



**AMAURI JARDIM DE PAULA**

**PRODUÇÃO DE VEÍCULOS MOLECULARES À BASE DE NANOESTRUTURAS  
DE SÍLICA POROSA PARA CARREAMENTO DE COMPOSTOS  
HIDROFÓBICOS**

**CAMPINAS  
2012**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**AMAURI JARDIM DE PAULA**

**PRODUÇÃO DE VEÍCULOS MOLECULARES À BASE DE NANOESTRUTURAS  
DE SÍLICA POROSA PARA CARREAMENTO DE COMPOSTOS  
HIDROFÓBICOS**

**ORIENTADOR: PROF. DR. OSWALDO LUIZ ALVES**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA  
POR AMAURI JARDIM DE PAULA, E ORIENTADA PELO PROF.DR. OSWALDO LUIZ ALVES.**

---

**Assinatura do Orientador**

**CAMPINAS  
2012**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

P281p Paula, Amauri Jardim de (1984-).  
Produção de veículos moleculares à base de nanoestruturas de sílica porosa para carreamento de compostos hidrofóbicos / Amauri Jardim de Paula. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Oswaldo Luiz Alves.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Sílica mesoporosa. 2. Nanopartículas coloidais. 3. Carreadores de moléculas. 4. Drogas inteligentes. I. Alves, Oswaldo Luiz. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Production of molecular vehicles based on porous silica nanostructures for transportation of hydrophobic molecules

**Palavras-chave em inglês:**

Mesoporous silica  
Colloidal nanoparticles  
Nanocarriers  
Drug-delivery

**Área de concentração:** Química Inorgânica

**Titulação:** Doutor em Ciências

**Banca examinadora:**

Oswaldo Luiz Alves [Orientador]  
Adley Forti Rubira  
Flávio Maron Vichi  
Maria do Carmo Gonçalves  
Edvaldo Sabadini

**Data de defesa:** 16/08/2012

**Programa de pós-graduação:** Química



*Dedico essa tese ao meu avô Ernesto, um ser iluminado,  
cuja bondade e amor me inspirarão sempre.*



## AGRADECIMENTOS

- Aos que me possibilitaram tudo, meus amados pais, Martinha e Amauri, minhas tias Maria Emília e Maria Luiza, minhas avós Adier e Antônia, e meu irmão Ricardo. Vocês foram e serão os responsáveis por todas as conquistas.
- À minha amada Gis, a dádiva do destino que completa minha existência. Sua presença traz beleza à vida e o esvaecimento à tristeza.
- Ao mestre, Professor Oswaldo Luiz Alves, pelos valiosos ensinamentos, oportunidades e orientação. Nesses últimos anos, procurei ser um ouvinte atento, um debatedor sincero e um aluno à altura de sua inteligência e capacidade.
- Ao meu amigo, Professor Antônio Gomes Souza-Filho, pelos ótimos momentos e proveitosas lições providas. Sua passagem pelo Instituto de Química de fato influenciou uma geração de alunos.
- Aos Professores Fernando Galembeck, Giselle Zenker e Nelson Duran, pelas contribuições e ensinamentos que foram imprescindíveis para a concepção desse trabalho.
- Aos meus outros irmãos adquiridos ao longo da vida: Alexandre Barros, Ana Carolina Mazarin, Andréia Fonseca, Bruno Santos, Carlos Eduardo Andrade, Carolina Martins, Camila Marchetti, Danilo Froner, Diego Riter, Diego Stéfani, Elias Berni, Emerson Pereira, Flávio de Oliveira, Gabriel de Lemos, Guilherme Botino, João Henrique, João Petrucci, Junko Tsukamo, Marcelo Delmonde, Márcio Yto, Mariana Pellegrini, Murilo Froner, Paulo



Sérgio Amaral, Pedro Henrique Queiroz, Rafaella do Nascimento, Raphael Holtz, Renan Almeida, Roberto Araújo, Rosana Alencar, Thiago Silva, Vitor Lacerda e Welber Carreira.

- Aos meus amigos Carlos Leite e Luciano Montoro, pela paciência e ensinamentos envolvendo a microscopia de transmissão.
- Ao CNPq, pelo suporte financeiro oferecido ao nosso grupo de pesquisa.
- Ao Instituto Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Materiais Complexos Funcionais, pelo suporte e apoio financeiro.
- À FAPESP, pelo financiamento de minha bolsa de estudos e outros tipos de suportes oferecidos.
- Aos professores e funcionários do Instituto de Química, por criar e sustentar uma ilha de excelência científica e aprendizado, que oferece aos alunos grandes oportunidades e as mais altas referências de qualidade.
- Finalmente, aos visionários criadores e mantenedores de uma das maiores riquezas existentes em nosso país, a Universidade Estadual de Campinas.

# SÚMULA CURRICULAR

## **Dados pessoais:**

**Nome:** Amauri Jardim de Paula

**Email:** [amaurijp@gmail.com](mailto:amaurijp@gmail.com)

## **Formação acadêmica:**

### **Doutorado em Ciências (Agosto/2009 – Julho/2012)**

Área: Química Inorgânica

Local: Laboratório de Química do Estado Sólido (LQES), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brasil.

*Título da Tese: Produção de veículos moleculares à base de nanoestruturas de sílica porosa para carreamento de compostos hidrofóbicos.*

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Luiz Alves

### **Mestrado em Química (Março/2006 – Fevereiro/2008)**

Área: Química Tecnológica

Local: Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

*Título da dissertação: Síntese de templates para aplicação em piezocerâmicas livres de chumbo.*

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Zaghete Bertochi

### **Bacharelado em Química Tecnológica (Março/2002 – Dezembro/2007)**

Local: Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

### **Bacharelado em Química (Março/2002 – Dezembro/2005)**

Local: Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

## **Produção bibliográfica:**

### **Artigos científicos:**

1. Paula, A. J., Montoro, L. A., Souza-Filho, A. G., Alves, O. L.  
Towards long-term colloidal stability of silica-based nanocarriers for hydrophobic molecules: beyond the Stöber method. *Chemical Communications*, v.48, p.591 - 593, 2012.
2. Stefani, D., Paula, A. J., Vaz, B. G., Silva, R. A., Andrade, N. F., Justo, G. Z., Ferreira, C. V., Souza-Filho, A. G. Souza, Eberlin, M. N., Alves, O. L.  
Structural and proactive safety aspects of oxidation debris from multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials*, v.189, p.391 - 396, 2011.
3. Paula, A. J., Stéfani, D., Souza-Filho, A. G., Kim, Y. A., Endo, M., Alves, O. L.  
Surface Chemistry in the Process of Coating Mesoporous SiO<sub>2</sub> onto Carbon Nanotubes Driven by the Formation of Si-O-C Bonds. *Chemistry-an European journal*, v.17, p.3228 - 3237, 2011.
4. Paula, A. J., Parra, R., Zaghete, M. A., Varela, J. A.  
Study on the K<sub>3</sub>Li<sub>2</sub>Nb<sub>5</sub>O<sub>15</sub> formation during the production of (Na<sub>0.5</sub>K<sub>0.5</sub>)(1-x)Li<sub>x</sub>NbO<sub>3</sub> lead-free piezoceramics at the morphotropic phase boundary. *Solid State Communications*, v.149, p.1587 - 1590, 2009.
5. Paula, A. J., Cavalheiro, A. A., Bruno, J. C., Zaghete, M. A., Longo, E., Varela, J. A.  
A homovalent doping in PMN ceramics by using lithium and scandium cations. *Materials Chemistry and Physics*, v.112, p.886 - 891, 2008.
6. Paula, A. J., Zaghete, M. A., Longo, E., Varela, J. A.  
Microwave-Assisted Hydrothermal Synthesis of Structurally and Morphologically Controlled Sodium Niobates by Using Niobic Acid as a Precursor. *European Journal of Inorganic Chemistry*, v.2008, p.1300 - 1308, 2008.
7. Paula, A. J., Parra, R., Zaghete, M. A., Varela, J. A.  
Synthesis of KNbO<sub>3</sub> nanostructures by a microwave assisted hydrothermal method. *Materials Letters*, v.62, p.2581 - 2584, 2008.

# Produção de veículos moleculares à base de nanoestruturas de sílica porosa para carregamento de compostos hidrofóbicos

## RESUMO

Partindo-se do método de Stöber, um elegante e eficiente processo de síntese de partículas coloidais de  $\text{SiO}_2$ , adaptações foram feitas para que fosse possível produzir nanopartículas porosas (50-80 nm) com alto valor de área de superfície ( $\sim 1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), volume de poros ( $\sim 1,5 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$ ) e alta estabilidade coloidal. As nanoestruturas são compostas de nanopartículas coloidais de sílica hierarquicamente funcionalizadas, com poros internos com estrutura desordenada e diâmetros que vão de 1,8 a 10 nanômetros, funcionalizados com grupos fenil, e superfície externa recoberta com grupos propilmetilfosfonato ionizáveis. A funcionalização hierárquica e quimicamente antagônica (hidrofóbica = poros internos; hidrofílica = superfície externa) permite que moléculas hidrofóbicas (baixa solubilidade em água) sejam facilmente incorporadas nas cavidades porosas hidrofóbicas, ao passo que as partículas se mantêm de forma estável dispersas em água por meses. Moléculas hidrofóbicas foram incorporadas pelas nanopartículas porosas de  $\text{SiO}_2$  em concentração de até 3% (m/m) através da mistura de suspensões coloidais aquosas desses nanomateriais e as moléculas insolúveis (pós). A capacidade de incorporação da molécula hidrofóbica em questão (camptotecina) foi significativamente maior que outros sistemas porosos de  $\text{SiO}_2$  que estão sendo atualmente usados. A eficiência dos veículos moleculares foi comprovada através do carregamento da camptotecina, um potente agente antitumoral que levou à inibição do crescimento de células leucêmicas humanas. Além disso, as abordagens sintéticas usadas nessa Tese também possibilitaram a funcionalização da superfície externa das nanopartículas com outros grupos orgânicos hidrofílicos e reativos, como o propilamina. Consequentemente, as características dessas nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  aqui mostradas preenchem uma série de demandas científicas atuais: a necessidade de nanoestruturas porosas de sílica com ampla distribuição de tamanho de poro, com morfologia homogênea, estreita distribuição de tamanhos e com real dispersibilidade em água (coloidais). Assim, o conjunto de propriedades apresentado abre perspectivas envolvendo o uso desse sistema como uma plataforma tecnológica suscetível a várias aplicações, servindo como um veículo para dispersão e liberação de moléculas hidrofóbicas em meio aquoso.



# Production of molecular vehicles based on porous silica nanostructures for transportation of hydrophobic molecules

## ABSTRACT

Based on the Stöber method, an elegant and efficient process for synthesizing SiO<sub>2</sub> colloidal nanoparticles, modifications were done in order to produce porous nanoparticles (50-80 nm) with high surface area ( $\sim 1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), volume of pores ( $\sim 1,5 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$ ) and high colloidal stability. The nanostructures are made of hierarchically functionalized colloidal silica nanoparticles, with internal pores with disordered structure and diameters ranging from 1.8 to 10 nanometers, functionalized with phenyl groups; and external surface covered with ionizable propylmethylphosphonate groups. The hierarchical and chemically antagonistic functionalization (hydrophobic = internal pores; hydrophilic = external surface) allows hydrophobic molecules (low solubility in water) to be easily incorporated in the hydrophobic porous cavities, whereas particles maintain stably dispersed in water for months. Hydrophobic molecules were incorporated by the porous SiO<sub>2</sub> nanoparticles in concentrations up to 3% (w/w) simply by mixing colloidal aqueous suspensions of these nanomaterials and insoluble molecules (powders). The uptake capacity for a specific hydrophobic molecule (camptothecin) was significantly higher than in other porous systems of SiO<sub>2</sub> that have been currently used. The efficiency of the molecular vehicles was evidenced through the transportation of camptothecin, a potent antitumoral agent which led to the growth inhibition of human leukemic cells. Besides, the synthetic approach used in this thesis also made possible the functionalization of the external surface of nanoparticles with other hydrophilic and reactive organic groups, such as propylamine. Consequently, the characteristics of these SiO<sub>2</sub> nanoparticles here shown fulfill several current scientific demands: necessity of porous silica nanostructures with a wide distribution of pore sizes, homogeneous morphology, narrow size distribution and real dispersibility in water (colloidal). Thereby, this set of properties opens up perspectives involving the use of this system as a technological platform susceptible to several applications, acting as a vehicle for the dispersion and liberation of hydrophobic molecules in aqueous media.



# ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS .....	xix
LISTA DE TABELAS.....	xxiii
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>9</b>
2.1. Estruturas porosas de SiO <sub>2</sub>	10
2.2. Formação das mesofases inorgânico-orgânicas	12
2.3. Mecanismos dos arranjos supramoleculares	14
2.4. O efeito de cosolventes na síntese do SiO <sub>2</sub> mesoporoso	17
2.5. Método sol-gel de síntese de nanopartículas mesoporosas e coloidais de SiO <sub>2</sub>	21
2.6. Funcionalização de nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub>	23
2.7. Drogas inteligentes a base sílica mesoporosa	26
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
3.1. Objetivos específicos	31
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
4.1. Materiais	33
4.2. Síntese das nanocápsulas porosas de SiO <sub>2</sub>	34
4.3. Síntese das nanopartículas coloidais e porosas de SiO <sub>2</sub>	35
4.4. Funcionalização hidrofóbica dos poros das nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub>	36
4.5. Funcionalização hidrofílica da superfície externa das nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub>	39
4.6. Otimização da superfície interna hidrofóbica	42
4.7. Extração do “soft-template” (CTAB)	43
4.8. Caracterizações físico-químicas	43
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
5.1. Estudo sobre a extração do CTAB	47
5.2. Síntese de nanocápsulas e nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub>	49
5.3. Funcionalização interna das nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub> com grupos hidrofóbicos	59
5.4. Funcionalização da superfície externa das nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub> com grupos propilmetilfosfonato	70



5.5.	Funcionalização da superfície externa das nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub> com grupos propilamina	77
5.6.	Avaliação da estabilidade coloidal das nanopartículas funcionalizadas, porosas e coloidais de SiO <sub>2</sub>	83
5.7.	Otimização da superfície interna hidrofóbica das nanopartículas funcionalizadas, porosas e coloidais de SiO <sub>2</sub>	86
5.8.	Incorporação de moléculas hidrofóbicas nos veículos moleculares a base de nanopartículas de SiO <sub>2</sub>	93
5.9.	Atividade antitumoral dos nanomateriais coloidais a base de sílica porosa incorporados com camptotecina	96
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>101</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>105</b>
<b>8.</b>	<b>APÊNDICE .....</b>	<b>117</b>
8.1.	Modos vibracionais nos espectros de FTIR	117
8.2.	Diagrama de funcionalizações das nanopartículas de SiO <sub>2</sub>	118
8.3.	Características físico-químicas das nanopartículas de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato	121
8.4.	Ensaio de citotoxicidade (K562 e K562-Lucena)	122
8.5.	Descrição da técnica de STEM-HAADF	123

# LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Diagrama esquemático mostrando a compatibilização interacional entre óxidos nanoestruturados e entidades biológicas, alcançada devido à miniaturização dos materiais. 5
- Figura 2:** Estrutura química de todas as funcionalizações promovidas nas nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub>. As referências nos átomos estão relacionadas aos picos nos espectros de RMN mostrados a seguir. .... 46
- Figura 3:** (a) Análises termogravimétricas e (b) Espectros de infravermelho das amostras de SiO<sub>2</sub> (NC-1) obtidos logo após a síntese e após a extração do CTAB. .... 48
- Figura 4:** Micrografias (TEM) das amostras: (a) e (b) NC-1, (c) NC-2 e (d) NC-4. .... 51
- Figura 5:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas (NC-1) e nanocápsulas (NC-2 e NC-4) de SiO<sub>2</sub>. .. 52
- Figura 6:** Micrografias (MEV) das amostras: (a) NP-1, (b) NP-2, (c) NP-3 e (d) NPC-1.. 55
- Figura 7:** (a) Micrografia (TEM) e (b) análise de DLS da amostra NP-1. .... 56
- Figura 8:** Suspensões das nanoestruturas de SiO<sub>2</sub> em água deionizada (1,0 mg mL<sup>-1</sup>). .... 57
- Figura 9:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro da amostra de nanopartículas coloidais e porosas (NP-1). .... 58
- Figura 10:** Espectros de (a) FTIR e (b) RMN de <sup>13</sup>C das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF). .... 61
- Figura 11:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF). .... 63
- Figura 12:** (a) Medida de tamanho de partícula por DLS das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF). (b) Imagem obtida por microscopia ótica da amostra NF. .... 65
- Figura 13:** (a) Análises de TGA e (b) DTA das nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF). .... 66
- Figura 14:** Espectros de RMN de <sup>29</sup>Si das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos fenil (NF). .... 67
- Figura 15:** Micrografias (TEM) das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos fenil (NF), tomadas em modo de campo claro ((a) e (c)), e campo escuro anular de alto ângulo ((b) e (d)), respectivamente. As distribuições de tamanho de partícula das amostras NP-1 e NF estão inseridas nas imagens de campo claro (a) e (c), respectivamente. .... 69
- Figura 16:** (a) Espectros de FTIR e de (b) RMN das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos com grupos fenil e propilmetilfosfonato. .... 73

<b>Figura 17:</b> (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. ....	74
<b>Figura 18:</b> (a) Medidas de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. (b) Medidas de potencial zeta em função do pH das suspensões de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. (c) Micrografia (TEM) e distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-P2 (obtida através de análises das imagens, gráfico inserido). ....	76
<b>Figura 19:</b> Análises de TGA das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas medidos logo após a síntese e após a extração do CTAB. ....	79
<b>Figura 20:</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos com grupos fenil e propilamina. ....	80
<b>Figura 21:</b> Espectros de RMN de <sup>29</sup> Si das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil (NF), e com fenil e propilamina (NF-A3). ....	81
<b>Figura 22:</b> (a) Medidas de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilamina. (b) Medidas de potencial zeta em função do pH das suspensões de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilamina. (c) Micrografia (TEM) e distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-A3 (obtida através das análises das imagens, gráfico inserido). ....	82
<b>Figura 23:</b> Estudo da estabilidade coloidal das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1); funcionalizadas com grupos fenil (NF); com grupos fenil e propilmetilfosfonato (NF-P2); e com grupos fenil e propilamina (NF-A3) em: (a) água deionizada, (b) água mineral e (c) água mineral contendo ácido húmico. ....	84
<b>Figura 24:</b> Espectros de RMN de <sup>29</sup> Si das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil propilmetilfosfonato (NF-1-P2 e NF-2-P2). ....	87
<b>Figura 25:</b> (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. ...	88
<b>Figura 26:</b> Micrografias (TEM) das amostras: (a) NF-1-P2 e (b) NF-2-P2. A distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-1-P2, obtida através das análises das imagens, está inserida na respectiva micrografia. ....	89
<b>Figura 27:</b> Estudo de estabilidade coloidal das amostras de nanopartículas de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato (NF-P2 e NF-1-P2) em diferentes meios: (a) água deionizada, (c) água mineral e (e) ácido húmico dissolvido em água mineral. Micrografias (TEM) da amostra NF-1-P2 após 1 mês (720 horas) de suspensão em (b) água deionizada, (d) água mineral e (f) ácido húmico dissolvido em água mineral. ....	90
<b>Figura 28:</b> Micrografias (TEM) das amostras de nanopartículas coloidais de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato (amostra NF-1-P2), obtidas em modo de (a, e c) campo claro por STEM, (e) campo claro por TEM, (b e d) campo escuro anular de alto ângulo por STEM e (f) imageamento por energia filtrada (carbono) por TEM. ....	92

- Figura 29:** Fotografia das suspensões das amostras NF-1-P2 e NP-1 em água quando misturadas com curcumina. .... 94
- Figura 30:** Espectros de absorção UV-Visível da solução de (a) curcumina em etanol e (b) camptotecina em metanol ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); das (a e b) suspensões da amostra NF-1-P2 em água deionizada ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ); e das suspensões da amostra NF-1-P2 ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) incorporada com (a) curcumina e (b) camptotecina. As curvas de calibração e as estruturas químicas das duas moléculas foram inseridas nos gráficos..... 95
- Figura 31:** Curvas de inibição de crescimento celular para células eritroleucêmicas humanas do tipo (a) K652 e (b) K562-Lucena, avaliadas em presença de uma solução de camptotecina em DMSO, nanopartículas porosas de  $\text{SiO}_2$  (amostra NF-1-P2), e nanopartículas porosas de  $\text{SiO}_2$  (NF-1-P2) incorporadas com camptotecina..... 98
- Figura 32:** Modelo esquemático com um corte transversal das nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  mostrando a funcionalização hierárquica com grupos octil e fenil (na estrutura interna dos poros, representados pela cor amarela); e com grupos propilmetilfosfonato ou propilamina (na superfície das nanopartículas, representados pela cor cinza)..... 118
- Figura 33:** Diagrama de raio da técnica de microscopia eletrônica de transmissão em modo varredura (STEM) com detecção de campo claro (BF) e campo escuro anular de alto ângulo (HAADF). Adaptação de Williams e Carter, *Transmission Electron Microscopy*, 2009. . 124



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Parâmetros usados nas sínteses das amostras de nanocápsulas de SiO <sub>2</sub> . .....	34
<b>Tabela 2:</b> Parâmetros usados nas sínteses das amostras de nanopartículas de SiO <sub>2</sub> . .....	35
<b>Tabela 3:</b> Parâmetros usados na funcionalização hidrofóbica das nanopartículas de SiO <sub>2</sub> . 38	
<b>Tabela 4:</b> Parâmetros da funcionalização da superfície externa das nanopartículas de SiO <sub>2</sub> . .....	40
<b>Tabela 5:</b> Parâmetros da funcionalização da superfície externa das nanopartículas de SiO <sub>2</sub> . .....	41
<b>Tabela 6:</b> Otimização da superfície interna hidrofóbica das nanopartículas de SiO <sub>2</sub> .....	42
<b>Tabela 7:</b> Relação dos modos vibracionais das amostras desse estudo.....	117
<b>Tabela 8:</b> Lista das amostras de nanopartículas e suas respectivas funcionalizações .....	119
<b>Tabela 9:</b> Resumo dos resultados obtidos para as amostras de nanopartículas porosas de SiO <sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato.....	121





# 1. INTRODUÇÃO

Muitos dos maiores anseios científicos e tecnológicos desse início de século estão relacionados direta ou indiretamente à nanociência e nanotecnologia. Por mais que significativas descobertas já tenham sido alcançadas até o momento, a potencialidade inexplorada dessas áreas só é menor do que a quantidade de estudos a serem feitos para elucidarmos completamente os mecanismos de síntese, funcionalidade e aplicabilidade de sistemas na escala de tamanho nanométrico. É sabido que dentro dessa escala, as propriedades magnéticas, eletrônicas, óticas e catalíticas estão diretamente relacionadas às dimensões das partículas<sup>1</sup>. Dessa forma, o controle sobre a composição e tamanho de nanoestruturas já potencializou significativos avanços em nossa sociedade. A microeletrônica foi uma delas. O enorme ganho de capacidade de processamento de dados dos computadores só foi possível devido à diminuição exorbitante no tamanho dos transistores, os quais passaram de 10  $\mu\text{m}$  nos primeiros processadores, para a escala de 32 nm nos atuais<sup>2</sup>.

Atualmente, o grande foco da pesquisa relacionada à nanotecnologia é a criação de sistemas que tenham propriedades controladas para que sejam suscetíveis a uma aplicação específica. Para isso, faz-se necessário o desenvolvimento de processos químicos, físicos e físico-químicos que consigam produzi-los com boa estabilidade e homogeneidade, e com morfologia e estrutura apropriadas. Essa tarefa vem demandando intermináveis esforços de grande parte da comunidade científica internacional. A produção dos nanotubos de carbono (NTC) exemplifica essa ideia. Tais nanoestruturas foram sistematicamente identificadas primeiramente em 1991<sup>3</sup> e os estudos envolvendo as metodologias de síntese estão longe de



terminarem<sup>4-5</sup>. Dentre as metodologias comumente usadas, as sínteses por Descarga de Arco Elétrico<sup>6</sup>, Ablação a Laser<sup>7</sup> e Deposição Química de Vapor<sup>8</sup> ainda apresentam limitações no que diz respeito ao rendimento, pureza ou distribuição dos diâmetros dos tubos. Conseqüentemente, independentemente da técnica usada, a obtenção dos nanotubos com alta pureza, diâmetro, estrutura e comprimento controlados ainda é um fator crítico para determinadas aplicações ou até mesmo para estudos fundamentais.

Além dos limites tecnológicos citados acima, existe outro obstáculo a ser encarado: os limites físicos e químicos intrínsecos impostos aos nanomateriais. Uma vez que o tamanho é diminuído, as propriedades relacionadas ao volume da partícula diminuem ou até desaparecem, como uma consequência da incompatibilidade da relação tamanho/propriedade. Nesse contexto, dois importantes fatores controlam as propriedades do material nanométrico. O primeiro é o aumento do confinamento quântico dos elétrons quando as partículas atingem tamanhos da ordem do comprimento de onda dos elétrons. O segundo é o efeito causado pela disposição majoritária de átomos na superfície das partículas. Os dois efeitos exercem enorme influência sobre a energia total e, Conseqüentemente, na estabilização do sistema. A minimização da energia total ocorre através de mudanças na distribuição de cargas ao longo de todo o volume da partícula, da superfície ao seu interior<sup>9,10</sup>. Esses efeitos singulares oriundos da manipulação da matéria em nível próximo do molecular são imprescindíveis para explicar as características diferenciadas dos materiais em escala nanométrica quando comparados com aqueles em escala macroscópica, como por exemplo, a energia de superfície, capacidade catalítica, ressonância plasmônica e o superparamagnetismo.

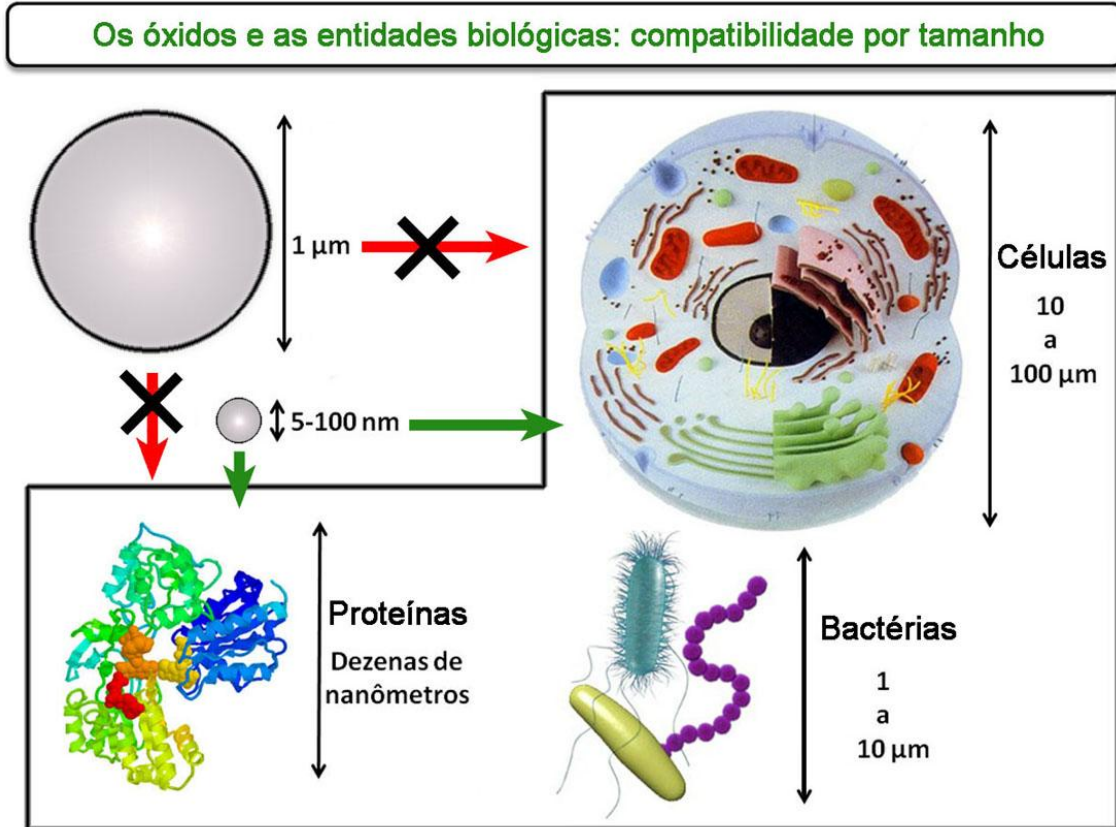


O crescimento dos estudos em nanotecnologia foi resultado de uma combinação única entre oportunidade científica e aprimoramento tecnológico. Seu desenvolvimento inicial esteve ligado principalmente aos seus impactos na eletrônica. Conforme já citado anteriormente, a produção de sistemas nanométricos nos circuitos eletrônicos integrados já promoveu, indiscutivelmente, uma completa revolução em nosso mundo através de melhorias no processamento de informações e nas comunicações. Esse progresso alcançado já havia sido previsto quando Gordon Moore mencionou que cada vez que se diminuísse o tamanho de um dispositivo microeletrônico, esse se tornaria mais eficiente, passaria a ter um menor preço, e também se tornaria mais portátil<sup>11</sup>. Entretanto, nem tudo que foi influenciado pela nanotecnologia sofreu revoluções tão rápidas e previsíveis quanto a eletrônica. Esse é o caso da biologia.

A influência da nanotecnologia na biologia tem sido diferente de todas as outras áreas do conhecimento por duas razões. Primeiramente, devido às interações complexas que ocorrem em um determinado processo biológico, no qual, indubitavelmente, os nanomateriais devem interagir e manter toda a integridade do mesmo e não prejudicar nenhum outro processo paralelo. Para garantir isso, exaustivos estudos são necessários para comprovar a eficiência e a não toxicidade dos materiais usados. Há também o fato que a microscopia de ponta de prova (AFM, STM), que foi a precursora de toda a revolução nanotecnológica na microeletrônica, não foi tão impactante para a biologia quanto foi para a física. As estruturas biológicas são macias, eletricamente isolantes e difíceis de serem captadas por imagem<sup>12</sup>. Além disso, praticamente todas as estruturas biológicas se mantêm dentro de células, onde a ponta de prova não pode ser inserida sem que haja modificações e/ou danos estruturais. Considerando esses fatos, e também o dinamismo existente em um

determinado ciclo funcional de uma célula, visualizar e estudar essas estruturas são atualmente os maiores desafios impostos à nanotecnologia pela biologia. Todavia, todas essas dificuldades inerentes não estão impedindo os pesquisadores de alcançarem importantes avanços. O uso de nanopartículas esféricas ocas (lipossomas), constituídas de dupla camada lipídica similares às membranas biológicas, para melhorar a eficácia e a segurança de diferentes drogas pode ser usado para comprovar essa afirmação. Estudos feitos no início do século XXI mostraram a entrega seletiva do agente anticâncer doxorubicina encapsulado em lipossomas contendo polietileno glicol (PEG) em pacientes com carcinoma de mama em estado metastático, resultando em um aumento substancial de sobrevivência dos pacientes<sup>13</sup>. Outros estudos clínicos também mostraram efeitos impressionantes contra carcinomas hepatocelulares<sup>14</sup>, linfomas cutâneos de célula-T<sup>15</sup> e sarcomas<sup>16</sup>. Além disso, a biologia ainda pode se beneficiar desses nanomateriais em aplicações como: entrega de genes, imageamento para diagnósticos e transporte de proteínas e peptídeos<sup>17</sup>. Esses são apenas alguns de incontáveis exemplos a serem dados.

Um conhecimento bem estabelecido pela Química Inorgânica e Físico-Química está se combinando às múltiplas ferramentas sintéticas da Química Orgânica com o principal objetivo de resolver grandes problemas da biologia. Necessário se faz ainda contar com a complementaridade de outras, como a Bioquímica, Física e Engenharias. Como se observa, a difusão de conteúdos de áreas tão distintas na classificação do conhecimento humano, hoje observada, não tem precedente. Nesse contexto, a biologia e a medicina estão se beneficiando do desenvolvimento nanotecnológico principalmente através do uso de estruturas complexas e funcionais.



**Figura 1:** Diagrama esquemático mostrando a compatibilização interacional entre óxidos nanoestruturados e entidades biológicas, alcançada devido à miniaturização dos materiais.

Os materiais a base de óxidos insolúveis em água que foram minimamente usados até agora em aplicações biológicas adentraram em um novo paradigma. A principal incompatibilidade baseada no tamanho, que limitava a interação destes com as entidades formadoras da estrutura biológica funcional, a célula, está sendo agora superada (Figura 1). Partículas de óxidos inorgânicos tiveram seus tamanhos reduzidos e suas superfícies modificadas quimicamente para interagirem com as biomoléculas e suas consequentes estruturas. Como em um estado intermediário entre o molecular e o sólido, as nanopartículas inorgânicas combinam uma acessibilidade química em solução com as propriedades físicas manifestadas nos grandes conglomerados atômicos (fase “bulk”). Assim, propriedades singulares desses materiais como

o paramagnetismo, fotoluminescência, fotocatalise, porosidade e condutividade térmica e elétrica estão sendo agora amplamente utilizadas no contexto biológico.

Inexoravelmente, os processos de criação dos nanomateriais e sua aplicação biológica requerem uma ampla abordagem acerca da construção da matéria, não se restringindo apenas aos conceitos provenientes da teoria de ligação química estabelecida ao longo do século XX. É necessária a incorporação das interações fracas existentes entre átomos e moléculas. Essas forças intermoleculares em questão são resultado de acúmulo de cargas elétricas ou flutuações quânticas que culminam em campos de forças penetrantes aos corpos, os quais terão ação dependente da distância existente entre eles. Primordialmente, esses fenômenos ganharam muita consistência na Química com a cristalização da Química Supramolecular, iniciada pelos trabalhos de Donald J. Cram<sup>18</sup>, Jean-Marie Lehn<sup>19</sup> e Charles J. Pedersen<sup>20</sup>. Essas interações intermoleculares, generalizadas como eletrostáticas, de van der Waals e ligações de hidrogênio, quando manifestadas de forma combinada, são responsáveis pela organização mais avançada da matéria: a matéria mole que estrutura a vida. Dessa forma, os conceitos básicos estabelecidos por esses cientistas através das observações feitas acerca do comportamento interacional de determinados tipos de moléculas, servem hoje para nortear o estudo de manifestações extremamente complexas envolvendo entidades químicas, como, por exemplo, as proteínas.

O fenômeno de interação intermolecular é modelado através do equacionamento de forças separadas, cada uma com alcances e energias característicos. Os modelos também são energeticamente hierárquicos em função da distância entre os corpos, por exemplo, as interações coulombianas (eletrostáticas) têm sua energia variando em função de  $d^{-1}$ , onde “d” é a



distância entre as cargas pontuais. Entretanto, apesar de sabermos que o comportamento dos nanomateriais no meio biológico (onde são inseridos para exercerem determinada função) dependerá desses fenômenos interacionais já modelados pela física e química, os efeitos biológicos iniciados através dessas interações ainda são imprevisíveis. Para exemplificar, foi observado que há variação de efeitos biológicos de alta complexidade como a complicação da gravidez em ratos, simplesmente em função das características químicas de um pequeno grupo orgânico ligado covalentemente à superfície de nanopartículas<sup>21</sup>. Portanto, se percebe sob uma análise detalhada que os fenômenos físicos e químicos ocorrentes na interface nanoestrutura-meio biológico são responsáveis por uma série de efeitos complexos que até agora são imprevisíveis, mas que nortearão todas as aplicações nanobiotecnológicas.

Se tratando de nanoestruturas a base de óxidos inorgânicos, o ambiente microquímico da superfície desses sistemas passa a ser tão ou mais importante que as próprias características intrínsecas ao material: cristalinidade, morfologia, pureza, porosidade, etc. Consequentemente, na atual etapa de desenvolvimento dos nanomateriais aplicados à biologia (nanobiotecnologia), a arquitetura da superfície de nanoestruturas emerge como ponto central para o avanço da área. Acompanhando esse desenvolvimento junto com as perspectivas dos materiais a base de óxidos inorgânicos sob o olhar científico proveniente da nanotecnologia, constata-se que os desafios atuais adentraram em uma nova etapa que envolve o aprimoramento das nanoestruturas através de abordagens científicas mais pautadas na Complexidade, levando em conta a presença de múltiplos elementos, complementaridade, interação e integração.





## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Considerando a vasta classe de óxidos inorgânicos, no desenvolvimento nanotecnológico, destaque foi dado ao óxido de zinco (ZnO), dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), óxidos de ferro (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), dióxido de silício (SiO<sub>2</sub>), fosfato de cálcio (Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) e algumas argilas; principalmente devido a suas características químicas e estruturais, e suas consequentes propriedades. Para aplicações nanobiotecnológicas, sem dúvida alguma, o dióxido de silício (ou sílica) ocupa hoje uma posição de grande destaque. Possui estabilidade química e física, se dispersa estavelmente em água e é considerado biocompatível. Como a sílica possui transparência ótica, ela pode ser utilizada como um material isolante em sistemas híbridos, protegendo núcleos de partículas luminescentes e superfícies do contato com o meio. A variedade de estruturas cristalinas, morfologias e aplicações envolvendo o SiO<sub>2</sub> se reflete no volume de pesquisas sobre esse composto. Com exceção da água (H<sub>2</sub>O), a sílica foi o composto mais estudado pelo homem<sup>22</sup>. Sua utilidade científica e tecnológica fez com que um enorme interesse mundial fosse vinculado a esse composto. Acompanhando a evolução científica da área, o Brasil gerou grandes contribuições com estudos sobre sistemas à base de sílica, bem como, a química e física relacionadas ao tema foram muito bem elucidadas.

Na evolução das pesquisas envolvendo o dióxido de silício, sem dúvida alguma, um marco científico e tecnológico foi conquistado com a abordagem metodológica introduzida no início da década de 90 (1992)<sup>23-24</sup>, que demonstrou a possibilidade de formação de estruturas mesoporosas de SiO<sub>2</sub> com diâmetro de poro controlado. Além disso, a utilização de moldes supramoleculares para a geração dos poros introduzida nesses trabalhos foi extrapolada para várias outras áreas e contextos científicos.



## 2.1. Estruturas porosas de SiO<sub>2</sub>

A síntese de materiais porosos com estrutura e arquitetura de poros controladas tem dado o suporte necessário para inúmeros avanços nas áreas de catálise, sensores e separação. Para essas aplicações, os sistemas usados apresentam vários tipos de interação entre a matriz-porosa e moléculas de diferentes tipos e tamanhos, as quais especificam as características de poro necessárias como: arranjo estrutural, ordenamento e dimensão. No caso das zeólitas (minerais a base de aluminosilicatos) e outros materiais microporosos que possuem poros menores que 2,0 nm<sup>25</sup>, suas cavidades ficam restritas à interação com moléculas pequenas. Se tratando das necessidades de processamento de compostos maiores como produtos biológicos e de petróleo<sup>26-28</sup>, a descoberta e aperfeiçoamento das mesoestruturas que possuem cavidades da ordem de poucos nanômetros (2-10 nm) se tornou imprescindível para o progresso tecnológico e industrial.

De fato, os materiais mesoestruturados foram inicialmente produzidos há apenas poucas décadas. As argilas pilarizadas (“pillared clays”), com poros de até aproximadamente 2,0 nm, foram extensivamente estudadas a partir da década de 1980. Entretanto, seus poros retangulares nunca puderam ser construídos totalmente abertos, de forma que reagentes e produtos não podem fluir facilmente através do material<sup>26</sup>. Além disso, a distribuição de tamanho dos poros é ampla e o arranjo é desordenado. Nesse contexto, o uso de moléculas (ex: surfactantes, nomeados “soft-templates”) com a finalidade de produzir estruturas porosas maiores foi primeiramente apresentado ao longo da década de 90<sup>23-24</sup>.

Esse avanço foi obtido com a síntese de silicatos mesoestruturados através do uso do cloreto de cetiltrimetilamônio (C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl) como



“molde” para gerar os poros. A premissa usada nos estudos foi a de que o arranjo supramolecular desse surfactante em solução aquosa poderia ser usado para arquitetar a formação de poros na sílica ( $\text{SiO}_2$ ) com grandes volumes, ordenadamente dispostos na matriz e com estreita faixa de distribuição de tamanhos. Consequentemente, foi obtida uma alta área de superfície ( $>1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ). Além disso, a estrutura e o tamanho dos poros poderiam ser arquitetados em função do tipo de molde molecular e das condições em que são usados, as quais geram diferentes tipos de organizações supramoleculares em solução.

Com o desenrolar da década de 90, os estudos propondo novos métodos para controlar a estrutura de mesoporos foram destaques nas principais revistas científicas mundiais. Nesse processo, os surfactantes foram os “soft-templates” mais usados na produção de materiais mesoporosos. Na maioria dos casos eles se apresentam como uma solução límpida e homogênea em meio aquoso. Dentre os tipos de surfactantes possíveis, têm-se usado principalmente os surfactantes catiônicos<sup>23, 29</sup>, aniônicos<sup>30</sup> e não-iônicos<sup>31</sup>; sendo que muito poucos surfactantes anfotéricos foram utilizados<sup>32</sup>.

No caso dos silicatos, durante a síntese, o fenômeno de auto-organização resultante das interações entre os surfactantes e monômeros inorgânicos de silício se dá através de ligações não covalentes como: ligação de hidrogênio, forças de van der Waals e interações eletrostáticas. Ao invés de uma simples superposição de interações fracas, uma organização sinérgica, complexa e integrada ocorre ao longo de toda a solução. A partir desse arranjo, uma grande variedade de materiais mesoporosos com diferentes estruturas podem ser obtidos: poros com arranjo bidimensional (2D) hexagonal de simetria  $P6mm$ , arranjos tridimensionais (3D) hexagonais de

simetria  $P6_3/mmc$ , 3D cúbico de simetria  $Pm-3m$ ,  $Pm-3n$ ,  $Fd-3m$ ,  $Fm-3m$ ,  $Im-3m$ ,  $Ia-3d$ , entre outros<sup>33</sup>.

## 2.2. Formação das mesofases inorgânico-orgânicas

Após a realização de vários estudos investigando a formação e organização das mesoestruturas de silicatos, baseando-se no fenômeno de auto-organização de surfactantes catiônicos, dois mecanismos principais foram propostos: o mecanismo de formação de fase líquido-cristalina e o mecanismo cooperativo de auto-organização entre surfactantes e monômeros de silício<sup>26, 34-36</sup>. No primeiro caso, a formação de semi- ou mesofases verdadeiras de cristais-líquidos necessariamente deve ocorrer, e para isso, geralmente é usada uma alta concentração de surfactantes<sup>37</sup>. A condensação das espécies silicato ( $SiO_4^{4-}$ ) ao redor dos surfactantes é favorecida devido ao confinamento das interfaces inorgânico-orgânicas, e Conseqüentemente, estruturas com características de cerâmicas cristalinas podem ser obtidas. Depois da condensação das espécies inorgânicas, os moldes (“templates”) são removidos através de processos de calcinação ou extração química. As mesoestruturas herdam a simetria e o tamanho das micelas do arranjo cristal-líquido.

No segundo caso, o arranjo supramolecular, baseado nas interações entre os silicatos e surfactantes, gera uma mesofase inorgânico-orgânica que sofre mudanças ao longo do processo reacional. No caso da síntese de mesoestruturas hexagonais ordenadas, o mecanismo pode ser resumido pela formação de arranjos micelares (dos surfactantes catiônicos) com formato de bastões circundados por duas ou três monocamadas de espécies de silício (poliânions de silicato em solução). Os poliânions interagem através de forças



coulombianas com os grupos positivamente carregados do surfactante catiônico dispostos na interface das micelas. As espécies de  $\text{SiO}_4^{4-}$  nessa interface se polimerizam ligando-se entre si, mudando a densidade de carga das camadas inorgânicas. Conforme se processa a reação, o sistema tende a um equilíbrio em função da mudança de densidade de carga nas interfaces inorgânico-orgânicas, levando a uma agregação e compactação espontânea em um arranjo hexagonal de longo alcance, onde há uma menor energia interfacial. No caso de um surfactante não iônico, como o copolímero tribloco Pluronic P123 ( $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}-(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O})_{70}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}-\text{H}$ ), usado para a formação da sílica Santa Bárbara 15 (“Santa Barbara Amorphous No. 15”, SBA-15), foi identificada uma transição contínua de arranjos que variou de micelas esféricas a outras com formato de fios (“thread-like”) e, finalmente, o empacotamento desses fios em fragmentos que se assemelham à morfologia final das partículas de  $\text{SiO}_2$  formadas. A alongação das micelas se dá em consequência da redução de polaridade e do conteúdo de água no seu interior, devido à adsorção e polimerização das espécies silicato.

Nesses mecanismos cooperativos de auto organização, a energia de Gibbs total do processo ( $\Delta G_{\text{total}}$ , Equação 1) é a soma dos coeficientes de energia associados à interação entre as paredes inorgânicas ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) e as micelas ( $\Delta G_{\text{inter}}$ ), à estrutura das cadeias inorgânicas de silicatos que circundam as micelas ( $\Delta G_{\text{fw}}$ ), às forças de van der Waals e a energia de conformação do surfactante ( $\Delta G_{\text{intra}}$ ), e ao potencial químico das espécies em solução ( $\Delta G_{\text{sol}}$ ).

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{inter}} + \Delta G_{\text{fw}} + \Delta G_{\text{intra}} + \Delta G_{\text{sol}} \quad (1)$$

Considerando que, na síntese de mesoestruturas de sílica através da auto-organização de surfactantes, o valor de  $\Delta G_{\text{sol}}$  pode ser considerado

constante<sup>38-39</sup>, a entidade predominante na formação das mesofases orgânico-inorgânicas é a energia relacionada à interação entre as espécies inorgânicas e os surfactantes ( $\Delta G_{\text{inter}}$ ). Nesse contexto, alterações nas interações que ocorrem nessas interfaces passam a ser imprescindíveis para promover a síntese das mesoestruturas.

### 2.3. Mecanismos dos arranjos supramoleculares

Vários tipos de interações podem ocorrer na interface inorgânico-orgânica durante a síntese de mesoestruturas. Nos casos típicos de arranjos baseados em interações coulombianas, simplificada, pode-se representar as interfaces com quatro tipos de organização:  $S^+I^-$ ,  $S^-I^+$ ,  $S^+X^-I^+$  e  $S^-X^+I^-$ , nas quais  $S^-$  indica um surfactante aniônico,  $S^+$  um surfactante catiônico,  $I^-$  as espécies inorgânicas aniônicas,  $I^+$  as espécies inorgânicas catiônicas,  $X^+$  um contra-íon catiônico e  $X^-$  um contra-íon aniônico<sup>29, 39</sup>. Mais especificamente, no caso dos silicatos mesoporosos, a síntese mais usual ocorre em meio básico no qual os ânions silicato ( $I^-$ ) interagem com a cabeça (“head-group”) do surfactante catiônico ( $S^+$ ) em uma organização  $S^+I^-$ . Um produto típico de sínteses com esse tipo de arranjo é a sílica MCM-41 (“Mobil Composition of Matter No. 41”), com poros hexagonais ordenados, a qual é sintetizada com surfactantes catiônicos contendo cadeias alquílicas com terminação amino ( $C_nH_{2n+1}(CH_3)_3N^+$ ). O diâmetro de poro ( $d_p$ ) foi controlado em função do tamanho da cadeia alquílica, a qual teve “ $n$ ” variando de 8 a 16, originando poros com  $d_p$  de 1,8 a 3,7 nm, respectivamente<sup>23</sup>. Maiores valores de  $d_p$  (até 10.0 nm) podem ser atingidos fazendo uso de moléculas orgânicas auxiliares como o mesitileno (1,3,5-trimetilbenzeno), que interage com a cadeia alquílica do surfactante e aumentam o tamanho dos arranjos micelares,



Conseqüentemente, aumentando o diâmetro de poro. Apesar das mesofases com arranjo do tipo  $S^{-}I^{+}$  não serem comumente usadas na síntese de estruturas de sílica mesoporosa, essas foram aplicadas com sucesso na produção de alumina ( $Al_2O_3$ ) mesoporosa, processo no qual cátions de Keggin ( $Al_{13}^{7+}$ ) interagem com surfactantes aniônicos (ex: sal de dodecilbenzenosulfonato)<sup>29</sup>.

O uso de surfactantes aniônicos ( $S^{-}$ ) impossibilita a formação de mesofases com monômeros de silício devido à repulsão entre estes e os silicatos negativamente carregados. Entretanto, o uso de aminoalquilsilanos e derivados<sup>30</sup> (ex:  $NH_3^{+}(CH_2)_3-SiO_3^{3-}$ ) viabiliza o uso de surfactantes aniônicos uma vez que o grupo amina quando protonado ( $-NH_3^{+}$ ) atua como um contra-íon em um arranjo do tipo  $S^{-}N^{+}-I^{-}$ . Essa rota de síntese é feita em meio básico (pH = 8,5–10,2) e é capaz de produzir estruturas bem organizadas como as AMS (“Anionic-Surfactant-Templated Mesoporous Silica”), com diâmetros de poro de 2,0 a 6,2 nm. Além disso, mudanças nos radicais amina do organossilano ou no “head-group” do surfactante modificam o arranjo na interface inorgânico-orgânica, culminando na formação de diferentes estruturas 2D e 3D (hexagonal, lamelar e cúbica).

A síntese de  $SiO_2$  fazendo uso de surfactantes catiônicos ( $S^{+}$ ) e espécies de silício positivamente carregadas ( $I^{+}$ ) também é possível, mas também há a necessidade do uso de contra-íons. Em pHs abaixo do ponto isoelétrico da sílica (<2), as espécies  $Si-OH_2^{+}$  interagem com o  $S^{+}$  em um arranjo  $S^{+}X^{-}I^{+}$  quando contra-íons como o  $Cl^{-}$ ,  $Br^{-}$ ,  $I^{-}$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $NO_3^{-}$  são usados. Os ânions podem afetar a estrutura, regularidade, morfologia e porosidade do material final<sup>40</sup>. Esse arranjo foi usado para a produção não só de estruturas a base de  $SiO_2$  (ex: SBA-1, “Santa Barbara Amorphous No. 1”), como também de fosfatos de zinco lamelares<sup>29</sup>.

Além das interações coulombianas, mecanismos governados por ligações de hidrogênio também podem ser usados para a produção de silicatos mesoestruturados em arranjos do tipo  $N^0I^0$  e  $S^0I^0$ , nos quais  $N^0$  é um surfactante não iônico,  $S^0$  uma amina neutra e  $I^0$  oligômeros de silicatos hidratados oriundos do tetraetilortossilicato (TEOS) em meio neutro<sup>41-42</sup>. A principal vantagem apontada no método usado foi a fácil eliminação dos moldes devido às interações mais fracas com a matriz porosa produzida (quando comparadas com as interações eletrostáticas ocorrentes quando usa-se surfactantes iônicos). Com esse tipo de arranjo, a HMS (“Hexagonal Mesoporous Silica”) foi produzida através do uso de surfactantes em meio aquoso neutro com cadeias alquílicas contendo aminas primárias terminais, e os moldes puderam ser extraídos simplesmente misturando os produtos secos com etanol. Nesse mesmo contexto, um arranjo supramolecular obtido com o copolímero tribloco P123 foi usado para a produção da sílica SBA-15. Entretanto, o arranjo neutro  $S^0I^0$  descrito acima foi modificado em  $S^0H^+X^-I^+$ , formado em pHs ácidos ( $pH < 2$ ) e fazendo uso de contra-íons ( $X^-$ )<sup>31, 43</sup>.

As interações na interface inorgânico-orgânica também podem ser regidas por ligações químicas se o surfactante for um organossilano do tipo  $R^1Si(OR^2)_3$ , com 3 grupos hidrolisáveis e uma cadeia alquílica ligada ao silício (ex:  $C_nH_{2n+1}N(CH_3)_2Si(OC_2H_5)_3$ )<sup>44-45</sup>. Essas espécies podem se ligar entre si e com outras espécies de silicato presentes no meio reacional, formando ligações Si–O–Si, enquanto as cadeias alquílicas ligadas ao silício modelam os poros. Variando o valor de “ $n$ ” e a composição da terminação do surfactante que contém os grupos hidrolisáveis, foi possível controlar não somente o diâmetro de poro, mas também a estrutura porosa dos materiais (lamelar, 2D-hexagonal).



Métodos de síntese não aquosos também foram empregados com sucesso na engenharia de mesoestruturas, especialmente para a produção de filmes-finos, membranas, monolitos e esferas. Dentre eles, o método de auto-organização induzida por evaporação (EISA, “evaporation induced self-assembly”) foi bastante usado<sup>46-48</sup>. Em um caso típico de produção de filmes de sílica mesoestruturada, o TEOS é dissolvido em etanol ou acetonitrila e hidrolisado com quantidades estequiométricas de soluções ácidas (ex: HCl), gerando uma baixa polimerização aleatória de espécies inorgânicas que se auto-organizam ao redor dos surfactantes. Com a evaporação do solvente, as espécies silicato sofrem uma gradativa condensação e polimerização em função do aumento da concentração de ácido. Simultaneamente, ocorre um arranjo organizado dos templates, também em função do aumento de sua concentração no meio. No processo, um controle fino da auto-organização no meio é feito através do uso de solventes de diferentes polaridades. O emprego de solventes de baixa polaridade interfere nas propriedades hidrofílica/hidrofóbica do surfactante, de forma que a auto-organização pode até ser inibida.

#### **2.4. O efeito de cosolventes na síntese do SiO<sub>2</sub> mesoporoso**

Conforme já descrito, as mesofases formadas entre o SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup> e o surfactante podem ser geradas em solução pelo mecanismo de formação de fase cristal-líquida ou pelo mecanismo cooperativo de auto-organização entre surfactantes e monômeros de silício. Em qualquer um dos dois casos, a mesofase resultante tem estrutura cristal-líquida silicatrópica<sup>49</sup>, que é diferente da estrutura cristal-líquida encontrada nas soluções aquosas contendo somente os respectivos surfactantes. Quando há a adição das espécies SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup>, o



comportamento do surfactante na solução é modificado em função das novas interações promovidas com os íons silicato. Exemplificando: quando se mistura uma solução aquosa de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB,  $C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$ ) em concentração de 6,8%-massa, na qual o surfactante está organizado em micelas esféricas, com uma solução 4,4%-massa de silicato em pH 13, a mesofase resultante possui arranjo hexagonal, que é diferente da estrutura micelar inicial (esférica) da solução de surfactante<sup>49</sup>. Essa mesofase pode ser considerada como um cristal-líquido silicatrópico (SLC), no qual a auto-organização passa a ser regida por novas interações eletivas entre a população molecular do surfactante e a de íons silicato.

As mesmas fases líquido-cristalinas obtidas com surfactantes dissolvidos em meio aquoso (ex: CTAB) também são encontradas em soluções com solventes orgânicos polares como a formamida, etileno-glicol e glicerol. Dessa forma, solventes não aquosos ou misturas de solventes podem ser usados a fim de se modificar a estrutura mesoporosa do material através de variações nos arranjos das fases líquido-cristalinas, uma vez que o arranjo supramolecular pode ser seletivamente reorientado fazendo uso de interações específicas com o meio. Considerando o comportamento silicatrópico dos cristais-líquidos formados, os três arranjos estruturais observados entre os surfactantes e as espécies silicato em meio aquoso são: hexagonal (1D), lamelar (2D) e cúbico (3D), que correspondem às fases líquido-cristalinas “H”, “L” e “C”, respectivamente<sup>50</sup>. Quando são usados solventes não aquosos ou misturas de água e cosolventes, diferentes tipos de mesofases podem ser geradas em função da constante dielétrica, capacidade de doação de próton, e outras características dos solventes ou cosolventes. Nesse caso, o primeiro ponto a ser destacado é a mudança da concentração micelar crítica (CMC) em função do tipo de solvente, ou do tipo e quantidade do cosolvente usado na



mistura. Em sistemas aquosos puros contendo CTAB, o valor da CMC é de  $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ , sendo que em concentrações superiores, o surfactante se arranja em micelas mais ou menos esféricas e fortemente hidratadas<sup>51</sup>. Se tratando de uma solução de CTAB em formamida, o valor da CMC é de  $8,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , ou seja, duas ordens de grandeza maior que na água. Essa variação é um exemplo da reorientação do arranjo supramolecular em função de fatores entálpicos e entrópicos.

As transições sucessivas de fases líquido-cristalinas também são alteradas em função do solvente e cosolvente. Em água, concentrações de CTAB acima de 9-11%-massa causam uma alongação das micelas esféricas levando ao formato de bastões. Acima de 26%-massa, a solução micelar isotrópica é transformada em fases líquido-cristalinas com transição  $\text{H} \rightarrow \text{C} \rightarrow \text{L}$ , em função do progressivo aumento na concentração do surfactante<sup>52</sup>. Na síntese de sílicas mesoporosas em soluções aquosas de CTAB de 2,0%-massa, o produto obtido possui arranjo hexagonal ordenado (o-H)<sup>53</sup>. Mantida essa relação  $\text{H}_2\text{O}/\text{CTAB}$ , o efeito do uso de cosolventes na estrutura das mesofases foi estudado. O cosolvente orgânico apolar desfavorece a formação da mesofase hexagonal ordenada (o-H) originalmente formada para essa relação  $\text{H}_2\text{O}/\text{CTAB}$ , de forma que sua adição progressiva transforma o arranjo o-H em uma fase cúbica (C) e depois lamelar (L). A mesofase o-H é mantida com o uso de solventes polares apróticos até uma determinada relação cosolvente/ $\text{H}_2\text{O}$ . Entretanto, há um aumento no valor do raio das micelas cilíndricas e, Conseqüentemente, há aumento no diâmetro dos poros gerados. Com a adição progressiva desse tipo de cosolvente, o arranjo hexagonal ordenado é levado a um arranjo hexagonal desordenado (d-H) e, posteriormente, a um arranjo aleatório de poros, o qual é observado pelo desaparecimento dos picos de difração de raios-X nos materiais<sup>53</sup>.

No caso de misturas aquosas com cosolventes polares práticos (ex: metanol, etanol), com o CTAB em concentração de 2,0%-massa, o arranjo hexagonal é mantido até determinada razão de cosolvente/H<sub>2</sub>O. Entretanto, a interface S<sup>+</sup>T<sup>-</sup> sofre um aumento na curvatura que culmina com a diminuição do raio das micelas. Com o aumento progressivo da razão cosolvente/H<sub>2</sub>O, o arranjo hexagonal ordenado é perturbado e passa a ser desordenado (d-H)<sup>53</sup>. Em uma solução aquosa de CTAB com o metanol como cosolvente, até razões de H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH de 40/60 (%-massa), o arranjo hexagonal ordenado é mantido. Porém, a partir daí, a mesofase passa a ter um arranjo d-H<sup>54</sup>.

A influência das características químicas do cosolvente durante a síntese do SiO<sub>2</sub> mesoporoso fica evidente quando, por exemplo, compara-se o uso do éter etílico e do 2-etoxietanol (onde há a presença de um grupo OH terminal). O éter etílico, devido à sua disposição no interior das micelas de CTAB, leva à expansão das mesmas, favorecendo a formação de nanocápsulas de SiO<sub>2</sub><sup>55</sup>. Por outro lado, como o 2-etoxietanol não interage com a cauda alquílica do CTAB, esse se dispõe na solução ou na interface S<sup>+</sup>T<sup>-</sup>, não interferindo de maneira significativa no arranjo hexagonal naturalmente formado no meio reacional, gerando assim nanopartículas mesoporosas de SiO<sub>2</sub>.

Os alcoóis, principalmente metanol e etanol, são muito utilizados em processos sol-gel para sintetizar nanopartículas de SiO<sub>2</sub>, onde são normalmente misturados com alcóxidos de silício (ex: TEOS) em soluções aquosas ácida ou básica (catalisadores). A sua presença como cosolvente se deve pelo seu efeito homogeneizador, uma vez que eles dissolvem os alcóxidos que são insolúveis em H<sub>2</sub>O, e formam misturas homogêneas com a água<sup>56</sup>. As primeiras sínteses de mesoestruturas a base de sílica não fizeram uso de fontes moleculares de silício (como alcóxidos), mas sim de partículas



coloidais de  $\text{SiO}_2$ , precipitados, vidros e outros<sup>23-24</sup>; os quais eram misturados com o surfactante em meio aquoso e a estrutura mesoporosa era obtida através de tratamento hidrotérmico em temperaturas acima do ponto de ebulição da água. Como esse processo torna impraticável uma síntese estequiometricamente controlada, foi muito importante a introdução das abordagens sintéticas que partem dos alcóxidos de silício. Arelado ao uso desses monômeros, passou a ser conveniente a utilização de cosolventes como agentes de homogeneização, principalmente alcoóis, que passaram a ser amplamente usados nas sínteses de nanoestruturas mesoporosas de sílica.

## **2.5. Método sol-gel de síntese de nanopartículas mesoporosas e coloidais de $\text{SiO}_2$**

Em 1968, Stöber e colaboradores propuseram um método elegante para a produção de partículas coloidais monodispersas de  $\text{SiO}_2$ , cobrindo praticamente todos os tamanhos da faixa coloidal<sup>57</sup>. As partículas foram produzidas com um método sol-gel partindo-se da hidrólise de alcóxidos de silício (ex: TEOS) em misturas de água e alcoóis e na presença de amônia. Quando se utilizou o TEOS e o etanol, as razões usadas de  $\text{H}_2\text{O}$ /etanol/ $\text{NH}_3$ /TEOS foram amplamente estudadas para se saber quais os valores capazes de produzir nanopartículas, micropartículas, partículas agregadas, dispersões coloidais monodispersas, polidispersas, e etc. O efeito causado por diferentes razões entre os reagentes iniciais sobre a morfologia final das partículas não pôde ser equacionado de forma previsível. Consequentemente, vários diagramas contendo combinações de parâmetros foram propostos para descrever as possibilidades<sup>58</sup>. A praticidade e a eficiência do processo foram impactantes, de forma que a partir dessa data,

inúmeras sínteses visando a produção de partículas de sílica foram feitas baseando-se nesse método. De forma geral, a maioria dessas sínteses faz uso de misturas de etanol e soluções aquosas de amônia com pH ~7-11, região onde há formação de sóis estáveis devido à alta taxa de dissolução do SiO<sub>2</sub>. Em pHs abaixo dessa faixa o sistema pode tornar-se um gel, e em pHs acima há a dissolução do SiO<sub>2</sub>. Com certas modificações no método de Stöber, esse processo pode ser eficientemente usado para produzir partículas esféricas monodispersas e porosas de SiO<sub>2</sub>. Para isso, adiciona-se um “soft-template” (ex: CTAB) durante a síntese do material e controla-se o arranjo micelar do surfactante para garantir a formação da mesoestrutura. Através dessa abordagem, foi possível sintetizar os materiais do tipo MCM-41, provenientes do arranjo supramolecular hexagonal na mistura de C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>X (X = Br ou Cl) e espécies SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup>, partindo-se do método de Stöber. Os efeitos causados pelas combinações dos reagentes (H<sub>2</sub>O/Etanol/NH<sub>3</sub>/TEOS/Surfactante) na morfologia final da partícula e na estrutura dos poros foram extensivamente estudados. Dentre as possibilidades, as rotas com baixa concentração de etanol e TEOS oferecem um controle eficiente do tamanho de partícula em função, principalmente, do aumento da concentração de base (NH<sub>3</sub>) e temperatura<sup>59</sup>. Além disso, permitem a produção de estruturas bem ordenadas (arranjo o-H, d<sub>p</sub> = ~2,6 nm), alta área de superfície (>1000 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) e grande volume de poro (>1,0 m<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>).

Entretanto, as nanopartículas obtidas através de rotas diluídas não são uniformemente esféricas. De forma geral, percebe-se que há certa deficiência nos métodos de síntese de sílicas mesoporosas no que se refere à obtenção de homogeneidade de morfologia e estrutura porosa. Com essa premissa, a síntese de nanopartículas esféricas coloidais com arranjo de poros desordenado foi buscada. Usando a trietanolamina (TEA) como catalisador



básico e também como cosolvente homogeneizador, e CTAB como o soft-template, foi possível a obtenção de nanopartículas coloidais esféricas (40-100 nm) através de um processo sol-gel<sup>60</sup>. O método faz uso de temperaturas entre 60-80°C e pouco volume de solventes. Essa síntese, adaptada para um processo similar ao de Stöber (usando etanol e amônia), também se mostrou eficiente na produção de nanopartículas esféricas mesoporosas de sílica com estreita faixa de distribuição de tamanhos<sup>61</sup>. Entretanto, em ambos os casos, o poros não são ordenadamente dispostos como no MCM-41.

## **2.6. Funcionalização de nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub>**

Além do seu papel modelador na produção dos poros, o arranjo entre os surfactantes e as espécies inorgânicas pode ser usado para funcionalizar os poros com grupos orgânicos, em função da especificidade das interações supramoleculares ocorrentes (eletrostáticas, pontes de hidrogênio, van der Waals). O processo de auto-organização do CTAB em micelas separa regiões da molécula com características muito distintas, como a cabeça, que pode interagir com o meio através de interações eletrostáticas e íon-dipolo; e a cauda, que se arranja através de interações dominadas pelas forças van der Waals. Nesse contexto, o silício pode ser usado como a “ponte” necessária para a síntese de compostos híbridos inorgânico-orgânicos. As características peculiares do silício (ex: eletronegatividade, afinidade eletrônica) fazem com que esse átomo possa se ligar ao carbono através de ligações com caráter covalente e, paralelamente, possa se ligar ao oxigênio em ligações com caráter iônico-covalente, podendo formar óxidos com cadeias poliméricas inorgânicas. Se compartilhado esses dois tipos de ligação em uma mesma molécula contendo um átomo de silício (organossilanos), é possível produzir materiais

híbridos através de interações específicas entre essas moléculas e o arranjo supramolecular.

Na mesofase formada entre  $\text{SiO}_4^{4-}/\text{CTAB}$ , os organossilanos (ex: feniltrietoxissilano =  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ , octiltrietoxissilano =  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ) podem se organizar seletivamente, de forma que o grupo orgânico ( $\text{C}_6\text{H}_5$  ou  $\text{C}_8\text{H}_{17}$ ) interage com a cadeia alquílica do surfactante, e a unidade  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$  do precursor se hidrolisa e se mantém na interface  $\text{S}^+\text{T}^-$ . Como resultado se obtém um material poroso contendo grupos orgânicos dispostos homogeneamente no interior dos poros. As características químicas do grupo orgânico presente no organossilano (polaridade, tamanho) e as condições existentes no meio reacional (pH, solvente, cosolvente) determinarão o seu arranjo nas micelas formadas pelo surfactante. Por exemplo, um organossilano contendo um grupo amina (ex:  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ) interage com a região da cabeça de um surfactante catiônico em pH ácido. Em contrapartida, um organossilano contendo um grupo octadecil (ex:  $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ) interage tanto com a cabeça quanto com a cauda do CTAB. Em função de diferentes tipos de interações e arranjos, o uso de organossilanos nas sínteses resulta em diferentes tipos de morfologias e estruturas de poro. Por exemplo, o uso do aminopropiltrimetoxissilano ( $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$ ) como agente condensador juntamente com o tetrametilortosilicato ( $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$ , TMOS) gera partículas com morfologia tubular curva com estrutura porosa do tipo MCM-41. Por outro lado, com o ureidopropiltrimetoxissilano ( $\text{NH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$ ), as partículas se apresentam em formato esférico com a superfície rugosa (tipo “framboesa”), a qual é bem distinta da superfície lisa das partículas oriundas da síntese contendo apenas o agente condensador (TMOS)<sup>62</sup>.



Além do papel importante do arranjo supramolecular na funcionalização dos poros da sílica, o fenômeno cinético de nucleação e crescimento de partículas a partir da condensação dos monômeros de silício também exerce influência direta no processo de funcionalização. Considerando o método sol-gel, recentemente foi demonstrado que a adição sequencial das espécies de silício (alcóxidos ou organossilanos) em função do tempo permite a formação de estruturas mesoporosas hierarquicamente construídas, ou seja, com funcionalizações orgânicas seletivamente dispostas no interior dos poros, na periferia dos poros e na superfície da partícula<sup>63-64</sup>. A disposição dos grupos orgânicos funcionalizantes ao longo do raio da partícula está relacionada com a co-condensação do organossilano adicionado juntamente com o alcóxido de silício em um determinado tempo de reação, que reflete uma determinada etapa cinética de nucleação e crescimento.

Esses e outros tipos de funcionalização nos materiais mesoporosos a base de sílica foram imprescindíveis para suas aplicações em catálise<sup>65</sup>, membranas para separação<sup>66</sup>, moldes para síntese de nanomateriais<sup>67</sup>, eletroquímica<sup>68</sup>, imobilização de biomoléculas<sup>69</sup>, fotoquímica<sup>70</sup>, remediação ambiental<sup>71</sup> e medicina<sup>72</sup>. Considerando a última aplicação, as nanopartículas de sílica mesoporosa constituem uma plataforma extraordinária dentro do contexto da química de hóspede-hospedeiro (“guest-host”), hoje uma grande promessa na medicina para aplicações de entrega controlada de fármacos (drogas inteligentes ou “drug delivery”). Suas cavidades porosas abertas oferecem fácil acesso aos fármacos hospedeiros; seus poros de tamanho avantajado permitem a incorporações de uma imensa variedade de moléculas; a possibilidade de funcionalização com inúmeros grupos orgânicos lhes dá uma alta seletividade; e sua dispersão em meio aquoso permite uma eficaz homogeneização.



## 2.7. Drogas inteligentes a base sílica mesoporosa

A premissa do uso das estruturas MCM-41 para melhorar a eficácia e a segurança de fármacos através de aprisionamento em seu interior e liberação controlada no organismo surgiu em 2001<sup>73</sup>. Os benefícios dessa abordagem também incluem um aumento de seletividade, solubilidade e biodisponibilidade, fatores limitantes na administração convencional de certos fármacos<sup>74</sup>. Dessa forma, a incorporação de drogas fazendo uso de sistemas de SiO<sub>2</sub> mesoestruturados envolve, preponderantemente, a interação entre os fármacos e os grupos funcionalizantes nos poros. As características moleculares como polaridade, tamanho e estereoquímica da droga refletem diretamente nas características desejadas para a funcionalização presente nos poros da matriz de SiO<sub>2</sub>. Em um exemplo célebre, a Camptotecina, que é um dos antitumorais mais potentes já descobertos, foi incorporada na nanopartículas do tipo MCM-41 para somente depois serem progressivamente liberadas para as células<sup>75</sup>. A Camptotecina, sendo hidrofóbica, apresenta baixa solubilidade no meio biológico e, Consequentemente, é impossibilitada de ser administrada por rota intravenosa. Ligando a fluoresceína nos poros da sílica, que é um corante com características hidrofóbicas, o antitumoral foi incorporado na matriz devido às interações de van der Waals existentes entre o hóspede (fármaco) e hospedeiro (fluoresceína nos poros da sílica).

Estudos posteriores avançaram ainda mais na construção de sistemas multifuncionais a base de SiO<sub>2</sub>. Dentre os objetivos atuais, a incorporação da molécula bioativa através de interações com os grupos funcionais presentes nos poros é apenas um dos desafios. Estudos mais recentes já abordam métodos de liberação controlada através de diferentes mecanismos. Em uma estratégia que está sendo usada, as nanopartículas de MCM-41 têm somente



sua superfície externa das partículas (e não a superfície interna dos poros) ligada a uma cadeia linear de polietilenoglicol com um grupo azida terminal, o qual se manterá na periferia do sistema<sup>76</sup>. Em um processo de arranjo auto-organizacional, moléculas de ciclodextrinas interagem com a cadeia linear formando uma estrutura do tipo rotaxana. Finalmente, o grupo azida periférico é ligado a “rolhas moleculares” que serão abertas somente sob condições específicas (no caso do estudo, a presença de uma enzima do fígado), as quais, Conseqüentemente, acabarão por liberar a droga que está presente dentro dos poros da sílica. No mesmo princípio de rotaxanas, um sistema sensível a variações de pH também foi montado<sup>77</sup>. As diferenças foram na molécula linear usada como haste, uma cadeia aminoalquílica ao invés do polietilenoglicol do estudo anterior; e o cucurbit[6]urila ao invés da ciclodextrina como macrociclo. A protonação das aminas presentes na haste da rotaxana, a qual é dependente do pH do meio, determinará a posição do macrociclo ao longo da haste através de interações por ligação de hidrogênio, de forma que este pode se mover para baixo ou para cima, Conseqüentemente, contendo ou permitindo a liberação das moléculas presentes no interior dos poros, respectivamente.

Em outro método, a liberação foi controlada pela presença de um hormônio ligado à superfície das nanopartículas<sup>78</sup>. Para isso, foi ligada a insulina modificada com ácido glucônico nas nanopartículas do tipo MCM-41 que continham um grupo fenil-ácido borônico apenas em sua superfície. A insulina atua como rolha dos poros do sistema devido ao seu grande volume. Em presença de açúcares, principalmente glicose e frutose, para os quais apresenta maior atividade, a insulina ligada ao radical  $-(O)_2B$  é substituída pelo açúcar que forma uma nova ligação açúcar- $-(O)_2B-SiO_2$ . Com a saída da insulina, os poros são destampados e a droga é liberada. O estudo se baseou na

liberação controlada de adenosina monofosfato (AMP), a qual estimula a produção de insulina no corpo de um paciente diabético em função do aumento da concentração de açúcar.

Outro sistema foi desenvolvido através de um mecanismo de resposta enzimática<sup>79</sup>. Primeiramente, a biotina funcionalizada com um grupo maleimida foi ligada à superfície das nanopartículas de sílica contendo grupos tióis periféricos através de uma adição nucleofílica nos carbonos da ligação C=C na maleimida. Posteriormente, a avidina, que é uma proteína que se liga especificamente à biotina, foi adicionada para exercer a função da rolha molecular. Com a adição da enzima tripsina ao meio contendo o sistema, a avidina é hidrolisada e Consequentemente provoca a liberação das moléculas presentes no interior dos poros da sílica.

Considerando todos os sistemas multifuncionais a base de sílica porosa apresentados nos últimos dez anos, alguns deles destacados aqui, um ganho enorme de conhecimento e também um alto nível de sofisticação química foi conquistado, o que permitiu que um grande passo científico fosse dado recentemente. Em maio de 2011, nanopartículas de sílica nanoporosas recobertas com uma camada lipídica, incorporadas com um coquetel de antitumorais e contendo peptídeos em sua superfície foram produzidas e avaliadas em células de carcinoma hepatocelular<sup>80</sup>. Um longo estudo foi feito a fim de relacionar o tamanho de poro, capacidade de incorporação de drogas, funcionalizações com grupos orgânicos superficiais e biomoléculas, e atividade antitumoral. Aperfeiçoando as variáveis, um alto índice de eficiência foi atingindo: uma nanopartícula de SiO<sub>2</sub> recoberta com alguns tipos de fosfolipídios e dotada de peptídeos-alvo em sua superfície é capaz de eliminar uma célula de carcinoma hepatocelular humano, com uma afinidade celular 10.000 vezes maior em comparação à hepatócitos, e células imunes e



endoteliais. Nesse sentido, um importante avanço foi atingido rumo à tão sonhada revolução dos tratamentos quimioterápicos, uma das grandes perspectivas trazidas pela nanobiotecnologia.

O artigo destacado<sup>80</sup> apresenta, sem dúvida alguma, a prova de conceito necessária para inserir efetivamente a sílica no contexto da quimioterapia do câncer. Entretanto, em um processo natural de evolução científica, muitos aspectos científicos básicos faltam ser abordados e aprimorados a respeito dos nanomateriais porosos de SiO<sub>2</sub> voltados à nanobiotecnologia. Exemplos são: otimização da estrutura porosa para abrigar moléculas de variados tamanhos; toxicidade; multifuncionalização; estabilidade coloidal; e a eficiência e robustez dos métodos de síntese. Portanto, há um enorme interesse no desenvolvimento de processos sintéticos capazes de gerar nanopartículas multifuncionalizadas, com poros volumosos, morfologia uniforme e estreita faixa de tamanho. Os ganhos de um método sintético capaz de atingir essas demandas iriam além da própria quimioterapia, uma vez que o SiO<sub>2</sub> com essas características pode ser utilizado em muitas outras aplicações dentro do contexto da química de hóspede-hospedeiro, como adsorventes de poluentes ambientais<sup>81</sup>, suportes para enzimas<sup>82</sup> e catalisadores de reações orgânicas<sup>83-84</sup>.

Dos exemplos citados envolvendo as nanoestruturas de sílica, é importante ressaltar que grande foco foi dado às estruturas mesoporosas ordenadas do tipo MCM-41<sup>24, 73, 85-87</sup>, ou também às nanopartículas com poros parcialmente ordenados<sup>75, 79, 88-89</sup>. Entretanto, conforme vem sendo recentemente apontado, o efeito hemolítico induzido pelas nanoestruturas de sílica com poros desordenados é significativamente menor que o dos materiais do tipo MCM-41<sup>90-91</sup>. Assim, mais atenção deve ser dada às nanopartículas com estrutura porosa mais complexa, as quais podem apresentar distribuições de tamanho de poro mais amplas, bem como poros mais volumosos.





### **3. OBJETIVOS**

Na busca de avanços nos aspectos científicos e tecnológicos mencionados, esse trabalho objetivou a produção de nanoestruturas uniformes de sílica porosa, com ampla distribuição de tamanho de poro, altos valores de área superficial e volume de poro, e multifuncionalizadas. As nanoestruturas serão arquitetadas com o objetivo de serem utilizadas como veículos moleculares para carreamento de moléculas hidrofóbicas, mais especificamente antitumorais com baixa solubilidade em água. A produção dos nanomateriais foi feita a partir de variações no método de Stöber (sol-gel) que permitam sintetizar nanoestruturas coloidais e mesoporosas.

#### **3.1. Objetivos específicos**

Os objetivos específicos foram:

- Produção de nanocápsulas (ocas) e nanopartículas coloidais mesoporosas de sílica utilizando éter-etílico e etanol como cosolventes no método sol-gel, respectivamente.
- Funcionalização hierárquica e antagônica (hidrofílica X hidrofóbica) das nanoestruturas mesoporosas de sílica com radicais orgânicos que melhorem a capacidade de incorporação de moléculas hidrofóbicas e também a estabilidade coloidal das nanopartículas.
- Incorporação das nanopartículas de sílica coloidais, porosas e multifuncionalizadas com um agente anticâncer hidrofóbico (camptotecina) e avaliação da atividade antitumoral do nanomaterial gerado.



## OBJETIVOS



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os métodos utilizados na síntese das nanoestruturas porosas de  $\text{SiO}_2$  estão descritos abaixo. Resumidamente, as sínteses foram realizadas partindo-se de tetraetilortossilicato e organossilanos (feniltrietoxissilano e octiltrietoxissilano); solução aquosa de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ); e cosolventes (éter etílico e etanol). Parâmetros como concentração inicial dos reagentes, temperatura e tempo de reação foram modificados. Conforme é mostrado através dos resultados, uma combinação sutil e acertada de parâmetros deve ser mantida para sintetizar nanopartículas coloidais, mesoporosas e funcionalizadas (nomeados veículos moleculares). Pequenas variações agem diretamente na morfologia final das partículas, bem como no arranjo estrutural dos poros.

### 4.1. Materiais

O tetraetilortossilicato (TEOS) e feniltrietoxissilano (FTES) foram obtidos da Acros Organics, Bélgica. A solução aquosa de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , 28%-volume), o ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ), éter etílico ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$ ), etanol absoluto ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) e as soluções tampão (pH = 4, 7 e 10) foram obtidos da LabSynth, Brasil. O brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES), octiltrietoxissilano (OTES) e a solução aquosa de 3-(trihidroxissilil)propil metilfosfonato de sódio (TSMF, 42%-m/m) foram obtidos da Sigma-Aldrich, EUA. Todos os reagentes previamente mencionados possuem grau de pureza analítico e foram usados exatamente como adquiridos. A água deionizada foi produzida em um sistema Milli-Q System (Millipore).



## 4.2. Síntese das nanocápsulas porosas de SiO<sub>2</sub>

A síntese das nanocápsulas de sílica foi realizada através de um método sol-gel fazendo uso do tetraetilortossilicato (TEOS) como o composto precursor de silício<sup>55</sup>. Todas as sínteses foram feitas em pHs alcalinos usando soluções aquosas de amônia. Na síntese das nanocápsulas, foi utilizada uma solução 0,12 mol L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>OH<sub>(aq)</sub> (pH = ~11,2). Inicialmente, o CTAB foi dissolvido na solução alcalina de amônia e a solução final foi homogeneizada sob agitação magnética em um balão de fundo redondo. A essa solução foi adicionado o cosolvente, o éter etílico. Após 15 minutos de homogeneização, 2,5 mL de TEOS são finalmente adicionados na mistura. A reação foi mantida a 30°C por diferentes tempos (8 a 24 horas). Após o término da síntese, os produtos foram separados por centrifugação a 15.000 rpm durante 60 minutos, e então foi realizado um processo de extração do “soft-template” (CTAB) que modelou a formação dos poros. Após a eliminação dos templates (processo descrito a seguir), os produtos foram lavados com etanol absoluto por duas vezes antes de serem secados a 60°C por 24 horas. Os parâmetros usados nas sínteses bem como a nomenclatura das amostras são mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Parâmetros usados nas sínteses das amostras de nanocápsulas de SiO<sub>2</sub>.

Amostras*	Volume da solução de NH <sub>4</sub> OH (mL)	CTAB (mg)	Éter etílico (mL)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
NC-1	70	500	-	30	8
NC-2	70	500	20	30	8
NC-3	70	500	20	30	16
NC-4	70	500	20	30	24

\* A quantidade de TEOS (2,5 mL) foi mantida constante para todas as sínteses.



### 4.3. Síntese das nanopartículas coloidais e porosas de SiO<sub>2</sub>

A síntese das nanopartículas mesoporosas de sílica também foi feita através de um método sol-gel fazendo uso do TEOS como precursor de silício, e em pHs alcalinos usando soluções de amônia. Nesse caso, foi usada uma solução 0,074 mol L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>OH<sub>(aq)</sub> (pH = 11,1). O procedimento anteriormente descrito foi repetido: o CTAB foi dissolvido na solução alcalina de amônia e a solução final foi homogeneizada sob agitação magnética em um balão de fundo redondo. Etanol ou éter etílico são adicionados como cosolventes. Após 15 minutos de homogeneização da mistura a 60°C, 2,5 mL de TEOS foram adicionados e o balão foi mantido na mesma temperatura por 2 horas. As reações foram feitas em um sistema de refluxo que foi mantido em baixas temperaturas para evitar a perda de etanol ou éter etílico por evaporação. Após o término da síntese, os produtos foram separados por centrifugação a 15.000 rpm durante 60 minutos, e então o CTAB foi removido (processo descrito a seguir). Após a eliminação do template, os produtos foram lavados com etanol absoluto por duas vezes antes de serem secados a 60°C por 24 horas. Os parâmetros usados nas sínteses bem como a nomenclatura das amostras são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Parâmetros usados nas sínteses das amostras de nanopartículas de SiO<sub>2</sub>.

Amostras*	Vol. Sol. NH <sub>4</sub> OH (mL)	CTAB (mg)	Éter etílico (mL)	Etanol (mL)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
NP-1	20	750	-	3,2	60	2
NP-2	20	750	-	10	60	2
NP-3	20	750	-	30	60	2
NPC-1	20	750	5	-	60	2

\* A quantidade de TEOS (2,5 mL) foi mantida constante para todas as sínteses.

#### 4.4. Funcionalização hidrofóbica dos poros das nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub>

Na tentativa de favorecer a interação entre moléculas hóspedes hidrofóbicas nos poros das nanopartículas de sílica, a funcionalização dos mesmos com radicais orgânicos de baixa polaridade (fenil e octil) foi promovida durante o processo sol-gel de síntese das partículas. Para isso, o radical orgânico de interesse ligado a grupos Si(OR)<sub>3</sub> hidrolisáveis (organossilanos) é adicionado juntamente com o TEOS na solução aquosa que contém o “soft-template” (CTAB). Fenômenos de caráter físico e químico permitem que os radicais orgânicos tenham interações específicas no arranjo supramolecular, posicionando-se dentro das micelas e, Consequentemente, se condensando no interior dos poros.

Conforme descrito anteriormente, a abordagem sintética recentemente apresentada<sup>63-64</sup> que possibilita a funcionalização hierárquica (por etapas) de estruturas de sílica porosa permite que se explore a superfície de nanopartículas com ligações diferenciadas em relação ao interior das cavidades. Nesse contexto, grupos hidrofóbicos hospedeiros, como o fenil e o octil, podem ser posicionados somente no interior das cavidades porosas, enquanto a superfície das partículas pode ser ligada a grupos hidrofílicos que lhes dão maior estabilidade coloidal; ou radicais reativos que sirvam de plataforma para outras ligações. Essa foi a abordagem utilizada nessa etapa do trabalho.

Em uma primeira avaliação, verificou-se o efeito da adição dos organossilanos sobre o arranjo supramolecular formado no meio reacional e, Consequentemente, na estrutura final dos poros. Para isso, o feniltrietoxissilano (FTES) e o octiltrietoxissilano (OTES) foram misturados



com o TEOS em uma razão baseada no número de mols de silício total usado na síntese. Dessa forma, foram misturados 1,75 mL de TEOS (70,1%-mols de Si) com 709  $\mu\text{L}$  de OTES (20,1%-mol de Si); e em outra síntese, 1,75 mL de TEOS (70,1%-mols de Si) com 544  $\mu\text{L}$  de FTES (20,1%-mol de Si). A mistura é homogeneizada em ultrassom por 15 minutos, e então adicionada em um balão de vidro contendo 20,0 mL de solução de  $\text{NH}_3$  ( $0,074 \text{ mol L}^{-1}$ ), 3,2 mL de etanol e 0,75 g de CTAB, seguindo todos os processos previamente estabelecidos para a síntese das nanopartículas (amostra NP-1). Após 60 minutos de reação a  $60^\circ\text{C}$ , 124  $\mu\text{L}$  de TEOS são adicionados (4,9%-mols de Si) e, por fim, mais 124  $\mu\text{L}$  de TEOS são adicionados (4,9%-mols de Si) após 90 minutos de reação. Após o término da síntese (total = 120 min), os produtos foram separados por centrifugação a 15.000 rpm durante 60 minutos, e então o CTAB foi removido (processo descrito a seguir). Após a eliminação do template, os produtos foram lavados com etanol absoluto por duas vezes antes de serem secados a  $60^\circ\text{C}$  por 12 horas.

A primeira adição de monômeros de silício no processo sol-gel é feita sob condições experimentais que resultam em uma alta taxa de nucleação do  $\text{SiO}_2$ , a qual garante a produção de nanopartículas monodispersas, e também concentra os grupos hidrofóbicos funcionalizantes (octil e fenil) em suas regiões internas. Para isso, o organossilano ( $\text{RSi(OR)}_3$ ) se condensa juntamente com os monômeros  $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_{4-x}\text{SiO}_x^{x-}$  provenientes do TEOS, formando cadeias poliméricas baseadas em unidades  $-\text{O}-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-\text{R}$  ( $\text{R} =$  octil  $[\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3]$  ou fenil  $[\text{C}_6\text{H}_5]$ ), os quais nucleiam e sequencialmente crescem com a provisão de mais monômeros. As sequenciais etapas de adição são feitas em condição cinética diferente, durante o processo de crescimento das partículas, garantindo o isolamento dos poros internos funcionalizados com os radicais hidrofóbicos da superfície externa das nanopartículas.

Os tempos determinados para as etapas posteriores de adição de monômeros de silício (60 e 90 minutos) foram resultados de experimentos baseados em considerações de rendimento de síntese e medidas de potencial zeta, os quais indicaram que há condensação da maior parte dos monômeros de silício até 60 minutos de reação a 60°C. Portanto, essas etapas posteriores de adição de monômeros não prejudicam a morfologia das nanopartículas. Além disso, também se observou que nos 30 minutos finais de reação (t = 90–120 min), a condensação de monômeros se dá na superfície externa das partículas. Tempos maiores de síntese levam a processos cinéticos de crescimentos não desejados, resultado do fenômeno de maturação de Ostwald e condensação de partículas (formação de agregados). O resumo dos parâmetros experimentais utilizados nessa etapa é mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3:** Parâmetros usados na funcionalização hidrofóbica das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>.

Amostras*	Tempo (e etapa) de adição dos organossilanos usados na funcionalização		
	t=0 min (A)	t=60 min (B)	t=90 min (C)
NP-1	TEOS = 2,5 mL (100%-mol de Si)	-	-
NO	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) OTES = 709 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)
NF	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)

\* Todas as sínteses acima representadas contaram com a mesma quantidade dos seguintes reagentes: CTAB = 0,75 g; etanol = 3,2 mL, solução de NH<sub>3</sub> (0,074 mol L<sup>-1</sup>) = 20,0 mL. As sínteses foram feitas a 60°C por 2 horas.



#### **4.5. Funcionalização hidrofílica da superfície externa das nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub>**

Quando estabelecidas as condições apropriadas para síntese de nanopartículas funcionalizadas com grupos hidrofóbicos no interior dos poros, o próximo passo foi o da funcionalização exclusiva da superfície das nanopartículas com radicais que aumentem sua estabilidade em suspensão. Para isso, se faz uso novamente da abordagem de síntese com adição por etapas (funcionalização hierárquica). Para essa finalidade, foram usados dois organossilanos: um que resultasse em superfícies com cargas negativas, produzidas através da adição de uma solução de 3-(trihidroxisilil)propil metilfosfonato de sódio (TSMF); e outro que resultasse em superfícies com cargas positivas, através da adição do 3-aminopropiltriétoxisilano (APTES).

Considerando os 120 minutos de tempo total da síntese, a adição do TSMF é feita após 90 minutos de reação, mais especificamente na etapa final do processo de crescimento das nanopartículas, quando praticamente todos os monômeros inseridos no início da reação ( $t = 0$ ) já estão condensados. Todos os outros procedimentos utilizados (ex: extração do CTAB, secagem) para as amostras produzidas nessa etapa de funcionalização (NF-P1, NF-P2 e NF-P3) são idênticos àqueles utilizados para a produção da amostra NF. Um resumo dos parâmetros utilizados nessa etapa é descrito na Tabela 4.

A funcionalização com o APTES, em contrapartida, é feita através de um método pós-síntese, no qual aproximadamente 300 mg da amostra NF (separados e secados sem passar pelo processo de extração do CTAB) são dispersos em 40 mL de etanol absoluto por 60 minutos, homogeneizados por mais 15 minutos a 60°C num balão de fundo redondo, e então se adiciona um volume correspondente de APTES baseado no número total de mols de silício

presente na dispersão. Foram usados volumes de APTES correspondentes a 5, 10 e 25%-mols de Si relativos à amostra NF utilizada (~300 mg). A relação massa da amostra NF/mols de Si é estimada através de análise termogravimétrica, considerando a massa final do resíduo após 850°C como sendo somente dióxido de silício. Após a adição do APTES, a reação de condensação do organossilano é mantida a 60°C por 1 hora e depois por 12 horas à temperatura ambiente. Detalhes dessa etapa são dados na Tabela 5.

**Tabela 4:** Parâmetros da funcionalização da superfície externa das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>.

Amostras	Tempo (e passo) de adição dos grupos usados na funcionalização		
	t=0 min (A)	t=60 min (B)	t=90 min (C)
NF*	TEOS =1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)
NF-P1*	TEOS =1,75 mL (69,3%-mol de Si) FTES = 544 µL (19,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si) <b>TSMF = 51,1 µL</b> (1,0%-mol de Si)
NF-P2*	TEOS =1,75 mL (68,3%-mol de Si) FTES = 544 µL (19,7%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,8%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,8%-mol de Si) <b>TSMF = 128 µL</b> (2,4%-mol de Si)
NF-P3*	TEOS =1,75 mL (66,7%-mol de Si) FTES = 544 µL (19,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,7%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,7%-mol de Si) <b>TSMF = 255 µL</b> (4,8%-mol de Si)

\* Essas sínteses contaram com a mesma quantidade dos seguintes reagentes: CTAB = 0,75 g; etanol = 3,2 mL, solução de NH<sub>3</sub> (0,074 mol L<sup>-1</sup>) = 20,0 mL. As sínteses foram feitas a 60°C por 2 horas.



**Tabela 5:** Parâmetros da funcionalização da superfície externa das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>.

Amostras	Tempo (e passo) de adição dos grupos usados na funcionalização			
	t=0 min (A)	t=60 min (B)	t=90 min (C)	Pós síntese (D)
NF	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	-
NF-A1 <sup>†</sup>	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	<b>APTES = 131 µL</b> (+5,0%-mol de Si)
NF-A2 <sup>†</sup>	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	<b>APTES = 262 µL</b> (+10,0%-mol de Si)
NF-A3 <sup>†</sup>	TEOS = 1,75 mL (70,1%-mol de Si) FTES = 544 µL (20,1%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	TEOS = 124 µL (4,9%-mol de Si)	<b>APTES = 655 µL</b> (+25,0%-mol de Si)

<sup>†</sup> A adição pós-síntese de APTES é feita partindo-se de dispersões de ~300 mg da amostra NF em 40 mL de etanol absoluto. A reação de condensação do APTES é mantida por 1 hora a 60°C, e depois mais 12 horas a temperatura ambiente.

Após o término das sínteses geradoras das amostras NF-Px e NF-Ax, os produtos foram separados por centrifugação a 15.000 rpm durante 60 minutos, e então o CTAB foi removido (processo descrito a seguir). Após a eliminação do molde (“template”), os produtos foram lavados com etanol absoluto por duas vezes antes de serem secados em 60°C por 24 horas. No APÊNDICE se encontra um diagrama com o resumo de todas as funcionalizações feitas nesta Tese (Figura 32).



#### 4.6. Otimização da superfície interna hidrofóbica

Definidas as condições apropriadas para a funcionalização da superfície externa com o grupo propilmetilfosfonato, para garantir uma melhor estabilidade coloidal das nanopartículas, a superfície hidrofóbica interna dos poros (contendo grupos fenil) foi aprimorada a fim de se aumentar o grau de funcionalização. Para isso, o volume de feniltrietoxissilano (FTES) foi variado na primeira etapa de adição dos precursores de silício (em  $t=0$ ), enquanto que o volume de 3-(trihidroxisilil)propil metilfosfonato de sódio (TSMF) foi mantido constante em 2,4%-mol de Si (baseando-se na amostra NF-P2). Detalhes dessa etapa são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Otimização da superfície interna hidrofóbica das nanopartículas de  $\text{SiO}_2$ .

Amostras	Tempo (e passo) de adição dos grupos usados na funcionalização		
	$t=0$ min (A)	$t=60$ min (B)	$t=90$ min (C)
NF-P2*	TEOS = 1,75 mL (68,3%-mol de Si) FTES = 544 $\mu\text{L}$ (19,7%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si) TSMF = 128 $\mu\text{L}$ (2,4%-mol de Si)
NF-1-P2*	<b>TEOS = 1,49 mL</b> (58,1%-mol de Si) <b>FTES = 816 <math>\mu\text{L}</math></b> (29,9%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si) TSMF = 128 $\mu\text{L}$ (2,4%-mol de Si)
NF-2-P2*	<b>TEOS = 1,25 mL</b> (48,8%-mol de Si) <b>FTES = 1,09 <math>\mu\text{L}</math></b> (39,2%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si)	TEOS = 124 $\mu\text{L}$ (4,8%-mol de Si) TSMF = 128 $\mu\text{L}$ (2,4%-mol de Si)

\* Essas sínteses contaram com a mesma quantidade dos seguintes reagentes: CTAB = 0,75 g; etanol = 3,2 mL, solução de  $\text{NH}_3$  ( $0,074 \text{ mol L}^{-1}$ ) = 20,0 mL. As sínteses foram feitas a  $60^\circ\text{C}$  por 2 horas.



#### 4.7. Extração do “soft-template” (CTAB)

Conforme já descrito, após as sínteses, os produtos foram centrifugados com intuito de isolá-los do meio reacional. Depois de separados e secados a 60°C por 24 horas, a presença do CTAB na amostra é facilmente observada por análises termogravimétricas. Mesmo depois de cinco lavagens com etanol absoluto antes da secagem, o “soft-template” não é eliminado dos poros do produto de SiO<sub>2</sub>. Nesse contexto, para promover uma extração eficiente do CTAB, dois métodos foram propostos: um tratamento por refluxo a 80°C durante 2 horas e a sonicação durante tempos que variaram de 10 a 30 minutos, ambos fazendo uso de 100 mL de uma mistura de etanol e ácido clorídrico. A solução etanólica de HCl foi preparada em uma razão de 1:9 em volume (HCl:etanol). A eficiência de ambos os processos é comprovada por análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e por termogravimetria. Devido à sua praticidade, o método de extração escolhido para todas as sínteses foi o de tratamento dos produtos no ultrassom por 10 minutos.

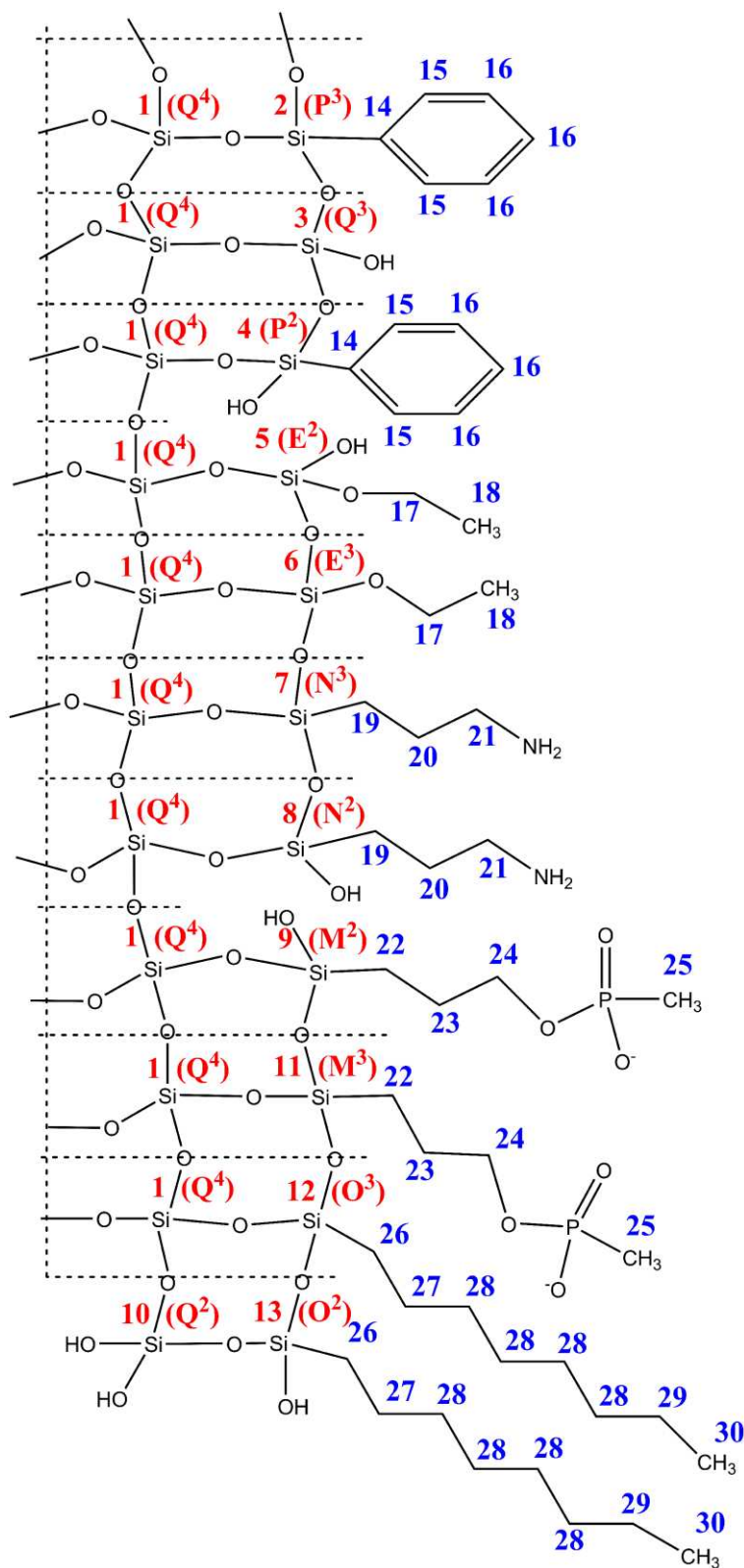
#### 4.8. Caracterizações físico-químicas

As análises de difração de raios-X (DRX, método do pó) foram feitas em temperatura ambiente usando um difratômetro Shimadzu XRD-7000 operando com radiação CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ , 40 kV, 30 mA). Os resultados foram coletados na faixa de  $1,4^\circ < 2\theta < 10^\circ$  com uma velocidade de  $2,0^\circ \text{ min}^{-1}$ . Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos em um espectrômetro ABB Bomem MB-series, modelo FTLA2000-102, através do método de transmitância na faixa de  $4000\text{-}200 \text{ cm}^{-1}$ , com uma precisão de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e 32 acumulações. As amostras foram diluídas e

compactadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr, grau de pureza analítico). Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{29}\text{Si}$  foram feitos em um equipamento Bruker Avance 300 MHz, com método HPDEC (“high-power decoupling”,  $^{29}\text{Si} \rightarrow ^1\text{H}$ ), com 1024 scans, tempo de aquisição de 0,0299 s, intervalo entre os pulsos de 60,0 s e frequências de 59,624 MHz no canal 1 ( $^{29}\text{Si}$ ) e 300,130 MHz no canal 2 ( $^1\text{H}$ ). A análise foi feita com excitação por pulso único de  $90^\circ$  de 5,0  $\mu\text{s}$  no canal 1 ( $^{29}\text{Si}$ ) seguido pela aquisição do sinal sob um pulso contínuo de desacoplamento no canal 2 ( $^1\text{H}$ ), iniciado simultaneamente ao pulso do canal 1, até a relaxação do sinal nesse canal. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram obtidos com o método CPMAS (“cross polarization and magic angle spinning”, dos núcleos  $^1\text{H}$  vizinhos) com 20480 scans, tempo de aquisição de 0,0499 s, intervalo entre os pulsos de 3,0 s e frequências de 75,475 MHz no canal 1 ( $^{13}\text{C}$ ) e 300,131 MHz no canal 2 ( $^1\text{H}$ ). A análise é feita com excitação por pulso de  $90^\circ$  de 2,7  $\mu\text{s}$  no canal 2 ( $^1\text{H}$ ), seguido de um pulso de 4000  $\mu\text{s}$  no canal 1 ( $^{13}\text{C}$ ), seguido da aquisição do sinal. Juntamente com o pulso do canal 1 ( $^{13}\text{C}$ ), se produz outro pulso para desacoplamento no canal 2 ( $^1\text{H}$ ), que se prolonga até a relaxação do sinal no canal 1. A velocidade de rotação do porta-amostra foi de 10 kHz para ambas as análises (silício e carbono), feitas sob ângulo mágico ( $54,74^\circ$ ). Todas as funcionalizações feitas nas nanopartículas são apresentadas na Figura 2, juntamente com os números relacionados aos picos nos espectros de RMN. Para o silício, o deslocamento químico é apresentado em relação ao  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$  e para o carbono em relação ao  $\text{CHCl}_3$ . As análises termogravimétricas (TGA) foram feitas em um analisador térmico TA Instruments 500, módulo TGA 2050. As análises usaram aproximadamente 5,0 mg de amostras secas postas em um cadinho de platina. A taxa de aquecimento foi mantida em  $5,0^\circ\text{C min}^{-1}$  e o fluxo de ar em  $100 \text{ mL min}^{-1}$ . A morfologia e a estrutura dos poros das



nanoestruturas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV, JEOL JSM-6360LV) e microscopia eletrônica de transmissão em modo de campo claro (TEM, Zeiss Libra 120, operando a 80kV), e campo escuro anular de alto ângulo (STEM-FEG, JEOL 2100F, operando a 200kV). As imagens em modo de imageamento por espectroscopia eletrônica (ESI, “electron spectroscopy imaging”) foram obtidas através do método de três janelas com subtração do “background” usando uma função exponencial. O espalhamento de luz dinâmico (DLS) para avaliar os tamanhos das partículas e o potencial zeta ( $\zeta$ ) foram obtidos com o instrumento Malvern ZetaSizer-Nano. Os resultados de DLS foram obtidos usando água deionizada como dispersante ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ). As medidas de potencial zeta em função do pH do meio dispersante são feitas seguindo o seguinte procedimento: mistura-se  $250 \mu\text{L}$  de uma suspensão da amostra em água deionizada ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) com  $250 \mu\text{L}$  de uma solução tampão nos pHs 4, 7 e 10 e mais  $3,0 \text{ mL}$  de água deionizada. As análises são feitas com  $1,0 \text{ mL}$  da suspensão resultante. As medidas de adsorção de nitrogênio foram feitas na temperatura do nitrogênio líquido em um analisador Quantachrome Autosorb-1MP. As amostras foram tratadas a  $120^\circ\text{C}$  por 12 horas antes da análise. A área de superfície foi calculada a partir do ramo de adsorção da isoterma usando o método Brunauer-Emmett-Teller (BET). O diâmetro e volume dos poros foram calculados a partir do ramo de adsorção da isoterma usando o método Barrett-Joyner-Halenda (BJH) e a partir da quantidade de adsorção em um ponto único ( $P/P_0 = \sim 0,94$ ), respectivamente. As avaliações de estabilidade das suspensões de nanopartículas são feitas através de análise de absorção de luz na faixa do ultravioleta-visível com um espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1650 PC.



**Figura 2:** Estrutura química de todas as funcionalizações promovidas nas nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub>. As referências nos átomos estão relacionadas aos picos nos espectros de RMN mostrados a seguir.



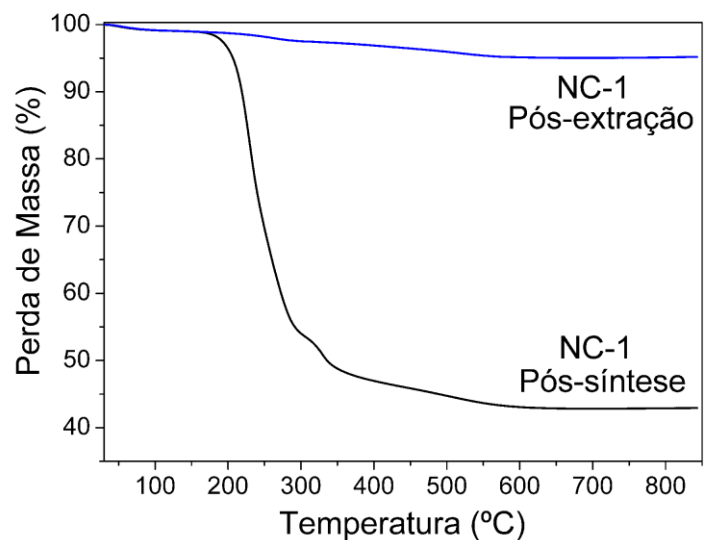
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Estudo sobre a extração do CTAB

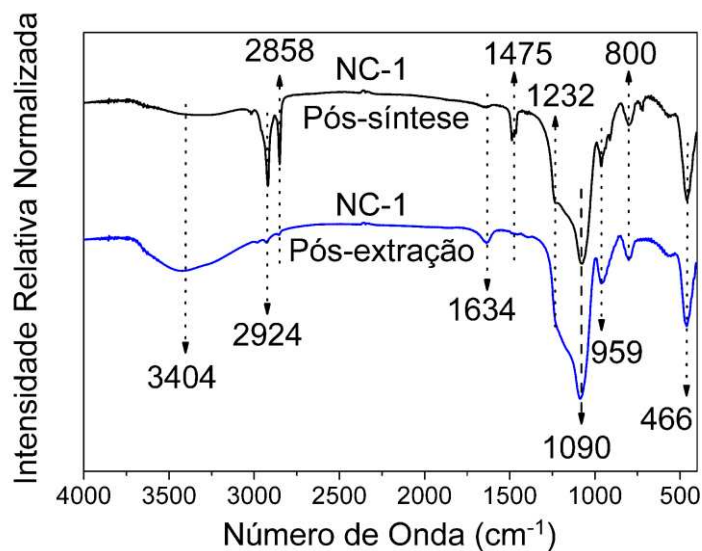
As nanoestruturas mesoporosas de SiO<sub>2</sub> separadas logo após a centrifugação ainda contém CTAB em seus poros, o qual se estabiliza nas cavidades através de interações eletrostáticas com a superfície da sílica. A eliminação dos “templates” normalmente é feita através de processos de calcinação, os quais, colateralmente, podem causar aglomeração irreversível das partículas. Além disso, no caso da síntese de estruturas porosas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos orgânicos, o processo de calcinação também degrada as funcionalizações. Nesse sentido, o uso de processos químicos de extração dos “templates” é extremamente vantajoso, pois, além de não influenciarem na morfologia das partículas, podem manter intactos os grupos orgânicos ligados nos poros.

A presença do CTAB na amostra NC-1 analisada exatamente após a síntese é observada por análise termogravimétrica (Figura 3a). A decomposição do CTAB presente nos poros tem início em temperaturas superiores a 200°C e se mantém até ~350°C (NC-1 Pós-síntese). A partir dessa temperatura, a perda de massa pode ser associada à condensação dos grupos silanóis superficiais, liberando moléculas de água. A massa de CTAB existente na amostra após a síntese equivale a 55% da massa total do produto. Após a extração (NC-1 Pós-extração, Figura 3a), a perda de massa no produto foi de 5%, relacionada somente à condensação dos grupos silanóis superficiais. Comparando os dois métodos usados para a eliminação do “template” (refluxo e sonicação), a eficiência de ambos foi similar. A vantagem da sonicação é a praticidade do aparato usado e o menor tempo

necessário para a extração. Os resultados apresentados na Figura 3 (NC-1 Pós-extração) foram obtidos com amostras submetidas ao tratamento com solução etanólica de HCl por sonicação durante 10 minutos.



(a)



(b)

**Figura 3:** (a) Análises termogravimétricas e (b) Espectros de infravermelho das amostras de SiO<sub>2</sub> (NC-1) obtidos logo após a síntese e após a extração do CTAB.



A extração do surfactante também foi acompanhada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), e os resultados estão apresentados na Figura 3b. Três bandas características do CTAB podem ser usadas para identificar sua presença e os efeitos do processo de extração: os estiramentos assimétrico e simétrico do  $\text{CH}_2$  ( $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$  e  $\nu(\text{CH}_2)$ ) em 2924 e 2858  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente; e o estiramento C–N ( $\nu(\text{C–N})$ ) em 1232  $\text{cm}^{-1}$ . Em altas quantidades de CTAB no produto, a banda relativa ao modo  $\nu(\text{C–N})$ , mesmo sendo de baixa intensidade, passa a ser visível como um ombro nos estiramentos assimétricos das unidades tetraédricas  $\text{SiO}_4$ :  $\nu_{\text{as}}(\text{Si–O–Si})$ , modos óticos transversal (TO) e longitudinal (LO). Conforme observado na Figura 3b, as bandas características do CTAB são suprimidas após a extração do solvente com o HCl (NC-1 Pós-extração). As bandas típicas da estrutura do  $\text{SiO}_2$  são observadas em ~1100 (estiramentos assimétricos Si–O–Si:  $\nu_{\text{as}}(\text{Si–O–Si})$ ), 959 (estiramento Si–OH:  $\nu(\text{Si–OH})$ ), 800 (estiramento simétrico Si–O–Si:  $\nu(\text{Si–O–Si})$ ) e 466  $\text{cm}^{-1}$  (deformação Si–O–Si:  $\delta(\text{Si–O–Si})$ ).

## 5.2. Síntese de nanocápsulas e nanopartículas porosas de $\text{SiO}_2$

A comprovação da formação do  $\text{SiO}_2$  nos produtos das sínteses é facilmente obtida por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Todas as amostras apresentadas na Tabela 1 (NC-1, NC-2, NC-3 e NC-4), após extração do CTAB, apresentaram um espectro com as mesmas características daqueles mostrados na Figura 3b (NC-1 Pós extração), contendo as bandas típicas do  $\text{SiO}_2$  (1100  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu_{\text{as}}(\text{Si–O–Si})$ , 959  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{Si–OH})$ , 800  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{Si–O–Si})$  e 466  $\text{cm}^{-1}$ :  $\delta(\text{Si–O–Si})$ ). Além disso, os espectros também apresentaram as bandas relativas aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo  $\text{CH}_2$  em 2924 e 2858  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, resultado da

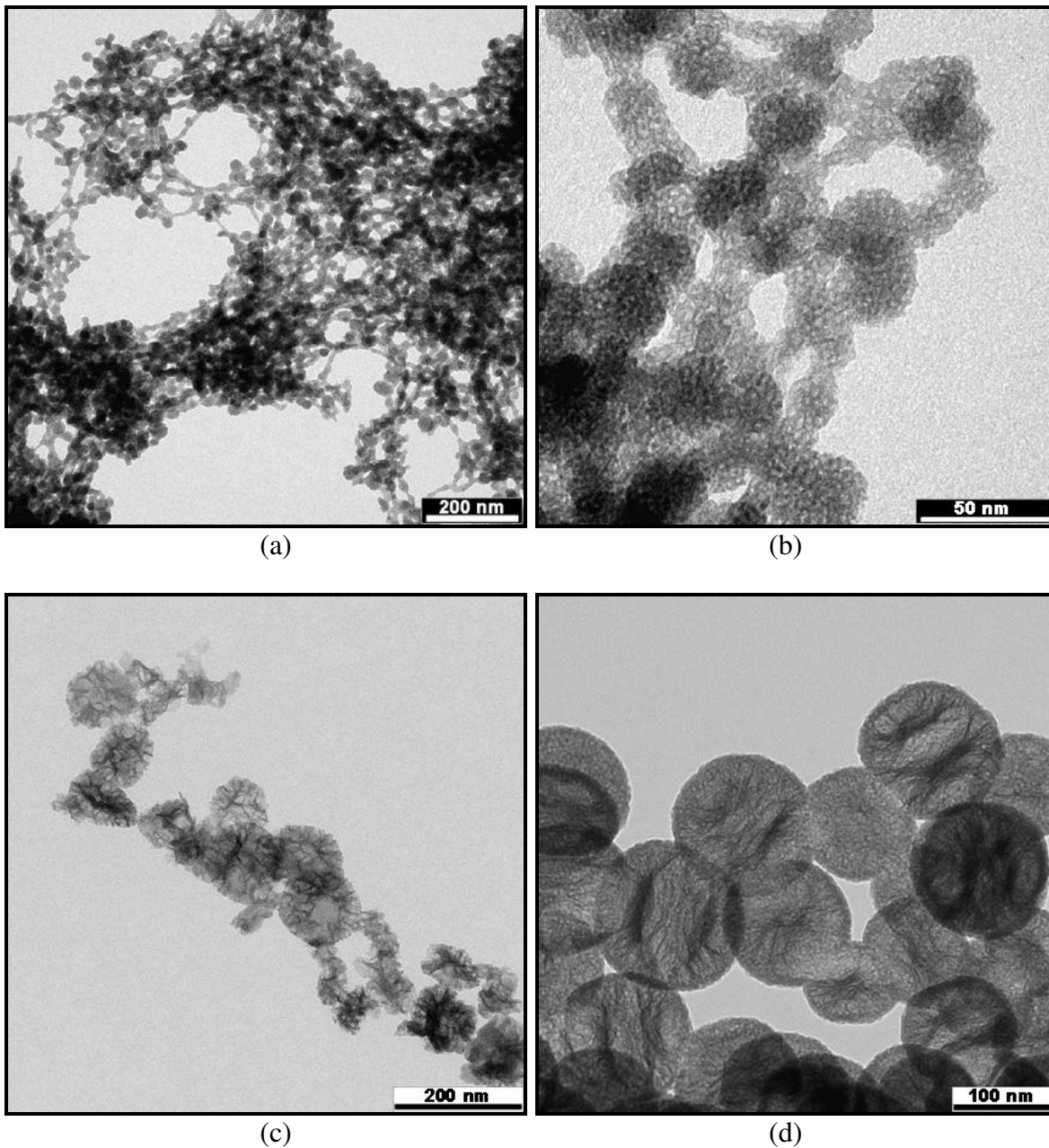


presença de grupos etoxi residuais provenientes do tratamento com o HCl em meio etanólico para eliminação do CTAB<sup>92</sup>.

A morfologia dos produtos oriundos das sínteses das nanocápsulas (NC-1, NC-2 e NC-4) foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão, e as micrografias são mostradas na Figura 4. Conforme já apontado pela Equação 1 (pág. 12), a energia de Gibbs total do processo de auto-organização do surfactante e das espécies inorgânicas é função de quatro outros termos  $\Delta G$ . Considerando as características químicas da molécula de éter etílico, sua disposição no interior do arranjo micelar é esperada devido às interações de van der Waals do tipo dipolo-dipolo induzido e dipolo induzido-dipolo induzido. Essa interação preferencial do éter-etílico no interior das micelas gera mudança nos valores de  $\Delta G_{\text{sol}}$  (relacionado ao potencial químico das espécies em solução),  $\Delta G_{\text{intra}}$  (relacionado à energia conformacional e de van der Waals) e  $\Delta G_{\text{inter}}$  (relacionado à interação entre as paredes inorgânicas ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) e as micelas), que resultam em um  $\Delta G_{\text{total}}$  mais negativo. Devido à sua interação com a cauda alquílica hidrofóbica do surfactante, a presença do éter etílico causou mudanças significativas na morfologia, bem como nas características da estrutura porosa. O produto NC-1 (Figuras 4a e 4b), o qual não contou com a presença do éter-etílico em sua síntese, contém nanopartículas de sílica coalescidas, também chamada de “estruturas alongadas”. Detalhadamente, se observa que as partículas em torno de 20-30 nm estão unidas por estruturas de  $\text{SiO}_2$  com formatos de pescoços, contendo ~10 nm de diâmetro. A introdução do éter etílico no meio reacional leva à formação de cápsulas esféricas com paredes finas (Figura 4c). A formação das “cascas” das nanocápsulas se dá em função do tempo, conforme é observado nos produtos oriundos das sínteses após 24 horas de reação (Figura 4d). Além disso, a formação de mesoporos diferenciados nas cascas das nanocápsulas

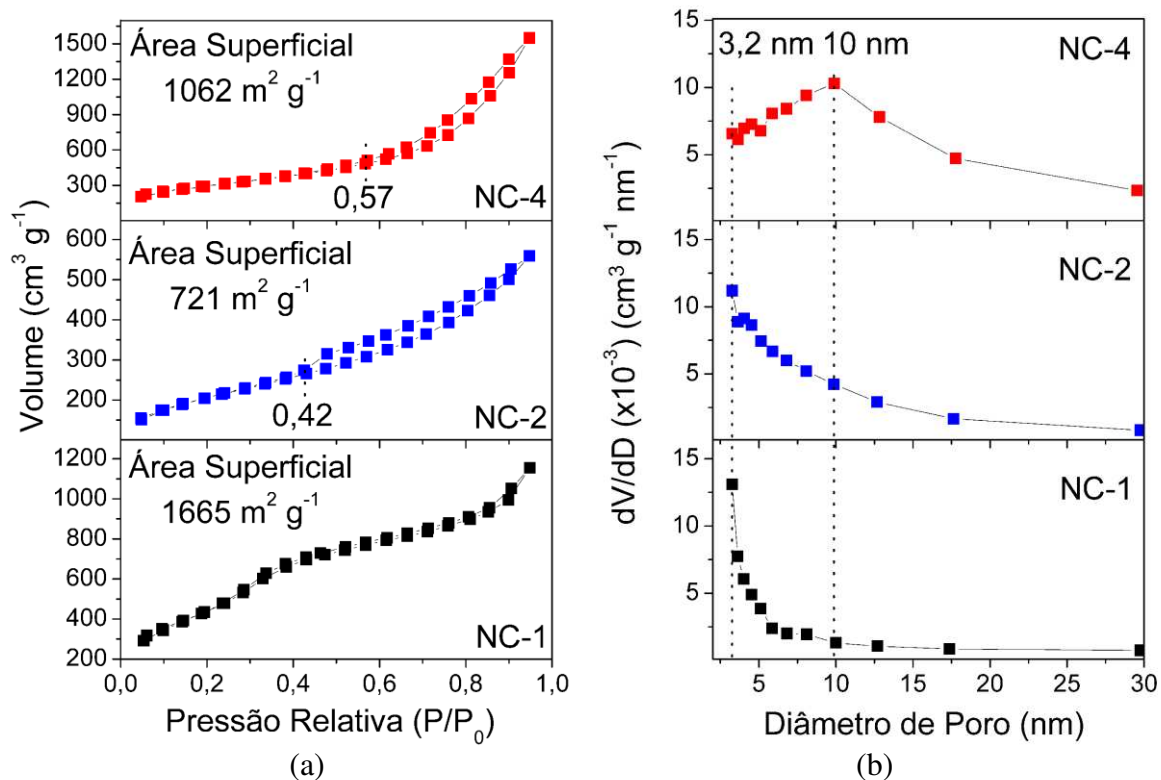


(Figura 4d) também se dá em função do tempo, possivelmente devido a fenômenos difusionais envolvendo a molécula de éter etílico no arranjo supramolecular formado pelo CTAB. Como essas micelas diferenciadas que possivelmente dão origem aos mesoporos nas cascas da amostra NC-4 são formadas em função do tempo, há indícios de um fenômeno de caráter cinético.



**Figura 4:** Micrografias (TEM) das amostras: (a) e (b) NC-1, (c) NC-2 e (d) NC-4.

A heterogeneidade morfológica da amostra NC-1 e das nanocápsulas (NC-2, NC-3 e NC-4), e suas baixas estabilidades em suspensão impedem a realização de uma análise adequada de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (DLS), uma vez que o índice de polidispersão se mantém muito alto. A presença de mesoporos desordenados foi observada através de difração de raios-X, a qual indicou que nenhuma das amostras apresenta picos de difração em baixos ângulos (até  $2\Theta < 10^\circ$ ).



**Figura 5:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas (NC-1) e nanocápsulas (NC-2 e NC-4) de  $\text{SiO}_2$ .

A isoterma de adsorção-dessorção reversível do tipo IV observada para o NC-1 (Figura 5a) indica a existência de uma estrutura mesoporosa que se assemelha à da MCM-41<sup>23</sup>. Por outro lado, o padrão de isoterma observado para as amostras que contaram com o éter etílico como cosolvente em sua síntese sofreu mudanças quando comparado com o NC-1. Para essas amostras



(NC-2 e NC-4), a abertura dos ramos de adsorção-dessorção (histerese) ao longo de um vasto intervalo de pressão relativa (de 0,4 até 0,95) sugere uma ampla distribuição de diâmetros de poro e também a presença de poros com estrutura irregular, contendo fendas e outras cavidades formadas pela aglomeração das partículas<sup>93</sup>. De fato, essas observações são suportadas pela análise da distribuição de diâmetro de poro (Figura 5b), a qual indica o alargamento da distribuição com a adição do éter etílico (amostras NC-2 e NC-4), quando comparada com o NC-1. Foi também observado um maior alargamento da distribuição e o aparecimento de poros irregulares em função do aumento do tempo de reação (NC-4, 24 horas). Mais precisamente, o diâmetro máximo de poro variou de 3,2 nm nas amostras NC-1 e NC-2 (linha pontilhada da Figura 5b) para 10 nm na amostra NC-4. Conforme já citado, uma mudança na estrutura dos poros já era esperada devido ao arranjo do éter etílico no interior das micelas. Todavia, um efeito secundário é identificado em função do tempo de reação, sugerindo que o dinamismo do processo de difusão do cosolvente (éter etílico) na emulsão formada no meio reacional tende a aumentar o tamanho dos poros e gerar cavidades ainda mais irregulares com o decorrer do tempo. Também foi observada uma diminuição da área de superfície quando se faz uso do éter etílico (de  $1665 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  do NC-1 para  $721 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  do NC-2,  $1123 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  do NC-3 e  $1062 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  do NC-4); e, paralelamente, um aumento do volume de poro (de  $1,6 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$  do NC-1 para  $\sim 2,0 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$  do NC-2 e NC-3, e  $2,4 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$  do NC-4).

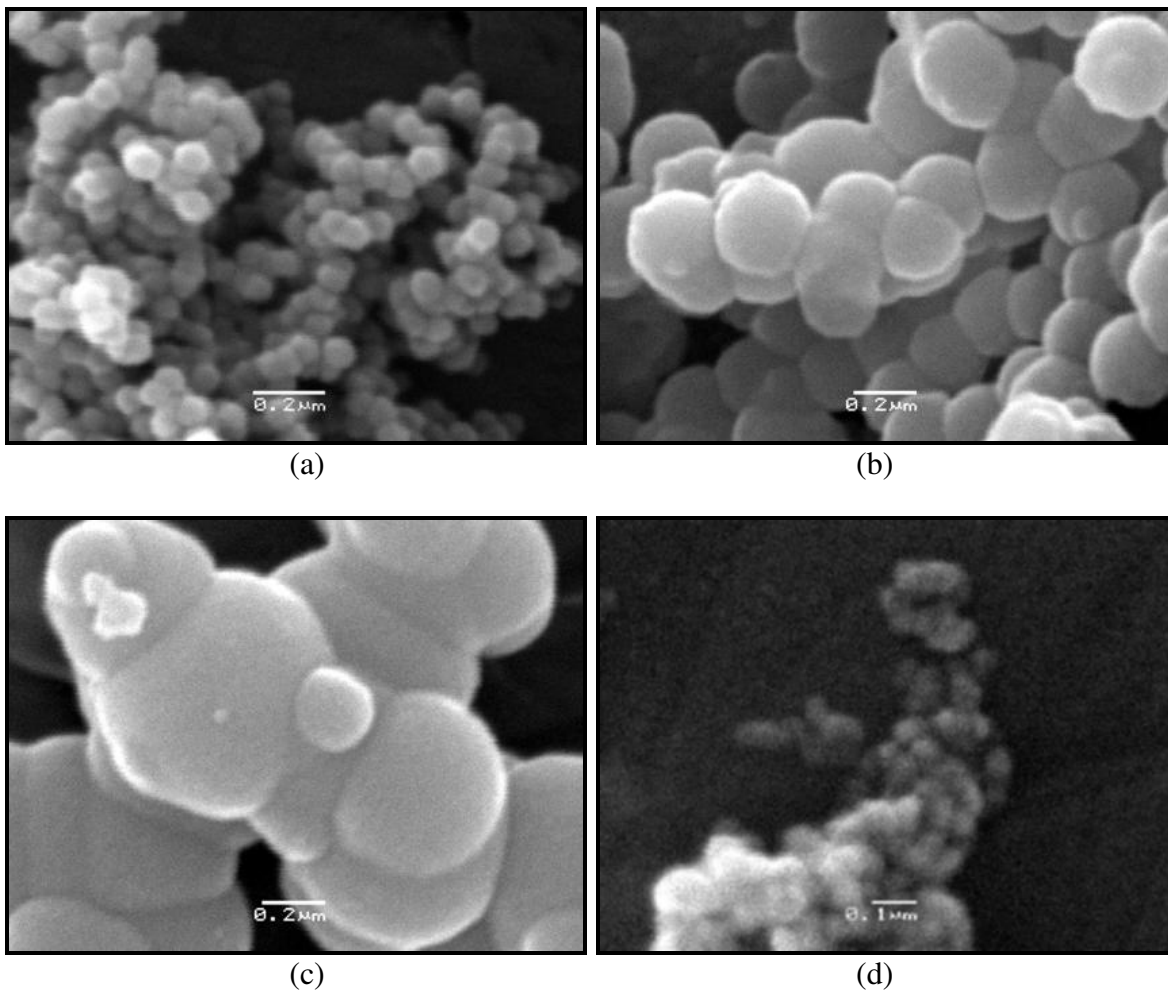
Adaptando um método anteriormente proposto para produção de nanopartículas esféricas e mesoporosas no qual a trietanolamina (TEA) atua como catalisador básico e também como agente homogeneizador para o TEOS<sup>60</sup>, aos parâmetros utilizados no método de Stöber, foi buscada a síntese de nanopartículas coloidais e porosas de sílica. Um estudo recente analisou a

variação do pH do meio reacional em função do tempo de reação e observou-se que em comparação com misturas de TEOS, TEA e H<sub>2</sub>O, as misturas de TEOS, NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O (método de Stöber) demoram mais tempo para terem seu pH estabilizado<sup>61</sup>, ou seja: o processo de hidrólise do TEOS (gerando Si(OH)<sub>4</sub>) leva mais tempo para se completar em processos sol-gel com essa combinação de reagentes. Outro importante aspecto analisado pelos autores foi que, para não gerar partículas de sílica coalescidas (estrutura alongada), a relação de TEOS:NH<sub>3</sub> deve ser mantida abaixo de 1:0,09. Se considerado esse fator, as condições usadas para as sínteses do NC-1 ultrapassaram em mais de sete vezes essa relação de 1:0,09 (1:0,75), o que justificaria a produção das estruturas alongadas mostradas na Figura 4a e 4b. Contudo, conforme será mostrado a seguir, não só uma relação adequada de TEOS/NH<sub>3</sub> deve ser respeitada, mas também a presença de um agente homogeneizador (etanol) se faz necessária para produzir partículas esféricas.

Nas tentativas de síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa (NP-1, NP-2, NP-3 e NPC-1), a relação TEOS:NH<sub>3</sub> usada foi de 1:0,13. Através da microscopia eletrônica de varredura, a morfologia das nanopartículas (NP-1, NP-2, NP-3 e NPC-1) foi analisada (Figura 6). O aumento na quantidade de etanol no meio reacional (da NP-1 para a NP-3) resultou em um crescimento substancial das partículas, variando de ~60 a ~250 e ~550 nm para as amostras NP-1, NP-2 e NP-3, respectivamente. Tal efeito pode ser associado principalmente a modificações cinéticas na reação de hidrólise do TEOS em função da presença do etanol. A amostra NP-1 apresentou partículas uniformemente esféricas e porosas, com tamanho médio em torno de 60 nm, avaliado por microscopia eletrônica de transmissão (Figura 7a). A distribuição de tamanhos das partículas avaliada por DLS variou de 50 a 200 nm (Figura 7b). No caso da amostra NPC-1, a morfologia das partículas se assemelhou à



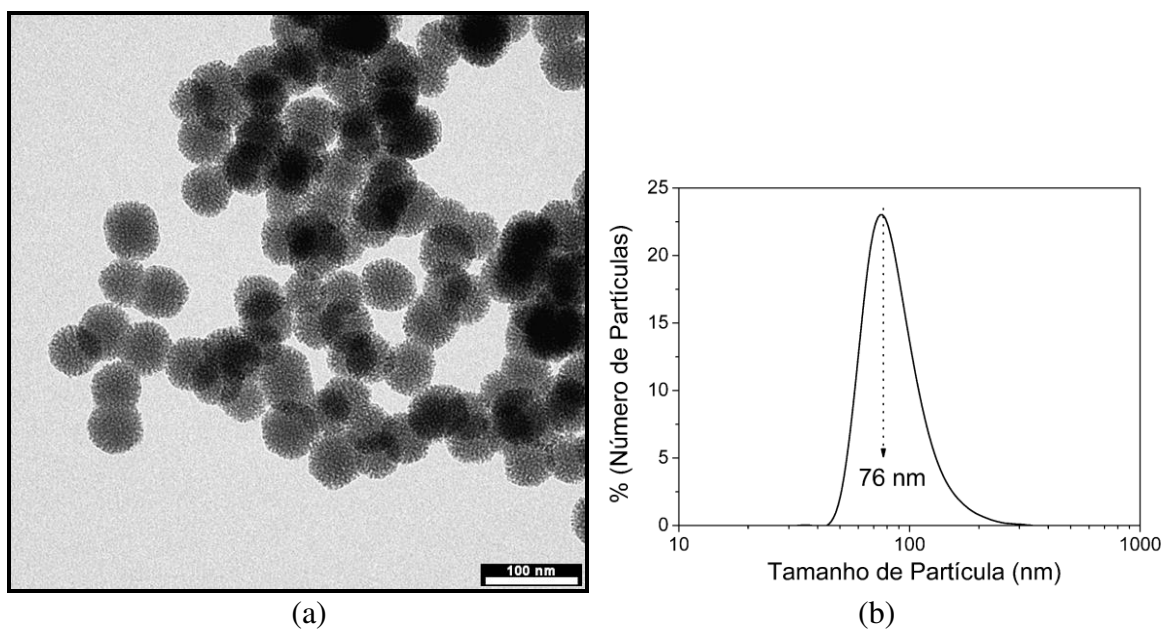
estrutura alongada obtida para a amostra NC-1, indicando que o fator limitante na produção de partículas esféricas nesse caso é a presença do etanol, e não tão somente a temperatura (60°C) e a relação TEOS:NH<sub>3</sub> menor que 1:0,09.



**Figura 6:** Micrografias (MEV) das amostras: (a) NP-1, (b) NP-2, (c) NP-3 e (d) NPC-1.

O pH do sobrenadante isolado dos produtos após a primeira centrifugação pode dar indícios importantes sobre o resultado da síntese. Duas entidades afetam predominantemente o valor do pH: o ácido ortosilícico (Si(OH)<sub>4</sub>) e os silanóis presentes na superfície das partículas. Se considerada a razão idêntica entre TEOS/NH<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O na síntese das amostras NC-1, NC-2, NC-3 e NC-4 e, paralelamente, para as amostras NP-1, NP-2, NP-3 e NPC-1,

o pH final do sobrenadante isolado do produto da síntese pode ser relacionado à área superficial do SiO<sub>2</sub> poroso produzido, uma vez que a variação de acidez no meio será dependente da quantidade de silanóis. No caso das nanocápsulas, o pH final do meio reacional se manteve em 9,4-9,6 para todas as sínteses. Se tratando das nanopartículas, os pHs variaram entre 7,8; 8,6; 9,1 e 8,1 para as amostras NP-1, NP-2, NP-3 e NPC-1, respectivamente. Considerando as variações nos tamanhos de partículas observadas para essas amostras (Figura 6), os valores de pH apresentados foram coerentes com a área de superfície de cada amostra, uma vez que as menores partículas (NP-1 e NPC-1) possuem a maior quantidade de grupos silanóis (ácidos) e, portanto, menor será o pH final do meio.

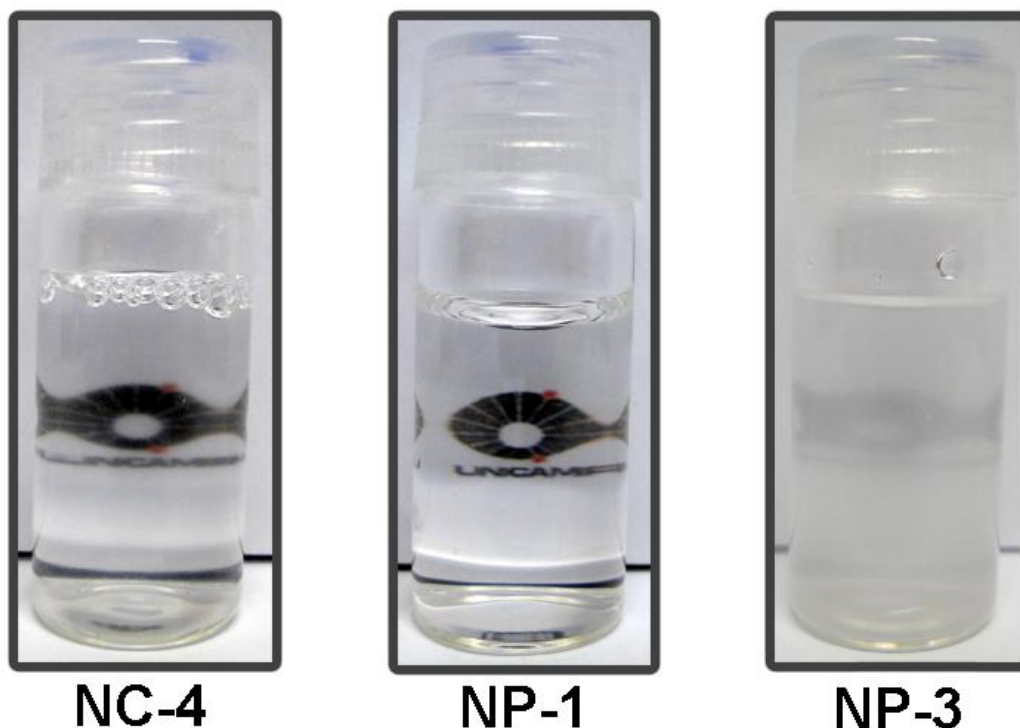


**Figura 7:** (a) Micrografia (TEM) e (b) análise de DLS da amostra NP-1.

Considerando as aplicações desejadas para as nanoestruturas porosas de sílica, a estabilidade coloidal é um parâmetro determinante para o produto. Apesar das análises de potencial zeta em água deionizada indicarem valores semelhantes para as amostras NP-1, NP-2 e NP-3 ( $\zeta < -20$  mV), o NP-1



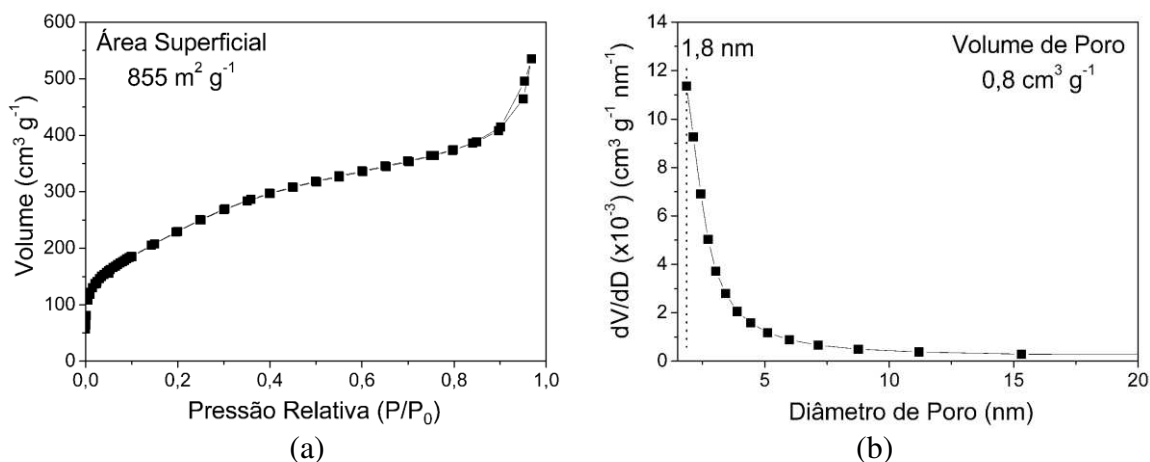
apresentou comportamento coloidal, se mantendo suspenso em água deionizada por mais de duas semanas (ensaios em concentração de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ). As amostras de nanocápsulas (NC-1, NC-2, NC-3 e NC-4) sofrem rápida deposição após dispersão em água por sonicação. O tamanho das nanoestruturas nas suspensões aquosas também pode ser avaliado através de suas propriedades óticas. As nanopartículas esféricas coloidais e porosas com tamanho abaixo de  $100 \text{ nm}$  (NP-1) formam suspensões transparentes em concentrações de até  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ , conforme pode ser observado na Figura 8. Em contrapartida, nanopartículas com tamanhos maiores (NP-2 ou NP-3) bem como as amostras de nanocápsulas e nanoestruturas alongadas de sílica (NC-1, NC-2, NC-3, NC-4 e NPC-1) formam suspensões opacas e translúcidas, respectivamente.



**Figura 8:** Suspensões das nanoestruturas de  $\text{SiO}_2$  em água deionizada ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ).



As nanopartículas esféricas coloidais e porosas (NP-1) apresentaram um padrão de isoterma de adsorção-dessorção reversível que se assemelha ao tipo IV (classificação IUPAC)<sup>93</sup>, principalmente devido à presença de um ponto de inflexão próximo a  $P/P_0 = 0,4$ , característica do fenômeno de condensação capilar em estruturas do tipo MCM-41 (Figura 9a). A análise de diâmetro de poro indicou uma estreita faixa de distribuição, com seu ponto máximo em 1,8 nm (Figura 9b). Sua área de superfície calculada pelo método BET foi de  $855 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , e o volume de poro estimado no ponto único de adsorção em  $P/P_0 = 0,94$  foi de  $0,8 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$ . Apesar da presença de uma leve inflexão na curva de adsorção-dessorção, característica de estruturas porosas ordenadas, as análises de difratometria de raios-X (no intervalo de  $2\theta$  de  $1,4$  a  $10^\circ$ ) indicaram que o arranjo dos poros da amostra NP-1 é desordenado, não apresentando picos de difração. Considerando as análises feitas para todas as amostras, a amostra NP-1 apresentou o conjunto de características mais adequado para a construção de um sistema coloidal funcionalizado a base de sílica que possa ser aplicado no contexto da química de hóspede-hospedeiro.



**Figura 9:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro da amostra de nanopartículas coloidais e porosas (NP-1).



Observando um método sol-gel que promove um recobrimento mesoporoso de  $\text{SiO}_2$  sobre nanotubos de carbono<sup>94</sup>, no qual são empregadas condições parecidas com as aqui usadas para a produção da amostra NP-1 (5,0 mL de etanol e 0,75 g de CTAB, a 60°C), constata-se que o TEOS exerce papel fundamental na formação da estrutura porosa. Em comparação com esse método, a quantidade de TEOS dez vezes maior utilizada na síntese do NP-1 (2,5 mL contra 0,25 mL para o recobrimento de  $\text{SiO}_2$  nos NTC) leva à formação de micelas menores de CTAB e estrutura porosa desordenada, uma vez que o recobrimento mesoporoso formado sobre os nanotubos de carbono apresenta estrutura porosa bem ordenada e diâmetro médio de 3,0 nm<sup>94</sup> (contra 1,8 nm da amostra NP-1). Dessa forma, é provável que o aumento da concentração de monômeros de silício ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_{4-x}\text{SiO}_x^{x-}$ ) no meio leva ao aumento da curvatura e conseqüente diminuição do tamanho das micelas.

### **5.3. Funcionalização interna das nanopartículas porosas de $\text{SiO}_2$ com grupos hidrofóbicos**

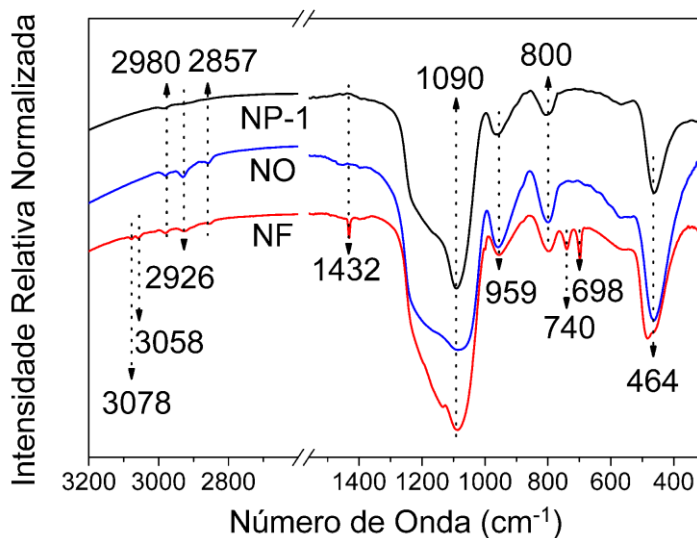
Conforme já mencionado anteriormente, nas sínteses sol-gel com pHs maiores que 7, a geração de cargas negativas superficiais através dos silanóis desprotonados ( $-\text{SiO}^-$ ) faz com que as nanopartículas tenham forte repulsão eletrostática, desfavorecendo o processo de agregação de partículas. Nessas condições o processo cinético de crescimento de partículas se baseia na condensação de mais monômeros ( $(\text{RO})_{4-x}\text{SiO}_x^{x-}$ ) sobre a superfície de partículas já formadas, e também é influenciado pelo fenômeno de dissolução e reprecipitação (maturação de Ostwald), o que acaba permitindo a formação de sóis estáveis. Entretanto, conforme mostrado em resultados anteriores, outros fatores além do pH interferem na morfologia das partículas produzidas.

No caso específico do método de Stöber, as relações molares entre o solvente, cosolvente e TEOS têm que ser cuidadosamente variadas quando há interesse em sintetizar nanopartículas coloidais monodispersas de SiO<sub>2</sub>. Partindo-se das condições previamente estabelecidas para a síntese da amostra NP-1, a funcionalização *in-situ* (método de co-condensação) das nanopartículas foi feita fazendo uso de dois organossilanos contendo grupos hidrofóbicos, o octil e o fenil, justificados pelo uso dos nanomateriais como carreadores de moléculas hidrofóbicas. Os organossilanos geram monômeros R-SiO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, que se condensam juntamente com os monômeros provenientes do TEOS, por fim gerando as cadeias poliméricas orgâno-inorgânicas Si-O-Si(R)-O-Si.

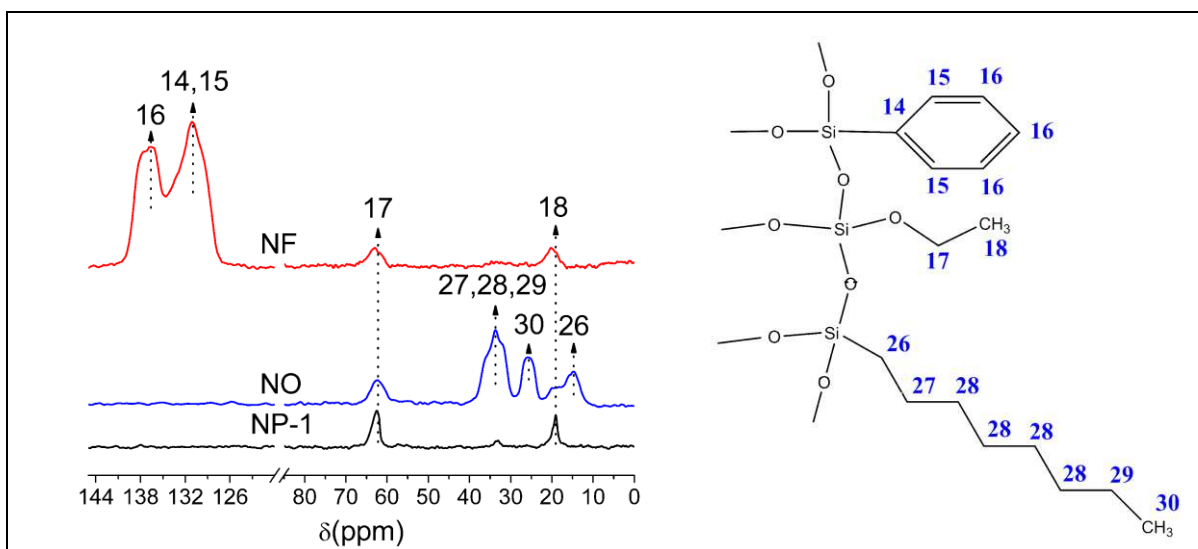
A comprovação da co-condensação dos organossilanos juntamente com os monômeros provenientes do TEOS durante o processo sol-gel pode ser obtida pelos espectros de absorção no infravermelho (vibracional) mostrados na Figura 10a. Além dos modos vibracionais típicos do SiO<sub>2</sub>, já identificados previamente, observa-se um aumento de intensidade das bandas em 2980, 2926 e 2857 cm<sup>-1</sup> na amostra funcionalizada com o grupo octil (NO), relativos aos estiramentos assimétricos ( $\nu_{as}(\text{CH}_3) = 2980 \text{ cm}^{-1}$  e  $\nu_{as}(\text{CH}_2) = 2926 \text{ cm}^{-1}$ ) e simétricos ( $\nu(\text{CH}_3) = 2900 \text{ cm}^{-1}$  e  $\nu(\text{CH}_2) = 2857 \text{ cm}^{-1}$ ) das ligações C-H nos grupos CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>. Na amostra funcionalizada com o radical fenila (NF), há o aparecimento dos modos vibracionais relativos aos estiramentos C-H em 3078 e 3058 cm<sup>-1</sup>, ao estiramento C=C em 1432 cm<sup>-1</sup>, e às deformações C-H e C=C em 740 e 698 cm<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo todos modos vibracionais típicos do anel aromático. A variação do formato da banda relativa ao modo vibracional de estiramento assimétrico da ligação Si-O-Si, entre os vértices de duas unidades tetraédricas SiO<sub>4</sub> ( $\nu_{as}(\text{Si-O-Si})$ , em 1090 cm<sup>-1</sup>), está relacionada com a presença do modo vibracional de estiramento da ligação Si-



C nas amostras funcionalizadas (NO e NF), e que se sobrepõe ao modo  $\nu_{as}(\text{Si-O-Si})$  (degenerescência acidental).



(a)



(b)

**Figura 10:** Espectros de (a) FTIR e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$  das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF).

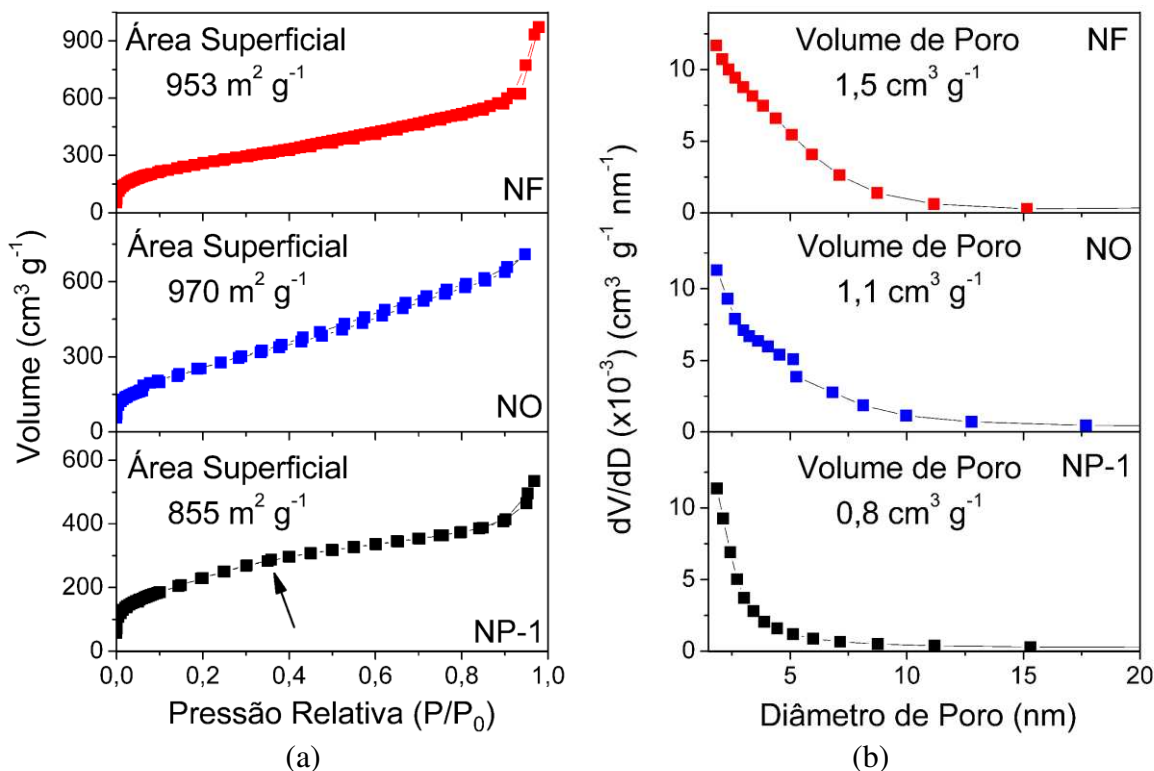
O tratamento usado para remoção do “template” (CTAB) promove a formação de grupos etoxi ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), cuja presença é sempre visualizada nos

espectros de infravermelho através das bandas  $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ ,  $\nu_{as}(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  e  $\nu(\text{CH}_2)$ , o que dificulta a atribuição das bandas relacionadas à funcionalização do radical octil. Assim, os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , mostrados na Figura 10b, confirmam com maior clareza a presença dessa funcionalização. Para a amostra NP-1, relacionando com a representação esquemática da Figura 2, observa-se os átomos de carbono dos grupos etoxi residuais em 19,3 e 62,2 ppm (C 18 e C 17, respectivamente). Na amostra funcionalizada com o grupo octil (NO), além dos sinais dos átomos de carbono dos grupos etoxi, observa-se também os átomos de carbono do grupo octil em 14,7 (C 26), 25,7 (C 30) e 33,9 ppm (C 27, 28 e 29). Na amostra NF, observa-se os carbonos do grupo fenil em 130,9 (C 14, 15) e 136,7 ppm (C 16), e também os carbonos relativos aos grupos etoxi residuais provenientes da extração do CTAB (C 17 e 18).

As isotermas de adsorção-dessorção das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  com e sem funcionalização são mostradas na Figura 11a. A mudança no arranjo supramolecular formado no meio reacional em função da adição dos organossilanos é evidenciada pelas diferenças nos padrões das curvas. Seguindo a classificação da IUPAC, a isoterma da amostra de nanopartículas não funcionalizadas (NP-1) se assemelha a uma isoterma do tipo IV, com histerese reversível. Uma importante semelhança nesse caso é a presença de um leve perfil de adsorção por degraus (indicado pela seta), resultado de uma adsorção do tipo camada por camada. Quanto maior o degrau de adsorção, mais ordenada é a estrutura porosa, a qual pode apresentar um aumento súbito de volume adsorvido devido ao processo de condensação capilar. Entretanto, em comparação com outras nanoestruturas mesoporosas de sílica com poros ordenados, a altura do degrau é baixa<sup>60, 95</sup>, indicando a existência de uma estrutura porosa diferenciada, e também desordenada,



conforme já foi mencionado anteriormente. Além disso, de acordo com a distribuição de tamanho de poro obtida pelo ramo de adsorção da isoterma, através do método BJH (Figura 10b), a amostra NP-1 possui predominantemente microporos, com um máximo em torno de 1,8 nm.



**Figura 11:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF).

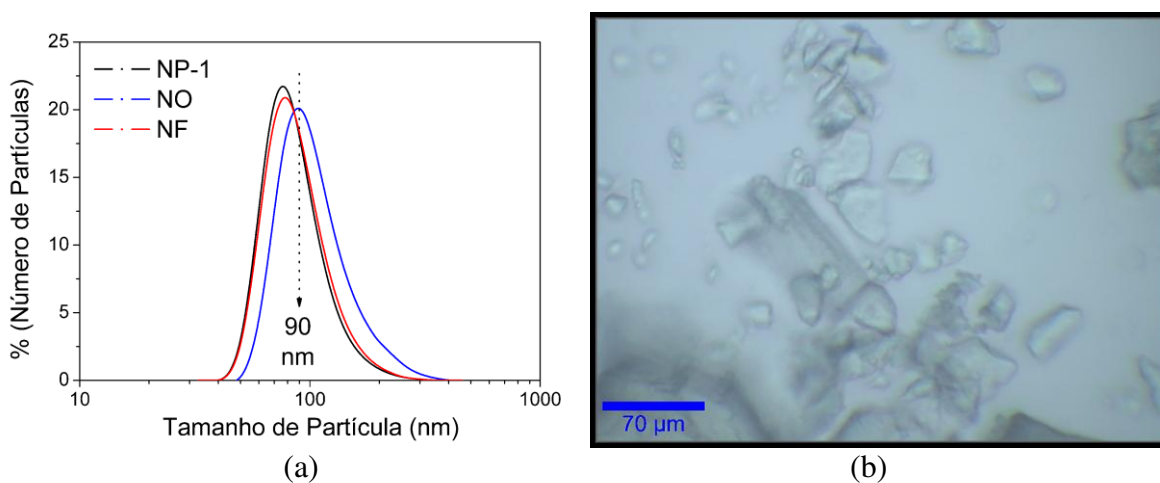
O processo de funcionalização das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> com os grupos octil e fenil faz com que as isotermas percam o leve caráter de adsorção de camada por camada (não há degraus), indicando a presença de estruturas porosas mais complexas, que se assemelham às isotermas do tipo II na classificação da IUPAC, com uma pequena irreversibilidade (histerese) do tipo H3 acima de P/P<sub>0</sub> = 0,4 (Figura 11a). As distribuições de tamanho de poro das amostras NO e NF (Figura 11b) apresentam uma maior faixa de tamanhos,

aproximadamente de 1,8 a 10 nm, indicando um possível aumento do tamanho das micelas no meio reacional. Esse fato também é acompanhado por um aumento nos valores de volume de poro para as amostras NO e NF (1,1 e 1,5  $\text{m}^3 \text{g}^{-1}$ , respectivamente), em comparação com a amostra de nanopartículas não funcionalizadas (NP-1, 0,8  $\text{m}^3 \text{g}^{-1}$ ). Possivelmente, a interação do (trihidroxisilil)octil e (trihidroxisilil)fenil (espécies formadas pela hidrólise dos respectivos organossilanos) com as micelas de CTAB acaba por estabilizá-las, diminuindo sua energia de superfície (interface micela – meio reacional) e promovendo a diminuição de curvatura. A ocorrência dessas modificações no arranjo supramolecular é resultado da diminuição do valor de energia de Gibbs ( $\Delta G_{\text{total}}$ , Equação 1). Conseqüentemente, têm-se a constatação de um aumento substancial do volume das cavidades porosas, juntamente com um pequeno aumento no valor de área superficial (de  $\sim 850 \text{m}^2 \text{g}^{-1}$  do NP-1 para  $\sim 950 \text{m}^2 \text{g}^{-1}$  das amostras funcionalizadas). O perfil das histereses em altos valores de  $P/P_0$ , para as três amostras, se dá em função da porosidade relacionada à textura do material, devido ao empacotamento das nanopartículas nos pós usados para análise.

Apesar das variações da estrutura porosa observadas, as condições utilizadas para as sínteses dos materiais se demonstraram muito adequadas para a produção nanopartículas coloidais com estreitas faixas de distribuição de tamanho, independentemente da presença dos organossilanos no meio reacional. As distribuições de tamanho de partícula obtidas por espalhamento de luz dinâmico (DLS) mostradas na Figura 12a apresentaram pouca variação para as amostras NP-1, NO e NF. As morfologias das partículas produzidas por rotas sol-gel de co-condensação que visam a produção de estruturas porosas funcionalizadas de  $\text{SiO}_2$  com grupos de baixa polaridade, e que contam com concentração diluída de precursores de Si, se mostraram



extremamente dependentes das características químicas dos organossilanos utilizados, sendo que a morfologia final dos produtos varia significativamente<sup>62, 96</sup>. Em contrapartida, o método aqui empregado permitiu a conservação da morfologia das nanopartículas mesmo fazendo uso de grande quantidade de organossilanos (20%-mol de Si). Conseqüentemente, têm-se um processo eficiente de funcionalização de nanopartículas coloidais porosas de sílica. As amostras funcionalizadas (NO e NF), depois de secas, apresentam a mesma aparência das nanopartículas não funcionalizadas: pós brancos e finos que, quando observados no microscópio ótico, apresentam-se como grãos transparentes (Figura 12b).

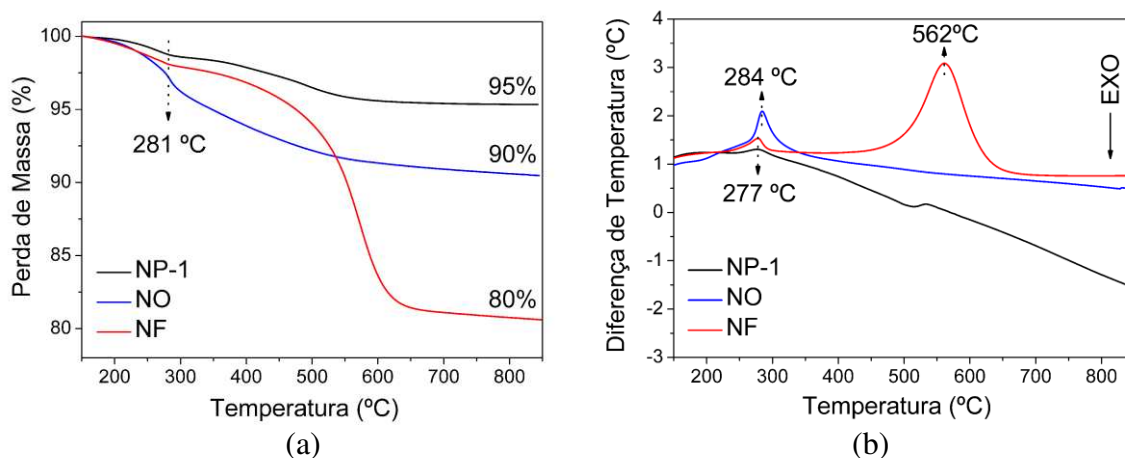


**Figura 12:** (a) Medida de tamanho de partícula por DLS das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF). (b) Imagem obtida por microscopia ótica da amostra NF.

Comparando a porcentagem de organossilanos condensados durante a síntese, observa-se, através de análise termogravimétrica (Figura 13a), que os monômeros provenientes do feniltrietoxissilano sofrem maior co-condensação na estrutura porosa das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>, conclusão baseada no valor da massa final das amostras após 750°C, temperatura na qual houve a completa decomposição dos grupos orgânicos ligados à sílica. Os processos de



decomposição são evidenciados também quando se observa a análise térmica diferencial (DTA, Figura 13b), que indica as faixas de temperaturas onde há a decomposição dos grupos: octil em  $\sim 284^\circ\text{C}$  e fenil em  $\sim 562^\circ\text{C}$ . Os picos do DTA em torno de  $280^\circ\text{C}$  também estão relacionados à decomposição das cadeias alquílicas, no caso das amostras NP-1 e NF, relativas aos grupos etoxi residuais. Na amostra NO, temos nessa temperatura também a decomposição das cadeias alquílicas do grupo octil (Figura 13a e 13b). O pico em torno de  $560^\circ\text{C}$  (Figura 13b) está relacionado à decomposição dos anéis aromáticos dos grupos fenil ligados à sílica.

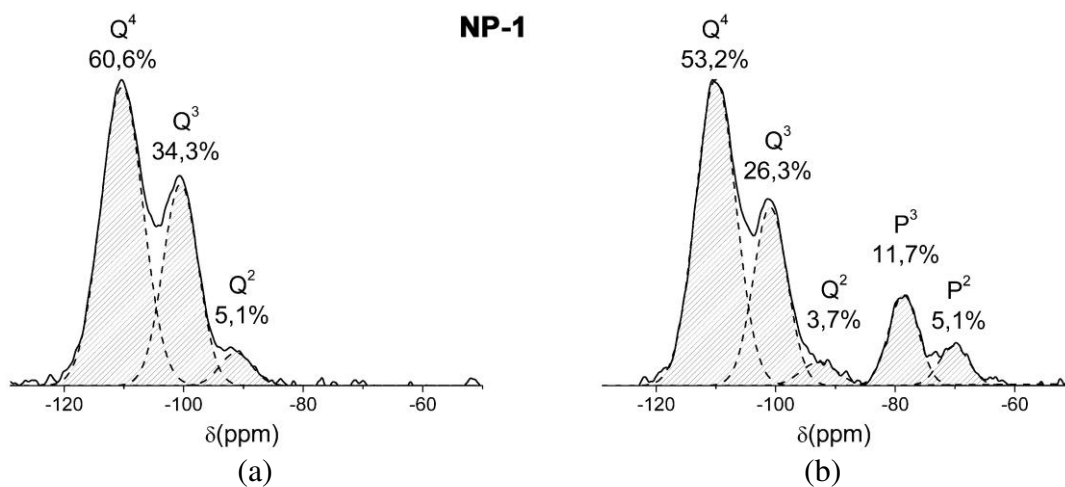


**Figura 13:** (a) Análises de TGA e (b) DTA das nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  não funcionalizadas (NP-1), e funcionalizadas com grupos octil (NO) e fenil (NF).

A baixa taxa de co-condensação dos grupos octil nos poros da nanopartícula pode ser associada a efeitos estéricos que dificultam a interação de sua cadeia alquílica com as do surfactante, principalmente devido à possibilidade de livre rotação da ligação  $\text{RCH}_2\text{--CH}_2\text{R}$ , a qual pode levar ao “enovelamento” dos grupos octil em função de ganhos energéticos. Os espectros de RMN de  $^{29}\text{Si}$  em modo HPDEC indicaram que o grupo fenil se co-condensou ligado a aproximadamente 17%-mol dos átomos de silício



presentes na amostra NF (Figura 14). Esse resultado representa a soma das áreas relativas às integrais dos picos  $P^2$  e  $P^3$  (ver Figura 2), os dois tipos de sítios de Si onde há uma ligação covalente com o carbono. Conforme se observa também nos espectros de RMN (Figura 14), a co-condensação do feniltrietoxissilano (amostra NF) se dá em função de uma queda na quantidade de todos os sítios de Si presentes na estrutura do  $SiO_2$  puro ( $Q^4$ ,  $Q^3$  e  $Q^2$ ). Considerando a maior incorporação dos grupos fenil nas cavidades porosas devido, possivelmente, a uma maior rigidez conformacional desse radical, a amostra NF foi tomada para ser base das posteriores funcionalizações da superfície externa.

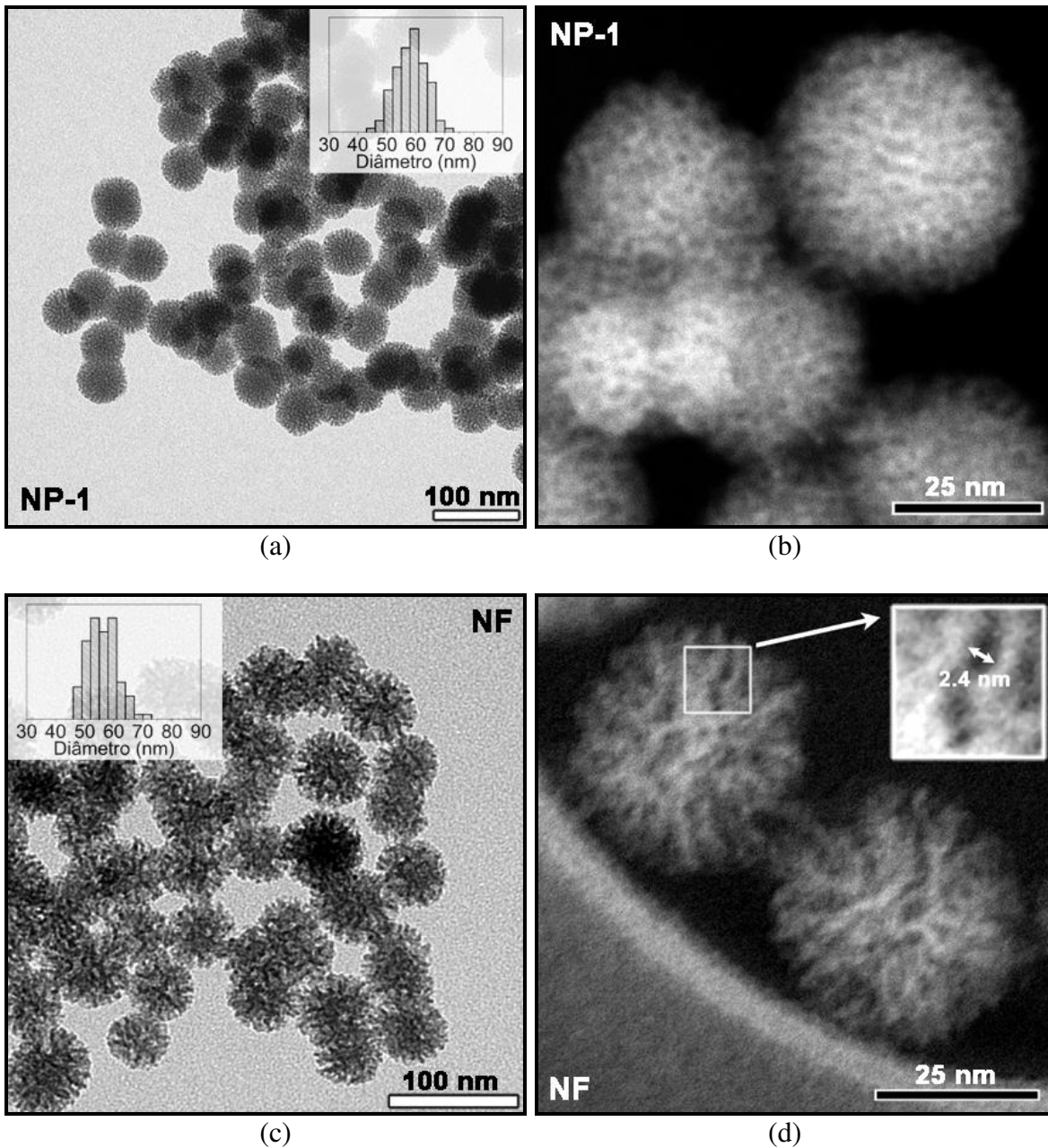


**Figura 14:** Espectros de RMN de  $^{29}Si$  das amostras de nanopartículas coloidais de  $SiO_2$  não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos fenil (NF).

Os tamanhos das nanopartículas foram avaliados também através de análises das micrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), em modo de campo claro, através do programa ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>, acesso em 12/10/2012). O tamanho é o equivalente ao diâmetro de Feret: a distância máxima existente entre dois pontos em uma seleção da imagem. Os histogramas mostrados na Figura 15a e

15c são resultados da avaliação de pelo menos cem partículas para cada amostra (NP-1 e NF). Conforme já mencionado, a funcionalização com o grupo fenil praticamente não modifica o tamanho das partículas, se mantendo em torno de 60 nm.

A estrutura porosa, apesar de ser visualmente diferente entre as duas amostras (NP-1 e NF), não pôde ser resolvida com as imagens de campo claro (Figura 15a e 15c). Assim, foram feitas micrografias usando o modo de campo escuro com espalhamento em alto ângulo, adquiridas através de um detector anular de alto ângulo (HAADF), em um microscópio eletrônico de transmissão com canhão de elétrons com emissão por campo (“field emission gun”, ou FEG) e operando em modo varredura (STEM). As imagens obtidas nesse modo de operação se mostraram muito úteis para avaliação de estruturas porosas desordenadas, uma vez que o contraste de massa-espessura fica mais evidente, permitindo observações difíceis de serem feitas pelos métodos convencionais. Em análise detalhada das imagens das nanopartículas não funcionalizadas (Figura 15b), as diferenças de contraste nas partículas são periódicas a partir de qualquer ponto da imagem, e equivalem a distâncias em torno de 2,0 nm, muito próximas do diâmetro de poro máximo observado através da distribuição de tamanho de poro obtida a partir da isoterma de adsorção-dessorção de N<sub>2</sub> (Figura 9b). O aumento do diâmetro de poro observado na Figura 11b para a amostra NF também pôde ser evidenciado nas micrografias (Figura 15d), nas quais a amostra apresenta cavidades porosas maiores e com estrutura mais complexa (aparentemente fractal). Além disso, o aumento no valor de volume de poro (1,5 m<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> para NF) também pode ser evidenciado nas micrografias, onde grandes cavidades podem ser observadas.



**Figura 15:** Micrografias (TEM) das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  não funcionalizadas (NP-1) e funcionalizadas com grupos fenil (NF), tomadas em modo de campo claro ((a) e (c)), e campo escuro anular de alto ângulo ((b) e (d)), respectivamente. As distribuições de tamanho de partícula das amostras NP-1 e NF estão inseridas nas imagens de campo claro (a) e (c), respectivamente.

Na síntese da amostra NF, as etapas posteriores de adição de TEOS, em 60 e 90 minutos de reação, visaram concentrar os grupos funcionais (fenil) na parte interna da partícula, de modo que houvesse uma diferenciação do ambiente microquímico da superfície do interior da partícula em relação ao ambiente da superfície externa da mesma. A eficiência dessa abordagem sintética foi comprovada pelas medidas de potencial zeta das suspensões das amostras NP-1 e NF em água deionizada ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 6,5$ ), as quais não apresentaram diferença significativa em seu valor (NP-1 =  $-16,3 \text{ mV} \pm 4,9$  e NF =  $-19,2 \text{ mV} \pm 6,3$ ), indicando a predominância de grupos silanol na superfície externa de ambas as amostras.

#### **5.4. Funcionalização da superfície externa das nanopartículas porosas de $\text{SiO}_2$ com grupos propilmetilfosfonato**

Estabelecidas as condições para a funcionalização interna das nanopartículas com o grupo hidrofóbico (fenil), focou-se na funcionalização exclusiva da superfície externa a fim de se otimizar a estabilidade coloidal das nanopartículas, e também condensar grupos orgânicos reativos que possam vir a servir como plataformas para outras ligações superficiais mais complexas. Assim, uma nova adição de organossilanos foi feita imediatamente após a última adição de TEOS ( $t = 90 \text{ min}$ ), quando o agente de modificação da superfície externa é co-condensado. Visando o aumento de cargas negativas sobre a superfície das nanopartículas, o 3-(trihidroxisilil)propil metilfosfonato de sódio (TSMF) foi usado. Em suspensão aquosa, o grupo propilmetilfosfonato se ioniza gerando o ânion  $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3\text{O}(\text{P}(\text{O})\text{OCH}_3)]^-$ . Já o aminopropiltriétoxissilano (APTES) foi usado para decoração superficial com cargas positivas, formadas em suspensões aquosas através da protonação da

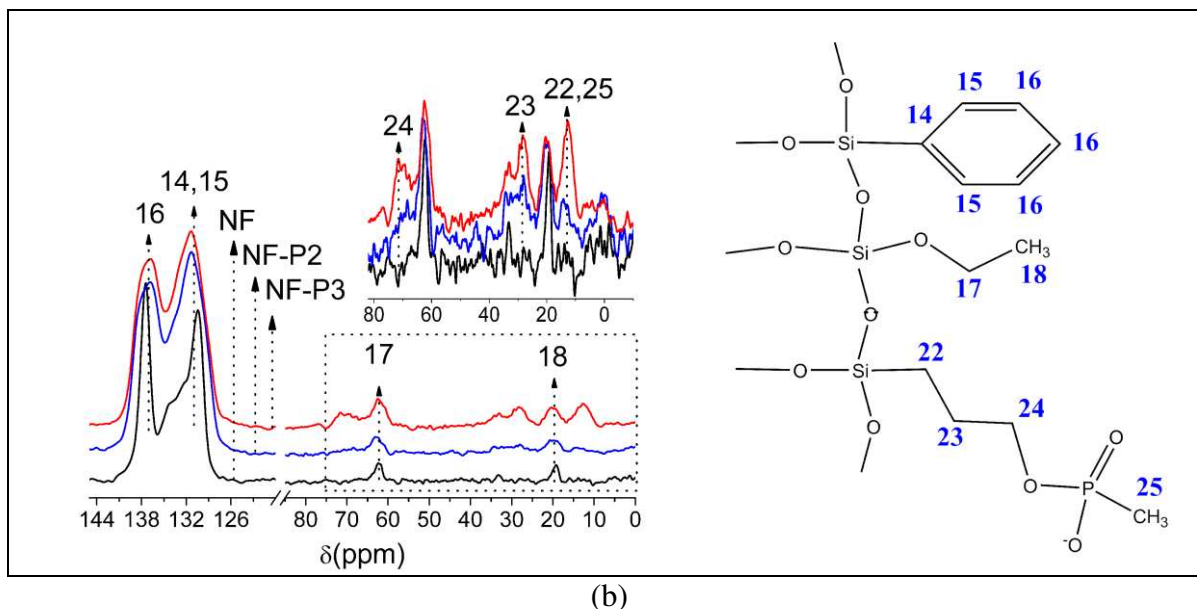
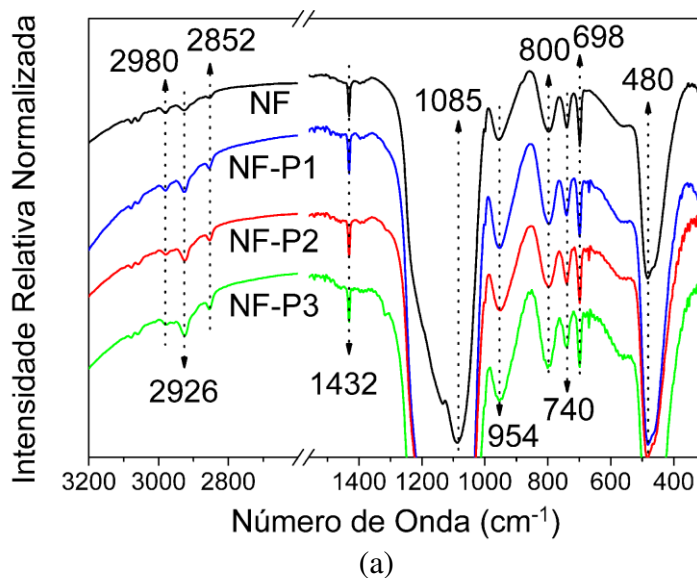


amina primária ( $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_3^+$ ). Além disso, a amina superficial também pode ser usada como sítio reativo para outras funcionalizações, como por exemplo, através de reações de amidação com moléculas que contêm ácidos carboxílicos, fazendo uso da química do cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), o agente intermediário no processo de amidação.

O método de co-condensação com adição por etapas possui uma abordagem muito eficiente, uma vez que uma nanopartícula multifuncionalizada pode ser produzida em apenas uma única etapa, e com rendimento de síntese superior a 80% (cálculo para as amostras NF, NF-P1, NF-P2 e NF-P3). Considerando os valores de tamanho de partícula já apresentados, tanto medidos por DLS como por TEM, ficou claro que a adição do feniltrietoxissilano em quantidades de até 20%-mol de silício no meio reacional não produziu efeitos indesejados na morfologia das nanopartículas produzidas. Por outro lado, os organossilanos usados para a modificação da superfície externa, o TSMF e APTES, devido às suas naturezas químicas, podem influenciar mais significativamente na cinética de crescimento das partículas. Em se tratando do 3-(trihidroxissilil)propil metilfosfonato de sódio, seu principal efeito se dá pela liberação do cátion sódio no meio reacional aquoso, o qual pode provocar a diminuição da repulsão eletrostática existente entre as nanopartículas através da diminuição da espessura da dupla camada elétrica, favorecendo o processo cinético de condensação entre partículas e, Conseqüentemente, diminuindo o tempo de gelação na faixa de pHs entre 7 e 10. Por outro lado, o aminopropil provoca um aumento do pH do meio reacional, o qual acaba gerando nanopartículas com estruturas alongadas. Por essas razões, tanto o método de adição como as quantidades usadas desses

modificadores superficiais devem ser bem controladas para que não ocorra efeitos deletérios sobre a morfologia das partículas.

A comprovação da funcionalização da superfície externa das nanopartículas porosas com o radical propilmetilfosfonato foi buscada por espectroscopia no infravermelho (Figura 16a). Todos os modos vibracionais observados para as amostras NF-Px são idênticos àqueles já citados para a amostra NF. A banda mais intensa relativa ao grupo  $\text{Si}-(\text{CH}_2)_3\text{O}(\text{P}(\text{O})\text{OHCH}_3)$  se encontra na faixa de 1000 a 1250  $\text{cm}^{-1}$ , a qual é sobreposta (degenerescência acidental) pelas bandas do estiramento assimétrico da ligação entre os vértices de duas unidades tetraédricas  $\text{SiO}_4$  ( $\nu_{\text{as}}(\text{Si}-\text{O}-\text{Si})$ ), com máxima intensidade em 1090  $\text{cm}^{-1}$ ). Se somada ainda a baixa concentração desses grupos nas amostras, no máximo 4,8%-mol de Si, sua detecção nos espectros de infravermelho passa a ser ainda mais difícil. A identificação dos modos vibracionais do propilmetilfosfonato poderia ser feita através das bandas de estiramento C-H (2980, 2926, 2900 e 2857  $\text{cm}^{-1}$ ), relativos aos grupos propil e metil do  $\text{Si}-(\text{CH}_2)_3\text{O}(\text{P}(\text{O})\text{OHCH}_3)$ . Entretanto, como essas bandas também estão relacionadas à presença dos grupos etoxi residuais, suas intensidades variam sutilmente de amostra para amostra, tornando-as inadequadas para quantificação do grupo funcionalizante. Por outro lado, os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  (CPMAS) possibilitaram a comprovação da co-condensação desses grupos nas nanopartículas. Conforme se observa na Figura 16b, os carbonos 22 (12,7 ppm), 23 (28,4 ppm), 24 (71,1 ppm) e 25 (33,3 ppm) do propilmetilfosfonato (ver Figura 2) são observados em picos com intensidades crescentes em função da quantidade de TSMF utilizada na síntese. O grupo propilmetilfosfonato presente na amostra NF-P1 não pôde ser observado nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  devido à sua baixa quantidade (1%-mol de Si).

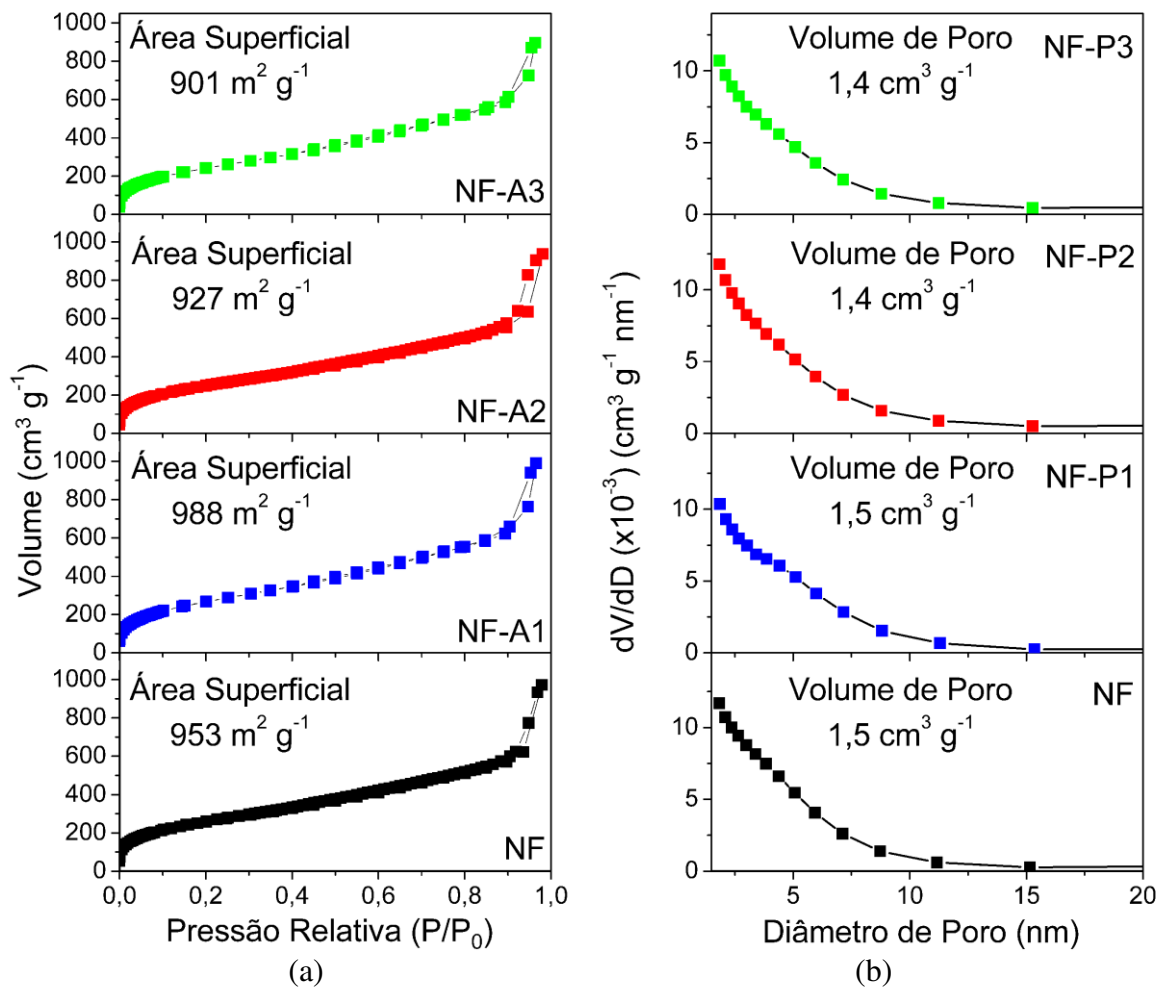


**Figura 16:** (a) Espectros de FTIR e de (b) RMN das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos com grupos fenil e propilmetilfosfonato.

A funcionalização hierárquica da superfície externa das nanopartículas com o TSMF não provocou nenhuma alteração no perfil das isotermas de adsorção-dessorção de N<sub>2</sub> das amostras NF-P1, NF-P2 e NF-P3, em comparação com a amostra NF (Figura 17a). As isotermas se assemelham às do tipo II na classificação IUPAC, contendo uma histerese com leve



irreversibilidade do tipo H3, típica de poros no formato de fendas. O mesmo se deu com a distribuição de tamanho de poro, sendo essa mantida na faixa entre 1,8 e 10 nm (Figura 17b). A área superficial sofreu uma leve diminuição em função do aumento da quantidade de TSMF na síntese, principalmente para a amostra NF-P3, fato que será discutido em função dos resultados de DLS. Praticamente, não houve variação no valor de volume de poro para essas amostras.



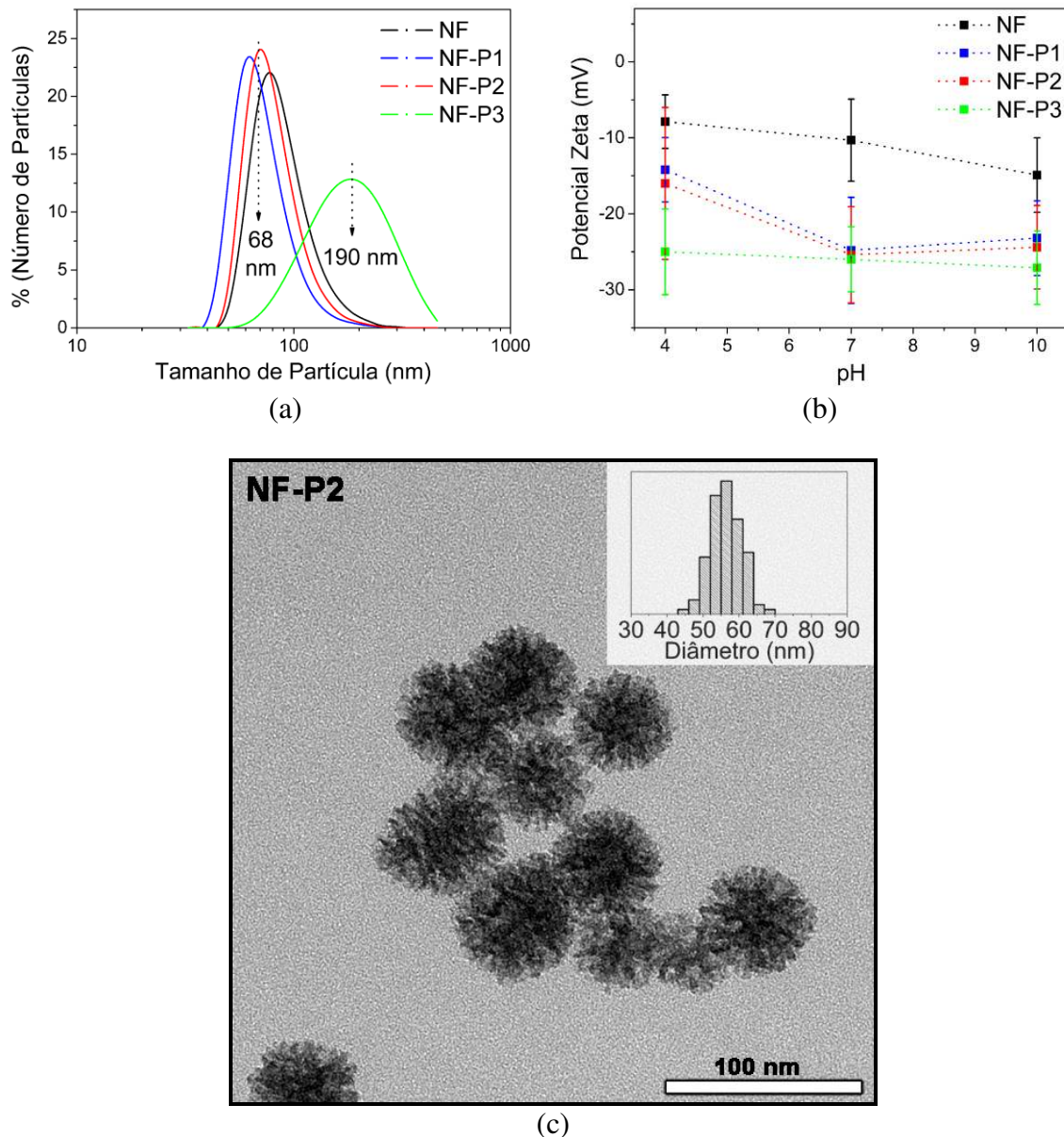
**Figura 17:** (a) Isothermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato.



Os resultados de espalhamento de luz dinâmico (DLS) das suspensões das amostras de nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos propilmetilfosfonato em água deionizada (1,0 mg mL<sup>-1</sup>) mostraram que a adição de até 2,4%-mol (Si) de TSMF não causa nenhuma variação nos tamanhos das partículas em comparação com a amostra NF. Conforme é visto na Figura 18a, o máximo da distribuição de tamanho se dá em torno de 70 nm para as amostras NF, NF-P1 e NF-P2, e a faixa de tamanhos vai de 60 a 200 nm. A adição de mais TSMF (4,8%-mol de Si, amostra NF-P3) provoca um aumento indesejado no tamanho das partículas e também amplia a faixa de distribuição (60 a 500 nm), resultado do efeito da maior concentração de cátions sódio agindo sobre a dupla camada elétrica negativamente carregada, o que gera a condensação das nanopartículas, e conseqüente formação de agregados.

A comprovação da co-condensação dos grupos propilmetilfosfonato na superfície externa das nanopartículas coloidais foi obtida através de medidas do valor de potencial zeta ( $\zeta$ ) das amostras suspensas em soluções tampão de pH 4, 7 e 10 (Figura 18b). Nas condições medidas, em pH =4, a protonação parcial dos grupos silanóis em comparação com os outros pHs (7 e 10) faz com que a presença do propilmetilfosfonato seja melhor evidenciada nas amostras NF-Px. De fato, o valor de  $\zeta$  apresentou uma diminuição diretamente proporcional ao aumento da quantidade de TSMF usada durante a síntese (NF = -7,8; NF-P1 = -14,1; NF-P2 = -16,1; e NF-P3 = -24,9 mV). Considerando os resultados de DLS e  $\zeta$ , constata-se a possibilidade de substituição de até 2,4%-mol de Si com esse grupo funcionalizante (propilmetilfosfonato). A micrografia da amostra NF-P2 obtida por microscopia de transmissão em modo de campo claro (Figura 18c) demonstra as mesmas características observadas para a amostra NF. Os diâmetros das nanopartículas obtidos

através das micrografias (análise de pelo menos cem partículas, vista no histograma inserido na Figura 18c) apresentaram uma distribuição de tamanhos similar à da amostra NF.



**Figura 18:** (a) Medidas de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. (b) Medidas de potencial zeta em função do pH das suspensões de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato. (c) Micrografia (TEM) e distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-P2 (obtida através de análises das imagens, gráfico inserido).



## 5.5. Funcionalização da superfície externa das nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub> com grupos propilamina

Conforme já mencionado, o método *in situ* de co-condensação dos radicais orgânicos funcionalizantes, feito em uma única etapa sintética, é muito prático e apresenta ótimo rendimento (>80% para as amostras NF-Px). Porém no caso do radical aminopropil, esse método *in-situ* se torna limitado a funcionalizações contendo baixas quantidades de APTES, uma vez que um pequeno aumento na concentração de OH<sup>-</sup> leva a formação de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> alongadas, considerando as quantidades utilizadas dos reagentes para a síntese das nanopartículas coloidais (amostra NF). Essa consideração foi comprovada através de experimentos que indicaram que mesmo a substituição de 2%-mol de TEOS pelo 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) já leva a mudanças indesejadas na morfologia das nanopartículas. Para compensar a mudança no pH causada pela adição do APTES no meio reacional, foi também diminuída a quantidade de base (NH<sub>3</sub>) inicialmente usada. Nesse caso, o rendimento da síntese cai substancialmente e o volume de APTES passível de ser adicionado ainda é baixo. Neste caso, a decoração da superfície externa das nanopartículas com grupos aminopropil foi feita através de um método de enxerto pós-síntese. Para isso, a amostra NF, antes de passar pelo processo de extração do CTAB, foi utilizada como precursora. As nanopartículas foram suspensas em etanol e, na mistura, foi adicionado o organossilano APTES em três diferentes quantidades (5, 10 e 25%-mol de Si em relação à amostra NF pesada, aproximadamente 300 mg).

Antes de passar pelo processo de extração do CTAB, a amostra NF apresentou área superficial de 365 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, ou seja, aproximadamente 62% da área total da amostra (953 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) está obstruída pela presença do surfactante,

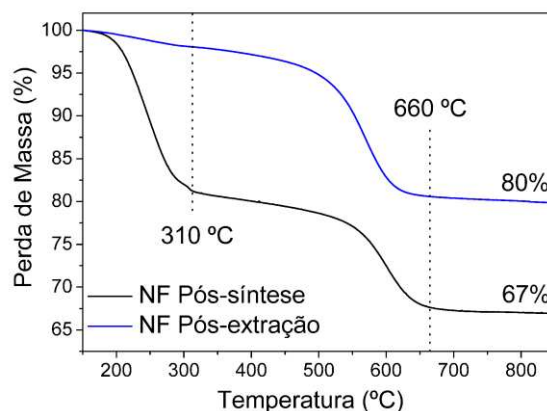
sendo que a maior parte da superfície dos poros estão indisponíveis para a condensação do APTES, supostamente a região mais interna. Partindo desse pressuposto, durante o processo de reação das nanopartículas da amostra NF com o APTES, se favorece a condensação do organossilano sobre a superfície externa das nanopartículas fazendo uso dos grupos silanol expostos.

As quantidades de 3-aminopropiltriétoxissilano utilizadas para as síntese das amostras NF-Ax ( $x = 1, 2$  e  $3$ ) foram propostas em função do número de mols de silício em relação à massa da amostra NF. A relação (mols de Si)/(massa NF) foi calculada através da análise termogravimétrica mostrada na Figura 19. As nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com fenil antes da extração do surfactante (NF Pós-síntese) apresentaram um valor aproximado de 18% de CTAB em sua massa total, os quais são decompostos até  $310^\circ\text{C}$ . Além disso, há a decomposição dos radicais fenila até  $660^\circ\text{C}$ . Portanto, os volumes de APTES relativos a 5, 10 e 25%-mol de Si são calculados sobre os 67% de  $\text{SiO}_2$  presentes na amostra NF Pós-síntese, valor (%-massa) medido na temperatura de  $850^\circ\text{C}$ . Após a reação de funcionalização da superfície externa, os produtos NF-Ax são isolados e passam finalmente pelo processo de extração do CTAB. Nas amostras NF-Ax sem o CTAB, o perfil do termograma é semelhante ao da amostra NF Pós-extração (Figura 19). A decomposição dos anéis aromáticos dos grupos fenil ligados à sílica se dá até  $660^\circ\text{C}$ , e a presença desses grupos corresponde a aproximadamente 15% da massa total da amostra (amostra NF).

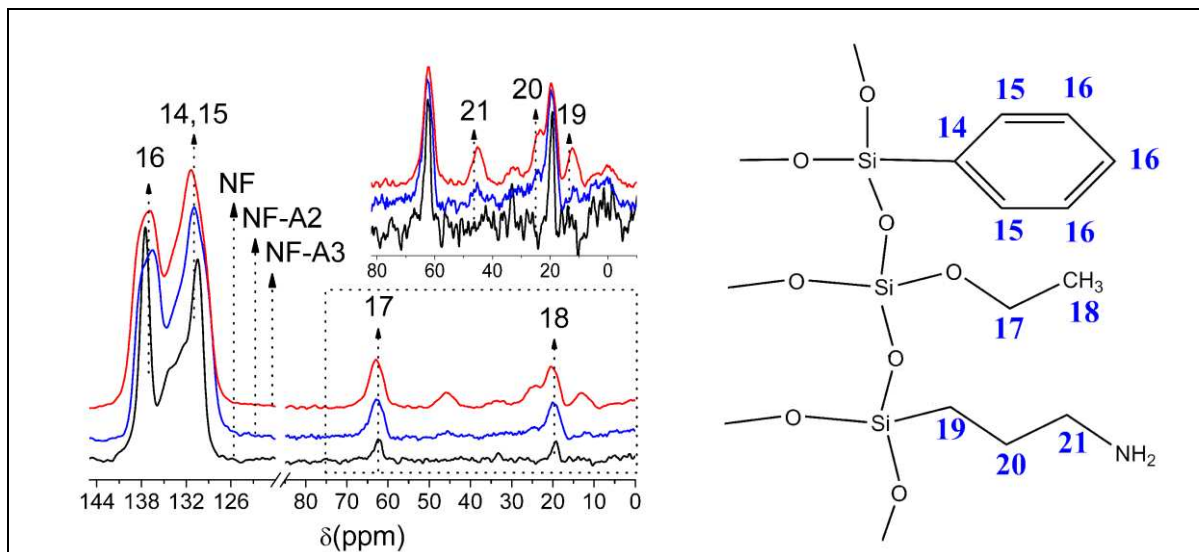
A condensação do APTES na amostra NF foi avaliada por espectroscopia no infravermelho (FTIR). Os espectros apresentaram as bandas já observadas (Figura 16a) em  $1100$  ( $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$ ),  $959$  ( $\nu(\text{Si-OH})$ ),  $800$  ( $\nu(\text{Si-O-Si})$ ) e  $466 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta(\text{Si-O-Si})$ ), relacionadas à sílica; e em  $3078$  e  $3058$  ( $\nu(\text{C-H})$ , anel aromático),  $1432$  ( $\nu(\text{C=C})$ , anel aromático),  $740$  ( $\delta(\text{C-H})$ , anel



aromático) e  $698\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta(\text{C}=\text{C})$ , anel aromático). As bandas exclusivas do grupo aminopropil que comprovariam a funcionalização, com exceção dos estiramentos e deformações C–H, também presentes nos grupos etoxi residuais, seriam os modos relacionados aos estiramentos N–H e C–N, em aproximadamente  $3300\text{--}3500$  e  $1000\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. O modo  $\nu(\text{N–H})$  tem menor intensidade que o  $\nu(\text{O–H})$  e, considerando a baixa porcentagem de aminopropil nas amostras, não foram visualizados nos espectros. Por sua vez, o modo vibracional  $\nu(\text{N–C})$  é sobreposto pelos modos de estiramento assimétrico das cadeias poliméricas de sílica  $\nu_{\text{as}}(\text{Si–O–Si})$ . Conseqüentemente, a condensação do APTES nas nanopartículas foi comprovada pelos espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , mostrados na Figura 20. Os carbonos presentes no grupo propilamina são identificados em 12,3 (C 19), 23,4 (C 20) e 44,7 ppm (C 21), tendo os picos intensidades crescentes da amostra NF-A2 à NF-A3, proporcionais à quantidade APTES adicionadas durante a síntese. No caso da amostra NF-A1, onde houve baixa condensação de grupos propilamina nas nanopartículas, a detecção dos grupos funcionalizantes não pôde ser feita por RMN de  $^{13}\text{C}$ , mesmo no modo no modo CPMAS.



**Figura 19:** Análises de TGA das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas medidos logo após a síntese e após a extração do CTAB.

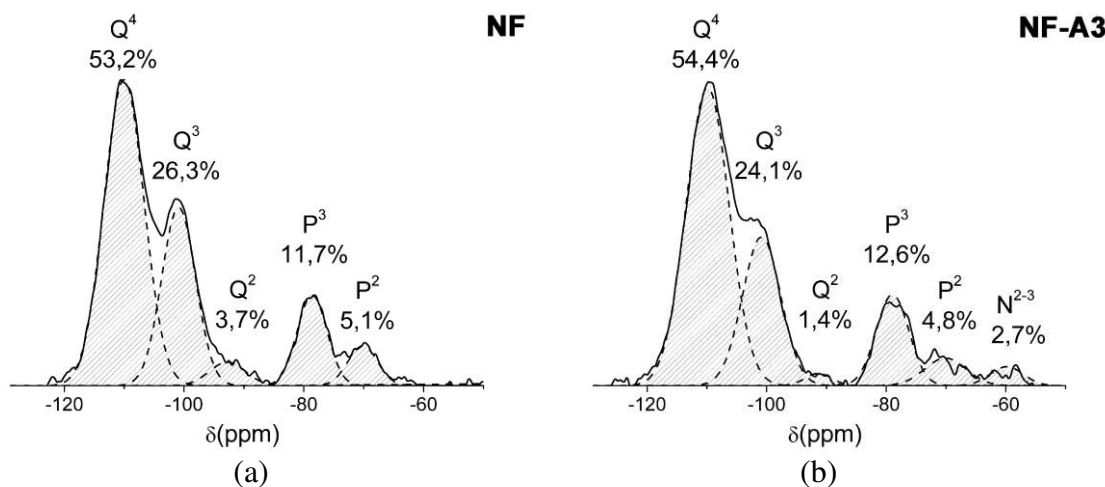


**Figura 20:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos com grupos fenil e propilamina.

O perfil das isotermas de adsorção-dessorção de  $\text{N}_2$  das amostras contendo os grupos aminopropil ligados covalentemente às superfícies externas (NF-A1, NF-A2 e NF-A3) não apresentaram variação em comparação à isoterma da amostra NF (Figura 11a), resultado que era esperado devido à obstrução da maior parte da estrutura porosa das nanopartículas (amostra NF) pela presença do CTAB. As isotermas são classificadas como do tipo II, com uma histerese de leve irreversibilidade do tipo H3 (a partir de  $P/P_0 = 0,4$ ), confirmando a manutenção da estrutura porosa, a qual possui poros no formato de fendas. A distribuição de tamanho de poro também não se alterou em relação à amostra NF (Figura 11b), bem como os valores de volume de poro. As áreas superficiais sofreram uma leve diminuição: NF-A1 = 988, NF-A2 = 927 e NF-A3 = 901  $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ . O grau de condensação do grupo propilamina nas nanopartículas foi calculado através da integração dos picos nos espectros de RMN de  $^{29}\text{Si}$  (HPDEC, Figura 21). Observou-se que a condensação do grupo funcionalizante na amostra NF-A3



foi de aproximadamente 2,7%-mol de Si, ocorrendo em função da diminuição da porcentagem dos sítios  $Q^2$  e  $Q^3$  da amostra NF.

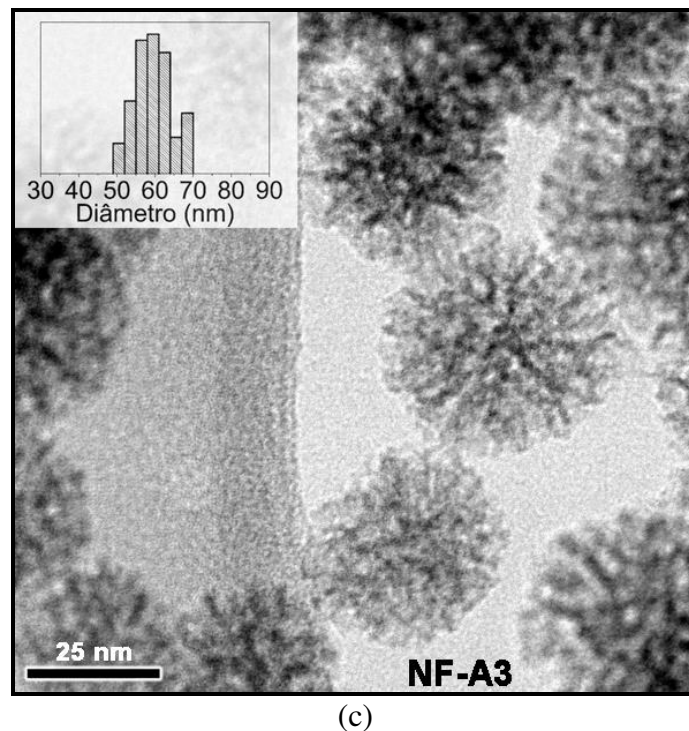
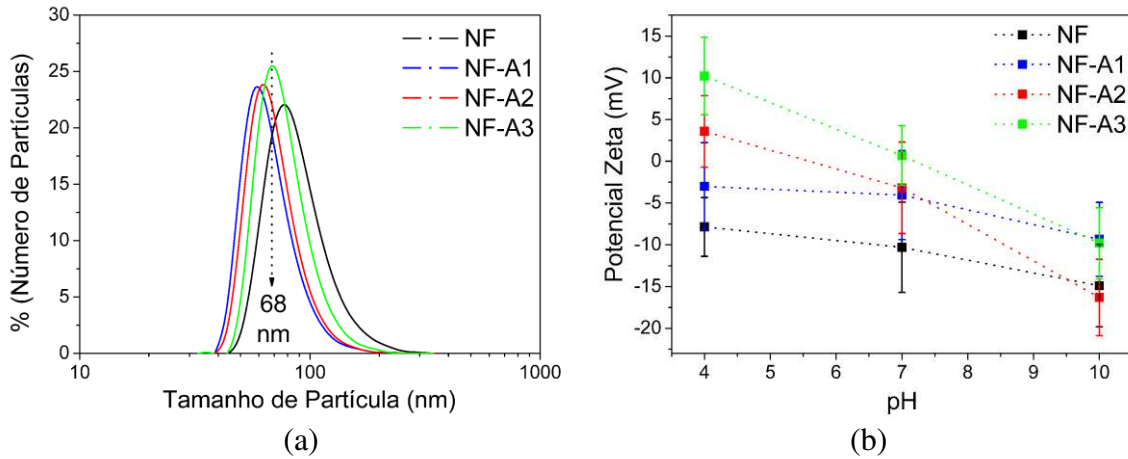


**Figura 21:** Espectros de RMN de  $^{29}\text{Si}$  das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos fenil (NF), e com fenil e propilamina (NF-A3).

A distribuição de tamanho de partícula obtida através de espalhamento de luz dinâmico (DLS) não indicou variação significativa nos diâmetros das nanopartículas funcionalizadas com grupos propilamina pelo método de enxerto pós-síntese (NF-Ax). Esse resultado é reflexo das condições em que são feitas as funcionalização: a condensação do APTES se dá em meio etanólico, onde as nanopartículas não sofrem variação morfológica. As nanopartículas apresentaram diâmetros na faixa de 50 a 200 nm (Figura 22a). O indício da decoração da superfície externa com os grupos aminopropil foi obtido através das análises dos valores de potencial zeta das suspensões das amostras NF-A1, NF-A2 e NF-A3, em soluções tampão de pH 4, 7 e 10 (Figura 22b). Em pH 4, onde há maior índice de protonação dos radicais amina entre os pHs medidos ( $\text{pK}_{\text{a propilamina}} = 10,6$ ), observou-se um aumento progressivo do valor de potencial zeta em função da quantidade de APTES



utilizada na síntese, sendo que a amostra NF-A3 apresentou  $\zeta$  de +10,21 mV, em contraste com os -7,88 mV da amostra NF.



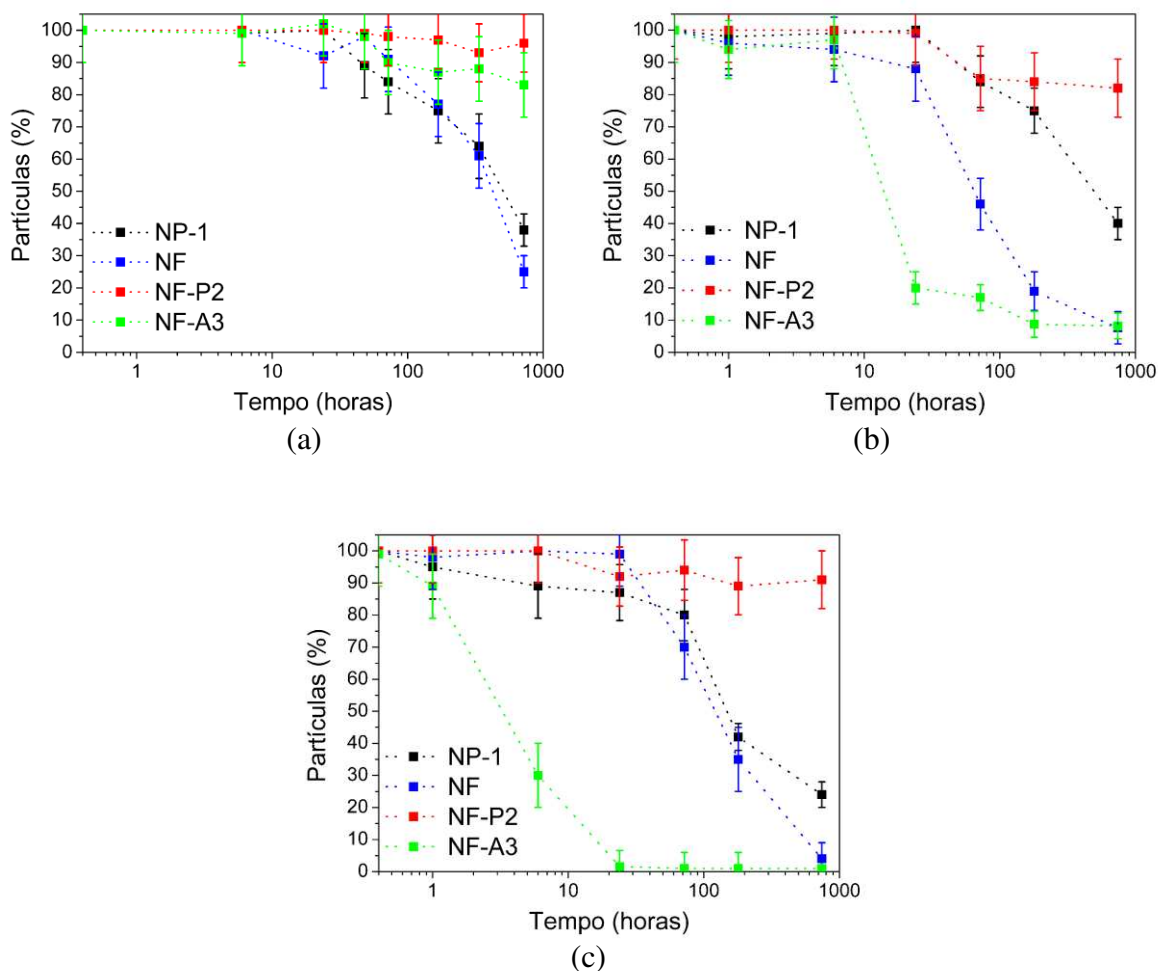
**Figura 22:** (a) Medidas de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos fenil e propilamina. (b) Medidas de potencial zeta em função do pH das suspensões de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos fenil e propilamina. (c) Micrografia (TEM) e distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-A3 (obtida através das análises das imagens, gráfico inserido).



Os diâmetros das nanopartículas também foram calculados através das micrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão em modo de campo claro. O histograma inserido na Figura 22c é resultado da análise de pelo menos cem nanopartículas. Os diâmetros das nanopartículas estão na faixa de 45 a 70 nm, similares aos previamente observados para todas as outras nanopartículas coloidais. As micrografias obtidas em modo de campo escuro anular de alto ângulo foram úteis para visualização da estrutura porosa, a qual se assemelha àquela observada na Figura 15d, possuindo uma variação de contraste periódica, em distâncias que vão de aproximadamente 2 a 5 nm.

## **5.6. Avaliação da estabilidade coloidal das nanopartículas funcionalizadas, porosas e coloidais de SiO<sub>2</sub>**

Além das análises de potencial zeta, que foram usadas para demonstrar a condensação do APTES e TSMF sobre a superfície externa das partículas (Figuras 18b e 22b), foi feito um estudo de estabilidade coloidal das nanopartículas (NP-1, NF, NF-Px e NF-Ax) em três meios diferentes: água deionizada, água mineral e água mineral contendo ácido húmico (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). A utilização da água mineral e do ácido húmico como meios dispersantes se deve ao fato de suas características como agente de agregação de partículas coloidais. Considerando o grau de funcionalização e a morfologia das nanopartículas produzidas, as amostras mais adequadas para utilização como veículos moleculares são NF-P2 e NF-A3, decoradas superficialmente com os grupos propilmetilfosfonato e propilamina, respectivamente. Portanto, a estabilidade coloidal dessas nanopartículas foi avaliada retirando-se alíquotas da suspensão (1,0  $\text{mg mL}^{-1}$ ) e submetendo-as a análises de absorção no comprimento de onda de 263 nm, em um espectrofotômetro UV-Vis.



**Figura 23:** Estudo da estabilidade coloidal das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  não funcionalizadas (NP-1); funcionalizadas com grupos fenil (NF); com grupos fenil e propilmetilfosfonato (NF-P2); e com grupos fenil e propilamina (NF-A3) em: (a) água deionizada, (b) água mineral e (c) água mineral contendo ácido húmico.

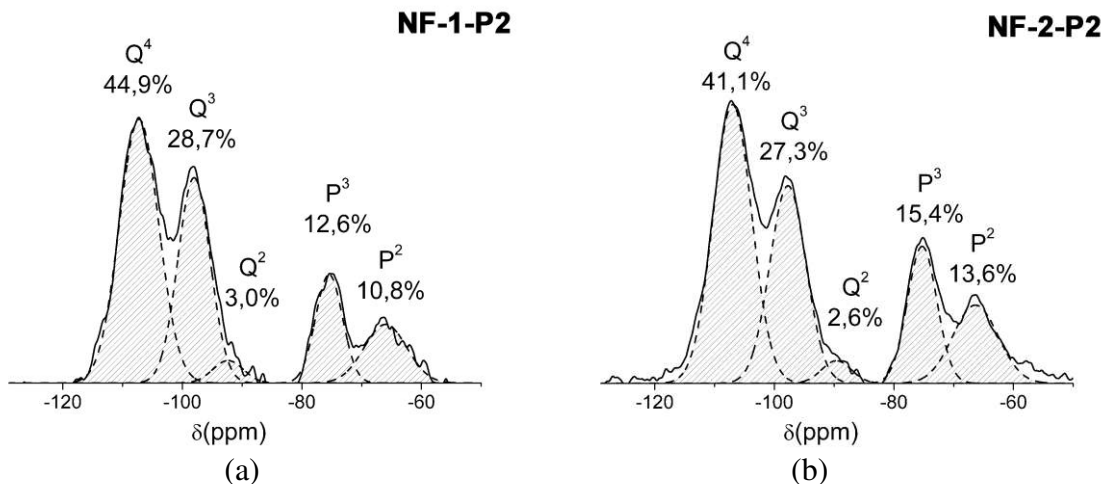
Durante os primeiros três dias (72 horas), a estabilidade das nanopartículas não apresentou diferença significativa em água deionizada (Figura 23a), com todas as amostras se mantendo estáveis com mais de 80% das partículas em suspensão. A partir de duas semanas (336 horas), observa-se o ganho de estabilidade em função da presença da maior quantidade de cargas superficiais nas amostras NF-P2 e NF-A3 (negativas e positivas, respectivamente). Após um mês (720 horas, 30 dias), as amostras NF-P2 e



NF-A3 ainda apresentaram mais de 80% de nanopartículas em suspensão, contrastando com as amostras sem funcionalização da superfície externa (NP-1 e NF), as quais se sedimentam significativamente nesse período de tempo. Em água mineral (Figura 23b), observou-se um aumento da taxa de sedimentação para as amostras NP-1, NF, e, principalmente, para as nanopartículas contendo grupos aminopropil (NF-A3). As concentrações dos íons presentes na água mineral usada são:  $Ba^{2+} = 0,024 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Ca^{2+} = 12,98 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Sr^{2+} = 0,049 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Mg^{2+} = 7,96 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $K^{+} = 1,44 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Na^{+} = 3,31 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $PO_4^{3-} = 0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $SO_4^{2-} = 0,22 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $HCO_3^{-} = 85,60 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $F^{-} = 0,010 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $NO_3^{-} = 2,80 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Cl^{-} = 1,06 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Br^{-} = 0,04 \text{ mg L}^{-1}$  (pH = 6.8). Dessa forma, as nanopartículas da amostra NF-A3 possivelmente decantam mais rapidamente em função da formação de ligações de hidrogênio entre os radicais amina parcialmente protonados das nanopartículas e os ânions em solução, principalmente o bicarbonato ( $HCO_3^{-}$ ), presente em maior concentração. Essas interações diminuem o potencial elétrico da dupla camada, e levam à agregação das nanopartículas. Com a adição do ácido húmico no meio em concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Figura 23c), a taxa de sedimentação da amostra NF-A3 se pronuncia, possivelmente devido agora à interação das nanopartículas com o ácido húmico, regida por interações eletrostáticas, uma vez que o ácido húmico é negativamente carregado. Assim, o ácido húmico acaba agindo como um agente de agregação para a amostra NF-A3. Nos resultados mostrados na Figura 23, observa-se o ótimo nível de estabilidade atingido quando há funcionalização da superfície externa das nanopartículas com grupos propilmetilfosfonato. A amostra NF-P2 apresentou-se estável nos três meios avaliados, mesmo após um mês de experimento, apresentando mais de 80% das nanopartículas ainda suspensas.

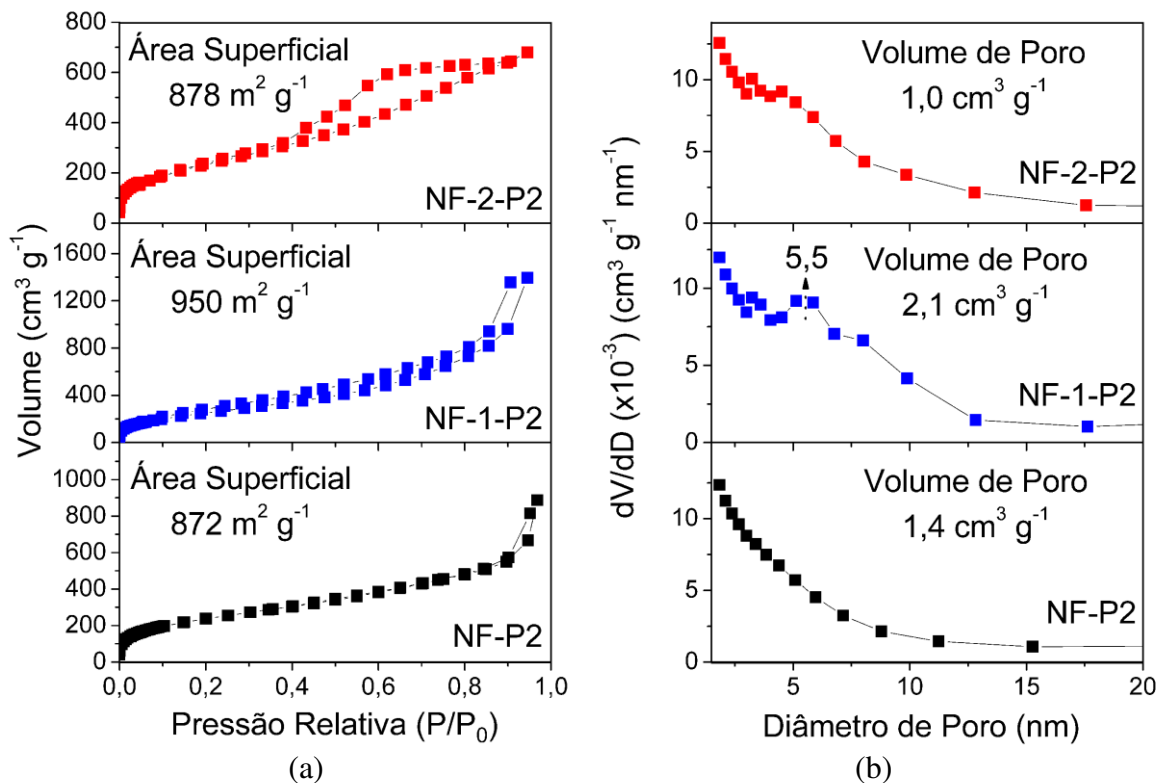
### 5.7. Otimização da superfície interna hidrofóbica das nanopartículas funcionalizadas, porosas e coloidais de SiO<sub>2</sub>

Constatados os parâmetros mais adequados para a funcionalização hierárquica da superfície externa das nanopartículas, foi objetivado atingir um aumento no grau de funcionalização da cavidade porosa hidrofóbica interna (conjugada com grupos fenil). A quantidade de grupos fenil ligados na superfície dos poros reflete na capacidade das cavidades hidrofóbicas internas das nanopartículas de incorporar moléculas hidrofóbicas. Dessa forma, foi fixada a quantidade de TSMF usada do organossilano responsável pela decoração externa com o grupo propilmetilfosfonato (em 2,4%-mol de Si), e foram aumentadas as quantidades de FTES (feniltrietoxissilano) usadas na síntese, para aproximadamente 30 e 40%-mol de Si total, gerando as amostras NF-1-P2 e NF-2-P2, respectivamente. Através dos espectros de RMN de <sup>29</sup>Si (HPDEC) de ambas as amostras (Figura 24), observou-se que a amostra NF-1-P2 tem aproximadamente 23,4% dos átomos de silício ligados a radicais fenila; enquanto que o valor para a amostra NF-2-P2 foi de aproximadamente 29%. Houve um aumento da funcionalização efetiva em comparação com a amostra NF (16,8%-mol de Si). Todavia, conforme se observa, a relação entre o grau de funcionalização efetiva e a nominal caiu em função do aumento da quantidade de FTES usada (NF = 0,84, NF-1-P2 = 0,78 e NF-2-P2 = 0,72); refletindo em uma perda no rendimento do processo de co-condensação do feniltrietoxissilano juntamente com o TEOS. Outro ponto importante observado foi que, apesar das razões entre os sítios P<sup>2 e 3</sup> e Q<sup>2, 3 e 4</sup> terem aumentando crescentemente da amostra NF-1-P2 para a NF-2-P2, houve praticamente a manutenção das razões Q<sup>2</sup>/Q<sup>3</sup>, Q<sup>2</sup>/Q<sup>4</sup> e Q<sup>3</sup>/Q<sup>4</sup> (0,10; 0,06 e 0,64).



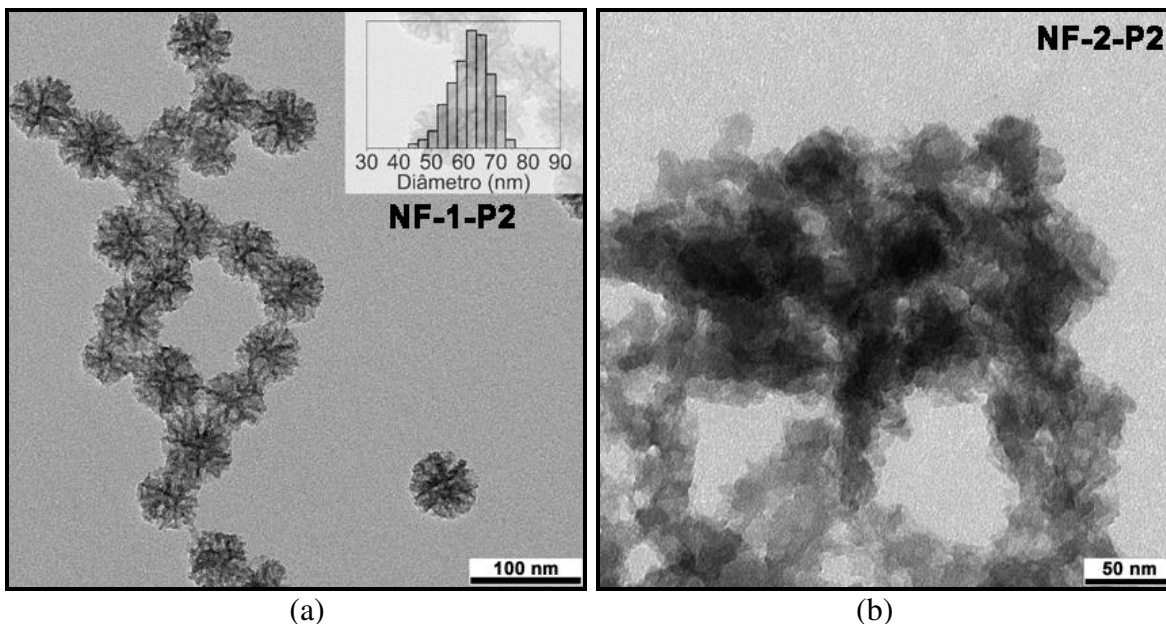
**Figura 24:** Espectros de RMN de  $^{29}\text{Si}$  das amostras de nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos fenil propilmetilfosfonato (NF-1-P2 e NF-2-P2).

As isotermas de adsorção-dessorção de  $\text{N}_2$  obtidas para as amostras NF-1-P2 e NF-2-P2 mantiveram as características típicas daquelas classificadas como do tipo II (IUPAC), indicando a presença de uma estrutura porosa complexa (Figura 25a). Observou-se um comportamento de irreversibilidade mais acentuado (histerese) a partir de  $P/P_0 = 0,4$ , em função do aumento da quantidade de fenil co-condensando nas nanopartículas. Essa histerese está associada às mudanças na estrutura porosa das nanopartículas em função da presença do feniltrióxissilano no meio reacional, resultado de modificações no arranjo supramolecular. A abertura da histerese em valores menores de pressão ( $P/P_0$ ) indica uma estrutura porosa menos definida na amostra NF-2-P2 (Figura 25a), onde há a possível presença de fendas e cavidades formadas pela aglomeração das partículas. Nessa amostra, há também a perda de parte da histerese em altas pressões ( $P/P_0 > 0,8$ ), que está relacionada à texturização dos nanomateriais após compactação dos pós usados para a análise<sup>93</sup>. O valor de área superficial, calculada pelo método BET, teve um leve aumento da amostra NF-P2 para a NF-1-P2, com uma sequencial diminuição da amostra NF-1-P2 para a NF-2-P2.



**Figura 25:** (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição de tamanho de poro das amostras de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato.

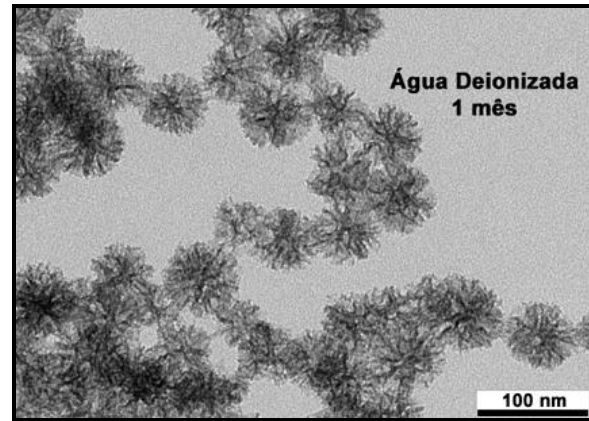
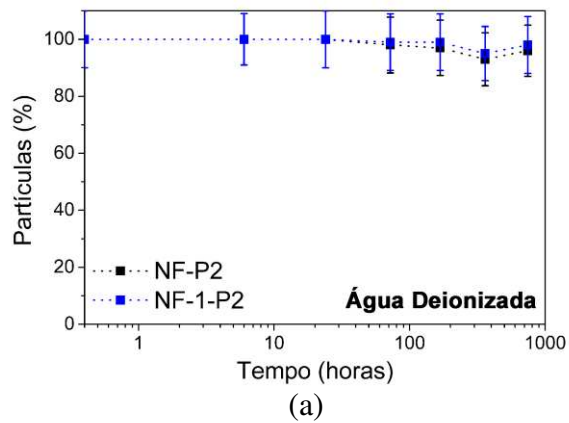
A formação de uma estrutura porosa mais complexa e menos definida em função do aumento da quantidade do FTES no meio reacional, já discutida através das isotermas de adsorção-dessorção de N<sub>2</sub>, é acompanhada pelo alargamento na distribuição de tamanho de poro das amostras NF-1-P2 e NF-2-P2 (Figura 25b). Além disso, foi observado também um aumento no valor de volume de poro para o NF-1-P2 (2,1 m<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>), e uma substancial diminuição para a amostra NF-2-P2 (1,0 m<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>), em comparação com a amostra NF-P2 (1,4 m<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>). Conforme já mencionado, a disposição do feniltrietoxissilano no meio reacional estabiliza energeticamente as micelas, e promove a diminuição de suas curvaturas. Contudo, como será visto a seguir, se a relação FTES/TEOS ultrapassa certo valor, sua presença (FTES) pode influenciar a cinética de crescimento das partículas.



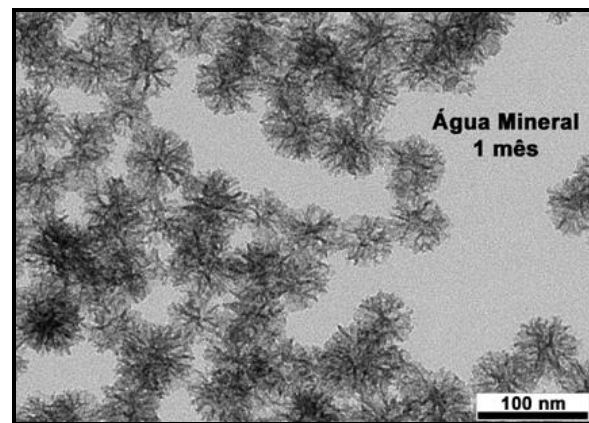
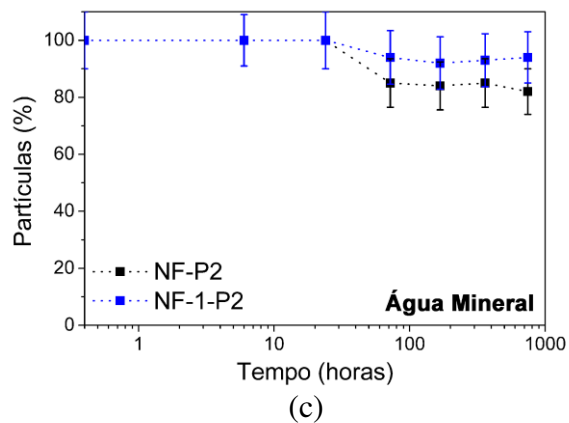
**Figura 26:** Micrografias (TEM) das amostras: (a) NF-1-P2 e (b) NF-2-P2. A distribuição de tamanho de partícula da amostra NF-1-P2, obtida através das análises das imagens, está inserida na respectiva micrografia.

Quando submetidas à análise de TEM (Figura 26), ficou clara a variação morfológica dos produtos em função do aumento da quantidade de feniltrietoxissilano no processo de síntese. Até 30%-mol de Si (ou TEOS) substituídos por FTES (NF-1-P2), as nanopartículas apresentaram morfologia esférica e homogênea, com distribuição de tamanho praticamente igual a da amostra NF-P2 (Figura 18c). Contrariamente, quando se usou 40%-mol de Si de FTES (NF-2-P2, Figura 26b), foram formados grandes aglomerados de nanopartículas, possivelmente devido à menor oferta de monômeros de silício solúveis em água ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ), que garantem a formação dos sós de sílica. Por essa razão, a amostra NF-1-P2 foi escolhida como sendo mais adequada. O NF-1-P2 apresenta estabilidade coloidal igual ou superior à amostra NF-P2 (Figuras 27a, 27c e 27e), e contam com maior quantidade de grupos fenil nos poros. Além disso, as nanopartículas possuem uma alta estabilidade morfológica mesmo após um mês de dispersão (Figuras 27b, 27d e 27f).

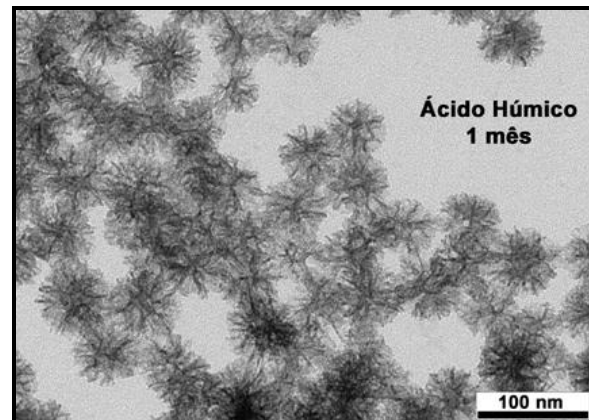
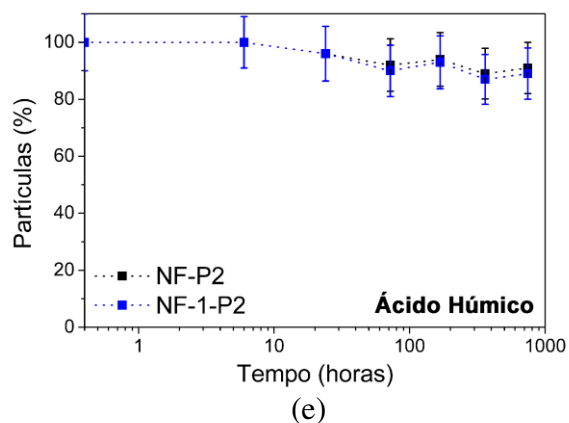




(b)



(d)

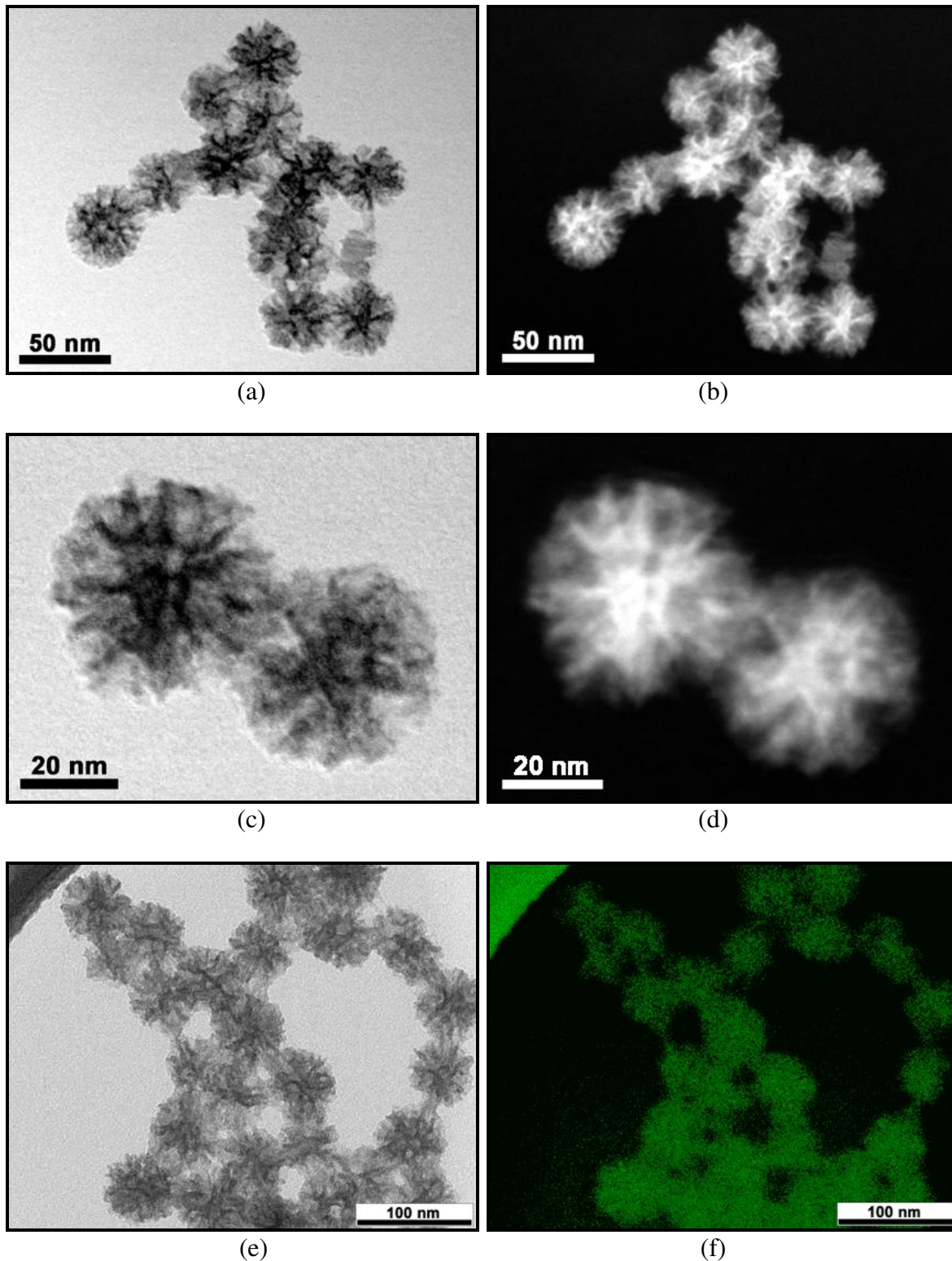


(f)

**Figura 27:** Estudo de estabilidade coloidal das amostras de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato (NF-P2 e NF-1-P2) em diferentes meios: (a) água deionizada, (c) água mineral e (e) ácido húmico dissolvido em água mineral. Micrografias (TEM) da amostra NF-1-P2 após 1 mês (720 horas) de suspensão em (b) água deionizada, (d) água mineral e (f) ácido húmico dissolvido em água mineral.



A estrutura porosa da amostra NF-1-P2 também foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão em modo de campo escuro anular de alto ângulo (HAADF), em um microscópio de transmissão por varredura (STEM), e os resultados são mostrados nas Figuras 28b e 28d. Em comparação com a estrutura porosa observada para a amostra NF (Figura 15d, semelhante à da amostra NF-P2), se observa um aumento nos tamanhos das cavidades porosas, bem como um arranjo desordenado de poros. O alargamento na distribuição de tamanho de poro (presença de poros maiores que 5 nm), já apontado para essa amostra pelos resultados do método BJH (Figura 25b), pode ser agora visualizado principalmente na micrografia da Figura 28d. As funcionalizações orgânicas presentes na amostra NF-1-P2 também podem ser visualizadas através da microscopia eletrônica de transmissão, operando em modo de imageamento por energia filtrada (EF-TEM). Para isso, isolam-se os elétrons do feixe responsáveis pela ionização dos átomos de carbono presentes na amostra através de um filtro de energia. O contraste em verde observado na imagem com energia filtrada em torno de 300 eV, mostrada na Figura 28f, é associado principalmente aos átomos de carbono das funcionalizações com os propilmetilfosfonato, fenil (em maior quantidade, portanto com maior contribuição de contraste) e dos grupos etoxi residuais. Apesar da ausência de resolução capaz de promover a quantificação do carbono presente nas nanopartículas, mesmo quando são feitas análises de imageamento por espectroscopia de perda de energia de elétrons (EELS-STEM), a micrografia mostrada na Figura 28f confirma a disposição das funcionalizações orgânicas nas nanopartículas de SiO<sub>2</sub>. Quando submetidas a essa mesma análise de mapeamento de carbono (EF-TEM), todas as amostras funcionalizadas com grupos fenil apresentaram as mesmas características nas micrografias.

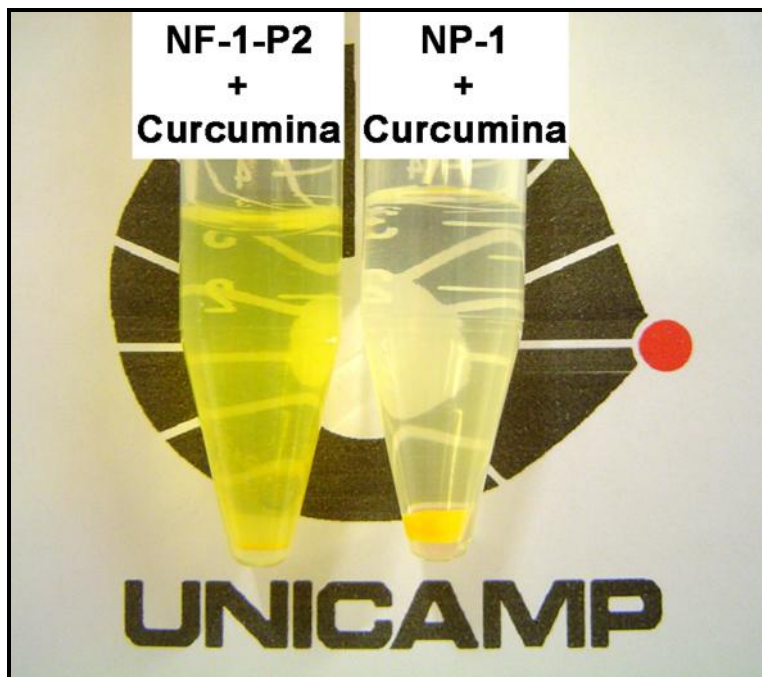


**Figura 28:** Micrografias (TEM) das amostras de nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato (amostra NF-1-P2), obtidas em modo de (a, e c) campo claro por STEM, (e) campo claro por TEM, (b e d) campo escuro anular de alto ângulo por STEM e (f) imageamento por energia filtrada (carbono) por TEM.



## 5.8. Incorporação de moléculas hidrofóbicas nos veículos moleculares a base de nanopartículas de SiO<sub>2</sub>

A capacidade das nanopartículas de incorporar moléculas hidrofóbicas foi avaliada misturando-se a amostra NF-1-P2 com a camptotecina e curcumina. Conforme já mencionado, a camptotecina é um dos antitumorais mais potentes existentes, de difícil aplicação devido à sua baixa solubilidade<sup>75</sup>. A curcumina é uma molécula com propriedades antioxidante, antiinflamatória e antisséptica que vem sendo proposta para uso como agente quimiopreventivo, que também possui baixa solubilidade em água<sup>97</sup>. Como a curcumina possui coloração amarela, sua incorporação nas nanopartículas foi visualmente observada através da mudança de coloração das suspensões aquosas da amostra NF-1-P2 (Figura 29). Para isso, a curcumina (em pó) foi simplesmente misturada sob agitação com a suspensão coloidal das nanopartículas. O papel da funcionalização hidrofóbica (grupos fenil) presente no interior dos poros das nanopartículas no processo de incorporação moléculas hidrofóbicas é evidenciado quando se mistura a curcumina com as suspensões da amostra NP-1, as quais não foram funcionalizadas. Nesse caso (NP-1 + Curcumina), a coloração observada na Figura 29 se dá exclusivamente em função da solubilização de uma pequena parte da curcumina adicionada, e não a uma possível adsorção da molécula nos poros das nanopartículas. A adsorção espontânea das moléculas na superfície hidrofóbica dos poros das nanopartículas é resultado de um processo energeticamente favorável ( $\Delta G < 0$ ), o qual contabiliza as interações de van der Waals entre as espécies mais o ganho entrópico total, relacionado com as entropias de adsorção (configuracional, de translação e vibração)<sup>98</sup> das moléculas hidrofóbicas e dessorção de moléculas de água.

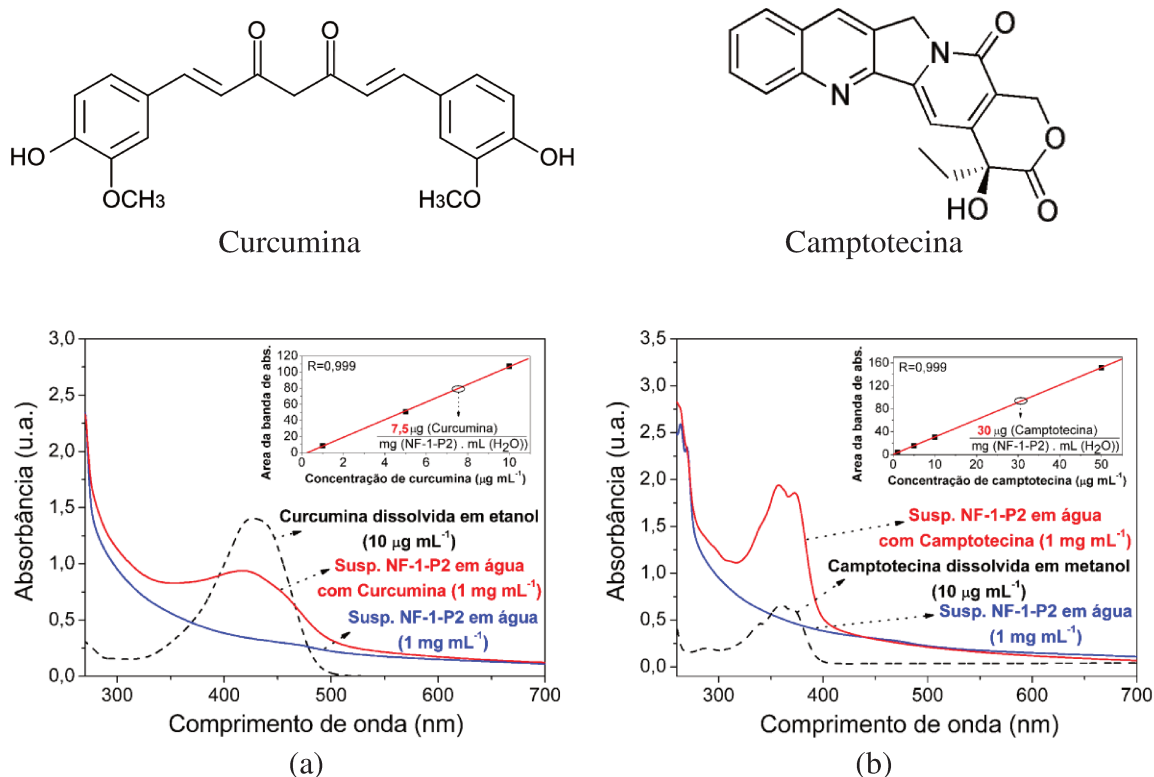


**Figura 29:** Fotografia das suspensões das amostras NF-1-P2 e NP-1 em água quando misturadas com curcumina.

A determinação da capacidade de incorporação das moléculas pelas nanopartículas porosas funcionalizadas de  $\text{SiO}_2$  foi obtida através do cálculo de integração das bandas de absorção das suspensões coloidais das amostras contendo as moléculas hidrofóbicas, nos comprimentos de onda de 357 (camptotecina) e 427 nm (curcumina). A linha base é traçada com base na absorção de luz das nanopartículas puras em suspensão (linha azul, Figuras 30a e 30b), na mesma concentração das suspensões das nanopartículas incorporadas com os fármacos ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Foi incorporada a quantidade de  $30 \mu\text{g}$  de camptotecina para cada  $1,0 \text{ mg}$  da mistura NF-1-P2 + Camptotecina, indicando uma capacidade de incorporação de mais de 3,0%-massa da amostra NF-1-P2. Por outro lado, a curcumina foi incorporada nas nanopartículas porosas de sílica em uma razão de  $7,5 \mu\text{g}$  de molécula/mg de mistura. Uma possível explicação para essa maior afinidade da camptotecina pela cavidade hidrofóbica interna das nanopartículas é baseada em sua própria estrutura



molecular. Os anéis aromáticos condensados da camptotecina favorecem a existência de interações por empilhando  $\pi$ , fenômeno que deve ocorrer em menor intensidade para curcumina, considerando sua estrutura química<sup>99</sup>. A possibilidade de existência desse tipo de interação é levantada em função do amplo recobrimento hidrofóbico sobre a superfície interna dos poros da amostra NF-1-P2, aproximadamente 42% de todos os possíveis sítios superficiais das nanopartículas ( $Q^3$ ,  $Q^2$ ,  $P^3$  e  $P^2$ , ver Figura 2). Se considerado ainda que os radicais fenila estão dispostos somente nos poros internos da nanopartículas (funcionalização hierárquica) a porcentagem por área de sítios superficiais contendo esse radical nas cavidades internas é ainda maior.



**Figura 30:** Espectros de absorção UV-Visível da solução de (a) curcumina em etanol e (b) camptotecina em metanol ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); das (a e b) suspensões da amostra NF-1-P2 em água deionizada ( $1,0 \text{mg mL}^{-1}$ ); e das suspensões da amostra NF-1-P2 ( $1,0 \text{mg mL}^{-1}$ ) incorporada com (a) curcumina e (b) camptotecina. As curvas de calibração e as estruturas químicas das duas moléculas foram inseridas nos gráficos.

## 5.9. Atividade antitumoral dos nanomateriais coloidais a base de sílica porosa incorporados com camptotecina

A camptotecina já foi incorporada em nanoestruturas porosas de sílica do tipo MCM-41, com o intuito de seu transporte em meios biológicos para o combate a tumores. Conforme citado, a eficiência dessa abordagem terapêutica foi inicialmente comprovada com estudos de citotoxicidade em células de câncer de pâncreas<sup>75</sup>. Posteriormente, a eficiência do sistema também foi avaliada em ensaios *in-vivo*, os quais demonstraram que as nanopartículas de SiO<sub>2</sub> do tipo MCM-41 tendem a se acumular passivamente nos tumores pelo efeito de aumento de permeabilidade e retenção (EPR)<sup>100</sup>, mesmo sem nenhuma funcionalização externa, o que beneficiou a liberação localizada da camptotecina e a consequente diminuição dos tumores (induzidos por células de câncer de mama)<sup>101</sup>. No mesmo estudo, foi também analisada a biodistribuição das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> em ratos, sendo observado que aproximadamente 95% do silício administrado (na forma de SiO<sub>2</sub>) são excretados pelo organismo após 96 horas através da urina (73,4%) e fezes (21%). Em outro estudo *in-vivo* mais recente feito com sílicas mesoporosas do tipo MCM-41 incorporadas com camptotecina foi mostrado as ótimas perspectivas desse sistema para redução de tumores induzidos por células de câncer pancreático<sup>102</sup>. Apesar de administrado em quantidades muito baixas (29 nmol de camptotecina/mg de partículas), o fármaco é capaz de reduzir significativamente o tamanho de tumores.

Conforme citado, a amostra NF-1-P2 foi capaz de incorporar aproximadamente 30 µg de camptotecina por 1,0 mg de nanopartículas, ou o equivalente a 86 nmol de camptotecina/mg de nanopartícula, capacidade esta pelo menos duas vezes maior quando se compara com os sistemas do tipo

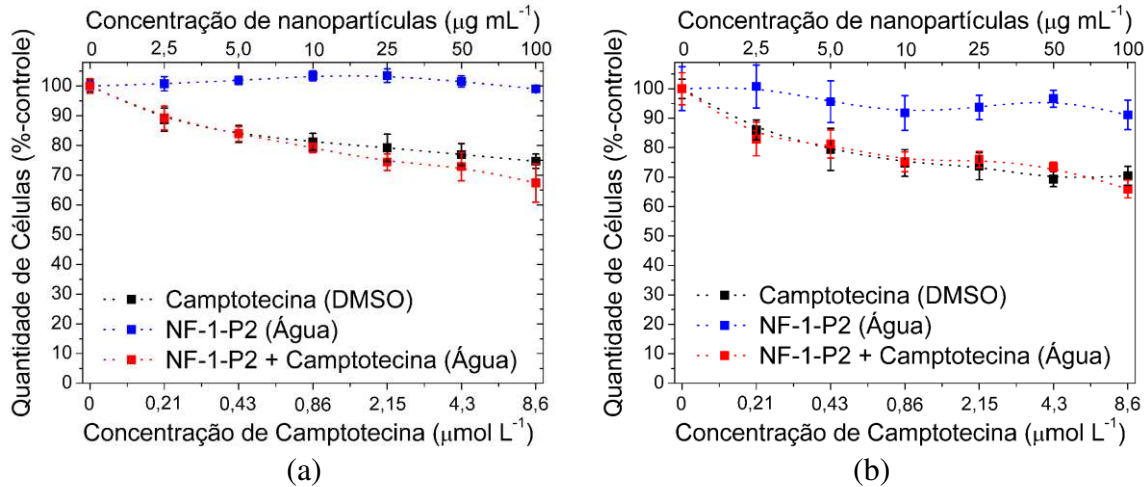


MCM-41 que vem sendo majoritariamente utilizadas<sup>101-103</sup>. Além disso, as nanoestruturas porosas a base de SiO<sub>2</sub> usadas atualmente na perspectiva de tratamento de tumores, em sua grande maioria com tamanhos maiores que 100 nm (MCM-41), carecem de homogeneidade morfológica. Inclusive, essa e outras carências dos veículos moleculares a base de sílica porosa produzidos até então foram discutidas em um recente trabalho de revisão<sup>104</sup>. Os principais desafios envolvem: a necessidade de produção de nanoestruturas porosas de sílica com ampla distribuição de poros, morfologia homogênea, estreita distribuição de tamanhos e real dispersibilidade em água (coloidais). Se considerarmos a amostra NF-1-P2, ela preenche todos os requisitos citados acima e ainda conta com uma ampla cavidade hidrofóbica interna que provê uma maior capacidade de incorporação de moléculas (~3%-massa para a camptotecina) em comparação com as nanoestruturas atualmente disponíveis.

Partindo-se dessa premissa, a amostra NF-1-P2 incorporada com a camptotecina foi avaliada contra células eritroleucêmicas humanas do tipo K562 e K562-Lucena, variação resistente a multidrogas (MDR). O fenômeno MDR está associado à resistência clínica à quimioterapia manifestada por pacientes, a qual pode ser resultado de uma variedade de mecanismos celulares do tipo: defeitos em genes regulatórios que controlam a apoptose (morte celular programada), detoxificação intracelular de drogas, alteração no DNA reparador, e ativação ou superexpressão de proteínas exportadoras de drogas<sup>105</sup>. No caso específico da linhagem K562-Lucena, há a superexpressão da glicoproteína-P (Pgp) que leva a um aumento da capacidade de eliminação de quimioterápicos como, por exemplo, o 5-fluoracil (5-FU). Nesse contexto, a citotoxicidade do sistema NF-1-P2 + Camptotecina foi avaliada para essas duas linhagens celulares. A redução da quantidade de células observada quando se adiciona a solução de camptotecina em dimetilsulfóxido (DMSO) e



a suspensão aquosa da amostra NF-1-P2 incorporada com camptotecina (Figura 31) se deve à inibição da enzima DNA topoisomerase 1, envolvida no processo de clivagem e reconstituição da cadeia do DNA para que haja posterior desempacotamento. Interagindo com essa enzima, a camptotecina leva à inibição do processo de multiplicação celular.



**Figura 31:** Curvas de inibição de crescimento celular para células eritroleucêmicas humanas do tipo (a) K652 e (b) K562-Lucena, avaliadas em presença de uma solução de camptotecina em DMSO, nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub> (amostra NF-1-P2), e nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub> (NF-1-P2) incorporadas com camptotecina.

A desorção da camptotecina dos veículos moleculares usados e sua incorporação nas células (K562 e K562-Lucena) foram comprovadas através dos resultados obtidos de inibição do crescimento, os quais indicaram valores de até 35% (Figura 31). É importante mencionar que o efeito gerado pelo sistema NF-1-P2 + Camptotecina foi praticamente idêntico ao gerado pela camptotecina dissolvida em DMSO. Considerando a toxicidade do DMSO e a impossibilidade de sua utilização no meio de cultura em concentrações maiores que 0,1%-volume, os resultados observados na Figura 31 são extremamente promissores, uma vez as nanopartículas de SiO<sub>2</sub> podem ser usadas em altas concentrações, pois sua toxicidade é praticamente inexistente



até  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ , valor máximo avaliado em ensaios para células de queratinócitos humanos (HaCat), células de câncer de cólon retal (Caco-2) e células eritroleucêmicas humanas do tipo K562. Na mesma direção, outros estudos indicam a não toxicidade de nanopartículas porosas de  $\text{SiO}_2$  em concentrações ainda mais altas, de até  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ <sup>75, 90-91</sup>, o que permitiria a administração de uma maior quantidade de moléculas hidrofóbicas incorporadas nas nanoestruturas. Como a solubilidade da camptotecina em DMSO é aproximadamente  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ , a concentração máxima de fármaco que pode ser adicionado no ensaio de citotoxicidade *in-vitro* é  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  ( $28,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Fazendo uso de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  do sistema NF-1-P2 + Camptotecina, a concentração do fármaco no meio de cultura já ultrapassa em 50% ( $15 \mu\text{g mL}^{-1}$  ou  $43 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) o limite de concentração imposto pelo DMSO.

O processo de dessorção das moléculas hidrofóbica, mais especificamente a camptotecina, se dará em função de um gradiente de concentração no meio dispersante. Em experimentos de liberação realizados em água deionizada, observou-se que a dessorção da camptotecina das cavidades porosas das nanopartículas é limitada pela sua baixa solubilidade em água. Substituindo o meio dispersante (água deionizada) após a centrifugação das nanopartículas, há liberação de mais camptotecina, limitada novamente pela sua solubilidade na água. No caso dos experimentos de inibição de crescimento celular (Figura 31), o efeito induzido pelo sistema NF-1-P2 + Camptotecina, similar ao induzido pelo fármaco livre, pode ser resultado da presença de gradientes de concentração permanentemente mantidos pelas funções celulares, que levam à existência de vários ambientes no meio de cultura com características químicas de solução totalmente distintas (ex: concentração, força iônica).





## 6. CONCLUSÕES

Em função dos experimentos, observações e resultados obtidos ao longo do desenvolvimento dessa Tese, foi possível sintetizar nanopartículas coloidais porosas de  $\text{SiO}_2$  através de modificações no método de Stöber, que contaram com a presença de um surfactante (CTAB) para formar a estrutura porosa, e um processo de adição por etapas de organossilanos para gerar partículas multifuncionalizadas com radicais orgânicos. Aprimorando os parâmetros do processo, foram produzidas nanopartículas com grupos orgânicos funcionalizantes que possuem propriedades químicas antagônicas, sendo o interior das cavidades porosas hidrofóbico (para hospedar moléculas) e a superfície externa das partículas hidrofílica (para aumentar a estabilidade coloidal). Como resultado, foi concebido um veículo para moléculas insolúveis em água. Quando suspensões coloidais aquosas desses veículos são misturadas com moléculas hidrofóbicas, mais especificamente, no caso dos estudos feitos nessa Tese, a curcumina e a camptotecina, as moléculas são espontaneamente adsorvidas nas cavidades porosas das nanopartículas. Essas interações não covalentes que regem todo o processo de incorporação das moléculas nos veículos (nanopartículas) serão sempre dependentes da estrutura química da molécula em questão. Nos experimentos feitos, as interações de van der Waals (e empilhamento  $\pi$  quando mais de um grupo fenil participar) entre os grupos fenil da cavidade porosa hidrofóbica e os anéis aromáticos do composto em questão são capazes de manter as moléculas adsorvidas nas nanopartículas, formando suspensões aquosas estáveis de moléculas insolúveis em água.

Como conclusões específicas da Tese, podem ser destacadas:

**1) Síntese das nanoestruturas:** O método de Stöber pode ser utilizado como base para criação de um processo sol-gel capaz de gerar nanoestruturas porosas coloidais de  $\text{SiO}_2$ . No processo sintético proposto nessa Tese, o cosolvente é um direcionador morfológico. Quando se utilizou éter etílico, o produtos gerados se apresentam com morfologia de nanocápsulas de  $\text{SiO}_2$ . Em contrapartida, o etanol foi capaz de produzir nanopartículas esféricas porosas, com características coloidais. Além disso, a quantidade utilizada desse cosolvente (etanol) tem efeito direto no tamanho das nanopartículas geradas.

**2) Funcionalização das nanopartículas de  $\text{SiO}_2$ :** As nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$ , produzidas utilizando o etanol como cosolvente, podem ser funcionalizadas hierarquicamente através da adição de organossilanos por etapas. A eficiência do processo de co-condensação do organossilano hidrofóbico com o TEOS depende das características químicas do grupo orgânico presente nesse reagente. Em comparação com o feniltrietoxissilano, o octiltrietoxissilano co-condensa em quantidades menores nas nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  devido a fatores estereoquímicos que o impedem de interagir adequadamente com as micelas formadas pelo CTAB. Por outro lado, o feniltrietoxissilano pode ser eficientemente incorporado nos poros internos das nanopartículas (até 30%-mol de Si), formando assim cavidades hidrofóbicas que servem para adsorção de moléculas. A funcionalização hidrofílica da superfície externa das nanopartículas coloidais de  $\text{SiO}_2$  também depende das características químicas dos grupos orgânicos presentes nos organossilanos. O grupo propilmetilfosfonato (ionizável) pode ser co-condensado em até aproximadamente 2,4%-mol de Si sem nenhum prejuízo à morfologia das nanopartículas. Em se tratando do grupo propilamina, sua incorporação não pôde ser feita através de processos de co-condensação devido à sua influência na morfologia final dos produtos, os quais são formados como estruturas



alongadas, ou grandes aglomerados de partículas. Dessa forma, esse radical foi conjugado à superfície externa das nanopartículas através de um processo de enxerto pós-síntese, o que é feito usando etanol absoluto.

**3) Propriedades das nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub>:** A funcionalização da superfície externa das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> com propilmetilfosfonato e propilamina melhoraram sua estabilidade coloidal em água deionizada. Os grupos amina superficiais promovem uma taxa de sedimentação mais rápida das nanopartículas em água mineral e soluções de ácido húmico em água mineral. Por outro lado, o grupo propilmetilfosfonato conjugado à superfície externa provê uma estabilidade coloidal de mais de 30 dias para as nanopartículas nos três meios avaliados. Conseqüentemente, os veículos moleculares sintetizados apresentaram as seguintes características: homogeneidade morfológica (distribuição de tamanhos de 40 a 80 nm), alto valor de área de superfície ( $\sim 1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), volume de poros ( $\sim 1,5 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$ ) e alta estabilidade coloidal.

**4) Aplicação dos veículos moleculares em “drug delivery”:** Utilizando veículos com as características descritas, foi possível a incorporação de moléculas hidrofóbicas através das misturas das suspensões coloidais das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> com pós dos compostos em questão. A camptotecina (antitumoral hidrofóbico) foi adsorvida na superfície interna dos poros das nanopartículas em uma razão de aproximadamente 3%-massa (camptotecina/nanopartículas), valor bem superior ao atingido pelos veículos moleculares a base de sílica disponíveis atualmente. Finalmente, a capacidade de carregamento desse fármaco foi comprovada através de ensaios de inibição de crescimento celular, nos quais os veículos moleculares com camptotecina tiveram ótimo desempenho impedindo a multiplicação de células leucêmicas.





## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Murray, C. B.; Kagan, C. R.; Bawendi, M. G., Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies. *Annual Review of Materials Science* **2000**, *30*, 545-610.
2. Packan, P.; Akbar, S.; Armstrong, M.; Bergstrom, D.; Brazier, M.; Deshpande, H.; Dev, K.; Ding, G.; Ghani, T.; Golonzka, O.; Han, W.; He, J.; Heussner, R.; James, R.; Jopling, J.; Kenyon, C.; Lee, S.-H.; Liu, M.; Lodha, S.; Mattis, B.; Murthy, A.; Neiberg, L.; Neiryneck, J.; Pae, S.; Parker, C.; Pipes, L.; Sebastian, J.; Seiple, J.; Sell, B.; Sharma, A.; Sivakumar, S.; Song, B.; St. Amour, A.; Tone, K.; Troeger, T.; Weber, C.; Zhang, K.; Luo, Y.; Natarajan, S., High performance 32nm logic technology featuring 2nd generation high-k + metal gate transistors. In *Electron Devices Meeting (IEDM), 2009 IEEE International* Baltimore, MD 2009.
3. Iijima, S., Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* **1991**, *354*, 56-58.
4. Volotskova, O.; Fagan, J. A.; Huh, J. Y.; Phelan, F. R.; Shashurin, A.; Keidar, M., Tailored Distribution of Single-Wall Carbon Nanotubes from Arc Plasma Synthesis Using Magnetic Fields. *Acs Nano* **2010**, *4*, 5187-5192.
5. Loebick, C. Z.; Podila, R.; Reppert, J.; Chudow, J.; Ren, F.; Haller, G. L.; Rao, A. M.; Pfefferle, L. D., Selective Synthesis of Subnanometer Diameter Semiconducting Single-Walled Carbon Nanotubes. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 11125-11131.
6. Journet, C.; Maser, W. K.; Bernier, P.; Loiseau, A.; delaChapelle, M. L.; Lefrant, S.; Deniard, P.; Lee, R.; Fischer, J. E., Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc technique. *Nature* **1997**, *388*, 756-758.
7. Maser, W. K.; Munoz, E.; Benito, A. M.; Martinez, M. T.; de la Fuente, G. F.; Maniette, Y.; Anglaret, E.; Sauvajol, J. L., Production of high-density single-walled nanotube material by a simple laser-ablation method. *Chemical Physics Letters* **1998**, *292*, 587-593.



8. Colomer, J. F.; Bister, G.; Willems, I.; Konya, Z.; Fonseca, A.; Van Tendeloo, G.; Nagy, J. B., Synthesis of single-wall carbon nanotubes by catalytic decomposition of hydrocarbons. *Chemical Communications* **1999**, 1343-1344.
9. Liu, H. J.; Mun, B. S.; Thornton, G.; Isaacs, S. R.; Shon, Y. S.; Ogletree, D. F.; Salmeron, M., Electronic structure of ensembles of gold nanoparticles: Size and proximity effects. *Physical Review B* **2005**, *72*, 155430-155435.
10. Meunier, V.; Pan, M. H.; Moreau, F.; Park, K. T.; Plummer, E. W., Evidence of Coulomb blockade behavior in a quasi-zero-dimensional quantum well on TiO<sub>2</sub> surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2010**, *107*, 14968-14972.
11. Moore, G., The Future of Integrated Electronics. Fairchild Semiconductor internal publication, 1964.
12. Whitesides, G. M., The 'right' size in nanobiotechnology. *Nature Biotechnology* **2003**, *21*, 1161-1165.
13. O'Shaughnessy, J. A., Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of breast cancer. *Clinical Breast Cancer* **2003**, *4*, 318-328.
14. Schmidinger, M.; Wenzel, C.; Locker, G. J.; Muehlbacher, F.; Steininger, R.; Gnant, M.; Crevenna, R.; Budinsky, A. C.; Steger, G. G., Pilot study with pegylated liposomal doxorubicin for advanced or unresectable hepatocellular carcinoma. *British Journal of Cancer* **2001**, *85*, 1850-1852.
15. Wollina, U.; Dummer, R.; Brockmeyer, N. H.; Busch, J. O.; Kaatz, M.; Knopf, B.; Koch, H. J.; Hauschild, A., Multicenter study of pegylated liposomal doxorubicin in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* **2003**, *98*, 993-1001.
16. Skubitz, K. M., Phase II trial of pegylated-liposomal doxorubicin (Doxil (TM)) in sarcoma. *Cancer Investigation* **2003**, *21*, 167-176.
17. Torchilin, V. P., Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Reviews Drug Discovery* **2005**, *4*, 145-160.
18. Cram, D. J.; Cram, J. M., Design of Complexes between Synthetic Hosts and Organic Guests. *Accounts of Chemical Research* **1978**, *11*, 8-14.



19. Lehn, J. M., Cryptates - Chemistry of Macropolycyclic Inclusion Complexes. *Accounts of Chemical Research* **1978**, *11*, 49-57.
20. Pedersen, C. J., Cyclic Polyethers and Their Complexes with Metal Salts. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, *89*, 2495-&.
21. Yamashita, K.; Yoshioka, Y.; Higashisaka, K.; Mimura, K.; Morishita, Y.; Nozaki, M.; Yoshida, T.; Ogura, T.; Nabeshi, H.; Nagano, K.; Abe, Y.; Kamada, H.; Monobe, Y.; Imazawa, T.; Aoshima, H.; Shishido, K.; Kawai, Y.; Mayumi, T.; Tsunoda, S.; Itoh, N.; Yoshikawa, T.; Yanagihara, I.; Saito, S.; Tsutsumi, Y., Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnology* **2011**, *6*, 321-328.
22. Greenwood, N. N.; Earnshaw, A., *Chemistry of the elements*. 2nd ed.; Butterworth-Heinemann: Oxford ; Boston, 1997; p xxii, 1341 p.
23. Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. D.; Chu, C. T. W.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; Mccullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L., A New Family of Mesoporous Molecular-Sieves Prepared with Liquid-Crystal Templates. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 10834-10843.
24. Kresge, C. T.; Leonowicz, M. E.; Roth, W. J.; Vartuli, J. C.; Beck, J. S., Ordered Mesoporous Molecular-Sieves Synthesized by a Liquid-Crystal Template Mechanism. *Nature* **1992**, *359*, 710-712.
25. Luna, F. J.; Schuchardt, U., An introduction to pillared clays. *Quimica Nova* **1999**, *22*, 104-109.
26. Corma, A., From microporous to mesoporous molecular sieve materials and their use in catalysis. *Chemical Reviews* **1997**, *97*, 2373-2419.
27. Davis, M. E., Ordered porous materials for emerging applications. *Nature* **2002**, *417*, 813-821.
28. Wan, Y.; Yang, H. F.; Zhao, D. Y., "Host-guest" chemistry in the synthesis of ordered nonsiliceous mesoporous materials. *Accounts of Chemical Research* **2006**, *39*, 423-432.
29. Huo, Q. S.; Margolese, D. I.; Ciesla, U.; Feng, P. Y.; Gier, T. E.; Sieger, P.; Leon, R.; Petroff, P. M.; Schuth, F.; Stucky, G. D., Generalized Synthesis

of Periodic Surfactant Inorganic Composite-Materials. *Nature* **1994**, *368*, 317-321.

30. Che, S.; Garcia-Bennett, A. E.; Yokoi, T.; Sakamoto, K.; Kunieda, H.; Terasaki, O.; Tatsumi, T., A novel anionic surfactant templating route for synthesizing mesoporous silica with unique structure. *Nature Materials* **2003**, *2*, 801-805.

31. Zhao, D. Y.; Feng, J. L.; Huo, Q. S.; Melosh, N.; Fredrickson, G. H.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D., Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. *Science* **1998**, *279*, 548-552.

32. Kim, A.; Bruinsma, P.; Chen, Y.; Wang, L. Q.; Liu, J., Amphoteric surfactant templating route for mesoporous zirconia. *Chemical Communications* **1997**, 161-162.

33. Wan, Y.; Zhao, D. Y., On the controllable soft-templating approach to mesoporous silicates. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2821-2860.

34. Schuth, F.; Schmidt, W., Microporous and mesoporous materials. *Advanced Materials* **2002**, *14*, 629-638.

35. Ying, J. Y.; Mehnert, C. P.; Wong, M. S., Synthesis and applications of supramolecular-templated mesoporous materials. *Angewandte Chemie-International Edition* **1999**, *38*, 56-77.

36. Schuth, F., Non-siliceous mesostructured and mesoporous materials. *Chemistry of Materials* **2001**, *13*, 3184-3195.

37. Attard, G. S.; Glyde, J. C.; Goltner, C. G., Liquid-Crystalline Phases as Templates for the Synthesis of Mesoporous Silica. *Nature* **1995**, *378*, 366-368.

38. Monnier, A.; Schuth, F.; Huo, Q.; Kumar, D.; Margolese, D.; Maxwell, R. S.; Stucky, G. D.; Krishnamurty, M.; Petroff, P.; Firouzi, A.; Janicke, M.; Chmelka, B. F., Cooperative Formation of Inorganic-Organic Interfaces in the Synthesis of Silicate Mesostructures. *Science* **1993**, *261*, 1299-1303.

39. Huo, Q. S.; Margolese, D. I.; Ciesla, U.; Demuth, D. G.; Feng, P. Y.; Gier, T. E.; Sieger, P.; Firouzi, A.; Chmelka, B. F.; Schuth, F.; Stucky, G. D., Organization of Organic-Molecules with Inorganic Molecular-Species into Nanocomposite Biphase Arrays. *Chemistry of Materials* **1994**, *6*, 1176-1191.



40. Lin, H. P.; Mou, C. Y., Structural and morphological control of cationic surfactant-templated mesoporous silica. *Accounts of Chemical Research* **2002**, *35*, 927-935.
41. Bagshaw, S. A.; Prouzet, E.; Pinnavaia, T. J., Templating of Mesoporous Molecular-Sieves by Nonionic Polyethylene Oxide Surfactants. *Science* **1995**, *269*, 1242-1244.
42. Tanev, P. T.; Pinnavaia, T. J., A Neutral Templating Route to Mesoporous Molecular-Sieves. *Science* **1995**, *267*, 865-867.
43. Zhao, D. Y.; Huo, Q. S.; Feng, J. L.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D., Nonionic triblock and star diblock copolymer and oligomeric surfactant syntheses of highly ordered, hydrothermally stable, mesoporous silica structures. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 6024-6036.
44. Shimojima, A.; Kuroda, K., Direct formation of mesostructured silica-based hybrids from novel siloxane oligomers with long alkyl chains. *Angewandte Chemie-International Edition* **2003**, *42*, 4057-4060.
45. Shimojima, A.; Liu, Z.; Ohsuna, T.; Terasaki, O.; Kuroda, K., Self-assembly of designed oligomeric siloxanes with alkyl chains into silica-based hybrid mesostructures. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 14108-14116.
46. Brinker, C. J.; Lu, Y. F.; Sellinger, A.; Fan, H. Y., Evaporation-induced self-assembly: Nanostructures made easy. *Advanced Materials* **1999**, *11*, 579-+.
47. Lu, Y. F.; Ganguli, R.; Drewien, C. A.; Anderson, M. T.; Brinker, C. J.; Gong, W. L.; Guo, Y. X.; Soyez, H.; Dunn, B.; Huang, M. H.; Zink, J. I., Continuous formation of supported cubic and hexagonal mesoporous films by sol gel dip-coating. *Nature* **1997**, *389*, 364-368.
48. Lu, Y. F.; Fan, H. Y.; Stump, A.; Ward, T. L.; Rieker, T.; Brinker, C. J., Aerosol-assisted self-assembly of mesostructured spherical nanoparticles. *Nature* **1999**, *398*, 223-226.
49. Firouzi, A.; Kumar, D.; Bull, L. M.; Besier, T.; Sieger, P.; Huo, Q.; Walker, S. A.; Zasadzinski, J. A.; Glinka, C.; Nicol, J.; Margolese, D.; Stucky,

- G. D.; Chmelka, B. F., Cooperative Organization of Inorganic-Surfactant and Biomimetic Assemblies. *Science* **1995**, *267*, 1138-1143.
50. Raman, N. K.; Anderson, M. T.; Brinker, C. J., Template-based approaches to the preparation of amorphous, nanoporous silicas. *Chemistry of Materials* **1996**, *8*, 1682-1701.
51. Coppola, L.; Muzzalupo, R.; Ranieri, G. A.; Terenzi, M., Pulsed-Field Gradient Spin-Echo Nmr Experiments in Micellar Solutions of the Water Cetyltrimethylammonium Bromide System. *Journal De Physique Ii* **1994**, *4*, 2127-2138.
52. Ekwall, P.; Mandell, L.; Solyom, P., Aqueous Cetyl Trimethylammonium Bromide Solutions. *Journal of Colloid and Interface Science* **1971**, *35*, 519-528.
53. Anderson, M. T.; Martin, J. E.; Odinek, J. G.; Newcomer, P. P., Surfactant-templated silica mesophases formed in water : cosolvent mixtures. *Chemistry of Materials* **1998**, *10*, 311-321.
54. Anderson, M. T.; Martin, J. E.; Odinek, J. G.; Newcomer, P. P., Effect of methanol concentration on CTAB micellization and on the formation of surfactant-templated silica (STS). *Chemistry of Materials* **1998**, *10*, 1490-1500.
55. Chen, H. M.; He, J. H.; Tang, H. M.; Yan, C. X., Porous silica nanocapsules and nanospheres: Dynamic self-assembly synthesis and application in controlled release. *Chemistry of Materials* **2008**, *20*, 5894-5900.
56. Brinker, C. J.; Scherer, G. W., *Sol-gel science : the physics and chemistry of sol-gel processing*. Academic Press: Boston, 1990; p xiv, 908 p.
57. Stober, W.; Fink, A.; Bohn, E., Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in Micron Size Range. *Journal of Colloid and Interface Science* **1968**, *26*, 62-&.
58. Lindberg, R.; Sjoblom, J.; Sundholm, G., Preparation of Silica Particles Utilizing the Sol-Gel and the Emulsion-Gel Processes. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **1995**, *99*, 79-88.



59. Lin, Y. S.; Haynes, C. L., Impacts of Mesoporous Silica Nanoparticle Size, Pore Ordering, and Pore Integrity on Hemolytic Activity. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 4834-4842.
60. Moller, K.; Kobler, J.; Bein, T., Colloidal suspensions of nanometer-sized mesoporous silica. *Advanced Functional Materials* **2007**, *17*, 605-612.
61. Qiao, Z. A.; Zhang, L.; Guo, M. Y.; Liu, Y. L.; Huo, Q. S., Synthesis of Mesoporous Silica Nanoparticles via Controlled Hydrolysis and Condensation of Silicon Alkoxide. *Chemistry of Materials* **2009**, *21*, 3823-3829.
62. Huh, S.; Wiench, J. W.; Yoo, J. C.; Pruski, M.; Lin, V. S. Y., Organic functionalization and morphology control of mesoporous silicas via a co-condensation synthesis method. *Chemistry of Materials* **2003**, *15*, 4247-4256.
63. Cauda, V.; Schlossbauer, A.; Kecht, J.; Zurner, A.; Bein, T., Multiple Core-Shell Functionalized Colloidal Mesoporous Silica Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 11361-11370.
64. Kecht, J.; Schlossbauer, A.; Bein, T., Selective Functionalization of the Outer and Inner Surfaces in Mesoporous Silica Nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2008**, *20*, 7207-7214.
65. Macquarrie, D. J., Organically Modified Micelle Templated Silicas in Green Chemistry. *Topics in Catalysis* **2009**, *52*, 1640-1650.
66. Brady, R.; Woonton, B.; Gee, M. L.; O'Connor, A. J., Hierarchical mesoporous silica materials for separation of functional food ingredients - A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2008**, *9*, 243-248.
67. Ryoo, R.; Joo, S. H.; Kruk, M.; Jaroniec, M., Ordered mesoporous carbons. *Advanced Materials* **2001**, *13*, 677-681.
68. Walcarius, A., Electroanalytical applications of microporous zeolites and mesoporous (Organo)silicas: Recent trends. *Electroanalysis* **2008**, *20*, 711-738.
69. Hartmann, M., Ordered mesoporous materials for bioadsorption and biocatalysis. *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 4577-4593.
70. Penard, A. L.; Gacoin, T.; Boilot, J. P., Functionalized sol-gel coatings for optical applications. *Accounts of Chemical Research* **2007**, *40*, 895-902.

71. Walcarius, A.; Mercier, L., Mesoporous organosilica adsorbents: nanoengineered materials for removal of organic and inorganic pollutants. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *20*, 4478-4511.
72. Trewyn, B. G.; Giri, S.; Slowing, I. I.; Lin, V. S. Y., Mesoporous silica nanoparticle based controlled release, drug delivery, and biosensor systems. *Chemical Communications* **2007**, 3236-3245.
73. Vallet-Regi, M.; Ramila, A.; del Real, R. P.; Perez-Pariente, J., A new property of MCM-41: Drug delivery system. *Chemistry of Materials* **2001**, *13*, 308-311.
74. Medina, C.; Santos-Martinez, M. J.; Radomski, A.; Corrigan, O. I.; Radomski, M. W., Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *British Journal of Pharmacology* **2007**, *150*, 552-558.
75. Lu, J.; Liong, M.; Zink, J. I.; Tamanoi, F., Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs. *Small* **2007**, *3*, 1341-1346.
76. Patel, K.; Angelos, S.; Dichtel, W. R.; Coskun, A.; Yang, Y. W.; Zink, J. I.; Stoddart, J. F., Enzyme-responsive snap-top covered silica nanocontainers. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 2382-2383.
77. Angelos, S.; Khashab, N. M.; Yang, Y. W.; Trabolsi, A.; Khatib, H. A.; Stoddart, J. F.; Zink, J. I., pH Clock-Operated Mechanized Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 12912-12914.
78. Zhao, Y. N.; Trewyn, B. G.; Slowing, I. I.; Lin, V. S. Y., Mesoporous Silica Nanoparticle-Based Double Drug Delivery System for Glucose-Responsive Controlled Release of Insulin and Cyclic AMP. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 8398-8400.
79. Schlossbauer, A.; Kecht, J.; Bein, T., Biotin-Avidin as a Protease-Responsive Cap System for Controlled Guest Release from Colloidal Mesoporous Silica. *Angewandte Chemie-International Edition* **2009**, *48*, 3092-3095.
80. Ashley, C. E.; Carnes, E. C.; Phillips, G. K.; Padilla, D.; Durfee, P. N.; Brown, P. A.; Hanna, T. N.; Liu, J. W.; Phillips, B.; Carter, M. B.; Carroll, N.



J.; Jiang, X. M.; Dunphy, D. R.; Willman, C. L.; Petsev, D. N.; Evans, D. G.; Parikh, A. N.; Chackerian, B.; Wharton, W.; Peabody, D. S.; Brinker, C. J., The targeted delivery of multicomponent cargos to cancer cells by nanoporous particle-supported lipid bilayers. *Nature Materials* **2011**, *10*, 389-397.

81. Dou, B. J.; Hu, Q.; Li, J. J.; Qiao, S. Z.; Hao, Z. P., Adsorption performance of VOCs in ordered mesoporous silicas with different pore structures and surface chemistry. *Journal of Hazardous materials* **2011**, *186*, 1615-1624.

82. Zhou, Z.; Taylor, R. N. K.; Kullmann, S.; Bao, H. X.; Hartmann, M., Mesoporous Organosilicas With Large Cage-Like Pores for High Efficiency Immobilization of Enzymes. *Advanced Materials* **2011**, *23*, 2627-+.

83. Rac, B.; Molnar, A.; Forgo, P.; Mohai, M.; Bertoti, I., A comparative study of solid sulfonic acid catalysts based on various ordered mesoporous silica materials. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **2006**, *244*, 46-57.

84. Yang, H. Q.; Zhang, L.; Su, W. G.; Yang, Q. H.; Li, C., Asymmetric ring-opening of epoxides on chiral Co(Salen) catalyst synthesized in SBA-16 through the "ship in a bottle" strategy. *Journal of Catalysis* **2007**, *248*, 204-212.

85. Lin, Y. S.; Tsai, C. P.; Huang, H. Y.; Kuo, C. T.; Hung, Y.; Huang, D. M.; Chen, Y. C.; Mou, C. Y., Well-ordered mesoporous silica nanoparticles as cell markers. *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 4570-4573.

86. Dai, C. L.; Yuan, Y.; Liu, C. S.; Wei, J.; Hong, H.; Li, X. S.; Pan, X. H., Degradable, antibacterial silver exchanged mesoporous silica spheres for hemorrhage control. *Biomaterials* **2009**, *30*, 5364-5375.

87. Zhao, Y. L.; Li, Z. X.; Kabehie, S.; Botros, Y. Y.; Stoddart, J. F.; Zink, J. I., pH-Operated Nanopistons on the Surfaces of Mesoporous Silica Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 13016-13025.

88. Cauda, V.; Engelke, H.; Sauer, A.; Arcizet, D.; Brauchle, C.; Radler, J.; Bein, T., Colchicine-Loaded Lipid Bilayer-Coated 50 nm Mesoporous Nanoparticles Efficiently Induce Microtubule Depolymerization upon Cell Uptake. *Nano Letters* **2010**, *10*, 2484-2492.



89. Schlossbauer, A.; Warncke, S.; Gramlich, P. M. E.; Kecht, J.; Manetto, A.; Carell, T.; Bein, T., A Programmable DNA-Based Molecular Valve for Colloidal Mesoporous Silica. *Angewandte Chemie-International Edition* **2010**, *49*, 4734-4737.
90. Yu, T.; Malugin, A.; Ghandehari, H., Impact of Silica Nanoparticle Design on Cellular Toxicity and Hemolytic Activity. *Acs Nano* **2011**, *5*, 5717-5728.
91. Urata, C.; Yamada, H.; Wakabayashi, R.; Aoyama, Y.; Hirosawa, S.; Arai, S.; Takeoka, S.; Yamauchi, Y.; Kuroda, K., Aqueous Colloidal Mesoporous Nanoparticles with Ethenylene-Bridged Silsesquioxane Frameworks. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 8102-8105.
92. Kecht, J.; Bein, T., Oxidative removal of template molecules and organic functionalities in mesoporous silica nanoparticles by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. *Microporous and Mesoporous Materials* **2008**, *116*, 123-130.
93. Ertl, G.; Knözinger, H.; Weitkamp, J., *Handbook of heterogeneous catalysis*. VCH: Weinheim, 1997; p 5 v. (xxiiv, 2479 p.).
94. Paula, A. J.; Stefani, D.; Souza, A. G.; Kim, Y. A.; Endo, M.; Alves, O. L., Surface Chemistry in the Process of Coating Mesoporous SiO<sub>2</sub> onto Carbon Nanotubes Driven by the Formation of Si-O-C Bonds. *Chemistry-a European Journal* **2011**, *17*, 3228-3237.
95. Kobler, J.; Moller, K.; Bein, T., Colloidal suspensions of functionalized mesoporous silica nanoparticles. *Acs Nano* **2008**, *2*, 791-799.
96. Wang, M.; Chen, C.; Ma, J. P.; Xu, J., Preparation of superhydrophobic cauliflower-like silica nanospheres with tunable water adhesion. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21*, 6962-6967.
97. Vemula, P. K.; Cruikshank, G. A.; Karp, J. M.; John, G., Self-assembled prodrugs: An enzymatically triggered drug-delivery platform. *Biomaterials* **2009**, *30*, 383-393.
98. Adamson, A. W., *Physical chemistry of surfaces*. 2d ed.; Interscience Publishers: New York,, 1967; p xx, 747 p.



99. Grimme, S., Do special noncovalent pi-pi stacking interactions really exist? *Angewandte Chemie-International Edition* **2008**, *47*, 3430-3434.
100. Maeda, H.; Matsumura, Y., EPR effect based drug design and clinical outlook for enhanced cancer chemotherapy Preface. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2011**, *63*, 129-130.
101. Lu, J.; Liang, M.; Li, Z. X.; Zink, J. I.; Tamanoi, F., Biocompatibility, Biodistribution, and Drug-Delivery Efficiency of Mesoporous Silica Nanoparticles for Cancer Therapy in Animals. *Small* **2010**, *6*, 1794-1805.
102. Lu, J.; Li, Z. X.; Zink, J. I.; Tamanoi, F., In vivo tumor suppression efficacy of mesoporous silica nanoparticles-based drug-delivery system: enhanced efficacy by folate modification. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* **2012**, *8*, 212-220.
103. Knezevic, N. Z.; Slowing, I. I.; Lin, V. S. Y., Tuning the Release of Anticancer Drugs from Magnetic Iron Oxide/Mesoporous Silica Core/Shell Nanoparticles. *Chempluschem* **2012**, *77*, 48-55.
104. Wu, S. H.; Hung, Y.; Mou, C. Y., Mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 9972-9985.
105. Rumjanek, V. M.; Trindade, G. S.; Wagner-Souza, K.; Meletti-de-Oliveira, M. C.; Marques-Santos, L. F.; Maia, R. C.; Capella, M. A. M., Multidrug resistance in tumour cells: characterisation of the multidrug resistant cell line K562-Lucena 1. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2001**, *73*, 57-69.





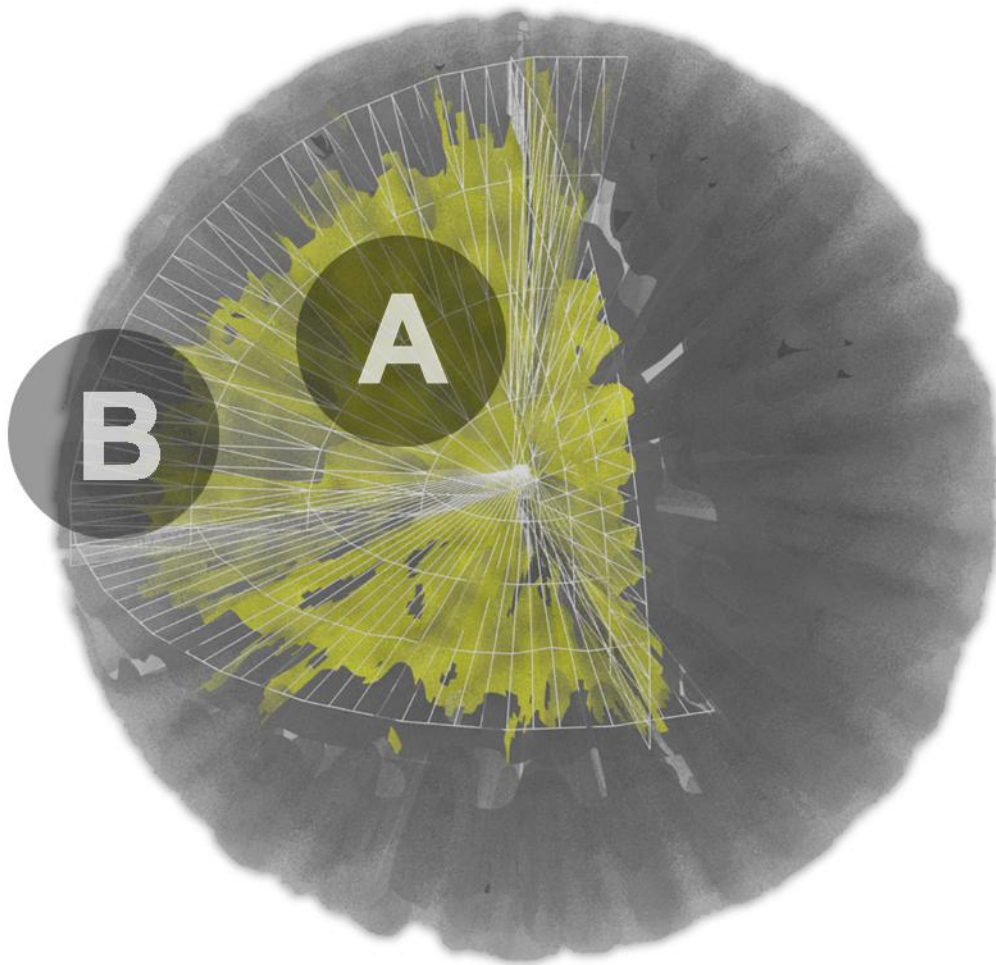
## 8. APÊNDICE

### 8.1. Modos vibracionais nos espectros de FTIR

**Tabela 7:** Relação dos modos vibracionais das amostras desse estudo

Número de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Modo vibracional	Grupo Associado
3078	$\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$ aromático	Fenil ( $-\text{C}_6\text{H}_5$ )
3058	$\nu(\text{C-H})$ aromático	Fenil ( $-\text{C}_6\text{H}_5$ )
2980	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	Etoxi ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ )
2926	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$	Etoxi ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ )
2857	$\nu(\text{CH}_2)$	Etoxi ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ )
1432	$\nu(\text{C}=\text{C})$ anel aromático	Fenil ( $-\text{C}_6\text{H}_5$ )
1090	$\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$ ponte entre os tetraedros	Sílica ( $\text{SiO}_2$ )
959	$\nu(\text{Si-OH})$	Sílica ( $\text{SiO}_2$ )
800	$\nu(\text{Si-O-Si})$ ponte entre os tetraedros	Sílica ( $\text{SiO}_2$ )
740	$\delta(\text{C-H})$ anel aromático	Fenil ( $-\text{C}_6\text{H}_5$ )
698	$\delta(\text{C}=\text{C})$ anel aromático	Fenil ( $-\text{C}_6\text{H}_5$ )
464	$\delta(\text{Si-O-Si})$ ponte entre os tetraedros	Sílica ( $\text{SiO}_2$ )

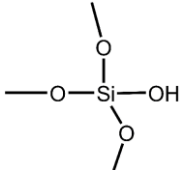
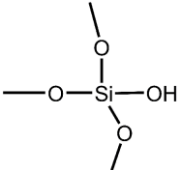
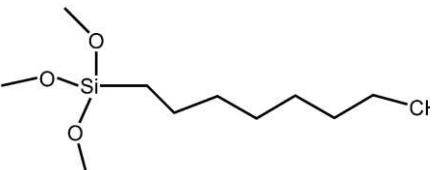
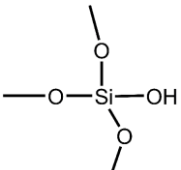
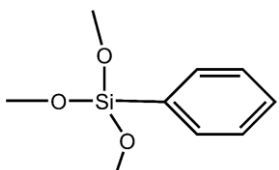
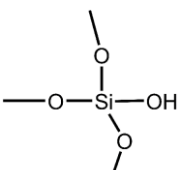
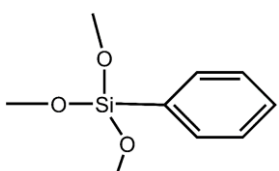
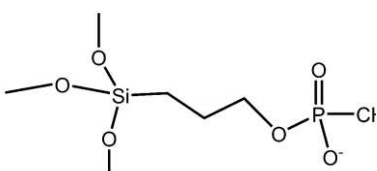
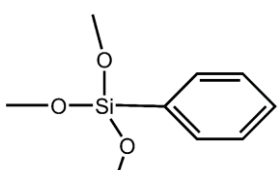
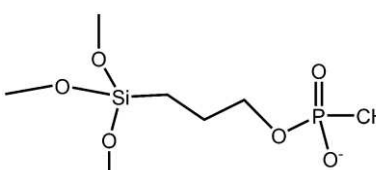
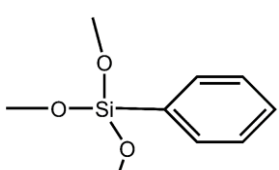
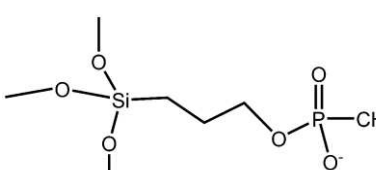
## 8.2. Diagrama de funcionalizações das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>

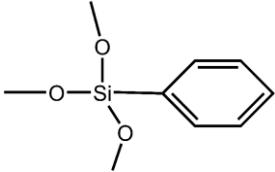
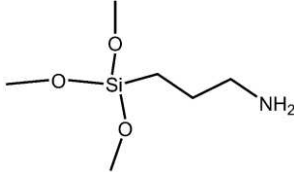
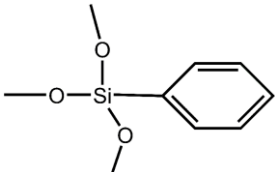
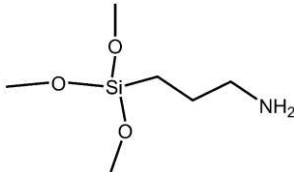
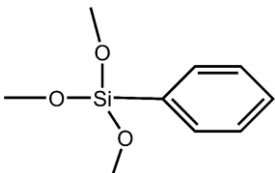
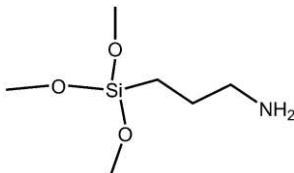
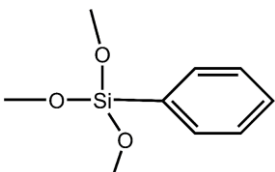
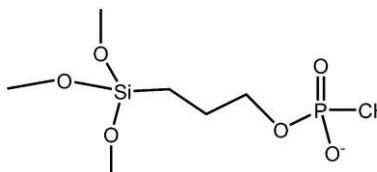
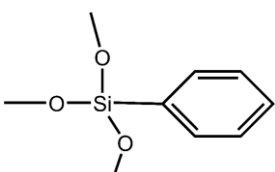
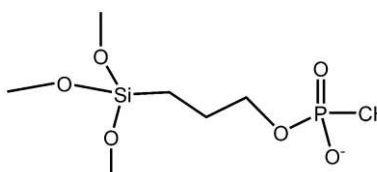


**Figura 32:** Modelo esquemático com um corte transversal das nanopartículas coloidais de SiO<sub>2</sub> mostrando a funcionalização hierárquica com grupos octil e fenil (na estrutura interna dos poros, representados pela cor amarela); e com grupos propilmetilfosfonato ou propilamina (na superfície das nanopartículas, representados pela cor cinza).



**Tabela 8:** Lista das amostras de nanopartículas e suas respectivas funcionalizações

Nome da Amostra	Superfície Interna dos Poros (A)	Superfície Externa (B)	Método de Funcionalização
NP-1			-
NO	 20%-mol de Si*	 5%-mol de Si*	Co-condensação
NF	 20%-mol de Si*	 5%-mol de Si*	Co-condensação
NF-P1	 20%-mol de Si*	 1,0%-mol de Si*	Co-condensação
NF-P2	 20%-mol de Si*	 2,4-mol de Si*	Co-condensação
NF-P3	 20%-mol de Si*	 4,8%-mol de Si*	Co-condensação

NF-A1	 20%-mol de Si*	 +5,0%-mol de Si* <sup>†</sup>	Enxerto Pós-Síntese
NF-A2	 20%-mol de Si*	 +10%-mol de Si* <sup>†</sup>	Enxerto Pós-Síntese
NF-A3	 20%-mol de Si*	 +25%-mol de Si* <sup>†</sup>	Enxerto Pós-Síntese
NF-1-P2	 30%-mol de Si*	 2,4%-mol de Si*	Co-condensação
NF-2-P2	 40%-mol de Si*	 2,4%-mol de Si*	Co-condensação

\*Valores nominais de síntese; a funcionalização efetiva é obtida por RMN-HPDEC de <sup>29</sup>Si.

<sup>†</sup> Valor em excesso, baseado na razão: mols de Si/massa da amostra NF.



### 8.3. Características físico-químicas das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato

**Tabela 9:** Resumo dos resultados obtidos para as amostras de nanopartículas porosas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com grupos fenil e propilmetilfosfonato

Amostra	Tamanho das Partículas* (nm)	Área de Superfície (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> ) <sup>†</sup>	Volume de Poros (m <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> ) <sup>†</sup>	Potencial Zeta-ζ (mV)		
				pH 4	pH 7	pH 10
NP-1	76	855	0,8	-5	-10	-11
NF	78	953	1,5	-8	-10	-15
NF-P1	62	976	1,5	-14	-24	-23
NF-P2	68	872	1,4	-16	-25	-24
NF-1-P2	55	950	2,1	-21	-32	-26
NF-2-P2	‡	878	1,0	‡	‡	‡
NF-P3	190	811	1,4	-25	-26	-27

\* Valor máximo da distribuição de tamanho obtida por DLS. <sup>†</sup> Valor obtido pelo método BET. <sup>‡</sup> Valor no ponto P/P<sub>0</sub> = ~0,94. <sup>‡</sup> Partículas não esféricas, não se enquadram no modelo para os cálculos.



#### 8.4. Ensaio de citotoxicidade (K562 e K562-Lucena)

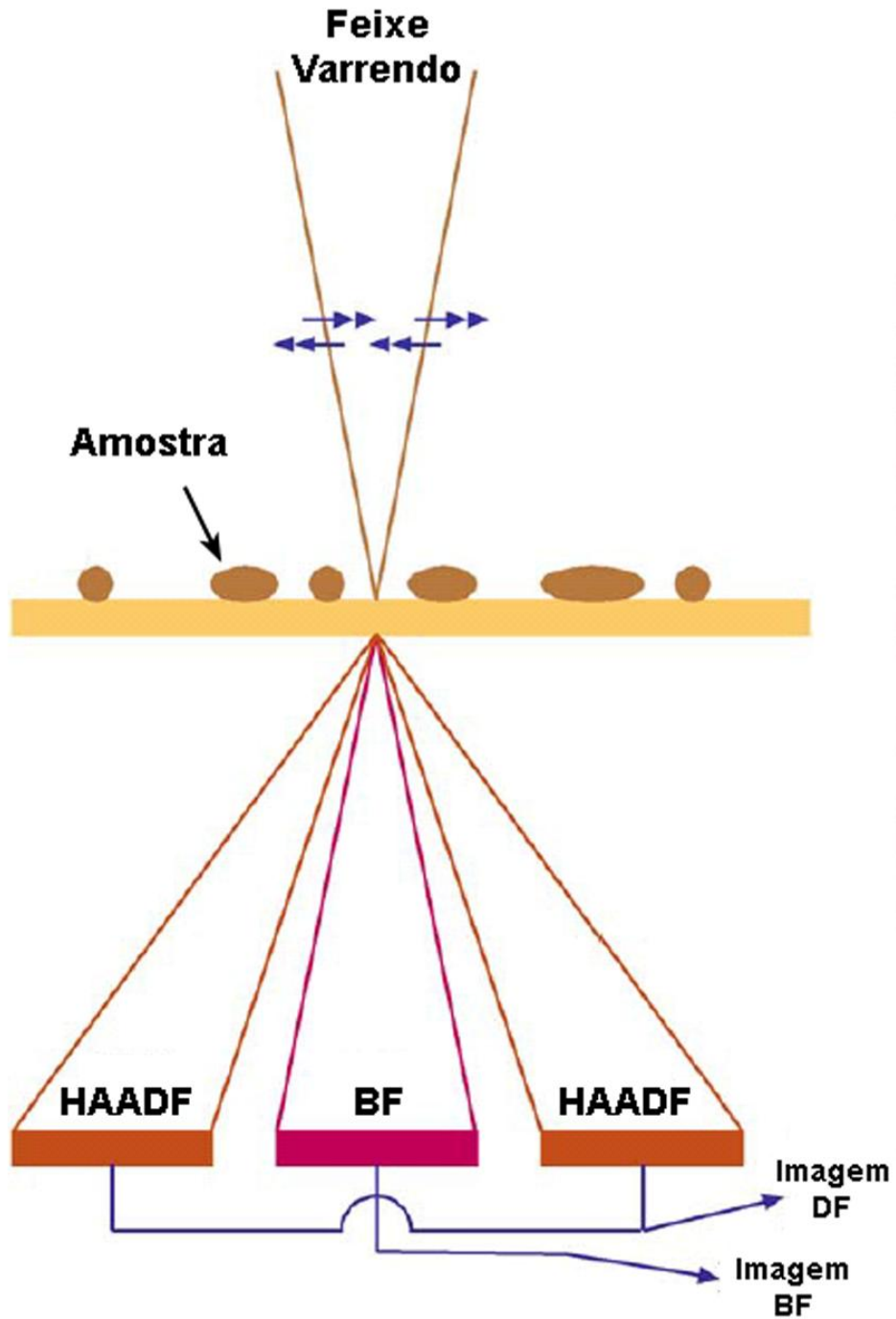
As células da linhagem K562 e K562-Lucena foram cultivadas a 37°C em frascos de cultura de 25 cm<sup>2</sup> contendo o meio de cultura RPMI, suplementado com 10% de soro fetal bovino, e penicilina e estreptomicina nas concentrações de 10.000.000 U.I./L e 10 g L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os ensaios de inibição de crescimento celular foram feitos com 10.000 células/mL de meio, em placas estéreis com 96 poços de fundo chato. Antes da adição das nanopartículas, as suspensões coloidais são homogeneizadas em ultrassom por 15 minutos. O controle positivo foi feito com a adição de meio de cultura, e o controle negativo é feito com a adição de água deionizada. As células foram incubadas a 37°C por 48 horas em estufa com controle da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>, 5%). Foram usadas as seguintes concentrações das amostras NF-1-P2 e NF-1-P2 + Camptotecina: 2,5; 5,0; 10; 25; 50 e 100 µg mL<sup>-1</sup>, com análises em sextuplicata. A quantidade de camptotecina presente em cada uma dessas concentrações da amostra NF-1-P2 + Camptotecina foi calculada a partir da razão 3%-massa de camptotecina/amostra. Esses valores foram utilizados para o ensaio de avaliação da atividade de inibição de crescimento celular da camptotecina livre, dissolvida em DMSO. Foi utilizada uma solução estoque de 10 mg mL<sup>-1</sup> de camptotecina em DMSO, e a concentração do DMSO nos poços não ultrapassou 0,1%-volume. Após 45 horas de ensaio, foi adicionado na placa de poços o corante AlamarBlue, que é metabolizado pelas células vivas através de mecanismos oxi-redução, que geram sua forma fluorescente. Finalmente, a quantificação do número de células nos poços é feita através de medidas de fluorescência com excitação em 560 nm e leitura em 590 nm, em um equipamento da marca Molecular Devices, modelo FlexStation 3 Microplate Reader. Esses experimentos foram



realizados na Universidade Federal de São Paulo, no departamento de Bioquímica, através de uma colaboração da Profa. Giselle Zenker Justos e o aluno Roberto Araújo.

## **8.5. Descrição da técnica de STEM-HAADF**

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão em modo varredura (STEM) com detecção de campo escuro anular de alto ângulo (HAADF) foi crucial para visualização da estrutura porosa das nanopartículas coloidais de sílica produzidas durante o desenvolvimento desse trabalho. O equipamento utilizado para obtenção dos resultados aqui apresentados (JEOL 2100F – 200 kV) conta com um canhão de emissão por campo (FEG) do tipo Schottky que possibilita convergir o feixe de elétrons em sondas circulares de até 0,2 nm de diâmetro, permitindo a aquisição de imagens com resolução atômica. O feixe de elétrons convergente é varrido sobre o plano da amostra resultando em múltiplos fenômenos de interação dos elétrons com a matéria em cada ponto do plano de varredura (ex: difração, absorção, espalhamento). Desses fenômenos, o espalhamento dos elétrons em alto ângulo tem relação direta com o número atômico dos elementos constituintes da amostra, bem como sua espessura. O feixe espalhado em altos ângulos é processado através de um detector anular que circunda o detector de campo claro (que processa o feixe transmitido pela amostra). No caso das nanopartículas de sílica com estrutura de poros desordenada, apresentadas nessa Tese, a captura desses elétrons espalhados em alto ângulo forneceu contraste necessário para revelar os poros através da diferença de espessura ao longo da partícula. O diagrama de raio da técnica é mostrado na Figura 33.



**Figura 33:** Diagrama de raio da técnica de microscopia eletrônica de transmissão em modo varredura (STEM) com detecção de campo claro (BF) e campo escuro anular de alto ângulo (HAADF). Adaptação de Williams e Carter, *Transmission Electron Microscopy*, 2009.