



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FÍSICA MÉDICA



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE UBERLÂNDIA

LUANA TAYNARA PEREIRA BEVILAQUA

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDOS DE MATERIAIS FUNCIONAIS A BASE
DE PROTOPORFIRINA IX SAL DISSÓDICO/ARGILA**

Uberlândia - MG

2018

LUANA TAYNARA PEREIRA BEVILAQUA

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDOS DE MATERIAIS FUNCIONAIS A BASE
DE PROTOPORFIRINA IX SAL DISSÓDICO/ARGILA**

Trabalho de conclusão de curso submetido à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Tozoni

Uberlândia - MG

2018

LUANA TAYNARA PEREIRA BEVILAQUA

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDOS DE MATERIAIS FUNCIONAIS A BASE
DE PROTOPORFIRINA IX SAL DISSÓDICO/ARGILA**

Trabalho de conclusão de curso submetido à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Bacharel em Física Médica.

Aprovado em 20/12/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Roberto Tozoni

Prof. Dra. Ana Paula Perini

Prof. Dra. Liliana Sanz de La Torre

Agradecimento

Primeiramente a Deus e ao meu Anjo da guarda que sempre esteve sempre ao meu lado durante os momentos bons e ruins.

Aos meus pais, Sandra e Wagner, meus irmãos, Lays e Leyo e todos os meus familiares, ao Guilherme meu companheiro, a família Ferreira e amigos que confiaram na minha capacidade e força de vontade.

Ao meu Professor Orientador e todos os professores do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia que me proporcionaram um excelente ensino e um crescimento profissional.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade a qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

Sumário

Lista de Figuras.....	7
Lista de Tabelas.....	8
Lista de Abreviações.....	9
Resumo.....	10
Abstract.....	11
1. Introdução.....	12
2. Objetivos.....	16
3. Materiais e Métodos.....	17
a. Materiais.....	18
b. Métodos.....	19
c. Preparação das amostras.....	20
4. Resultados e Discussões.....	21
5. Conclusão.....	27
6. Referências.....	28

Lista de Figuras

Figura 1 – Formação de células neoplásicas	12
Figura 2 - _Imagens de microscopia eletrônica de varredura e ilustração da estrutura cristalina dos Nanotubos de haloisita utilizados neste trabalho_.....	19
Figura 3 - Protoporfirina-IX sal dissódico.....	20
Figura 4 - Espectros de absorção das soluções de PpIX0/HNTs/H ₂ O utilizadas para a confecção das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 antes da mistura da solução com os HNTs e depois da decantação dos HNTs.....	23
Figura 5 - Espectro de Fotoluminescência de excitação (PLE) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{det}=605$ nm). b) Espectro de Fotoluminescência de excitação (PLE) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{det}=660$ nm). c) Espectro de Fotoluminescência (PL) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{exc}=410$ nm) d) Espectro de Fotoluminescência (PL) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{exc}=556$ nm).....	24
Figura 6 Diagrama de Jabloski.....	25
Figura 7 - Espectros de fotoluminescência em função do tempo de irradiação, (a) PpIXk/HNTs-2, (b) PpIXk/HNTs-3, (c) PpIXk/HNTs-4 e (d) PpIXk/HNTs-5. (e) Intensidade da PL em função do tempo de irradiação das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 (f), intensidade da PL normalizada em função do tempo de irradiação das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5.....	27

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Quantidades utilizadas para a confecção das amostras de PpIXk/HNTs. 21

Lista de Abreviações

Estado singlete fundamental	S₀
Estado excitado singlete	S₁,S₂
Estado excitado tripleto	T₁
Fotoluminescencia de excitação	PLE
Fotoluminescencia	PL
Fotossensibilizador	FS
Nanômetros	nm
Nanotubo de Haloisita	HNTs
Protoporfirina IX sal dissodico	PpIXk
Terapia Fotodinâmica	TFD

Resumo

Neste trabalho de conclusão de curso foram desenvolvidos e estudados novos materiais funcionais híbridos formados por nanocompósitos de Protoporfirina IX sal dissódico e nanotubos de haloisita (PpIXk/HNTs). Nestes materiais as moléculas de PpIXk ficaram adsorvidas às superfícies dos nanotubos de haloisita permanecendo em diferentes níveis de agregação. Os resultados mostraram que o nível de agregação das moléculas de protoporfirina IX sal dissódico (PpIXk) exerce forte influência na eficiência de emissão da fotoluminescência. A análise dos espectros de fotoluminescência por excitação (PLE), fotoluminescência (PL) e das curvas de fotodegradação em função da concentração de PpIXk, mostrou que os espectros de fotoluminescência das amostras de PpIXk/HNTs são compostos pela emissão de monômeros com diferentes quantidades de dímeros ao seu redor. As curvas de fotodegradação mostraram que mesmo adsorvidas à superfície dos nanocompósitos as moléculas de PpIXk ainda apresentam propriedades fotoquímicas.

Palavras-chave: Protoporfirina, argila, materiais híbridos, nanocompósitos, desagregação macromolecular.

Abstract

In this work, new hybrid functional materials formed by nanocomposites of Protoporphyrin IX disodium salt and halosite nanotubes (PpIXk / HNTs) were developed and studied. In these materials the PpIXk molecules were adsorbed to the surfaces of the halosite nanotubes remaining at different levels of aggregation. The results showed that the level of aggregation of protoporphyrin IX disodium salt (PpIXk) molecules exerts a strong influence on the photoluminescence emission efficiency. Analysis of the excitation photoluminescence (PLE) spectra, photoluminescence (PL) and photodegradation curves as a function of the PpIXk concentration, showed that the photoluminescence spectra of the PpIXk / HNTs samples are composed of the emission of monomers with different amounts of dimers around it. The photodegradation curves showed that even adsorbed to the surface of the nanocomposites the PpIXk molecules still have photochemical properties.

Keywords: Protoporphyrin, clay, hybrid materials, nanocomposites, macromolecular disaggregation.

1. Introdução

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento desordenado de algumas células de um dado tecido, formando uma massa celular que se infiltra e comprime regiões circunvizinhas causando dor ao indivíduo, ilustrado pela Figura 1 (FUZIMOTO et al., 2012). A formação do tecido cancerígeno é frequentemente atribuída às alterações cromossômicas ocorridas durante o ciclo de divisão celular. Neste caso, estas mutações geram anomalias metabólicas que podem levar a perda nos mecanismos de controle da divisão celular. Dentre os tratamentos do câncer mais frequentes empregados podemos citar: a intervenção cirúrgica, a quimioterapia e a radioterapia (FUZIMOTO et al., 2012).

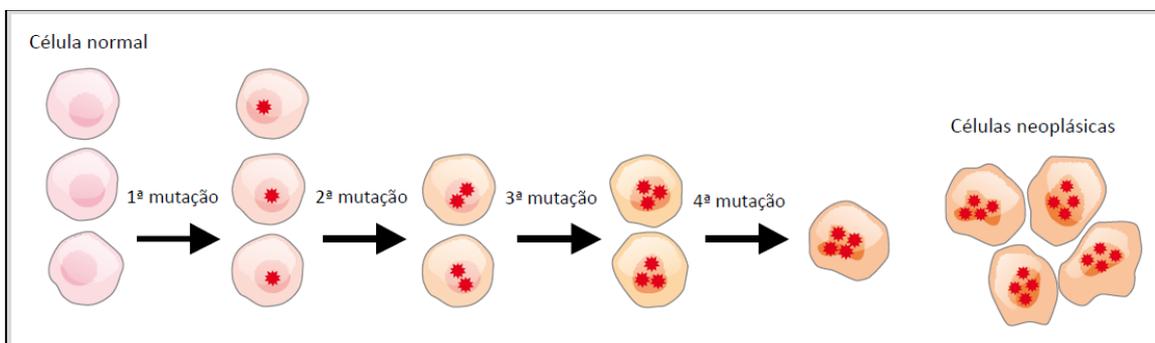


Figura 1- Formação de células neoplásicas.

Devido aos graves efeitos colaterais das terapias tradicionais, são desenvolvidas terapias alternativas como a Terapia Fotodinâmica (TFD) (CAETANO et al., 2005; DOLMANS et al., 2003; BONNETT., 2003). O principal fundamento da terapia fotodinâmica é a geração de espécies reativas de oxigênio por meio da combinação de fotossensibilizadores e de luz, tipicamente na faixa de 600nm a 800nm. Uma das características necessárias neste tratamento é que os fotossensibilizadores apresentem baixa toxicidade no escuro e elevada tendência de acúmulo no tecido doente, evitando que as regiões vizinhas sejam danificadas (CAETANO et al., 2005; DOLMANS et al., 2003).

O fotossensibilizador é introduzido no paciente que possui uma lesão ou um tumor superficial, apresentando acúmulo nas células doentes, que são irradiadas com luz laser. Durante a irradiação, o fotossensibilizador interage com as biomoléculas ou com o oxigênio no interior das células, gerando agentes citotóxicos que sequencialmente causam a morte celular. Desta forma os efeitos colaterais ficam restritos a região irradiada. (CAETANO et al., 2005; DOLMANS et al., 2003).

O processo fotodinâmico de geração de espécies reativas de oxigênio envolve dois mecanismos:

- Tipo I: envolve a participação do FS em reações de transferência de elétrons. A molécula no estado excitado (S1 ou T1) transfere elétrons para um componente do sistema, molécula ou átomo do tecido cancerígeno, formando íons radicais que interagem instantaneamente com o oxigênio molecular, tendo como resultado uma mistura de intermediários de oxigênio altamente reativos (BONNETT., 2001).
- Tipo II: envolve a participação do FS em reações de transferência de energia entre a molécula do fotossensibilizador, que está no estado excitado tripleto (T1) e o oxigênio molecular no estado fundamental tripleto (T0), gerando oxigênio no estado singleto ($^1\text{O}_2$) (BONNETT., 2001).

O $^1\text{O}_2$ é uma espécie capaz de oxidar prontamente os constituintes e organelas celulares, causando a morte das células cancerígenas (BONNETT., 2001). Por ser uma espécie que possui um curto tempo de vida nos sistemas biológicos e um raio de ação pequeno, o dano da TFD fica restrito às células cancerígenas, o que representa um diferencial em relação às outras terapias tradicionais de tratamento do câncer (CAETANO et al., 2005; DOLMANS et al., 2003). Os dois tipos de mecanismos podem ocorrer simultaneamente, sendo que a proporção entre eles é altamente influenciada pelo tipo de FS, pelo solvente, pela concentração de oxigênio e pela ligação do FS com o solvente. Porém, quando comparadas as constantes de velocidade das reações de transferência de elétrons ($\leq 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) e de transferência de energia ($\approx 2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), o mecanismo do tipo II é mais eficiente, comparado ao mecanismo do tipo I (BONNETT., 2001).

A primeira geração de fotossensibilizadores, a Hematoporfirina semi-purificada também conhecida como Photofrin[®], foi desenvolvida em 1960. Esse foi o primeiro fotossensibilizador a obter a aprovação pela FDA (Food and Drug Administrations, Estados Unidos) (BONNETT., 2001). O Photofrin[®] é um medicamento que pode ser amplamente utilizado no tratamento de vários tipos de cânceres ou condições pré-cancerígenas. Entretanto, esse medicamento apresentou algumas desvantagens. Dentre elas, a prolongada fotossensibilidade cutânea, a baixa seletividade pelo tecido tumoral e o fato de que a banda de absorção, onde a droga é foto ativada, não estar na região ideal do espectro de luz (BONNETT., 2001). Com a intenção de diminuir estas

desvantagens, foi desenvolvida a segunda geração de fotossensibilizadores. Novas substâncias foram comparadas com as primeiras, tanto nos intervalos entre administração do fotossensibilizador e a irradiação do tecido neoplásico, quanto no que se refere à dose do fotossensibilizador administrada e ao comprimento de luz requerida para foto ativar a droga e provocar a necrose celular (CAETANO et al., 2005; BONNETT., 1995; BONNETT., 2001; CALVETE et al., 2009; DE ROSA et al., 2002; KUSTER et al., 1912; KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978). Abaixo estão listadas algumas características para que um fotossensibilizador possa ser utilizado em TFD:

1. solubilidade adequada nos fluidos corporais, o que condiciona tanto o seu transporte como o tempo de retenção;
2. elevada seletividade para o tecido neoplásico em relação ao tecido normal;
3. não possuir toxicidade na ausência da luz;
4. absorver luz na região de $\lambda \approx 650$ nm (vermelho), já que a radiação deste comprimento de onda tem alta penetração nos tecidos;
5. elevado rendimento na geração de espécies reativas de oxigênio, e por isso deve possuir um estado excitado tripleto com tempo de vida e energia adequados;
6. não sofrer degradação pela luz, já que tal fato pode afetar negativamente no rendimento quântico da geração de espécies reativas de oxigênio;
7. síntese curta e de elevado rendimento;
8. ser uma substância pura e de composição constante;
9. e essencialmente que provoque necrose dos tecidos neoplásicos.

Alguns fotossensibilizadores da segunda geração são derivados de porfirinas reduzidas como clorina, bacterioclorinas, benzoporfirinas, ftalocianinas e naftalocianinas. Todas estas substâncias apresentam propriedades fotofísicas desejáveis para a TDF, como o caso das clorinas e bacterioclorinas que possuem intensa banda de absorção entre 660-690 nm e 730 nm, respectivamente; as ftalocianinas e naftalocianinas apresentam acentuada banda entre 670 nm e 820 nm, respectivamente as benzoporfirinas que apresentam grande aptidão para se localizarem rapidamente nas células neoplásicas (CAETANO et al., 2005; BONNETT., 1995; BONNETT., 2001; CALVETE et al., 2009; DE ROSA et al., 2002; KUSTER et al., 1912; KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978).

Nas últimas décadas, vários fotossensibilizadores têm sido estudados, em especial a porfirina, que é um composto de grande interesse para a TDF (CAETANO et al., 2005; BONNETT., 1995; BONNETT., 2001; CALVETE et al., 2009; DE ROSA et al., 2002; KUSTER., 1912; KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978). As porfirinas são uma classe de moléculas orgânicas com um arranjo macrocíclico altamente conjugado formado por quatro anéis pirrólicos conectados por pontes de metileno não saturadas (KUSTER., 1912; KADISH et al., 2014).

As porfirinas e seus derivados geralmente apresentam faixa de absorção de luz relativamente grande na região de 400 nm conhecida como banda Soret, e um conjunto de bandas de absorção, com intensidades progressivamente menores em função do deslocamento do espectro para comprimentos de ondas maiores, conhecidos como bandas Q (KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978).

Os processos biológicos, fotofísicos e fotoquímicos que ocorrem nas porfirinas são afetados por vários fatores, dentre estes as interações intermoleculares são citadas como um dos mais importantes (SEO et al., 2016; VERMA et al., 2010; MAÍTI et al., 1998; HOMAYONI et al., 2015; BONNEAU et al., 2004; SCOLARO et al., 2012; KANO et al., 2000; FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991; RIMONA et al., 1983). As moléculas de porfirina dispersas em solução ou em matriz sólida podem interagir entre si no estado fundamental formando monômeros, dímeros, agregados H e J, arranjos moleculares altamente ordenados, dentre outros (SEO et al., 2016; VERMA et al., 2010; MAÍTI et al., 1998; HOMAYONI et al., 2015; BONNEAU et al., 2004; SCOLARO et al., 2012; KANO et al., 2000; FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991; RIMONA et al., 1983).

Existem alguns fatores que podem influenciar na agregação das porfirinas tanto em solução quanto no estado sólido, dentre eles o tipo e a concentração da porfirina, o tipo, e a concentração do solvente e o pH da solução e o tipo de matriz sólida (SEO et al., 2016; VERMA et al., 2010; MAÍTI et al., 1998; HOMAYONI et al., 2015; BONNEAU et al., 2004; SCOLARO et al., 2012; KANO et al., 2000; FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991; RIMONA et al., 1983).

As agregações das moléculas de porfirina, geralmente, ocasionam alterações nas características dos estados eletrônicos da mesma, modificando suas propriedades energéticas e espectrais. A agregação também interfere nos processos de transferência de energia e elétrons, ocasionando na maioria das vezes a diminuição do rendimento quântico e do tempo de vida dos estados excitados singlete e tripleto, o que causam

diminuição na eficiência quântica de emissão de luz e de geração de espécies reativas de oxigênio (SEO et al., 2016; VERMA et al., 2010; MAÍTI et al., 1998; HOMAYONI et al., 2015; BONNEAU et al., 2004; SCOLARO et al., 2012; KANO et al., 2000; FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991; RIMONA et al., 1983). Em adição, algumas porfirinas possuem partes hidrofóbicas (não se mistura com a água) e hidrofílicas (se mistura com a água). Essas características são de grande importância, pois permitem a fabricação de estruturas supramoleculares com arquiteturas altamente ordenadas que são estabilizadas pelo empacotamento dos anéis de porfirina e também pelas interações não covalentes entre os seus substituintes hidrofílicos (SEO et al., 2016; HOMAYONI et al., 2015; SCOLARO et al., 2012; FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991; RIMONA et al., 1983).

Vários trabalhos de pesquisa têm sido realizados para o desenvolvimento de sistemas em que as porfirinas estejam em diferentes estados de agregação e para estudar as causas da formação dos agregados, de seus efeitos na formação de estruturas supramoleculares e sobre as propriedades funcionais das porfirinas nestes sistemas (JEUKENS et al., 1996; BIEMANS et al., 1998; TOZONI et al., 2016; ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006). Alguns destes trabalhos de pesquisa são baseados na formação de sistemas híbridos do tipo hospede/hospedeiro (orgânico/inorgânico ou orgânico/orgânico) envolvendo porfirinas (TOZONI et al., 2016; ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006).

A formação de materiais híbridos orgânico-inorgânico tem despertado muito interesse científico e tecnológico por permitirem a obtenção de novos materiais com desempenho e propriedades melhoradas com grande potencial de aplicabilidade (ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006). Nos sistemas híbridos do tipo inorgânico/orgânico a desagregação das porfirinas é obtida através da adsorção das moléculas orgânicas às superfícies de nanopartículas de argila ou através da intercalação das moléculas orgânicas no espaço interlamelar das argilas (BUJDAK., 2015). O desenvolvimento de materiais híbridos visa agrupar propriedades particulares favoráveis para determinadas aplicações de cada componente, aumentando a eficiência do novo composto (BUJDAK., 2015).

Na síntese de nanocompósitos híbridos orgânico-inorgânicos é buscada distribuição uniforme e boa adesão na interface dos dois componentes. Apesar do método de mistura simples fornecer bons resultados e ser uma forma rápida e econômica de preparar materiais híbridos orgânico-inorgânicos, a tendência é cada vez maior no sentido

de preparar nanocompósitos com composição e microestrutura controladas (ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006; BUJDAK., 2015).

As argilas são excelentes candidatas para a fabricação de nanocompósitos de porfirina/argila, devido às suas propriedades peculiares, dimensões nanoscópicas e composição química (ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006; BUJDAK., 2015; LIU et al., 2014; YUAN et al., 2015; OUYANG et al., 2018).

As argilas são substâncias que possuem elevada abundância natural, grande área superficial, granulometria baixa com partículas menores ou iguais a 2 μ m, o que lhes confere uma alta velocidade de dissolução, favorecendo a homogeneidade, adsorção e estabilidade da mistura; além disso, as argilas possuem baixo custo de extração e processamento, presença de espaços interlamelares expansíveis e possibilidade de ligação de moléculas orgânicas (ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006; BUJDAK., 2015; LIU et al., 2014; YUAN et al., 2015; OUYANG et al., 2018).

Com base nos apontamentos citados, o objetivo do presente trabalho foi o de obter sistemas em que as porfirinas estejam em diferentes níveis de agregação. Nesse sentido, foram estudados e desenvolvidos novos materiais funcionais híbridos formados por nanocompósitos de Protoporfirina IX sal dissódico e nanotubos de haloisita (PpIXk/HNTs).

2. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho de conclusão de curso foi o desenvolvimento de novos materiais funcionais híbridos formados por protoporfirina-IX sal dissódico/argila.

Os objetivos específicos foram: estudar tanto a capacidade dos nanotubos de haloisita de adsorver as moléculas de protoporfirina-IX sal dissódico quanto os efeitos da agregação e da desagregação macromolecular das moléculas de protoporfirina-IX sal dissódico sobre algumas das propriedades fotofísicas e fotoquímicas destes nanocompósitos.

3. Materiais e métodos

a. Materiais

Para a preparação das amostras estudadas neste trabalho foram utilizados os seguintes materiais: acetonitrila, dimetilsulfóxido, Protoporfirina-IX sal dissodico e HNTs (294,19 g/mol) todos da empresa Sigma-Aldrich. Os materiais foram utilizados da maneira como foram recebidos. A figura 2 mostra imagens de microscopia eletrônica de varredura e uma ilustração da estrutura cristalina dos nanotubos de haloisita. A haloisita é uma argila do grupo das caulinitas, trata-se de um argilomineral do grupo dos filossilicatos. Os filossilicatos possuem estrutura de lamelas bidimensionais empilhadas em uma mesma direção, o empilhamento nessas substâncias é decorrente de interações fracas (van der Waals) e devido a isso, entre as lamelas ocorre um intervalo, chamado de “*van der Waals gap*” ou espaço interlamelar (ISHIDA et al., 2011; TAKAGI et al., 2006; BUJDAK., 2015; LIU et al., 2014; YUAN et al., 2015; OUYANG et al., 2018). A haloisita possui a seguinte composição química: $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, sua lamela é formada por uma folha de tetraedros de SiO_4 conectados pelos vértices, ligada a uma folha formada por octaedros de composição $\text{Al}(\text{OH})_6$ ligados entre si pelas arestas, essa disposição causa assimetria interlamelar, pois de um lado estão presentes os grupamentos aluminol (Al-OH) e do outro os Silanóxido (Si-O-Si) o que facilita sua interação com polímeros, pois o grupo aluminol é passível de sofrer funcionalização com moléculas orgânicas adequadas (BUJDAK., 2015; LIU et al., 2014; YUAN et al., 2015; OUYANG et al., 2018).

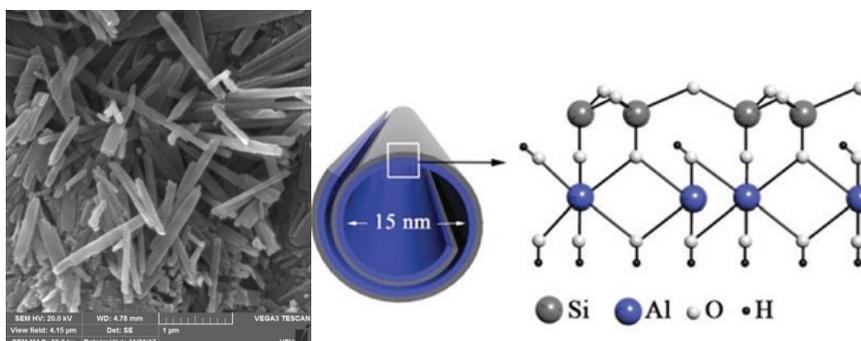


Figura 2- Imagens de microscopia eletrônica de varredura e ilustração da estrutura cristalina dos Nanotubos de haloisita utilizados neste trabalho.

A porfirina escolhida para a realização deste trabalho foi a Protoporfirina IX sal dissódico, a figura 3 mostra a estrutura química da Protoporfirina-IX sal dissódico.

A protoporfirina IX sal dissódico é uma porfirina de metal livre da mesma estrutura da heme. Tem ambas as propriedades de ácido e base devido a dois nitrogênios de pirrole capazes de aceitar prótons e dois resíduos de ácido propiônico.

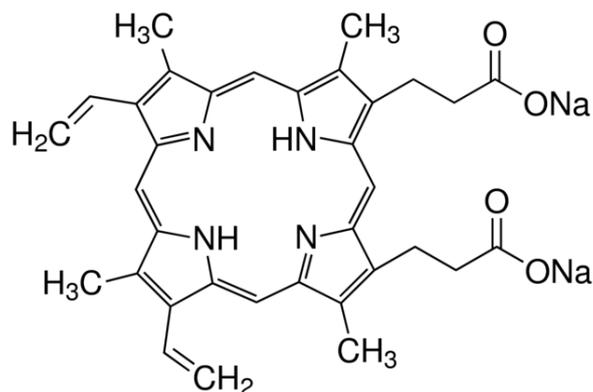


Figura 3- Protoporfirina-IX sal dissódico.

b. Métodos

A caracterização fotofísica das amostras foi obtida utilizando-se as seguintes técnicas ópticas: absorvância UV-Vis e fotoluminescência no estado estacionário. Os espectros de fotoluminescência (PL) e fotoluminescência de excitação (PLE) foram adquiridos em um espectrofluorímetro Hitachi U-2001.

As propriedades fotoquímicas das protoporfirinas foram estudadas utilizando-se a técnica de fotoluminescência no estado estacionário em função do tempo de irradiação em atmosfera ambiente (fotodegradação). Neste caso os espectros de fotoluminescência no estado estacionário foram adquiridos utilizando o espectrofotômetro Ocean Optics USB2000 e uma lâmpada de Xenon (450 W) acoplada a um monocromador IHR320 (Jobin Yvon).

c. Preparação das amostras

Na primeira etapa de confecção das amostras, devido à baixa solubilidade da Protoporfirina-IX sal dissódico em água (DOLMANS et al., 2003; BONNETT., 2003), dissolveu-se 5,0 mg de Protoporfirina-IX sal dissódico em uma solução contendo 6,0 mL de Acetonitrila e 3,0 mL de Dimetilsulfóxido, depois foram acrescentados 41,0 mL de

água ultrapura, a solução final foi denominada de PpIXk0. Depois foi realizada a mistura da solução PpIX0 com as nanopartículas de HNTs e água ultrapura, conforme as quantidades apresentadas na Tabela 1. Para favorecer a homogeneidade da mistura e a adsorção da PpIXk pelos HNTs, as misturas passaram três vezes pelos processos de agitação mecânica (5,0 min) e ultrassonificação (5,0 min) à temperatura de ~50,0°C. Depois deste processo as amostras foram deixadas em uma estufa ao abrigo da luz por um dia para a decantação das nanopartículas. Após o período de decantação, retirou-se o excesso de solução e, em seguida, as misturas foram deixadas à temperatura de 60,0 °C em uma estufa ao abrigo da luz por sete dias para promover a evaporação do solvente. Para a realização dos experimentos envolvendo fotoluminescência no estado estacionário foram prensadas (p = 10 kN) 200 mg de cada amostra de PpIXk/HNTs formando placas de ~10,0 mm de diâmetro por 0,5 mm de espessura.

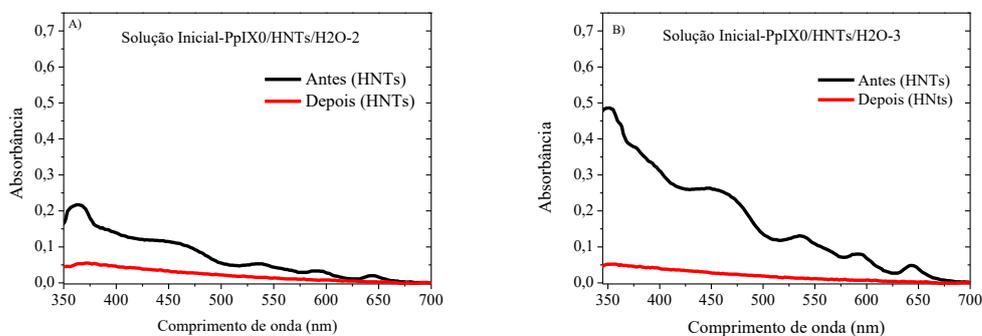
Tabela 1: Quantidades utilizadas para a confecção das amostras de PpIXk/HNTs*.

Amostra	PpIXk0 (ml)	Quantidade de PpIXk na solução (mg)	HNTs (mg)	Água ultrapura (ml)
PpIXk/HNTs-2	1,00	0,10	1.000,00	30,00
PpIXk/HNTs-3	2,00	0,20	1.000,00	30,00
PpIXk/HNTs-4	3,00	0,30	1.000,00	30,00
PpIXk/HNTs-5	6,00	0,60	1.000,00	30,00

*Protoporfirina IX sal dissódico e nanotubos de haloisita

4. Resultados e discussões

Na Figura 4 são apresentados os espectros de absorção das soluções PpIX0/HNTs/H₂O-2,3,4 e 5 utilizadas para a confecção das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 antes da mistura da solução com os HNTs e depois da decantação dos HNTs. Considerando-se que a absorção é proporcional ao número de centros adsorvedores, em outras palavras, à quantidade de PpIXk contida na solução, por meio da diminuição da absorvância é possível inferir que nas concentrações e condições experimentais utilizadas, os HNTs foram capazes de adsorver as moléculas de PpIXk. Quando comparadas as intensidades dos espectros de absorvância das Figuras 4A, 4B, 4C e 4D antes e depois da inclusão da argila na solução, constata-se que praticamente todas as moléculas de PpIXk foram adsorvidas pelos HNTs. Foi também identificado nos espectros de absorvância das soluções antes da adição da argila que a banda de Soret apresenta dois máximos - um em torno de ≈ 466 nm relacionado aos monômeros e outro em torno de 375 nm relacionado aos dímeros e agregados. A forma de linha do espectro de absorvância de moléculas de protoporfirinas-IX identificada já foi observada anteriormente e foi atribuída a agregação das moléculas de PpIX causada pela acidez do meio (FUHRHOP et al., 1992; INAMURA et al., 1991).



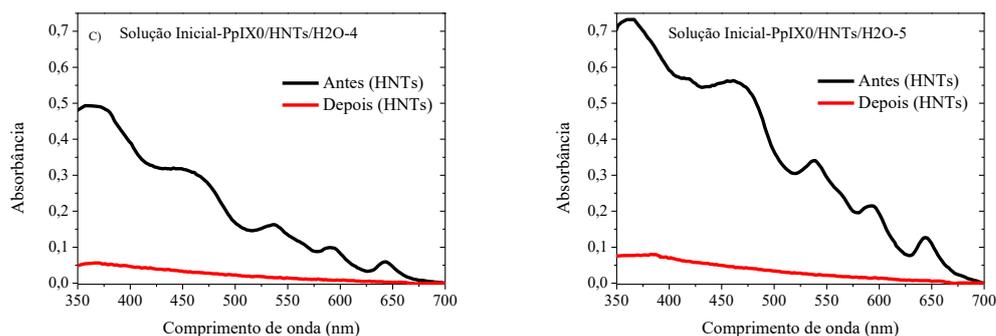
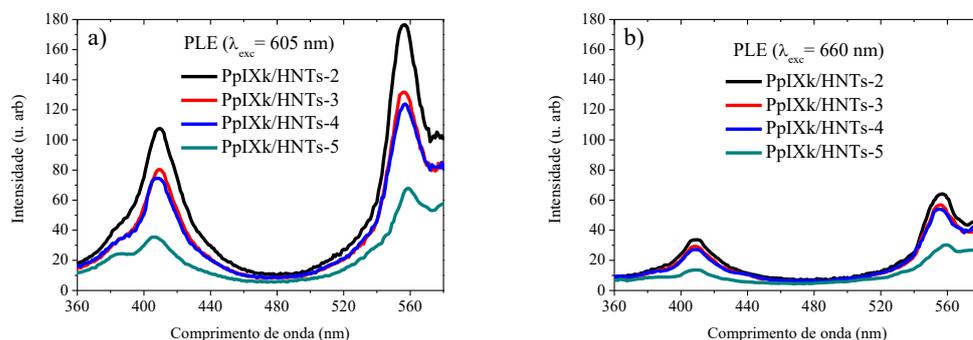


Figura 4- Espectros de absorção das soluções de PpIX0/HNTs/H₂O utilizadas para a confecção das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 antes da mistura da solução com os HNTs e depois da decantação dos HNTs.

Nas Figuras 5A, 5B, 5C e 5D são apresentados os espectros de fotoluminescência de excitação (PLE) (A e B) e de fotoluminescência (PL) (C e D) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5. Por meio da observação dos espectros de PL característicos das PpIX, mesmo depois de serem adsorvidas pela superfície dos HNTs, as moléculas de PpIXk ainda apresentam propriedades fotofísicas. Nota-se também que a intensidade dos espectros de PL varia inversamente em função da concentração, ou seja, quanto maior a concentração menor é a intensidade dos espectros de PL. Tal fato já era esperado, visto que a formação de agregados, dependente da concentração, diminui a eficiência quântica de emissão das porfirinas (KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978). O acréscimo da concentração também causa um deslocamento para o vermelho do máximo em torno de ≈ 605 nm, Figura 5 (C e D).



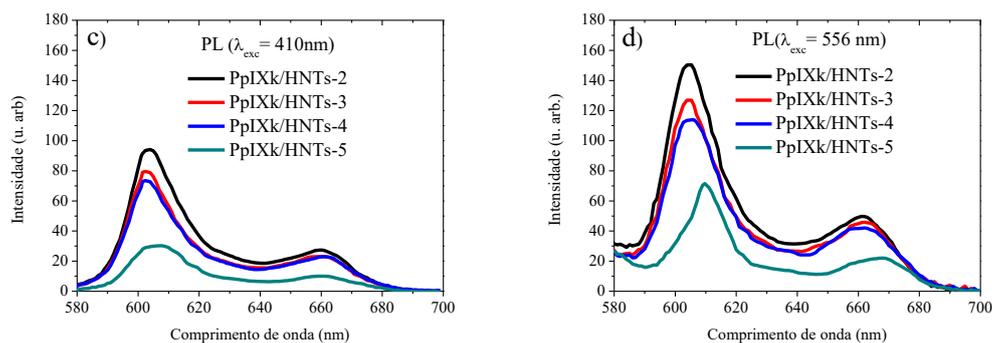


Figura 5- a) Espectro de Fotoluminescência de excitação (PLE) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{det}=605$ nm). b) Espectro de Fotoluminescência de excitação (PLE) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{det}=660$ nm). c) Espectro de Fotoluminescência (PL) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{exc}=410$ nm) d) Espectro de Fotoluminescência (PL) das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 ($\lambda_{exc}=556$ nm).

Na análise dos espectros de PLE foram levados em consideração os seguintes aspectos: a emissão da PpIXk é devida apenas aos monômeros (RIMONA et al., 1983); após a excitação entre o estado fundamental e o primeiro estado eletrônico excitado (banda Soret ≈ 400 nm estado excitado singleto S₂) as moléculas de PpIXk excitadas relaxam por meio de processos vibracionais e conversão interna para estados eletrônicos excitados dentro da banda Q (região de 500-675 nm estado excitado singleto S₁), depois ocorre a emissão de fluorescência (KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978). O diagrama de Jablonsky da figura 6 exemplifica este comportamento.

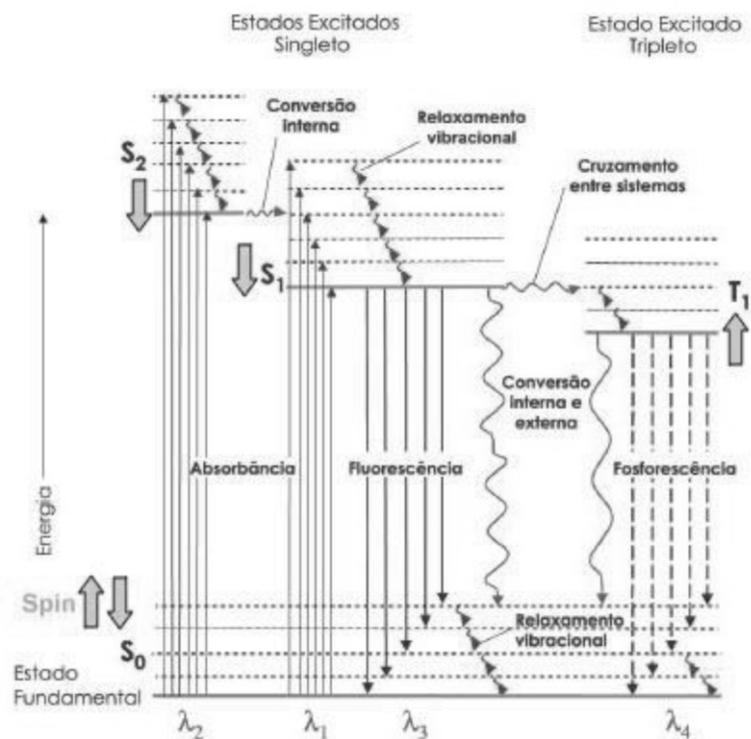


Figura 6- Diagrama de Jablonski (KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978).

Todos os espectros de PLE apresentam este comportamento, isto é, máximos de menor intensidade na região da banda de Soret (≈ 410 e 385 nm), juntamente com um máximo de maior intensidade (≈ 562 nm) ligado à emissão devido às transições eletrônicas dentro da banda Q. Na literatura o primeiro máximo, em torno de 385 nm, foi atribuído aos dímeros e o segundo máximo, em torno de 410 nm, foi atribuído aos monômeros (JEUKENS et al., 1996). Devido a maior concentração, a observação destes dois máximos é mais evidente na amostra PpIXk/HNTs-5. Como a emissão das moléculas de PpIXk é devida apenas aos monômeros, a observação de um máximo relacionado aos dímeros (~ 385 nm) no espectro de PLE revela que existem canais eficientes de transferência de energia entre os dímeros e os monômeros. Constata-se novamente que nos espectros de PLE a intensidade dos espectros varia em função da concentração. Quanto maior a concentração menor é a intensidade dos espectros de PLE, este fato também já era esperado, uma vez que a formação de agregados diminui a eficiência quântica de emissão das PpIXk.

Devido ao aumento dos decaimentos não radiativos por conversão interna, a formação de agregados leva a redução do tempo de vida do FS no estado triplete, diminuindo assim a transferência de elétrons ou de energia do FS de estado triplete

excitado para o oxigênio no estado fundamental, diminuindo assim a eficiência do FS de gerar espécies reativas de oxigênio. Estas espécies reativas do oxigênio podem interagir com o próprio fotossensibilizador levando a fotodegradação do mesmo (KADISH et al., 2014; KALYANASUNDARAM., 1978).

Com a finalidade de analisar o efeito da agregação sobre a geração de espécies reativas do oxigênio do sistema PpIXk/HNTs, foram realizadas medidas de fotodegradação, ou seja, fotoluminescência no estado estacionário em função do tempo de irradiação em temperatura ambiente. Para a aquisição dos espectros de fotoluminescência no estado estacionário foram utilizados um espectrofotômetro da Ocean Optics USB2000 e uma lâmpada de Xenon (450 W) acoplada a um monocromador IHR320 (Jobin Yvon). O comprimento de onda de excitação utilizado foi de 415 nm. O tempo total de irradiação foi de 90 min e os espectros foram adquiridos em intervalo de tempo de 1 min. Na Figura 7 são exibidos os espectros de fotoluminescência das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 adquiridas durante o processo de irradiação. Pode-se notar que quanto menor a concentração de PpIXk maior é a intensidade da fotoluminescência do sistema PpIXk/HNTs.

Os efeitos da fotodegradação podem ser observados nas figuras 7 – (a), (b), (c) e (d) através da redução da intensidade dos espectros e do deslocamento para o vermelho. A figura 7 - (e) mostra as curvas de integral da PL em função do tempo de irradiação, juntamente com o ajuste do tipo mono exponencial. Como a fotodegradação depende da taxa de criação de espécies reativas de oxigênio, a análise das curvas de fotodegradação e dos espectros de PL em função da concentração de PpIXk, mostrou que mesmo adsorvidas à superfície dos nanocompósitos as moléculas de PpIXk ainda apresentam propriedades fotoquímicas. Observa-se também que os primeiros a sofrer os efeitos da fotodegradação são os monômeros mais isolados, isto é, que possuem menos dímeros ao seu redor. Comparando-se as curvas de fotodegradação normalizadas nota-se que todas as amostras apresentaram tempos de decaimento muito próximos, isto é, nas condições experimentais utilizadas os efeitos da concentração sobre a fotodegradação são menores.

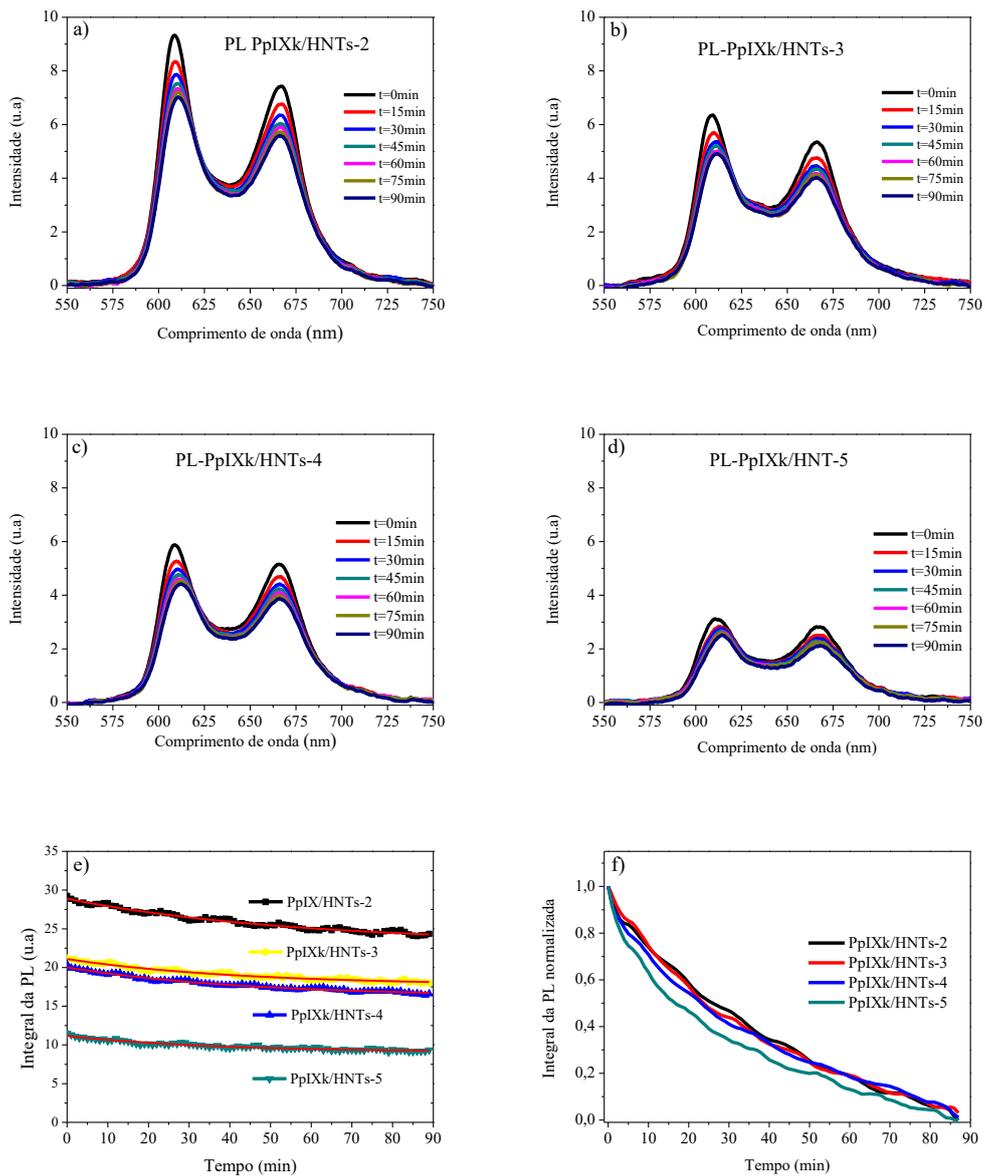


Figura 7- Espectros de fotoluminescência em função do tempo de irradiação, (a) PpIXk/HNTs-2, (b) PpIXk/HNTs-3, (c) PpIXk/HNTs-4 e (d) PpIXk/HNTs-5. (e) Intensidade da PL em função do tempo de irradiação das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5 (f), intensidade da PL normalizada em função do tempo de irradiação das amostras PpIXk/HNTs-2,3,4 e 5.

5. Conclusões

Neste trabalho de conclusão de curso foram desenvolvidos e estudados novos materiais funcionais híbridos formados por nanocompósitos de Protoporfirina IX sal dissódico e nanotubos de haloisita (PpIXk/HNTs). Nestes materiais as moléculas de PpIXk ficaram adsorvidas às superfícies dos nanotubos de haloisita permanecendo em diferentes níveis de agregação. Os resultados mostraram a grande capacidade dos nanotubos de haloisita de adsorver as moléculas de protoporfirina-IX sal dissódico e que o nível de agregação das moléculas de PpIXk exerce forte influência na eficiência de emissão da fotoluminescência das mesmas. A análise dos espectros de PLE, PL e das curvas de fotodegradação em função da concentração de PpIXk, mostrou que os espectros de fotoluminescência das amostras de PpIXk/HNTs são compostos pela emissão de monômeros com diferentes quantidades de dímeros ao seu redor. As curvas de fotodegradação mostraram também que mesmo adsorvidas à superfície dos nanocompósitos as moléculas de PpIXk ainda apresentam propriedades fotoquímicas.

11. Referências bibliográficas

- [1] Fuzimoto F.; Oliveira M. H. R.; Machado R.; - ABC do Câncer – Abordagens básicas para o controle do Câncer. 2º edição. Rio de Janeiro – RJ. 2012
- [2] Castano A.; Demidova T.; Hamblin M.; - Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization; March 2005
- [3] Dolmans, D.E.J.G.J.; Fukumura, D. and Jain, R. k. Photodynamic therapy for cancer. *Nature cancer* 2003, 3(5), 380-387.
- [4] Bonnett, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.*1995, 24, 19-33.
- [5] Bonnett, R. and Martínez, Photobleaching os sensitisers used in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 2001, 57, 9513-9547.
- [6] Calvete, Mario J. F.; Gomes, Ana T. P. C.; Moura, Nuno M. M. Clorinas em Terapia Fotodinâmica – Síntese e aplicações. *Revista Virtual de Química*. 2009
- [7] Maria C. De Rosa, Robert J. Crutchley. Photosensitized singlet oxygen and its applications. Ottawa – Carleton Chemistry Institute. 2002
- [8] Küster, W. Beiträge zur Kenntnis des Billirubins und Hämins. *Hoppe-Seyler's. Z. Physiol. Chem.*, 1912, 463-483.
- [9] Kadish, K. M.; Smith, K. M. and Guillard R. *Handbook of Porphyrin Science: With Applications to Chemistry, Physics, Materials Science, Engineering, Biology and Medicine*, World Scientific, 2014.
- [10] (a) Kalyanasundaram, K. *Photochemistry of Polypyridine and Porphyrin Complexes*, New York: Academic Press, 1992. (b) White, W. I. "The Porphyrins", D. Dolphin (ED.), Academic Press, New York, Vol.5, Chapter 7, 1978.
- [11] Seo, J.; Jang, J.; Warnke, S.; Gewinner, S.; Schöllkopf, W. and von Helden, G. Stacking Geometries of Early Protoporphyrin IX Aggregates Revealed by Gas-Phase Infrared Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, 138 (50), 16315–16321.
- [12] Verma, S.; Ghosh, A.; Das, A. and Ghosh, N. Ultrafast Exciton Dynamics of J- and H-Aggregates of the Porphyrin-Catechol in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B*, 2010, 114, 8327-8334.

- [13] Maíti, N. C.; Mazumdar, S., and Periasamy, N. J-and H-Aggregates of Porphyrin-Surfactant Complexes: Time-Resolved Fluorescence and other Spectroscopic Studies. *Journal Physical Chemical. B*, 1998, 102, 1528-1538.
- [14] Homayoni, H.; Jiang, K.; Zou, X.; Hossu, M.; Rashidi, L. H. and Chen, W. Enhancement of protoporphyrin IX performance in aqueous solutions for photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2015, 12, 258-266.
- [15] Bonneau, S.; Maman, N.: and Brault, D. Dynamics of pH-dependent self-association and membrane binding of a dicarboxylic porphyrin: a study with small unilamellar vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2004, 1661, 87-96.
- [16] Scolaro, L. M.; Castriciano, M.; Romeo, A.; Patané, S.; Cefali, E. and Allegrini, M. Aggregation Behavior of Protoporphyrin IX in aqueous Solutions: Clear Evidence of Vesicle Formation. *J. Phys. Chem. B*, 2012, 106, 2453-2459.
- [17] Kano, K.; Fukuda, K.; Wakami, H.; Nishiyabu, R. and Pasternack, R. F. Factors Influencing Self-Aggregation Tendencies of Cationic Porphyrins in Aqueous Solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122, 7494-7502.
- [18] Fuhrhop. J. H.; Demoulin, C.; Boettcher, C.; Köning, J. and Siggel, U. Chiral Micellar Porphyrin Fibers with 2-aminoglycosamide Head Groups. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 4159-4165.
- [19] Inamura, I.; Uchida, K. Association Behavior of Protoporphyrin IX in Water and Aqueous Poly(N-vinylpyrrolidone) Solutions. Interaction between Protoporphyrin IX and Poly(N-vinylpyrrolidone) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1991, 64, 2005-2007.
- [20] Rimona, M.; Nurith, S. and Semadar, C. Fluorimetric studies on the dimerization equilibrium of protoporphyrin IX and its haemato derivative. *Biochem. J.*, 1983, 209, 547-552.
- [21] (i) Jeukens, C. R. L. P. N.; Lensen, M. C. ; Wijnen, F. J. P.; Elemans, J. A. A. W.; Christianen, P. C. M.; Rowan, A. E.; Gerritsen, J. W.; Nolte, R. J. M. and Maan, J. C. Polarized Absorption and Emission of Ordered Self-Assembled Porphyrin Rings. *Nano Lett.*, 2004, Vol. 4, No. 8. (ii) Schenning, A. P. H. J. ; Benneker, F. B. G. ; Geurts, H. P. M. ; Liu, X. Y. and Nolte, R. J. M. Porphyrin Wheels. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 8549.

- [22] Biemans, H. A. M.; Rowan, A. E.; Verhoeven, A.; Vanoppen, P.; Latterini, L.; Foekema, J.; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W.; De Schryver, F. C. and Nolte R. J. M. HexakisPorphyrinato Benzenes. A New Class of Porphyrin Arrays. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 11054.
- [23] Tozoni, J. R.; Neto, N. M. B.; Ribeiro, C. A.; Pazin, W. M.; Ito, A. S.; Borissevitch, I. E. and Marletta, A. Relationship between porphyrin aggregation and formation of porphyrin ring structures in poly(n-alkyl methacrylate)/porphyrin blends. *Polymer*, 2016, 102, 136-142.
- [24] a) Ishida, Y.; Shimada, T.; Masui, D.; Tachibana, H.; Inoue, H. and Takagi, S. Efficient Excited Energy Transfer Reaction in Clay Porphyrin Complex toward an Artificial Light-Harvesting System. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 14280-14286. b) Takagi, S.; Arakate, Y.; Konno, S.; Masui, D.; Shimada, T.; Tachibana, H. and Inoue, H. Effects of porphyrin structure on the complex formation behavior with clay. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2011, 141, 38–42.
- [25] Takagi, S.; Eguchi, M.; Tryk, D. A. and Inoue, H. Porphyrin photochemistry in inorganic/organic hybrid materials: Clays, layered semiconductors, nanotubes, and mesoporous materials. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry reviews*, 2006, 7, 104-126.
- [26] Bujdák, J. Hybrid systems based on organic dyes and clay minerals: Fundamentals and potential applications. *Clay Minerals*, 2015, 50, 549-571.
- [27] Liu, M.; Jia, Z.; Jia, D. and Zhou, C. Recent advance in research on halloysite nanotubes-polymer nanocomposite. *Progress in Polymer Science*, 2014, 39, 1498-1525.
- [28] Yuan, P.; Tan, D. and Annabi-Bergaya, F. Properties and applications of halloysite nanotubes: recent research advances and future prospects. *Applied Clay Science*, 2015, 112-113, 75-93.
- [29] Ouyang, J.; Mu, D.; Zhang, Y. and Yang, H. Mineralogy and Physico-Chemical Data of Two Newly Discovered Halloysite in China and Their Contrasts with some typical Minerals. *Minerals*, 2018, 8, 108.