

IMOBILIZAÇÃO DE PORFIRINAS EM SILICAS MESOPOROSAS FUNCIONALIZADAS

Autor(1)*: Joaldo Garcia Arruda; Co-autor(1): Fernando José Volpi Eusébio de Oliveira; Co-autor (2): Julio Santos Rebouças; Co-autor (3): Jandeilson de Lima Moura; Co-autor (4): Kleber Thiago de Oliveira

^{1,2,3}Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-970, João Pessoa-PB

⁴ Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CEP 13565-905, São Carlos-SP

*Email: joaldojp@hotmail.com

RESUMO: Os materiais híbridos a base de sílica foram funcionalizados com os alcóxissilanos 3-aminopropil-trietoxissilano, designado *N* e N-(3-trimetoxissilil-propil)-dietileno-triamina, designado *3N*, sendo as amostras resultados nomeadas SBA-15-N e SBA-15-3N, respectivamente. As sílicas do tipo SBA-15 funcionalizadas foram submetidas às reações de incorporação da porfirina do tipo clorina metil-feoforbídeo *a* e as amostras resultantes foram denominadas S-NC e S-3NC (S=SBA-15, C=Clorina). Os dados de adsorção de nitrogênio evidenciam as características do sucesso da formação da rede ordenada de poros da SBA-15. Os espectros na região do infravermelho apresentaram as bandas características da sílica, dos grupos funcionais do aminossilano *N*, *3N* e do anel porfirínico, sugerindo o sucesso da reação de silanização e incorporação da estrutura do macrociclo. A investigação da estabilidade do anel porfirínico incorporado ao material híbrido foi monitorada através da presença da banda Soret e Q no espectro de reflectância difusa. Os dados observados mostram que a banda de maior absorção na região do azul e de menor absorção no vermelho, estavam íntegras, o que sugere a preservação da estrutura molecular do anel. Portanto, esses materiais podem ser promissores, por exemplo, na utilização em terapias fotodinâmicas cardiovascular, dermatológica e oftalmológica.

Palavras chave: Híbridos, porfirina, sílica.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os sólidos inorgânicos utilizados como suporte na incorporação dos sistemas porfirínicos, a sílica (SiO₂) do tipo SBA-15 apresenta alto valor de área superficial, resistência mecânica/térmica, estrutura ordenada de poros e facilidade na modificação da superfície com organossilanos. A incorporação de grupos funcionais nesses materiais pode ser realizada através de diversas metodologias, sendo as principais a pós-funcionalização e a co-condensação, e cada rota apresenta vantagens e desvantagens, sendo escolhidas conforme a conveniência [1].

Pela rota de pós-funcionalização, a primeira etapa é descrita pela utilização de um direcionador anfifílico polimérico do tipo tribloco, que é constituído de unidades monoméricas de polietileno nas extremidades e polipropileno no centro da cadeia, designado P123. A estrutura do polímero produz um arranjo micelar em meio aquoso, que é empregado

como molde da estrutura do óxido de silício. Assim, o precursor de silício utilizado, tetraetilortossilicato, TEOS, sofre as reações de hidrólise e condensação, descritas pelo processo sol-gel. Isso permite que a rede inorgânica seja formada em torno do molde ou *template*, resultando em um arranjo de poros cilíndricos e mesofase hexagonal. Ao final, o sólido formado é calcinado para a retirada do *template* e resulta em um material mesoporoso com diâmetro de poros na faixa entre 2-50 nm [2]. Em seguida é realizada a incorporação do organossilano funcional à superfície da matriz inorgânica, gerando o híbrido orgânico-inorgânico funcionalizado.

As aplicações das porfirinas e seus derivados abrangem uma extensa frente de pesquisa, fato diretamente relacionado com suas propriedades únicas, sendo parte de diversas proteínas com funções bastante variadas, como transporte de elétrons, transporte e armazenamento de oxigênio, catalisadores biológicos, e apresenta alta versatilidade na Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*). Essa última aplicação é destacada, pois esses sistemas porfirínicos, são denominados fotossensibilizadores, que apresentam alta absorvidade na região da janela terapêutica, na região entre 600-750 nm, a qual é preservada mesmo em sua incorporação na rede de silício, o mesmo quando administrado, liga-se às lipoproteínas de baixa densidade, onde há maior número de células tumorais. Esse fotossensibilizador é ativado com a luz a um comprimento de onda de 650 nm, dessa forma, fornece energia para o oxigênio molecular, gerando moléculas reativas de oxigênio, do qual promove a oxidação de lipídios, aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos e assim, induz a necrose celular e conseqüentemente regressão do tumor. A Figura 1, apresentam a estrutura dessas porfirinas, onde exibe um macrociclo altamente conjugado, do qual é constituído por anéis tetrapirrol interligados por quatros carbonos metilênicos, denominada pela IUPAC, como como porfirina β -substituída, pois apresenta nas posições β ocupadas, grupos alquila: (Me,Et) [3]. A Figura 2, apresentando em seu espectro uma intensa banda de absorção na região de 650 nm do qual diferem das porfirinas e isobacterioclorinas, pois essa primeira apresenta a banda Q com intensidade muito superior à das porfirinas. Esse fato permite a utilização dos comprimentos de onda na faixa da janela terapêutica [4].

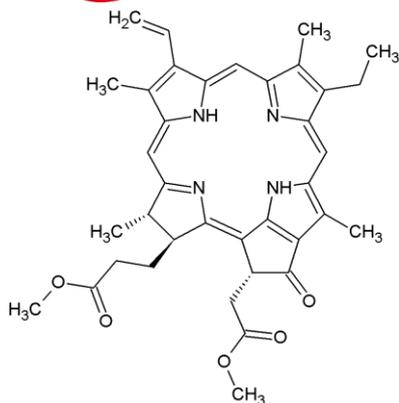


Figura 1. Estrutura da Porfirina β -pirr6licas substituídas, do tipo Clorina.

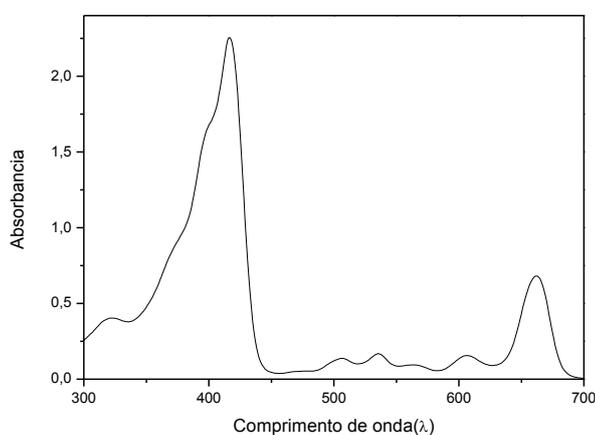


Figura 2. Espectro eletrônico de absorção da Clorina.

2. METODOLOGIA

2.1. Síntese da SBA-15

A preparação da matriz de SBA-15, e sua posterior silanização foi realizada através do método via pós-funcionalização ou *post-grafting*, sendo preferível essa rota, pois a mesofase já se encontra formada, tornando possível inserir uma quantidade de grupos funcionais maior, sem prejudicar a qualidade da rede ordenada de poros.

Foram adicionados 4,0 g do direcionador copolímero tribloco P123, sendo esse template misturado com 120 g de uma solução de HCl 2,0 mol L⁻¹ e 30 g de H₂O, cuja mistura foi mantida sob agitação magnética constante no período de 4 horas a temperatura de 40 °C.

Após a total homogeneização do P123 na solução, é adicionado 8,25 g do precursor de silício: tetraetilortossilicato (TEOS), durante o período de 1 h, nessas mesmas condições, o

qual sofre pré-hidrólise e a solução adquire um aspecto leitoso. Essa suspensão foi transferida para a autoclave e mantida em estufa, por 24 h, a 100 °C. Esse tratamento, denominado hidrotérmico, minimiza o tempo da etapa de envelhecimento, incrementado também os aspectos de cristalização da estrutura inorgânica.

Ao final do tratamento hidrotérmico, o sólido foi obtido por filtração, lavado com diversas porções de EtOH, mantido a 50°C para secagem por 12 h e posteriormente foi adicionado a um recipiente cerâmico e calcinado em forno tipo mufla, com rampa de aquecimento de 1°C/min, a 550°C por 5 h, assim, o direcionador é removido. A Figura 3 apresenta o mecanismo de formação do arranjo cilíndrico e remoção do direcionador.

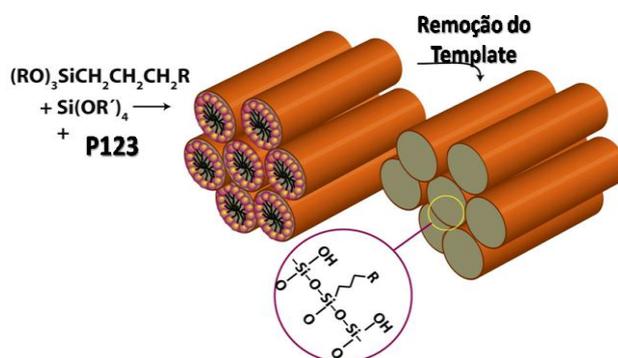


Figura 3. Esquema de formação da SBA-15. Adaptado da referência [5].

2.3 Silanização da SBA-15 e obtenção do material híbrido

Como a sílica é um material higroscópico, a ativação da sílica teve como a finalidade de remover a água adsorvida fisicamente na superfície do material, sendo o material mesoporoso aquecido a 150°C sob vácuo, por 4 h, a fim de se obter um maior número de grupos disponíveis para silanização.

A etapa de funcionalização da sílica procedeu a rota heterogênea, sendo utilizados 1,6 mL do organossilano N, e 6,0 mL do 3N, que foram acrescentados a uma suspensão de 0,62 g e 1,5 g da sílica ativada, respectivamente, em 60 mL de tolueno. É importante ressaltar que as amostras de SBA-15 utilizadas foram originadas de sínteses diferentes, que devem apresentar características físico-químicas que podem variar. A massa de sílica utilizada é estimada a partir do valor médio de grupos silanol presentes na superfície da sílica, 5,0 mmol g⁻¹, utilizando um excesso de organossilano de três vezes com relação à concentração de grupos Si-OH de superfície. O sistema reacional foi mantido sob agitação magnética durante 24 h, atmosfera de nitrogênio, para evitar que o organossilano fosse hidrolisado, e aquecido a temperatura de 80 °C, mantido sob refluxo. O material híbrido foi filtrado, lavado com diversas porções de tolueno e etanol, depois seco sob pressão reduzida. Sendo esses materiais

funcionalizados denominados: **S-N** e **S-3N**. A Figura 4 apresenta os alcóxissilanos utilizados na funcionalização.

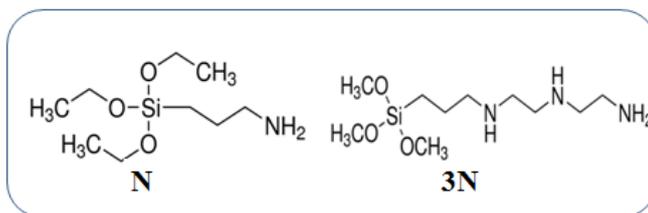


Figura 4. Fórmulas estruturais dos organossilanos: 3-aminopropiltriétóxissilano(1N) e N-(3-trimétóxissililpropil)diétilenotriamina(3N).

2.4. Incorporação de um sistema porfirínico em materiais híbridos

Após a síntese da sílica organofuncionalizada **S-N** e **S-3N**, como descrito no item 2.3, foram realizadas as reações de incorporação do sistema porfirínico do tipo metil-feoforbídeo *a*. Para isso, foi preparado uma suspensão da clorina de concentração 15 ppm, em THF, para que a amostra de sílica funcionalizada entrasse em contato com a solução, sob refluxo a temperatura de condensação do THF em 65° C, por 24h. Os materiais obtidos foram chamados de **S-NC** e **S-3NC**. A Figura 1 mostra a estrutura do anel porfirínico da metil-feoforbídeo *a*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização

3.1.1. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Como pode ser observado na Figura 5, o espectro da SBA-15 não-calcinada, apresenta bandas características de uma rede de silício, do qual apresenta absorções em 466 e 798 cm^{-1} são atribuídas às deformações dos grupos O-Si-O e Si-O-Si, respectivamente [8]. Modos vibracionais relacionados aos estiramentos simétricos e assimétricos de grupos Si-O-Si estão localizados na região 1085-1200 cm^{-1} . A banda em 2950 cm^{-1} corresponde aos estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos CH₂ do direcionador copolímero tribloco P123.

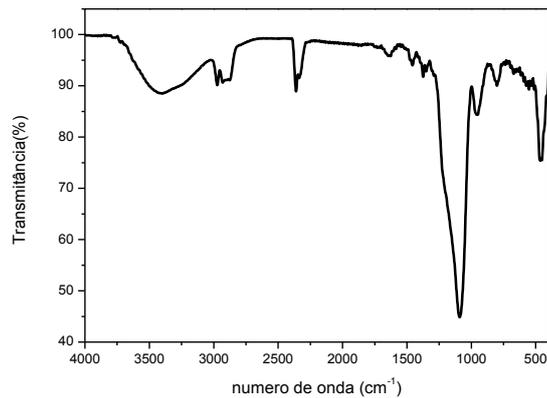


Figura 5. Espectro na região do infravermelho da SBA-15 não-calcinada.

A Figura 6 apresenta o espectro IV da matriz de SBA-15 calcinada. Quando comparada com o espectro da mesma matriz inorgânica não calcinada na Figura 5, observa-se o aumento da intensidade da banda em torno de 1643 cm^{-1} , devido à deformação (δ) da estrutura da água, fisicamente adsorvida na superfície, pois na amostra não calcinada os mesoporos, estava preenchido pelas micelas. Depois de removido o direcionador permite maior acomodação de moléculas de água também nos poros. A presença de água também contribui para o alargamento da banda centrada na região de 3400 cm^{-1} , que é característica de grupos silanóis livres. Além disso, é possível observar a ausência da banda em 2950 cm^{-1} correspondente ao direcionador que foi removido [9].

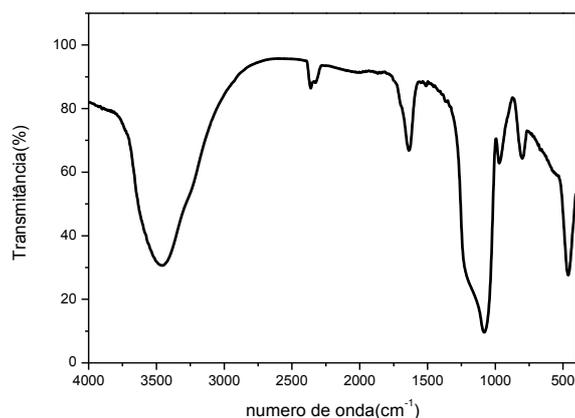


Figura 6. Espectro de absorção na região do infravermelho da SBA-15 calcinada.

Na Figura 7 é observado o espectro infravermelho para amostra silanizada S-N, no qual são mantidas íntegras as bandas características da matriz inorgânica do tipo SBA-15, referentes às absorções dos grupos hidroxilas e siloxanos, indicando que a reação ocorreu sem alteração da rede porosa. As bandas de vibrações dos estiramentos (ν) simétrico e assimétrico dos grupos CH_2 são atribuídas em 2933 e 2890 cm^{-1} , respectivamente, enquanto a banda de absorção em 1490 cm^{-1} corresponde a uma deformação CH_2 . O aparecimento da banda na região de $1633\text{-}1558\text{ cm}^{-1}$ refere-se à deformação N-H. Esses dados constituem indícios do sucesso na etapa de funcionalização do organossilano na superfície da SiO_2 . No caso da S-3NC, o mesmo conjunto de absorção também é observado, contudo o aumento da intensidades das bandas atribuídas aos estiramentos C-H, C=O e N-H nas regiões entre $2950\text{-}3090\text{ cm}^{-1}$, $1750\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ e 3350 cm^{-1} , respectivamente e, conforme esperado, a presença da nova banda C=C na região $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, pode ser atribuída à presença do anel porfirínico no suporte inorgânico [8].

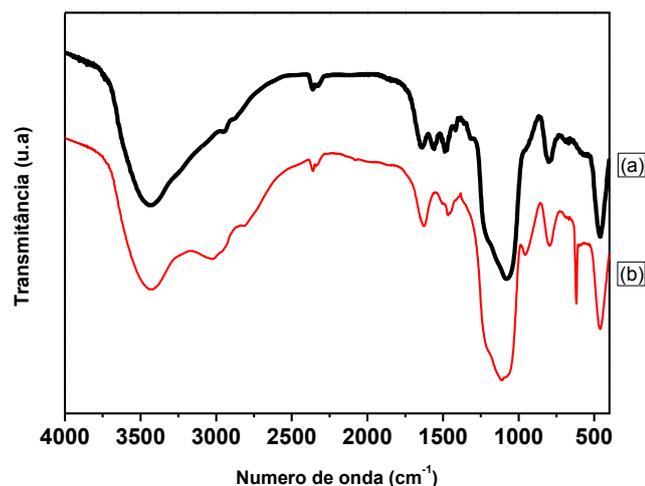


Figura 7. Espectro de absorção na região do infravermelho das amostras de S-3N (a) e S-3NC (b).

3.1.2. Adsorção de N_2

As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio das amostra funcionalizada com o organossilano 3N, é denominada S-3N, e esta apresentada na Figuras 8. A isoterma apresentadas são classificadas segundo a IUPAC como sendo do tipo IV, com perfis típicos de materiais que apresentam o arranjo poroso altamente ordenado na faixa de mesoporos $2\text{-}50\text{ nm}$ [10]. Além disso, a histerese típica desses materiais, apresentando ramos de adsorção e

dessorção paralelos, classificados de H2, localizados em regiões de pressão relativamente alta indicam uma rede porosa altamente homogênea quanto ao arranjo de poros e com altos valores de volumes de poros. Sob baixas pressões essas curvas revelam região de microporosidade.

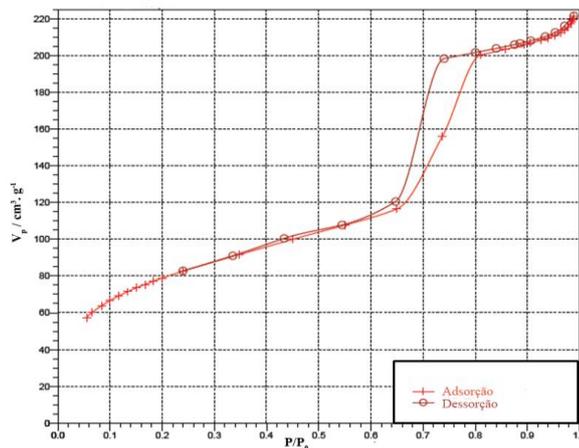


Figura 8. Isotermas de adsorção de N_2 da SBA-15 funcionalizada com organossilano 3N.

As matrizes de SBA-15 funcionalizadas com o organossilano **N** e **3N**, denominadas **Np2** e **3Np2**, respectivamente, foram submetidas à análise da adsorção de nitrogênio, fornecendo a partir das isotermas de adsorção e dessorção, obtidos na Figura 8, os dados para calcular as propriedades texturais desses sólidos, conforme apresentado na Tabela 1. A partir da análise dessa propriedade observa-se que a área superficial diminui conforme as cadeias aumentam, o que sugere maior densidade de grupos da cadeia **N** (menor) do que **3N** (maior), devido primordialmente por fatores estéricos, pois as moléculas do organossilano ancoradas apresentam movimento dinâmico, do qual podem gerar impedimento estérico com outras moléculas semelhante. Esse resultado pode ser complementado pela análise elementar, analisando principalmente o percentual de nitrogênio (% N).

Tabela 1. Resultado da adsorção de N_2 , indicando os valores de: diâmetro de poros (D_p), volume de poros (V_p) e área superficial (S).

<i>Amostra</i>	D_p/nm	$V_p/cm^3 \cdot g^{-1}$	$S/m^2 \cdot g^{-1}$
----------------	----------	-------------------------	----------------------

$Np2$	10,45	0,192	68,7
$3Np2$	4,65	0,338	274,8

3.1.3. Espectroscopia de adsorção na região do UV-Vis

Os espectros de absorção na região do UV-Vis, foram utilizadas para avaliar a estabilidade no anel porfirínico incorporado na **SBA-3N**, sob as duas rotas de imobilização: agitação magnética a temperatura ambiente e refluxo.

A Figura 9 apresenta o espectro de absorção da clorina imobilizada na matriz com organossilano, sob as condições de: agitação magnética (—) e refluxo (—).

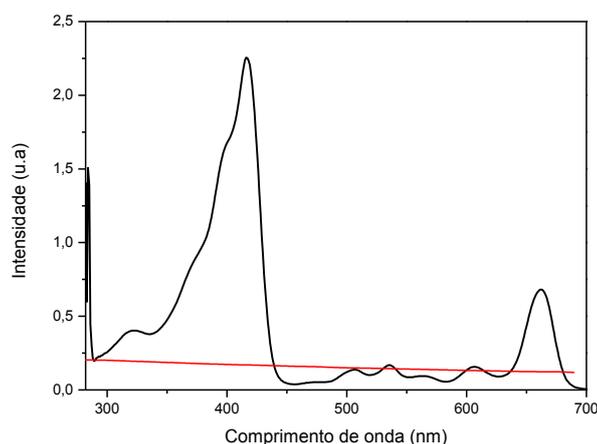


Figura 9. Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-Vis da metil-feoforbídeo *a*, *C* (—) e *S-3NC* (—).

Para a primeira condição, é observado que as bandas características da clorina na região de 400 e 650 nm está representada no espectro. Isso fornece indícios de que o sistema porfirínico está sendo, de alguma maneira, removido ou lixiviado da matriz mesoporosa, ou seja, está voltando na forma livre para a solução. No segundo caso, observamos apenas uma linha de base, indicando que a porfirina, não está sendo lixiviada da matriz, portanto está bem estabilizada no material híbrido.

3.1.4. Espectroscopia de reflectância difusa da região do UV-Vis

Os espectros de reflectância difusa foram utilizados como ferramenta para a caracterização da incorporação do sistema porfirínico do tipo clorina metil-feoforbídeo *a*, **C**, sobre a matriz do material mesoporoso funcionalizado. Para efeito comparativo e confirmativo da incorporação do anel porfirínico sob a superfície da sílica, foram realizados o espectro de ambas, denominadas: **C**, e **S-NC**, respectivamente.

A Figura 10 mostra os espectros de reflectância da clorina metil-feoforbídeo *a*, e do material híbrido do tipo **SBA-15-N**, incorporado com a porfirina: **SBA-15-NC**.

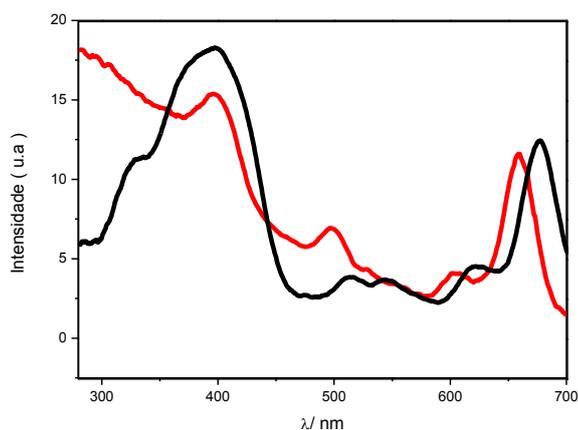


Figura 10. Espectro de reflectância difusa das amostras **C** (—) e **S-NC** (—).

No primeiro caso é observado uma banda de absorção máxima na região de 400 nm, correspondente ao azul, denominada banda Soret, e uma banda de menor absorção denominada banda Q, na região de 650 nm, correspondente ao vermelho. Quando comparada com a sílica funcionalizada, com a clorina incorporada, o material **S-NC**, é observada uma coloração verde no sólido, diferentemente da sílica funcionalizada de cor branca. Essa amostra apresenta as mesmas bandas características da porfirina preservada, indicando a incorporação efetiva do anel porfirínico no material híbrido funcional, possivelmente devido a alta disponibilidade dos sítios ativos no material híbrido **N**. Para a amostra **3N** observa-se uma menor disponibilidade de sítios ativos, logo isso deve refletir na incorporação menos eficiente na matriz inorgânica.

4. CONCLUSÕES

A etapa de preparação, ativação e funcionalização da SBA-15 com os organossilanos **N** e **3N**, foi executada com sucesso pela rota heterogênea de síntese, como também a reação de incorporação do sistema porfirínico metil-feoforbídeo *a* e obtenção de um material híbrido orgânico-inorgânico.

Os resultados da análise de adsorção de nitrogênio revelaram indícios da formação de uma matriz mesoporosa, através do perfil das curvas de adsorção e dessorção, que permitiram concluir aspectos importantes sobre a qualidade da rede porosa obtida.

A partir da espectroscopia do infravermelho foi possível observar as bandas características de todos modos vibracionais dos organossilanos. Assim, confirmando a formação dos híbridos **SBA-15-N** e **SBA-15-3N**. Após a incorporação do sistema porfirínico, foi evidenciado que as bandas dos grupos amino, comum a ambos, estava preservada, porém, o surgimento do estiramento C=C, que ocorre somente no macrociclo tetrapirrólico, indica a incorporação da clorina na matriz organofuncionalizada.

A confirmação da incorporação do sistema porfirínico pode ser comprovada primeiramente pela análise do espectro eletrônico de absorção, o qual forneceu apenas uma linha de base, indicando a estabilidade do anel porfirínico incorporado à matriz, e pela reflectância difusa, onde as bandas características Soret e Q foram observadas nesse novo material. Portanto, isso sugere o sucesso na imobilização da clorina na rede inorgânica, demonstrando que a estrutura do anel permaneceu íntegra após a reação.

5. REFERÊNCIAS

- [1] F. Yan and R. Kopelman, "The Embedding of Meta-tetra (Hydroxyphenyl) -Chlorin into Silica Nanoparticle Platforms for Photodynamic Therapy and Their Singlet Oxygen Production and pH-dependent Optical Properties The Embedding of Meta-tetra (Hydroxyphenyl) -Chlorin into Silica N," in *BioOne Research Evolved*, vol. 78, no. 6, p. 587–591, 2003.
- [2] B. Sathyaseelan, G. Killivalavan, G. Rameshkumar, G. Senthilkumar, and K. Kamaraj, "Block copolymer templating syntheses of mesoporous ZrO₂ with large ordering lengths and semicrystalline framework," in *AIP Conference Proceedings*, 2013, vol. 1536, p. 687–688.

- [3] V. H. e A. Pinto, “Mn(III)-porfirinas como catalisadores biomiméticos: Estabilidade térmica e imobilização em vermiculita e sílica gel funcionalizada para hidroxilação de alcanos,” Universidade Federal da Paraíba, 2013. Tese de doutorado.
- [4] Oliveira K.T, Santos L.S “Estudos sobre Síntese de Novos Fotossensibilizadores a partir de Produtos Naturais Porfirinóides,” Universidade Federal de São Carlos, 2013.Dissertação de mestrado.
- [5] L. L. K. Blusch, Y. Hemberger, K. Pröpper, B. Dittrich, F. Witterauf, M. John, G. Bringmann, C. Brückner, F. Meyer, K. E. Craigo, V. Martin-Diaconescu, A. B. McQuarters, E. Bill, S. Dechert, S. DeBeer, N. Lehnert, P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, F. Armstrong, L. K. Frensch, S. Demeshko, A. Osuka, S. Saito, P. C. Wilkins, and R. G. Wilkins, “Shriver and Atkins’ Inorganic Chemistry,” *Siamese-Twin Porphyr. Its Copp*, vol. 50, p. 864, 2013.
- [6] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, and M. Fröba, “Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 45, no. 20. p. 3216–3251, 2006.
- [7] F. J. V. E. Oliveira, “Híbridos inorgânico-orgânicos mesoporosos nanoestruturado. Campinas, Programa de pós-graduação em Química, UNICAMP, 2009. Tese de doutorado,” 2009.
- [8] R. M. Silverstein, F. X. Webster, and D. J. Kiemle, *Spectrometric identification of organic compounds 7ed*, *Microchemical Journal*, vol. 21, p. 1-550, 2005.
- [9] J. P. Thielemann, F. Girgsdies, R. Schlögl, and C. Hess, “Pore structure and surface area of silica SBA-15: influence of washing and scale-up,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, vol. 2. p.110–118, 2011.
- [10] P. F. Fulvio and M. Jaroniec, “Optimization of synthesis time for SBA-15 materials,” *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 287, p. 75–82, 2005.