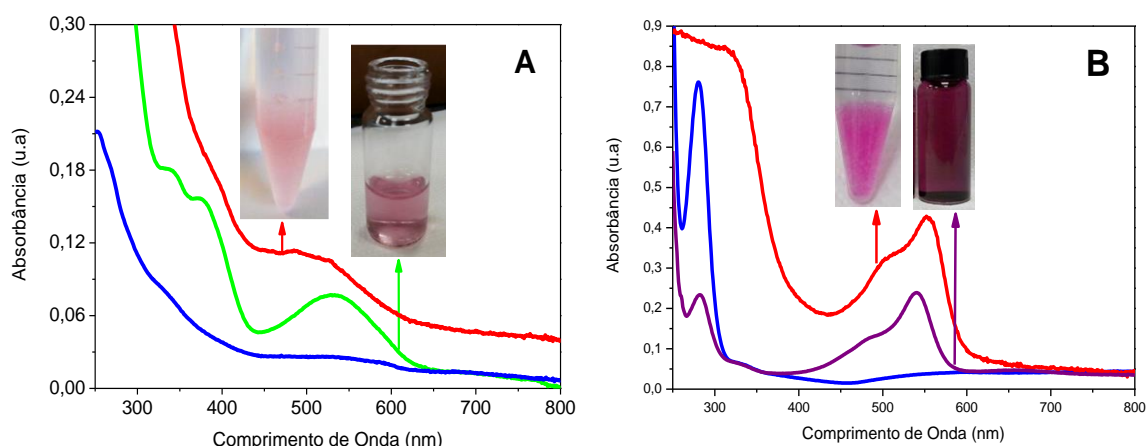
A análise dos espectros das Fig. 18 e 19 mostra mudanças na região do UV que podem ser atribuídas à formação de sulfóxido ( $\lambda = 300$  nm). A formação de sulfóxido favorecida pelo deslocamento do equilíbrio para a forma fundamental do corante já foi caracterizada para outras fenotiazinas previamente estudadas (Rodrigues *et al.*, 2016). Consistentemente a formação de sulfóxido não foi observada em meio aquoso.

## 5.2 Incorporação do cátion radical $\text{PHT}^{2+\bullet}$ e $\text{PHT}^{2+\bullet}$ na resina Chelex® 100

Tendo como base a fenoatiazina azul de metileno estudada por Miranda (2016), a qual podia ser imobilizada em Chelex® 100, o cátion radical da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$  obtidos após irradiação foram capturados pela resina Chelex® 100, conforme pode ser observado nos insertos da Figura 20 (A) e (B). Isso se torna possível, pois por interação eletrostática, os grupos carboxílicos da resina exercem atração pelo radical catiônico e ocorre troca do íon sódio ( $\text{Na}^+$ ) do polímero pelo radical. A baixa polaridade de ambos favorece ainda mais essa adsorção. Para que seja adsorvido, o cátion radical separa-se do radical neutro redutor e este fica em equilíbrio no sobrenadante. A Fig. 20 demonstra a presença do cátion radical incorporado ao Chelex®

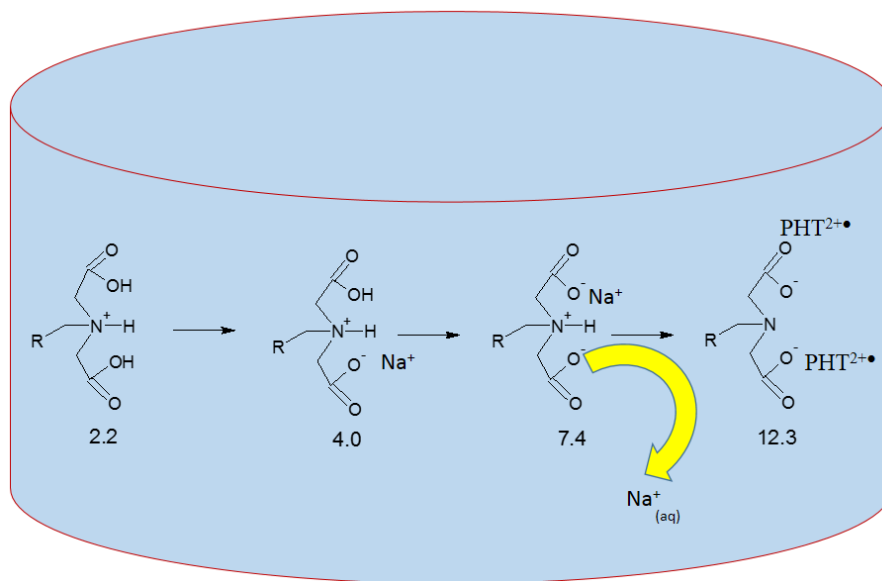
100, evidenciando uma quantidade não significativa da espécie radicalar no sobrenadante, o que colabora com a assertiva de que a formação e separação do radical e da espécie redutora ocorreu.

**Figura 20.** Espectro do cátion radical ( $\text{PHT}^{2+\bullet}$ ) em dispersão aquosa (linha verde), o espectro da resina Chelex® 100 após agitação na dispersão de  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  (linha vermelha) e o espectro do sobrenadante (linha azul) após incorporação da fração rosa no Chelex® 100 (A). Em (B) o espectro da  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  cátion radical em dispersão aquosa (linha roxa), o espectro da resina Chelex® 100 após agitação na dispersão de  $\text{PHA}^{2+\bullet}$  (linha vermelha) e o espectro do sobrenadante após incorporação da fração rosa no Chelex® 100 (linha azul). Os inserts mostram as dispersões dos cátions radicais e suas respectivas incorporações na resina.



Pode-se observar que após a adsorção do radical catiônico na resina, o sobrenadante apresenta contribuições espectrais no UV e na região acima de 600 nm, o que indica que a fração não carregada não é incorporada na resina. Essa fração pode conter a forma reduzida e formas oligomerizadas das fenotiazinas (Rodrigues *et al.*, 2016). Essas formas são agentes redutores e promoveram a síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) quando solução de ouro foi adicionado ao sobrenadante, conforme discussão a ser realizada na seção 5.4. A medida de pH do sobrenadante (pH 10) sugere que a troca iônica foi possível pela alcalinização do meio. O pH é um fator importante a ser considerado para avaliar tamanho e forma das AuNPs sintetizadas, sendo que meio ácido tende a favorecer a agregação das NPs enquanto o meio alcalino favorece a nucleação (AKHTAR *et al.*, 2013). O Esquema 5 corrobora para o entendimento da alcalinização do meio reacional e incorporação do cátion radical na resina, já que em pH básico (com liberação do contra íon  $\text{Na}^+$  da estrutura do Chelex® 100) a estrutura do Chelex® 100 apresenta-se na forma aniônica com dois sítios eletricamente negativos, o que contribui para uma maior taxa de incorporação do cátion radical das duas fenotiazinas estudadas neste trabalho. A interação entre o radical e o Chelex® 100 é ainda favorecida pela interação entre as partes apolares de ambas as estruturas (NOBEL e HERCULES, 2000).

**Esquema 5.** Alcalinização do meio reacional e incorporação do cátion radical na resina Chelex® 100.



A espécie radicalar da  $\text{PHT}^+$ , mesmo possuindo certa estabilidade pela formação dos agregados, perde a coloração depois de 20 minutos sob luz visível após incorporação, sendo sugerida a explicação de que ocorrem reações de oligomerização catalisadas pela radiação ou também reações do radical com o oxigênio atmosférico contido dentro do frasco e formação de sulfóxidos (Rodrigues *et al.*, 2006). O radical de  $\text{PHA}^+$  é altamente estável, permanecendo incorporado na resina por dias sem qualquer alteração visual e espectral pela estabilização extra conferida pelos grupos fenílicos substituintes (OKAMOTO *et al.*, 2004).

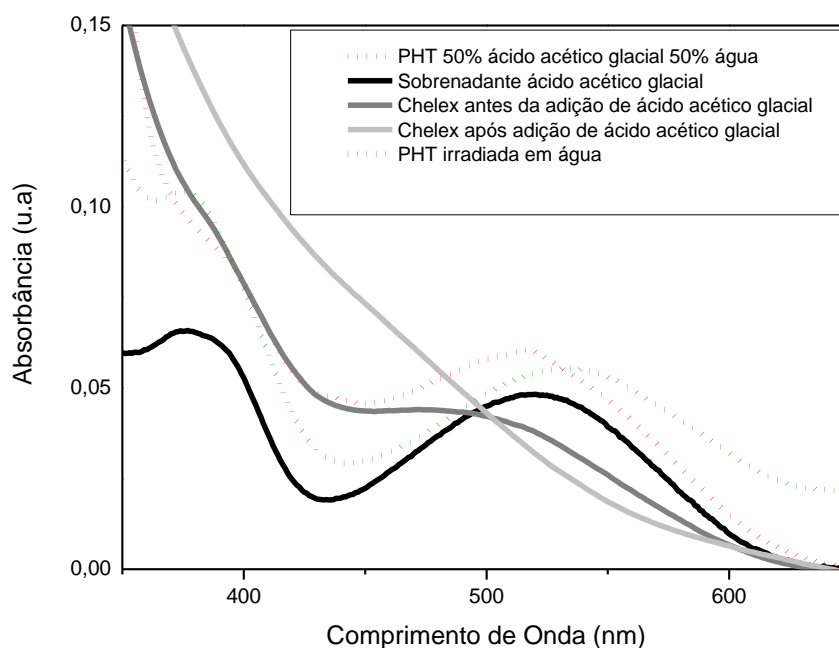
### 5.3 Efeito de solventes na resina Chelex® 100 incorporada com a $\text{PHT}^{2+\bullet}$

#### 5.3.1 Efeito do ácido acético glacial na resina Chelex® 100 incorporada com a $\text{PHT}^{2+\bullet}$

Os espectros da Figura 20 mostram que o cátion radical  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  estava incorporado na resina Chelex® 100 e que na presença de ácido acético glacial, este sai da resina e passa a estar suspenso no sobrenadante. Essa transferência se dá pelo fato de uma quantidade expressiva de grupos carboxílicos do ácido competirem eletrostaticamente com os grupos carboxílicos presentes na resina. Um outro fator que confere estabilidade ao cátion radical em ácido acético glacial se dá pelo fato desse solvente ser polar prótico, que fará com que o agregado apolar do radical mantenha-se nessa forma para estabilizar-se no meio.



**Figura 21.** Espectros do efeito do ácido acético sobre o cátion radical  $\text{PHT}^{2+\bullet}$ .

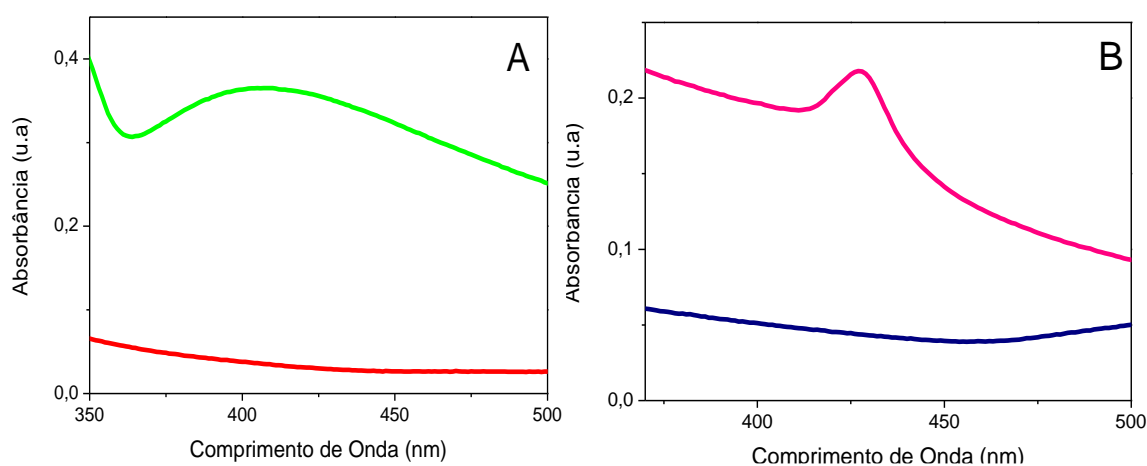


Devido ao desprotonamento do ácido acético ( $pK_a$  4,76) e sua baixa força iônica quando comparado a água e a afinidade do radical, que em sua maior parte é apolar, com a parte apolar do solvente, a troca iônica é favorecida e reforça a assertiva de que a interação que ocorre entre o radical e o Chelex® 100 é de natureza eletrostática. A constante dielétrica do ácido acético ( $\epsilon = 6,15$  a  $20^\circ\text{C}$ ) é menor que o da  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\epsilon = 80$  a  $20^\circ\text{C}$ ) e, portanto, com a menor formação de campo elétrico, a partição e troca iônica torna-se possível e eficaz (BRUICE, 2006). Neste gráfico ainda pode-se observar que a banda de absorção sofre um deslocamento de comprimento de onda e consequente energia para a  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  dependendo do solvente (água ou ácido acético), indicando a presença de agregados de cátion radical diferentes. Nota-se ainda que a curva atribuída à dispersão da  $\text{PHT}^{2+\bullet}$  em ácido acético se apresenta melhor definida, demonstrando um agregado menos complexo e com conjugações diferentes entre as ligações duplas do cromóforo. A banda de absorção atribuída à dispersão em água deionizada (linha tracejada verde) mostra-se menos resolvida e, portanto, com baixa resolução e apresentação de detalhes, visto que nela há sobreposição dos sinais provenientes de transições vibracionais e rotacionais associados ao da transição eletrônica. Os deslocamentos das bandas devem-se, além da estrutura do agregado formado, à interação de tais moléculas com os solventes (PÁRKÁNYI *et al.*, 1993; GARCÍA *et al.*, 2005).

## 5.4 Obtenção e caracterização das AuNPs

A resina Chelex® 100 capturou o cátion radical formado na reação fotoquímica da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$  e no sobrenadante poderia estar contida a forma reduzida e redutora dessas espécies ( $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$ ). Sendo assim, os sobrenadantes foram avaliados a fim de verificar se estes apresentavam capacidade redutora para síntese de nanopartículas de prata. A Figura 22 mostra o espectro atribuído às AgNPs a partir dos sobrenadantes  $\text{PHT}^\bullet$  e  $\text{PHA}^\bullet$ :

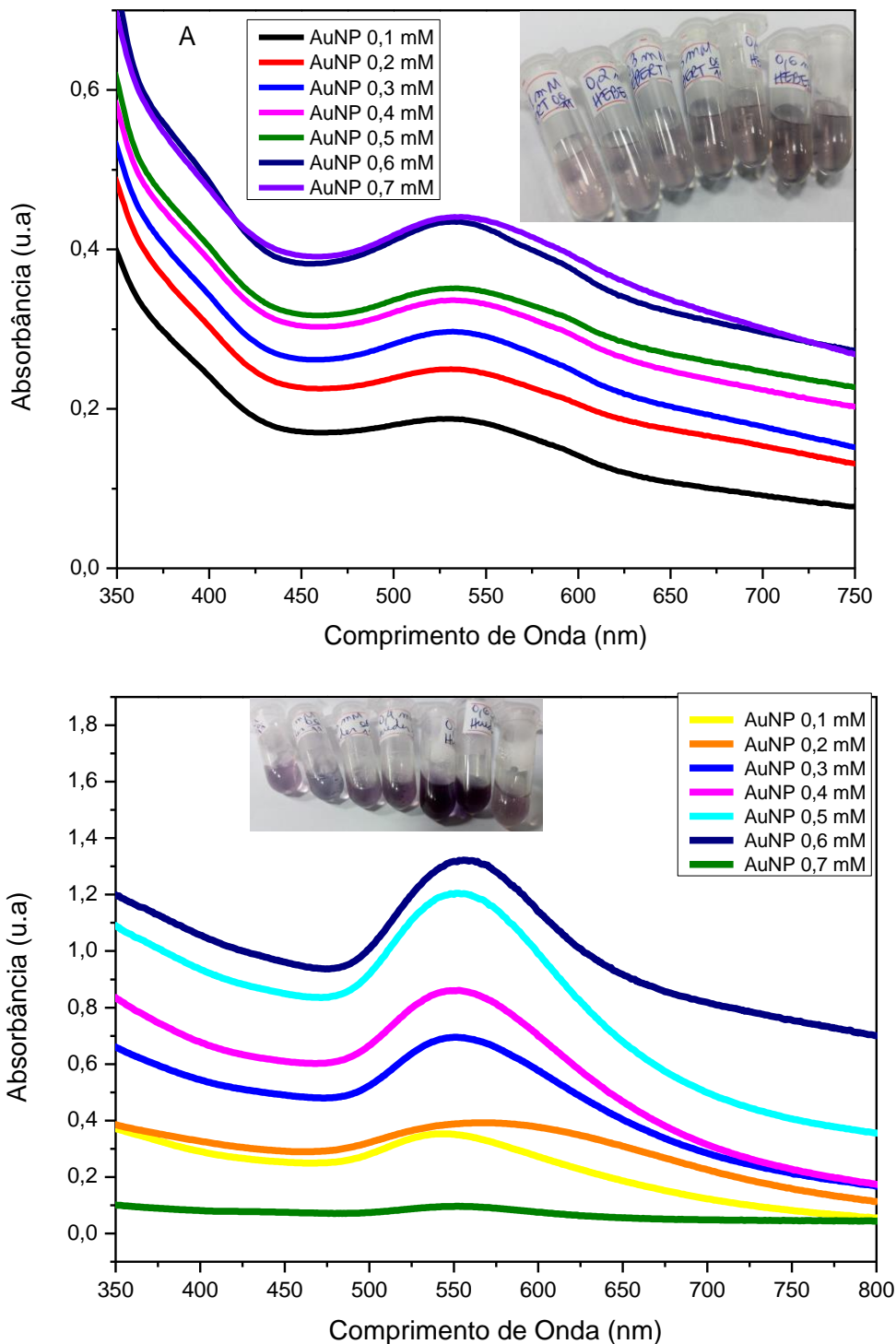
**Figura 22.** Espectros atribuídos à formação de AgNPs. Em (A) a linha vermelha é atribuída ao sobrenadante  $\text{PHT}^\bullet$  antes da adição de  $\text{AgNO}_3$  e a linha verde após adição do sal. Em (B) a linha azul é atribuída ao sobrenadante da  $\text{PHA}^\bullet$  e a linha rosa após adição de  $\text{AgNO}_3$ .



Os espectros mostrados na Figura 22 A e B são consistentes com a formação de AgNPs, apresentando banda plasmônica na faixa dos 400 nm (ALMEIDA *et al.*, 2015). As AgNPs obtidas com  $\text{PHA}^\bullet$  (Fig. 22, B) apresentaram banda plasmônica mais estreita, o que sugere a formação de agregados de nanopartículas menores e com menor grau de polidispersão. A coloração das suspensões coloidais finais refletiram o encontrado nos espectros. Enquanto a suspensão correspondente ao espectro mostrado na Fig. 22 A apresentou a cor laranja, sugestiva de AgNPs maiores, no espectro correspondente à Fig. 22 B a cor apresentada foi amarelo, sugestivo de AgNPs menores (ALMEIDA *et al.*, 2015). A síntese de AgNPs com o uso dos sobrenadantes  $\text{PHA}^\bullet$  e  $\text{PHT}^\bullet$  demonstrou a existência de espécies redutoras no meio e, assim, essas soluções foram testadas para a síntese de AuNPs. Essa metodologia é bastante interessante por ser rápida, ocorrer em 1 etapa e sem a necessidade do uso de outros reagentes, podendo ser considerada uma síntese verde de NPs.

Tendo base os resultados para as AgNPs, a redução de íons  $\text{Au}^{3+}$  foi realizada para uma faixa de concentração entre 0,1 mM e 0,7 mM do sal de ouro para os sobrenadantes PHT• (Fig. 23 A) e PHA• (Fig. 23 B) sob irradiação UV ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) durante 10 min.

**Figura 23.** Espectros atribuídos as AuNPs formadas após adição de sal de ouro em diferentes concentrações (0,1 a 0,7 mM) nos sobrenadantes redutores PHT• (A) e da PHA• (B). As soluções foram irradiadas por 10 min sob UV curto a 1 m da lâmpada. Os inserts mostram as cores obtidas para cada concentração de sal de ouro.

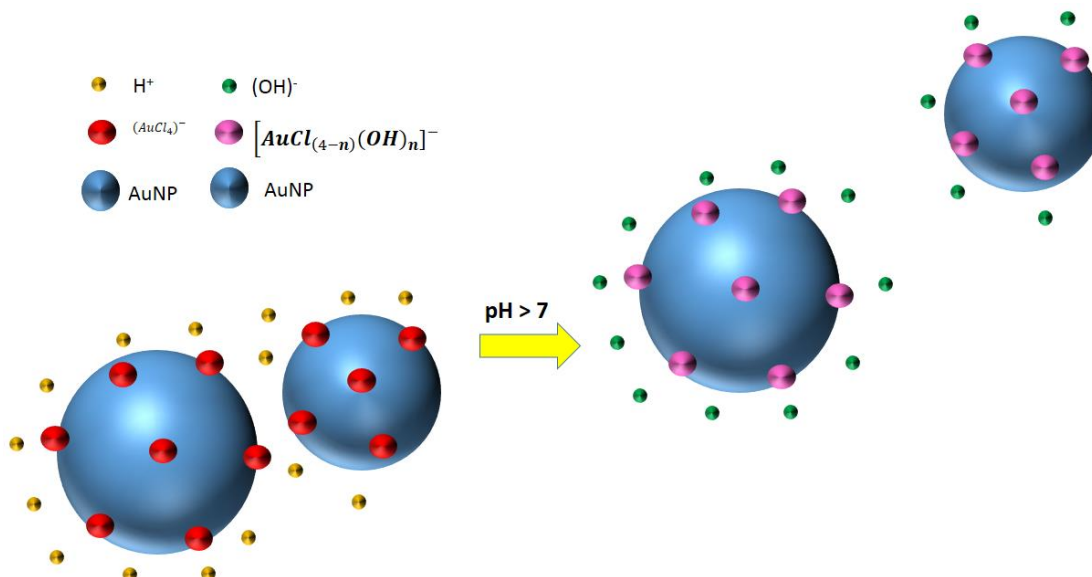


Os resultados apresentados nos espectros da Fig. 23 A sugerem AuNPs esféricas, visto que as bandas plasmônicas tem o máximo na região de 520 nm, enquanto que os espectros para as AuNPs da Fig. 23 B sugerem NPs anisotrópicas (formas e tamanhos diferentes), dada as diferenças no máximo e na largura da banda plasmônica. As cores apresentadas pelas AuNPs (inserto nas Fig. 23 A e B) são resultado de transições entre as bandas eletrônicas que acomodam os elétrons superficiais (bandas de plasmons superficiais). Entretanto, ao sofrer agregação (acoplamento plasmônico), as suspensões de AuNPs apresentam deslocamento da banda plasmônica para comprimentos de onda mais longos e coloração violeta e azul, pois há um aumento na densidade de estados eletrônicos e consequente diminuição da energia de transição entre as bandas (BURDA *et al.*, 2005; TOMA e BONIFÁCIO, 2006). Observando-se na Fig. 23 B as bandas para as concentrações 0,5 e 0,6 mM, é possível notar um deslocamento do máximo de intensidade, o que sugere AuNPs de tamanhos diferentes (HAISS *et al.*, 2007; LINK e EL-SAYED, 1999). À medida que a forma ou tamanho muda, a geometria da superfície da nanopartícula muda e com isso a densidade eletrônica de superfície se altera, variando a interação com o campo elétrico da luz, ocasionando em mudança de frequência de oscilação dos elétrons, gerando diferentes propriedades ópticas incluindo absorção e espalhamento (BOHREN e HUFFMAN, 1998; EUSTIS e EL-SAYED, 2006).

O pH é um fator importante para o crescimento de AuNPs com formas controladas, pois meios básicos favorecem a formação de AuNPs esféricas, diferentemente de meios ácidos nas quais são obtidas nanoestruturas anisotrópicas (LOPES *et al.*, 2017; KANG *et al.*, 2015; TOFANELLO *et al.*, 2016). Nos sobrenadantes PHT• e PHA• o valor medido de pH foi igual a 10 e esse valor é proveniente da base formada pelos íons  $\text{Na}^+$  liberados pela resina Chelex® 100 no momento em que esta troca o íon  $\text{Na}^+$  pelo cátion radical em sua estrutura. Os íons  $\text{Na}^+$  interagem com os grupos  $\text{OH}^-$  da água, formando hidróxido de sódio, que sofre dissociação e alcaliniza o sobrenadante. Tyagi *et al* (2011) propuseram que o mecanismo que explica a formação controlada de AuNPs esféricas parte do pressuposto de que em meios ácidos, o íon  $(\text{AuCl}_4)^-$  (proveniente do sal de ouro usado para a síntese de AuNPs), altamente reativo, adsorve-se na superfície das AuNPs, que consequentemente agregarão para diminuir a energia total do sistema e estabilizar-se. Com o aumento do pH os íons  $(\text{AuCl}_4)^-$  formam com os íons hidroxila  $(\text{OH})^-$  um complexo menos reativo,  $[\text{AuCl}_{(4-n)}(\text{OH})_n]^-$ , no qual  $n$  aumenta com a elevação do pH. Dessa forma, cria-se uma camada estabilizadora sobre as AuNPs, evitando a rápida agregação e controlando o crescimento e a forma das NPs. A Figura 24 mostra a

estabilização e controle do crescimento e forma das AuNPs com o aumento do pH e formação do complexo  $[AuCl_{(4-n)}(OH)_n]^-$ :

**Figura 24.** Representação da estabilização de AuNPs.



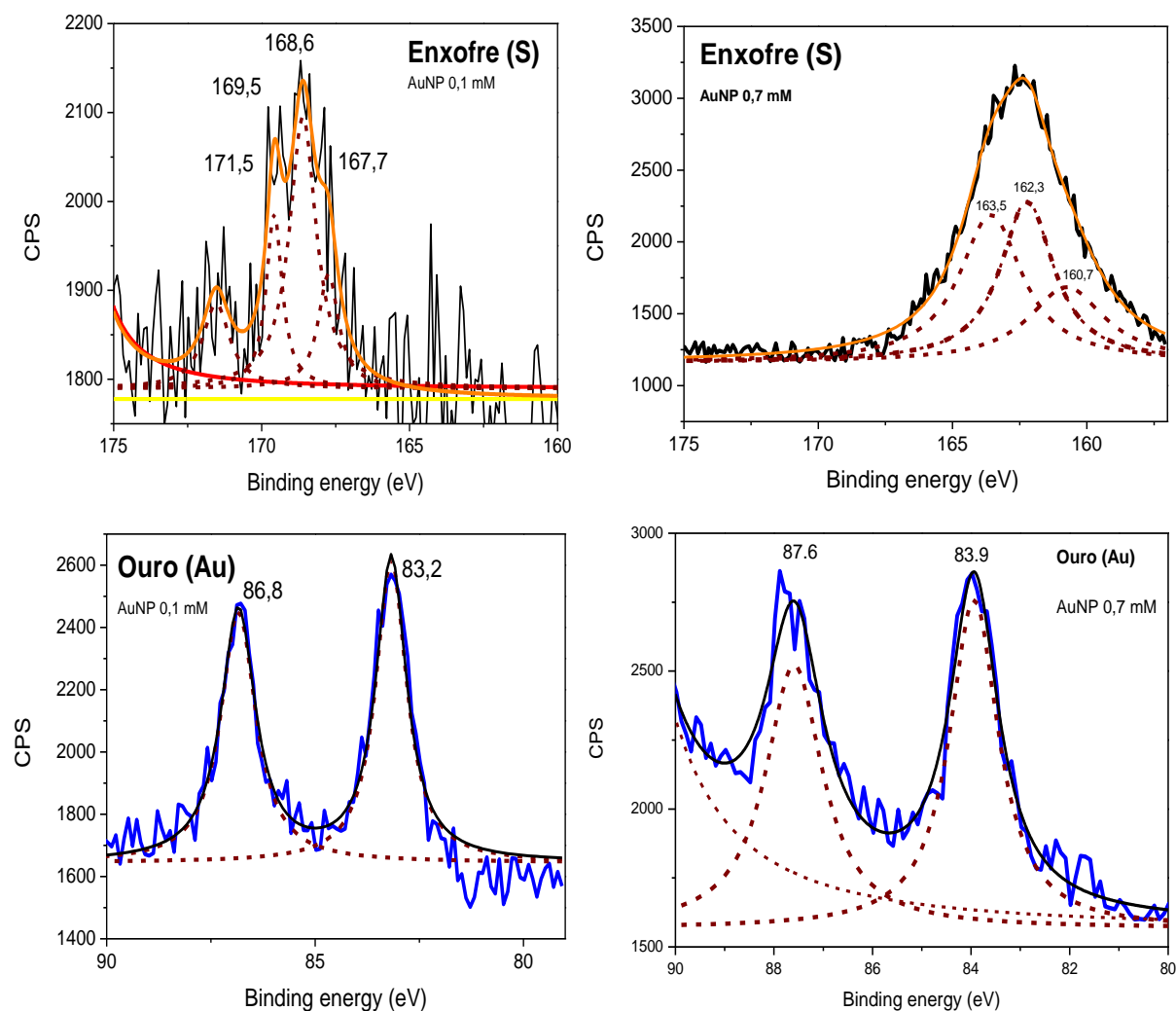
Fonte: Adaptado de Tyagi *et al.*, 2011.

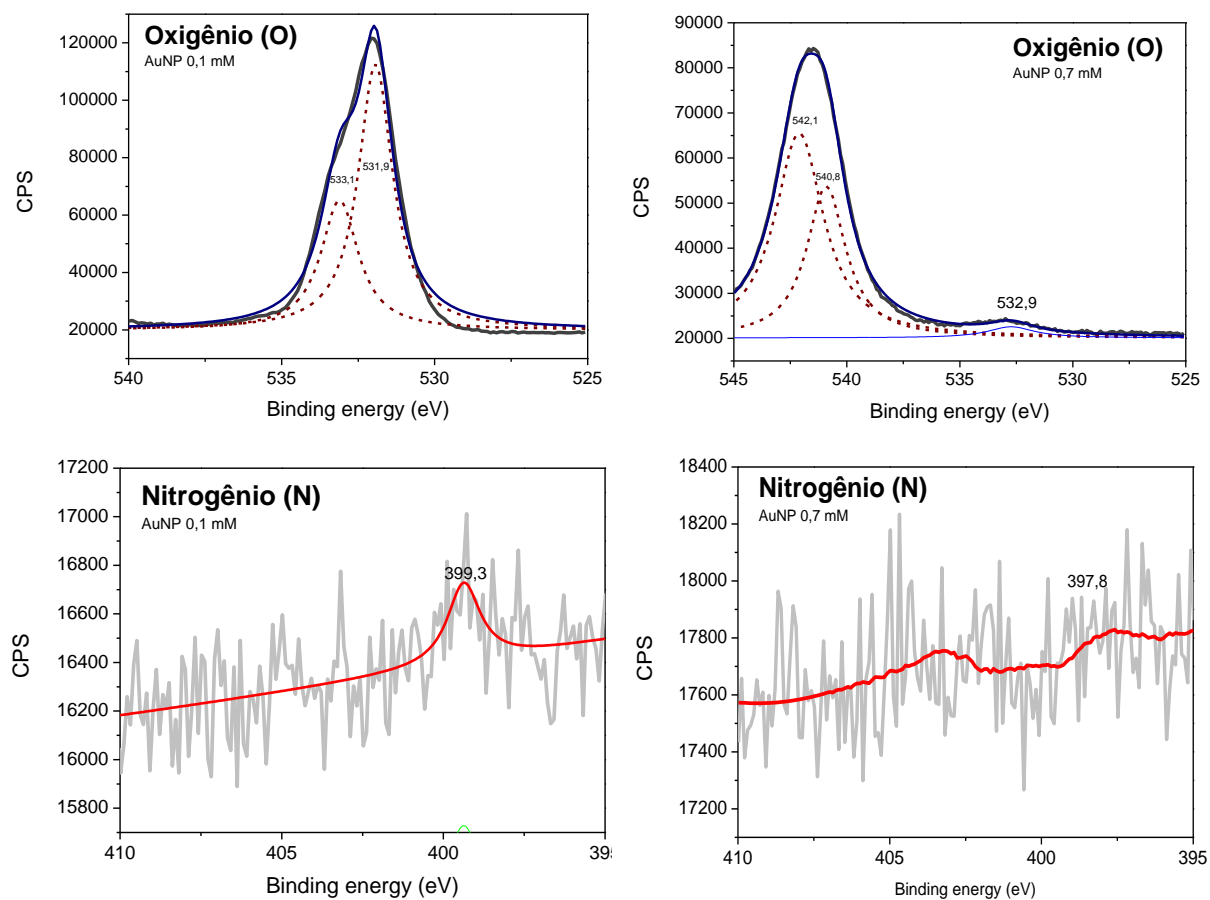
O mecanismo de nucleação, crescimento e estabilização das AuNPs por PHT• e PHA• pode ser proposto conforme descrito por Chen Yeh *et al* (2012) e Miranda (2016). Nesse processo, os íons  $Au^{3+}$  são primeiramente reduzidos  $Au^{1+}$  pelas formas redutora, ou seja a PHT• e a PHA• e em seguida, sofre dismutação (reação redox onde um elemento é ao mesmo tempo oxidado e reduzido) a  $Au^0$  e  $Au^{3+}$ . O  $Au^{3+}$  proveniente desse processo é novamente reduzido pelos sobrenadantes redutores. O ouro metálico ( $Au^0$ ) formado inicia a formação dos primeiros núcleos que sofrerão posterior crescimento cristalino das nanopartículas. A fase de crescimento ocorre por adição atômica por difusão, no qual o transporte do  $Au^0$  pela solução ocorre devido ao gradiente de concentração entre as formas oxidadas do ouro, fazendo com que os núcleos que ainda estão em menor concentração incorporem  $Au^0$ , aumentando a entropia do sistema, levando-o ao estado de equilíbrio. Após o processo de crescimento, enquanto algumas AuNPs passam para o estágio da catálise, no qual a superfície negativa das partículas crescidas contribui para a redução de mais íons  $Au^{3+}$ , outras maiores continuam a crescer e as menores, devido a diminuição da concentração dos reagentes, deixam de crescer e começam a se dissolver, visto que há diminuição da supersaturação do sistema e consequente diminuição do raio crítico dos núcleos (CHEN YEH *et al.*, 2012). Subsequente à maturação, as nanopartículas

formadas tendem a agregação para diminuir a energia total do sistema (CHEN YEY *et al.*, 2012; EL-SAYED, 2005; PARVEEN, 2017).

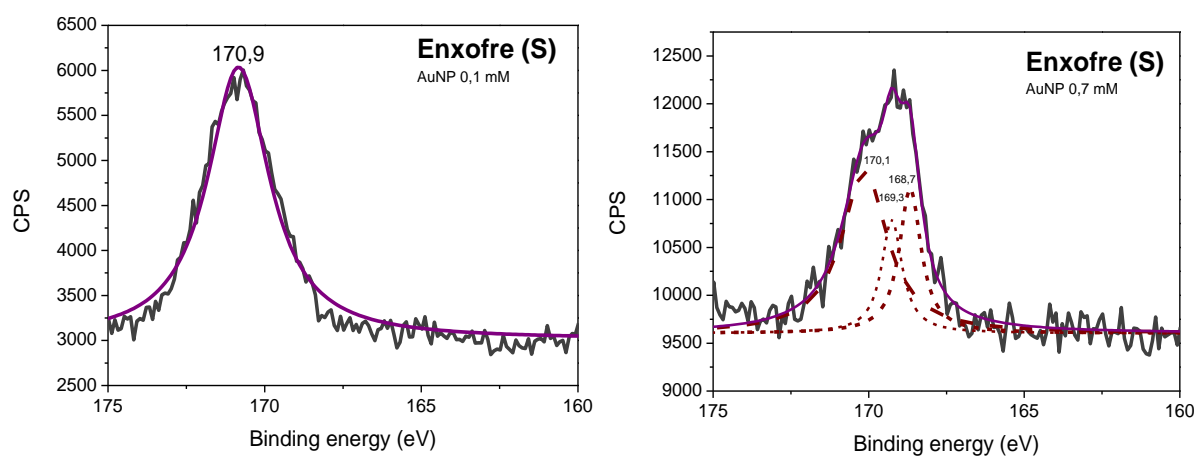
Após caracterização UV-vis, as amostras foram guardadas e mantiveram-se estáveis durante vários dias, indicativo de que algum derivado da PHT<sup>+</sup> e da PHA<sup>+</sup> estaria recobrindo e, portanto, estabilizando as AuNPs. Para identificar esses derivados fenotiazínicos e outras espécies na superfície das AuNps, foi realizado XPS das concentrações 0,1 mM e 0,7 mM para as amostras de AuNPs derivadas das formas reduzidas da fenotiazina (Figura 25) e da fenoanilina (Figura 26), cujos elementos químicos identificados para discussão foram: Au, S e O e N.

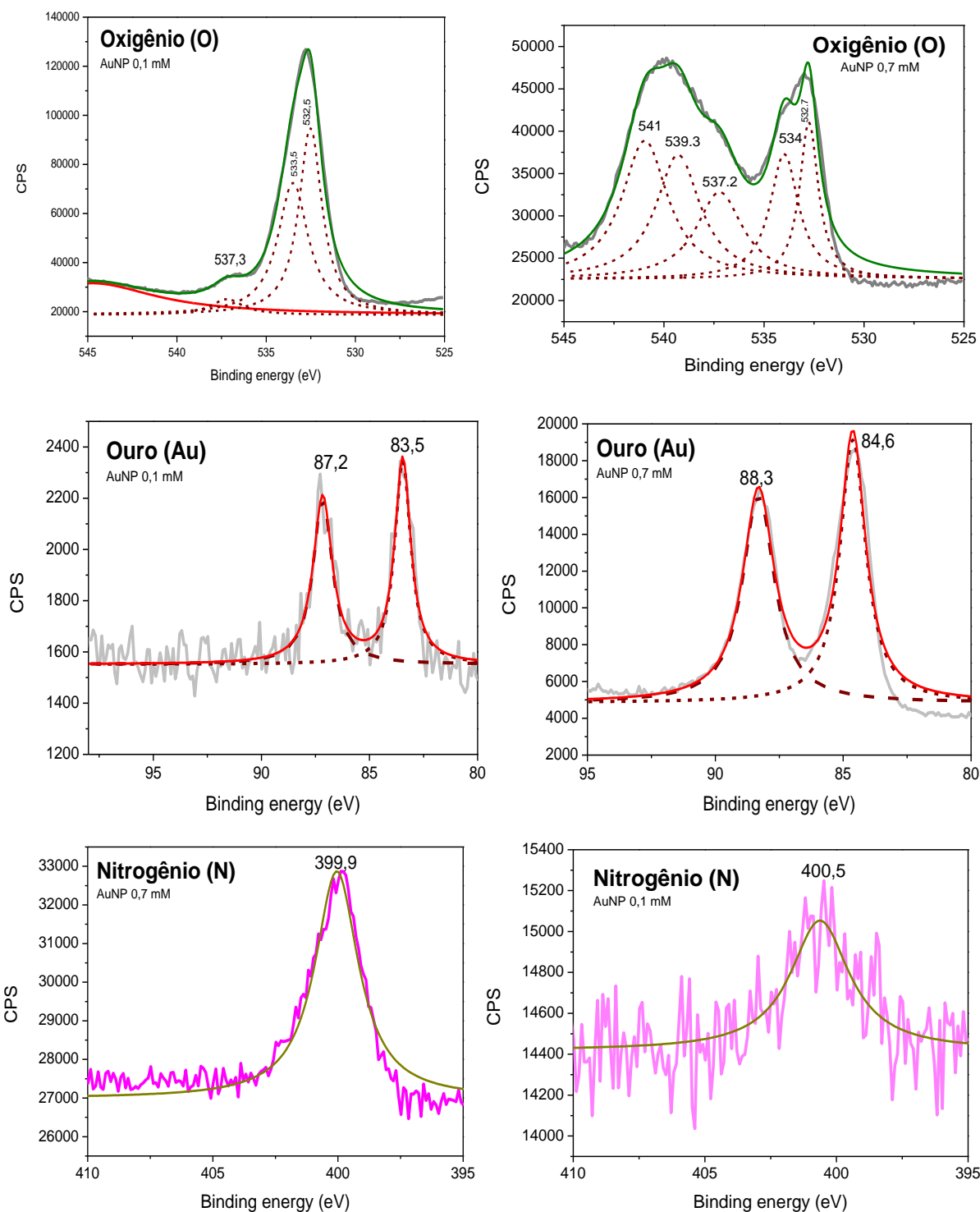
**Figura 25.** Espectros de XPS para os elementos químicos S, Au, O e N a partir das amostras 0,1 mM e 0,7 mM de AuNP sintetizadas a partir da PHT<sup>+</sup>.





**Figura 26.** Espectros de XPS para os elementos químicos S, Au, O e N a partir das amostras 0,1 mM e 0,7 mM de AuNP sintetizadas a partir da PHA\*.





Os resultados obtidos pelo XPS nas Fig. 25 e 26 sugerem que os íons  $\text{Au}^{3+}$  sofreram redução, tanto na suspensão de AuNPs 0,1 mM, quanto na suspensão 0,7 mM, indicando que as espécies reduzidas PHT $^{\bullet}$  e PHA $^{\bullet}$  atuaram como redutor na síntese de AuNPs proposta neste trabalho. Para o ouro zero ( $\text{Au}^0$ ), foram obtidos valores que variam entre 83,2 eV e 84,6 eV e a literatura mostra que para este estado de oxidação do ouro o valor de energia de ligação (no



inglês, *binding energy*) associada é da ordem 84,0 eV (ADURA *et al.*, 2013; BELL *et al.*, 2013; CASALETTO *et al.*, 2006; DING *et al.*, 2014; LAGE, SCHMAL e TONIOLO, 2018; VERICATTI *et al.*, 2014). Ainda sobre o ouro, vê-se que o pico referente à forma oxidada  $\text{Au}^{3+}$  apresenta valores entre 86,8 eV e 88,3 eV, enquanto o teórico gira em torno de 87 eV. Essa flutuação em relação ao valor teórico apresentada para o  $\text{Au}^0$  e  $\text{Au}^{3+}$  pode estar relacionada com diferentes interações com as demais estruturas presentes na superfície. Para o enxofre, os espectros mostrados nas Fig. 25 e 26 referentes às concentrações de AuNPs 0,1 mM sugerem que para esta condição há formação de sulfóxidos, pois teoricamente a energia para esta estrutura é 170 eV e os resultados obtidos nos máximos da banda giram em torno desse valor (ZENG *et al.*, 2018). A deconvolução feita no gráfico do enxofre da concentração 0,1 mM de AuNP da Fig. 25 mostra que diferentes formas do enxofre foram encontradas, o que sugere diferentes derivados do elemento no recobrimento. Todos esses máximos são característicos de enxofre na forma oxidada e, segundo Struis *et al.* (2009), tais formas são recorrentes entre 165-171 eV. Na concentração de 0,7 mM, o gráfico da Fig. 25 apresentou máximo em torno de 162,5 eV, o que sugere quando este valor é comparado com o padrão (na literatura 162,5 eV), a presença de tiois ou a coordenação Au-S, que poderia ser feita diretamente pelo enxofre das moléculas das fenotiazinas ou caso no anel tenha havido alguma quebra de ligação e formado o respectivo tiol e é possível que esta estrutura esteja estabilizando as AuNPs e como a ligação Au-S é um híbrido de ligação covalente (35%) e iônica (65%), não deve haver alteração significativa da carga superficial das AuNPs, mas apenas uma diminuição do potencial zeta (medidas serão apresentadas mais adiante) (CASTNER; HINDS; GRAINGER, 1996; GIVALOU, L. *et al.*, 2016; KIM, S. S. *et al.*, 2018). Tais derivados do enxofre poderiam ser identificados por cromatografia gasosa (CG) e espectrofotometria de massa para melhor compreensão das estruturas presentes no recobrimento. No que se refere ao nitrogênio, dados sugerem que a ligação C-NH<sub>2</sub> apresenta *binding* de 400 eV (HUA, *et al.*, 2011; MUTHUKRISHNAN *et al.*, 2015) e todos os espectros para o átomo de nitrogênio das Fig. 25 e 26 mostraram possível consistência com o valor de referência e indicariam que o nitrogênio das estruturas da  $\text{PHT}^{2+}/\text{PHT}^\bullet$  e da  $\text{PHA}^{2+}/\text{PHA}^\bullet$  não sofreu alterações durante a reação fotoinduzida e não houve formação de derivados nitrogenados. Porém, com o alto ruído obtido nas análises para o nitrogênio, sua análise torna-se inconclusiva, pois o próprio nitrogênio atmosférico pode estar interferindo e sendo medido pelo XPS. O oxigênio apresentou comportamentos distintos nas concentrações de AuNPs 0,1 mM e 0,7 mM, conforme pode ser observado nas Fig. 25 e 26, sendo que na 0,1 mM a energia em torno de 532 nm representa o oxigênio na forma de sulfóxido (ZENG *et al.*, 2017), estrutura que provavelmente está

estabilizando em maior proporção os agregados de AuNPs de baixas concentrações, visto sua neutralidade e associando este fato à diminuição do potencial zeta que será apresentado mais adiante. O máximo de 536,5 eV encontrado na Fig. 26 para o oxigênio remete a presença de clusters de H<sub>2</sub>O que tendem a vaporização na superfície das AuNPs 0,1 mM. Na Fig 26 para a mesma concentração de AuNPs, esse *binding* também é encontrado. Na amostras de AuNPs 0,7 mM, para as duas figuras (24 e 25), a mesma energia na região de 532 eV correspondente ao sulfóxido pode ser observada e na deconvolução do espectro do oxigênio da Fig. 26 na energia de 537,2 eV, há uma sobreposição de Na KLL com os cluster de água que tendem à vaporizar (DELGADO *et al.*, 2017). A presença de sódio detectada pelo XPS contribui para reforçar que a resina Chelex® 100 estabeleceu uma troca iônica liberando na dispersão de cátion radical os íons Na<sup>+</sup> e que incorporou o radical catiônico em sua estrutura. Essa assertiva será melhor estudada através de variações experimentais, nas quais será avaliado o XPS da solução sobrenadante antes da adição de sal de ouro e do sobrenadante resultante após formação e precipitação das AuNPs. Um fato bastante interessante na interpretação dos espectros do oxigênio tange ao aparecimento de uma energia em 541 eV, que pode ser característica de oxigênio de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (BANNA *et al.*, 1976), cuja indicação leva a compreensão de que a síntese através dos sobrenadantes redutores PHT• e PHA• é uma reação eficiente não só na produção de AuNPs, mas também como uma rota alternativa de formação de peróxido. A síntese de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a partir de compostos fenotiazínicos já havia sido descrita por Miranda (2016) a partir do uso da forma reduzida do corante azul de metileno e há uma patente (BR n° 10 2016 008305 2) acerca dessa reação (INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL, 2016). A capacidade de gerar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode ser uma característica intrínseca das formas reduzidas dos compostos tiazínicos. Testes futuros com amplex red reforçarão o indicativo dado pelo XPS de que as formas reduzidas PHT• e PHA• podem formar peróxido de hidrogênio. Uma outra possibilidade para a interpretação do *binding energy* entre 540 e 541 eV que aparece no espectro do oxigênio nas concentrações de AuNP 0,7 mM das Fig 25 e 26 está relacionada com a formação de bolhas de H<sub>2</sub>O vapor formadas a partir do superaquecimento das AuNPs nessa concentração (WINTER *et al.*, 2007; CARLSON, GREEN, RICHARDSON, 2012; FRANSSON *et al.*, 2016)

Além do XPS, a superfície das AuNPs foi avaliada em termos de carga superficial, a fim de se verificar como o recobrimento afetava a superfície dos agregados do metal e ter uma estimativa do quão recoberta e estabilizadas elas estavam. Nanopartículas possuem carga eletrostática superficial devido à presença de grupamentos químicos do estabilizante na superfície ou à adsorção preferencial de íons ou de outras moléculas ionizáveis do meio de

dispersão aquoso, sendo que a sua intensidade exerce influência na estabilidade física da preparação (FLORENCE e ATTWOOD, 2003; MAGENHEIM e BENITA, 1991). O potencial zeta ( $\zeta$ ) é uma maneira efetiva de medir o comportamento de nanopartículas, já que indica o potencial de superfície a partir da força de repulsão entre as mesmas. As Tabelas 1 e 2 mostram os valores de  $\zeta$  obtidos para as AuNPs sintetizadas a partir das formas reduzidas da PHT• e da PHA•:

**Tabela 1. Valores de Potencial Zeta de AuNPs sintetizadas com diferentes concentrações de  $\text{Au}^{3+}$  para a PHT•.**

$[\text{Au}^{3+}]$ inicial (mM)	$\zeta$ (mV) + hv
0,1	$-62,3 \pm 2,2$
0,2	$-57,8 \pm 1,7$
0,3	$-58,7 \pm 3,0$
0,4	$-56,2 \pm 1,1$
0,5	$-57,0 \pm 4,9$
0,6	$-54,2 \pm 4,2$
0,7	$-51,9 \pm 5,6$

**Tabela 2. Valores de Potencial Zeta de AuNPs sintetizadas com diferentes concentrações de  $\text{Au}^{3+}$  para a PHA•.**

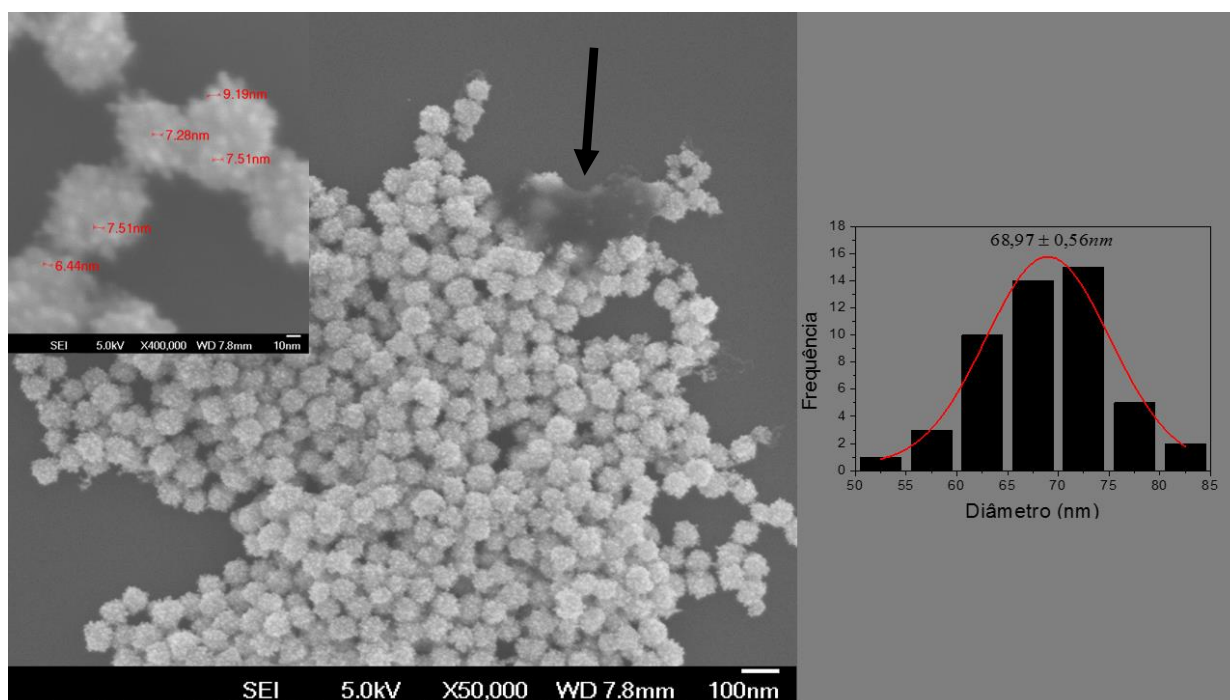
$[\text{Au}^{3+}]$ inicial (mM)	$\zeta$ (mV) + hv
0,1	$-43,4 \pm 2,0$
0,2	$-43,6 \pm 1,6$
0,3	$-42,1 \pm 4,3$
0,4	$-36,0 \pm 5,2$
0,5	$-38,0 \pm 2,2$
0,6	$-35,5 \pm 1,6$
0,7	$-29,6 \pm 1,5$

Os valores de potencial zeta são consistentes com NPs de ouro com diferentes graus de recobrimento pelos derivados de fenotiazinas. Os valores obtidos implicam em uma suspensão coloidal de AuNPs estável, pois sistemas nanoparticulados costumam apresentar boa

estabilidade por cargas a partir de potenciais zeta -30 mV e +30 mV (BUMILLER, 2012; LEGRAND *et al.*, 1999). Um fato relevante a partir da análise do  $\zeta$  é que os valores negativos apenas estão diminuindo, o que corrobora com o aparente recobrimento prioritário dos agregados de AuNPs por espécies neutras.

As AuNPs também foram caracterizadas por imagens obtidas pelo FESEM. As imagens das AuNPs obtidas a partir do sobrenadante PHT<sup>•</sup> e o histograma de distribuição de tamanhos estão representados na Figura 27:

**Figura 27.** Imagem de FEG das AuNPs 0,5 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHT<sup>•</sup>. O inserto é um fragmento da imagem obtida ampliado.

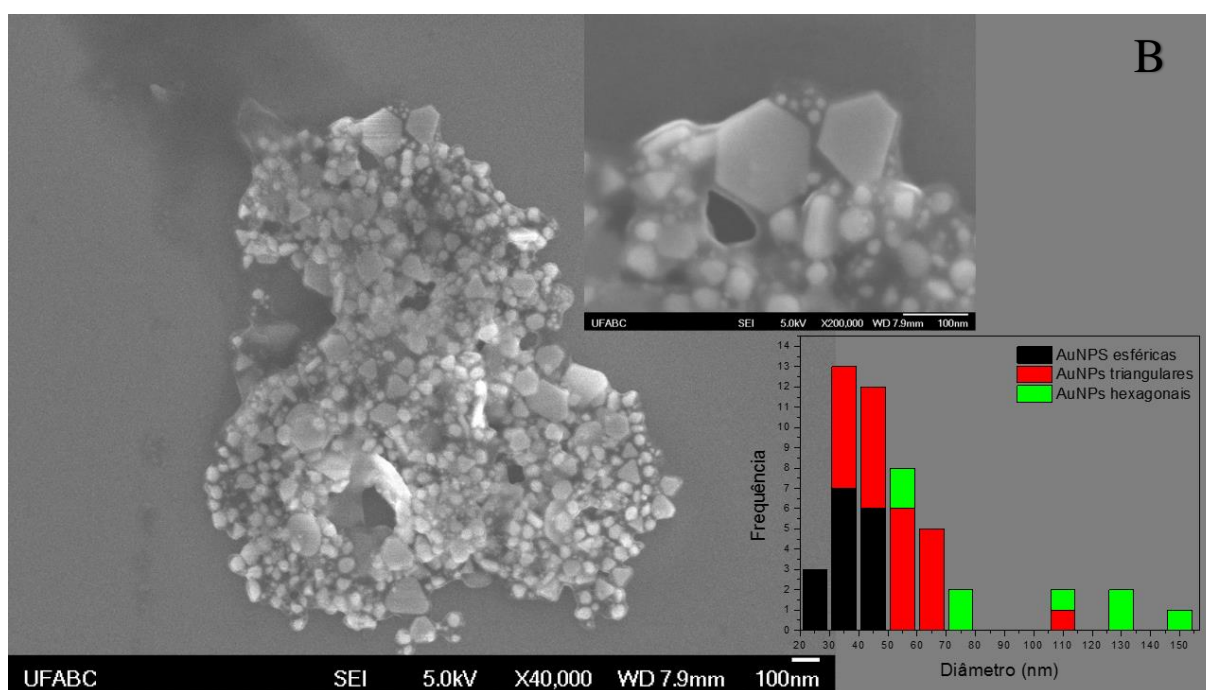


Pela imagem obtida na Fig. 27 observa-se que as AuNPs apresentam formato esférico e possuem baixa polidispersão, fato que pode ser associado à curva obtida e disposta na Fig. 23 A no ensaio para a concentração de 0,5 mM e também ao pH alcalino que favoreceu esta condição de dispersão. As nanopartículas possuem tamanhos entre 6 e 9 nm (conforme inserto com as medidas na Fig. 27), enquanto os agregados possuem diâmetro em torno de  $68,97 \pm 0,56$  nm, de acordo com o histograma. A medida de NTA mostra que os agregados possuem diâmetros de  $76,5 \pm 5,3$  nm e apresenta proximidade ao valor obtido no histograma, uma vez que as faixas de erro para mais no valor médio obtido no histograma e para menos no valor do NTA resultam em diferenças insignificantes entre as medidas. Além disso, pela comparação

dos valores, a imagem reflete significativamente como os agregados são em suspensão, já que o NTA analisa a amostra em suspensão, enquanto que no FESEM as amostras são analisadas depois de secas. Um outro aspecto relativo à imagem é em relação ao formato de ouriço que as AuNPs parecem apresentar, o que poderia gerar discussão e ser antagônico à argumentação apresentada até este momento de que as AuNPs sintetizadas a partir da PHT<sup>•</sup> são esféricas. Porém, se as AuNPs tivessem formato de ouriço, não haveria desagregação quando usado um detergente, como o CTAB, o qual terá seu efeito sobre os agregados de AuNPs discutido no item 5.4.1. Ainda nessa imagem, a seta inserida aponta que abaixo da matriz orgânica de recobrimento, existem AuNPs extremamente pequenas e esféricas.

Para as AuNPs sintetizadas a partir da PHA<sup>•</sup>, formas anisotrópicas foram obtidas, conforme demonstrado na Figura 28:

**Figura 28.** Imagem de FEG das AuNPs 0,6 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHA<sup>•</sup>. O inserto é um fragmento da imagem obtida ampliado.



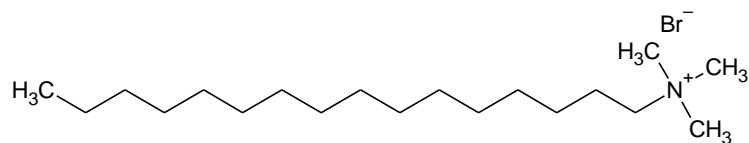
Pela imagem da Fig. 28 e pelo histograma é possível perceber que diferentes formas (esférica, triangular e hexagonal) em diferentes proporções foram encontradas, o que sugere que algumas facetas da estrutura cristalina das AuNPs possuem recobrimento preferencial, direcionando a crescimentos anisotrópicos. Basicamente, o que ocorre é que os átomos de ouro depositam-se sobre determinadas faces do cristal de AuNps e causem a quebra de assimetria dessa estrutura e o início do crescimento na direção em que ocorreu essa deposição inicial. A

partir desse ponto, essa diferença estrutural acarreta em diferenças conformacionais e faces com diferentes energias de superfície, fato que, por sua vez, é responsável pela interação preferencial da PHA<sup>•</sup> com regiões específicas dos núcleos em crescimento (FERREIRA *et al.*, 2017; JUN *et al.*, 2017; RODUNER, 2006; TOFANELLO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2014). Portanto, é razoável supor que a ligação preferencial da matriz orgânica em uma faceta da semente do cristal de Au contribuiu para a formação de nanoestruturas hexagonais, triangulares e esféricas observadas para a síntese realizada (ARAKAKI *et al.*, 2015). Além da análise da estrutural das AuNPs, as Fig. 27 e 28 mostram a existência de uma matriz orgânica recobrindo as AuNPs e ainda, segundo Santos *et al.* (2013), as fenotiazinas oligomerizam e geram nanopartículas de fenotiazinas, as quais formam híbridos com as AuNPs, o que indica que a agregação vista principalmente na Fig. 27, é resultado dessa interação de AuNPs e nanopartículas fenotiazínicas. Portanto, esta mistura de NPs contribui para a assertiva de que as AuNPs são esféricas e que o aparente ouriço é resultado desse híbrido de NPs. Tal fato poderá ser reforçado futuramente após análises de EDX e TEM, cuja finalidade será evidenciar a parte orgânica e como ela está interagindo com as AuNPs.

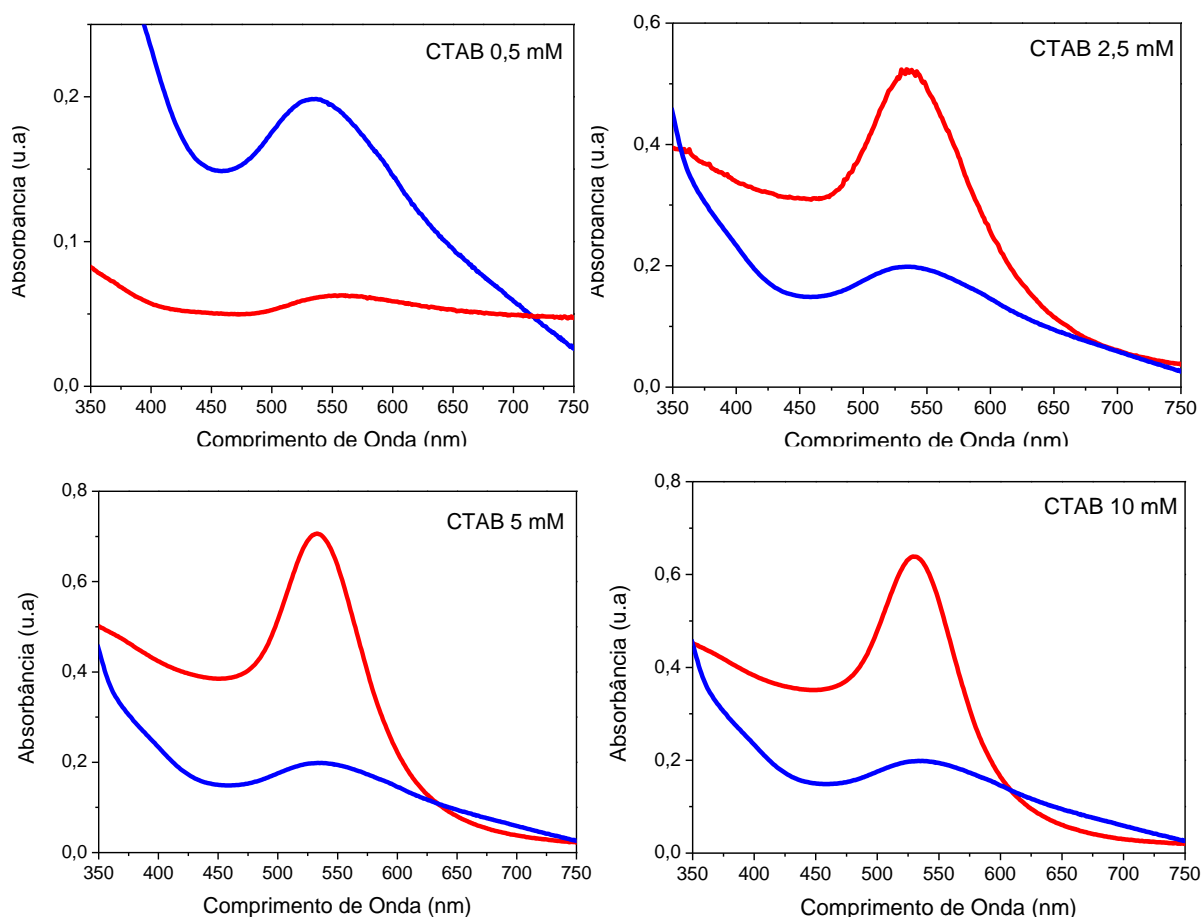
Por fim, em sínteses realizadas por outras metodologias, como pelo método Turkevich (TURKEVICH, 1951), decomposição térmica de compostos organometálicos contendo íons Au<sup>3+</sup> (WOSTEK-WOJCIECHOWSKA *et al.*, 2004) ou por redução com NaHB<sub>4</sub> e estabilização com PEG-Tiol (Polietilenoglicol) (SPADAVECCHIA *et al.*, 2015) e em métodos fotoquímicos como apresentado por Dong *et al* (2004), Gudlur *et al* (2015) e Long *et al* (2009), nos quais as imagens obtidas revelaram AuNPs esféricas com baixa polidispersividade, assim como na imagem das AuNPs mostrada na Fig. 27. Porém, vale ressaltar que essas metodologias de síntese envolvem processos com mais reagentes, uso de aquecimento e geram resíduos. A metodologia apresentada neste trabalho, além de não gerar resíduos, não necessita de aquecimento e nem de agentes dispersantes específicos ou outros reagentes, pois as fenotiazinas fazem duplo papel: reduzir íons Au<sup>3+</sup> e estabilizar os agregados de AuNPs formados.

#### 5.4.1 Modulação dos agregados de AuNPs para possível aplicação

Para modular o tamanho e forma dos agregados supramoleculares de AuNPs produzidas realizaram-se testes com diferentes concentrações do detergente catiônico CTAB, cuja função é diminuir a tensão interfacial das AuNPs e consequentemente a energia livre do sistema, favorecendo a formação de agregados menores e monodispersos (ADAMSON, 1997; SHAW, 2013). A estrutura do CTAB é mostrada na Figura 29:

**Figura 29.** Estrutura do CTAB.

As várias concentrações testadas de CTAB tiveram como objetivo avaliar o mínimo necessário em termos de concentração do detergente para que a desagregação ocorresse. Os espectros mostrados na Figura 30 são atribuídos ao comportamento dos agregados de AuNPs de concentração 0,7 mM obtidas a partir do sobrenadante redutor da PHT<sup>•</sup>, a qual foram adicionados CTAB nas concentrações 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM:

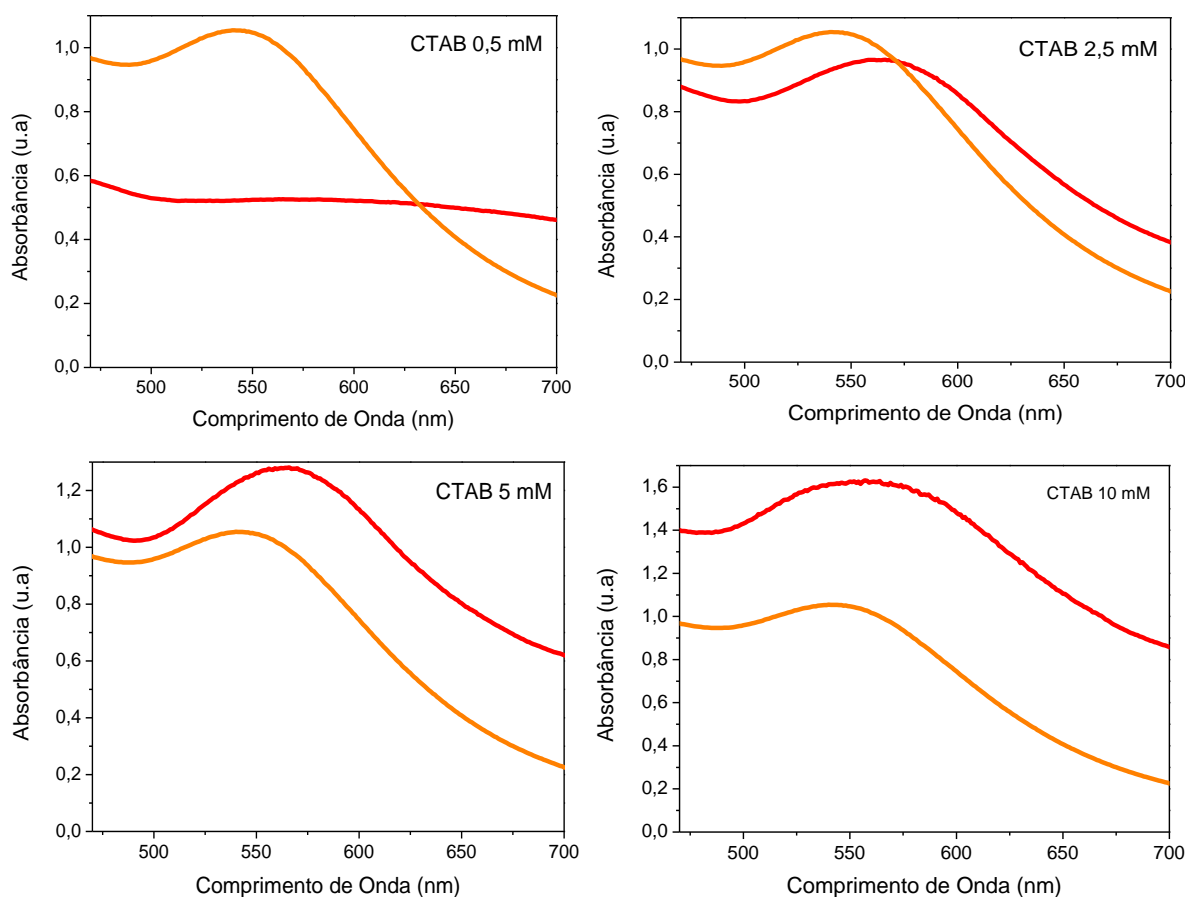
**Figura 30.** Espectros atribuídos a AuNP 0,7 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHT<sup>•</sup> com adição de CTAB 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM, respectivamente. A linha azul é atribuída as AuNPs 0,7 mM e a linha vermelha é atribuída ao comportamento das AuNPs após 6 dias da adição do detergente.

Analisando os espectros obtidos na Figura 30 é possível notar que a partir de 2,5 mM de CTAB o processo de desagregação das AuNPs foi favorecido, visto que as bandas plasmônicas correspondentes à medida com CTAB sofreram estreitamento e deslocamento para menores comprimentos de onda, indicando a formação de agregados menores de AuNPs. A

mudança de coloração foi outro indicativo de que a desagregação ocorreu, pois a suspensão coloidal inicial de AuNPs era azul e adquiriu coloração vermelha, dado consistente com AuNPs de tamanhos menores (AL-QADI e SAADAH, 2015; TOMA *et al.*, 2016). Na concentração de 0,5 mM, valendo-se da baixa absorbância e aspecto da amostra, a baixa concentração de CTAB não promoveu desagregação, mas sim um aumento na massa molar do sistema AuNP + estabilizante, o que resultou em precipitação.

Para as AuNPs de concentração 0,7 mM obtidas a partir do sobrenadante redutor da PHA<sup>•</sup> foi adicionado CTAB nas concentrações 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM e os espectros da Figura 31 são atribuídos ao comportamento da suspensão coloidal mediante o detergente:

**Figura 31.** Espectros atribuídos a AuNP 0,7 mM sintetizadas a partir do sobrenadante redutor PHA<sup>•</sup> com adição de CTAB 0,5 mM, 2,5 mM, 5 mM e 10 mM, respectivamente. A linha laranja é atribuída as AuNPs 0,7 mM e a linha vermelha é atribuída ao comportamento das AuNPs após 6 dias da adição do detergente.

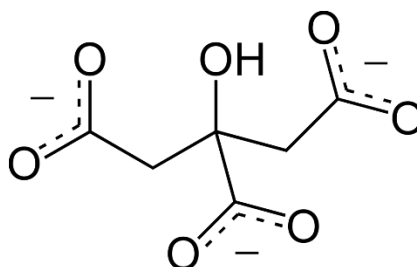


As AuNPs representadas pelo espectro da Figura 31 não apresentaram comportamento semelhante para desagregação nas concentrações de CTAB. A concentração de moléculas de surfactante é um parâmetro que desempenha um papel importante no estado de agregação, uma vez que a forma das micelas formadas pelo surfactante varia com a concentração (SAJANLAL



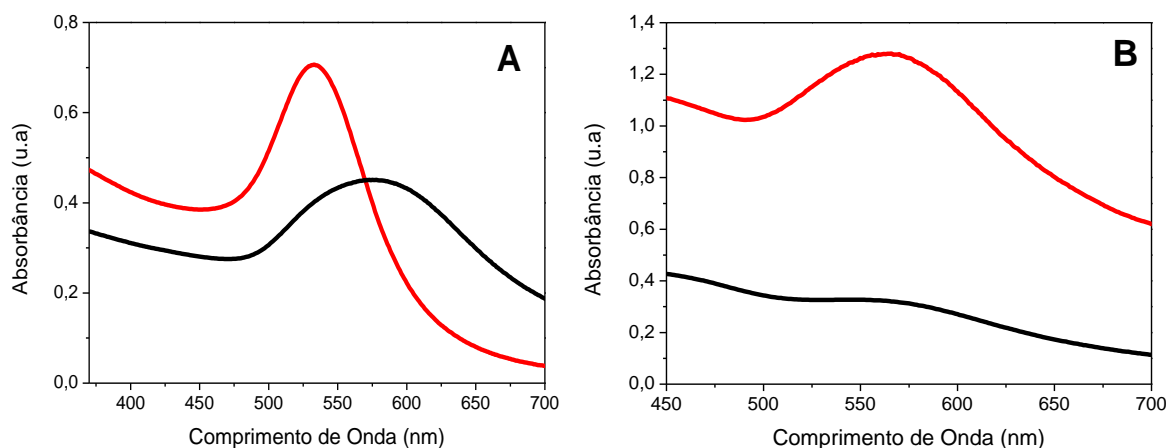
*et al.*, 2011). Uma possível solução na rota de síntese para as AuNPs a partir do sobrenadante redutor PHA• seria adicionar um dispersante como o CTAB para possibilitar uma síntese menos anisotrópica de AuNPs, visto que o sobrenadante de dupla função (redutor e estabilizante) não foi suficiente para diminuir a tensão superficial do sistema e promover uma síntese controlada e monodispersa de nanopartículas de ouro. Uma vez menos agregadas, as AuNPs poderiam ser voltar a formar agregados maiores pelo uso de um agente que reestabelecesse a interação entre as AuNPs. Para isso adicionou-se citrato de sódio 100 mM, o qual em solução libera ânions citrato, cuja estrutura é apresentada na Figura 32:

**Figura 32.** Estrutura do ânion Citrato.



Os espectros apresentados na Figura 33 são atribuídos às AuNPs sintetizadas a partir da forma reduzida PHT• (A) e PHA• (B) após adição de citrato de sódio:

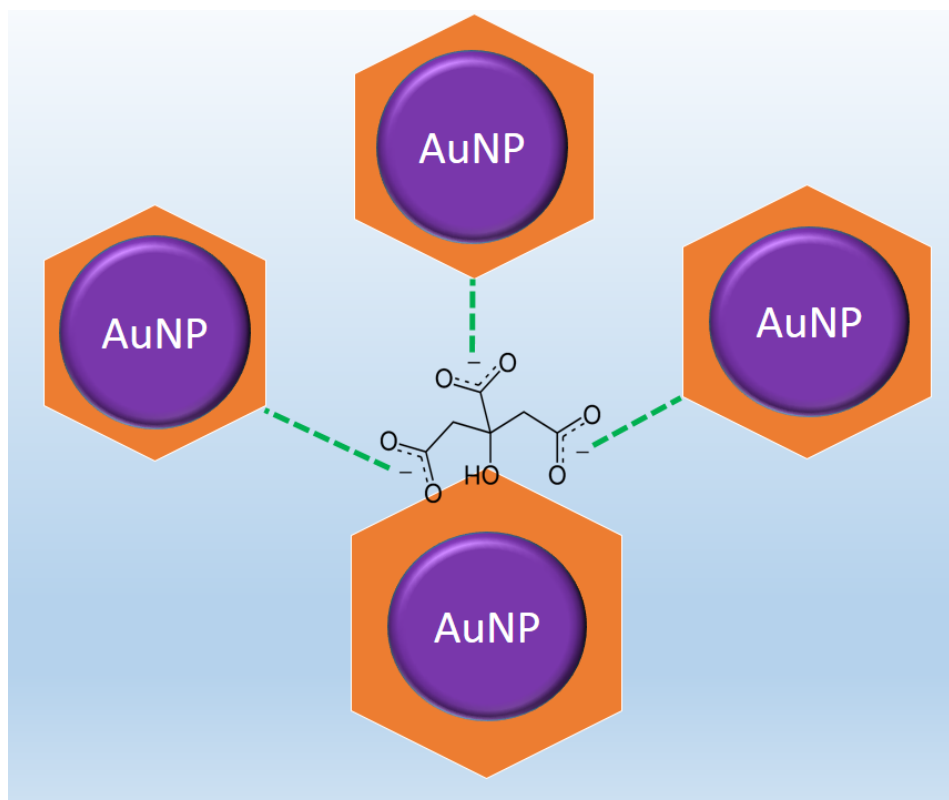
**Figura 33.** Espectros atribuídos às AuNPs sintetizadas a partir da PHT• (A) e para as sintetizadas a partir da PHA• (B) após adição de CTAB 5 mM (linha vermelha) e após a adição de citrato de sódio 100 mM sobre as amostras com o detergente (linha preta).



O gráfico A demonstra que a adição de citrato de sódio 100 mM sobre a amostra de AuNP 0,7 mM com 5 mM de CTAB resultou na interação eletrostática entre os ânions citrato

e o detergente catiônico que está recobrindo os agregados de AuNPs. O citrato presente no recobrimento interage com o recobrimento de CTAB de outros agregados de AuNPs e gera interações que resultam em agregados maiores, conforme simplificado no Esquema 6:

**Esquema 6.** Processo de agregação das AuNPs com citrato de sódio. Os hexágonos laranjas representam o recobrimento das AuNPs (círculo roxo) com CTAB. As linhas verdes representam as interações



Com a agregação promovida pelos íons citrato, a banda plasmônica foi deslocada para maiores comprimentos de onda, indicando maior agregação das AuNPs que pode ser notada a olho nu através da mudança de coloração, saindo do vermelho e retornando a tons azulados. Em termos de energia, a adição de citrato de sódio ocasionou diminuição do potencial da superfície e diminuição da barreira de potencial para a agregação das AuNPs. Quanto maior a barreira de potencial, mais difícil e mais lenta a agregação e com sua diminuição, as AuNPs tendem a agregar-se mais rapidamente (ADAMSON, 1997; MILLER, 1986; SHAW, 1992). Esta diminuição de carga pode ser observada nas medidas do potencial zeta. Para a amostra de AuNP 0,7 mM sintetizada a partir da PHT<sup>•</sup>, o  $\zeta$  antes da adição de CTAB 5 mM era  $-51,9 \pm 5,60$  mV, após adição do detergente catiônico  $26,8 \pm 1,36$  mV e com a adição de citrato de sódio 100 mM diminuiu para  $6,71 \pm 0,08$  mV. Para a amostra de AuNP 0,7 mM sintetizada a

partir da PHA<sup>•</sup>, o espectro indica que a agregação foi mais intensa, ocorrendo inclusive precipitação e o  $\zeta$  antes da adição de CTAB 5 mM era  $-36,7 \pm 2,70$  mV, após adição do detergente catiônico  $26,2 \pm 1,51$  mV e com a adição de citrato de sódio 100 mM diminuiu para  $12,3 \pm 1,03$  mV, mostrando que houve agregação.

## 6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados apresentados demonstraram que a metodologia para sintetizar o agregado do cátion radical a partir de diferentes fenotiazinas em meio aquoso, separá-lo da forma redutora com a resina Chelex® 100 e com este redutor produzir AuNPs sob irradiação UV e de maneira rápida, foram eficientes. As AuNPs sintetizadas a partir da PHT<sup>•</sup> apresentaram monodispersão e formato esférico, enquanto formas anisotrópicas foram encontradas para a síntese a partir da PHA<sup>•</sup>. Testes futuros serão realizados a fim de se obter estruturas isotrópicas para as AuNPs obtidas a partir da PHA<sup>•</sup>, variando concentração de Au<sup>3+</sup>, adição de CTAB em concentrações abaixo de 10 mM, variação de temperatura, pH. Os sobrenadantes serão enviados para análise e determinação da composição química por espectrometria de massa para melhor compreensão da estrutura da espécie redutora e identificação de subprodutos, como por exemplo, sulfóxidos e tiois.

Os testes com CTAB e citrato de sódio mostraram-se consistentes com os espectros apresentados e percebeu-se que é possível modular o estado de agregação de AuNPs, processo que apresenta potencial aplicação em operações Booleanas (Liu *et al.*, 2011). Testes com outros detergentes catiônicos serão avaliados para comparação da eficiência no estado de desagregação e forma das AuNPs.

No que tange ao cátion radical, os resultados experimentais, principalmente o EPR, provaram a formação do agregado do radical catiônico fotoquimicamente e os espectros indicaram a adsorção do radical na resina Chelex® 100 e a interação de caráter eletrostático existente entre o polímero e o radical livre, sugerido através da adição de ácido acético glacial ao meio, o qual promoveu a transferência do radical da resina para o sobrenadante, por apresentar o mesmo tipo de interação química. Também foi visto que o pH e o tipo de solvente (prótico ou aprótico), afetam a estabilidade do agregado de cátion radical e, no caso dos solventes, podendo transformá-lo mais rapidamente em sulfóxido.

Visto que o objetivo geral deste trabalho era sintetizar AuNPs a partir das propriedades fotoquímicas de fenotiazinas, tal pressuposto foi atingido e apresenta vantagens em relação a

processos tradicionais de síntese de nanopartículas de ouro e até esmo sobre métodos fotoquímicos, em termos de custo, quantidades de reagentes utilizados, tempo de reação e geração de resíduos. Mesmo o cátion radical incorporado na resina, que poderia ser um resíduo, já que o que o foco dado era para a síntese de AuNPs com a espécie reduzida não incorporada, ensaios realizados e medidos por cromatografia gasosa com a colaboração do Prof Dr. Dalmo e de seu aluno de doutorado Marcos, apontam que este conjunto (resina + cátion radical) poderia atuar como catalisador na oxidação de etanol a acetaldeído. As medidas realizadas até agora mostraram-se bastante animadoras, porém pela alta volatilidade do aldeído, melhorias serão feitas para evitar perda de massa do produto e obtenção de medidas mais precisas para quantificação e verificação da eficiência do processo na conversão das espécies.

Tomando como base os resultados obtidos pelo grupo de pesquisa coordenado pela Profa Dra. Iseli com a fenotiazina Azul de Metileno, um corante catiônico que quando incorporado na resina Chelex® 100 e irradiado com LED adquire a forma leuco (redutora) e produz  $\text{H}_2\text{O}_2$ , será realizado para a  $\text{PHT}^\bullet$  e para a  $\text{PHA}^\bullet$  teste com amplex red, que terá por objetivo verificar se o sobrenadante redutor da  $\text{PHT}^+$  e  $\text{PHA}^+$  são capazes de produzir  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Amostras do cátion radical incorporado da  $\text{PHT}^+$  e da  $\text{PHA}^+$  foram enviados aos Estados Unidos (junto à amostras da Profa Dra. Fanny Costa (CCNH-UFABC) para caracterização estrutural do radical catiônico e da resina e de possíveis modificações ocasionadas pela incorporação do radical. Para caracterizar os agregados que respondem pela estabilização do cátion radical, medidas de SAXS em colaboração com o prof. Cristiano Oliveira do IFUSP serão realizadas. Medidas de EPR da resina Chelex® 100 incorporada com o cátion radical estão em andamento com a colaboração do Prof Dr. Otaciro da UFSCAR, de modo a provar que houve a incorporação sugerida.

## REFERÊNCIAS

- ADAMSON, A.W.; GAST, A.P. (1997) *Physical Chemistry of Surfaces*, 6th Edition, Wiley, New York. <https://doi.org/10.1126/science.160.3824.179>
- ADURA, C. *et al.* Stable Conjugates of Peptides with Gold Nanorods for Biomedical Applications with Reduced Effects on Cell Viability. **Acs Applied Materials & Interfaces**, [s.l.], v. 5, n. 10, p.4076-4085, 6 maio 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/am3028537>.
- AGOSTINIS, P. *et al.* Photodynamic therapy of cancer: An update. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 61, n. 4, p.250-281, 26 maio 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.20114>.
- ALMEIDA, J. C. B. de *et al.* Síntese e Caracaterização de Nanopartículas de Prata. **Anais do Xxxvii Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados**, [s.l.], p.2040-2048, out. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/enemp2015-tc-699>.
- ARAKAKI, A. *et al.* Biomineralization-inspired synthesis of functional organic/inorganic hybrid materials: organic molecular control of self-organization of hybrids. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s.l.], v. 13, n. 4, p.974-989, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4ob01796j>.
- BANNA, M. S. *et al.* The X-ray photoelectron spectrum of hydrogen peroxide. **Canadian Journal Of Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 23, p.3811-3813, dez. 1976. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/v76-547>.
- BAREA, J. A.; PARDINI, Maria Inês M. C.; GUSHIKEN, Tsieko. Extração de DNA de materiais de arquivo e fontes escassas para utilização em reação de polimerização em cadeia (PCR). **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s.l.], v. 26, n. 4, dez. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842004000400008>.
- BASTOS, M. M. *et al.* The Use of Porphyrins in Photodynamic Therapy of Cutaneous Leishmaniasis. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.257-267, 2012. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120021>.
- BELL, S J *et al.* A multi-technique characterization of electroless gold contacts on single crystal CdZnTe radiation detectors. **Journal Of Physics D: Applied Physics**, [s.l.], v. 46, n. 45, p.1-10, 23 out. 2013. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/46/45/455502>.
- BONIFÁCIO, L. S. **Processos de Agregação e Fusão de Nanopartículas de Ouro: Uma Abordagem Química**. 2006. 1 v. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Química Inorgânica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46134/tde-16092006-145739/pt-br.php>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

BORGES, M. B. D. *et al.* Characterization of hydrophobic interaction and antioxidant properties of the phenothiazine nucleus in mitochondrial and model membranes. **Free Radical Research**, [s.l.], v. 44, n. 9, p.1054-1063, set. 2010. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10715762.2010.498826>.

BUETTNER, G. R. *et al.* The stepwise biphotonic photoionization of chlorpromazine as seen by laser flash photolysis. **Photochemistry And Photobiology**, [s.l.], v. 49, n. 3, p.249-256, mar. 1989. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1989.tb04103.x>.

BURDA, C. *et al.* Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 105, n. 4, p.1025-1102, abr. 2005. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr030063a>.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S., PARKER, K. L. **The pharmacological basis of therapeutics**. 11. ed. Nova Iorque: Goodman & Gilman's, 2005. 1984 p. Disponível em: <[https://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/2.\\_goodman\\_and\\_gilman.pdf](https://dvmbooks.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22365786/2._goodman_and_gilman.pdf)>. Acesso em: 14 ago. 2018.

CARLSON, M. T.; GREEN, A. J.; RICHARDSON, H. H.. Superheating Water by CW Excitation of Gold Nanodots. **Nano Letters**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.1534-1537, 10 fev. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nl2043503>.

CASALETTO, M. P. *et al.* XPS study of supported gold catalysts: the role of Au<sup>0</sup> and Au<sup>+δ</sup> species as active sites. **Surface And Interface Analysis**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.215-218, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/sia.2180>.

CASANOVA, M. C. R. **Síntese, Caracterização e Estudo Da Estabilidade de Nanopartículas Metálicas Estabilizadas Com Polieletrólitos e Tióis Síntese, Caracterização e Estudo Da Estabilidade de Nanopartículas Metálicas Estabilizadas Com Polieletrólitos e Tióis**. 2010. 1 v. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Química Inorgânica, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-23062010-164224/pt-br.php>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy**, [s.l.], v. 1, n. 4, p.279-293, dez. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1572-1000\(05\)00007-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1572-1000(05)00007-4).

CASTNER, D. G.; HINDS, K.; GRAINGER, D. W. X-ray Photoelectron Spectroscopy Sulfur 2p Study of Organic Thiol and Disulfide Binding Interactions with Gold Surfaces. **Langmuir**, [s.l.], v. 12, n. 21, p.5083-5086, jan. 1996. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/la960465w>.

DELGADO, D. *et al.* Influence of the Oxide Content in the Catalytic Power of Raney Nickel in Hydrogen Generation. **Analytical Letters**, [s.l.], v. 50, n. 15, p.2386-2401, 26 jun. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2017.1300806>.

DING, W. *et al.* Water-soluble gold nanoclusters with pH-dependent fluorescence and high colloidal stability over a wide pH range via co-reduction of glutathione and citrate. **Rsc Adv.**, [s.l.], v. 4, n. 43, p.22651-22659, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4ra03363a>.

DONG, S. *et al.* Photochemical synthesis of gold nanoparticles by the sunlight radiation using a seeding approach. **Gold Bulletin**, [s.l.], v. 37, n. 3-4, p.187-195, set. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf03215212>.

ELISEI, F. *et al.* Excited-state properties and in vitro phototoxicity studies of three phenothiazine derivatives. **Journal Of Photochemistry And Photobiology**. Bethesda, p. 11-21. jan. 2002.

EL-SAYED, M. A. Plasmonic photochemistry and photon confinement to the nanoscale. **Journal Of Photochemistry And Photobiology**. EUA, p. 138-142. jun. 2011.

FERREIRA, C. S. *et al.* Uso de nanobastões de ouro para o desenvolvimento de aulas práticas de nanotecnologia. **Química Nova**, [s.l.], 14 fev. 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170021>.

FRANSSON, T. *et al.* X-ray and Electron Spectroscopy of Water. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 116, n. 13, p.7551-7569, 31 maio 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00672>.

GARCÍA, C. *et al.* Substitution and Solvent Effects on the Photophysical Properties of Several Series of 10-Alkylated Phenothiazine Derivatives. **The Journal Of Physical Chemistry A**, [s.l.], v. 109, n. 15, p.3360-3371, abr. 2005. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp044530j>.

GIVALOU, L. *et al.* Electrodeposited cobalt-copper sulfide counter electrodes for highly efficient quantum dot sensitized solar cells. **Electrochimica Acta**, [s.l.], v. 210, p.630-638, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2016.05.191>.

GHOSH, H. N. *et al.* Picosecond Flash Photolysis Studies on Phenothiazine in Organic and Micellar Solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s.l.], v. 101, n. 13, p.2315-2320, mar. 1997. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp963028z>.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.338-349, set. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-790x2004000300011>.

GRISHAEVA, T. N. *et al.* Water structuring inside the cavities of cucurbit[n]urils (n = 5–8): a quantum-chemical forecast. **Journal Of Inclusion Phenomena And Macrocyclic Chemistry**, [s.l.], v. 89, n. 3-4, p.299-313, 13 set. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10847-017-0751-3>.

GUDLUR, S. *et al.* Liposomes as nanoreactors for the photochemical synthesis of gold nanoparticles. **Journal Of Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 456, p.206-209, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2015.06.033>.

GUO, Q.; QIAN, S. Y.; MASON, R. P. Separation and identification of DMPO adducts of oxygen-centered radicals formed from organic hydroperoxides by HPLC-ESR, ESI-MS and MS/MS. **Journal Of The American Society For Mass Spectrometry**, [s.l.], v. 14, n. 8, p.862-871, ago. 2003. Springer Nature. [http://dx.doi.org/10.1016/s1044-0305\(03\)00336-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1044-0305(03)00336-2).

HALL, R.D.; BUETTNER, G. R.; CHIGNELL, C. F. The biphotonic photoionization of chlorpromazine during conventional flash photolysis: spin trapping results with 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide. **Journal Of Photochemistry And Photobiology**. EUA, p. 167-173. jan. 1991.

HUA, M. *et al.* Preparation of a Porous Composite Film for the Fabrication of a Hydrogen Peroxide Sensor. **Sensors**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.5873-5885, 31 maio 2011. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/s110605873>.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL (INPI). (Brasil). Universidade Federal do Abc. Carolina Gregorutti dos Santos; Iseli Lourenço Nantes Cardoso; Tiago Rodrigues. **Stabilization processes of cation radicals of phenothiazinic compounds, cosmeceutical formulations and methods for skin diseases and disturbances prevention**. BR nº PI 0801368-3, 10 jun. 2008, 28 dez. 2010. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. (Brasil). Iseli Lourenço Nantes Cardoso; Erica G A de Miranda. **sistema multifuncional de síntese fotoquímica de peróxido de hidrogênio convencional e deuterado, nanoestruturas metálicas, polimerização do corante**. BR nº 10 2016 008305 2, 14 abr. 2016, 01 mar. 2016. 2016. .

JUN, B. *et al.* Synthesis method of asymmetric gold particles. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, 7 jun. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-02485-7>.

KAMAT, P. V. Photophysical, Photochemical and Photocatalytic Aspects of Metal Nanoparticles. **The Journal Of Physical Chemistry B**, [s.l.], v. 106, n. 32, p.7729-7744, ago. 2002. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp0209289>.

KIM, S. S. *et al.* XPS Study of Sulfur and Phosphorus Compounds with Different Oxidation States. **Sains Malaysiana**, [s.l.], v. 47, n. 8, p.1913-1922, 31 ago. 2018. Penerbit Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM Press). <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2018-4708-33>.

KUZMICKA, L *et al.* Spectroscopic and electrochemical analysis of psychotropic drugs. **Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 71, n. 1, p.8-18, 2009. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4103/0250-474x.51942>.

LAGE, V. D; SCHMAL, M; TONIOLO, F. S. Au/CeO<sub>3</sub>, 8FeO<sub>2</sub>, 2O<sub>2</sub> ATIVO A BAIXAS TEMPERATURAS NA REAÇÃO DE REDUÇÃO DE NO POR CO. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, [s.l.], p.1-4, set. 2018. Editora Blucher. <http://dx.doi.org/10.5151/cobeq2018-co.118>.

LEVY, L. *et al.* Stability of some phenothiazine free radicals. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 15, n. 9, p.898-905, set. 1972. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jm00279a006>.



LICHTMAN, J. W; CONCHELLO, J. A. Fluorescence microscopy. **Nature Methods**, [s.l.], v. 2, n. 12, p.910-919, 18 nov. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth817>.

LIU, D. *et al.* Resettable, Multi-Readout Logic Gates Based on Controllably Reversible Aggregation of Gold Nanoparticles. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 50, n. 18, p.4103-4107, 30 mar. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201008198>.

LONG, N. N *et al.* Synthesis and optical properties of colloidal gold nanoparticles. **Journal Of Physics: Conference Series**, [s.l.], v. 187, p.1-9, 1 set. 2009. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/187/1/012026>.

LUO, H. *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanoparticles for rapid detection of phosmet and thiabendazole residues in apples. **Food Control**, [s.l.], v. 68, p.229-235, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.003>.

MARIN, M. L.; MCGILVRAY, K. L.; SCAIANO, J. C. Photochemical Strategies for the Synthesis of Gold Nanoparticles from Au(III) and Au(I) Using Photoinduced Free Radical Generation. **Journal Of The American Chemical Society**, [s.l.], v. 130, n. 49, p.16572-16584, 10 dez. 2008. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja803490n>.

MILLER, Ca. INTERFACIAL PHENOMENA (Equilibrium and Dynamic Effects). **Journal Of Dispersion Science And Technology**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.127-128, jan. 1986. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01932698608943452>.

MIRANDA, E. G. A.. **Produção fotoquímica de nanopartículas metálicas e peróxido de hidrogênio a partir de corante imobilizado em resina**. 2016. 1 v. Tese (Doutorado) - Curso de Nanociências e Materiais Avançados, Universidade Fedral do Abc, Santo André, 2016.

MOVY, Vickyv *et al.* Introduction to metallic nanoparticles. **Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences**, [s.l.], v. 2, n. 4, p.282-289, 2010. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0975-7406.72127>

MOHAN, H.; MITTAL, J. P. Formation and Reactivity of the Radical Cation of Bromobenzene in Aqueous Solution: A Pulse Radiolysis Study. **The Journal Of Physical Chemistry**, [s.l.], v. 99, n. 17, p.6519-6524, abr. 1995. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/j100017a036>.

MUTHUKRISHNAN, A. *et al.* Fe-containing polyimide-based high-performance ORR catalysts in acidic medium: a kinetic approach to study the durability of catalysts. **Catalysis Science & Technology**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.475-483, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4cy01001a>.

OKAMOTO, T. *et al.* Remarkable Structure Deformation in Phenothiazine Trimer Radical Cation. **Organic Letters**, [s.l.], v. 6, n. 20, p.3493-3496, set. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ol048698z>.

OLSON, Jana *et al.* Optical characterization of single plasmonic nanoparticles. **Chemical Society Reviews**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.40-57, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4cs00131a>.

PAKIARI, A. H.; JAMSHIDI, Z. Nature and Strength of M-S Bonds (M = Au, Ag, and Cu) in Binary Alloy Gold Clusters. **The Journal Of Physical Chemistry A**, [s.l.], v. 114, n. 34, p.9212-9221, 2 set. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp100423b>.

PAN, Y.; BARTNECK, M.; JAHNEN-DECHENT, W. Cytotoxicity of Gold Nanoparticles. **Methods In Enzymology**, [s.l.], p.225-242, 2012. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-391858-1.00012-5>.

PÁRKÁNYI, C *et al.* A quantitative study of the effect of solvent on the electronic absorption and fluorescence spectra of substituted phenothiazines: evaluation of their ground and excited singlet-state dipole moments. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, [s.l.], v. 49, n. 12, p.1715-1725, nov. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0584-8539\(93\)80239-7](http://dx.doi.org/10.1016/0584-8539(93)80239-7).

PARVEEN, Rashida. **Síntese de Nanopartículas de Ouro Com Forma e Tamanho Controlados Utilizando Glicerol Como Um Agente de Redução e Estabilização Ecológico e de Baixo Custo**. 2017. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Química Analítica e Inorgânica, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2017. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-23082017-170833/pt-br.php>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

PIETTE, J. *et al.* Biomolecular photoalterations mediated by phenothiazine derivatives. **Biochimie**, [s.l.], v. 68, n. 6, p.835-842, jun. 1986. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0300-9084\(86\)80098-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0300-9084(86)80098-0).

PUZANOWSKA-TARASIEWICZ, H. *et al.* The Reactions of 2,10-Disubstituted Phenothiazines with Metal Ions. **Cheminform**, [s.l.], v. 35, n. 1, 6 jan. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/chin.200401260>.

RODUNER, Emil. Size matters: why nanomaterials are different. **Chemical Society Reviews**, [s.l.], v. 35, n. 7, p.583-592, 2006. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b502142c>.

RODRIGUES, T. *et al.* Photochemically Generated Stable Cation Radical of Phenothiazine Aggregates in Mildly Acid Buffered Solutions. **The Journal Of Physical Chemistry B**, [s.l.], v. 110, n. 25, p.12257-12265, jun. 2006. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp0605404>.

SACKETT, P. H.; McCREERY, R. L. Effect of structure on phenothiazine cation radical reactions in aqueous buffers. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 22, n. 12, p.1447-1453, dez. 1979. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jm00198a004>.

SAJANLAL, P. R. *et al.* Anisotropic nanomaterials: structure, growth, assembly, and functions. **Nano Reviews**, [s.l.], v. 2, n. 1, jan. 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3402/nano.v2i0.5883>.

SANTOS, C. G. dos. **Caracterização fotoquímica do núcleo fenotiazínico fotoexcitado livre e associado a polietileno glicol**. 2009. 1 v. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, 2009.

SANTOS, C. G. dos *et al.* UV-Light Effects on Cytochrome C Modulated by the Aggregation State of Phenothiazines. **Plos One**, [s.l.], v. 8, n. 10, p.1-10, 9 out. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0076857>.

SARDAR, R. *et al.* Gold Nanoparticles: Past, Present, and Future†. **Langmuir**, [s.l.], v. 25, n. 24, p.13840-13851, 15 dez. 2009. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/la9019475>.

SCAIANO, J. C. *et al.* Photochemical routes to silver and gold nanoparticles. **Pure And Applied Chemistry**, [s.l.], v. 81, n. 4, p.635-647, 1 jan. 2009. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1351/pac-con-08-09-11>.

SHAW, D. J. **Introduction to Colloid and Surface Chemistry**. 4. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2013. 320 p.

STRUIS, Rudolf P. W. J. *et al.* Sulphur poisoning of Ni catalysts in the SNG production from biomass: A TPO/XPS/XAS study. **Applied Catalysis A: General**, [s.l.], v. 362, n. 1-2, p.121-128, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcata.2009.04.030>.

TOFANELLO, A. *et al.* pH-Dependent Synthesis of Anisotropic Gold Nanostructures by Bioinspired Cysteine-Containing Peptides. **Acs Omega**, [s.l.], v. 1, n. 3, p.424-434, 20 set. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.6b00140>.

TOMA, H. E.; BONIFÁCIO, L. S.; ANAISSI, F. J. Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos. **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 5, p.897-900, out. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000500030>.

TURKEVICH, John; STEVENSON, Peter Cooper; HILLIER, James. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions Of The Faraday Society**, [s.l.], v. 11, p.55-75, 1951. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/df9511100055>.

TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V.; SCAIANO, J. C. Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules. **Photochemistry And Photobiology**, [s.l.], v. 88, n. 4, p.1033-1033, jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01178.x>.

TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V.; SCAIANO, J.C. **Principles of Molecular Photochemistry : An Introduction**. Sausalito: University Science Books,u.s., 2009.

USDIN, E. **Phenothiazines and Structurally Related Drugs: 4th: Basic and Clinical Studies**. Holanda: Elsevier Science Ltd, 1980. 398 p. (Developments in neuroscience).

VERICAT, C. et al. Self-assembled monolayers of thiolates on metals: a review article on sulfur-metal chemistry and surface structures. **Rsc Adv.**, [s.l.], v. 4, n. 53, p.27730-27754, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4ra04659e>. Mostra que as interações ouro e enxofre são fáceis

VIOLA, G. *et al.* Photosensitization of DNA Strand Breaks by Three Phenothiazine Derivatives. **Chemical Research In Toxicology**, [s.l.], v. 16, n. 5, p.644-651, maio 2003. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/tx025680t>.

WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, Londres, v. 4, n. 10, p.506-513, abr. 1991.

WANG, A. *et al.* Gold Nanoparticles: Synthesis, Stability Test, and Application for the Rice Growth. **Journal Of Nanomaterials**, [s.l.], v. 2014, p.1-6, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/451232>.

WATANABE, K. *et al.* Photochemistry on Metal Nanoparticles. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 106, n. 10, p.4301-4320, out. 2006. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr050167g>.

WINTER, B. *et al.* Hydrogen bonds in liquid water studied by photoelectron spectroscopy. **The Journal Of Chemical Physics**, [s.l.], v. 126, n. 12, p.1-7, 28 mar. 2007. AIP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1063/1.2710792>.

WOSTEK-WOJCIECHOWSKA, D. *et al.* Synthesis of gold nanoparticles in solid state by thermal decomposition of an organometallic precursor. **Materials Science**, Polônia, v. 22, n. 4, p.408-413, jan. 2004.

XUE, Y. *et al.* Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control. **Nature Communications**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-2, 7 jul. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms5348>.

YEH, Y.; CRERAN, B.; ROTELLO, V. M. Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology. **Nanoscale**, [s.l.], v. 4, n. 6, p.1871-1880, 2012. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c1nr11188d>.

ZENG, Qingcong (ray) et al. Long-chain solid organic polysulfide cathode for high-capacity secondary lithium batteries. **Energy Storage Materials**, [s.l.], v. 12, p.30-36, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ensm.2017.11.007>.

ZHANG, Z. *et al.* Plasmonic Gold Nanocrystals Coupled with Photonic Crystal Seamlessly on TiO<sub>2</sub> Nanotube Photoelectrodes for Efficient Visible Light Photoelectrochemical Water Splitting. **Nano Letters**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.14-20, 5 dez. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nl3029202>.

ZHELEV, Z. *et al.* Phenothiazines suppress proliferation and induce apoptosis in cultured leukemic cells without any influence on the viability of normal lymphocytes. **Cancer Chemotherapy And Pharmacology**, [s.l.], v. 53, n. 3, p.267-275, 1 mar. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-003-0738-1>.

ZHOU, J. *et al.* Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, structure and colloid stability. **Journal Of Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 331, n. 2, p.251-262, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2008.12.002>.