

Capítulo 1: Introdução

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE FÍSICA**

GABRIEL ALVES RIBEIRO

**Estudos das propriedades fotofísicas de nanocompósitos de Porfirina/argila**

**Uberlândia**

**2023**

GABRIEL ALVES RIBEIRO

**Estudos das propriedades fotofísicas de nanocompósitos de Porfirina/argila**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Tozoni

Uberlândia

2023

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Roberto Antônio Ribeiro e Edneise Alves da Silva, por todo apoio e motivação.

À Professora Ana Paula Perini, por todo o amparo fornecido durante diversas etapas da minha graduação.

Ao meu orientador, Professor José Roberto Tozoni, pela confiança e persistência.

Aos meus amigos, por estarem sempre ao meu lado.

## RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos materiais funcionais híbridos fotoluminescentes formados por nanocompósitos constituídos por Protoporfirina IX Sal Dissódico e Haloisita. Nos quais as porfirinas, devido à interação entre os materiais, exibem diferentes estados de agregação. A caracterização fotofísicas das amostras foi obtida utilizando-se as seguintes técnicas ópticas: absorvância UV-Vis e fotoluminescência no estado estacionário. Para determinar os tipos de agregado e a influência da agregação ou da desagregação macromolecular sobre as propriedades estruturais e fotofísicas destes materiais funcionais, foram realizados estudos sistemáticos em função do pH das soluções precursoras, sendo analisadas amostras com pH2 e pH7. A análise dos espectros de absorvância das soluções de protoporfirina, antes e depois da inclusão das nanopartículas de haloisita, mostrou a grande capacidade da haloisita de adsorver as moléculas de protoporfirina. A partir dos gráficos de absorção, fotoluminescência e fotoluminescência de excitação, foi possível analisar que o pH da amostra influencia na agregação e desagregação das moléculas de protoporfirina IX Sal Dissódico. Além disso, foi avaliado a possível utilização destes materiais em Terapia Fotodinâmica de Câncer.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos. Protoporfirina. pH.

## ABSTRACT

In this work, photoluminescent hybrid functional materials formed by nanocomposites were developed, using the porphyrin Protoporphyrin IX Disodium Salt and Halloysite. Such porphyrins, due to the interaction between materials, exhibit different states of aggregation. The photophysical characterization of the samples was acquired using the following optical techniques: UV-Vis absorbance and steady-state photoluminescence. To determine the aggregate types and the influence of macromolecular aggregation or disaggregation on the structural and photophysical properties of these functional materials and systematic studies were performed depending on the pH of the precursor solutions, and samples with pH2 and pH7 were analyzed. The analysis of the absorbance spectra of protoporphyrin solutions, before and after the inclusion of halloysite nanoparticles, showed the favorable capacity of halloysite to adsorb protoporphyrin molecules. From the absorption, photoluminescence, and excitation photoluminescence graphs, it was possible to analyze that the pH of the sample influences the aggregation and disaggregation of protoporphyrin IX Disodium Salt molecules. Furthermore, the likelihood of these materials in Photodynamic Cancer Therapy was verified.

**Keywords:** Nanocomposites. Protoporphyrin. pH.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Diagrama de Jablonski.....	12
Figura 2 -	Espectro de absorção da PpIXK em solução com pH2 e pH7 antes da adição de haloisita.....	16
Figura 3 -	Amostras de PpIXK com pH2 e pH7 após processo de agitação mecânica e ultrassonificação. ....	17
Figura 4 -	Espectro de absorção da PpIXK para a solução com pH2 antes e depois da adição de haloisita.....	18
Figura 5 -	Espectro de absorção da PpIXK para a solução com pH7 antes e depois da adição de haloisita.....	18
Figura 6 -	Espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7.....	19
Figura 7 -	Espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7.....	20
Figura 8 -	Espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7.....	21
Figura 9 -	Espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7.....	22

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

FTD	Fototerapia Dinâmica
PL	Fotoluminescência
PLE	Fotoluminescência
PpIXK	Protoporfirina IX sal dissódico
PS	Fotosensibilizador

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2 OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 FOTOLUMINESCÊNCIA .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 FOTOLUMINESCÊNCIA DE EXCITAÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 AGREGAÇÃO DA PORFIRINA .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4 DESAGREGAÇÃO DA PORFIRINA.....</b>	<b>13</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 AMOSTRAS.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 METODOLOGIA.....</b>	<b>15</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>23</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 JUSTIFICATIVA

O estudo das propriedades fotofísicas de nanocompósitos de porfirina/argila é importante para compreender suas potenciais aplicações, como a fototerapia dinâmica (FTD), utilizada para o tratamento de câncer de pele.

A primeira aplicação de fotossensibilizadores para tratamento de câncer ocorreu em 1903, por Tappernier e Jessionek que usaram eosina óptica de luz branca no tratamento de tumores de pele, [1].

As porfirinas já são usadas na terapia fotodinâmica do câncer como fotossensibilizadores (PS) na inativação fotodinâmica do microrganismo. São constituídas por quatro anéis pirróis ligados por pontes metálicas e apresentam absorção característica no espectro visível. Se destaca a banda de maior intensidade (400 nm) conhecida como Banda de Soret e outras de menor intensidade (500-650nm) bandas-Q. [2].

A fototerapia dinâmica é um tratamento com a vantagem de ser mais eficiente e seletivo, provocando diretamente a necrose do tumor sem afetar as regiões vizinhas. Isso ocorre devido à geração de espécies reativas do oxigênio por meio da combinação de fotossensibilizadores e luz, normalmente na faixa de 600nm a 800nm. [3].

O fotossensibilizador é introduzido no paciente, que se direciona preferencialmente para células tumorais, os quais são irradiados por um feixe de luz, sofrendo fotoativação. O fotossensibilizador interage com oxigênio no interior das células, gerando agentes citotóxicos que levam a necrose do tumor. Esse processo se inicia com a excitação eletrônica do PS, por meio de dois mecanismos (tipo I e II). [4].

No tipo I: há transferência de elétrons do PS no estado excitado (S1) para componentes do sistema molécula ou tecido cancerígeno, gerando íons radicais os quais interagem com o oxigênio molecular, dando origem a espécies reativas do oxigênio. [4].

No tipo II, ocorre transferência de elétrons do PS no estado excitado (S1) para o oxigênio molecular em seu estado fundamental, gerando o oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ), o qual é um agente citotóxico. [4].

Existem vários fatores que podem determinar o tipo de mecanismo que ocorrerá, depende do meio, do fotossensibilizador, do tempo de meia vida do oxigênio singleto e da estabilidade dos radicais gerados. Os dois mecanismos podem ocorrer ao mesmo tempo, mas ao se comparar as constantes de velocidade de reação de transferências de elétrons e de energia, conclui-se que o mecanismo II é mais eficiente. [4].

## Capítulo 1: Introdução

### **1.2 OBJETIVOS**

#### **1.2.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste trabalho foi estudar como a agregação macromolecular e o pH afetam as propriedades fotofísicas das porfirinas nestes sistemas.

#### **1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a possível utilização desses materiais na terapia fotodinâmica de câncer.
- Compreender a influência do pH e da agregação macromolecular.

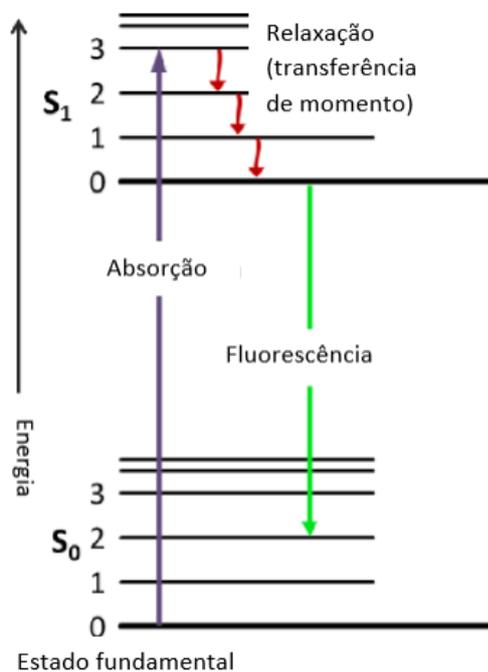
## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 FOTOLUMINESCÊNCIA

A fotoluminescência (PL) é um fenômeno óptico, no qual um material é excitado por uma fonte de luz, resultando na emissão de luz de um comprimento de onda diferente do incidente. Quando o material fotoluminescente absorve os fótons, seus elétrons são excitados a um nível de energia mais alto, os quais tendem a voltar ao estado fundamental e liberam essa diferença de energia em forma de luz. É uma técnica utilizada na caracterização de materiais, em estudos de propriedades eletrônicas e ópticas. [5].

Os processos fotoluminescentes podem ser compreendidos por meio do diagrama de Jablonski.

Figura 1- Diagrama de Jablonski.



Fonte: [6]

O diagrama de Jablonski é composto por uma série de níveis eletrônicos, que são representados verticalmente, e setas horizontais, que indicam as transições eletrônicas entre esses níveis. O nível mais baixo representa o estado fundamental da molécula, e os níveis superiores representam os estados eletrônicos excitados.

## Capítulo 2: Referencial Teórico

Estes processos intramoleculares envolvem o acoplamento entre o estado vibracional da cadeia e seu estado eletrônico. Ao absorver um fóton as moléculas podem passar do estado singlete fundamental ( $S_0$ ) para um estado vibracional mais elevado, ( $S_1$ ) do primeiro estado singlete excitado ou ( $S_2$ ) do segundo estado singlete excitado. Os processos de relaxamento por vibração ocorrem em um breve período de tempo e a molécula se encontra em um nível superior de  $S_1$ , o que faz com que a molécula retorne ao estado fundamental com a liberação de um fóton (fluorescência). [7]

### 2.2 FOTOLUMINESCÊNCIA DE EXCITAÇÃO

A fotoluminescência de excitação (PLE), refere-se à fotoluminescência observada em um comprimento de onda fixo, enquanto a amostra é excitada em diferentes valores de comprimento de onda, que variam continuamente. [8]

### 2.2 NANOCOMPÓSITOS

São materiais híbridos em que pelo menos um componente tem escala nanométrica. Foi feito a síntese desses materiais com o objetivo de agrupar propriedades particulares para a aplicação desejada. No caso dos nanocompósitos de porfirina/argila, a desagregação da porfirina é possível através da adsorção das moléculas de porfirina a superfície dos nanotubos de argila. [9]

### 2.3 AGREGAÇÃO DA PORFIRINA

As interações intramoleculares é um dos principais fatores que afetam os processos fotofísicos, biológicos e fotoquímicos que ocorrem nas porfirinas. As moléculas de porfirina podem formar agregados, quando dispersas em solução ou no estado sólido. [10]

A agregação da porfirina pode ser afetada por alguns fatores, como o tipo e concentração da porfirina, o pH e o modelo de matriz sólida. Essas agregações geram mudanças nas suas propriedades energéticas e espectrais.

### 2.4 DESAGREGAÇÃO DA PORFIRINA

Em materiais híbridos do tipo inorgânico/orgânico a desagregação da porfirina ocorre por meio da adsorção das nanopartículas de porfirina na superfície dos nanotubos de argila. [9].

## Capítulo 2: Referencial Teórico

As argilas são usadas para confecção de nanocompósitos devido as suas dimensões nanoscópica e sua composição química. Ademais, possuem alta velocidade de dissolução o que aumenta a homogeneidade, adsorção e estabilidade da mistura. [9]

## Capítulo 3: Materiais e métodos

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 AMOSTRAS

A porfirina utilizada para a confecção dos nanocompósitos de argila/protoporfirina foi a protoporfirina IX sal dissódico e a argila utilizada foi a haloisita. A protoporfirina e a haloisita foram adquiridas da empresa Sigma-Aldrich Brasil Ltda.

Para a síntese das amostras, nanopartículas de argila em solução aquosa foram misturadas com uma solução de Protoporfirina IX sal dissódico (PpIXK) dissolvida em acetonitrila e dimetilsulfóxido. Foi realizado a síntese de solução com pH2 e pH7.

Para controlar o pH das soluções foram elaboradas soluções contendo água ultrapura acrescentadas de quantidades específicas de NaOH e HCl. O pH das soluções foi determinado utilizando-se um medidor de pH portátil modelo AK90.

Na amostra de pH 2 foram utilizadas 2ml de PpIXK, 0,5 gramas de Haloisita e 40 ml de solução aquosa com pH2. No caso da amostra de pH 7 foi usada a mesma proporção de PpIXK e de Haloisita, mas com solução aquosa pH7. Foi realizada também a confecção de amostras sem a presença da haloisita para o pH2 e Ph7.

Para favorecer a homogeneidade da mistura e a adsorção da protoporfirina pelas nanopartículas de haloisita, as misturas passaram cinco vezes pelos processos de agitação mecânica (3,0 min) e ultrassonificação (3,0 min).

Após este processo as amostras foram levadas à estufa ao abrigo da luz por um dia para a decantação das nanopartículas. Após o período de decantação, retirou-se o excesso de solução, em seguida as misturas retornaram a estufa abrigo da luz à temperatura de 60,0 °C por sete dias para promover a evaporação do solvente, restando apenas pó.

## Capítulo 3: Materiais e métodos

### 3.2 METODOLOGIA

A metodologia utilizada para a caracterização das amostras neste trabalho teve como base a utilização das técnicas de caracterização óptica de semicondutores poliméricos.

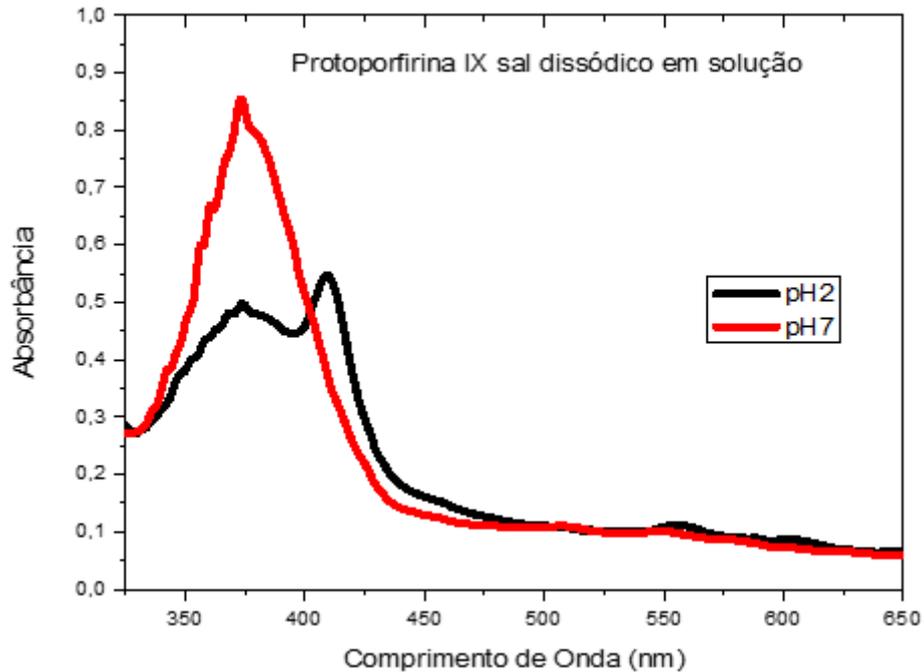
A caracterização fotofísicas das amostras foi obtida utilizando-se as técnicas ópticas: absorvância UV-Vis e fotoluminescência no estado estacionário. Os espectros de fotoluminescência (PL) e fotoluminescência de excitação (PLE) foram adquiridos em um espectrofluorímetro Hitachi U-2001.

Para se determinar os tipos de agregado e a influência da agregação e da desagregação macromolecular sobre as propriedades fotofísicas e fotoquímicas destes materiais híbridos foram realizados estudos sistemáticos em função do pH das soluções precursoras. Os espectros de absorção óptica das soluções foram obtidos utilizando o espectrofotômetro UV-VIS FEMTO 800XI.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 2 é apresentado o espectro de absorção da PpIXK em solução com pH2 e pH7 antes da adição de haloisita.

Figura 2- Espectro de absorção da PpIXK em solução com pH2 e pH7 antes da adição de haloisita.



Fonte: Autoria própria - 2023

Foi identificado no espectro de absorbância da solução com pH 2, antes da adição da argila, que a banda de Soret apresenta dois máximos - um em torno de  $\approx 425$  nm relacionado aos monômeros e outro em torno de 375 nm relacionado aos dímeros e agregados. [2]. Por outro lado, o espectro de absorção da solução com pH7 apresentou apenas um máximo em torno de 375 nm, este fato demonstra a influência do pH sobre o nível de agregação das moléculas de porfirina. Neste sistema quanto maior o pH maior o nível de agregação.

#### Capítulo 4: Resultados e discussão

A figura 3 apresenta os béqueres com as soluções de porfirina e argila depois dos processos de agitação mecânica e ultrassonificação.

Figura 3- Amostras de PpIXK com pH2 e pH7 após processo de agitação mecânica e ultrassonificação.



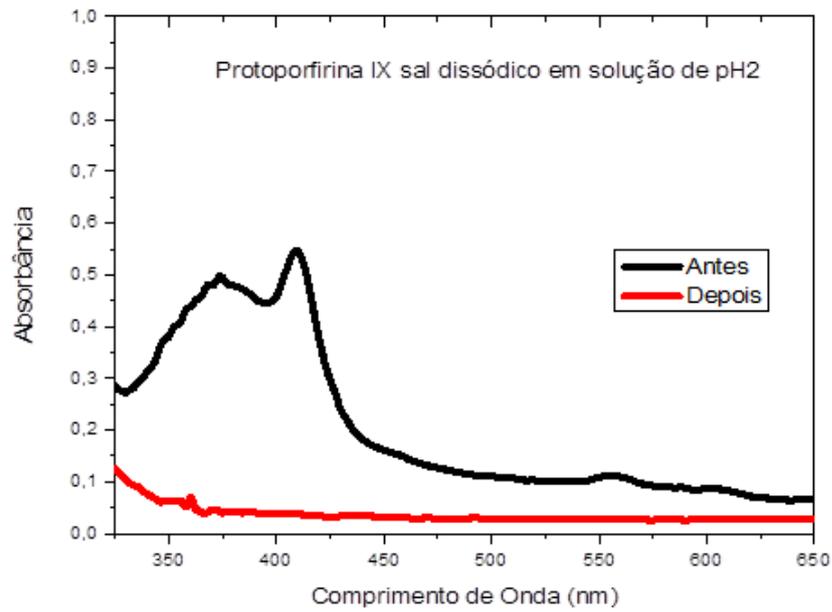
Fonte: Autoria própria - 2023

O Becker com a etiqueta número 2 corresponde a solução com pH 2 e o com a etiqueta com número 4 corresponde a solução com pH7. Na amostra da solução com pH 7 é possível observar que a amostra está com uma aparência mais esbranquiçada do que a com pH2. Isso ocorre devido a maior dispersão das nanopartículas, o que levou a formação de uma solução do tipo coloide.

Na figura 4 e 5 temos os espectros de absorção antes e depois da adição de haloisita para o pH 2 e pH 7, respectivamente.

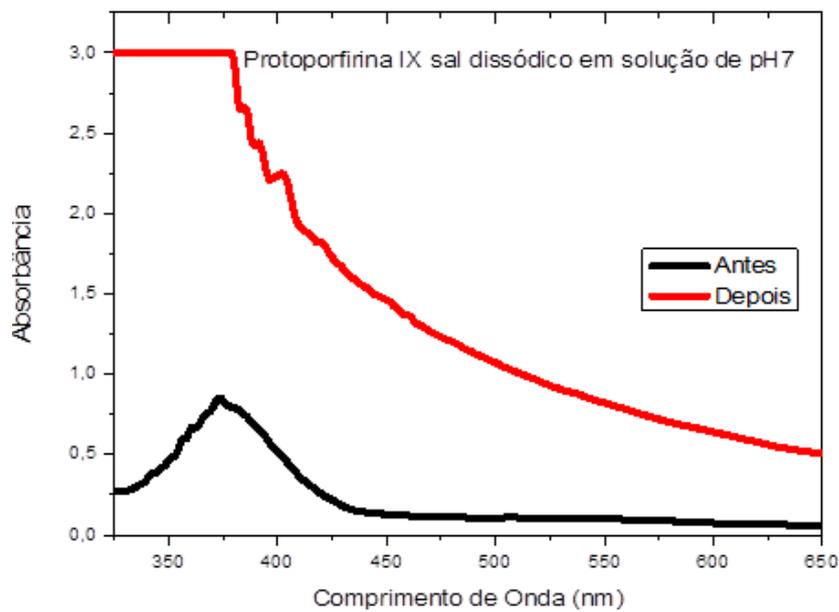
## Capítulo 4: Resultados e discussão

Figura 4- Espectro de absorção da PpIXK para a solução com pH2 antes e depois da adição de haloisita



Fonte: Autoria própria - 2023

Figura 5- Espectro de absorção da PpIXK para a solução com pH7 antes e depois da adição de haloisita



Fonte: Autoria própria - 2023

Comparando as linhas de espectro de absorção para a solução de pH 2, é perceptível que as linhas características da PpIXK que apareciam antes da adição da haloisita, não aparecem

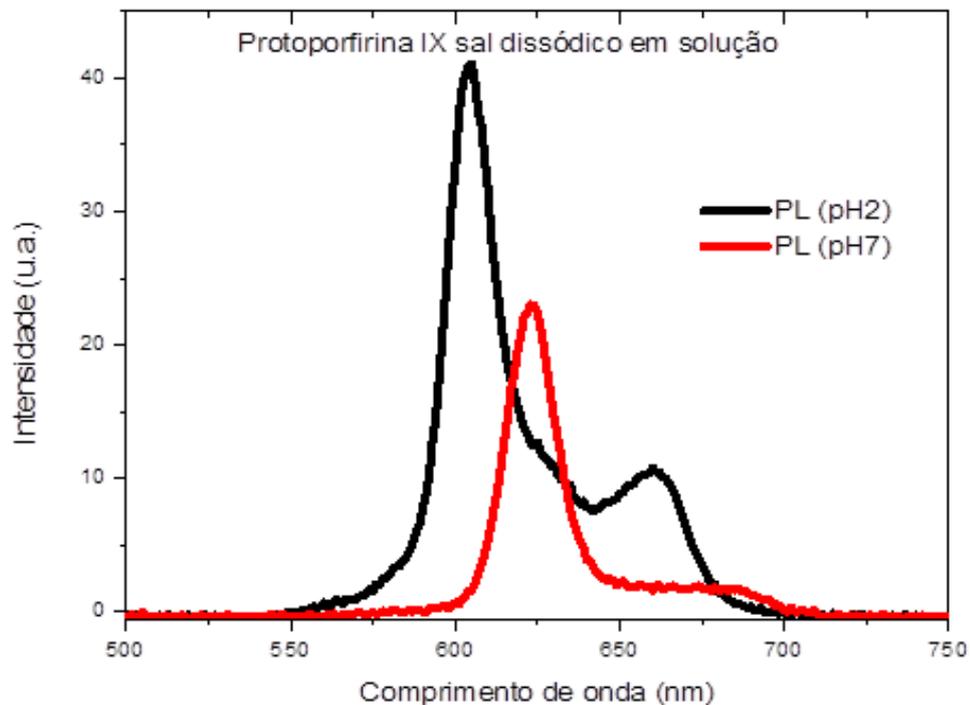
#### Capítulo 4: Resultados e discussão

depois da adição. Isso ocorre, pois a maioria das moléculas de PpIXK foram adsorvidas pela superfície dos nanotubos da haloisita.

Para a solução com pH 7 não é possível realizar essa análise sobre o espectro de absorção, pois a solução apresentava nanopartículas de haloisita em suspensão, sendo difícil identificar se a PpIXK foi adsorvida pela superfície dos nanotubos de argila.

Na figura 6 temos o espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7. Foram excitadas em comprimento de onda de 409 nm.

Figura 6- Espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7



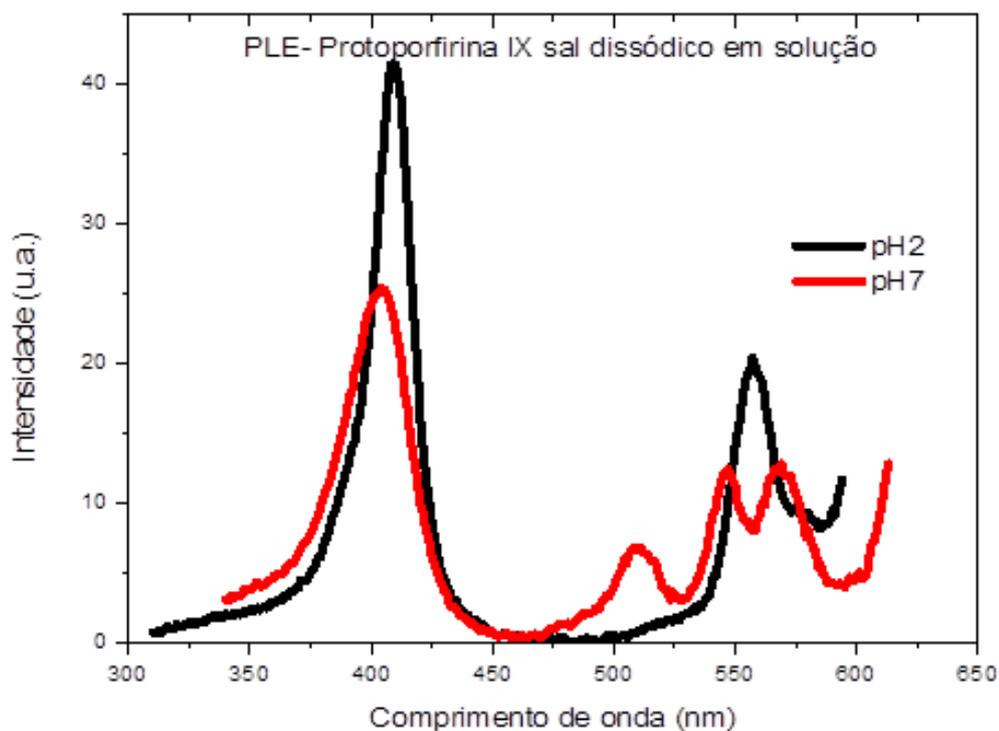
Fonte: Autoria própria - 2023

O espectro de PL da solução de pH 2 se encontra mais deslocado para o lado do azul, quando comparado ao espectro da solução com pH 7, indicando que as moléculas de PpIXK se desagregaram. [2]

Na figura 7 temos o espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7. Foram detectados em comprimento de onda de 604 nm.

## Capítulo 4: Resultados e discussão

Figura 7- Espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em solução de pH2 e em solução de pH7



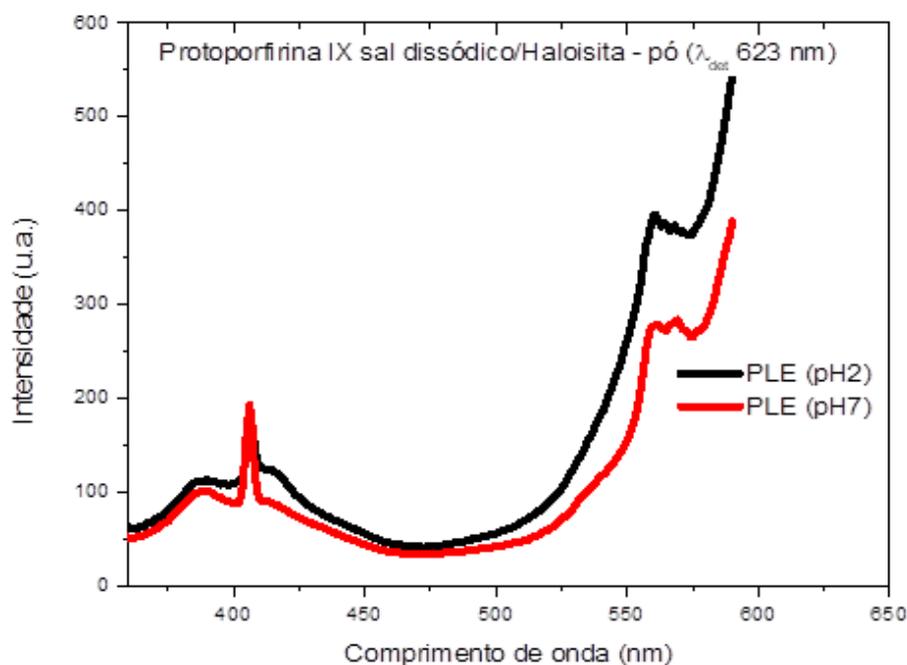
Fonte: Autoria própria - 2023

É possível analisar que o espectro PLE da solução de pH7 apresenta três picos na banda Q, já o espectro PLE da solução de pH2 apresenta apenas pico na banda Q. Esse fato, demonstra que para a solução com pH 2 as moléculas PpIXK foram desagregadas.

## Capítulo 4: Resultados e discussão

Na figura 8 temos o espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7. Foram detectados em comprimento de onda de 623 nm.

Figura 8- Espectro de fotoluminescência de excitação (PLE) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7



Fonte: Autoria própria - 2023

Na banda de Soret, temos os monômeros ( $\lambda=405\text{nm}$ ) e os dímeros ( $\lambda=388\text{nm}$ ). Analisando o gráfico, é possível notar que para o pH 2 temos maior concentração de monômeros do que dímeros, já para o pH 7 há maior de dímeros do que monômeros. O pico que aparece 405nm na amostra pH7 é devido a efeitos ópticos. [2]

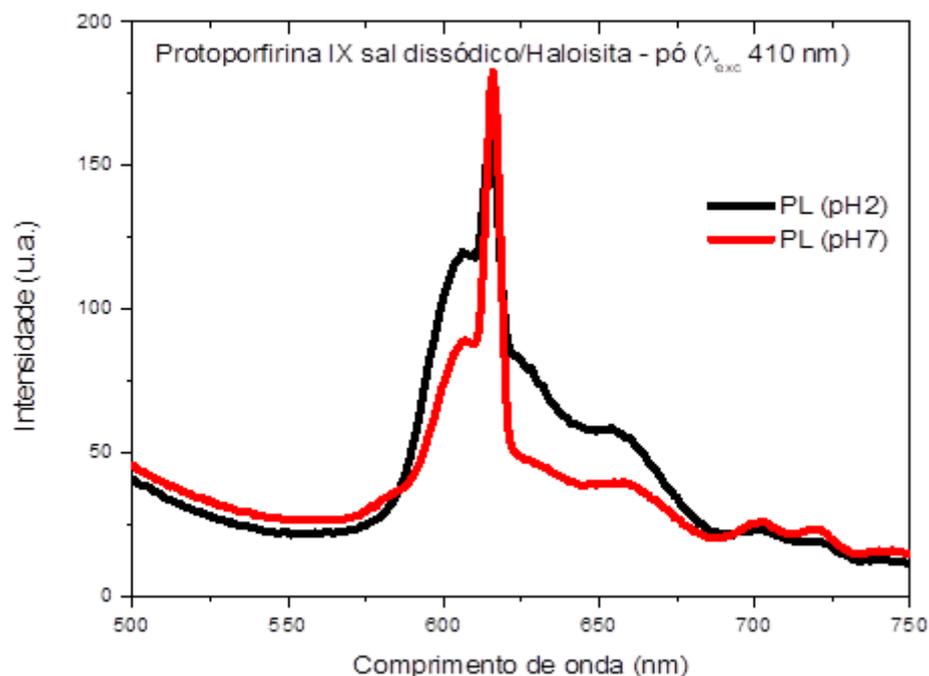
Na PLE das amostras em forma de pó, diferentemente da PLE em solução, há preferencialmente apenas um pico de emissão na banda Q, para ambos os pH.

Ao analisar os picos de intensidade, é notável que a amostra de pH 2 tem um espectro de maior intensidade que a amostra de pH7. Assim, quanto menor o pH maior a sua eficiência de absorção e emissão. Dessa forma, seria mais eficiente utilizar materiais híbridos com pH mais baixo para a fototerapia dinâmica de Câncer.

Na figura 9 temos o espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7, com excitação no comprimento de onda de 410nm.

## Capítulo 4: Resultados e discussão

Figura 9- Espectro de fotoluminescência (PL) para a PpIXK em pó de pH2 e em pó de pH7



Fonte: Autoria própria - 2023

Na PL das amostras na forma de pó, o comportamento dos espectros não varia intensamente devido a mudança do pH. Ambos os espectros emitem aproximadamente no mesmo comprimento de onda, mostrando que a influência da Haloisita na agregação de moléculas de PpIXK supera a influência do pH. O pico que aparece 623nm na amostra pH7 é devido a efeitos ópticos.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Neste trabalho foram desenvolvidos e estudados novos materiais híbridos funcionais formados por nanocompósitos de protoporfirina IX sal dissódico e nanopartículas de argila. Nestes materiais as moléculas de protoporfirina ficaram adsorvidas às superfícies dos nanotubos de argila. Os resultados mostraram a grande capacidade dos nanotubos de haloisita de adsorverem as moléculas de protoporfirina-IX sal dissódico. Além disso, as moléculas PpIXK se encontram em estado desagregado em amostras de pH 2. Logo, o pH exerce grande influência na agregação das moléculas de protoporfirina em solução.

## Capítulo 6: Referências bibliográficas

### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Von Tappeiner, H.; Jesionek, a. Therapeutic experiments with fluorescent substances. *miinch. med. wochenschr*, v. 47, p. 2042, 1903.  
Souza L. C, Estudos das propriedades ópticas e estruturais de vidros borosilicatos dopados com Érbio e prata, Monografia, Universidade Federal de Juíz de Fora.
- [2] 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.
- [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, Raymond; Martinez, Gabriel. Photobleaching of sensitisers used in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, v. 57, n. 47, p. 9513-9547, 2001.
- [5] Souza, Tiago Gualberto Bezerra de. Caracterização espectroscópica da dinâmica eletrônica em moléculas de porfirina. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- [6] Martins, V.; Ronconi, C. M.; Redes de Coordenação: Planejamento, Síntese, Tipologia e Propriedades Fotofísicas. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 3, p. 1318-1341, 2017
- [7] Souza, Cabrini Ferraz de. desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos para determinação de picoxistrobina e piraclostrobina por cromatografia eletrocínética capilar micelar e de enrofloxacina por fosforimetria em temperatura ambiente. 2008. 172 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Cap. 4. Disponível em: . Acesso em: 16 dez. 2022.
- [8] Guerreiro, Haroldo de Almeida. Estudo da alumina anódica porosa como sensor para diferentes gases. 2013. 112 f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.
- [9] Bujdák, J. Hybrid systems based on organic dyes and clay minerals: Fundamentals and potential applications. *Clay Minerals*, 2015, 50, 549-571.
- [10] 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