

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TAÍS FAGUNDES

**HIDROXIAPATITA FUNCIONALIZADA COM CORANTES
FLUORESCENTES POR MECANISMO ESIPT**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Profa. Dra. Leandra Franciscato Campo
Orientadora

Porto Alegre, dezembro de 2021

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto colaborações devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre fevereiro de 2019 e dezembro de 2021 no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Leandra Franciscato Campo.

Dedico esse trabalho à minha mãe
Maria Lúcia e a todos que ainda
resistem na ciência brasileira.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer as agências de fomento à pesquisa: CNPq e a CAPES, essa última sendo agradecimento especial pela bolsa cedida que me possibilitou os estudos nesse período. Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFRGS, por todo excelente trabalho feito e auxílio nesse período difícil que foi a pandemia do COVID-19, além claro do ótimo ensino e infraestrutura cedidos aos alunos.

Agradeço especialmente minha querida orientadora Leandra Franciscato Campo pela ótima orientação, compreensão, conhecimentos compartilhados e por toda paciência que teve ao me escutar, compreender e elucidar situações que muitas vezes fugiam da rotina laboratorial. O mundo acadêmico precisa de mais pessoas com visões mais humanas como a Leandra.

Aos meus colegas do laboratório Ingrid, Cássio, em especial a Elisa por todo conhecimento na parte de materiais compartilhado e pela paciência em me ajudar a ter visões mais claras nas partes que eram então desconhecidas para mim.

À minha querida ex-colega de laboratório que hoje em dia tenho prazer de chamar de amiga pra vida toda, Franciela Arenhart, por todo conhecimento na parte orgânica e fotofísica que compartilhou comigo, por todos os conselhos, todas as escutas nesse período complexo que é o mestrado, pelos incentivos à carreira acadêmica e por continuar acreditando em mim.

Aos meus amigos de longa data que foram fundamentais nesse período de mudanças, Bruno Cappelari e Gabriela Alessio, por todo companheirismo e amizade ao longo de anos, que me tiraram de casa muitas vezes quando eu estava absorta nos afazeres acadêmicos e isso já bastou para que eu ganhasse energia extra pra prosseguir.

Aos amigos que fiz no período de pós-graduação e que pretendo levar para o resto da vida, Pedro, Carol e Vanessa, muito obrigado por serem tão acolhedores e tão prestativos.

Aos amigos que me acompanham desde a época de graduação e continuam sendo influentes e próximos, Fernanda, Bibiana, Tiago e em especial ao Samuel que é um ótimo químico orgânico e amigo.

Aos meus professores de graduação Luiz Mazzini e Dione Corrêa pelos incentivos dados nesse período de pós-graduação, conselhos e amizades. Também a todos os outros professores ao qual tenho saudades, respeito e admiração.

À minha mãe Maria Lúcia que não poupou esforços para que eu continuasse com meus estudos desde sempre, me incentivando e ajudando quando preciso. À minha irmã e meu pai que também foram fundamentais para que eu conseguisse alcançar meus objetivos.

Aos governos anteriores pelas políticas sociais de incentivo as classes inferiores, como o PROUNI, que permitiu com que pessoas como eu chegassem em graus acadêmicos como esse que defendo.

*“A scientist in his laboratory is not a mere technician:
he is also a child confronting natural phenomena
that impress him as though they were fairy tales.”*

Marie Curie

PRODUÇÃO CIENTÍFICA RELACIONADA AO MESTRADO

APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM CONGRESSOS

Fagundes, T.; Campo, L. F.; Hidroxiapatita Dopada por Corante com Mecanismo ES IPT: Obtenção e Estudo Fotofísico, II MultiMAT, **2021**, Porto Alegre-Brasil.

Fagundes, T.; Campo, L. F.; Rossi, A. M. *Hydroxyapatite nanoparticles functionalized with ES IPT dye*, 3rd European Congress on Material Science & Nanotechnology, **2021**, Paris – França.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura da HA vista em perspectiva 2D com as interações eletrostáticas.....	4
Figura 2. Exemplos das utilizações dos fosfatos de cálcio em algumas áreas.....	5
Figura 3. Tipos de interações que a HA faz com alcóxisilanos.....	6
Figura 4. Estrutura hexagonal da HA com os sítios de ligação P e C indicados.....	7
Figura 5. Núcleo de um benzoxazol.....	8
Figura 6. Exemplo da literatura de HA em nanopartícula magnéticas como catalizador dos produtos benzoxazol e benzimidazol.....	10
Figura 7. Estrutura do 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol e seu tautômero no mecanismo ESIPT.....	11
Figura 8. Exemplo de como ocorre o mecanismo ESIPT.....	12
Figura 9. Exemplos de poliquinolinás com mecanismo ESIPT.....	13
Figura 10. Exemplo do Diagrama de Jablonski.....	14
Figura 11. Princípios da química verde onde o termo “green synthesis” vem de síntese verde.....	15
Figura 12. Espectro de infravermelho da HA (em pastilha de KBr)	20
Figura 13. Espectro de absorção da molécula 1 em pastilha de KBr)	20
Figura 14. Espectro de infravermelho do HA-HBO-IPTES-onepot (em pastilha de KBr)	21
Figura 15. Espectro de infravermelho do HA-HBO-IPTES (em pastilha de KBr).....	22
Figura 16. Espectro de infravermelho da HA e dos produtos HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES e da molécula 1 (em pastilha de KBr).....	23
Figura 17. Espectro de infravermelho do HBOCN (em pastilha de KBr).....	23
Figura 18. Espectro de infravermelho da molécula 2 (em pastilha de KBr).....	24
Figura 19. Espectro de infravermelho do HBCN e da molécula 2 (em pastilha de KBr).....	24

Figura 20. Espectro de infravermelho do HA-HBOCN-APTES-onepot (em pastilha de KBr).....	25
Figura 21. Espectro de infravermelho do HA-HBOCN-APTES (em pastilha de KBr).....	26
Figura 22. Espectro de infravermelho da HA com os produtos HA-HBOCN-APTES-one pot, HA-HBOCN-APTES e a molécula 2 (em pastilha de KBr).....	27
Figura 23. Fotomicrografia eletrônica de varredura das HA (A), HA-HBO-IPTES-onepot (B), HA-HBO-IPTES (C) e HA-HBO-APTES (D).....	29
Figura 24. Termograma da HA.....	30
Figura 25. Termograma do material HA-HBO-IPTES-onepot.....	31
Figura 26. Termograma do material HA-HBO-IPTES.....	32
Figura 27. Termograma do material HA-HBOCN-APTES.....	33
Figura 28. Termograma do material HA-HBOCN-APTES.....	34
Figura 29. Termograma da HA e dos materiais obtidos.....	35
Figura 30. Espectros de absorção no UV-Vis normalizados do corante HBO, molécula 1, HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.....	36
Figura 31. Espectros de absorção no UV-Vis normalizados da corante 2 com os materiais HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES.....	37
Figura 32. Espectros de reflectância difusa UV-Vis normalizados da HA, HBO, dos corantes 1 e 2 e dos respectivos materiais.....	38
Figura 33. Espectro de reflectância difusa da HA, do corante HBO e dos respectivos materiais.....	40
Figura 34. Emissão de fluorescência sob luz UV de 365 nm do corante HBO (em laranja) e dos respectivos materiais.....	41
Figura 35. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante HBO e da molécula 1.....	42
Figura 36. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante 1 e do material HA-HBO-IPTES-onepot.....	42
Figura 37. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados dos materiais HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.....	43
Figura 38. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante HBOCN e da molécula 2.....	43
Figura 39. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados dos materiais HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES.....	44

Figura 40. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados da HA com os materiais HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES, HA-HBOCN-APTES-onepot, HA-HBOCN-APTES.....	45
Figura 41. A esquerda imagem das pastilhas de KBr da HA com os corantes se luz UV aplicada. A direita imagem das pastilhas sob luz UV com comprimento de 365 nm. Legenda: Br = branco, HA = hidroxiapatita, TF03 = HA-HBO-IPTES, TF01 = 1, TF02 = HA-HBO-IPTES-onepot, TF10 = HA-HBOCN-APTES, TF04 = HA-HBOCN-APTES-onepot, TF09 = 2, TF09-B e TF08 são de materiais que não entraram no trabalho.....	47
Figura 42. Estrutura do material obtido HA-HBO-IPTES-onepot.....	50
Figura 43. Estrutura do material obtido HA-HBO-IPTES.....	50
Figura 44. Estrutura do material obtido HA-HBOCN-APTES-onepot.....	51
Figura 45. Estrutura do material obtido HA-HBOCN-APTES.....	52

Lista de Esquemas

Esquema 1. Obtenção da HA fluorescente a partir de corantes silanizados.....**Erro! Indicador não definido.**8

Esquema 2. Funcionalização da HA empregando metodologia *one-pot*.....19

Lista de Tabelas

Tabela 1. Referente aos estiramentos mostrados pela HA e os materiais derivados dela e dos corantes silanizados.....	27
Tabela 2. Valores de comprimentos de onda máximo de absorção dos compostos e máximo de absorbância.....	39
Tabela 3. Comprimentos de onda dos máximos de excitação e emissão dos corantes e dos materiais, onde λ_{em} é o máximo de emissão, λ_{ex} o máximo de excitação e $\Delta\lambda_{ST}$ é o deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST} = \lambda_{em} - \lambda_{abs}$).....	46

Símbolos e Abreviaturas

HA – Hidroxiapatita

ESIPT – *Excited State Intramolecular Protonic Transfer*

TGA – *Thermogravimetric Analysis*

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

OLED – *Optical Lighting Electronic Diodes*

IPTES - Isocianato-propiltriétoxisilano

APTES – Amino-propiltriétoxisilano

OH – Hidroxila

HBO – 2-(5-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol

HBOCN – 2-(5-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzoxazol

CI – Cruzamento Interno

S₁ – Estado Eletrônico Excitado Singleto de Menor Energia

S₀ – Estado Eletrônico Fundamental Singleto

ICT – *Internal Charge Transfer*

T₁ – Estado Eletrônico Excitado Tripleto de Menor Energia

µm – Micrómetro

mmol – Milimol

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital*

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*

λ_{em} – Comprimento de onda máximo de emissão

λ_{ex} – Comprimento de onda máximo de excitação

λ_{abs} – Comprimento de onda máximo de absorção

Δλ_{ST} – Deslocamento de Stokes

nm – nanômetro

Resumo

A hidroxiapatita (HA) é um mineral do grupo dos ortofosfatos de cálcio com uso diversificado sendo os principais em enxerto ósseos e em próteses dentárias, devido ao fato da HA ser um dos constituintes do tecido ósseo. Isso agrega a esse material características como biocompatibilidade, sendo por isso, um material amplamente estudado nas ciências dos materiais. Corantes orgânicos como o 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol são conhecidos por emitirem fluorescência devido ao mecanismo ESIPT (acrônimo do inglês para *Excited State Intramolecular Proton Transfer*). Este trabalho teve como objetivo a funcionalização da HA com corantes ESIPT a fim de se obter materiais com propriedades fluorescentes a serem explorados, além da investigação do comportamento fotofísico do corante emissor na matriz de HA. A utilização de corantes ESIPT possibilita que a HA marcada emita no estado sólido, uma importante propriedade fotofísica que abre um novo campo de investigação. A metodologia seguida para a funcionalização da HA com os corantes ESIPT envolve a reação de grupos silanóis de silício hidrolisados que são capazes de sofrer reações de condensação com os grupos hidroxila da estrutura do ortofosfato. Sendo assim, duas abordagens foram seguidas, uma a síntese *one-pot* com o uso de agentes silanizantes e a outra por etapas, em que foram sintetizados primeiramente os corantes contendo grupos alcóxissilanos hidrolisáveis e posterior reação com a HA. Para a caracterização dos materiais foram utilizadas as técnicas de Infravermelho, TGA, MEV, Espectroscopia de Reflectância Difusa no UV-Vis, e Espectroscopia de Emissão de Fluorescência. Foi possível comprovar que a HA foi funcionalizada com os corantes ESIPT e os materiais apresentaram intensa emissão de fluorescência no estado sólido.

Palavras-chave: Hidroxiapatita; ESIPT; 2-(2'-Hidroxifenil)Benzoxazol; Fluorescência.

Abstract

Hydroxyapatite (HA) is a mineral of the calcium orthophosphate group with diversified use, being the mainly in bone grafts and in dental prostheses, since it is one of the main constituents of bone tissue. This adds characteristics such as biocompatibility to this material, making it a widely studied in material sciences. Organic dyes such as 2-(2'-hydroxyphenyl) benzoxazole are known to emit fluorescence due to the ESIPT mechanism (an acronym for *Excited Intramolecular Proton Transfer*). This work aimed to functionalize HA with ESIPT dyes in order to obtain materials with fluorescent properties to be explored, in addition to investigating the photophysical behavior of the emitter dye in the HA matrix. The use of ESIPT dyes enables labeled HA to emit in solid state, an important photophysical property that opens up a new field of investigation. The methodology followed for the functionalization of HA with ESIPT dyes involves a reaction of hydrolyzed silicon silanol groups that are capable of undergoing condensation reactions with the hydroxyl groups of the orthophosphate structure. Thus, the two approaches were followed, a one-pot synthetic one with the use of silanizing agents and the other in steps, in which dyes containing hydrolysable alkoxy silane groups were first synthesized and subsequently reacted with HA. For the characterization of the materials, techniques such as Infrared, TGA, SEM, UV-Vis Diffuse Reflectance Spectroscopy, and Fluorescence Emission Spectroscopy were used. It was possible to verify that an HA was functionalized with ESIPT dyes and the materials presented intense fluorescence emission in the solid state.

Keys-words: hydroxyapatite; ESIPT mechanism; *one-pot* reactions; 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole; fluorescence

Sumário

Resumo	XIII
1. Introdução	1
2. Objetivos	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3. Revisão Bibliográfica	4
3.1. Hidroxiapatita	4
3.2 Benzoxazóis e suas aplicações.....	8
3.3. Mecanismo ESIPT e Deslocamento de Stokes	11
3.4. Reações One-Pot.....	15
4. Resultados e Discussão	17
4.1. Funcionalização da HA com corante silanizados	18
4.2. Funcionalização da HA com corantes silanizados <i>one-pot</i>	18
4.3. Caracterização dos materiais por Espectroscopia no Infravermelho....	19
4.4. Caracterização dos materiais por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	28
4.5. Caracterização dos materiais por Análise Termogravimétrica (TGA)...	29
4.6. Caracterização dos materiais por Espectroscopia de Reflectância Difusa no UV-Vis	35
4.7. Caracterização dos materiais por Espectroscopia de Emissão de Fluorescência	40
5. Conclusões	47
6. Parte Experimental	48
6.1 Materiais e Métodos	48
6.2. Síntese dos corantes.....	49
6.2.1. Síntese do 2-[5'-N-(3-trietoxisilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzazol (1).....	49
6.2.2. Síntese do 2-[5'-N-(3-trietoxisilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (2).....	49
6.3 Funcionalização da hidroxiapatita	50
6.3.1 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBO-IPTES-onepot)	50
6.3.2 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBO-IPTES).....	50

6.4.3 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol multicomponente (HA-HBOCN-APTES-onepot)	51
6.4.4 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBOCN-APTES)	51
7. Referências	52
7. Apêndices	57
7.1. Microscopia Eletrônica de Varredura	57

1. Introdução

Fenômenos luminescentes ocorrem devido à absorção e emissão de energia em forma de luz. O que diferenciam os fenômenos são as formas de excitação em que uma molécula é submetida, podendo ser por eletricidade, reações químicas, calor, feixe de elétrons ou absorção fótons. A excitação por absorção de fótons é chamada de fotoluminescência e esses fenômenos podem ser separados em duas formas: fluorescência ou fosforescência, sendo diferenciadas pelas transições eletrônicas que ocorrem em seus estados excitados.¹ Moléculas orgânicas que emitem fluorescência com maior frequência, pois é preciso que ocorram simetrias orbitales que permitam transferências de energia para que ocorram esses os fenômenos luminescentes.² A fluorescência costuma acontecer em moléculas aromáticas em razão das conjugações existentes nessas moléculas.³

Os benzoxázois são compostos heterociclos que vem sido motivo de estudos devido suas propriedades bioativas como antivirais, antitumorais, antibacterianas, antiinflamatórias e antifúngicas.⁴⁻⁷ Essas moléculas apresentam também propriedades fotofísicas, como em marcadores luminescentes em biomateriais e proteínas, diodos de emissão de luz orgânicos (OLEDs), sondas fluorescentes e sensores metálicos ou de pH.⁸⁻¹⁰

As moléculas da classe dos benzoxázois apresentam fluorescência devida à existência do mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (em inglês ESIPT – *Excited State Intramolecular Proton Transfer*),¹¹ que ocorre, de maneira simplificada, com a absorção de fóton por uma molécula, fazendo com que ela passe do estado fundamental enol S_0 para um estado excitado enol S_1 , onde ocorre uma redistribuição eletrônica. Consequentemente, a molécula passará para a configuração ceto excitada S_1 e a transferência protônica intramolecular irá ocorrer. A molécula decairá da forma excitada ceto S_1 para a forma ceto fundamental S_0 , perdendo a energia absorvida em forma de fluorescência, passando por nova reconfiguração eletrônica para voltar a sua forma enol fundamental S_0 .^{3,12}

A hidroxiapatita é um mineral pertencente aos fosfatos de cálcio, amplamente conhecida na área medicinal devido suas utilizações como próteses e enxertos dentários e ósseos. Seu uso ocorre devido a bioatividade e biocompatibilidade que ela possui, atuando como osteocondutora e osteoindutora.¹³ Essa biocerâmica é encontrada nos tecidos ósseos dos seres humanos, facilitando sua passagem pelas barreiras celulares sem ser repelida pelo sistema imunológico. Calcula-se que no tecido ósseo ela participe de 30 % à 70 % da composição.¹⁴ Sua utilização estende-se como sondas biológicas e como transportadora de fármacos com liberação controlada.¹⁵

Hidroxiapatitas dopadas com compostos fluorescentes, *quantum dots*, lantanídeos ou moléculas orgânicas, são desenvolvidas para monitoramento através da fluorescência da extensão de fraturas ósseas,¹⁶ controle das rotas e conhecimento os sítios de ligação dos materiais sintetizados, ocorrendo também com associação a fármacos, para acompanhamento mais preciso no desenvolvimento do mesmo, fazendo com que a hidroxiapatita fluorescente haja como biomarcador.^{17,18}

O presente trabalho busca unir a fluorescência que as moléculas orgânicas com mecanismo ESIPT possuem com a HA por meio de ligações covalentes, com finalidade de obtenção dos materiais fluorescentes. Os materiais foram obtidos de duas maneiras: *one-pot* e por reações em etapas. Tendo assim, finalidade de comparação dos resultados para otimização das sínteses dos materiais, uma vez que reações *one-pot* são conhecidas pela otimização de tempo reacional e geração de menos resíduos. Através dos estudos fotofísicos é esperado, evidenciar as ligações feitas entre a HA e os corantes pelas mudanças nos espectros de emissão fluorescência e pelos espectros de reflectância difusa no UV-Vis, uma vez que os corantes benzoxazóis possuem bandas características em ambos os espectros devido ao mecanismo ESIPT.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Obtenção de partículas de hidroxiapatita fluorescentes por modificação da superfície empregando corantes fluorescentes por mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar corantes fluorescentes da família dos 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazóis com diferentes grupos funcionais como amino, isocianato e alcoxisilano.
- Incorporar quimicamente os corantes fluorescentes sintetizados na hidroxiapatita.
- Utilizar diferentes rotas de modificação da hidroxiapatita.
- Aplicar as técnicas de Espectroscopia de Reflectância Difusa no Ultravioleta-Visível e de Fluorescência no estado sólido para elucidar os processos fotofísicos que ocorrem quando há interação dos corantes com a hidroxiapatita.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Hidroxiapatita

A hidroxiapatita é um mineral pertencente ao grupo dos fosfatos de cálcio, sendo considerada como um dos materiais com maior estabilidade dentro desse grupo e baixa solubilidade.⁸ Sua fórmula molecular genérica é $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$,¹⁹ fórmula padrão das apatitas $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$, equivalente a uma célula unitária, com razão Ca/P igual a 1,67.¹⁹

Esse mineral é comumente encontrado em um sistema hexagonal, quando em temperatura ambiente, átomos de cálcio são rodeados por átomos de oxigênio com carga negativa, pertencentes os grupos fosfatos, implicando em interações eletrostáticas para formação de sua estrutura cristalina.²⁰ Nesse sistema, apresenta parâmetros de rede de aproximadamente $a = b = 0,9432 \text{ nm}$ e $c = 0,6881 \text{ nm}$, fazendo parte do grupo espacial P_{63}/m . O P indica um sistema hexagonal primitivo, então além das coordenadas citadas, ela também possuirá ângulos de $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 120^\circ$.²¹

Em sua estrutura é observado a existência de oxigênios negativos (carga 1^-), provenientes das hidroxilas que ficam nos extremos dos planos basais, com intervalos equidistantes. Alguns dos íons de cálcio da célula unitária da hidroxiapatita, formam interações eletrostáticas com essas hidroxilas, como visto na figura 1.²² As hidroxilas presentes nesses extremos são responsáveis por uma série de ligações e interações que a biocerâmica faz, incluindo com biomoléculas.²²⁻²⁴

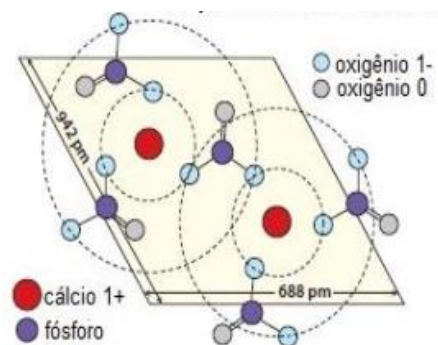


Figura 1. Estrutura da HA vista em perspectiva 2D com as interações eletrostáticas que acontecem na célula unitária do material.²²

A hidroxiapatia é o principal mineral encontrado no tecido ósseo, podendo fazer parte de 30% a 70% da composição,²³ o que explica a sua biocompatibilidade e bioatividade. Seus nanocristais são encontrados depositados ao longo das fibras de colágeno nos tecidos ósseos.²⁵ A alta resistência à compressão e compatibilidade biológica faz com que ela também seja chamada de biocerâmica. O principal uso desse biomaterial ocorre na medicina, em implantes, próteses e enxertos ósseos, ocorrendo principalmente, devido a sua biocompatibilidade, onde ela age como osteocondutora, permitindo a aposição de tecidos ósseos para regeneração do tecido em sua superfície, e sua bioatividade em que acaba agindo como osteoindutora, fazendo o trabalho de indução de formação de osteoblastos no local em que é aplicada. A facilidade em incorporar moléculas fisicamente ou quimicamente em sua estrutura, faz com que ela também seja usada como transportadora de fármacos no organismo, com liberação controlada e alvo específico (Figura 2).¹⁵ Exemplo disso, é capacidade de incorporação em sua microesfera, fármacos com ação antibacteriana.²⁶

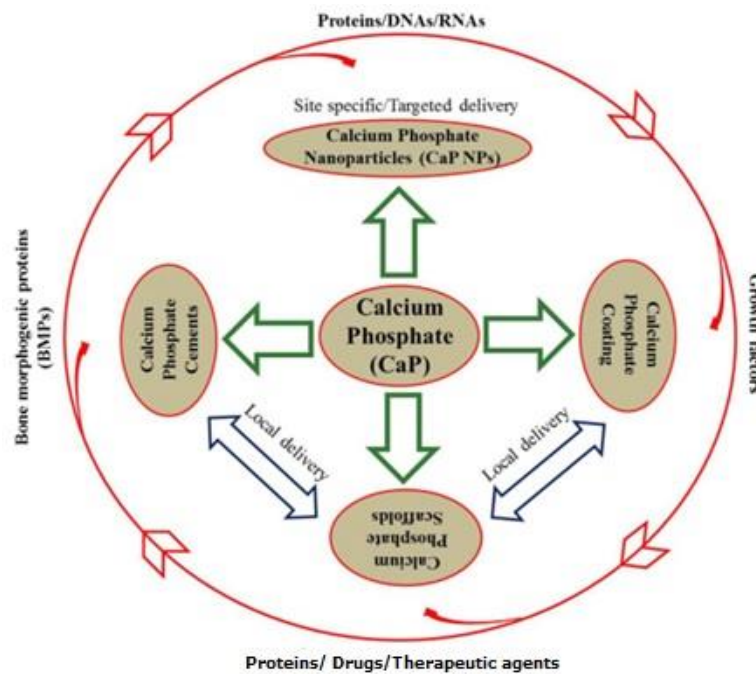


Figura 2. Exemplos das utilizações dos fosfatos de cálcio em algumas áreas.¹⁸

A temperatura usada para a obtenção das hidroxiapatitas influencia diretamente na sua cristalinidade, tamanho dos poros e microestrutura,²⁷ um exemplo disso é que para obtenção da hidroxiapatita biológica, ou seja, com a mesma cristalinidade que a encontrada no nosso organismo, em que precisa-se de duas etapas de síntese, sendo uma delas com temperaturas até 50° e outra com temperaturas que chegam à 1200 °C.²⁸ A HA obtida sinteticamente, acaba diferenciando-se da hidroxiapatita encontradas nos tecidos ósseos e dentários. Todavia, para a obtenção dessas biocerâmicas com uma maior proximidade possível da cristalinidade compatível com as desses tecidos, metodologias aplicadas com resíduos biodegradáveis²⁹ (sendo em sua maior parte esses resíduos de animais e vidas marinhas,³⁰ hidrotermais limpas com calcificação e temperatura²⁸ e sol-gel, as mais comuns),²⁷ veem sendo estudadas com essa finalidade.

É comumente visto na literatura, que a hidroxiapatita pode ser funcionalizada com grupos silanizados ou fosforados³¹, tendo como finalidade a obtenção de uma estrutura que permita a ligação de biomoléculas^{22,24,25,32} ou corantes fluorescentes em sua superfície.³³ O contrário também pode ocorrer, a funcionalização de um corante orgânico ou biomolécula para posterior ligação com a hidroxiapatita.³² O tipo de interações que ocorrem entre a HA e os alcóxissilanos, são ligações covalentes entre os átomos de oxigênio de grupos organossilanos e os grupamentos hidroxila presentes na superfície da hidroxiapatita, como apresentado na figura 3, tendo como exemplo de ligação covalente a policondensação (a) e as interações eletrostáticas são apresentadas como fisiossorções (b e c).²⁴ Os alcóxissilanos são os grupos mais usados para promover a ligação covalente com a hidroxiapatita, por possuírem grupos amino terminais em sua estrutura, o que permite posterior ligação com outras moléculas, exemplo disso é a molécula de aminopropil-trietóxissilano (APTES) (Figura 3).³² A maior parte das moléculas ligadas à HA possuem grupamento amino terminal, mas também podem ocorrer ligações entre moléculas orgânicas ligadas e essa biocerâmica através da ativação de grupos ésteres.³⁴

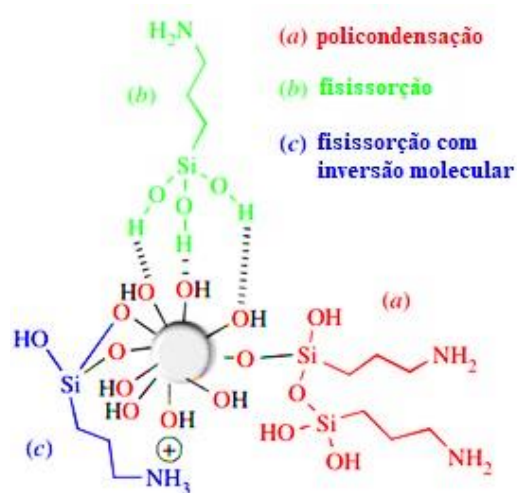


Figura 3. Tipos de interações que a HA faz com alcóxisilanos. (Adaptado de Russo, L.; et al.).³²

As interações eletrostáticas entre os grupamentos hidroxila da superfície da hidroxiapatita e de biomoléculas, são interações fracas que dificultam as ligações covalentes entre a hidroxiapatita e os grupos silanos. Por isso é recomendado que a funcionalização da hidroxiapatita ou do corante orgânico silanizado, seja feita antes da formação do produto final na rota de síntese da HA.^{16,32}

Um fator relevante no processo de silanização das hidroxiapatitas, é que os grupos silanos são considerados citotóxicos quando livres, mas quando ligados com essa nanopartícula não apresentam citotoxicidade, devido ao fato de não ocorrer liberação de íons Si^{4+} no meio, que é a causa da citotoxicidade dos compostos sililados, em sua maioria.²⁵ As interações que a HA faz com as proteínas podem acontecer de duas maneiras: através de faces: o lado “C” (referente ao Ca^{2+}) e o lado “P” (referente ao PO_4^-), conforme sua composição e orientação mostrado na figura 4.²⁵

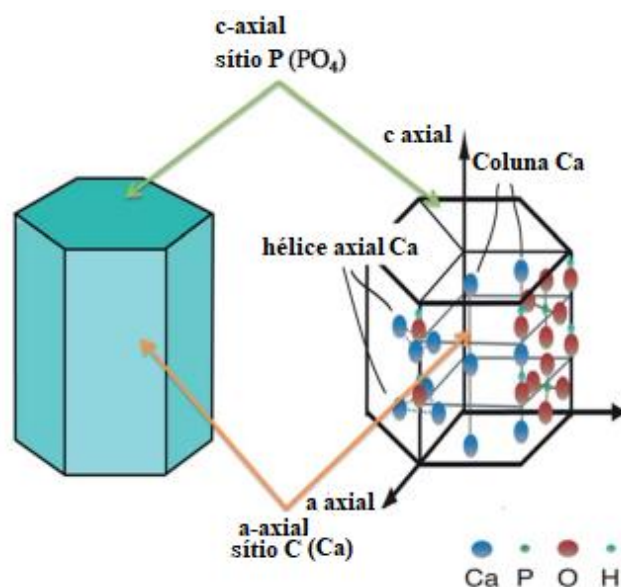


Figura 4. Estrutura hexagonal da HA com os sítios de ligação P e C indicados (adaptado de Haider, A. et al.).²⁵

Quanto as incorporações de biomoléculas, como proteínas, nas hidroxiapatitas, sabem-se que quando dopadas com lantanídeos/*quantum dots* ou com corantes orgânicos, são usadas como biomarcadores e sondas para imagem de tecidos/células ósseas.^{8,35} Também é possível serem incorporadas drogas e fluoróforos na hidroxiapatita, para controlar o alvo da droga e o caminho percorrido através da fluorescência. Como a biocerâmica não apresenta citotoxicidade, não oferece perigo de rejeição no organismo, facilitando o caminho a ser percorrido pela droga.³⁶ Estudos mostram as HA sendo usadas também como alvos para sensores de pH fluorescentes, o que pode ajudar em diagnósticos de tumores, inflamações e fraturas, que estão associados às mudanças de pH no organismo.³⁷

As interações com biomoléculas e nanopartículas fluorescentes também possibilitam com que o material seja usado como detector de baixos níveis de determinados biotíóis (tióis com alguma funcionalidade biológica).³⁸

3.2 Benzoxazóis e suas aplicações

Os benzoxazóis (HBO) são moléculas orgânicas heterocíclicas aromáticas, que se formam pela fusão de um benzeno com um anel oxazol, mostrado na figura 5 um núcleo de benzoxazol. Na constituição genérica, tem-se o anel

azólico com dois heteroátomos em sua composição na posição 1 e 3 em um anel de 5 membros, sendo um deles o nitrogênio, ao qual participa ativamente do mecanismo ES IPT, e o outro heteroátomo o oxigênio.³⁹ Essas moléculas são obtidas quase sempre por condensação, onde ocorre uma adição seguida pela eliminação de anilinas orto-substituídas com compostos carboxilados derivados do ácido salicílico.⁴⁰

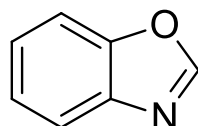


Figura 5. Núcleo de um benzoxazol.

Os compostos heterocíclicos, como o benzoxazol, tem sido motivo de estudos principalmente devido as suas atividades biológicas. O HBO possui atividade antibacteriana,⁴¹ antifúngica,⁴² antitumoral quando ligadas ou não a metais de transição,⁴³ antiinflamatória,⁴⁴ sabe-se também de atividades antioxidante⁶ e até de estudos onde o benzoxazol é usado no combate do HIV.⁵ Quanto ao seu uso como agente antitumoral, ao estar ligado a metais de transição o funcionamento das moléculas acaba sendo facilitado como quimioterápico, devido às interações do metal com moléculas de DNA,⁴³ mas existem também estudos que indicam essa funcionalidade sem a complexação com metais de transição.^{5,6}

Esses corantes são também muito utilizados devido suas características fotofísicas, tendo seu uso como sondas fluorescentes, podendo ser ou não funcionalizados com polímeros,⁹ como OLEDs (*Organic Light Emitting Devices*),⁴⁵ como sensores fluorescentes,⁴⁶ estabilizadores UV e biomarcadores.⁴⁷ É possível ser visto que em muitas dessas funções fotofísicas que o HBO demonstra, ele aparece ligado a polímeros, sem perder as propriedades de emissão de fluorescência em sua maioria, o que pode auxiliar em um aumento de seletividade, dependendo da função que se espera.^{10,35,46,48-53}

Quanto ao uso dos HBO em materiais, na literatura encontram-se exemplos da dopagem desses corantes na superfície de polímeros ou de materiais inorgânicos, principalmente associados a sondas fluorescentes.⁹ Mas também têm-se exemplos do uso em sensores metálicos, baseado em interações supra-moleculares e na conjugação dos corantes com os microporos dos polímeros

formados.⁵² Estudos farmacológicos sobre a imobilização de corantes benzoxazóis na HA apresentaram resultados promissores quanto a passagem do composto formado através das membranas celulares.⁵⁴ Suportes de nanopartícula HA com Fe²⁺ foram usados como catalisadores em reações de obtenção dos corantes benzoxazóis e benzimidazóis, seguindo os princípios da química verde através da metodologia *one-pot* (Figura 6).⁵⁵



Figura 6. Exemplo da literatura de HA em nanopartícula magnéticas como catalizador dos produtos benzoxazol e benzimidazol.⁵⁵

As funções fotofísicas das moléculas de benzoxazol são possíveis graças ao mecanismo ESIPT, que é uma das maiores características que esses corantes possuem.¹¹ Modelos teóricos podem ajudar a uma melhor compreensão desses mecanismos, em que se observam que os tipos de transições que ocorrem nas moléculas HBO associadas ao mecanismo ESIPT, são do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e que o tautômero formado no estado excitado é o que possui maior estabilidade, quando comparado ao estado excitado enol, como visto na figura 7. O que favorece também a transição protônica é a proximidade do grupo doador de próton da hidroxila ligada ao anel fenólico, do grupo aceptor de próton, que no caso é o nitrogênio pertencente anel azólico da molécula.^{56,57}

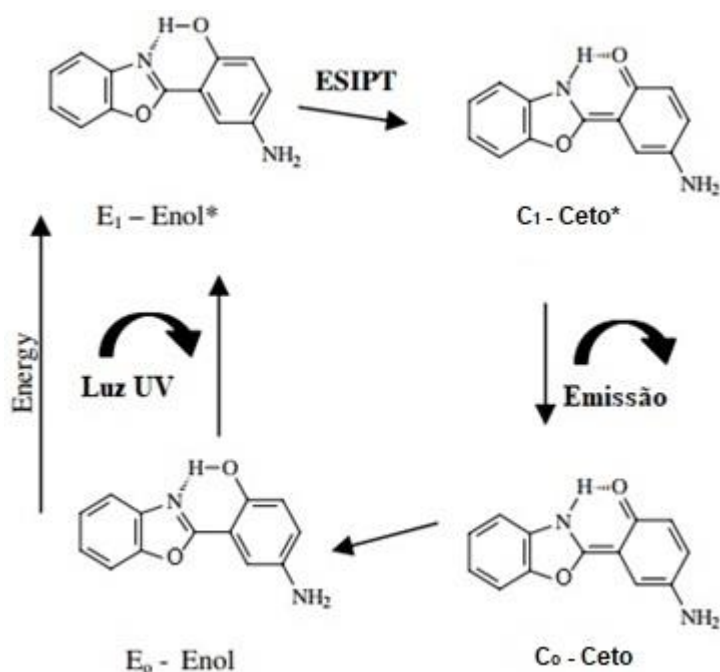


Figura 7. Estrutura do 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol e seu tautômero no mecanismo ES IPT.³⁹

3.3. Mecanismo ES IPT e Deslocamento de Stokes

O mecanismo ES IPT vem instigando o interesse em estudos recentes devido suas propriedades fotofísicas, que lhe conferem estabilidade em sua forma no estado excitado. Moléculas que exibem mecanismo ES IPT, possuem aplicação em sensores fluorescentes, corantes para laser, sondas, marcadores celulares, estabilizador UV e OLEDs.^{10,11,58-60}

Esse mecanismo pode ocorrer em moléculas aromáticas, onde em solventes polares apróticos, há um favorecimento de uma redistribuição eletrônica da molécula no estado excitado, e conseqüentemente a transferência protônica intramolecular no estado excitado irá acontecer. A molécula, obrigatoriamente, deve possuir um grupo hidroxila com forte ligação intramolecular que irá funcionar como grupo doador de próton e um heteroátomo próximo dessa hidroxila e com orbitais moleculares vazios simétricos, para funcionar como o grupo acceptor desse próton.³

Quando é irradiado um feixe luz ultravioleta na molécula, ela acaba absorvendo essa energia e passando de um estado fundamental enol S_0 para um

estado excitado enol S_1 , então o grupo doador de próton irá assumir um caráter mais ácido e o aceptor um caráter mais básico, fazendo com que ocorra a redistribuição eletrônica da molécula, passando para a forma excitada do tautômero ceto S_1 , podendo esta etapa ocorrer de forma extremamente rápida devido à proximidade do grupo aceptor. O tautômero ceto excitado tem sua relaxação onde irá perder a energia absorvida pela molécula em forma de fluorescência, passando para um estado fundamental ceto S_0 , onde sofrerá nova redistribuição eletrônica, voltando para sua forma enol fundamental S_0 (Figura 8). Nenhuma mudança fotoquímica ocorre na molécula, o que lhe dá características fotofísicas.¹²

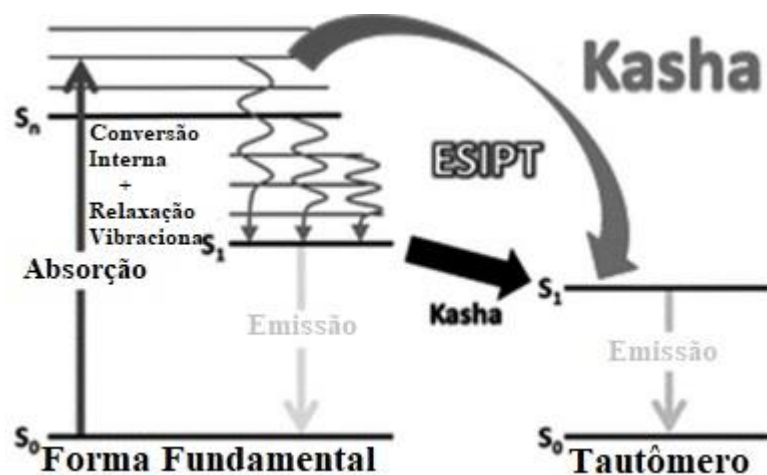


Figura 8. Exemplo de como ocorre o mecanismo ES IPT. (Adaptado de Del Valle, J. C.; Catalán).⁶¹

Pelas regras estipuladas por Kasha em 1950, moléculas poliatômicas desativam o mecanismo luminescente através do relaxamento através dos níveis vibracionais de estados eletrônicos de mesma multiplicidade até atingir o primeiro nível vibracional do estado eletrônico singleto de menor energia (S_1).⁶² Sendo que o processo só pode acontecer, pelas regras, do estado singleto S_1 para o estado fundamental S_0 , mostrado também na figura 8.⁶¹ O nome dado a esse processo de desativação é cruzamento interno (CI), sem emissão de radiação e que ocorre de maneira rápida, cerca de 10^{-13} s.³

A absorção da molécula na região do ultravioleta e posterior emissão na região do visível confere ao mecanismo ES IPT sua principal característica: um

grande deslocamento de Stokes. A perda de energia que a molécula tem entre sua excitação e sua emissão pode ser evidenciada através de seus espectros. O decaimento da molécula ocorre de maneira rápida, dos níveis vibracionais mais baixos de S_1 para níveis vibracionais mais altos de S_0 , perdendo energia de excitação em excesso através do processo de termalização das energias vibracionais acumuladas.⁵⁷ O mecanismo ESIPT, tipicamente, obedece às regras de Kasha.⁶¹

O que pode ser visto na literatura, são exemplos do mecanismo ESIPT com variações nos espectros de absorção conforme controle cinético, podendo ser acompanhado pela química computacional.⁶³ Da perspectiva da química computacional, também existem estudo que falam sobre a influência da variação do substituinte mediante expansão do orbital π no mecanismo ESIPT.⁶⁴ O mecanismo ESIPT pode sofrer variações nos seus espectros conforme o solvente escolhido, quando em solução. Dependendo do solvente pode haver uma maior estabilização na forma enol da molécula ou a estabilização pode ser deslocada para o tautômero ceto. Solventes apróticos costumam demonstrar mais estabilização do tautômero, o que favorece um maior deslocamento de Stokes.⁶⁵

Na utilização de moléculas com mecanismo ESIPT em materiais, são vistos usos na funcionalização de silicatos⁶⁶, funcionalização de polímeros para aplicação em sondas fluorescentes, como mostrado na figura 9,¹⁰ em sensores fluorescentes,⁶⁰ em materiais optoeletrônicos.⁶⁷ Em OLED, acabam sendo de grande utilidade, devido ao fato de que emitem na região do visível.⁶⁸

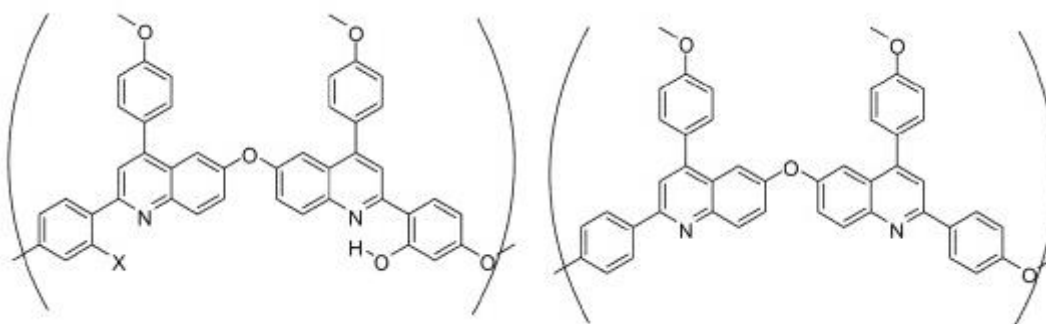


Figura 9. Exemplos de poliquinolinas com mecanismo ESIPT.⁵¹

Através do diagrama de Jablonski, mostrado na figura 10, tem-se a ideia de que o que diferenciam os processos de fluorescência e de fosforescência,

são os processos de conversões que acontecem quando a molécula sofre relaxação dos níveis vibracionais. Na fluorescência as moléculas sofrem os processos de conversão interna (*Internal Conversion - IC*), que como já visto, são permitidos pelas regras de Kasha, passando de um estado excitado S_1 até níveis vibracionais mais baixos do estado eletrônico fundamental S_0 . Nos processos de fosforescência, o que ocorre são os processos de cruzamento intersistemas (*Internal Charge Transfer - ICT*), onde acontecem a troca de multiplicidade e transições entre o estado eletrônico excitado S_1 para estado eletrônico excitado T_1 , decaindo desse para o estado eletrônico fundamental S_0 , não sendo processos permitidos pelas regras de Kasha.³

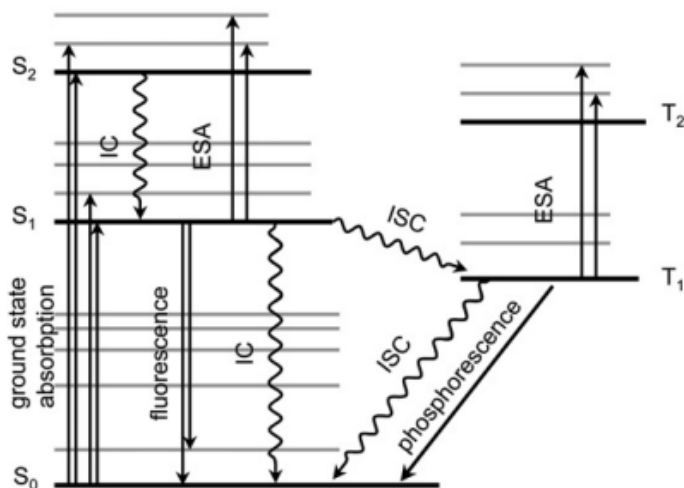


Figura 10. Exemplo de Diagrama de Jablonski.⁶⁹

Espectros de emissão são independentes dos espectros de excitação, devido as perdas de energia que podem ocorrer nos níveis vibracionais dos estados eletrônicos e transições eletrônicas intramoleculares, como mostrado no diagrama de Jablonski. O espectro de excitação e de emissão são, em sua maioria, uma imagem espelhada um do outro, porque teoricamente, a energia absorvida através de fótons tem de ser emitida de alguma forma.⁶⁹

A diferença entre o comprimento de onda máximo do espectro de absorção e do espectro de emissão, tem como resultado o deslocamento de Stokes. Tipicamente, moléculas fluorescentes costumam ter o deslocamento entre 30 e 80 nm, o que acontece nas moléculas com mecanismo ES IPT é que esse deslocamento pode chegar à valores próximos de 200 nm.¹² O deslocamento de

Stokes pode ser relacionado com o aumento de sensibilidade de detecção da fluorescência de um cromóforo, não necessariamente com a intensidade.⁷⁰ Cromóforos com valores maiores de deslocamento de Stokes acabam tendo sua fluorescência mais detectável do que com menores valores do deslocamento, o que acaba sendo mais desejável para aplicações biológicas, uma vez que evita erros na fluorescência causados pela auto extinção ou retroespalhamento.⁷¹

3.4. Reações One-Pot

Rotas sintéticas mais econômicas e limpas estão sendo opções mais viáveis e procuradas dentro da síntese orgânica, com o apelo aos princípios da química verde citados na Figura 11, procurando rotas em que ocorram menos desperdício de solventes e com menos geração de resíduos possíveis.⁷² Entre as rotas sintéticas escolhidas, estão as de metodologia *one-pot*. Isso devido a otimização dos processos de síntese, com menos uso de solventes, que irá ter como consequência uma geração menor de resíduos, além da redução de tempo gasto isolando produtos. As reações *one-pot* acontecem em um único meio, sem que seja necessário isolar produtos intermediários, podendo ocorrer de forma multicomponente ou multi-etapas.⁷³



Figura 11. Princípios da química verde onde o termo “green synthesis” vem de síntese verde. (Adaptado de Valavanidis, A.).⁷²

O termo *one-pot* costuma ser definido como uma estratégia para otimizar o processo reacional de uma reação química, sem que haja mudança no meio reacional, ou seja, no mesmo balão ou recipiente escolhido para a reação. Os

termos usados podem ser diferentes conforme autoria do trabalho citado, sendo exemplos como cascata, dominó e tandem, mas todos se referindo ao mesmo conceito.⁷⁴

Essas metodologias reacionais aplicadas aumentam consideravelmente a complexidade da molécula sintetizada, podendo ser realizados ao mesmo tempo vários níveis de síntese convergentes para a obtenção de um produto, sendo de grande interesse, principalmente, na indústria farmacêutica, pela complexidade das moléculas formadas com uma única metodologia com menor desperdício de solventes.⁷⁵

Em um contexto de reações *one-pot*, reações multicomponentes podem ser feitas com até mais de 4 componentes, utilizando o mesmo meio sem que haja há necessidade de intervenções entre as etapas reacionais utilizadas.⁷⁶

Dentro da síntese de materiais, as metodologias *one-pot* acabam sendo aliadas também por causa da dificuldade de solubilização de alguns compostos, como a hidroxiapatita, o meio reacional sendo único, facilita as reações complexas de acontecerem. Bases inorgânicas magnéticas contendo HA, são vistas sendo usadas até, como catalisadores em reações de síntese orgânica seguindo os princípios da química verde e das reações *one-pot*.⁷⁷ Outro exemplo dado pela literatura, é essa metodologia sendo usada na obtenção de polímeros, visando a aceleração do processo de síntese desses materiais. As inúmeras hidroxilas na superfície da HA auxiliam na ligação de materiais e moléculas na biocerâmica, o que facilita também as reações *one-pot* de ocorrerem.⁷⁸

4. Resultados e Discussão

A funcionalização da HA foi realizada segundo metodologias de modificação de superfície, que ocorrem com os grupos hidroxila presentes na superfície da biocerâmica. A abordagem escolhida para a obtenção de HA fluorescente foi o emprego de alcóxidos de silício que, ao sofrerem hidrólise, são capazes de condensar com as hidroxilas dos grupos ortofosfatos presentes na estrutura da hidroxiapatita.

Para a obtenção da HA fluorescente foram utilizadas duas rotas, sendo elas: a) funcionalização da HA a partir do corante silanizado, b) funcionalização da HA utilizando os agentes de silanização isocianato-propiltriétoxissilano (IP-TES) e o amino-propiltriétoxissilano (APTES), e dos corantes 2-(5'-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol (**HBO**) e o 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzoxazol (**HBOCN**), via *one-pot*. Independentemente da rota utilizada, o solvente utilizado para a imobilização química dos corantes na superfície da HA foi o acetato de etila em temperatura de refluxo por 24 e/ou 48 horas. As duas metodologias foram empregadas afim de serem feitas comparações entre as obtenções dos produtos, uma vez que mais de um tipo de interações entre a HA e grupos silanizados podem acontecer em um mesmo meio, como interações eletrostáticas e ligações covalentes.

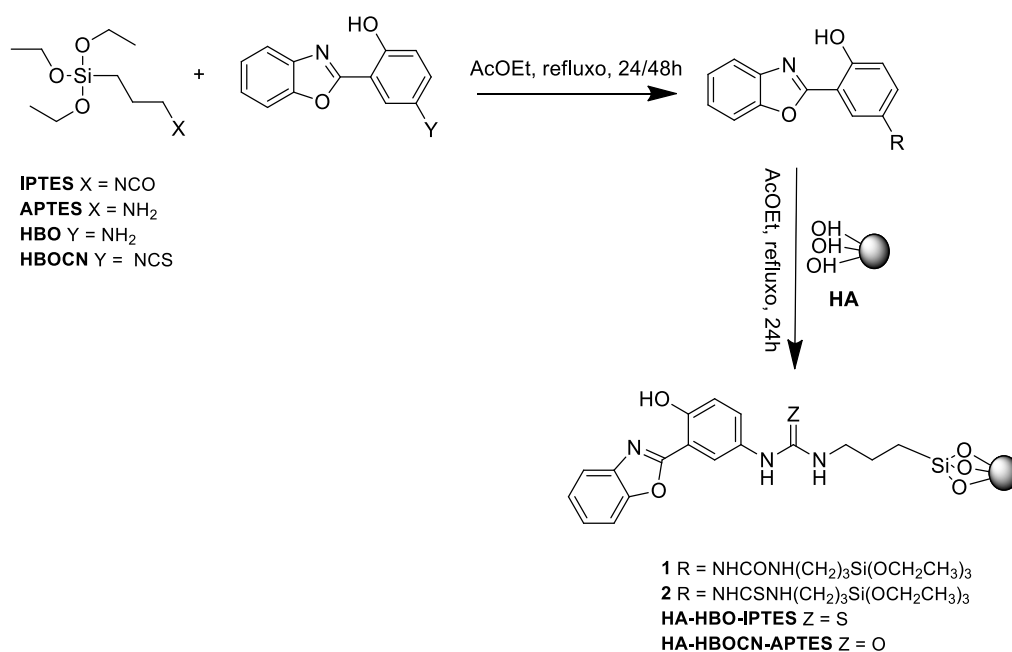
O primeiro corante silanizado utilizado foi o 2-[5'-N-(3-trietoxissilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (Esquema 1, **1**), o qual possui os grupos alcóxissilanos que se ligam covalentemente aos grupos hidroxila da HA na formação do material **HA-HBO-IPTES**. O segundo corante silanizado utilizado foi o 2-[5'-N-(3-trietoxissilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (Esquema 1, **2**), o qual possui também grupos alcóxissilanos que se ligam covalentemente aos grupos hidroxila da HA na formação do material **HA-HBOCN-APTES**.

Para a funcionalização da HA com corantes silanizados via *one-pot* (Esquema 2), foram empregados os **HBO** e o **HBOCN**. Para o corante fluorescente **HBO** foi utilizado o APTES, a fim de proporcionar a ligação covalente entre o grupo amino do corante e o grupo isocianato do agente silanizante. Já para o corante fluorescente o **HBOCN** o agente silanizante empregado foi o APTES, de

maneira que o grupo isotiocianato reage quimicamente com o grupo amino do APTES.

4.1. Funcionalização da HA com corante silanizados

Primeiramente foram sintetizados os corantes 2-[5'-N-(3-trietoxisilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (**1**) e 2-[5'-N-(3-trietoxisilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (**2**). Para a síntese do corante **1** foi utilizada a reação entre o **HBO** e o IPTES e para a síntese do corante **2**, o **HBOCN** reage com o APTES. Posteriormente, os corantes silanizados reagiram com a HA para a formação da HA fluorescente (Esquema 1). Os materiais foram lavados com solventes orgânicos a fim de remover os corantes que não se ligaram quimicamente na HA.

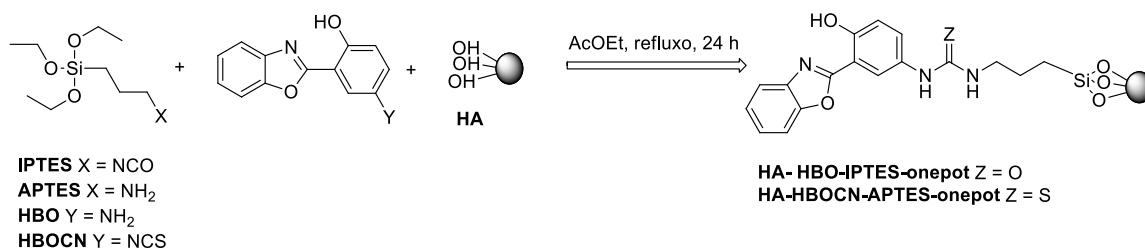


Esquema 1. Obtenção da HA fluorescente a partir de corantes silanizados.

4.2. Funcionalização da HA com corantes silanizados *one-pot*

A metodologia de obtenção da HA utilizando agentes silanizantes foi feita em uma única etapa (*one-pot*) onde os reagentes foram colocados para reagir na presença da HA (Esquema 2). Durante o refluxo em acetato de etila, ocorre a reação entre o grupo X (X= NH₂ - APTES, X= NCO - IPTES) do agente silanizante com o grupo Y (Y= NH₂ - HBO, Y= NCS - HBOCN) do corante através de

uma reação de adição nucleofílica. Ao mesmo tempo que ocorre a formação dos corantes silanizados, os grupos alcoxissilanos dos reagentes APTES e IPTES reagem com os grupos hidroxila da HA formando ligações covalentes entre os corantes fluorescentes e a HA. Os materiais foram lavados com solventes orgânicos a fim de remover os corantes que não se ligaram quimicamente na HA.



Esquema 2. Funcionalização da HA empregando metodologia *one-pot*.

Como citado nas referências, os grupos silanizados podem fazer interações eletrostáticas com a hidroxiapatita, o que acabaria prejudicando na efetividade das ligações covalentes das hidroxilas, que tendem a ficar na superfície do material.³² Acredita-se que com os processos de lavagem e centrifugação em que os produtos das reações são submetidos, as interações eletrostáticas sejam parcialmente eliminadas e com isso, restem uma porção maior de ligações covalentes nos produtos finais.

4.3. Caracterização dos materiais por Espectroscopia no Infravermelho

Para o espectro de infravermelho da HA, apresentado na figura 12, foi possível observar bandas do estiramento de O-H em 3520 cm⁻¹, entre 1641-1600 cm⁻¹ as vibrações do estiramento antissimétricos de CO₃⁻², os estiramentos antissimétricos dos íons PO₄⁻³ encontram-se em 1082 cm⁻¹ e 831 cm⁻¹.

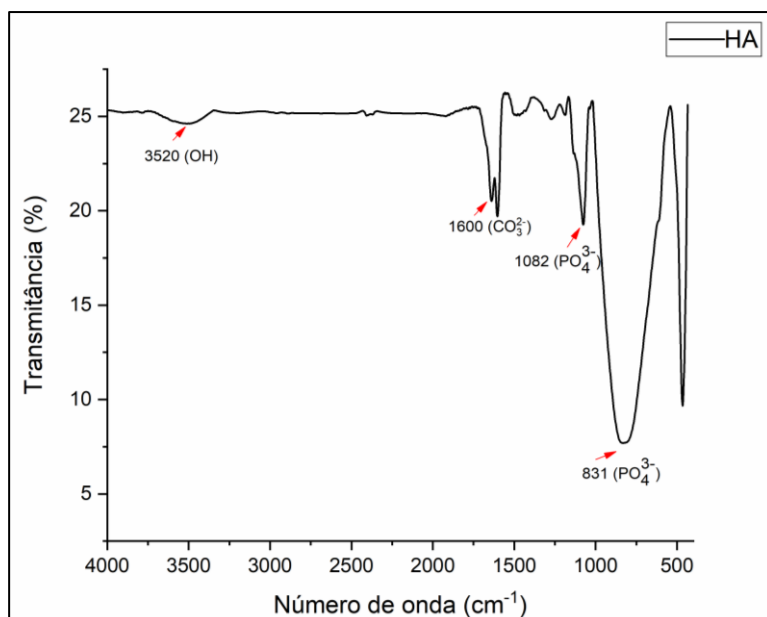


Figura 12. Espectro na região do Infravermelho da HA (em pastilha KBr).

No corante **1**, apresentado na figura 13, foi possível notar a presença de bandas de estiramento do NH do grupamento uréia -NHCONH- que se sobrepõem à hidroxila fenólica em 3360 cm⁻¹. Ligações de C-H alifáticos foram observadas pelos estiramentos entre 2968-2912 cm⁻¹. Entre 1669 cm⁻¹ foram encontradas bandas referentes as ligações C=O da carbonila, e em 1586 cm⁻¹ as bandas de estiramento referentes a C=C aromático.

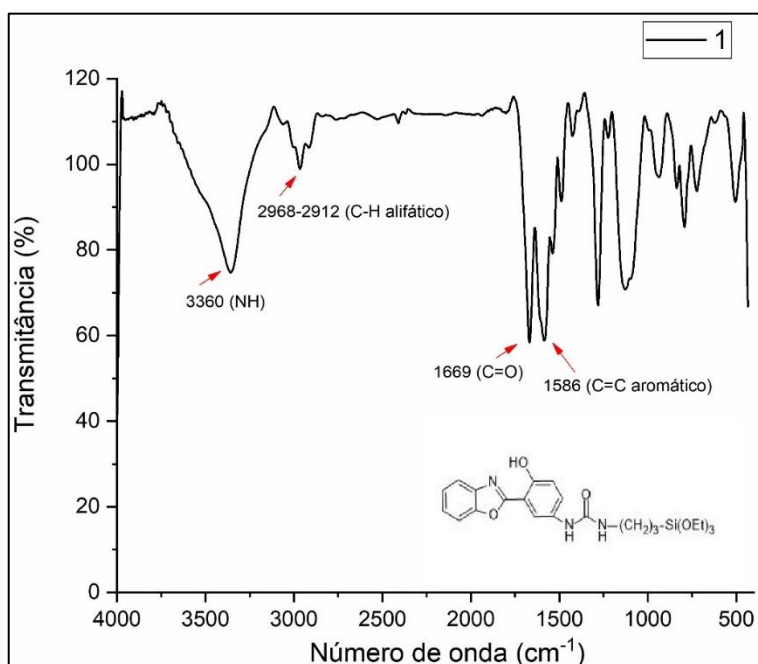


Figura 13. Espectro de absorção do corante 1 (em pastilha de KBr).

No espectro de infravermelho do material HA-HBO-IPTES-onepot, mostrado na figura 14, feito através da metodologia *one-pot*, foi possível observar a presença de uma banda larga em 3485 cm^{-1} referente ao grupo O-H da HA, estiramento em 2968 cm^{-1} referente aos C-H alifáticos do corante benzoxazol e bandas em 1082 cm^{-1} , referentes ao PO_4^{3-} da HA.

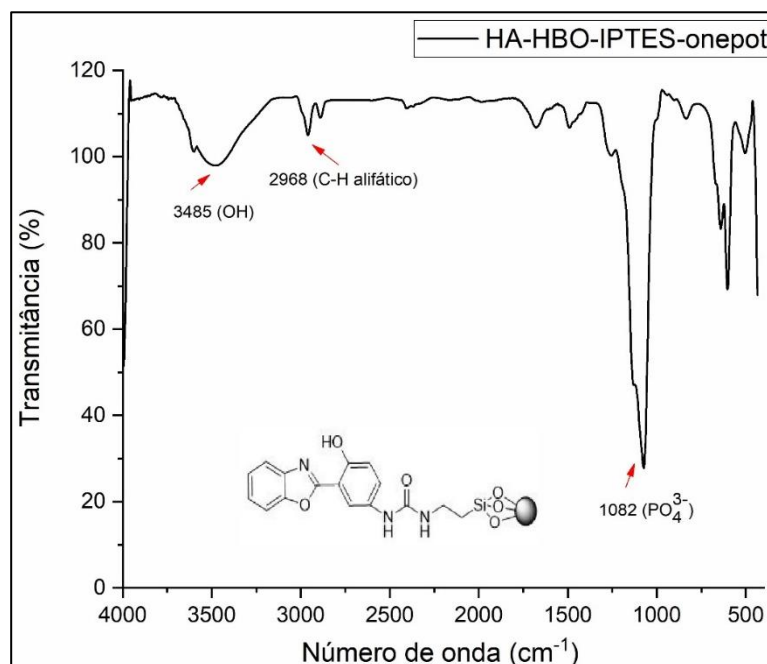


Figura 14. Espectro de infravermelho do HA-HBO-IPTES-onepot (em pastilha KBr).

No espectro do material HA-HBO-IPTES, mostrado na figura 15, feito através do corante silanizado 1 com a HA, foram observados sinais dos estiramentos do O-H em 3477 cm^{-1} , pertencentes a HA. Entre $3010\text{-}2968\text{ cm}^{-1}$ encontram-se as bandas dos estiramentos de C-H alifáticos. Em 1669 cm^{-1} foram vistas bandas referentes ao C=O do corante e em 1068 cm^{-1} , continuou sendo visível a banda de estiramento do PO_4^{3-} da HA.

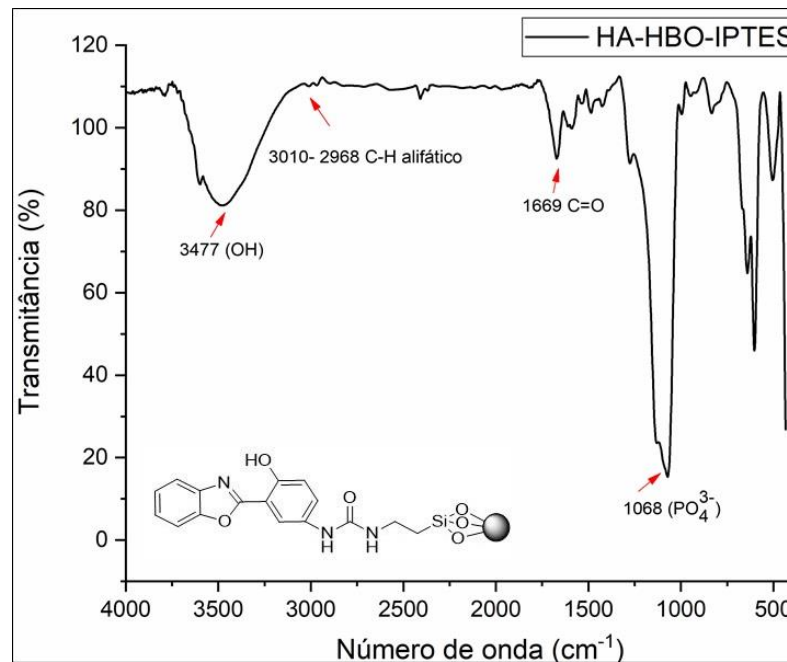


Figura 15. Espectro de infravermelho do HA-HBO-IPTES (em pastilha de KBr).

Ao serem comparados, os espectros no IV dos materiais HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES e HA com o corante 1, na figura 16, foi possível evidenciar que as bandas características do corante são vistas nos materiais HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES, demonstrando indícios da funcionalização da HA. As baixas intensidades nas bandas de absorção do corante nos materiais têm como principal motivo, a menor proporção dos mesmos quando comparado com a matriz inorgânica. No material da reação one-pot, evidenciou-se de forma mais elucidada as bandas alifáticas do corante benzoxazol, comparado ao material obtido a partir da molécula 1.

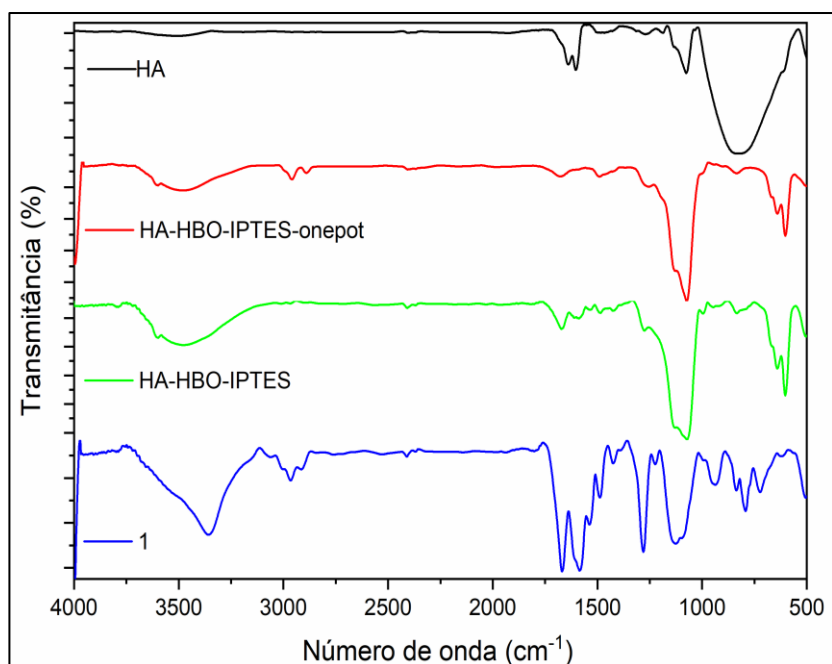


Figura 16. Espectro de infravermelho da HA e dos produtos HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES e da molécula 1 (em pastilha de KBr).

O espectro do corante HBOCN, apresentado na figura 17, mostrou estiramento da ligação O-H entre 3600-3400 cm^{-1} , estiramento forte e intenso do grupo isotiocianato $\text{N}=\text{C}=\text{S}$ entre 2174-2160 cm^{-1} e estiramento do grupamento -NCO entre 1522-1480 cm^{-1} .

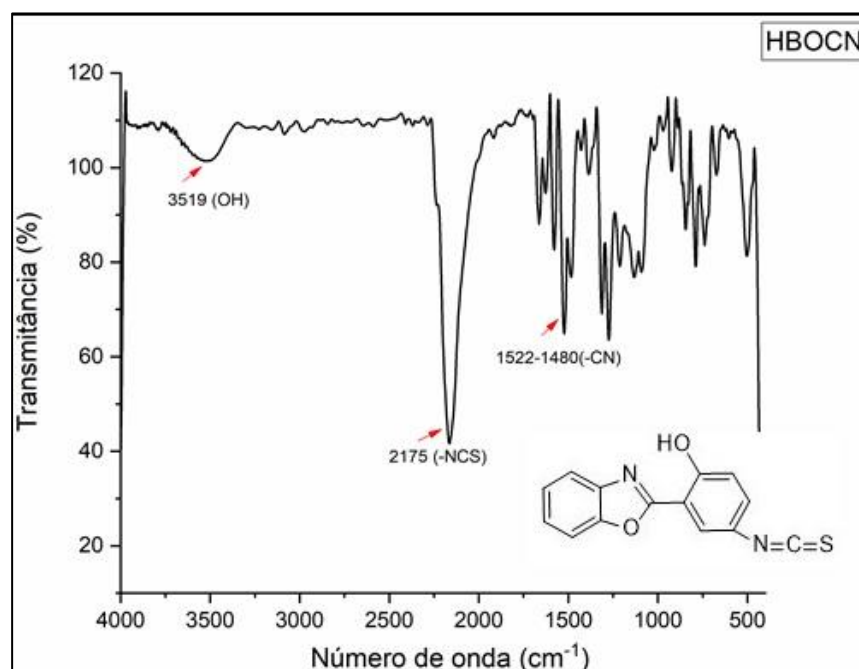


Figura 17. Espectro de infravermelho do HBOCN (em pastilha de KBr).

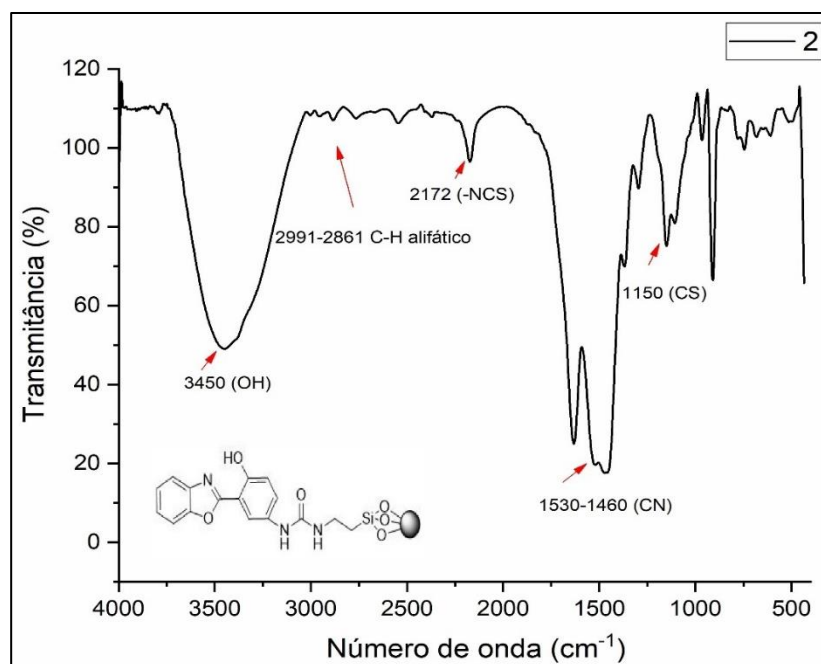


Figura 18. Espectro de infravermelho do corante 2 (em pastilha de KBr).

Ao passar pela etapa reacional com o APTES para a formação da molécula 2, o composto deveria apresentar um grupamento tiouréia em sua composição. Mas o que pôde ser visto, foram estiramentos intensos e fortes nas frequências entre 1530-1460 cm^{-1} , referente a ligação -CN pertencente ao grupo -OCN (Figura 18 e 19), o que indica que a reação não ocorreu.

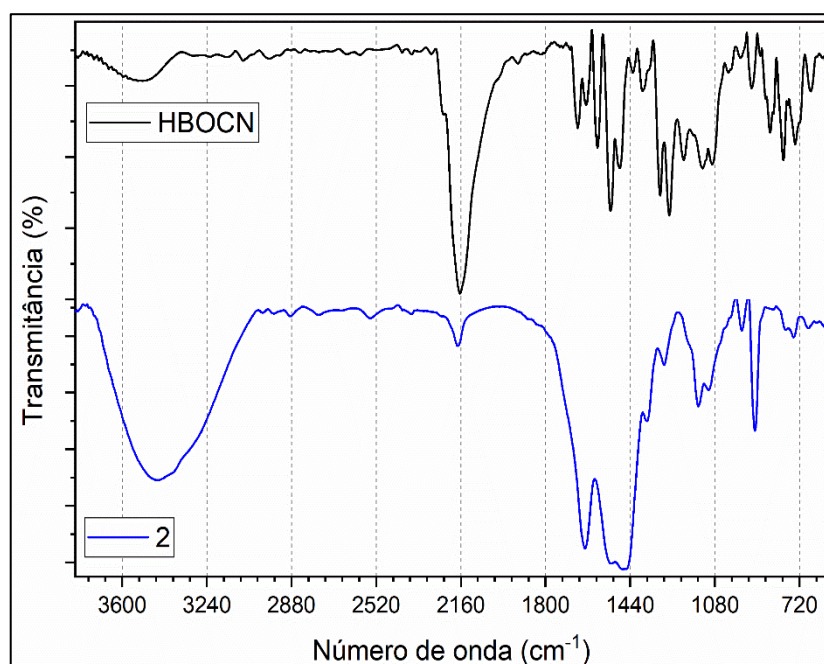


Figura 19. Espectro de infravermelho do HBCN e da molécula 2 (em pastilha de KBr).

O esperado era de que o corante usado na funcionalização com alcóxissilanos, perdesse o estiramento do -NCS, e o que pôde ser visto, foi um estiramento enfraquecido na frequência de 2172 cm^{-1} , mostrando que o produto possui traços do reagente remanescentes, ou que não se converteu. A banda do estiramento da ligação do -C-H alifático, foi vista na frequência entre $2991\text{-}2861\text{ cm}^{-1}$.

No espectro do material HA-HBOCN-APTES-onepot, mostrado na figura 20, feito através da metodologia *one-pot*, foram observadas bandas de estiramentos antissimétricos do CO_3^{2-} entre $1683\text{-}1592\text{ cm}^{-1}$, as bandas referentes ao C-H alifático, aparecem entre $2982\text{-}2912\text{ cm}^{-1}$. Entre $3603\text{-}3401\text{ cm}^{-1}$ encontram-se os estiramentos do O-H e em 1076 cm^{-1} os estiramentos pertencentes ao PO_4^{3-} da hidroxiapatita.

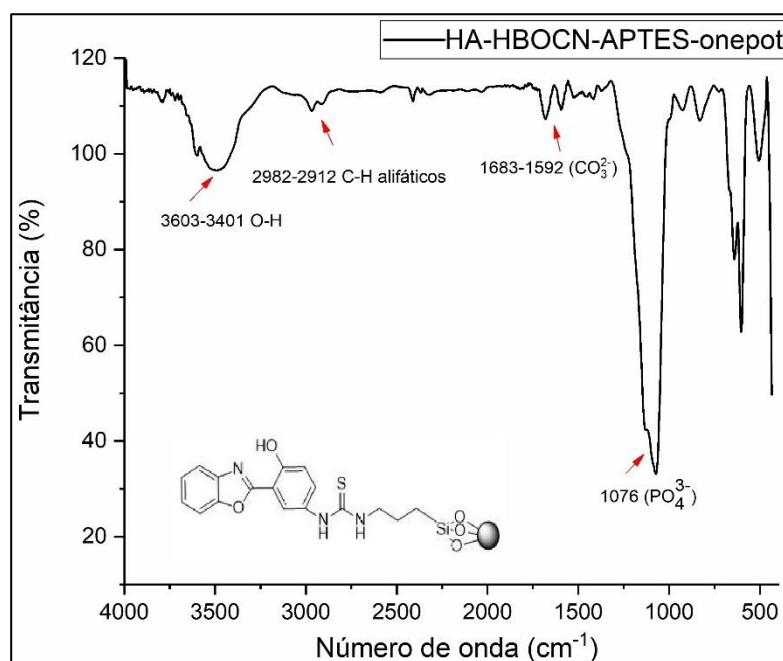


Figura 20. Espectro de infravermelho do HA-HBOCN-APTES-onepot (em pastilha de KBr).

No material HA-HBOCN-APTES (Figura 21) foram vistas bandas em frequências próprias da hidroxiapatita como entre $1641\text{-}1586\text{ cm}^{-1}$ referentes ao estiramento CO_3^{2-} e nas frequências de 1076 cm^{-1} e 825 cm^{-1} , referentes aos estiramentos do PO_4^{3-} .

Ao compararmos o corante 2 com o material HA-HBOCN-APTES (Figura 22) que é a hidroxiapatita funcionalizada com o corante silanizado, percebemos

que as bandas do C-H alifático continuam localizadas em uma região próximo a 2961-2884 cm^{-1} , o que aparecia no corante funcionalizado e o O-H entre 3652-3400 cm^{-1} , podendo ser referentes a hidroxila fenólica ou a hidroxapatita.

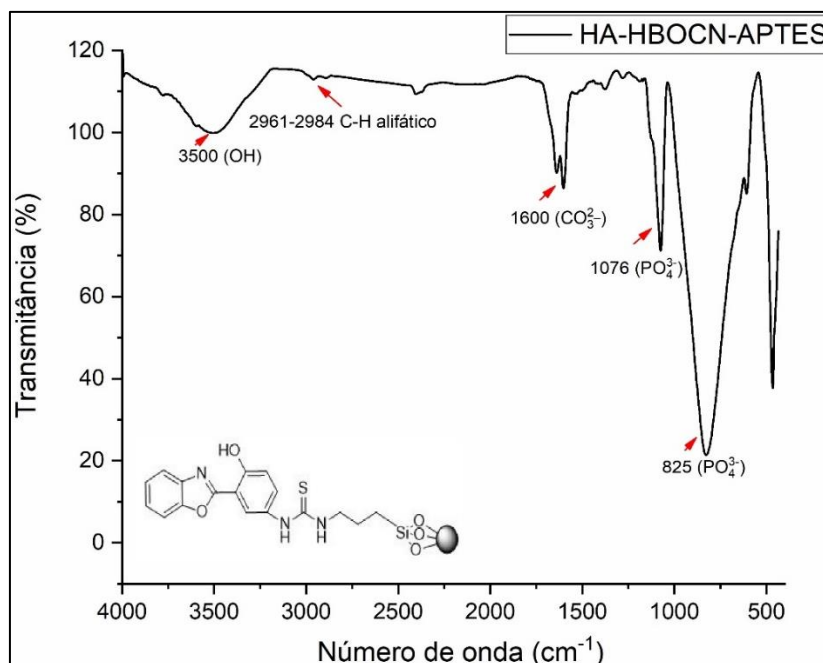


Figura 21. Espectro de infravermelho do HA-HBOCN-APTRES (em pastilha de KBr).

Na figura 22, foi possível fazer as comparações dos espectros de infravermelho obtidos da HA, do corante 2 e dos materiais HA-HBOCN-APTRES-one-pot e HA-HBOCN-APTRES. No material obtido pela metodologia *one-pot* os estimamentos pertencentes aos corantes ficaram mais evidentes do que na metodologia por etapas, exemplo são as bandas dos C-H alifáticos, indicando que a reação por metodologia *one-pot* ocorreu, enquanto que a por metodologia em etapas não.

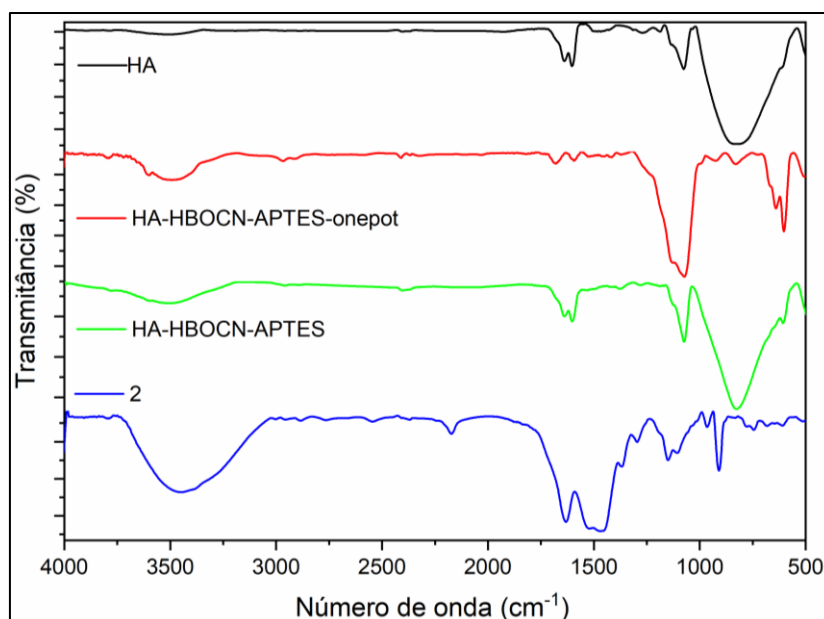


Figura 22. Espectro de infravermelho da HA com os produtos HA-HBOCN-APTES-onepot, HA-HBOCN-APTES e o corante 2 (em pastilhas de KBr).

A Tabela 1 mostra os principais estiramentos e deformações da HA e da HA funcionalizada com os corantes fluorescentes. Foi possível notar que, comparando as bandas de vibração no IV da HA com as HAs funcionalizadas com os corantes, que ao menos uma banda característica do corante foi visível no espectro na região do infravermelho.

Tabela 1: Referente aos estiramentos mostrados pela HA e os produtos derivados dela e dos corantes silanizados.

Modos vibracionais (cm ⁻¹)	HA	HA-HBO- IPTES- onepot	HA-HBO- IPTES	HA- HBOCN- APTES- onepot	HA- HBOCN- APTES
Deformação axial simétrica νPO_4	831	n.o.	n.o.	n.o.	825
Deformação axial assimétrica νPO_4	1082	1082	1068	1076	1076
Deformação axial assimétrica νOH	3520	3485	3477	3603-3401	3652-3400
Deformação assimétrica νCO_3	1641-1600	n.o.	n.o.	1693-1592	1641-1586
Estiramento $\nu\text{C-H}$ alifático	n.o.	2968	3010-2968	2982-2912	2961-2884
Estiramento $\nu\text{C=O}$	n.o.	n.o.	1669	n.o.	n.o.

n.o.= não observado

Os espectros na região do Infravermelho mostraram indícios quanto a funcionalização das HA com os corantes ESIPT, nos produtos HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES e HA-HBOCN-APTES. Todavia, com bandas mais fracas relacionadas ao corante em relação as bandas da HA, possivelmente pelo motivo de que as reações ocorreram com uma maior quantidade de hidroxiapatita do que dos corantes ESIPT, o que pôde ter deixado o material inorgânico com uma concentração maior em relação ao corante.

4.4. Caracterização dos materiais por Microscopia Eletrônica de Varredura

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi usada para a investigação da microestrutura da HA e dos materiais funcionalizados com os corantes ESIPT. A hidroxiapatita se distribui em aglomerados formados por estruturas cilíndricas com os poros sendo visíveis entre esses aglomerados.⁷⁹ A figura 23 mostra as fotomicrografias obtidas a partir do MEV, sendo que as escolhidas para visualização foram as preparadas por suspensão em etanol com aproximação 100.000x, de forma a visualizar a morfologia dos materiais

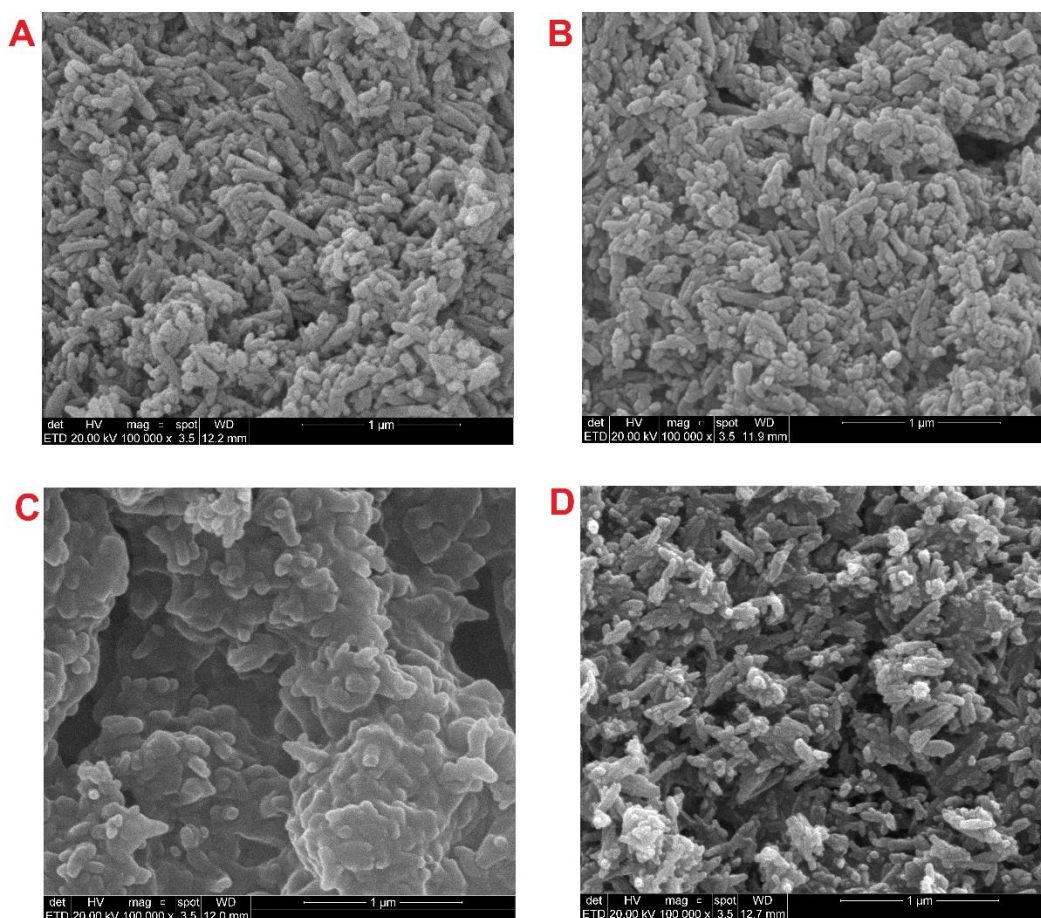


Figura 23. Fotomicrografia eletrônica de varredura das HA (A), HA-HBO-IPTES-onepot (B), HA-HBO-IPTES (C) e HA-HBO-APTES (D).

O que foi possível ser visualizado através das imagens de MEV, é que os materiais fluorescentes obtidos permaneceram com a forma cilíndrica da hidroxiapatita com os aglomerados formados e a porosidade aparente dos materiais HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBOCN-APTES. O único produto que diferiu um pouco dos demais, foi o HA-HBO-IPTES, mostrado no item C figura 23, o que pode ser algo relacionado ao preparo da amostra. Outras imagens de MEV podem ser encontradas no apêndice 7.1.

As análises de espectroscopia de raio-X por dispersão de energia (*Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy – EDS*) foram usadas de forma qualitativa a fim de se obter evidências sobre a composição dos materiais. Os espectros obtidos para o material de HA apresentaram os átomos de O, Si, P e Ca, no material HA-HBO-IPTES-onepot os átomos presentes foram O, Si, P e Ca, no HA-HBO-IPTES os átomos presentes foram C, O, Si, P, Ca e no HA-HBOCN-APTES os átomos presentes foram os de C, O, Si, P, Ca. Os átomos de carbonos presentes nos espectros de dois dos materiais que possuem fase orgânica podem ser indicativos dos corantes orgânico 1 e 2 ligados nas estruturas.

4.5. Caracterização dos materiais por Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram feitas com o objetivo de observar mudanças nos perfis de degradação da hidroxiapatita após a funcionalização com os corantes ESIPT, e verificar a estabilidade que a biocerâmica apresenta.

No termograma da HA, mostrado na figura 24, pôde ser observado perda de massa inicial de 0,9438 % entre 22°C e 66°C, correspondente às impurezas na amostra. A hidroxiapatita é um material altamente higroscópico¹⁴ e por isso moléculas de água ficam adsorvidas em sua superfície, entre 66°C até cerca de 176°C ocorreu a perda das moléculas de água fisicamente adsorvidas na superfície da biocerâmica, com a perda em massa de 1,878 %. No segundo estágio, de 176°C à 382°C a massa perdida está associada a perda da molécula de água reticular, que ocorre pela condensação dos grupos hidroxilas presentes no bio-

material, com perda em massa de 2,182 %. O processo de descarboxilação ocorreu entre 424°C à 574°C com perda de 0,3787 % em massa. Em 574°C até cerca de 621°C ocorreu uma perda de 0,02917 % de massa, podendo ser atribuído ao processo de desidroxilação e começo da decomposição da HA com perda dos carbonatos, que também podem estar se decompondo no material, observado entre as temperaturas de 636°C à 797°C com perda de 0,2694 % em massa. O processo de decomposição da hidroxiapatita ocorre em temperaturas acima de 1000°C, através do resíduo da hidroxiapatita de 93,91 %, foi possível notar que as perdas de massas que ocorreram até a temperatura de 900°C, foram relacionados, em sua maioria, a processos de decomposições de matérias ligadas de maneiras físicas à biocerâmica, e de perdas de contaminantes.

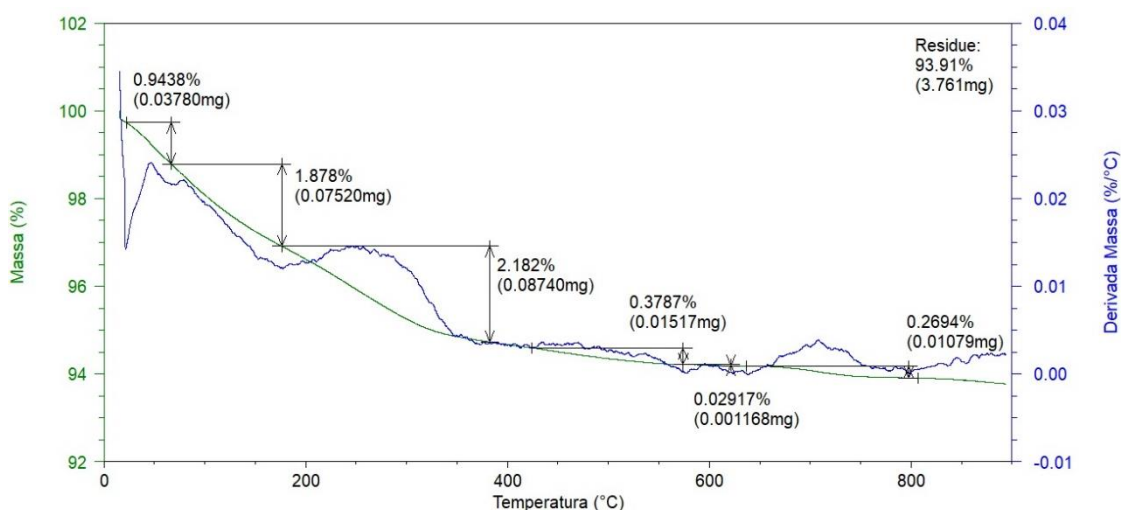


Figura 24. Termograma da HA.

No primeiro produto da hidroxiapatita funcionalizada HA-HBO-IPTES-onepot, apresentado na figura 25, foi possível ver o primeiro ponto de perda de 2,465 % de massa entre 16°C à 158°C, correspondente a água adsorvida na superfície do material. Entre 194°C e 345°C aconteceu outra perda de 1,789 % em massa, referente ao cromóforo benzoxazol, que se estendeu em outro pico entre 345°C à 506°C, com perda de massa em 3,439 %, referente a parte sililiada do corante. Nas temperaturas de 506°C à 618°C ocorreu o processo desidroxilação da HA, dando início a decomposição da hidroxiapatita com perda do carbonato, que se estendeu com um pico baixo entre 618°C à 794°C, com perdas de 3,081 % e 1,0929 % em massa, respectivamente. O resíduo do

produto foi de 87,76 %, que quando comparado ao resíduo do termograma da hidroxiapatita, mostra que foram perdidos 6,15 % a mais de produto por decomposição, indicando a ligação entre a HA e o corante ESIPT.

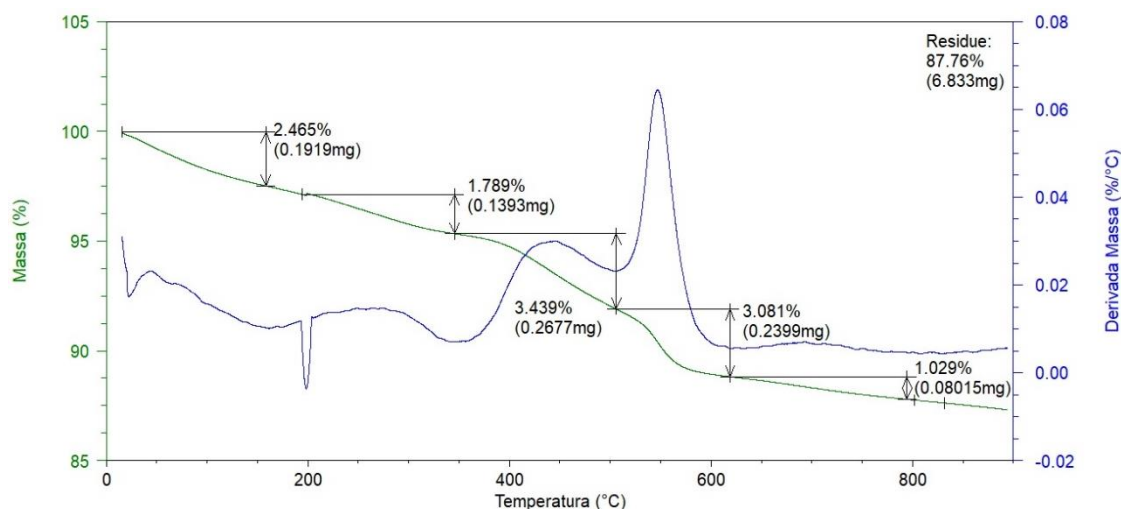


Figura 25. Termograma do material HA-HBO-IPTES-onepot.

No termograma do produto HA-HBO-IPTES, mostrado na figura 26, formado a partir do produto da reação 1, a primeira perda de massa vista em 21°C até próximo a 69°C, atribuída às impurezas contidas na amostra com 2,946 % de perda de massa. A próxima perda de 3,878 % em massa pode ser atribuída à água adsorvida na superfície do material, que começa em 69 °C e termina em 171 °C. Entre 171°C e 291°C acontece uma perda de 2,732 % em massa, referente a decomposição do produto 1. Em 291°C à 337°C ocorreu perda de massa no valor de 0,8046 %, com o pico começando sobreposto ao da decomposição do corante, sendo indicativo da perda da água reticular.

A decomposição final do produto teve início em 337°C à 522°C, com perda de 7,508 % em massa. O último pico visto no termograma começou em 522°C e terminou em 675°C, referente ao processo de descarboxilação e decomposição da hidroxiapatita, com perda de 2,785 % em massa. Acima de 800°C foi observado um novo processo de perda de massa, indicativo de que a hidroxiapatita está se decompondo com a formação dos fosfatos. Quando comparado os resíduos da HA e desse produto, têm-se uma diferença de 15,6 % em massa, indicando a ligação do corante ESIPT e da biocerâmica.

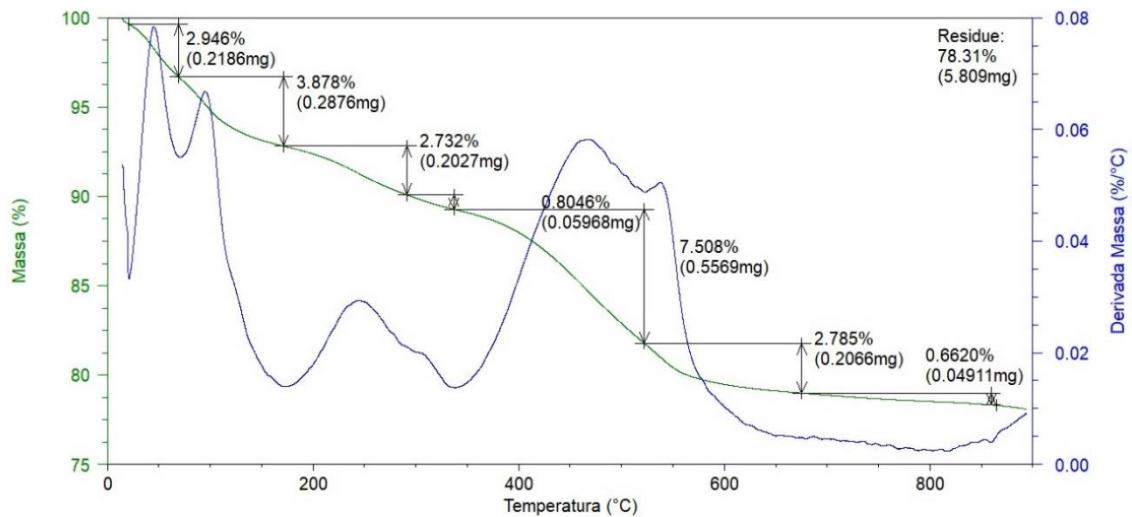


Figura 26. Termograma do material HA-HBO-IPTES.

No termograma do produto HA-HBOCN-APTES-onepot (Figura 27), formado de maneira *one-pot*, a primeira perda de massa foi atribuída em 18°C à 57°C, relacionado às impurezas que podem conter na amostra, com 1,447 % de perda. Na segunda perda de massa em 57°C à 148°C teve-se a perda da água adsorvida na superfície do material, com valor de 3,014 %. Entre 148°C e 276°C teve início a decomposição do corante ESIPT, perdendo inicialmente 2,685 % em massa do cromóforo da molécula. A perda de massa referente ao restante silanizado do corante ligado a hidroxiapatita ocorreu entre 276°C à 342°C, com perda de massa de 1,164 %. O próximo estágio de perda de massa ocorreu entre 346°C e 472°C, com perda de 4,087 % em massa, sendo atribuído a água reticular da HA. Posteriormente, entre 472°C à 529°C, observou-se a perda de 2,69 % em massa, referente ao processo de descarboxilação da hidroxiapatita. Em 530°C à 652°C existem perdas que podem ser atribuídos ao processo de desidroxilação do material, com perda em massa de 2,792 %.

Até a temperatura de 792°C não ocorreu perda de massa perceptível no material obtido, a partir dessa temperatura até 822°C aconteceu a perda de 0,1410 % em massa sendo a decomposição com formação dos grupos fosfatos da HA, tendo continuação em temperaturas acima das citadas também. Através do resíduo dessa análise, foi possível perceber uma diferença de 12,83%, quando comparado ao resíduo da HA, indicando que há ligação entre o biomaterial e o corante ESIPT.

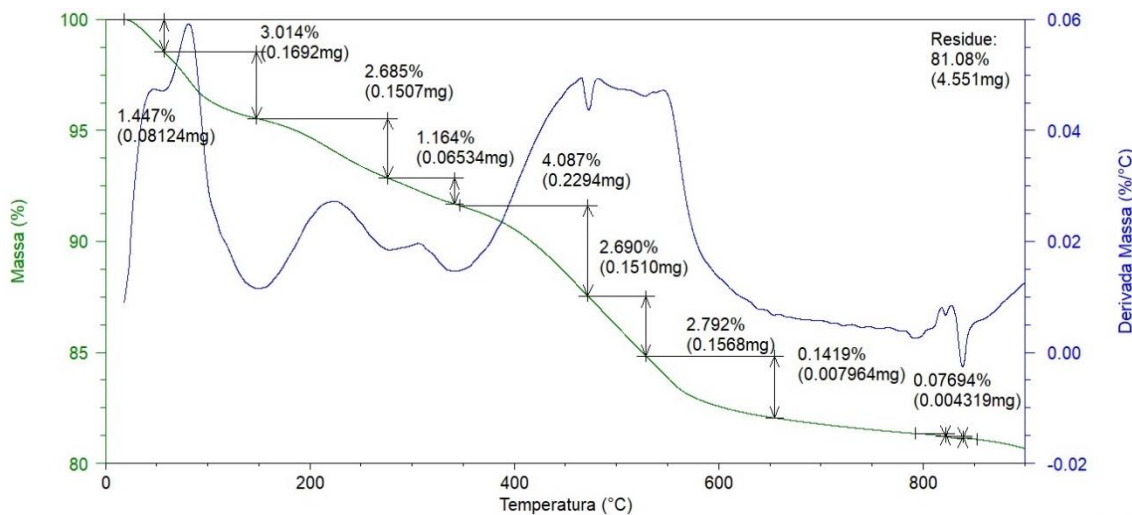


Figura 27. Termograma do material HA-HBOCN-APTES-onepot.

No produto HA-HBOCN-APTES, mostrado na figura 28, formado a partir do produto 2, a primeira perda de massa teve início em 24°C e término em 136°C, com perda de 2,161 % em massa, atribuído a água adsorvida na superfície do material sintetizado. Entre 179°C à 368°C teve início a decomposição do corante ESIPT, perdendo inicialmente 8,564 % em massa do cromóforo do corante. O próximo estágio com 3,837 % de perda em massa, entre as temperaturas de 368°C à 583°C, pôde ser atribuído ao término da decomposição do corante com perda do grupo silanizado. Nas temperaturas entre 583°C e 747°C, ocorreram perdas de 1,376 % em massa, referentes ao começo do processo de decomposição da hidroxiapatita com a descarboxilação do material.

O perfil da DTG do material indica que o corante está presente na amostra, mas não ligado quimicamente a HA. Apesar de existir uma diferença de 11,06 % nos resíduos do produto e da HA, pelo perfil de decomposição apresentado no termograma, juntamente com os dados obtidos nos espectro de infravermelho, há indicativos de que a reação não ocorreu da forma esperada, não ocorrendo formação do produto HA-HBOCN-APTES.

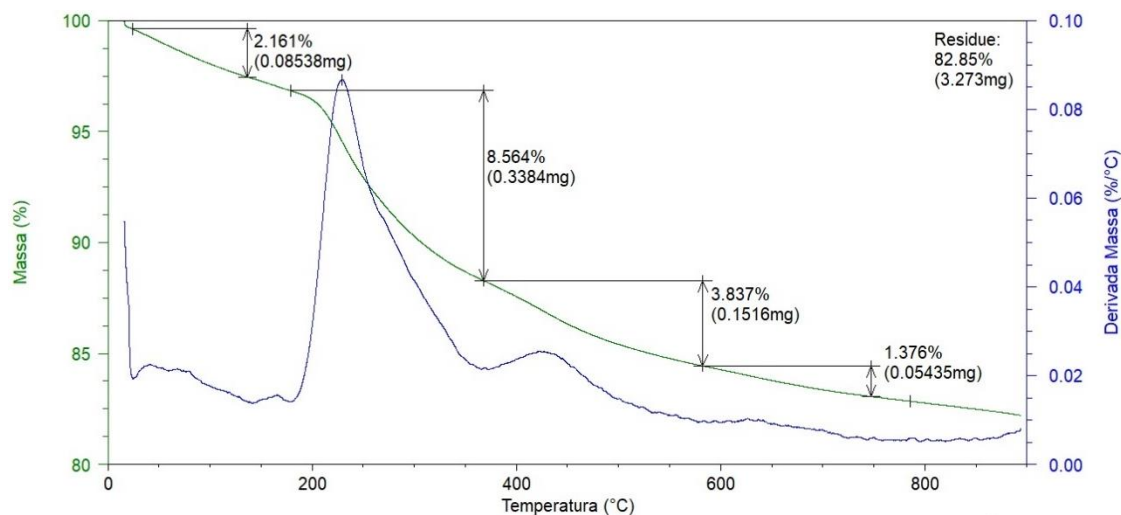


Figura 28. Termograma do material HA-HBOCN-APTES.

Através dos termogramas foi possível evidenciar as indícios das ligações intermoleculares feitas entre a hidroxiapatita e o corante ESIPT, uma vez que ao sobrepor os resultados dos materiais (Figura 29) os perfis dos TGA da hidroxiapatita e dos materiais obtidas entre ela e os corantes, são diferentes. Com a ajuda das derivadas das curvas termogravimétricas (DTG), foram possíveis as visualizações de como aconteceram essas perdas de massas e associar com as decomposições dos corantes ESIPT e as decomposições da hidroxiapatita.

A temperatura de decomposição completa da hidroxiapatita é acima de 1000 °C, pelos resíduos dos materiais é possível evidenciar que até 900 °C que foi o limite estabelecido no equipamento, essa decomposição não estava completa, sendo o resíduo da HA de 93,91 %, dos materiais HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES, HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES de 87,76 %, 78,31 %, 81,08 % e 82,82 %, respectivamente.

Pela diferença da porcentagem de perda de massa dos resíduos, diminuindo o valor de perda correlacionado com o termograma da HA, a metodologia por etapas se mostrou mais eficaz quando comparado a *one-pot*, mostrando 15,6 % contra 6,15 % da diferença de perda, no que diz respeito aos produtos formados HA-HBO-IPTES-one pot e HA-HBO-IPTES.

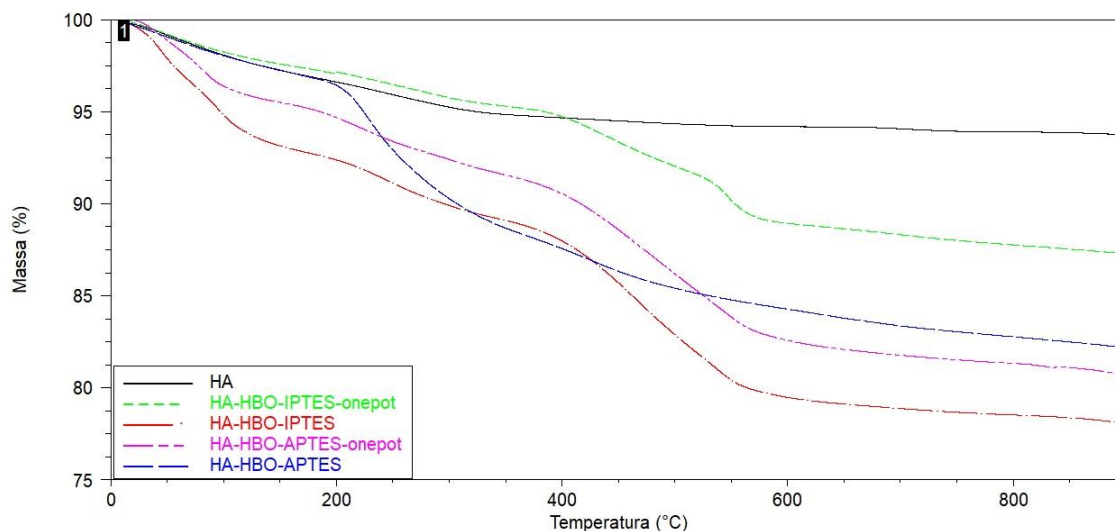


Figura 29. Termograma da HA e dos materiais obtidos.

Quanto a diferença entre as metodologias de obtenção das HA funcionalizadas, em termos de porcentagem de perda de massa dos materiais através da diferença dos resíduos dos produtos e da HA pura, tem-se o produto HA-HBO-IPTES-onepot com uma maior diferença dessa porcentagem, quando comparado ao produto HA-HBO-IPTES, sendo indicativo de que uma maior quantidade do corante ESIPT se ligou a HA na metodologia *one-pot*. Os produtos HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES, não puderam ter uma comparação entre metodologias, em razão da reação que não ocorreu na metodologia em etapas.

4.6. Caracterização dos materiais por Espectroscopia de Reflectância Difusa no UV-Vis

As análises de espectrofotometria de UV-Vis tiveram como finalidade os estudos fotofísicos dos materiais sintetizados e a verificação de alterações que o material inorgânico causou nos espectros de absorção e nos espectros de transmissão, dados analisados através da porcentagem de reflectância, dos corantes ESIPT, e também para evidenciar as ligações formadas entre a hidroxiapatita e os benzoxazóis, pois a biocerâmica sozinha não apresenta absorção de radiação UV-Vis.

A Figura 30 mostra os espectros de absorção no estado sólido dos corantes HBO, 1 e dos materiais obtidos, onde podemos observar a presença de duas

bandas. As principais transições entre os orbitais HOMO e LUMO no mecanismo ESIPT são atribuídas a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, observadas experimentalmente a partir dos espectros de absorção no ultravioleta-visível entre 350 e 450 nm. Nos corantes HBO e 1, e nos materiais obtidos através dele, foram possíveis observações de bandas de absorção em comprimentos de onda próximos a 356 nm, atribuídos à absorção da molécula na configuração enol, e outras bandas com menores intensidades em comprimentos de onda próximos de 250 nm, sendo esta atribuída ao cromóforo azóico.⁸⁰

Ao serem comparados, os espectros de absorção do corante 1 com os materiais HA-HBO-IPTES-onepot e o HA-HBO-IPTES, derivados desse corante com a HA, pôde ser observado, que o material inorgânico provocou um efeito hipsocrômico nos espectros, deslocando para menor comprimento de onda o máximo de absorbância. Esse efeito hipsocrômico pode acontecer por conta de um aumento na energia de transição entre orbitais HOMO e LUMO por influência da silanização, que pelo fato de serem grupos retiradores de elétrons, podem puxar a densidade eletrônica para essa porção da molécula. Comparando o corante 1 e o corante HBO, o mesmo efeito hipsocrômico nos espectros de absorção obtidos foram observados.

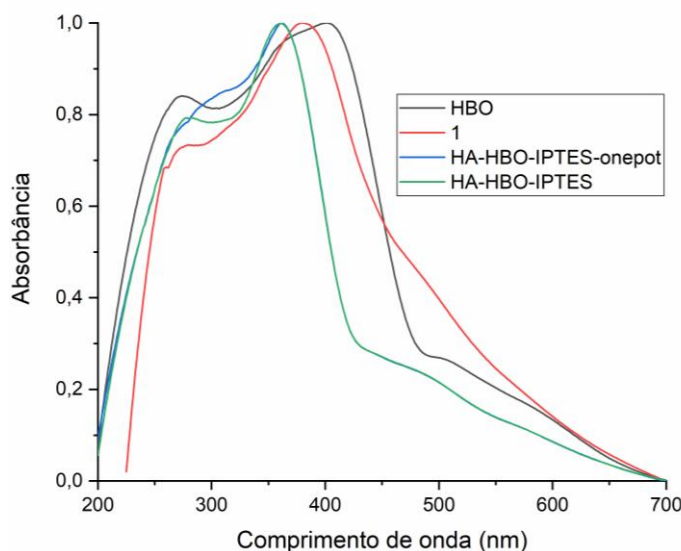


Figura 30. Espectros de reflectância difusa UV-Vis normalizados do corante HBO, corante 1, HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.

Nos espectros de absorção referentes ao corante 2 e aos seus materiais derivados, HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES (Figura 31), foram

observadas bandas entre 269 nm e 277 nm na molécula 2 e no material HA-HBOCN-APTES, sendo indicativo da absorção dos anéis azólicos dos produtos, que embora o produto não tenha se formado da forma esperada, ainda mostra absorção referentes ao corante ESIPT. Essa mesma banda de absorção não pôde ser observada no material HA-HBOCN-APTES-onepot, formando apenas um pico grande e alargado próximo a 345 nm. Na molécula 2 e no material HA-HBOCN-APTES o comprimento máximo de absorção relacionado à forma enol de ambos foi observada em 373 nm e 357 nm, respectivamente.

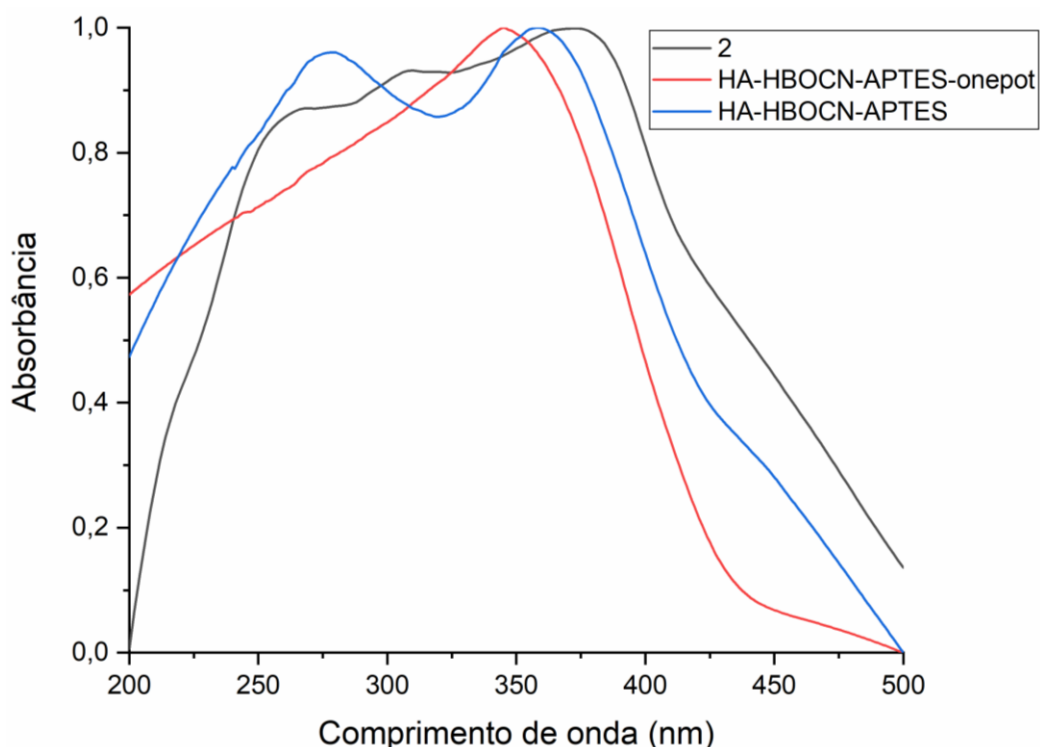


Figura 31. Espectros de reflectância difusa UV-Vis normalizados do corante 2 com os materiais HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES.

O efeito hipsocrômico também foi visto comparando o corante 2 aos materiais sintetizados, a explicação se dá semelhante às outras moléculas citadas anteriormente, onde os grupos silanizados inseridos, são retiradores de elétrons, e acabam puxando a densidade eletrônica para essa porção do corante, o que fez com os orbitais HOMO e LUMO tivessem um aumento de energia nas transições eletrônicas ocorridas, diminuindo assim os valores dos comprimentos de onda máximos nesses materiais.

A rigidez que os corantes immobilizados na hidroxiapatita passam a ter, também é uma justificativa para o efeito hipsocrômico que os materiais apresentam. Pelos espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis mostrado na figura 32, evidenciaram-se as possíveis ligações feitas entre os corantes ESIPT funcionalizados com os grupos silanizados e a HA, uma vez que o material sozinho não apresenta absorção nessas regiões, mas com a funcionalização dos corantes no material, foi possível a observação no incremento de absorção com perfis e comprimentos de onda próximos aos do cromóforo.

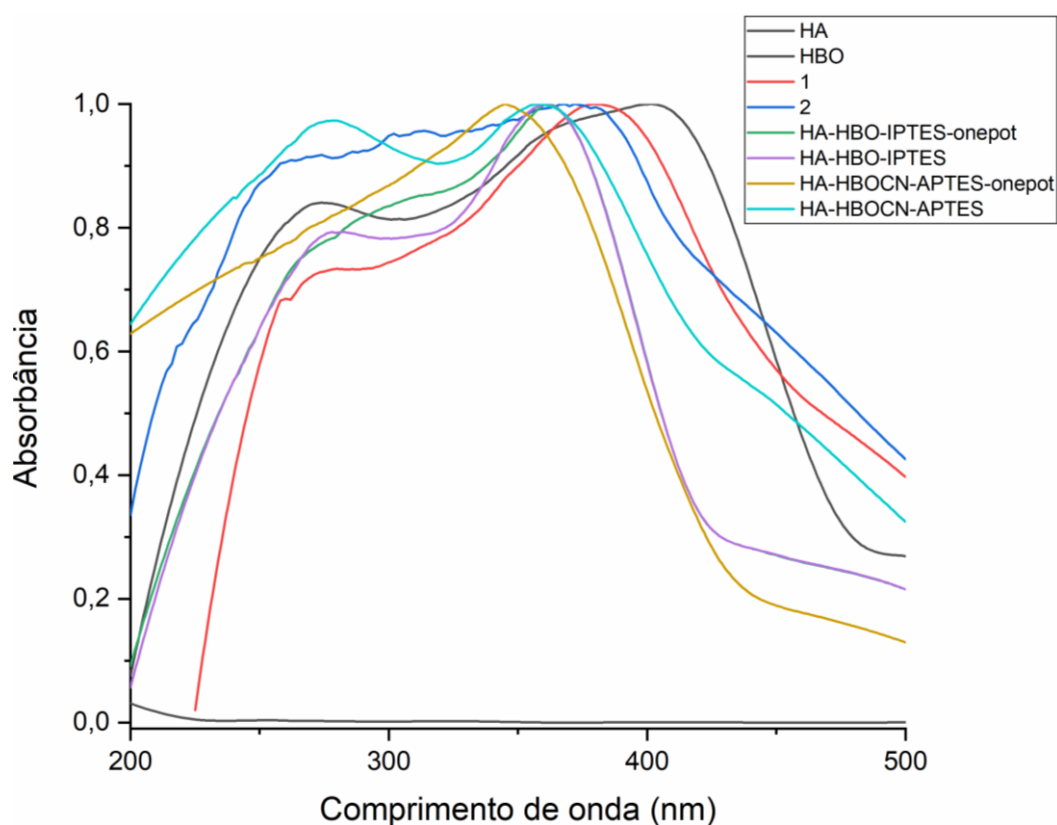


Figura 32. Espectros de reflectância difusa UV-Vis normalizados da HA, HBO, dos corantes 1 e 2 e dos respectivos materiais.

Os valores dos comprimentos de ondas nos máximos de absorção de cada um dos materiais citado, e também dos comprimentos de ondas máximos correspondentes às transições eletrônicas que ocorrem entre os estados eletrônicos $S_0 \rightarrow S_1$ e $S_0 \rightarrow S_2$, encontram-se na tabela 2. Como os estados eletrônicos S_2 têm energia maior do que o S_1 , atribui-se às transições que ocorrem entre $S_0 \rightarrow S_2$ às transições eletrônicas correspondentes aos anéis azólicos dos coran-

tes, pois possuem os menores comprimentos de onda. As transições que ocorrem entre $S_0 \rightarrow S_1$, são atribuídas as transições eletrônicas feitas pelas hidroxilas dos corantes.

Tabela 2. Valores de comprimentos de onda máximo de absorção dos compostos e máximo de absorbância.

Composto	$\lambda_{abs}(nm)$	A	$S_0 \rightarrow S_1$ (nm)	$S_0 \rightarrow S_2$ (nm)
HBO	401	0,63122	401	274
1	380	0,43034	380	275
2	374	0,59416	374	254
HA-HBO-IPTES-onepot	361	0,34781	361	278
HA-HBO-IPTES	361	0,34727	361	278
HA-HBOCN-APTES-onepot	340	0,62279	340	-
HA-HBOCN-APTES	358	0,41674	358	276

Os espectros de reflectância difusa na figura 33 foram também analisados quanto a transmitância do material em termos de porcentagens de reflectância, devido tratar-se de materiais em estado sólido, a espectroscopia de absorção no UV-Vis é mais usada quando são introduzidos dados de análises em solução, porque a luz passa através das moléculas em solução e parte dela fica absorvida nos cromóforos dessas moléculas, o que chega nos detectores é convertido em absorbância. No caso dos materiais sólidos, a luz não atravessa o material, ela é refletida por ele e transmitida para os detectores do equipamento, o cromóforo continua absorvendo a luz para que ocorram as transições eletrônicas, mas o que chega até os detectores é a luz refletida pelos materiais, então o resultado é dado de maneira que quanto menor a porcentagem de reflectância apresentado pelos picos em um respectivo comprimento de onda, maior será a absorção de radiação pelo material. Era esperado que a HA dopada com os corantes ESIPT apresentassem absorções altas na região do ultravioleta, com absorção máxima em comprimentos de onda próximo a 356 nm, que é o comprimento de onda máximo de absorção desses corantes.

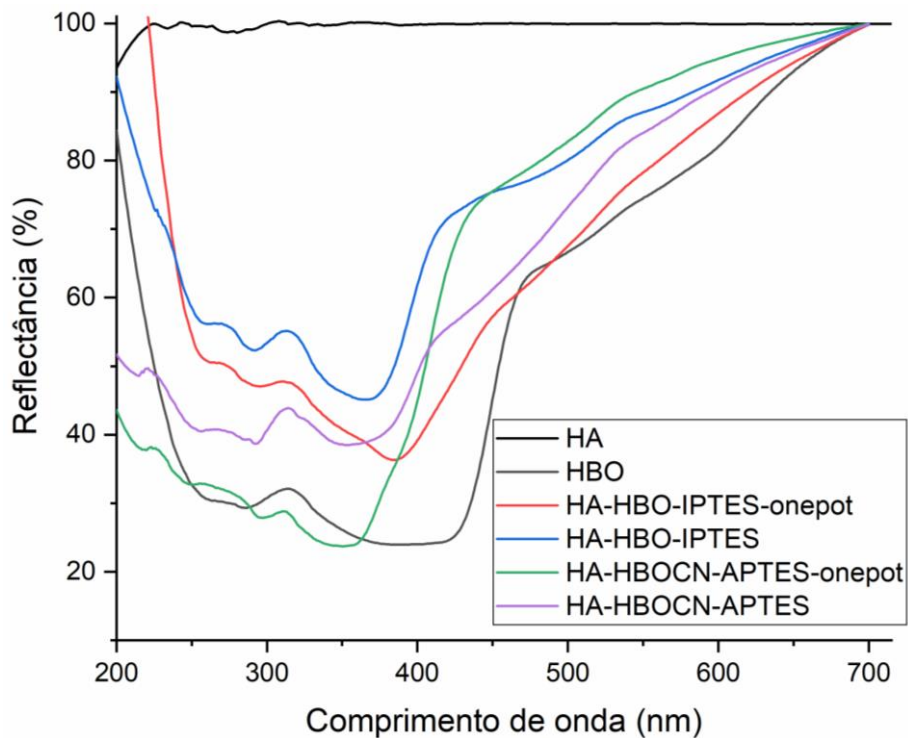


Figura 33. Espectro de reflectância difusa da HA, do corante HBO e dos respectivos materiais.

Foi possível a observação pelos espectros de reflectância difusa, que a hidroxiapatita não apresenta transmissão de luz na região do ultravioleta-visível e após passar pelos processos de dopagem com os corantes ESIPT, apresenta picos na região próxima a 315 nm, com as porcentagens de reflectância sendo 54%, 47%, 43%, 31% e 28%, do HA-HBO-IPTES, HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBOCN-APTES, HBO e HA-HBOCN-APTES-onepot, respectivamente. Através disso, pela porcentagem de luz refletida pelos materiais e pelos máximos de absorbância, a metodologia *one-pot* acabou apresentando os melhores resultados pela técnica de absorção no UV-Vis, comparando apenas os produtos formado HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.

4.7. Caracterização dos materiais por Espectroscopia de Emissão de Fluorescência

A espectroscopia de emissão de fluorescência foi utilizada, juntamente com as demais técnicas utilizadas neste trabalho, para a confirmação da funcionalização da HA com os corantes ESIPT, pois a biocerâmica sozinha não emite fluorescência, mas quando dopada com os corantes apresenta fluorescência no

comprimento de onda próximo ao dos corantes. As leituras foram feitas em estado sólido e os comprimentos de onda de excitação correspondem ao máximo observado nos espectros de reflectância difusa no UV-Vis. A foto da Figura 34 mostra a fluorescência sob luz UV de 365 nm do corante HBO recristalizado e dos materiais HA-HBO-IPTES-onopot, HA-HBO-IPTES e HA-HBOCN-APTES-onopot, respectivamente.

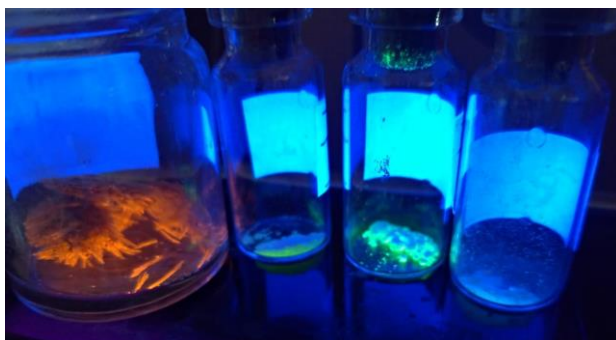


Figura 34. Emissão de fluorescência sob luz UV de 365 nm do corante HBO (em laranja) e dos respectivos materiais.

O corante sintetizado 1 apresentou emissão de fluorescência em 513 nm quando excitado em 373 nm, o que mostra que o corante absorve na região do ultravioleta e emite na região do visível, apresentando fluorescência na cor verde. O corante HBO, que foi usado na síntese do corante 1, apresenta emissão de fluorescência em 577 nm quando excitado em 438 nm, absorvendo e emitindo na região do visível, com fluorescência de cor laranja (Figura 35).

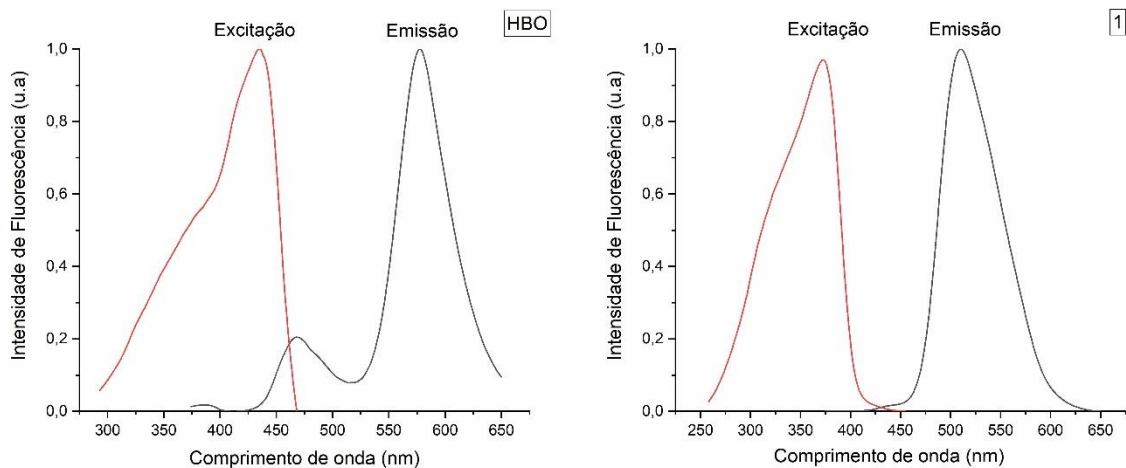


Figura 35. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante HBO e da molécula 1.

Já o material HA-HBO-IPTES obtido através do corante 1 e a hidroxiapatita, apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 510 nm e $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 371 nm, indicando absorção na região ultravioleta e emissão na região do visível, apresentando fluorescência verde (Figura 36). O material HA-HBO-IPTES-onepot, mostra $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 523 nm e $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 373 nm, tendo também sua absorção na região do ultravioleta e emissão na região do visível, apresentando fluorescência na cor verde (Figura 37).

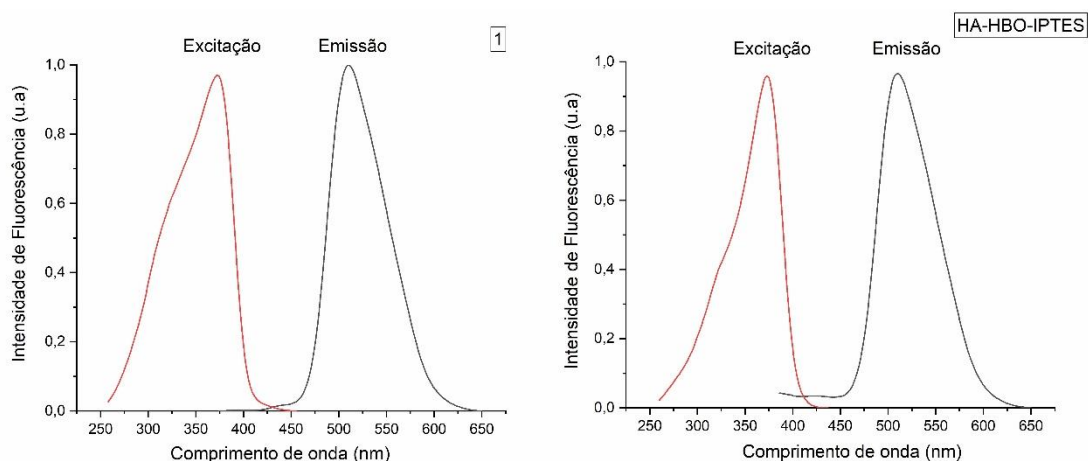


Figura 36. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante 1 e do material HA-HBO-IPTES-onepot.

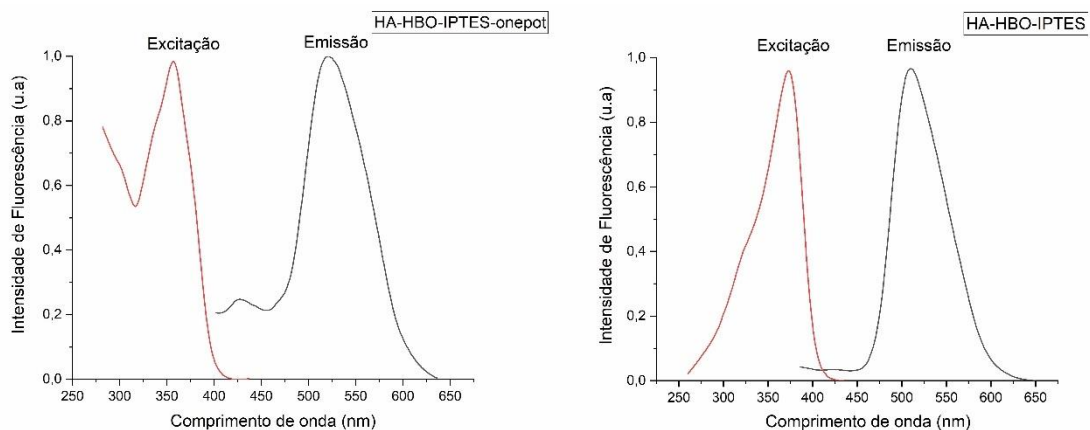


Figura 37. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados dos materiais HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.

O corante HBOCN apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 504 nm e de $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 370 nm, indicando absorção na região do ultravioleta e emissão na região do visível, emitindo fluorescência na cor verde. Quando comparado com o corante 2, apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 522 nm e de $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 372 nm com absorção na região ultravioleta e emissão na região do visível, mostrando fluorescência na cor verde (Figura 38).

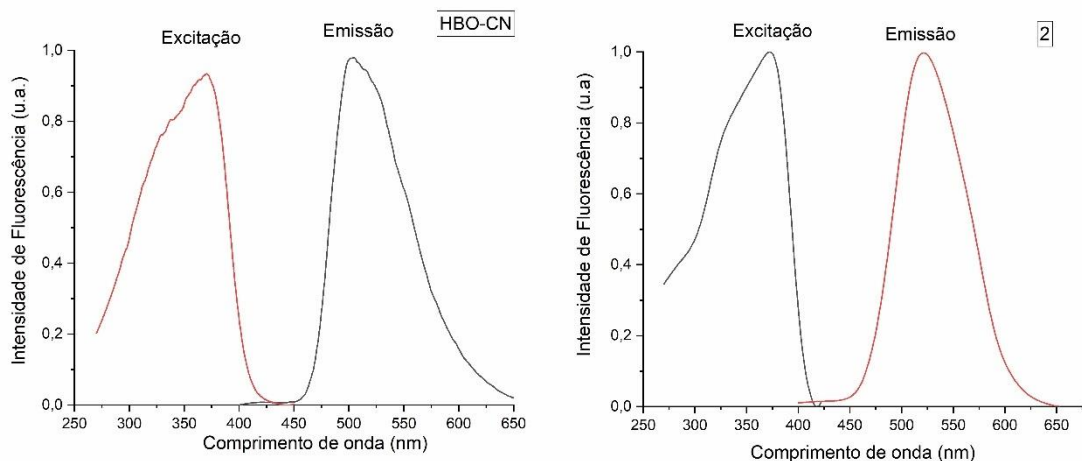


Figura 38. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados do corante HBOCN e da molécula 2.

O produto denominado HA-HBOCN-APTES, não mostrou resultados satisfatórios nas caracterizações, contanto nos estudos fotofísicos, apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 523 nm e de $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 357 nm, indicando absorção

na região do ultravioleta e emissão na região do visível, apresentando fluorescência na cor verde. Já o produto HA-HBOCN-APTES-onepot sintetizado de maneira multicomponente, apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão em 443 nm e de $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação em 410 nm, indicando absorção na região do visível e emitindo fluorescência azul (Figura 39). As moléculas que emitem fluorescência através do mecanismo ESIPT, tem como principal característica a absorção na forma enol e emissão na forma ceto, o que faz com que se tenha uma diferença grande entre os $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão e de $\lambda_{\text{máx}}$ de excitação, o que pode ter acontecido no material HA-HBOCN-APTES-onepot é a estabilização da molécula na forma enol, tendo absorção e emissão de fluorescência nessa configuração, o que explicaria a baixa diferença nos comprimentos máximos de onda.

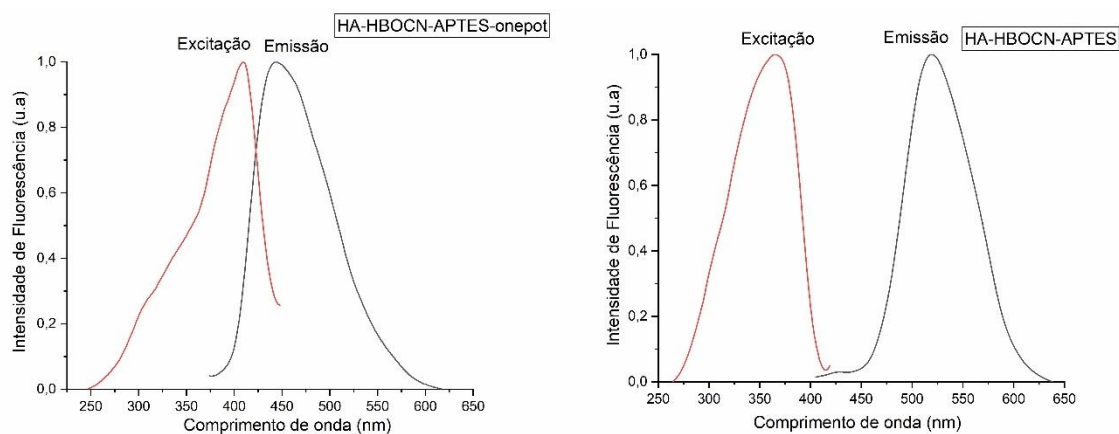


Figura 39. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados dos materiais HA-HBOCN-APTES-onepot e HA-HBOCN-APTES.

O que pôde ser visto sobrepondo os espectros de emissão (Figura 40) das hidroxiapatias dopadas com os corantes ESIPT (HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES, HA-HBOCN-APTES-onepot) é a evidência de que a biocerâmica passou a ter intensidade de fluorescência referente ao corante conectado nela através de ligações intermoleculares, e essas intensidades são semelhantes a do corante ESIPT antes de serem usados na dopagem da hidroxiapatita, ou seja, o material não irá influenciar em uma mudança na intensidade de fluorescência dos corantes, visto que a hidroxiapatita é um material inerte.

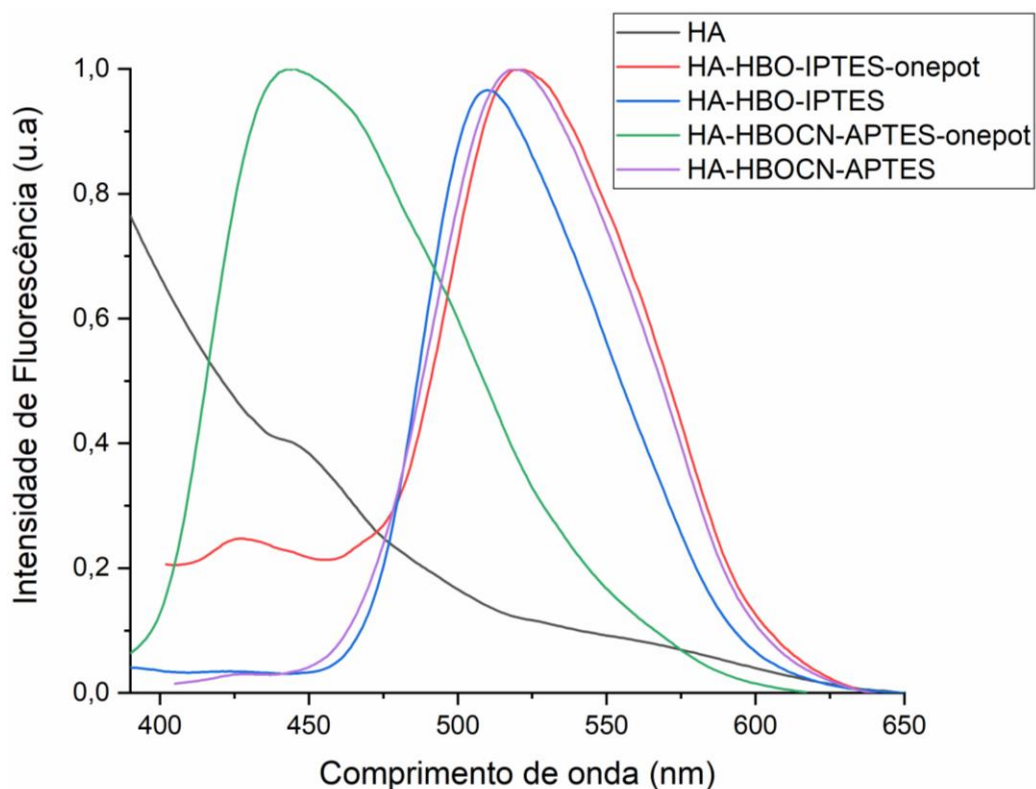


Figura 40. Espectros de emissão e excitação de fluorescência normalizados da HA com os materiais HA-HBO-IPTES-onejpot, HA-HBO-IPTES, HA-HBOCN-APTES-onejpot, HA-HBOCN-APTES.

A diferença entre o $\lambda_{\text{máx}}$ de emissão e $\lambda_{\text{máx}}$ de absorção é chamado de deslocamento de Stokes, visto que, como consequência da emissão de uma molécula ocorrer em estados vibracionais fundamentais mais altos. Na tabela 3 encontram-se os valores dos deslocamentos de Stokes que foram apresentados pelos materiais sintetizados, indo de 98 nm à 176 nm. Moléculas orgânicas que possuem o mecanismo ESIPT tem como sua maior característica a absorção no ultravioleta e emissão no visível, fazendo com que os valores de deslocamento de Stokes que usualmente são na faixa de 30 a 80 nm, possam apresentar valores de deslocamento de até 250 nm. A estabilização da molécula em estados excitados de menor energia está diretamente ligada a comprimentos de ondas maiores apresentados no deslocamento de Stokes, conforme conceitos físicos de $\Delta E = hc/\lambda$, sendo quanto menor o ΔE da molécula, maior o comprimento de onda apresentado pela molécula orgânica.

Tabela 3. Comprimentos de onda dos máximos de excitação e emissão dos corantes e dos materiais, onde λ_{em} é o máximo de emissão, λ_{ex} o máximo de excitação e $\Delta\lambda_{ST}$ é o deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST} = \lambda_{em} - \lambda_{abs}$).

Composto	$\lambda_{em}(nm)$	$\lambda_{abs}(nm)$	$\Delta\lambda_{ST}(nm)$
HBO	577	401	176
1	513	380	133
2	522	374	148
HA-HBO-IPTES-onepot	523	361	162
HA-HBO-IPTES	510	361	149
HA-HBOCN-APTES-onepot	443	345	98
HA-HBOCN-APTES	523	358	165

No material obtido HA-HBOCN-APTES-onepot o deslocamento de Stokes acaba sendo baixo quando comparado com os corantes ESIPT, com valor de 98 nm. Uma possível explicação para que isso tenha ocorrido, é a formação de interações eletrostáticas entre as hidroxilas da hidroxiapatita e as hidroxilas do cromóforo com mecanismo ESIPT, ou pares de elétrons isolados do enxofre podem estar influenciando no deslocamento também, o que impediria a molécula de realizar a transferência protônica e emitir fluorescência na região do visível pela forma ceto.

Na foto da Figura 41 são apresentados os corantes e a HA funcionalizada sob luz normal (esquerda) e luz visível (direita). As fotos foram feitas utilizando-se as pastilhas preparadas para a leitura das amostras no Infravermelho. As imagens obtidas sob incidência da luz ultravioleta mostram que a HA emite luz em diferentes comprimentos de onda devido a funcionalização com os corantes ESIPT.

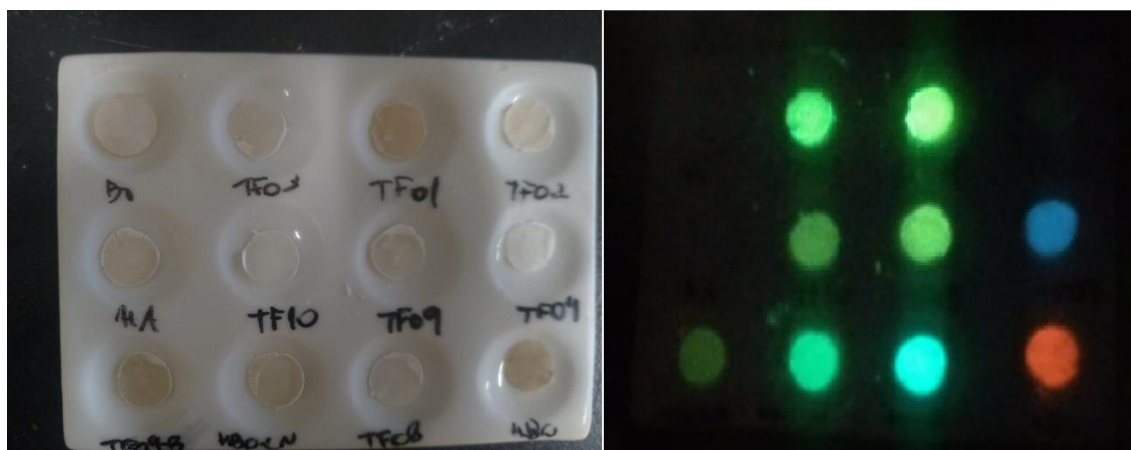


Figura 41. A esquerda imagem das pastilhas de KBr da HA com os corantes se luz UV aplicada. A direita imagem das pastilhas sob luz UV com comprimento de 365 nm. Legenda: Br = branco, HA = hidroxiapatita, TF03 = HA-HBO-IPTES, TF01 = 1, TF02 = HA-HBO-IPTES-onepot, TF10 = HA-HBOCN-APTES, TF04 = HA-HBOCN-APTES-onepot, TF09 = 2, TF09-B e TF08 são de materiais que não entraram no trabalho.

5. Conclusões

Embora os espectros na região do Infravermelho não sejam tão precisos sobre a funcionalização da hidroxiapatita com os corantes ESIPT, há presença das bandas dos estiramentos C-H dos alifáticos pertencentes aos corantes nos materiais *one-pot*, sendo que no produto HA-HBO-IPTES-onepot a banda referente a carbonila do corante também pôde ser vista. Uma vez que a proporção de corante em relação a HA é muito menor nos materiais, a observação das bandas vibracionais nos espectros de Infravermelho características dos corantes como carbonila, hidroxila, isotiocianato e amino, não puderam ser caracterizadas com precisão. Ademais, pelos espectros na região do infravermelho, pode ser observado que o produto HA-HBOCN-APTES não se formou.

Os resultados de microscopia eletrônica de varredura mostraram que a morfologia da HA não apresentou nenhuma alteração significativa quanto as dimensões das partículas medidas, após a funcionalização com os corantes ESIPT, independentemente da metodologia utilizada.

Nos termogramas ficaram mais evidentes as funcionalizações da HA com os corantes ESIPT, uma vez que os perfis tanto das perdas de massa quanto das suas derivadas são diferentes dos perfis da HA sozinha. Além disso, na metodologia de obtenção dos materiais por etapas observou-se maior perda de massa quando visto os resíduos, quando comparado ao da metodologia *one-pot*,

demonstrando dessa forma que a metodologia *one-pot* teve mais ligações entre o corante e HA acontecendo, sendo então mais eficiente para o objetivo proposto, quando comparado os produtos HA-HBO-IPTES-onepot e HA-HBO-IPTES.

Nas caracterizações fotofísicas dos materiais, conclui-se que a HA funcionalizada com os corantes ESIPT emite fluorescência em comprimento de onda próximo ao do corante, o que evidencia a efetividade das funcionalizações. As bandas de absorção no UV-Vis tiveram deslocamento hipsocrômico, o que são indicativos da funcionalização da HA.

Os produtos HA-HBO-IPTES-onepot, HA-HBO-IPTES e HA-HBO-APTES-onepot, foram obtidos, conforme dados apresentados nas caracterizações e nos estudos fotofísicos. O produto HA-HBO-APTES apresentou resultados das análises termogravimétricas e nos espectros de infravermelho, que indicam que a reação não ocorreu, contudo nos estudos fotofísicos observou-se resultados condizentes com os do corante ESIPT.

6. Parte Experimental

6.1 Materiais e Métodos

Os corantes 2-(5'-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol e 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzoxazol foram obtidos conforme a literatura.^{42,66} A hidroxiapatita usada no trabalho foi cedida pelo Prof. Dr. Alexandre M. Rossi do Departamento de Física Aplicada localizado no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas no Rio de Janeiro.²⁶ O APTES e o IPTES foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os solventes acetato de etila e etanol foram da marca Dinâmica.

Os espectros de UV-Vis foram obtidos em um Espectrofotômetro Shimadzu UV-2440PC com esfera integradora. Os espectros de fluorescência foram obtidos em um Espectrofotômetro Shimadzu RF-5301PC em estado sólido. Os espectros de infravermelho foram obtidos no equipamento Varian 640-IR em discos de KBr. Os termogramas de TGA foram obtidos em um aparelho SDT Q600 produzido pela TA Instruments, com o gás utilizado nas análises sendo o nitrogênio 5.0 com vazão de 100mL/min. As imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram obtidas em um equipamento MEV-FEG Tecnai G2 T20

– FEI em análises feitas na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), sendo solubilizadas em etanol e pingadas em substrato de silício.

6.2. Síntese dos corantes

6.2.1. Síntese do 2-[5'-N-(3-trietoxissilil)propiluréia]-2-hidroxifenilbenzazol (1)

Na metodologia empregada,⁶⁶ 0,3681g (1,6 mmol) de 2-(5'-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol (HBO) foram dissolvidos em acetato de etila em um balão de fundo redondo e 0,37 mL (1,6 mmol) de isocianopropil-trietoxissilano (IPTES) foram adicionados ao balão, sendo a reação mantida em sistema de refluxo em acetato de etila pelo período de 24h. Após o período de refluxo o produto obtido foi filtrado e passado por processos de lavagem com hexano, para remoção do IPTES que não reagiu, e com etanol quente para remoção do benzoxazol que não reagiu. Após os processos de lavagem, os produtos foram deixados secando na estufa em temperatura de 50°C. A reação teve 51% de rendimento, sendo o produto final um sólido branco. Ponto de Fusão: 360°C. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3360, 2968, 1586.

6.2.2. Síntese do 2-[5'-N-(3-trietoxissilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (2)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,086g (0,32 mmol) do 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzoxazol em 10 mL de acetato de etila e 0,091 mL (0,39 mmol) de (3-aminopropil)trietoxissilano (APTES), sendo a reação mantida em sistema de refluxo em acetato de etila pelo período de 48h. Após o período de refluxo o produto obtido foi filtrado e passado por processos de lavagem com álcool etílico quente. O produto foi deixado secando na estufa em temperatura de 50 °C. A reação teve rendimento de 30 %, pó branco com fluorescência verde em luz UV de 365 nm. Ponto de Fusão: 279°C. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3450, 2991, 2172, 1530, 1150.

6.3 Funcionalização da hidroxiapatita

6.3.1 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiluréia]2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBO-IPTES-onepot)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,2g de hidroxiapatita, 0,0511g (0,22 mmol) do 2-(5'-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol, 0,054mL (0,24 mmol) de isocianopropil-trietoxisilano e 30 mL de acetato de etila, juntamente com uma barra de agitação magnética. A reação ocorreu sob regime de refluxo pelo período de 24h. A suspensão foi filtrada e lavada com álcool etílico PA em 4 ciclos na centrífuga. O produto adquirido após as centrifugações secado na estufa em temperatura de 50°C. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3485, 2968, 1082.

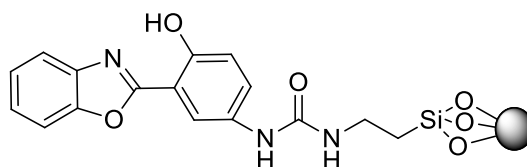


Figura 42. Estrutura do produto HA-HBO-IPTES-onepot.

6.3.2 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiluréia]2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBO-IPTES)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,0557g (0,117 mmol) de 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiluréia]2-hidroxifenilbenzoxazol (produto **1**) e 0,2052g de hidroxiapatita em 30 mL de acetato de etila, juntamente com uma barra de agitação magnética. A reação foi mantida sob regime de refluxo por um período de 24h. O produto formado foi filtrado e centrifugado em 4 ciclos com álcool etílico e após colocado na estufa em temperatura de 50°C. O produto final teve peso de 0,2052g, pó de cor branca e fluorescência verde na lâmpada de UV de 365 nm. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3477, 3010, 1669, 1068.

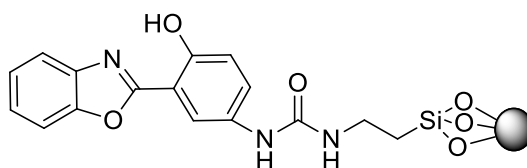


Figura 43. Estrutura do produto HA-HBO-IPTES.

6.4.3 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol multicomponente (HA-HBOCN-APTES-onepot)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,025g (0,093 mmol) de 2-(5'-tiociano-2'-hidroxifenil)benzoxazol, 1mL (4,3 mmol) de (3-aminopropil)triétoxissilano (APTES) e 0,2102g de hidroxiapatita em 30mL de acetato de etila PA. A reação foi mantida sob regime de refluxo por um período de 24h. O produto formado foi filtrado e centrifugado em 4 ciclos com álcool etílico e após colocado na estufa em temperatura de 50°C. O produto final teve peso de 0,2480g, pó de cor branca e fluorescência azul na lâmpada de UV de 365 nm. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3603, 1683, 2982.

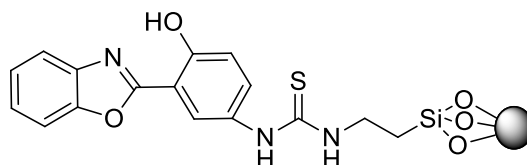


Figura 44. Estrutura do produto HA-HBOCN-APTES-onepot.

6.4.4 HA funcionalizada com o 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (HA-HBOCN-APTES)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,0326g (0,066 mmol) do 2-[5'-N-(3-trietoxilil)propiltiouréia]-2-hidroxifenilbenzoxazol (produto 4), 0,178g de hidroxiapatita e 20 mL de acetato de etila PA, junto com uma barra de agitação magnética. A reação foi mantida sob regime de refluxo pelo período de 24h. O produto formado foi filtrado e posteriormente submetido a 4 ciclos de centrifugação com álcool etílico PA. Após, o produto foi colocado na estufa em temperatura de 50°C. O produto obtido final teve peso de 0,1930g, pó de cor branca e fluorescência verde na lâmpada de UV de 365 nm. Infravermelho (KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3652, 1641, 1586, 1076.

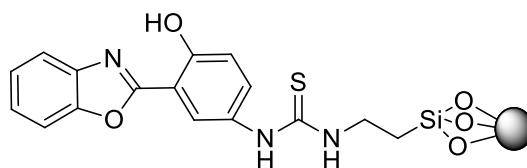


Figura 45. Estrutura do produto HA-HBOCN-APTES.

7. Referências

- (1) Skoog; Holler; Crouch. *Principles of Instrumental Analysis*, 6th ed., Brooks Cole, **2006**.
- (2) Wayne C. E.; Wayne, R. P. *Photochemistry*; Oxford University Press Inc: New York, **1996**; Vol. 39.
- (3) Joseph R. Lakowicz; *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3th ed., Springer: Baltimore, **2006**.
- (4) González-Torres, V.; Hernández-Guevara, E.; Castillo-Martínez, N.; Rosales-Aguilar, M.; Díaz-Trujillo, G. *Mex. de Ing. Biomed* **2021**, *42* (2).
- (5) Rida, S. M.; Ashour, F. A.; El-Hawash, S. A. M.; ElSemary, M. M.; Badr, M. H.; Shalaby, M. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40* (9), 949–959.
- (6) Gudipati, R.; Reddy Anreddy, R. N.; Manda, S. *J. Enzyme Inhib. Med.* **2011**, *26* (6), 813–818.
- (7) Kumar, A.; Kumar, D. *ARKIVOC*, **2007**, (XIV), 117–125.
- (8) Zhang, K.; Zeng, K.; Shen, C.; Tian, S.; Yang, M. *Microchim. Acta* **2018**, *185* (4).
- (9) Chen, S. H.; Jiang, K.; Xiao, Y.; Cao, X. Y.; Arulkumar, M.; Wang, Z. Y. *Dyes and Pigm.* **2020**, *175*, 108157.
- (10) Samanta, T.; Das, N.; Patra, D.; Kumar, P.; Sharmistha, B.; Shunmugam, R. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2021**, *9* (14), 5196.
- (11) Jayabharathi, J.; Thanikachalam, V.; Jayamoorthy, K.; Srinivasan, N. *Spectrochim. Acta - A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, *105*, 223–228.
- (12) Joshi, H. C.; Antonov, L. *Molecules.* **2021**, *26*(5), 1475.
- (13) Wang, M.; Wang, Q.; Lu, X.; Wang, K.; Ren, F. *J. Wuhan Univ. Technol.-Mat. Sci.* **2017**, *32*, 978–987.
- (14) Santos, M. V. B.; Feitosa, G. T.; Osajima, J. A.; Santos, R. L. P.; da Silva Filho, E. C. *Ceramica* **2019**, *65* (373), 130–138.
- (15) Ossipov, D. A. *Expert Opin Drug Deliv.* **2015**, *12*(9), 1443–1458.
- (16) Liu, H.; Chen, F.; Xi, P.; Chen, B.; Huang, L.; Cheng, J.; Shao, C.; Wang, J.; Bai, D.; Zeng, Z. *J. Phys. Chem. C.* **2011**, *115* (38), 18538–18544.
- (17) Sadallah, L.; Boukhriss, A.; Hannache, H.; Gmouh, S. *Turkish J. Chem.* **2020**, *44* (1), 142–154.

- (18) Bose, S.; Tarafder, S. *Acta Biomater.* **2012**, 8(4), 1401–1421.
- (19) Sadat-Shojai, M.; Khorasani, M. T.; Dinpanah-Khoshdargi, E.; Jamshidi, A. *Acta Biomater.* **2013**, 9(8), 7591–7621.
- (20) Gomes, D. S.; Santos, A. M. C.; Neves, G. A.; Menezes, R. R. *Ceramica.* **2019**, 65(374), 282–302.
- (21) Viana, J. R.; Macêdo, A. A. M.; Santos, A. O. dos; Filho, P. de F. F.; Graça, M. P. F.; Valente, M. A.; Silva, C. C. da. *Materia* **2020**, 25 (1).
- (22) Gagnon, P.; Maria, S.; Latiff, A.; Cai, C.; Lau, W.; Lim, L.; Gan, H. T. *Food Bioproc. Tech.* **2014**, 12(20), 40.
- (23) Habraken, W.; Habibovic, P.; Epple, M.; Bohner, M. *Mater. Today Commun.* **2016**, 19(2), 69–87.
- (24) Lasgorceix, M.; Costa, A. M.; Mavropoulos, E.; Sader, M.; Calasans, M.; Tanaka, M. N.; Rossi, A.; Damia, C.; Chotard-Ghodsnia, R.; Champion, E. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2014**, 25 (10), 2383–2393.
- (25) Haider, A.; Haider, S.; Han, S. S.; Kang, I. K. *RSC Adv.* **2017**, 13, 7442.
- (26) Soriano-Souza, C. A.; Rossi, A. L.; Mavropoulos, E.; Hausen, M. A.; Tanaka, M. N.; Calasans-Maia, M. D.; Granjeiro, J. M.; Rocha-Leão, M. H. M.; Rossi, A. M. *J. Mater. Sci.: Mater. Med* **2015**, 26 (4).
- (27) Merzougui, M.; Mezahi, F. Z.; Dakhouch, A.; Kherifi, D.; Sahnoune, F. *Chem. Zvesti.* **2021**. /s11696-021-01938-8.
- (28) Ramirez-Gutierrez, C. F.; Londoño-Restrepo, S. M.; del Real, A.; Mondragón, M. A.; Rodriguez-García, M. E. *Ceramics.* **2017**, 43 (10), 7552–7559.
- (29) Modolon, H. B.; Inocente, J.; Bernardin, A. M.; Klegues Montedo, O. R.; Arcaro, S. *Ceramics.* **2021**, 47 (19), 27685–27693.
- (30) Balu, S. kumar; Andra, S.; Jeevanandam, J.; S, M. V.; V, S. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2021**
- (31) Bose, S.; Tarafder, S. *Acta Biomater.* **2012**, 8(4), 1401–1421.
- (32) Russo, L.; Taraballi, F.; Lupo, C.; Poveda, A.; Jiménez-Barbero, J.; Sandri, M.; Tampieri, A.; Nicotra, F.; Cipolla, L. *Interface Focus* **2014**, 4 (1).
- (33) Sim, A. M.; Rashdan, N. A.; Cui, L.; Moss, A. J.; Nudelman, F.; Dweck, M. R.; MacRae, V. E.; Hulme, A. N. *Sci. Rep.* **2018**, 8 (1), 17360.
- (34) Kashemirov, B. A.; Bala, J. L. F.; Chen, X.; Ebetino, F. H.; Xia, Z.; Russell, R. G. G.; Coxon, F. P.; Roelofs, A. J.; Rogers, M. J.; McKenna, C. E. *Bioconjug. Chem.* **2008**, 19 (12), 2308–2310.

- (35) Tian, J.; Zhou, H.; Jiang, R.; Chen, J.; Mao, L.; Liu, M.; Deng, F.; Liu, L.; Zhang, X.; Wei, Y. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *108*, 110424.
- (36) Chen, Q.; Zheng, C.; Li, Y.; Bian, S.; Pan, H.; Zhao, X.; Lu, W. W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10* (28), 23700–23710.
- (37) Li, Y.; Li, Y.; Li, Y.; Fu, Y.; Fu, Y.; Fu, Y.; Zhang, H.; Zhang, H.; Zhang, H.; Song, J.; Song, J.; Song, J.; Yang, S.; Yang, S.; Yang, S. *Biomed Res. Int.* **2020**, 2020, 4012194.
- (38) Tian, D.; Sun, J.; Zhang, L.; Zhang, K.; Jiang, W.; Yang, M. *Anal. Methods* **2018**, *10* (38), 4644–4647.
- (39) Becker, M. R.; Stefani, V.; Forte, M. M. C. *React. Funct. Polym.* **2006**, *66* (12), 1664–1669.
- (40) Rajasekhar, S.; Maiti, B.; Chanda, K. *Synlett* **2017**, *28* (5), 521–541.
- (41) Sattar, R.; Mukhtar, R.; Atif, M.; Hasnain, M.; Irfan, A. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, *57*(5), 2079–2107.
- (42) Santos, R. C. dos; Faleiro, N. V. D. S.; Campo, L. F.; Scroferneker, M. L.; Corbellini, V. A.; Rodembusch, F. S.; Stefani, V. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (23), 3048–3053.
- (43) McKee, M. L.; Kerwin, S. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16* (4), 1775–1783.
- (44) Singh, S. P.; Verma, N. K.; Rai, P. K.; Tripathi, A. K. *Der Pharmacia Lettre.* **2014**, *6* (6), 283-288.
- (45) Zeyrek, C. T.; Ünver, H.; Temiz-Arpaci, O. *J. Struct. Chem.* **2019**, *60* (2), 241–254.
- (46) Miho, S.; Fumoto, T.; Mise, Y.; Imato, K.; Akiyama, S.; Ishida, M.; Ooyama, Y. *Mater. Adv.* **2021**. 2021, Advance Article.
- (47) Li, C.; Guo, W.; Zhou, P.; Tang, Z. *Org. Chem. Front.* **2019**, *6* (11), 1807–1815.
- (48) Minegishi, T.; Tajusari, H.; Katoh, K. *J. Photopolym. Sci. Technol.* **2004**, *17*(2), 245-252.
- (49) Okuda, K.; Hirota, K.; Mizutani, T.; Numamoto, Y. *Mater. Adv.* **2021**, *2* (17), 5691–5703.
- (50) Rabbani, M. G.; Islamoglu, T.; El-Kaderi, H. M. *J. Mater. Chem. A* **2017**, *5* (1), 258–265.
- (51) Baek, J. B.; Simko, S. R.; Tan, L. S. *Macromolecules* **2006**, *39* (23), 7959–7966.

- (52) Li, X.; Li, Z.; Yang, Y. W. *Adv. Mater.* **2018**, *30* (20).
- (53) Chen, J.; Liu, M.; Huang, Q.; Jiang, R.; Huang, H.; Deng, F.; Wen, Y.; Tian, J.; Zhang, X.; Wei, Y. *Mater. Sci. Eng.* **2018**, *92*, 518–525.
- (54) Abdou, W. M.; Barghash, R. F.; Sediek, A. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 362–372.
- (55) Rezayati, S.; Abbasi, Z.; Rezaee Nezhad, E.; Hajinasiri, R.; Chalanchi, S. *J. Org. Chem. Res.* **2016**, *2*(2), 162-171.
- (56) Li, C.; Li, D.; Ma, C.; Liu, Y. *J. Mol. Liq.* **2016**, *224*, 83–88.: Effects of Electron Acceptor and Donor Groups. *Journal of Molecular Liquids* **2016**, *224*, 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.09.088>.
- (57) Daengngern, R.; Kungwan, N. *J. Lumin.* **2015**, *167*, 132–139.
- (58) Padalkar, V. S.; Tathe, A.; Gupta, V. D.; Patil, V. S. *J. Fluoresc.* **2012**, *22* (1), 311–322.
- (59) Su, S.; Fang, H. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2020**, *233* (5), 118214.
- (60) Liu, M.; Xiao, R.; Feng, B.; Fan, D.; Huang, S.; Bi, A.; Zhong, S.; Feng, X.; Liu, S.; Zeng, W. *Sens. Actuators B Chem.* **2021**, *342*(1), 130038.
- (61) Del Valle, J. C.; Catalán, J. *Chem. Phys.* **2019**, *21* (19), 10061–10069.
- (62) Deng, X.; Zhuang, Z.; Liu, H.; Qiu, P.; Wang, K. *Opt. Express* **2019**, *27* (9), 12723.
- (63) Liu, Z. Y.; Hu, J. W.; Huang, T. H.; Chen, K. Y.; Chou, P. T. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22* (39), 22271–22278.
- (64) Song, L.; Meng, X.; Han, H.; Zhao, J.; Zheng, D. *Chem. Phys.* **2022**, *552*(1), 111376.
- (65) Maliszewsk Paczkowski, I.; Lange Coelho, F.; Franciscato Campo, L. *J. Mol. Liq.* **2020**, *319*(1), 114277.
- (66) Campo, L. F.; Sánchez, F.; Stefani, V. *J. Photochem. Photobiol. A* **2006**, *178* (1), 26–32
- (67) Kwon, J. E.; Park, S. Y. *Adv. Mater.* **2011**, *23*(32), 3615–3642.
- (68) Park, S.; Kim, S.; Seo, J.; Park, S. Y. *Macromol. Res.* **2008**, *16*, 385–395.
- (69) Zimmermann, J.; Zeug, A.; Röder, B. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5* (14), 2964–2969.
- (70) Pavoni, J. F.; Neves-Junior, W. F. P.; Spiropulos, M. A.; Araújo, D. B. *Rev. Bras. de Ensino de Fis.* **2014**, *36*(4), 1-9.

- (71) Sheng, H.; Hu, Y.; Zhou, Y.; Fan, S.; Cao, Y.; Zhao, X.; Yang, W. *Dyes and Pigm.* **2019**, *160*, 48–57.
- (72) Valavanidis, A. *Green Chem.* **2016**, 1-27.
- (73) Andrade, V.; Mattos, M. *Quím. Nova* **2021**, *44*(7), 912-918.
- (74) Hayashi, Y. *Chem. Sci.*, **2016**, *7*, 866-880.
- (75) Hong, B.-C.; Raja, A.; Sheth, V. Reaction Strategies. *Synthesis* **2015**, *47* (21), 3257–3285.
- (76) Brauch, S.; van Berkel, S. S.; Westermann, B. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (12), 4948–4962.
- (77) Deng, J.; Mo, L. P.; Zhao, F. Y.; Hou, L. L.; Yang, L.; Zhang, Z. H. *Green Chem.* 2011, *13* (9), 2576–2584.
- (78) Xue, K.; Teng, S. H.; Niu, N.; Wang, P. *Mater. Lett.* 2019, *257*(15), 126746.
- (79) Trommer, R. M.; Santos, L. A.; Bergmann, C. P. *Cerâmica*, **2007**, *53*, 153-158.
- (80) Campo, L. F. *Síntese de materiais fotossensíveis baseados em corantes fluorescentes como meio ativo para dispositivos ópticos*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2003**.

7. Apêndices

7.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

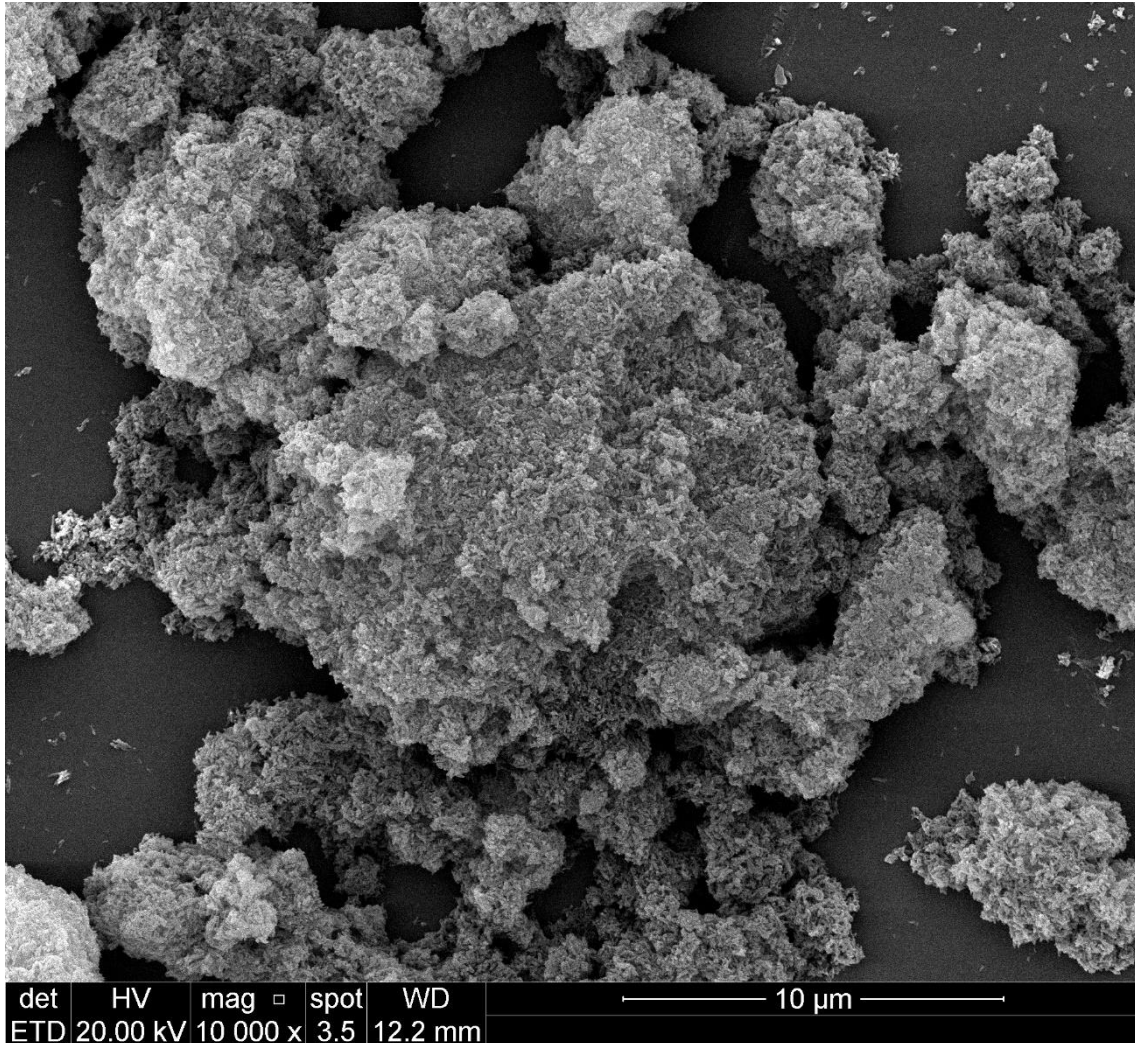


Figura 1. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA com aproximação de 10.000x.

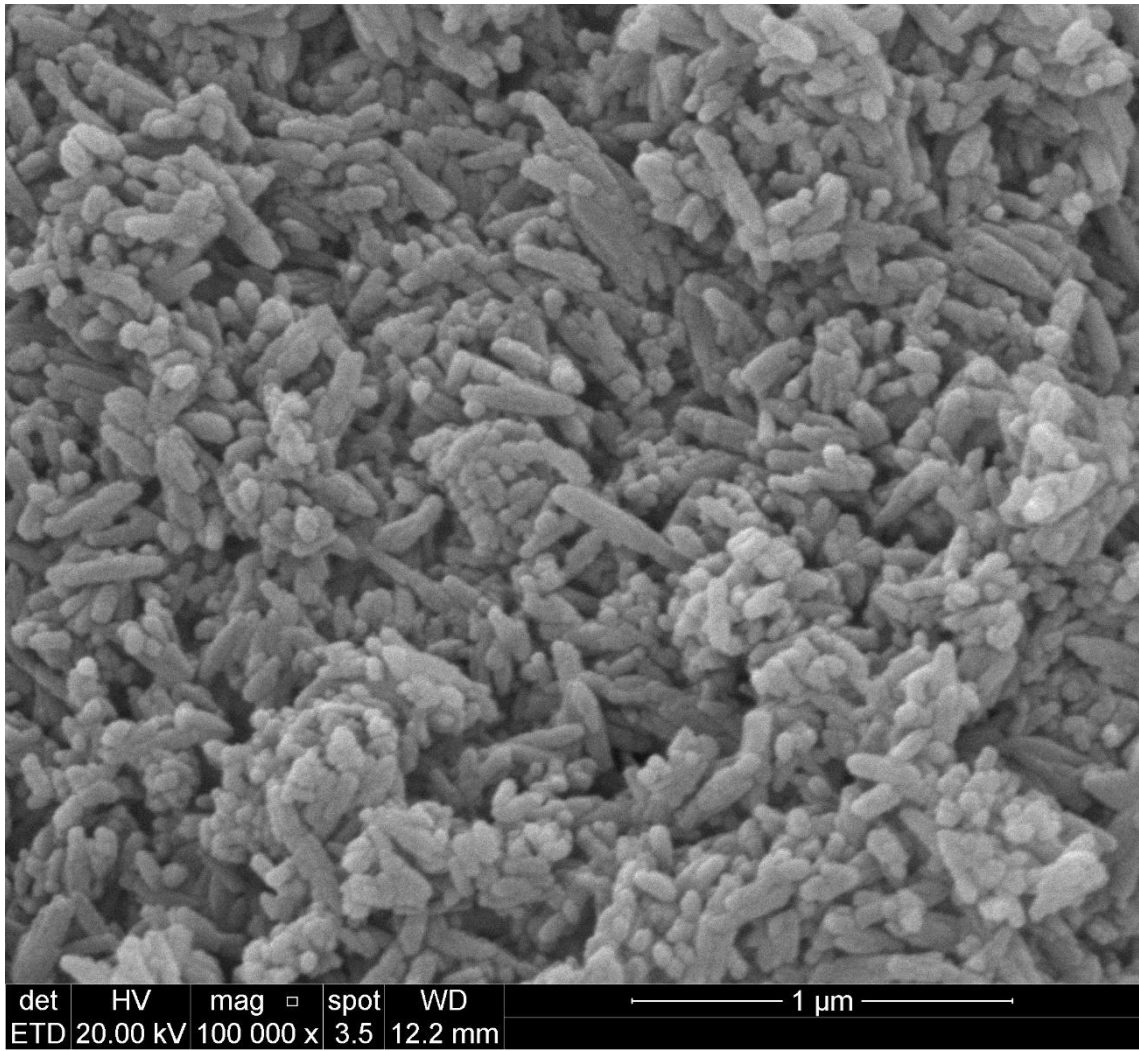


Figura 2. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA com aproximação de 100.000x.

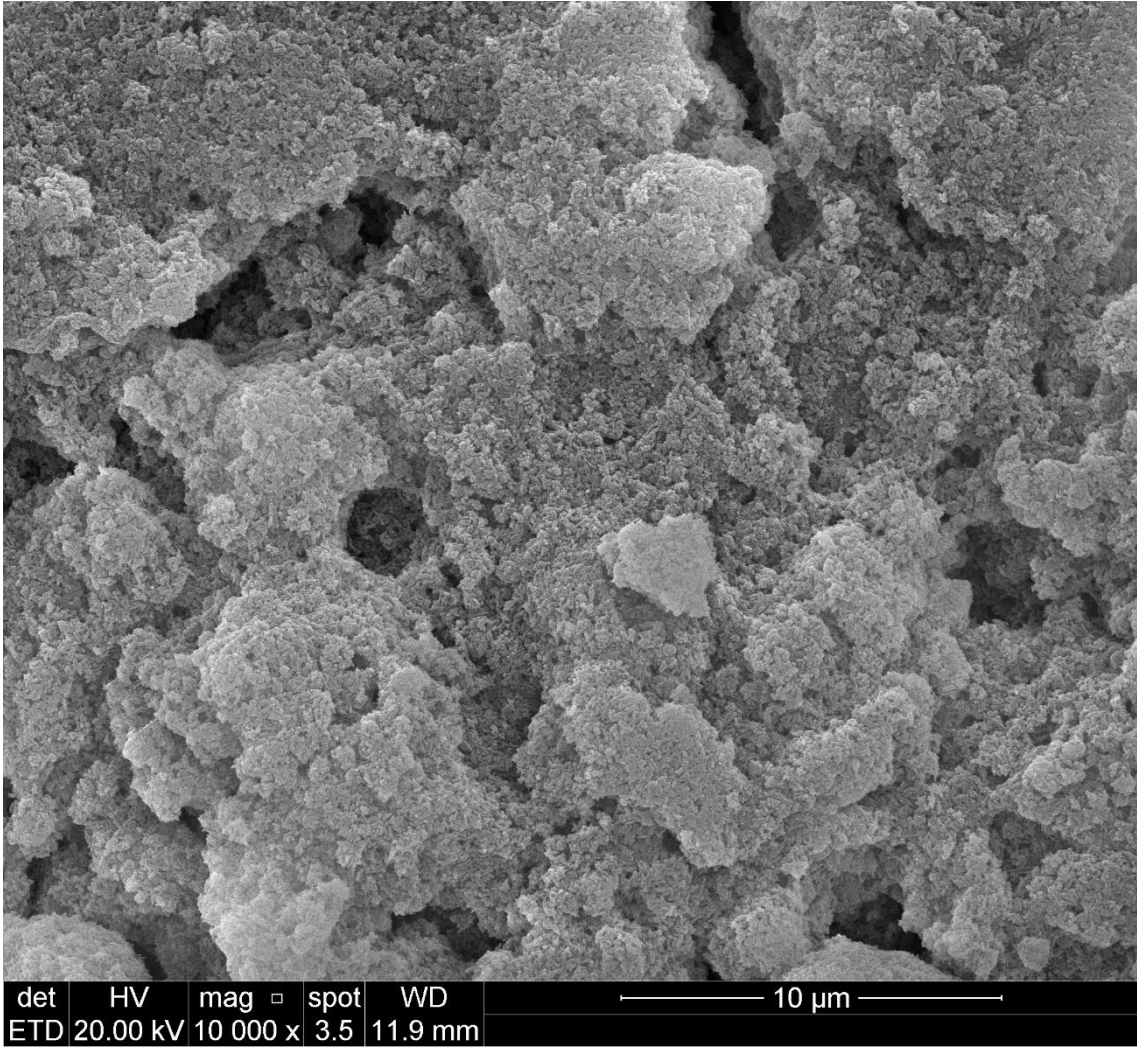


Figura 3. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-IPTES-onepot com aproximação de 10.000x.

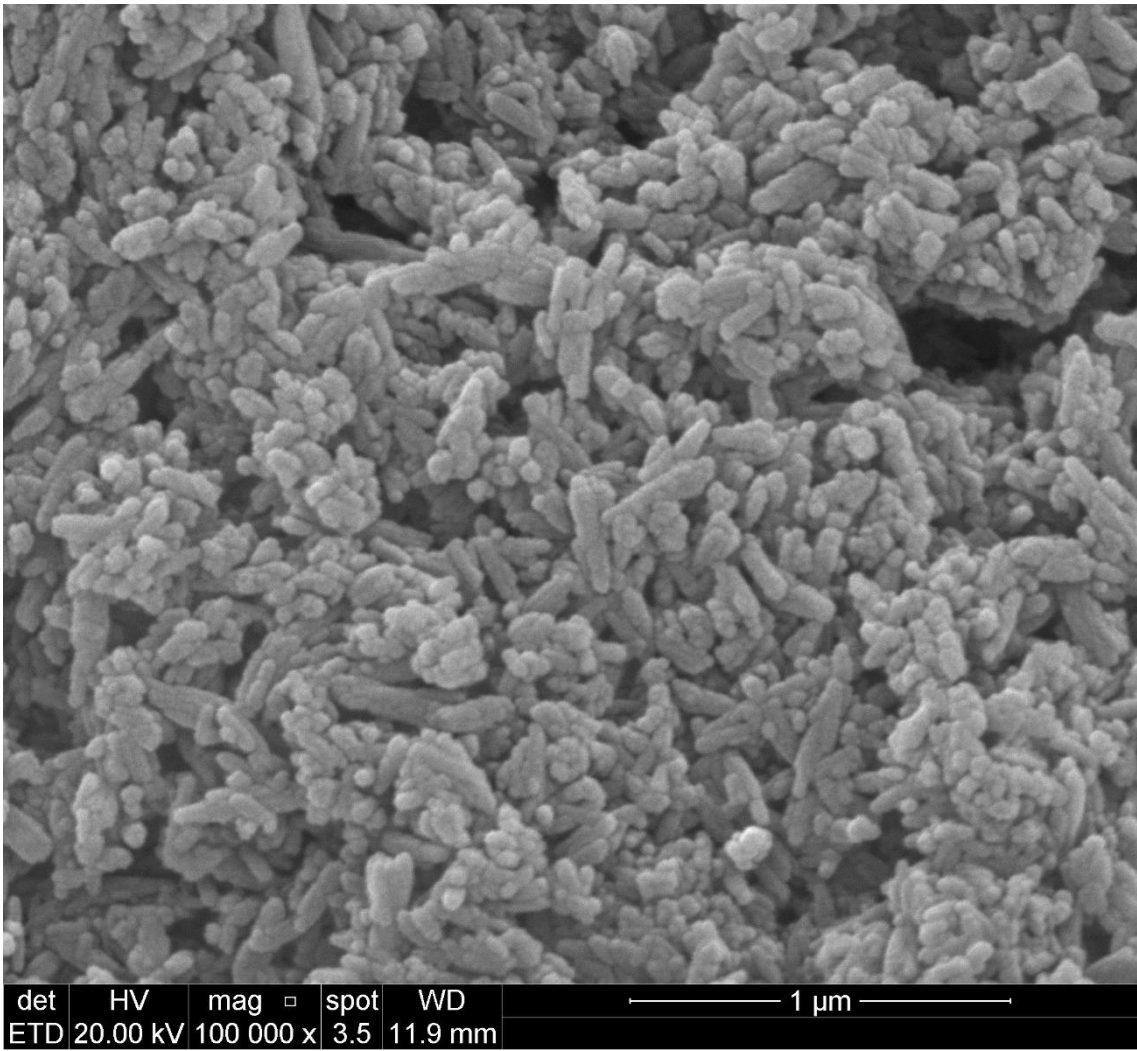


Figura 4. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-IPTES-onepot com aproximação de 100.000x.

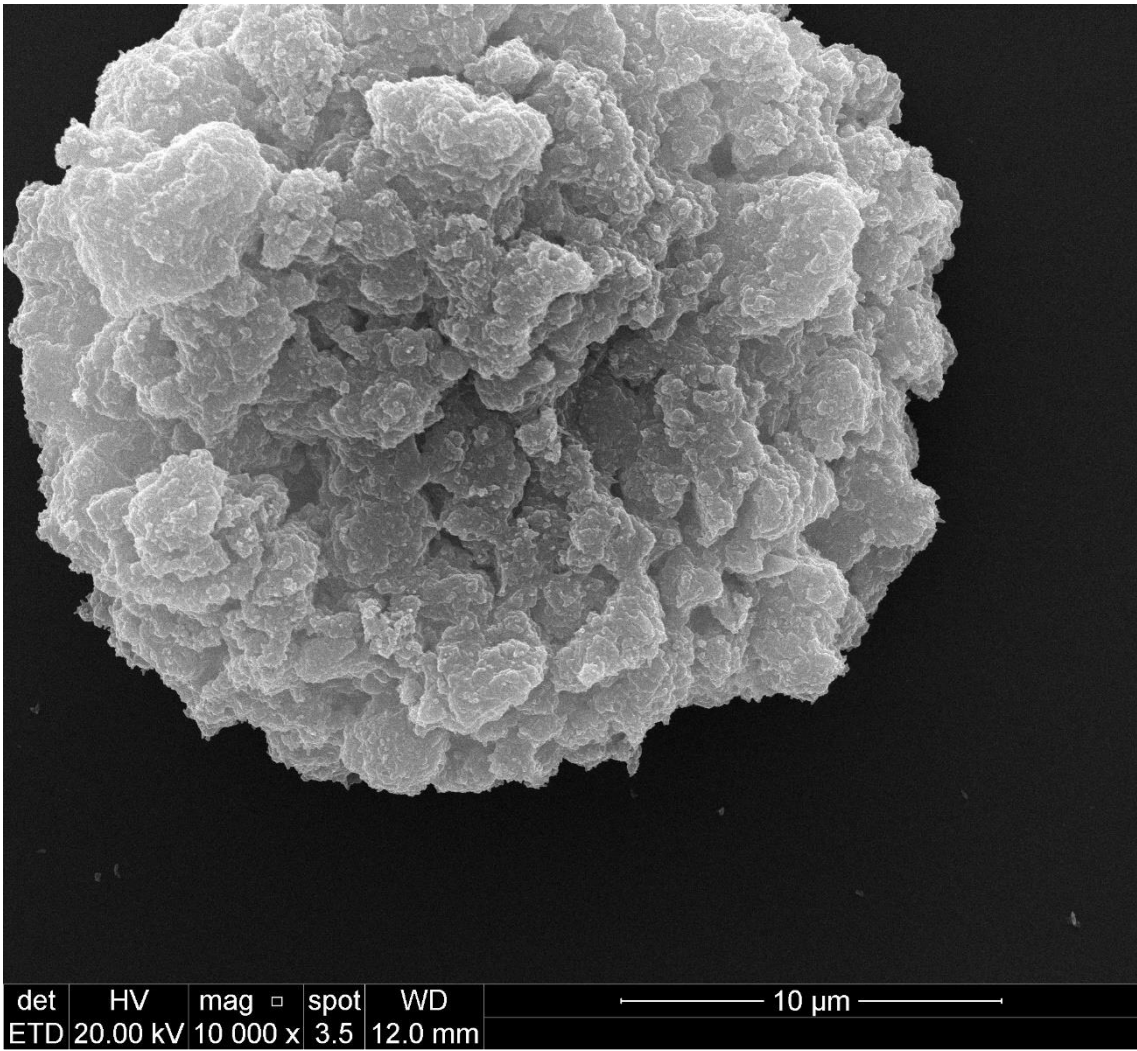


Figura 5. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-IPTES com aproximação de 100.000x.

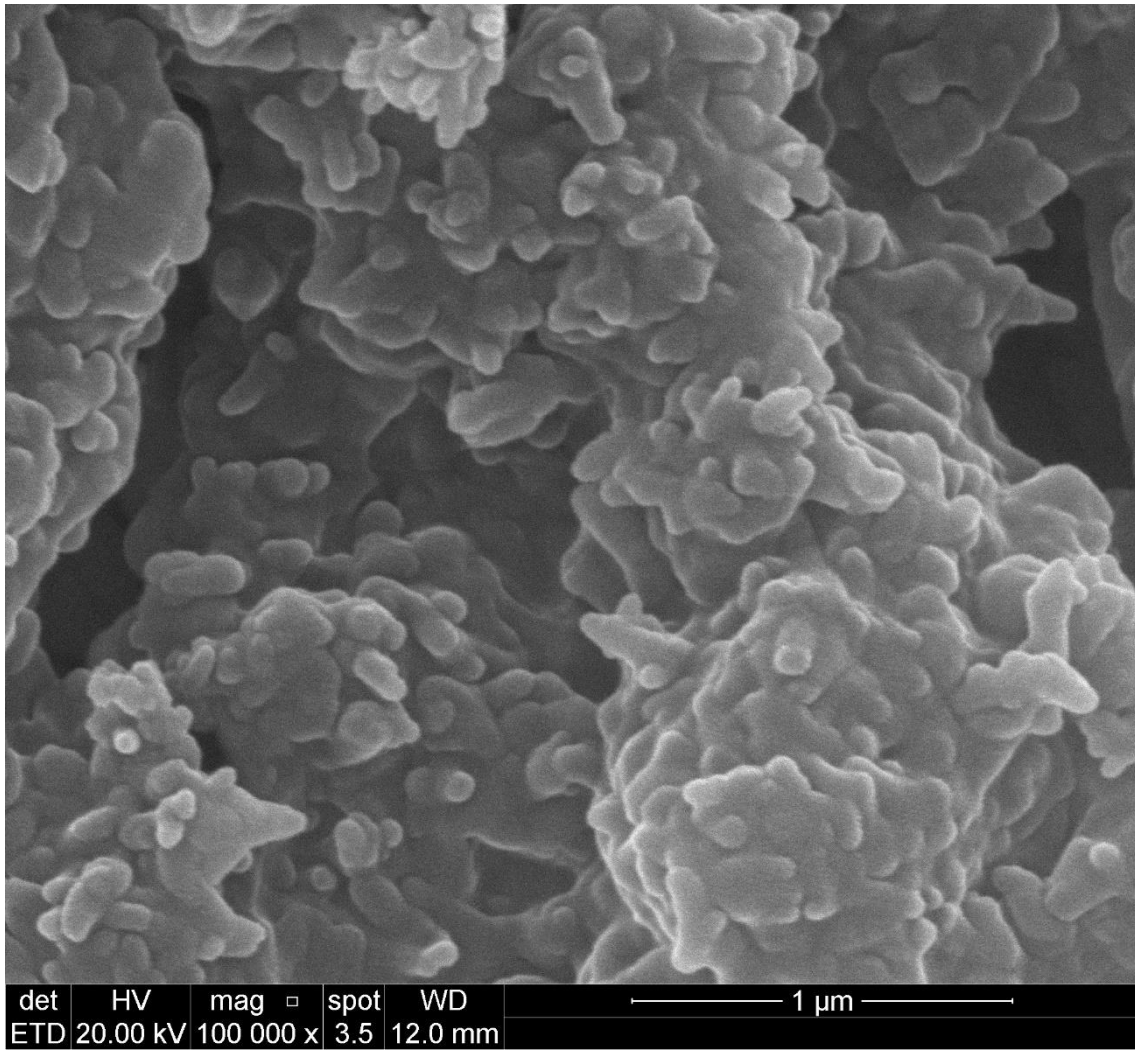


Figura 6. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-IPTES com aproximação de 10.000x.

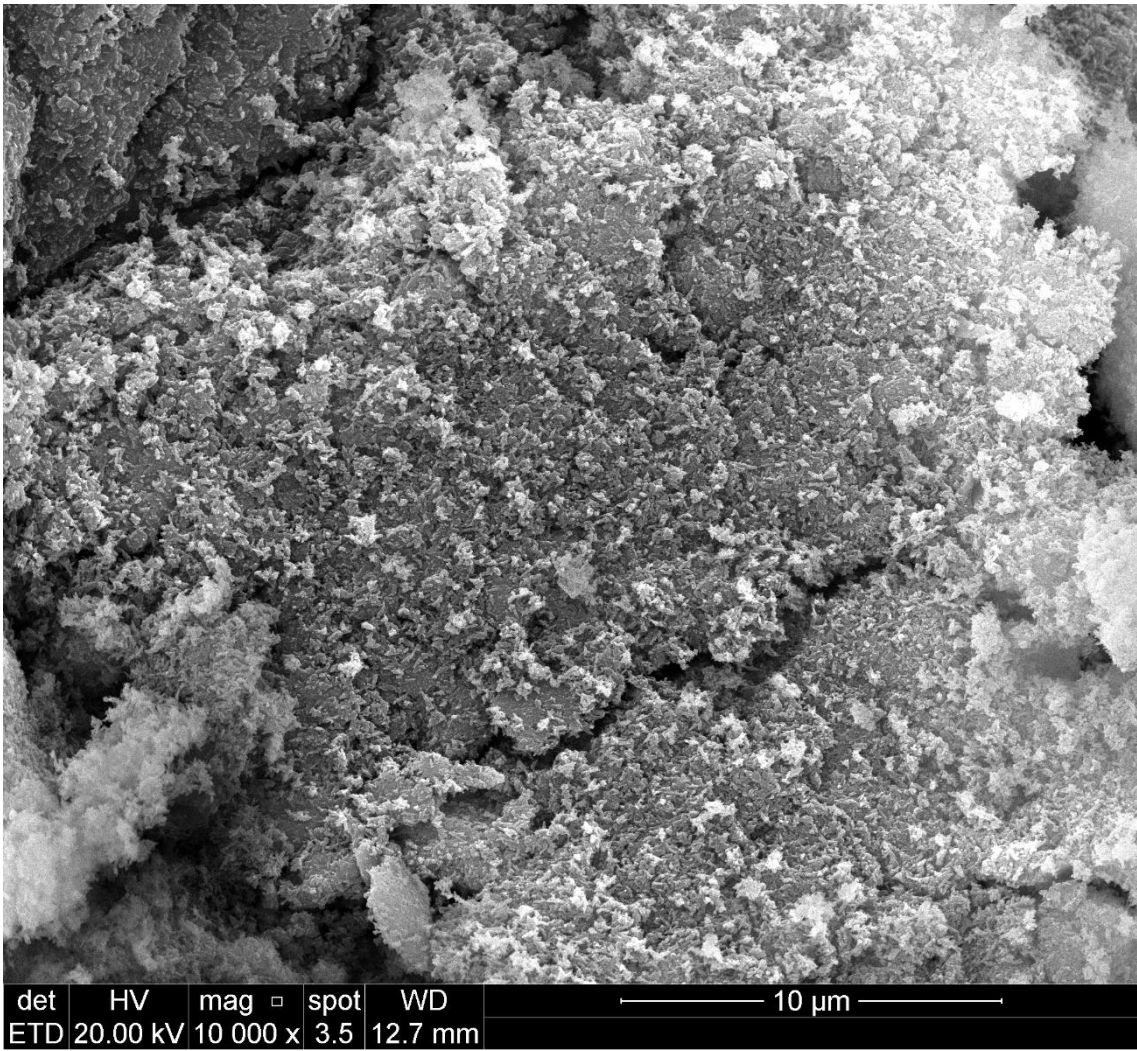


Figura 7. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-APTES com aproximação de 10.000x.

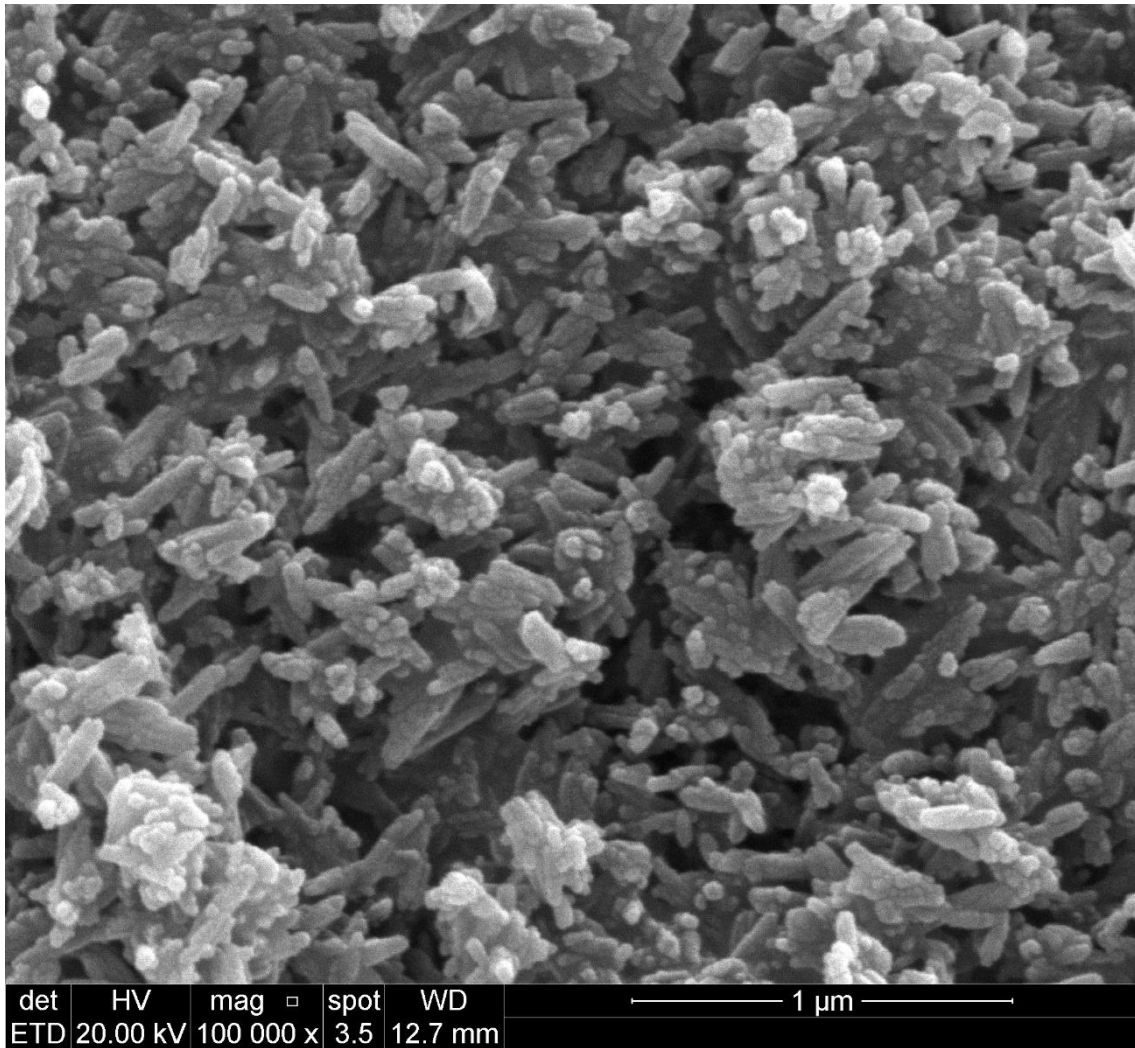


Figura 7. Fotomicrografia eletrônica de varredura da HA-HBO-APTES com aproximação de 100.000x.