



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA

BEATRIZ BATISTA DE ASSUMPÇÃO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS CONTENDO
PARTÍCULAS DE OURO E FTALOCIANINA DE CLOROALUMÍNIO**

BRASÍLIA/DF
2022

BEATRIZ BATISTA DE ASSUMPÇÃO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS CONTENDO
PARTÍCULAS DE OURO E FTALOCIANINA DE CLOROALUMÍNIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para obtenção de título de Bacharel em Química Tecnológica pelo programa de graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília-UnB.

Orientadora: Prof.^a Maria Aparecida Godoy Soler.

BRASÍLIA/DF
2022

BEATRIZ BATISTA DE ASSUMPÇÃO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS CONTENDO
PARTÍCULAS DE OURO E FTALOCIANINA DE CLOROALUMÍNIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para obtenção de título de Bacharel em Química Tecnológica pelo programa de graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília-UnB.

Orientadora: Prof.^a Maria Aparecida Godoy Soler.

Presidente de Banca (IF/UnB): Prof.^a Maria Aparecida Godoy Soler

Membro Titular (IQ/UnB): Prof. Fábio Moreira da Silva

Membro Titular (IQ/UnB): Prof. José Joaquín Linares León

Membro Suplente: Prof. Paulo Eduardo Narcizo de Souza

Brasília, 26 de setembro de 2022.

DEDICATÓRIA

Agradeço por todas as experiências que me trouxeram onde eu estou.

AGRADECIMENTO

Agradeço a todos que fizeram parte da minha caminhada até aqui. Aos professores, que foram referência em diversos momentos. Em especial, à professora Maria Aparecida. Aos meus amigos, Elô, Lê, Mari, Isa, Rafa e Caio, que estiveram comigo durante toda a jornada da graduação, me apoiando e auxiliando em diversos momentos. A minha família, que me deu o conhecimento e moral necessários para meu bom desempenho profissional e pessoal: Mãe, Lu, Bê. Agradeço ao meu namorado, Luiz, por estar presente durante meus momentos de dúvidas e de incertezas, sempre me incentivando, me escutando e me fazendo rir. Agradeço muito à Aline, que sempre esteve disposta a me ajudar e ensinar. Conciliar um estágio no Goiás com o TCC foi um grande desafio e só foi possível devido ao auxílio que tive em ambos os lugares: em Nerópolis, pela equipe de qualidade, e em Brasília, pela Aline e Débora. Por fim, agradeço a todas as pessoas que fizeram parte da minha caminhada e que foram referência, me inspirando tanto no lado pessoal quanto profissional, especialmente nos projetos de extensão dos quais fiz parte. Obrigada!

RESUMO

O presente trabalho descreve a síntese e caracterização de nanocompósitos de ouro acoplados com o composto fotossensibilizante ftalocianina de cloroalumínio. Os compósitos em nanoescala têm sido cada vez mais estudados, devido à grande possibilidade de aplicações a partir das propriedades diferenciadas. Entre essas aplicações, o uso biomédico possui potencial, visto que as reações dentro dos organismos ocorrem em nanoescala e os nanocompósitos podem ser biocompatíveis. Neste trabalho, as nanopartículas de ouro são associadas com ftalocianina de cloroalumínio para que auxilie no carreamento dessas moléculas no organismo, visto que esse fotossensibilizador (FS) é hidrofóbico. A associação desses dois compostos possui potencial de aplicação em terapia fotodinâmica (TFD), permitindo que o FS chegue no local das células-alvo. Para investigação das características e propriedades da mistura entre esses componentes, as amostras foram caracterizadas por meio das técnicas de espectroscopia no UV-VIS, FTIR-ATR e espalhamento dinâmico de luz (DLS). Identificou-se que a associação entre os dois compostos não causa alteração nos comprimentos de onda ou números de onda nos quais era esperado ter absorvância, indicando que, nas concentrações analisadas, a mistura entre os componentes não causa interferências nas suas características.

Palavras-chave: ftalocianina de cloroalumínio, terapia fotodinâmica, nanocompósitos de ouro.

ABSTRACT

The present work describes the synthesis and characterization of gold nanocomposites coupled with the photosensitizing compound chloroaluminum phthalocyanine. Nanoscale composites have been increasingly studied, given the great possibility of applications from their different properties. Among these applications, biomedical use has potential, as reactions within organisms occur at the nanoscale and nanocomposites can be biocompatible. In this work, gold nanoparticles are associated with chloroaluminum phthalocyanine to help carry these molecules in the body, since this photosensitizer is hydrophobic. The association of these two compounds has potential application in photodynamic therapy (PDT), allowing the photosensitizer to reach the target cells. To investigate the characteristics and properties of the mixture between these components, the samples were characterized using UV-VIS, FTIR-ATR and dynamic light scattering (DLS) spectroscopy techniques. It was identified that the association between the two compounds does not change the wavelengths or wave numbers at which they were expected to have absorbance, indicating that, at the concentrations analyzed, the mixture between the components does not interfere with their characteristics.

Keywords: chloroaluminum phthalocyanine, photodynamic therapy, gold nanocomposites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução da estrutura eletrônica do ouro como parâmetro a energia (LOUIS e PLUCHERY, 2012).....	19
Figura 2 – Representação das moléculas de Pluronic® em configuração não micelar, com concentração < CMC; e em regime micelar, com concentração > CMC. Adaptado de GOMES, 2018.....	22
Figura 3 – Representação esquemática das etapas na síntese de nanopartículas de ouro com Pluronic®. Etapa 1: formação de clusters; Etapa 2: Formação de nanopartículas; Etapa 3: Crescimento e estabilização de nanopartículas. Retirado de (SAKAI e ALEXANDRIDIS,2005)	25
Figura 4 - Fórmula estrutural do Pluronic® F-127. (a) em duas dimensões; (b) em três dimensões e visão frontal; (c) em três dimensões e visão superior-lateral. (PubChem, 2022)....	26
Figura 5 - Estrutura da ftalocianina de cloro alumínio. (Sigma-Aldrich, 2022)	28
Figura 6 - Gráfico da absorbância no UV-VIS da molécula AICIPc e suas duas bandas características. (i) molécula sozinha; (ii) na presença de fluido magnético. (IDOWU e NYOKONG, 2007).....	29
Figura 7 - Coloração das soluções. (a) Incolor: logo após a mistura dos reagentes; (b) Pink-avermelhado: ao final da reação, catalisada por radiação UV; (c) Roxo: ao longo da reação, sem catalisador.....	32
Figura 8 - Eppendorfs contendo duas fases logo após a centrifugação: sobrenadante (excesso de PLU) e AuNPs agregadas e decantadas no fundo.	33
Figura 9 - (a) Falcon de 50 mL contendo o sobrenadante dos 24 eppendorfs centrifugados; (b) Falcon de 15 mL contendo, aproximadamente, 4 mL de nanopartículas de ouro centrifugadas e decantadas.	33
Figura 10 - Gráfico de absorbância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofotômetro UV-VIS. Podemos ver o gráfico (i) preto, relativo as AuNPs com excesso de PLU; e (ii) vermelho, relativo as AuNPs, com excesso de PLU e acrescidas de 0,1 mL da solução de AICIPc.....	38
Figura 11 - Gráfico de absorbância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofotômetro UV-VIS. Podemos ver o gráfico (i) azul, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 1 H ₂ O ; e (ii) verde, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 3 H ₂ O.	39
Figura 12 - Gráfico de absorbância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofotômetro UV-VIS. Podemos ver em (a) o gráfico (i) amarelo, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 3 H ₂ O; (ii) azul, acrescido de 0,1 mL de AICIPc; (iii) verde, acrescido de 0,2 mL de AICIPc; e (iv) cinza, com diluição 1:5 e acrescido de 0,5 mL de AICIPc. Podemos ver em (b) os mesmos gráficos, acrescidos do (i) preto, AuNPs + PLU e (ii) vermelho, AuNPs + PLU + 0,1 mL AICIPc.....	40
Figura 13 – Espectros de infravermelho obtidos por ATR para solução de AICIPc; solução de nanopartículas de ouro diluídas em água; solução de nanopartículas de ouro diluídas em água e acrescidas de 0,1 MI de AICIPc; e solução de nanopartículas de ouro diluídas em água e acrescidas de 0,2 MI de AICIPc.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Au⁰: ouro metálico (estado oxidação zero);

Au¹⁺: íon de ouro no estado de oxidação +1;

Au³⁺: íon de ouro no estado de oxidação +3;

S₀: estado singleto;

S₁: estado singleto excitado;

T₁: estado tripleto excitado;

1_{o₂}: oxigênio em estado singleto;

3_{o₂}: oxigênio em estado tripleto;

[HAuCl₄]: concentração do ácido tetracloroáurico;

[PLU]: concentração de Pluronic® F-127;

AlCl₃Pc: ftalocianina de cloroalumínio;

AuCl₄⁻: íons de tetracloroaurato;

AuNP + PLU: Nanopartícula de ouro com excesso de PLU;

AuNP: Nanopartícula de ouro;

AuNP-PLU: Nanopartícula de ouro revestida com PLU;

CMC: concentração micelar crítica;

C-O-C: grupo éter;

DLS: espalhamento dinâmico de luz;

EROS: espécies reativas de oxigênio;

FS: fotossensibilizante;

FTIR: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier;

FTIR-ATR: espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier com aquisição por refletância total atenuada;

HAuCl₄: ácido cloroáurico;

HCl: ácido clorídrico;

HNO₃: ácido nítrico;

IR: infravermelho.

LMCT: transferência de carga ligante-metal;

LSPR: ressonância de plasmon de superfície localizada;

PDI: índice de polidispersão;

PEO: Poli (óxido de etileno);

PEO-PPO-PEO: copolímero tribloco anfifílico;

PLU: Pluronic® F-127;

TFD: terapia fotodinâmica;

UV-VIS: região do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético;

Z: diâmetro hidrodinâmico médio;

λ : comprimento de onda;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo entre propriedades do átomo de ouro com a de átomos do mesmo grupo, cobre e prata.....	16
Tabela 2 - Comparativo entres os diferentes tipos de Pluronic®, de acordo com sua composição. Destaque para o Pluronic® F-127, utilizado neste trabalho.....	21
Tabela 3 - Relação das amostras preparadas para caracterização e sua composição.....	34
Tabela 4 – Identificação dos principais picos observadas no FTIR-ATR.....	42
Tabela 5 - Identificação das amostras analisadas no DLS, seu tamanho médio de partículas e seu índice de polidispersão médio.	44

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1.	OURO.....	16
3.2.	PLURONIC®	21
3.3.	ETAPAS DE FORMAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO	23
3.4.	TERAPIA FOTODINÂMICA.....	26
3.5.	FTALOCIANINA DE CLOROALUMÍNIO	28
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1.	REAGENTES E SOLUÇÕES	30
4.2.	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	31
4.3.	CENTRIFUGAÇÃO DA SOLUÇÃO DE AuNPs COM EXCESSO DE PLU	32
4.4.	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	34
4.5.	CARACTERIZAÇÕES	35
4.5.1.	Espectrofotômetro UV-VIS	35
4.5.2.	Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....	35
4.5.3.	Espalhamento dinâmico de luz (DLS).....	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1.	ESPECTROFOTÔMETRO UV -VIS	37
5.2.	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR - ATR).....	41
5.3.	ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS).....	42
6.	CONCLUSÃO	45
7.	REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia, segundo o Comitê Técnico da Organização Internacional de Padronizações (ISO – TC) pode ser definida como a “compreensão e controle da matéria e processos em escala nanométrica, onde uma ou mais dimensões são menores ou iguais a 100 nanômetros, em que o aparecimento de propriedades decorrentes da dimensão permite novas aplicações”. Portanto, a síntese de compostos em escala nanométrica permite que propriedades diferenciadas dos materiais, devido à nano escala, sejam observadas, estudadas e aplicadas em novas tecnologias. Dessa forma, a área de nanotecnologia possui grande potencial de crescimento contribuindo para o desenvolvimento de novas aplicações como, por exemplo, maior contraste em diagnósticos por imagem, sensores biológicos e agentes de entrega de fármacos direcionados (*Drug Delivery Systems*). (SIMOES e TAKEDA, 2015; PY-DANIEL et al., 2016; SHARMAN et al., 1999)

Nesse contexto, as nanopartículas de ouro podem ser empregadas como carreadores de fármacos, devido ao seu tamanho e ao seu caráter anfifílico, o qual permite que substâncias hidrofóbicas sejam transportadas em meios biológicos, hidrofílicos. Além disso, na escala nanométrica, as nanopartículas de ouro possuem propriedades únicas, devido à maior presença dos efeitos quânticos nas características observadas. Em adição, as aplicações no campo da medicina são facilitadas porque muitas reações e interações no sistema ocorrem em nano escala (SIMOES e TAKEDA, 2015; PY-DANIEL et al., 2016)

A terapia fotodinâmica (TFD) tem sido estudada devido à eficiência no tratamento de doenças localizadas. Ela consiste na aplicação de uma molécula fotossensibilizante no local patogênico, seguido da sua exposição à iluminação, a qual induz a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) pela molécula – neste trabalho, a ftalocianina de cloroalumínio. As espécies reativas de oxigênio causam a morte das células. No caso da terapia fotodinâmica, essa morte é seletiva, somente das células patogênicas, que foram expostas à molécula fotossensibilizante. Portanto, uma grande vantagem da TFD frente a outros tratamentos tradicionais contra o câncer é a diminuição de efeitos colaterais ocasionados pela morte de células saudáveis. Dessa forma, seu estudo é importante para uma possível viabilização de tratamento que seja o menos invasivo possível e vise a qualidade de vida do paciente. (PY-DANIEL et al., 2016; SHARMAN et al., 1999)

As ftalocianinas possuem potencial de aplicação na TFD devido ao seu caráter fotossensibilizante - ou seja, sofrem excitação quando expostas à luz. No caso da ftalocianina complexada com cloro e com alumínio, observa-se características mais especiais, como maior

fotoestabilidade e atividade fotodinâmica. Essas propriedades se relacionam diretamente com a capacidade de ocasionar a morte celular das células-alvo. Porém, as ftalocianinas são hidrofóbicas, o que dificulta seu uso em organismos biológicos, cujas reações ocorrem em meio aquoso. Portanto, é necessário que tenha uma molécula anfifílica para auxiliar na sua administração. No presente trabalho, é estudado o acoplamento da ftalocianina de cloro alumínio com nanopartículas de ouro, visando viabilizar a presença da ftalocianina em meios hidrofílicos e entender o potencial de aplicação desse nanocompósito na TFD. (ALISSON e SIBATA, 2010; GOTO, 2016)

Embora a caracterização das nanopartículas de ouro e da ftalocianina já sejam conhecidas, ainda há lacunas a respeito da sua associação, tanto em relação à metodologia quanto em relação aos resultados da caracterização. Ter um entendimento melhor sobre esse nanocompósito permite que tentemos suprir essas lacunas e, dessa forma, haja maior clareza sobre o seu potencial na TFD, possivelmente estimulando futuras pesquisas e tecnologias, as quais poderão trazer maior conforto e segurança aos pacientes com câncer. (SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005; IDOWU e NYOKONG, 2007)

Portanto, a partir das caracterizações de espectrofotometria de absorção no UV-VIS, espectrofotometria com transformada de Fourier (FTIR) e espalhamento dinâmico de luz (DLS) busca-se observar o comportamento e as características das nanopartículas de ouro e destas acrescidas de ftalocianina de cloro alumínio. Dessa forma, o objetivo do trabalho é preparar os nanocompósitos e analisar criticamente os resultados das caracterizações.

2. OBJETIVOS

Este trabalho faz parte dos objetivos do projeto “Nanocompósitos Poliméricos: Síntese, Propriedades e Aplicações Biomédicas”, projeto em desenvolvimento desde 2021 e financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Este trabalho tem como objetivo a síntese e a investigação das propriedades de nanocompósitos contendo nanopartículas de ouro e o copolímero Pluronic® F-127, sintetizados à temperatura ambiente, e adicionados do fotossensibilizador ftalocianina de cloroalumínio. Objetiva-se, também, investigar a presença de características que indiquem a possibilidade de sua aplicação em terapia fotodinâmica.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese do nanocompósito contendo nanopartículas de ouro usando o protocolo de Alexandridis (2005), descrito em Gomes (2018);
- Acoplamento de molécula fotossensibilizadora, ftalocianina de cloroalumínio, ao nanocompósito;
- Caracterização dos nanocompósitos sintetizados;
- Análise dos resultados.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. OURO

O ouro é um metal de grande importância, não só científica, como também histórica e social. Já foi símbolo de riqueza e de pureza, já motivou guerras e explorações, sendo utilizado até como sistema monetário. Nos dois últimos séculos, despertou o fascínio de cientistas, que se dedicaram ao seu estudo e de suas propriedades. Portanto, a relação com o ouro deixou de ser somente emotiva e subjetiva – embora para o público leigo ainda o seja - e se tornou também racional e científica. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Grande parte do fascínio pelo ouro se deve às suas características únicas, as quais o distanciam das tendências de propriedades físicas e químicas dos outros metais que também fazem parte do grupo 11 na Tabela Periódica de Elementos. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Tabela 1 - Comparativo entre propriedades do átomo de ouro com a de átomos do mesmo grupo, cobre e prata.

Propriedades	Cu	Ag	Au
Número atômico	29	47	79
Massa atômica (uma)	63,55	107,868	196,9665
Configuração eletrônica	[Ar]3d ¹⁰ 4s ¹	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ¹
Estrutura cristalina	fcc	fcc	fcc
Raio metálico (nm)	0,128	0,14447	0,14420
Densidade (g.cm ⁻³)	8,95	10,49	19,32
Temperatura de fusão (K)	1356	1234	1337
Entalpia de sublimação (kJ. mol ⁻¹)	337±6	285±4	343±11
Energia de primeira ionização (kJ. mol ⁻¹)	745	731	890
Resistividade elétrica em 293 K (micro-ohm cm)	1,67	1,59	2,35
Limiar de transição interbanda /eV	3d → 4s	4d → 5s	5d → 6s
/nm	2,1	3,9	1,84
	590	318	674

Fonte: Retirado da tabela de LOUIS e PLUCHERY, 2012.

Algumas características sobre o ouro podem ser aferidas a partir da tabela acima. Sua estrutura cristalina e raio metálico pequeno fazem com que o ouro metálico seja maleável. Por

outro lado, possui alta densidade, o que é esperado quando comparamos o seu valor de massa atômica com os outros elementos. A sua proporção entre um raio metálico relativamente baixo e um alto número atômico indicam a força da sua ligação, podendo ser observada no valor mais elevado de energia de primeira ionização.

Mais recentemente, novas características a respeito do ouro ganharam o interesse da comunidade científica: as suas propriedades únicas quando em escala nanométrica – ou seja, tamanho menor do que 100 nanômetros. Nesse tamanho, o ouro possui diferenças em relação a cor, propriedades ópticas, resistividade elétrica, atividade catalítica, entre outras, quando comparado com o seu estado “*bulk*” (Au_0). Ainda que tenhamos a utilização de nanopartículas de ouro desde o período medieval – como no seu uso para manufatura de vidro colorido – sua utilização em escala nanométrica não era intencional em relação ao tamanho das partículas, mas sim às características do produto final. (LOUIS e PLUCHERY, 2012; GOMES, 2018)

Essas diferenças de propriedades se devem ao fato de que, quanto menor o tamanho, maior a influência dos efeitos quânticos, relativísticos e de superfície. As características do ouro, que fazem com que ele seja tão adequado a suas aplicações tecnológicas, devem-se justamente ao efeito relativístico na sua estrutura eletrônica e de seus compostos. (GOMES, 2018; LOUIS e PLUCHERY, 2012)

3.1.1. Contração relativística do raio atômico do ouro e expansão indireta relativística dos orbitais d e f

Equações de onda relativísticas (no caso, equação de Dirac)* e efeitos relativísticos não influenciam significativamente as características de átomos com baixo número atômico. Entretanto, quando esse valor é superior a $Z=50$, os elétrons mais internos são afetados pela carga nuclear e, como uma forma de manter equilíbrio e minimizar os efeitos do alto campo eletrostático, os elétrons adquirem altas velocidades, próximas à velocidade da luz (c). Essa grande velocidade desencadeia dois efeitos, de acordo com a Teoria Relativística de Einstein:

(a) Aumento da massa (M), de acordo com a equação (1):

$$M = M_0 / (1 - v^2 / c^2)^{1/2} \quad (1)$$

(b) Diminuição do comprimento (L), de acordo com a equação (2):

$$L = L_0(1 - v^2/c^2)^{1/2} \quad (2)$$

Onde M_0 e L_0 são, respectivamente, os valores de massa e comprimento no estado estacionário, v é a velocidade dos elétrons e c é a velocidade da luz. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

O efeito relativístico torna a velocidade do elétron no orbital $1s$ do átomo de ouro igual a 58% da velocidade da luz. Ao relacionarmos esse valor com a equação (1) temos que a massa é aumentada em 20%. Como consequência desse efeito também há o encurtamento do orbital $1s$, causando, assim, o encurtamento dos demais orbitais s . Essa diminuição de L pode ser observada nos orbitais p , embora em menor dimensão. O efeito relativístico de contração é especialmente significativo para o ouro: o raio da camada $6s$, considerando o efeito relativístico, representa 83% do raio teórico, não relativístico. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Por outro lado, os elétrons nos orbitais d e f são minimamente afetados pela contração relativística, visto que o potencial centrífugo $(l(l+1)/r^2 -$ onde l é o número quântico secundário e r o rádio atômico) os mantém afastados do núcleo. Além disso, o encurtamento relativo dos orbitais mais próximos, s e p , faz com que os mais afastados tenham um potencial efetivo mais eficiente. Portanto, os orbitais d e f aumentam em energia e se deslocam no sentido núcleo para camada de valência do átomo. Esse efeito é a expansão indireta relativística do orbital. Portanto, os efeitos relativísticos facilitam a interação dos elétrons de camada d com outras substâncias, com as quais podem vir a reagir. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Ao tratar dos lantanídeos é importante abordar um outro efeito ao qual estão submetidos: a contração dos lantanídeos. Esse efeito é causado por conta da ineficiência dos elétrons da subcamada $5f$ de blindar os elétrons das subcamadas $5d$ e $6s$ do aumento da carga nuclear. Isso posto, a incapacidade dos elétrons em $5d$ e $6s$ de ocuparem os orbitais esperados faz com que eles sejam atraídos em direção ao núcleo. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Portanto, os efeitos apresentados têm relevância na investigação de propriedades singulares do ouro. Entretanto, o efeito relativístico é o único que leva a efeitos seletivos nos tamanhos e energias de camadas e subcamadas do átomo. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

3.1.2. Propriedades Ópticas

A diminuição relativística da distância entre a camada $5d$ e o nível de Fermi (nível ocupado mais energético) $6s$ é responsável pela absorbância óptica do ouro na região visível (400-700 nm). O limiar de transição interbandas, presente na Tabela 1 exemplifica o quanto o efeito relativístico facilita a excitação e a transição eletrônica do elétron. O valor desse limiar sendo 1,84 eV para o ouro indica que ondas na região do vermelho são capazes de excitar o átomo de ouro. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Na imagem abaixo podemos ver o efeito da estrutura de ouro sobre a energia da molécula. Para um átomo, os níveis eletrônicos são discretos. Já para o dímero Au-Au, vemos a divisão dos níveis de energia. Por fim, para a estrutura cristalina há um aumento na degeneração dos níveis de energia: a banda d surge do orbital e é completamente ocupada pelos elétrons; a banda s – banda de condução - é parcialmente ocupada. Dessa forma, o aporte de energia em forma de luz ao sistema pode causar uma transição eletrônica interbanda – entre duas diferentes orbitais – e intrabanda – dentro do mesmo orbital – como representado na Figura 1. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

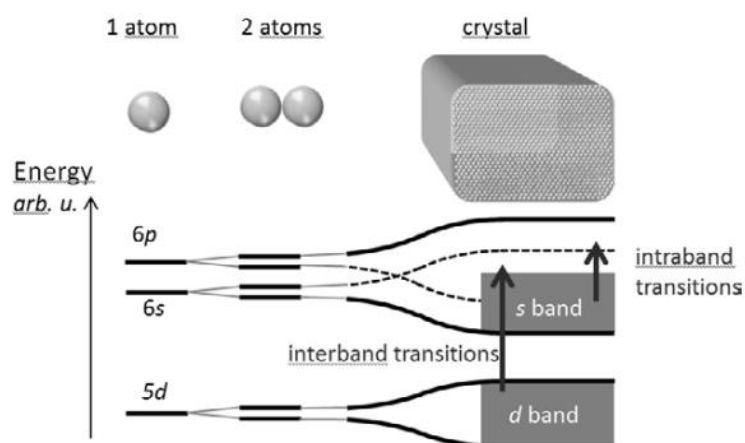


Figura 1 - Evolução da estrutura eletrônica do ouro como parâmetro a energia (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

3.1.3. Propriedades Químicas

O ouro é característico por sua facilidade de ativação dos elétrons $5d$ e pela sua propensão em adquirir mais um elétron, para completar a camada $6s$, ao invés de perder o elétron presente nesse orbital em seu estado fundamental. A partir dessas características podemos explicar a capacidade do ouro de mais facilmente formar ânions Au^{-1} e de ter mais afinidade eletrônica e maior energia de primeira ionização quando comparado com o cobre e a prata. Conseqüentemente, vemos uma predominância do estado Au^{III} ($5d^8$). A dissolução do ouro requer um agente redutor (oxidante) e um ligante estabilizante. Na síntese das

nanopartículas de ouro vemos esse princípio nos reagentes utilizados. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

A ligação e interação entre dois átomos de ouro é regida por uma força característica, a aurofilicidade. Em compostos que contenham mais de um átomo de Au^I, a distância entre eles é relativamente curta, indicando que há a presença de algum tipo de ligação entre eles (atração aurofílica). O efeito também pode ser observado quando os átomos de ouro estão em moléculas diferentes, mas que estão muito próximas. Essa ligação surge a partir da dispersão das forças da molécula, embora seja mais forte do que as forças de van der Waals. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

3.1.4. Dependência do tamanho e Efeito Plasmônico

Algumas mudanças nas propriedades físicas e químicas do ouro podem ser observadas quando há decréscimo no seu tamanho, especialmente quando se trata de nanopartículas. Isso porque a primeira grande consequência observada quando há diminuição de tamanho é o aumento da razão superfície/volume. Esse aumento se deve ao fato de que os átomos de superfície passam a representar uma porcentagem expressiva em relação ao total de átomos da partícula. Assim, há uma diminuição no número de átomos vizinhos – e do número de coordenação – o faz com que tenha uma maior liberdade vibracional, resultando na diminuição do ponto de fusão. (LOUIS e PLUCHERY, 2012)

Além disso, a diminuição do tamanho faz com que os elétrons em 6s, orbital de condução, estejam mais influenciáveis pela atividade de um campo elétrico externo. Dessa forma, pode-se considerar esses elétrons como livres, havendo o deslocamento de uma nuvem eletrônica em função do campo elétrico, a qual origina um plásmom com centro fixo. (GOMES, 2018)

A oscilação ressonante e coerente dos elétrons livres do ouro induzida por um campo elétrico é chamada de ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR). Quando há LSPR, a absorção é máxima e é visualizada na forma de banda plasmônica na região UV-VIS. Essa banda fornece informações características sobre as nanopartículas, pois ocorre em frequências específicas e pode ser associada à cor da nanopartícula – visto que emite a cor complementar à absorvida. Conforme há aumento no tamanho das nanopartículas, atingindo a ordem de grandeza do comprimento de onda da luz visível, passamos a ter outro efeito, além da absorção, como contribuição do efeito plasmônico. Por conta do maior tamanho das partículas, há uma mudança de fase da onda ainda dentro da partícula, gerando seu retardamento. Dessa

forma, há um aumento no comprimento de onda – ou seja, uma diminuição na frequência de ressonância plasmônica. No caso das nanopartículas de ouro, podemos ver esse efeito claramente pela sua mudança de cor: para partículas menores, emissão em *pink* avermelhado, e para partículas maiores, emissão em roxo. (GOMES, 2018)

3.2. PLURONIC®

Para formação de nanocompósitos de ouro pelo método de Sakai, Alexandridis é necessário que tenhamos dois reagentes: uma fonte de ouro e uma molécula responsável pela sua redução e pela estabilização da nanopartícula de ouro ao longo das etapas de síntese. Algumas substâncias que podem ser utilizadas visando esse protocolo de síntese pertencem à uma família de moléculas conhecidas comercialmente como Pluronic®. Esses polímeros são anfifílicos, possuem um centro hidrofílico e agente redutor, doador de elétrons, e um centro com hidrofobicidade, permitindo a interação com substâncias hidrofóbicas. É possível identificar esses centros na Figura 02 e na Figura 04. Além disso, garantem estabilidade das nanopartículas de ouro de forma estérica, ou seja, seu tamanho grande é responsável por impedir a aproximação das nanopartículas, garantindo estabilidade. (SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

Os Pluronic® são copolímeros de bloco que possuem a estrutura PEO-PPO-PEO, na qual PEO é Poli (óxido de etileno) e PPO é Poli (óxido de propileno). Os polímeros se diferenciam de acordo com o tamanho das cadeias de PEO e de PPO, com o peso molecular do copolímero e com a razão entre PEO/PPO. Essas propriedades determinam as características da síntese e do produto. (SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

Tabela 2 - Comparativo entres os diferentes tipos de Pluronic®, de acordo com sua composição. Destaque para o Pluronic® F-127, utilizado neste trabalho.

Pluronic®	peso molecular	PEO wt%	PPO block mol wt	PEO block mol wt	cmc, mM (25°C)	fórmula nominal
P65	3400	50	1700	1700	38,22	EO ₁₉ PO ₂₉ EO ₁₉
F68	8400	80	1680	6720	320,5	EO ₇₆ PO ₂₉ EO ₇₆
P85	4600	50	2300	2300	8,695	EO ₂₆ PO ₄₀ EO ₂₆
F88	11400	80	2280	9120	11,51	EO ₁₀₃ PO ₃₉ EO ₁₀₃

P104	5900	40	3540	2360	0,508	EO ₂₇ PO ₆₁ EO ₂₇
P105	6500	50	3250	3250	0,461	EO ₃₇ PO ₅₆ EO ₃₇
F108	14600	80	2920	11680	3,082	EO ₁₃₂ PO ₅₀ EO ₁₃₂
P123	5750	30	4025	1725	0,052	EO ₁₉ PO ₆₉ EO ₁₉
F127	12600	70	3780	8820	0,555	EO ₁₀₀ PO ₆₅ EO ₁₀₀
PEO	6000	100	0	6000		EO ₁₃₆

Fonte: Retirado de tabela de SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005.

Devido ao seu caráter anfifílico, proveniente dos blocos que os constituem, os Pluronic® tendem a se organizar de diferentes formas, dependendo do meio no qual se encontram. Em solução aquosa, seu arranjo é dependente da concentração micelar crítica (CMC). Quando a concentração de PLU está abaixo da CMC, as moléculas tendem a se dispersar perto da superfície da solução, devido ao seu bloco hidrofóbico. Com a concentração de PLU acima da CMC, a superfície da solução fica saturada e as moléculas passam a se distribuir de forma mais organizada, formando estruturas micelares (*core-shells*). Essas estruturas micelares se aproximam entre si pela sua afinidade hidrofóbica (PPO) – ou seja, pelo centro das suas estruturas (*core*). Dessa forma, as pontas hidrofílicas (PEO) ficam expostas, tendo contato com a água e sendo a ponta da micela (*shells*). Esse movimento de atração de partes com afinidade e diminuição de contato com partes que não são afins torna o sistema estável. Além de gerar estabilidade, esse arranjo torna possível a incorporação de outras moléculas na estrutura, como fármacos, e facilita a formação das nanopartículas, por meio da complexação dos íons de ouro. (GOMES, 2018; DELCIO DALATAN, 2012)

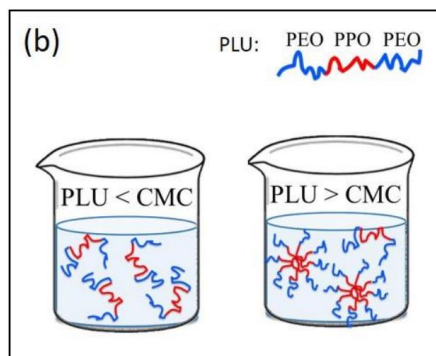


Figura 2 – Representação das moléculas de Pluronic® em configuração não micelar, com concentração < CMC; e em regime micelar, com concentração > CMC. Adaptado de GOMES, 2018.

Sakai e Alexandridis (2005) analisou com maior profundidade a relação entre o tamanho dessas cadeias e características na formação das nanopartículas, como tempo de reação, tamanho das partículas, estabilidade coloidal e redução do íons metálicos. Além disso, a partir das observações, pode-se inferir as principais etapas na formação das nanopartículas de ouro através do método proposto.

Ambos os blocos constituintes do polímero (PEO e PPO) são importantes para a redução da fonte de ouro e para a formação e estabilização da partícula. O que Sakai e Alexandridis (2005) puderam interpretar a partir de seus resultados é que eles possuem maior influência em diferentes etapas da formação das nanopartículas. Enquanto o PEO domina mais os estágios iniciais da síntese, o PPO é responsável por auxiliar nas etapas finais. As etapas de formação das nanopartículas e os fatores de escolha do Pluronic® F-127 para a reação de síntese deste trabalho estão abordados com maior detalhe na seção 3.3 deste trabalho. (SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

3.3. ETAPAS DE FORMAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

Atualmente, a teoria mais aceita para a formação das nanopartículas de ouro consiste em analisar duas etapas: a de nucleação e a de crescimento. A primeira consiste na formação de “sementes” de nanopartículas de ouro, ou seja, aglomerados de átomos de ouro (Au^0). Essas sementes são formadas quando a concentração de íons de ouro na solução está acima de sua concentração crítica. Nessa etapa, também pode haver aproximação desses aglomerados, formando *clusters*, os quais possuem, aproximadamente, 2 nm. (PACHÓN e ROTHENBERG, 2008)

Conforme o decorrer da nucleação, os íons de ouro são reduzidos e, conseqüentemente, sua concentração atinge valores abaixo da concentração crítica. A partir desse ponto, não há mais formação das sementes e a segunda etapa é iniciada: a nucleação. Dessa forma, os aglomerados de ouro que já haviam sido formados na etapa anterior podem crescer em tamanho. (PACHÓN e ROTHENBERG, 2008)

Por outro lado, Sakai e Alexandridis (2005) analisam a formação das nanopartículas sob a ótica da sua metodologia de síntese. Eles subdividem a etapa de crescimento em duas: o crescimento dos *clusters*, com formação das nanopartículas de ouro e, posteriormente, seu aumento de tamanho e estabilização. Visto que a metodologia de síntese deste trabalho é a proposta por Sakai, Alexandridis, iremos seguir a sua proposição para melhor entendimento de como cada etapa envolvida na síntese ocorre e como os reagentes atuam em cada uma delas.

Essas etapas estão descritas a seguir.

3.3.1. 1º Etapa

A primeira etapa consiste na redução dos íons metálicos (AuCl_4^-) facilitada pela presença do Pluronic®. Ela ocorre a partir da complexação desses íons com o polímero, por meio das pseudo “coroas” de éter, onde há a redução dos íons para a forma metálica do ouro (Au^0) e a oxidação do polímero.

Por meio de estudos comparativos com diferentes tipos de Pluronic®, Sakai e Alexandridis concluíram que a contribuição dos blocos PEO, hidrofílicos, é mais significativa nessa etapa da síntese.

3.3.2. 2º Etapa

Posteriormente, os *clusters* de ouro, formados na primeira etapa, adsorvem a parte hidrofóbica (PPO) do polímero em sua superfície. Então, o polímero presente na superfície é complexado com íons de ouro (AuCl_4^-) que também estão nos arredores dos *clusters*. A partir disso, os íons são reduzidos a (Au^0) e os polímeros são oxidados. Dessa forma, temos um crescimento em tamanho da estrutura presente na primeira etapa e, assim, a formação da nanopartícula.

Portanto, devido ao papel do PPO na adsorção do polímero à superfície dos aglomerados de ouro, sua contribuição é mais significativa do que a do bloco PEO nessa etapa da síntese.

3.3.3. 3º Etapa

A terceira etapa consiste na continuidade do crescimento das nanopartículas e na sua estabilização. Nela, o processo descrito na segunda etapa pode ocorrer diversas vezes, levando ao aumento do tamanho das nanopartículas de ouro, até que a partícula seja estabilizada pelas moléculas de Pluronic®.

A figura abaixo exemplifica, de forma esquemática, as três etapas descritas.

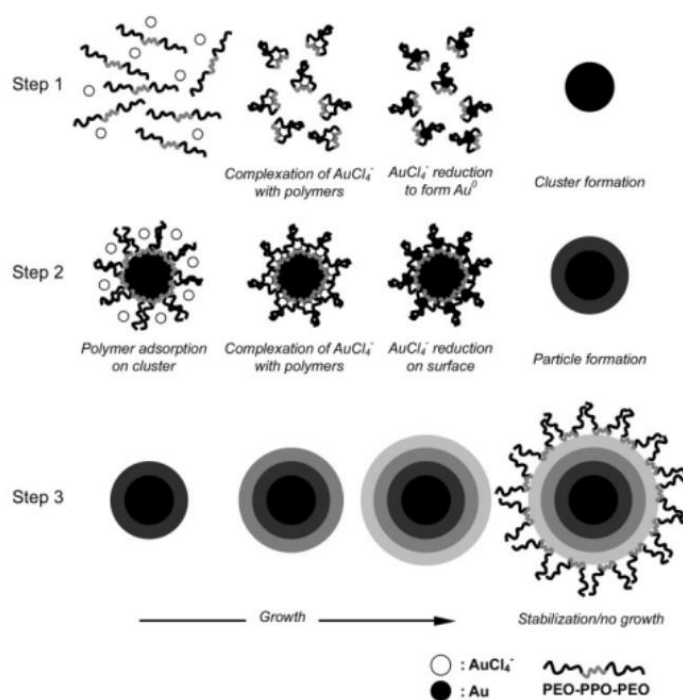


Figura 3– Representação esquemática das etapas na síntese de nanopartículas de ouro com Pluronic®. Etapa 1: formação de clusters; Etapa 2: Formação de nanopartículas; Etapa 3: Crescimento e estabilização de nanopartículas. Retirado de (SAKAI e ALEXANDRIDIS,2005)

3.3.4. Fatores que influenciam na morfologia e tamanho das nanopartículas

A morfologia das nanopartículas resultantes da síntese é determinada pela competição entre a redução do ouro na solução e a redução do ouro nas superfícies das sementes. As características do meio de síntese - como temperatura e tipo de solvente - e as características do polímero - como solubilidade, concentração micelar crítica, formação de micela, estrutura micelar, peso molecular e razão entre o comprimento de suas cadeias – que determinam o resultado dessa competição. (GOMES, 2018; SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

Visto que a síntese seguida por esse trabalho é o protocolo de Sakai e Alexandridis-devido à sua facilidade, ausência de aporte de energia em forma de calor ao sistema e velocidade de síntese – as características do meio já são pré-definidas. A síntese ocorre em meio aquoso, em temperatura ambiente e somente com a presença de dois reagentes. Por outro lado, as características do Pluronic® utilizado podem ser alteradas e levar a diferentes resultados. Dessa forma, em nosso trabalho, os fatores determinantes da morfologia das nanopartículas é a massa molar do polímero e a razão entre os blocos PEO/PPO. (GOMES, 2018; SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

Quanto maior a peso e comprimento da cadeia PEO, maior a interação íon-dipolo entre os íons de ouro e o elétron dos átomos de oxigênio do bloco. Ou seja, há maior potencial de redução dos íons de ouro e, conseqüentemente, origina nanopartículas de maior tamanho. Além disso, a razão PEO/PPO está relacionada com sua maior hidratação – dada pelo balanço hidrofílico/hidrofóbico – e facilidade de contato e reação com os íons de ouro. (GOMES, 2018; SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005)

Através das análises apresentadas por Sakai e Alexandridis (2005), o Pluronic® F-127 mostrou grande potencial de favorecimento de redução dos íons de ouro e de formação das nanopartículas de ouro. Na tabela 2, na seção 3.2 deste trabalho, pode-se observar as características mencionadas em relação ao Pluronic® F-127 e compará-las com as características de outros Pluronic® comerciais. Além disso, esse polímero se mostra vantajoso para o uso que intencionamos por conta da sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade e aprovação pela FDA (*Food and Drug Administration*), o que permite o seu uso em humanos. (GOMES, 2018)

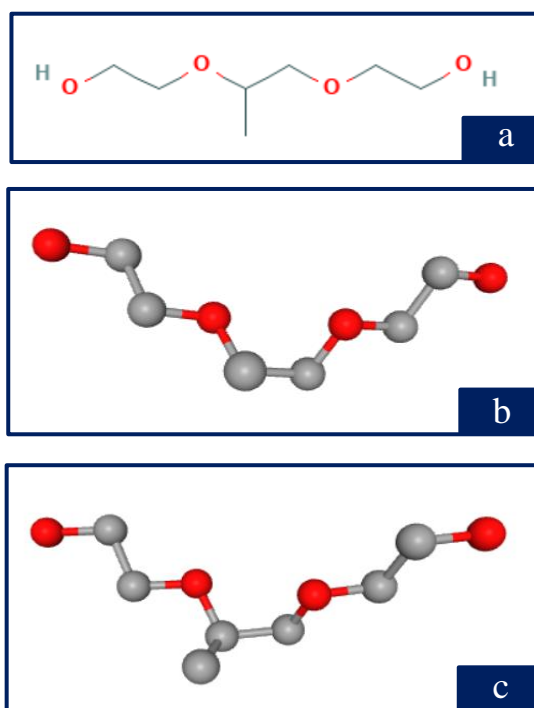


Figura 4 - Fórmula estrutural do Pluronic® F-127. (a) em duas dimensões; (b) em três dimensões e visão frontal; (c) em três dimensões e visão superior-lateral. (PubChem, 2022)

3.4. TERAPIA FOTODINÂMICA

A terapia fotodinâmica (TFD) vem sendo bastante estudada como uma alternativa menos invasiva e dolorosa e mais específica no tratamento de pacientes com câncer. O nível de sucesso

dos métodos tradicionais de combate à doença, como cirurgia e quimioterapia, se baseia no alcance do equilíbrio entre destruição das células doentes e preservação das células saudáveis. A principal vantagem da TFD é justamente a sua especificidade, causando menos efeitos colaterais – proveniente da perda das células saudáveis - e, conseqüentemente, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. (SHARMAN et al., 1999)

A TFD consiste na aplicação de uma substância fotossensibilizante (FS) em um tecido-alvo, seguida de iluminação no comprimento de onda corresponde à banda de absorção com maior λ . A presença de iluminação e de um fotossensibilizador não possui nenhum efeito se separados, mas juntos é o princípio de funcionamento da TFD. Sua grande seletividade provém justamente desse funcionamento: para serem tratadas, as células precisam ser iluminadas. Além disso, um outro fator também contribui para sua seletividade: o tecido neoplásico possui mais afinidade de absorção das moléculas fotossensibilizantes. (SHARMAN et al., 1999)

Após iluminação da área contendo fotossensibilizante, uma cascata de eventos bioquímicos é desencadeada, resultando na inativação de células cancerígenas. O evento inicial é a excitação do fotossensibilizador, que passa do estado singleto S_0 para o primeiro estado singleto excitado S_1 e, em seguida, por meio de cruzamento intersistemas, para o estado tripleto excitado T_1 . De forma geral, aceita-se que é no estado tripleto que ocorre formação de moléculas citotóxicas, responsáveis pela inativação das células. Portanto, quanto mais tempo os elétrons permanecem excitados nesse estado, maior o potencial da TFD devido ao aumento da interação do fotossensibilizante excitado com as moléculas e células vizinhas. (SHARMAN et al., 1999)

De forma simplista, a excitação do fotossensibilizante permite uma transferência de energia para o oxigênio, dando origem ao seu estado excitado. Esse oxigênio, extremamente reativo, é o agente citotóxico e interage com muitas substâncias biológicas, induzindo o dano oxidativo das células e, conseqüentemente, ocasionando a sua morte. A morte celular pode ocorrer por meio de necrose, apoptose ou necrose por meio de cessão vascular. A forma exata de destruição das células tumorais depende do fotossensibilizante aplicado, das condições de aplicação e da intensidade da luz utilizada. Portanto, saber qual o efeito biológico por trás da morte celular pode auxiliar na escolha do melhor FS.

Outro fator na escolha do FS utilizado é sua capacidade de penetração até o tecido neoplásico. A penetração no tecido aumenta conforme aumentamos o comprimento de onda, sendo interessante a escolha de um fotossensibilizador que possua uma banda de absorção grande em um comprimento de onda alto. Além disso, é fundamental que o fotossensibilizante seja rapidamente excretado do corpo – permitindo exposição do paciente à luz solar e retomada

da sua rotina sem restrições.

Portanto, para uma TFD bem-sucedida é desejável que o FS tenha as seguintes características:

- Não seja citotóxico quando não exposto à iluminação;
- Seja rapidamente excretado pelo organismo;
- Tenha um alto tempo de vida em seu estado tripleto;
- Tenha uma banda de absorção com alta intensidade em um comprimento de onda grande.

3.5. FTALOCIANINA DE CLOROALUMÍNIO

As ftalocianinas são compostos fotossensibilizantes (FS) de segunda geração – ou seja, não são derivados de hematoporfirinas. Apresentam propriedades relacionadas aos íons metálicos diamagnéticos com os quais estão complexadas. No caso da ftalocianina, a complexação com o cloro e com o alumínio fazem com o composto apresente uma fotoestabilidade superior, além de uma melhor atividade fotodinâmica. Podemos relacionar essas características ao aumento da capacidade da ftalocianina de produzir espécies reativas de oxigênio (EROS) nas mitocôndrias celulares, causando a morte das células-alvo. Portanto, essas características são estratégicas para sua aplicação como componente fotossensibilizante na TFD. (ALISSON e SIBATA, 2010; GOTO, 2016)

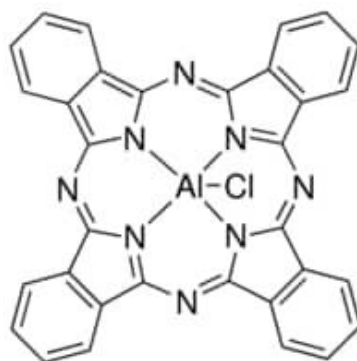


Figura 5 - Estrutura da ftalocianina de cloro alumínio. (Sigma-Aldrich, 2022)

Embora o caráter hidrofóbico da ftalocianina a torne disponível por mais tempo no organismo, ela dificulta a sua aplicação em meios biológicos, causando agregação das partículas. Quando agregada, há alteração nas suas propriedades fotoquímicas, alterando diretamente a sua eficácia como agente fotossensibilizante. Portanto, sua associação com as nanopartículas de ouro – anfifílicas -, formando um composto fotossensibilizante de terceira geração, é essencial para seu carreamento, aplicação, seletividade e eficácia. (GOTO, 2016)

As bandas de absorção das ftalocianinas, nas quais elas são fotossensibilizadas, se encontram na faixa violeta ou ultravioleta (300-350 nm), chamada de banda-B, e na faixa dos 650-680 nm, chamada de banda Q. Nessa segunda banda, de maior intensidade, o coeficiente de absorção é alto e o nível de penetração da luz no tecido é ideal, tornando a ftalocianina uma boa alternativa para uso em TFD. Além disso, outro fator relevante para seu uso em terapia fotodinâmica ter alto potencial é o tempo de vida relativamente alto (3 a 8 ns) do oxigênio em estado singlete ($1O_2$) e tripleto ($3O_2$), favorecendo uma maior interação com as células-alvo. (ALISSON e SIBA TA, 2010; NUNES, SGUILLA e TEDESCO, 2004)

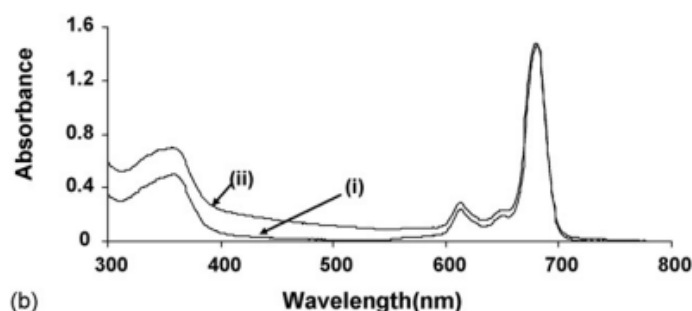


Figura 6 - Gráfico da absorvância no UV-VIS da molécula AICIPc e suas duas bandas características. (i) molécula sozinha; (ii) na presença de fluido magnético. (IDOWU e NYOKONG, 2007)

As ftalocianinas possuem uma alta capacidade de seletividade das células neoplásicas, possivelmente por conta de alterações na permeabilidade celular dessas células. Entretanto, o mecanismo ainda não foi elucidado. Outro ponto positivo no uso clínico da ftalocianina é a sua rápida eliminação, sendo quase total em 24 horas após a administração de forma tópica. (GOTO, 2016; LONGO et al., 2009)

Estudos de sua aplicação em TFD foram realizados em animais, nos primeiros estágios de câncer no sistema respiratório e em tratamentos odontológicos, sendo bem-sucedidos. (ALISSON e SIBATA, 2010; LONGO et al., 2011)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções necessárias para a síntese das nanopartículas de ouro foram preparadas com água ultrapura, fornecida pelo purificador Millipore (Milli-Q). Os reagentes não passaram por nenhuma etapa de purificação adicional. Utilizou-se uma solução de água régia – mistura dos ácidos HCl/HNO₃, preparados numa proporção de 3:1 – para lavar todas as vidrarias, as quais foram posteriormente enxaguadas com água de Milli-Q. A seguir está descrito o preparo de cada uma das soluções utilizadas.

4.1.1. Preparo da solução de ácido cloroáurico (HAuCl₄)

O reagente utilizado como fonte de ouro foi o ácido tetracloroáurico tri-hidratado (HAuCl₄ · H₂O) da Sigma-Aldrich, com massa molar 393,83 g.mol⁻¹. Para o preparo da solução de ácido cloroáurico, calculou-se – a partir da sua massa molar - a quantidade necessária de reagente padrão ácido tetracloroáurico tri-hidratado para produzir 100 mL de solução na concentração padrão de 2.10⁻³ mol.L⁻¹. Posteriormente, a massa de reagente sólido foi pesada e a diluição foi realizada em um balão volumétrico de 100 mL. A solução foi armazenada em um recipiente identificado e mantida refrigerada. (GOMES, 2018)

4.1.2. Preparo da solução de polímero (Pluronic® F-127)

Para preparo da solução de PLU, calculou-se a quantidade necessária do polímero padrão (Sigma-Aldrich) para produzir 100 mL de solução na concentração de 10.10⁻³ μmol.L⁻¹ a partir da sua massa molar (12.600 g.mol⁻¹). Posteriormente, em cima desse valor calculado, considerou-se o volume de solução desejada para se chegar ao valor real de polímero que foi pesado em um béquer de 10 mL. Em seguida, a diluição foi realizada em um béquer de 250 mL, com a quantidade de água Milli-Q medida em um balão volumétrico, para ter maior precisão do volume final de solução. Ao acrescentar a água do balão no béquer de 250 mL, o béquer de 10 mL foi enxaguado, garantindo a transferência de toda a massa de PLU pesada para a solução. Diferentemente do esperado, a solução é feita em um béquer por conta da necessidade de agitação do PLU, evitando que haja perdas com a transferência da solução de um balão volumétrico para um béquer – onde ocorre a agitação. Após a transferência de água, colocou-se

um agitador magnético no béquer da solução e este foi levado para a mesa de agitação. Após a dissolução completa do PLU a solução foi coberta por um filme plástico, identificada e mantida refrigerada. A solução deve ser mantida na geladeira por pelo menos 24h antes de ser utilizada. (GOMES, 2018)

4.1.3. Preparo da solução de ftalocianina de cloroalumínio (AlClPc)

A solução de ftalocianina de cloroalumínio foi preparada em etanol, solvente orgânico, a partir da solução padrão AlClPc ($C_{32}H_{16}AlClN_8$, $574,96 \text{ g. mol}^{-1}$; Sigma-Aldrich). Em seguida, dissolvida na solução de PLU preparada anteriormente, segundo a metodologia estabelecida em Py-Daniel et al., 2016. A concentração da solução final obtida foi $5\mu\text{g/mL}$. (GOMES, 2018; PY-DANIEL et al., 2016; DE MORAES et al., 2017)

4.2. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

Para a síntese das nanopartículas de ouro, foi utilizado o protocolo de Sakai e Alexandridis (2005). Esse método possui algumas vantagens quando comparado com outros, mais tradicionais – Turkevich, Brust-Schiffrin, eletroquímico, entre outros (ROYA HERIZCHI et al., 2016) -, como:

- Baixo tempo de reação;
- Pouca quantidade e baixa complexidade dos reagentes utilizados;
- Baixo custo;
- Ocorre à temperatura ambiente: não é necessário aporte de calor ao sistema.

O protocolo de síntese consiste na mistura de dois reagentes: uma fonte de ouro (HAuCl_4) - que sofrerá redução - e um polímero de bloco (PLU), que atua como agente redutor - responsável pela redução do sal metálico - e como estabilizador - responsável por dispersar as partículas, impedindo interação com o meio e garantindo que permaneçam íntegras. (GOMES, 2018)

Após o preparo dos reagentes, é possível iniciar o protocolo da síntese. Utiliza-se uma micropipeta de $1000 \mu\text{L}$ para dosagem correta das soluções: três vezes pipetadas em $900 \mu\text{L}$ para a solução de PLU, totalizando $2,7 \text{ mL}$, e uma vez pipetada em $300 \mu\text{L}$ para a solução de HAuCl_4 . As soluções são pipetadas em béqueres de borossilicato com 10 mL de capacidade, onde a síntese também ocorre. Logo após a dosagem das soluções, os béqueres foram colocados dentro de uma câmara preta por 60 minutos. Essa câmara é constituída por duas lâmpadas UV

de 540 nm e 8W cada, por um ventilador, para controle da temperatura, e revestida com papel laminado. Ela impede que entre luz ambiente e submete os béqueres à radiação UV. A radiação UV atua como catalisadora da reação de síntese, interferindo na sua cinética e, conseqüentemente, nas características dos nanocompósitos, como tamanho e diâmetro. (MALLICK, 2001)

4.2.1. Radiação UV

A radiação UV, proveniente das lâmpadas utilizadas na caixa de síntese, atua como catalisadora da reação, ou seja, interfere na cinética da reação, tornando-a mais rápida. Ela ativa a reação de redução e oxidação – primeira etapa da síntese – e permite que tenhamos mais controle da reação em todas as suas etapas. Dessa forma, torna a síntese das nanopartículas de ouro mais controlável em relação ao tamanho das partículas formadas e à sua reprodutibilidade. (MALLICK, 2001; SHANG et al., 2013)

Além disso, a radiação UV gera partículas mais monodispersas e menores. Essa diferença pode ser vista na figura 7 por meio da coloração adquirida pela solução.

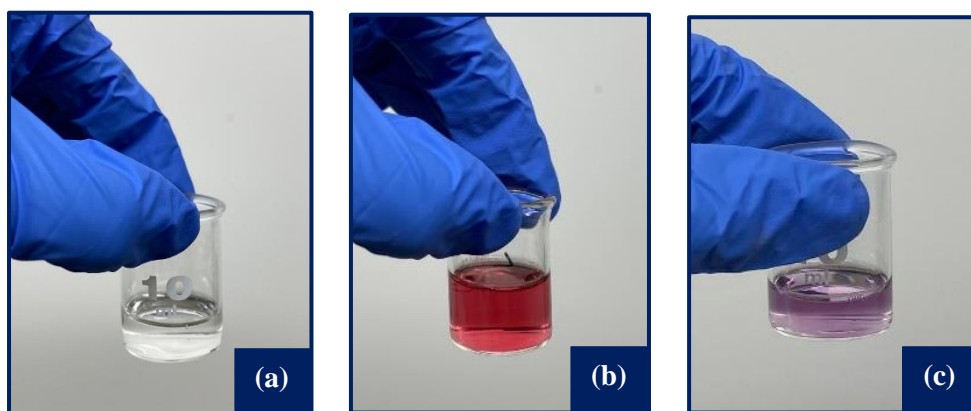


Figura 7 - Coloração das soluções. (a) Incolor: logo após a mistura dos reagentes; (b) Pink-avermelhado: ao final da reação, catalisada por radiação UV; (c) Roxo: ao longo da reação, sem catalisador.

4.3. CENTRIFUGAÇÃO DA SOLUÇÃO DE AuNPs COM EXCESSO DE PLU

Visando a minimização de possíveis interferências que o excesso de PLU pode ocasionar, tanto nas análises - devido à sua característica anfifílica e interação com a AICIPc - quanto no meio biológico - devido à sua interação com outras moléculas - foi realizada centrifugação para retirada desse excesso. A centrífuga utilizada foi MiKro 220R, da Hettich Zentrifugen, e seus

parâmetros de funcionamento foram 12.000 rpm por 120 min a 10°C. Utilizou-se o prato com a configuração de 24 eppendorfs, os quais foram posicionados contendo a solução de nanopartículas de ouro com excesso de PLU. Após a centrifugação, o volume do sobrenadante foi removido, com o auxílio de uma micropipeta de 1000 µL, sendo este o excesso de PLU. As nanopartículas de ouro se agregam no fundo do eppendorf, adquirindo uma coloração mais escura, com tons de roxo e vermelho, como mostra a Figura 08.

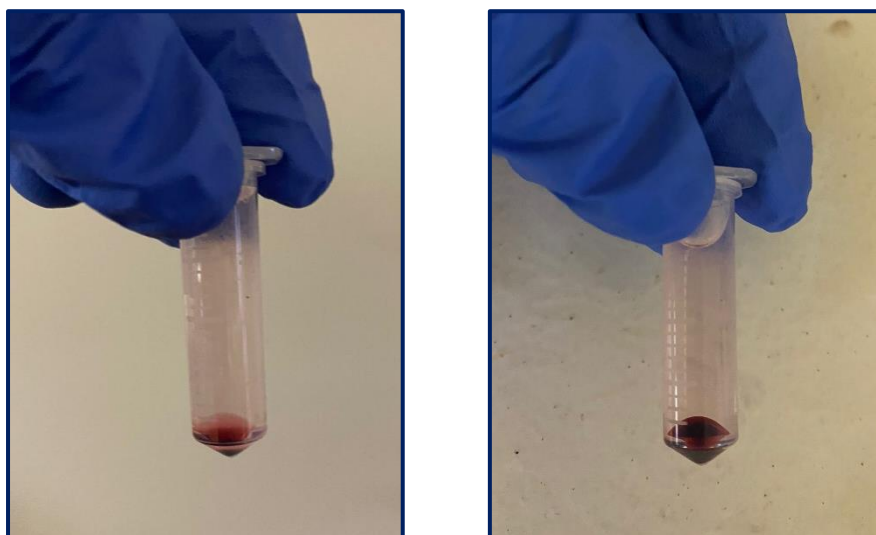


Figura 8 - Eppendorfs contendo duas fases logo após a centrifugação: sobrenadante (excesso de PLU) e AuNPs agregadas e decantadas no fundo.

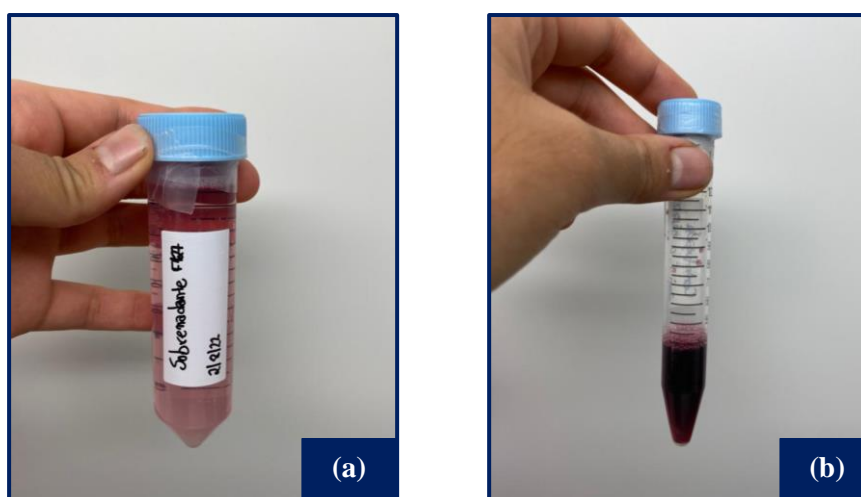


Figura 9 - (a) Falcon de 50 mL contendo o sobrenadante dos 24 eppendorfs centrifugados; (b) Falcon de 15 mL contendo, aproximadamente, 4 mL de nanopartículas de ouro centrifugadas e decantadas.

O sobrenadante retirado dos 24 eppendorfs resultou em um volume total de, aproximadamente, 50 mL. Enquanto o volume total das nanopartículas de ouro decantadas foi

em torno de 4 mL. Portanto, temos uma proporção de, aproximadamente, 1:12,5.

4.4. PREPARO DAS AMOSTRAS

Embora a centrifugação resulte em uma solução de nanopartículas de ouro com maior pureza e concentração, possui uma coloração vermelho-escuro, o que dificulta a sua caracterização por meio espectrofotometria UV-VIS e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

Dessa forma, as nanopartículas de ouro centrifugadas foram diluídas em água Milli-Q. Como forma de investigar qual a melhor razão de diluição para a amostra, duas diluições foram submetidas à caracterização do espectrofotômetro UV-VIS e seus espectros resultantes foram comparados. Posteriormente, a diluição com melhor desempenho (1:3) foi adicionada de ftalocianina de cloroalumínio, em duas quantidades diferentes, e caracterizada. Por fim, um terceiro volume de AICIPc, retirado da literatura suporte, foi acrescentado à solução de AuNPs com diluição 1:3. Entretanto, devido à coloração azul da ftalocinina de cloroalumínio, foi necessário realizar uma segunda diluição (1:5) para analisar a amostra por espectroscopia no UV-VIS. (LONGO et al., 2011; SILVA et al., 2020)

Além disso, outras diluições foram necessárias para viabilizar a análise de DLS no ZetaSizer, as quais estão indicadas na tabela 5, na seção de resultados e discussão.

A tabela abaixo exemplifica as amostras-base que foram utilizadas nas caracterizações e sua composição.

Tabela 3 - Relação das amostras preparadas para caracterização e sua composição.

Nº Amostra	Descrição	Composição	[AuNPs] (mL/mL)	[AICIPc] (µg/mL)
I	AuNPs + PLU	AuNPs após a síntese, com excesso de PLU	~0,074	-
II	AICIPc	Solução de AICIPc	-	5,0
III	AuNPs + PLU + 0,1 mL AICIPc	AuNPs após a síntese, com excesso de PLU e acrescida de 0,1 mL de AICIPc	~0,074	0,16
IV	AuNPs	AuNPs centrifugada, sem diluição	1,00	-
V	1 AuNPs: 1 H ₂ O	AuNPs centrifugada, diluída na proporção 1:1	0,50	-
VI	1 AuNPs: 3 H ₂ O	AuNPs centrifugada, diluída na	0,25	-

		proporção 1:3		
VII	1 AuNPs: 3 H ₂ O + 0,1 mL AlClPc	AuNPs centrifugada, diluída na proporção 1:3, e acrescida de 0,1 mL de AlClPc	0,24	0,16
VIII	1 AuNPs: 3 H ₂ O + 0,2 mL AlClPc	AuNPs centrifugada, diluída na proporção 1:3, e acrescida de 0,2 mL de AlClPc	0,24	0,31
IX	1 AuNPs: 5 H ₂ O + 0,5 mL AlClPc	AuNPs centrifugada, diluída na proporção 1:5, e acrescida de 0,5 mL de AlClPc	0,15	0,38

4.5. CARACTERIZAÇÕES

Para melhor entendimento acerca das propriedades dos nanocompósitos, as amostras foram caracterizadas pelos seguintes métodos descritos abaixo.

4.5.1. Espectrofotômetro UV-VIS

O espectro de absorvância no UV-VIS foi obtido no equipamento UV-2600 Shimadzu Corporation, Quioto, Japão. O equipamento se encontra o Instituto de Física da Universidade de Brasília. Sua leitura abrange os comprimentos de onda de 185 nm até 900 nm, possui resolução de 0,1 nm e taxa de varredura na leitura de 600 nm por minuto.

Por meio da espectroscopia de absorção no UV-VIS pode-se ver quais os valores de comprimento de onda (que façam parte do espectro do UV-VIS) no qual as moléculas absorvem a energia transmitida e, conseqüentemente, ficam em seu estado excitado. Visto que esse mecanismo de excitação é o princípio da terapia fotodinâmica, essa caracterização é bastante representativa da efetividade do nanocompósito como agente fotossensibilizante.

4.5.2. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

O espectrômetro utilizado para caracterizar a amostra no infravermelho foi o Noverterx 70, Bruker com resolução espectral de 4 cm⁻¹ e 1 varredura/2 min por 25 vezes. Utilizou-se

refletância total atenuada (ATR) por meio da secagem de volumes gotejados da amostra no cristal ATR, os quais foram deixados para secar sobre o cristal. Dessa forma, acompanhou-se as primeiras leituras de cada amostra, contendo quantidades expressivas de água, até a sua secagem e aparecimento dos espectros característicos de cada amostra.

A espectroscopia no infravermelho possui seu funcionamento baseado na aceleração da energia vibracional da amostra. O que é medido são o caminho óptico e a intensidade. Posteriormente, depois da aplicação da transformada de Fourier (TF), obtemos intensidade e comprimento de onda. O FTIR auxilia na investigação do comportamento estrutural das nossas amostras e se há alguma modificação a partir da mistura de AIClPc às nanopartículas de ouro.

4.5.3. Espalhamento dinâmico de luz (DLS)

O espalhamento dinâmico de luz foi analisado no equipamento Zetasizer Nano Z90, da Malvern Instruments. O equipamento foi configurado com as especificações de 25°C, ângulo de incidência de 90° e 4 medidas por amostra.

Essa análise é utilizada para determinar o tamanho das partículas de uma amostra. Seu funcionamento se baseia na extração do coeficiente de difusão das partículas de uma solução-amostra. Esse coeficiente é utilizado para calcular o tamanho das partículas. Dessa forma, podemos investigar quaisquer variações no tamanho das partículas que sejam decorrentes do arranjo das nanopartículas com a ftalocianina de cloroalumínio. Ademais, também podemos analisar o índice de polidispersão (PDI), indicativo da distribuição de tamanho das nanopartículas e determinante para o sucesso da sua aplicação tecnológica.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ESPECTROFOTÔMETRO UV -VIS

Primeiramente, as amostras I e III, com excesso de PLU, foram analisadas. Podemos ver na Figura 10 abaixo a presença de dois picos característicos no espectro da amostra I (AuNPs + PLU). O primeiro, em 194 nm, é indicativo da presença de íons AuCl_4^- . De acordo com a literatura, o comprimento de onda característico da banda de transferência de carga entre ligante e metal (LMCT) é de aproximadamente 220 nm. Portanto, podemos assumir, por meio de comparativos com a bibliografia, que se trata do pico indicativo da redução do ácido cloroaúrico (HAuCl_4), primeira etapa necessária para a formação das nanopartículas de ouro. O segundo, em 525,5 nm, é característico das superfícies de nanopartículas de ouro. A literatura traz o valor do comprimento de onda desse pico, relativo à banda de ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR), como sendo de, aproximadamente, 540 nm. Também podemos assumir que o comprimento de onda de 525,5 se trata da formação de nanopartículas de ouro. (SAKAI e ALEXANDRIDIS, 2005; GOMES, 2018)

Observa-se também a presença de mais dois picos na amostra III (AuNPs + PLU + 0,1 mL AICIPc), em 354 nm e 680 nm. Os dois são característicos da AICIPc (Figura 06), sendo a banda-B (300-350 nm) e a banda Q (650-680 nm), respectivamente. Como mencionado anteriormente, a banda Q é estratégica para aplicação em TFD, visto que absorve em maiores comprimentos de onda e sua penetração no tecido é ideal. No gráfico da amostra III permanecem os picos identificados na amostra I. Portanto, a presença da AICIPc não tem efeitos significativos sobre as bandas características da solução AuNPs + PLU e as mesmas se mantêm após a sua mistura. (IDOWU e NYOKONG, 2007)

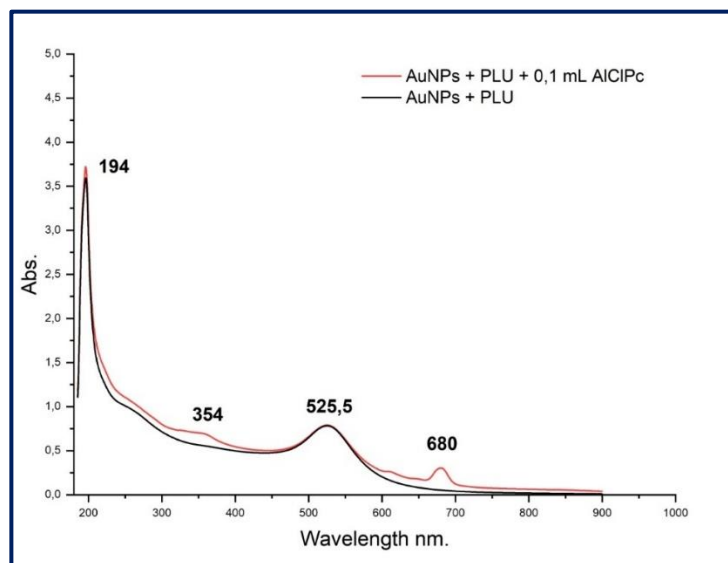


Figura 10 - Gráfico de absorvância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofotômetro UV-VIS. Podemos ver o gráfico (i) preto, relativo as AuNPs com excesso de PLU; e (ii) vermelho, relativo as AuNPs, com excesso de PLU e acrescidas de 0,1 mL da solução de AICIPc.

Em seguida, as amostras centrifugadas foram caracterizadas. Inicialmente, a amostra IV, composta somente por nanopartículas de ouro e sem nenhuma diluição foi analisada. O espectro encontrado está na cor vinho na Figura 11. A presença de muitos picos é esperada, visto que a solução de AuNPs é escura, como mostrado na Figura 09. Essa coloração indica que o composto absorve luz em muitos comprimentos de onda e reflete em menor quantidade. Portanto, para viabilizar o uso da amostra, foram realizadas duas diluições, representadas pelas amostras V e VI. Os gráficos da figura abaixo nos indicam que a diluição inicial, da amostra V, embora tenha maior absorvância em 525,5 nm, não possui pico definido em 196 nm, mostrando a sua baixa estabilidade. Por outro lado, a segunda diluição, da amostra VI, se mostra mais ideal para utilização, com absorvâncias esperadas e mais características.

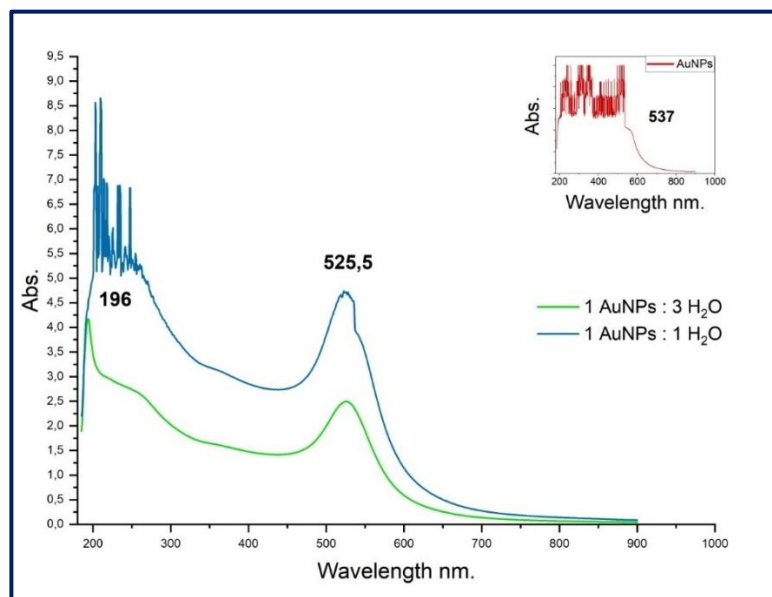
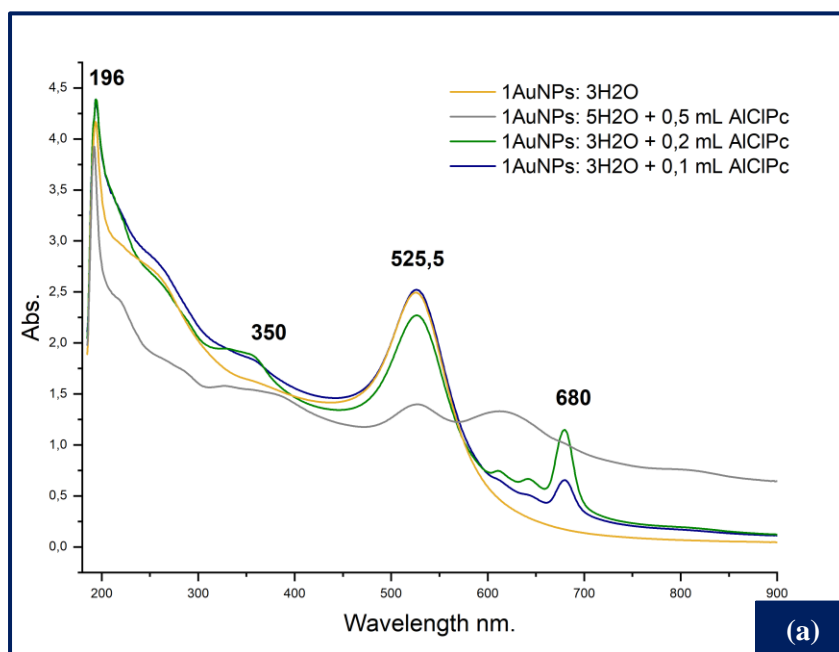


Figura 11 - Gráfico de absorvância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofômetro UV-VIS. Podemos ver o gráfico (i) azul, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 1 H_2O ; e (ii) verde, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 3 H_2O .

Por fim, foram caracterizadas as amostras VII e VIII, referentes à adição de ftalocianina de cloro alumínio em diferentes quantidades (0,1 mL e 0,2 mL) na solução de 1 AuNPs : 3 H_2O . Na Figura 12 podemos comparar os espectros de absorvância das amostras com adição de ftalocianina de cloroalumínio.



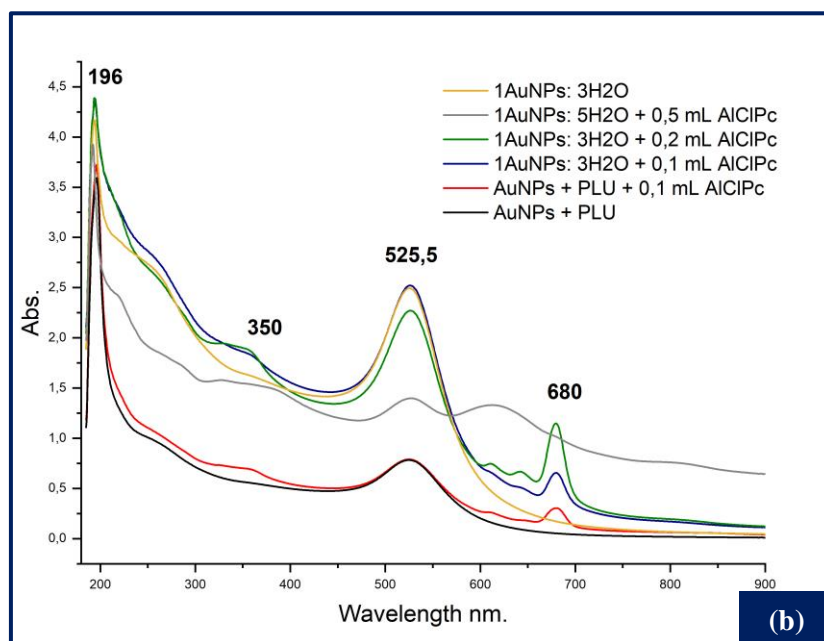


Figura 12 - Gráfico de absorvância em razão do comprimento de onda, obtido no espectrofotômetro UV-VIS. Podemos ver em (a) o gráfico (i) amarelo, relativo à diluição na proporção 1 AuNPs : 3 H₂O; (ii) azul, acrescido de 0,1 mL de AICIPc; (iii) verde, acrescido de 0,2 mL de AICIPc; e (iv) cinza, com diluição 1:5 e acrescido de 0,5 mL de AICIPc. Podemos ver em (b) os mesmos gráficos, acrescidos do (i) preto, AuNPs + PLU e (ii) vermelho, AuNPs + PLU + 0,1 mL AICIPc.

Ao comparar os espectros em (a) temos que o comportamento das amostras está de acordo com o esperado e já observado na Figura 11. Entretanto, diferentemente do esperado, a amostra IX, com maior volume de AICIPc apresentou um deslocamento da banda, de 680 nm para 611 nm. Como essa banda é importante para a TFD, por representar uma capacidade maior de penetração da radiação incidente, a amostra IX não é ideal para essa aplicação. Dessa forma, uma quantidade excessiva de ftalocianina de cloroalumínio não indica necessariamente aumento do desempenho do composto FS. Além disso, esse resultado pode ser explicado por meio da polidispersabilidade nas partículas da amostra ocasionada pelo excesso de água no meio e pela sua interação com os compostos.

Ao analisar os espectros em (b), a comparação entre os resultados das amostras sem retirada do excesso de PLU e das amostras pós centrifugação e diluição fica mais explícita. Embora as amostras que passam por centrifugação possuam, claramente, absorvância maior nos mesmos comprimentos de onda, não é possível tomar isso como prerrogativa. Isso se deve ao fato de que a absorvância é dependente da concentração e as concentrações não são as mesmas. A amostra VIII possui maior absorvância no comprimento de onda relativo à excitação do

composto fotossensibilizante, AICIPc, indicando um maior potencial de excitação das suas moléculas e, portanto, uso em TFD.

5.2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR - ATR)

Visando investigar a conformação da solução de nanopartículas de ouro com ftalocianina de cloroalumínio, as amostras II, VI, VII e VIII foram submetidas ao FTIR-ATR. Os espectros resultantes, presentes na Figura 13, indicam que não há sinal de oxidação na sua estrutura ou mudança de conformação proveniente da associação entre os dois compostos, devido à concordância entre os números de onda dos picos dos espectros.

Por outro lado, quando comparamos os espectros das amostras VI, VII e VIII temos que a banda de vibração de estiramento éter (C-O-C) foi deslocada quando acrescentada ftalocianina de cloroalumínio: passando de 1109 cm^{-1} para 1114 cm^{-1} . Isso sugere que temos nanopartículas coordenadas com o grupo de AICIPc. (GOMES, 2018)

Na tabela 4 estão descritos alguns picos mais relevantes na absorbância das amostras no infravermelho. Nela, podemos ver sinais característicos nas nanopartículas de ouro e da ftalocianina de cloroalumínio (723 nm, 2360 nm e 2970 nm), cuja estrutura molecular está descrita na Figura 5.

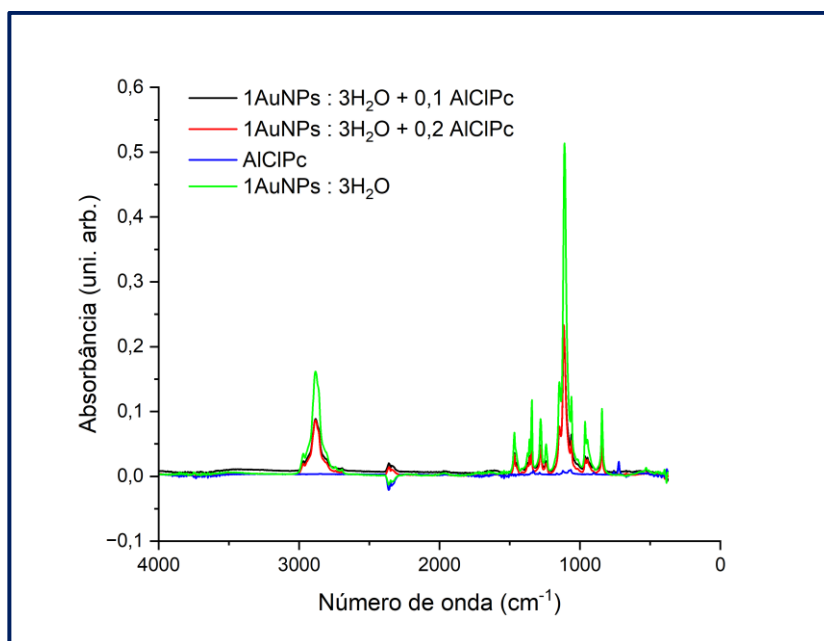


Figura 13 – Espectros de infravermelho obtidos por ATR para solução de AICIPc; solução de nanopartículas de ouro diluídas em água; solução de nanopartículas de ouro diluídas em água e acrescidas de 0,1 ml de AICIPc; e solução de nanopartículas de ouro diluídas em água e acrescidas de 0,2 ml de AICIPc.

Tabela 4 – Identificação dos principais picos observadas no FTIR-ATR.

Número de onda (cm⁻¹)	Atribuição
723	C=C
842	Dobramento C-H fora do plano
947	Dobramento assimétrico no plano CH ₂ Estiramento C-O-C
964	Dobramento assimétrico no plano CH ₂
1060	Estiramento C-O
1109	Estiramento C-O-C para 1AuNPs:3H ₂ O
1114	Estiramento C-O-C para 1AuNPs:3H ₂ O + AlClPc
1145	Estiramento C-O-C e estiramento C-C
1242	Dobramento assimétrico fora do plano CH ₂
1280	Dobramento assimétrico fora do plano CH ₂
1342	Dobramento simétrico fora do plano CH ₂
1359	Dobramento simétrico fora do plano CH ₂ Estiramento C-C
1373	Dobramento simétrico CH ₃
1467	Dobramento CH ₂
2360	C=C-C=N
2885	Estiramento CH
2970	Estiramento CH aromático

Fonte: Consultado em Donald et al., 2015 e Gomes, 2018.

5.3. ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)

Para análise do tamanho das partículas das amostras foi necessário realizar novas diluições, visto que o equipamento utilizado, com ângulo de incidência fixo em 90°, não possui a capacidade de entregar resultados estatisticamente confiáveis – com boa correlação de dados – para substâncias que sejam mais escuras. Dessa forma, prosseguiu-se para a diluição na proporção de 1:1 das soluções – já diluídas previamente na proporção de 1:3, vide seção 4.4 – de AuNPs com água. O aparelho nos permite acompanhar se os resultados da análise da amostra estão dentro dos critérios estatísticos de qualidade no decorrer das medidas. Por gerar muitas

leituras que não atenderam ao critério de qualidade, a solução XIII sofreu uma nova diluição, gerando a amostra XIV. Na tabela 5 temos todas as amostras, sua descrição, concentração de substâncias de interesse, diâmetro hidrodinâmico médio (\bar{Z}) e índice de polidispersão médio \overline{PDI} .

Embora diluir a amostra seja uma etapa necessária para progredir com a sua caracterização, a maior presença de H₂O e, conseqüentemente, diminuição da concentração dos nanocompósitos para abaixo da CMC ocasiona a perda de estabilidade das micelas e aglomeração das partículas. Além disso, o caráter hidrofóbico da AICIPc, em contraponto com a água adicionada, leva à aglomeração dessa substância. Dessa forma, temos uma maior polidispersabilidade no tamanho das partículas. Na tabela 5 o índice de polidispersão médio (\overline{PDI}) indica o quanto há presença de tamanhos diversos de partículas na amostra.

Amostras são consideradas pouco polidispersas quando o PDI < 0,300. Ou seja, valores abaixo de 0,3 representam que a amostra possui uma distribuição mais homogênea em relação ao tamanho das partículas. Essa homogeneidade é importante para garantir que haja maior eficiência da amostra como um todo na TFD, eliminando influências geradas pela diversidade de tamanho e garantindo reprodutibilidade da amostra com o nanocompósito. (CHU et al., 1991)

Por meio dos valores encontrados para as amostras analisadas, temos que somente a primeira amostra, sem a presença de ftalocianina de cloroalumínio, apresentou um baixo valor de polidispersão. A média e alta polidispersão apresentadas nas outras amostras pode ser indicativo da aglomeração da AICIPc especificamente e esta substância, quando agregada, apresenta alterações nas suas propriedades fotoquímicas, o que interfere diretamente na sua eficácia como agente fotossensibilizante.

Entretanto, a PDI foi substancialmente alta, a ponto de interferir na correlação de dados, somente nas duas últimas amostras, XIII e XIV, com maior quantidade de ftalocianina e maior diluição. Com o aporte de água às amostras tornou-se possível realizar a análise no equipamento, mas houve mudança no ambiente, o qual interfere diretamente nos valores encontrados.

Portanto, apesar de apresentar PDI >0,300, as amostras XI-XII, com menor quantidade de AICIPc, ainda geram análises que atendem ao critério de qualidade do sistema (Zetasizer Malvern Software) e possuem potencial de aplicação. A análises dessas amostras em equipamento que permita alteração no ângulo de incidência e, assim, não necessite da sua diluição pode gerar valores mais confiáveis e sem a interferência da água como solvente.

Tabela 5 - Identificação das amostras analisadas no DLS, seu tamanho médio de partículas e seu índice de polidispersão médio.

Nº Amostra	Descrição	[AuNPs] mL/mL	[AICIPc] µL/mL	\bar{Z} (d.nm)	\overline{PDI}
X	AuNPs + H ₂ O (1:8)	0,125	-	143,5	0,296
XI	AuNPs + H ₂ O (1:3) + 0,1 mL AICIPc diluído com 1:2 de H ₂ O	0,083	0,08	177,6	0,478
XII	AuNPs + H ₂ O (1:3) + 0,2 mL AICIPc diluído com 1:2 de H ₂ O	0,083	0,16	208,0	0,433
XIII	AuNPs + H ₂ O (1:3) + 0,5 mL AICIPc diluído com 1:2 de H ₂ O	0,083	0,42	339,3	0,556
XIV	AuNPs + H ₂ O (1:3) + 0,5 mL AICIPc diluído com 1:3 de H ₂ O	0,063	0,32	314,9	0,671

6. CONCLUSÃO

A ftalocianina de cloroalumínio possui potencial de aplicação em terapia fotodinâmica, visto a sua alta fotoestabilidade e alta capacidade fotodinâmica. Além disso, é rapidamente excretada do organismo, característica vantajosa para a boa qualidade de vida durante o tratamento dos pacientes de câncer. As nanopartículas de ouro atuam como carreadores do fotossensibilizante, tornando mais viável a sua administração e interação molecular, visto que ele é hidrofóbico.

Como forma de investigar a possibilidade de associação das nanopartículas de ouro com a ftalocianina de cloroalumínio, as amostras foram submetidas a diferentes caracterizações, visando melhor entendimento sobre a estrutura resultante do composto, sua absorção nas radiações UV-VIS e IR, tamanho e índice de polidispersão.

A interação entre as AuNPs e a AICIPc não se mostrou destrutiva ou anuladora das características de cada composto individualmente. No espectrofotômetro UV-VIS e no espectrofotômetro FTIR-ATR, a absorbância permaneceu com seus picos nos comprimentos de onda/números de onda característicos para cada substância.

Ao analisarmos o tamanho das partículas tivemos como principal interferente a presença de água no meio. Embora o PDI não tenha apresentado um valor tão satisfatório de monodispersão, os valores foram adequados até uma certa quantidade de AICIPc e de água na amostra.

Portanto, as caracterizações realizadas foram indicativo de que a associação das substâncias conserva as suas características individuais e desejáveis – principalmente, a excitação em comprimentos de onda relevantes para uso em TFD.

7. REFERÊNCIAS

- [1] Simoes, F. R.; Takeda, H. H. Conceitos E Princípios Básicos. In: Róz, Alessandra Luizia Da Et al. Coleção Nanociência e Nanotecnologia: Princípios e Aplicações, v. 1, 1 ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2015.
- [2] Sakai, T. And Alexandridis, P. Mechanism of Gold Metal Ion Reduction, Nanoparticle Growth and Size Control in Aqueous Amphiphilic Block Copolymer Solutions at Ambient Conditions. *J. Phys. Chem. B.*, v. 109, p. 77667777, 2005.
- [3] Py-Daniel, K. R.; Namban, J. S.; De Andrade, L. R.; De Souza, P. E.N.; Paterno, L. G.; Azevedo, R. B.; Soler, M.A.G. Highly efficient photodynamic therapy colloidal system based on chloroaluminum phthalocyanine/Pluronic® micelles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* v.103, p.23 - 31, 2016.
- [4] Ghosh, P. Et al. Gold Nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, p. 1307–1315, 2008.
- [5] Sharman, W. M., Allen, C. M., & van Lier, J. E. (1999). Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discovery Today*, 4(11), 507–517.
- [6] Gomes, Deizilene de Souza Barbosa. Efeito de fotoexcitação na síntese de nanocompósitos biocompatíveis de ouro/Pluronic®. 2018. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Universidade de Brasília.
- [7] Gomes D.S.B., Paterno L.G., Santos A.B.S., Garay A.V., Mertz D., Freitas S.M., Soler M.A.G. New insights on the formation of gold nanoparticles and Pluronic® nanocomposites: Kinetics and thermodynamics parameters. *J. Mol. Liq.* Volume 268, 181-189, 2018.
- [8] Soler, M.A.G., Fanyao, Q. Raman Spectroscopy of Iron oxide nanoparticles. In: *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, ed. Springer-Verlag, Berlin, 2012, p. 379-417.

- [9] C. Louis, O. Plucherry, O. Pluchery, Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology, Imperial C, Université Pierre et Marie Curie, France, 2012.
- [10] Roya Herizchi, Elham Abbasi, Morteza Milani & Abolfazl Akbarzadeh. Current methods for synthesis of gold nanoparticles, Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 44:2, 596-602, 2016
- [11] Ftalocianina de Cloro Alumínio. Sigma-Aldrich. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/US/en/search/phthalocyanine?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=phthalocyanine&type=product>>. Acesso em: 20 de ago. de 2022.
- [12] Allison, R. R., & Sibata, C. H. (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 7(2), 61–75.
- [13] GOTO, Patrícia Leme. Nanopartículas lipídicas sólidas e vesículas cataniônicas contendo ftalocianina de cloro alumínio aplicadas nos processos fotodinâmicos. 2016. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2016. Acesso em: 2022-08-20.
- [14] Idowu, M., & Nyokong, T. (2007). Photophysical and photochemical properties of zinc and aluminum phthalocyanines in the presence of magnetic fluid. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 188(2-3), 200–206.
- [15] Nunes, S. M. T., Sguilla, F. S., & Tedesco, A. C. (2004). Photophysical studies of zinc phthalocyanine and chloroaluminum phthalocyanine incorporated into liposomes in the presence of additives. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 37(2), 273–284.
- [16] Longo, J. P. F., Lozzi, S. P., Simioni, A. R., Morais, P. C., Tedesco, A. C., & Azevedo, R. B. (2009). Photodynamic therapy with aluminum-chloro-phthalocyanine induces necrosis and vascular damage in mice tongue tumors. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 94(2), 143–146.

- [17] Pluronic®-F-127. National Library of Medicine. PubChem. Disponível em: <[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pluronic®-F-127#section=Computed Properties](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pluronic®-F-127#section=ComputedProperties)>. Acesso em 28 de set. de 2022.
- [18] Mallick, K., Wang, Z. L., & Pal, T. (2001). Seed-mediated successive growth of gold particles accomplished by UV irradiation: a photochemical approach for size-controlled synthesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 140(1), 75–80.
- [19] Pachón, L. D., & Rothenberg, G. (2008). Transition-metal nanoparticles: synthesis, stability and the leaching issue. *Applied Organometallic Chemistry*, 22(6), 288–299.
- [20] Delcio Daltin, *Tensoativos: Química, propriedades e aplicações*, 1° ed, Edgard Blucher, São Paulo-SP, 2012.
- [21] Shang, Y., Min, C., Hu, J., Wang, T., Liu, H., & Hu, Y. (2013). Synthesis of gold nanoparticles by reduction of H₂AuCl₄ under UV irradiation. *Solid State Sciences*, 15, 17–23.
- [22] De Moraes, M., Vasconcelos, R. C., Longo, J. P. F., Muehlmann, L. A., de Azevedo, R. B., de Araújo Júnior, R. F., de Lisboa Lopes Costa, A. (2017). Photodynamic therapy using chloro-aluminum phthalocyanine decreases inflammatory response in an experimental rat periodontal disease model. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 208–215.
- [23] Silva, D. N. de A., Silva, N. T. da, Sena, I. A. de A., Azevedo, M. L. da S., Júnior, F. L. da S., Vasconcelos, R. C., ... Martins, A. R. L. de A. (2020). Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy with chloro-aluminum phthalocyanine on periodontal clinical parameters and salivary GSH and MDA levels in patients with periodontitis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 101843.
- [24] Longo, J. P. F., Leal, S. C., Simioni, A. R., de Fátima Menezes Almeida-Santos, M., Tedesco, A. C., & Azevedo, R. B. (2011). Photodynamic therapy disinfection of carious tissue mediated by aluminum-chloride-phthalocyanine entrapped in cationic liposomes: an

in vitro and clinical study. *Lasers in Medical Science*, 27(3), 575–584.

[25] CHU, B., WANG, Z., YU, J. Dynamic light scattering study of internal motions of polymer coils in dilute solution. *Macromolecules*, v. 24, p. 6832–6838, 1991

[26] L.P. et. al Donald, *Introdução à Espectroscopia - Tradução da 5a edição norte-americana - Donald L. Pavia; Gary M. Lampman; George S. Kriz; James R. Vyvyan.pdf*, Edição, 2º, Cengage Learning, São Paulo, 2015