



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL

REBECA MUNIZ DE MELO

**AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE TERANÓSTICA DE
NANOPLATAFORMAS BASEADAS EM PRATA COLOIDAL E QUELATOS
DE Gd(III)**

RECIFE

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
BACHARELADO EM QUÍMICA

REBECA MUNIZ DE MELO

**AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE TERANÓSTICA DE
NANOPLATAFORMAS BASEADAS EM PRATA COLOIDAL E QUELATOS
DE Gd(III)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Recife, como requisito para a obtenção do título de bacharela em Química.

Orientador(a): Profa. Dr^a. Giovannia Araújo de Lima Pereira

Coorientador(a): Dr^a. Gabriela Marques de Albuquerque

RECIFE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Melo, Rebeca Muniz de.

Avaliação da potencialidade teranóstica de nanoplataformas baseadas em prata coloidal e quelatos de Gd(III) / Rebeca Muniz de Melo. - Recife, 2024.
76 : il., tab.

Orientador(a): Giovannia Araújo de Lima Pereira

Coorientador(a): Gabriela Marques de Albuquerque

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Química - Bacharelado, 2024.

10,0.

Inclui referências.

1. nanopartículas de prata. 2. quelatos paramagnéticos. 3. terapia fototérmica. 4. imagem por ressonância magnética. 5. sistemas teranósticos. I. Pereira, Giovannia Araújo de Lima. (Orientação). II. Albuquerque, Gabriela Marques de. (Coorientação). IV. Título.

540 CDD (22.ed.)

REBECA MUNIZ DE MELO

**AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE TERANÓSTICA DE
NANOPLATAFORMAS BASEADAS EM PRATA COLOIDAL E QUELATOS
DE Gd(III)**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de bacharela em Química.

Aprovado em: 11/ 10 / 2024.
Nota: 10,0 (Dez vírgula zero)

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr^a. Giovannia Pereira (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. André Galembeck
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Severino Alves Júnior
Universidade Estadual de Pernambuco

Para Rebeca de 2018, nós conseguimos!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora por toda sabedoria, discernimento e força que me foram concedidos durante toda a minha jornada acadêmica, principalmente nos momentos em que não me sentia capaz.

Aos meus pais, Renilde e Rivaldo, que apoiaram, desde cedo, minha escolha profissional e que não mediram esforços para realizar todos os meus sonhos e objetivos junto comigo. Obrigada por tudo, sem vocês não seria metade do que sou hoje.

À minha família, em especial a minha irmã Renata, minha tia Renise, meu avô Rerinaldo, meu tio Renilson e minha prima Maria Clara, por sempre estarem presente, pelos incentivos e por celebrarem todas as minhas conquistas como se fossem o Nobel da química. Vocês são incríveis!

Ao meu noivo Marlon, que tenho o prazer de compartilhar a vida desde 2017, por ser meu alicerce e meu porto seguro nos momentos de ansiedade e angústias. Obrigada por todas as conversas, conselhos, apoio e por sempre evidenciar a minha capacidade em realizar tudo que desejo. “Vai Mcqueen!”

Às minhas professoras e orientadoras Giovannia e Goreti por acreditarem e confiarem em mim desde o nosso primeiro momento juntas. Obrigada por me apresentarem um grupo de pesquisa e um projeto que tenho tanto orgulho em fazer parte.

Aos meus companheiros de bancada, Gabriela e Max, pela ajuda no desenvolvimento desse projeto, por ouvirem minhas angústias e por sempre me enaltecerem, principalmente nos momentos em que achei que não iria dar certo.

Ao Laboratório Integrado de Nanoestruturas e Compostos de Coordenação (LINCC), em especial aos integrantes: Joalen, Mércia, Izabel e Jailson. Obrigada pelos cafés e bolos compartilhados e por todos os nossos momentos de descontração, os quais renderam boas risadas e histórias para contar.

Às amigas que a graduação me deu: Caroline, Eduarda, Giovana, Celina e Bruna. Obrigada por tornarem os períodos de sofrimento e correria mais leves, em particular este último, pelo incentivo e por vibrarem comigo cada pequena vitória conquistada ao longo desses anos.

Por fim, à Universidade Federal de Pernambuco, aos órgãos de fomento: FACEPE e CNPq, aos servidores e laboratórios que compõem o Departamento de Química Fundamental, em particular ao BSTR e Central Analítica, e ao Departamento de Ciências Farmacêuticas.

“Tudo que existe ou existiu,
começou com um sonho.”

Lavagirl (AS AVENTURAS DE
SHARKBOY E LAVAGIRL.
Direção de Robert Rodriguez.
Estados Unidos: Columbia
Pictures, 2005. DVD).

RESUMO

Há um crescente interesse no desenvolvimento de ferramentas teranósticas que possibilitem a detecção de células cancerígenas com alta precisão e promovam o tratamento eficiente, sendo menos invasivas e apresentando menos efeitos adversos. Nesse contexto, a imagem por ressonância magnética (IRM) destaca-se como uma das ferramentas de diagnóstico por imagem mais eficaz para o câncer além de ser menos invasiva. Além disso, considerando que os fármacos antitumorais frequentemente causam danos colaterais às células não cancerígenas, uma alternativa promissora a esses tratamentos é a terapia fototérmica (PTT). Nesse cenário, as nanopartículas de prata (AgNPs) emergem como ferramentas propícias para a PTT. Essas NPs combinam excelentes propriedades plasmônicas, procedimentos sintéticos simples, com elevado controle sobre o tamanho e a morfologia, além de serem custo-efetivas. Ademais, as AgNPs apresentam a versatilidade de ligarem moléculas em sua superfície, proporcionando maior especificidade e/ou sinal para outras técnicas, como por exemplo com os quelatos paramagnéticos, os quais atuam como agentes de contraste (ACs) para a IRM. Assim, neste estudo, as AgNPs foram conjugadas com quelatos de Gd^{3+} com o objetivo de obter nanoplateformas teranósticas para IRM e PTT. Para tal, AgNPs estabilizadas com glicose foram preparadas em meio aquoso, e complexos DOTA-Gd tiolados foram conjugados à sua superfície. Os resultados obtidos demonstraram que essas ferramentas teranósticas apresentaram boa estabilidade coloidal (Potencial Zeta $> \pm 20$ mV), bandas plasmônicas similares às AgNPs originais e relaxividades longitudinais para Gd^{3+} análogas aos ACs utilizados clinicamente (a 60 MHz e 37 °C). Portanto, os resultados indicam que a combinação das propriedades plasmônicas das AgNPs com a eficiência relaxométrica dos quelatos de Gd^{3+} é promissora para a elaboração de sistemas teranósticos voltados para IRM e PTT.

Palavras-chave: nanopartículas de prata; quelatos paramagnéticos; terapia fototérmica; imagem por ressonância magnética; sistemas teranósticos.

ABSTRACT

There is a growing interest in the development of theranostic tools that facilitate the high-precision detection and efficient treatment of cancer cells with lower invasion and adversary effect. In this way, magnetic resonance imaging (MRI) is one of the most non-invasive and efficient diagnostic tools of cancer. Moreover, as antitumoral drugs can often cause collateral damage to non-cancer cells, a promising alternative to these treatments is plasmonic photothermal therapy (PTT). In this context, silver nanoparticles (AgNPs) have been arising as promising tools for PTT. These NPs combine good plasmonic properties, simple synthetic procedures with high control over size and morphology, and cost-effectiveness. Besides, AgNPs still have the versatility to attach molecules to their surface, such as providing more specificity and/or signal for another technique, such as paramagnetic chelates that are contrast agents (CAs) for MRI. Thus, in this work AgNPs were conjugated with Gd^{3+} chelates to obtain theranostic nanoplatforms for MRI and PTT. For this, AgNPs stabilized with glucose were prepared in water and thiolated DOTA-Gd complexes were conjugated to their surface. Our results showed that these theranostic tools exhibited good colloidal stability (Zeta Potential $> \pm 20$ mV), similar plasmonic bands to the bare AgNPs, and longitudinal relativities per Gd^{3+} analogous to the CAs used clinically (at 20 MHz and 37 °C). Thus, the results indicate that combining the plasmonic property of AgNPs with the relaxometric efficiency of Gd^{3+} chelates are promising for the preparation of theranostic systems for MRI and PTT.

Keywords: silver nanoparticles; Gd^{3+} chelates; photothermal therapy; magnetic resonance imaging; theranostic systems.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Diagrama esquemático ilustrando a formação dos plasmons de superfície localizado em partículas metálicas esféricas.	23
Figura 2 – Ilustração simplificada do funcionamento da PTT. (a) Células patológicas irradiadas com o laser NIR. (b) Diminuição das células doentes pós-PTT, mantendo a integridade das células saudáveis periféricas.....	25
Figura 3 – Correlação entre região espectral das bandas de absorção plasmônicas e morfologia de nanopartículas de prata (AgNPs).	28
Figura 4 – Movimento de rotação e precessão do próton $1H$ na presença de um campo magnético externo.	31
Figura 5 – Imagem por ressonância magnética (a) sem e (b) com a utilização de ACs.....	33
Figura 6 – Representação da IRM em campo claro (T_1) e campo escuro (T_2). 34	
Figura 7 – Mudança na coloração observada na solução de XO. (a) Na ausência e (b) presença de um metal livre em solução.	35
Figura 8 – Espectro de absorção do xilenol na ausência e presença de metal livre em solução.	35
Figura 9 – Agentes de contraste mais utilizados clinicamente. (a) DPTA-Gd; (b) DOTA-Gd.	36
Figura 10 - Ilustração esquemática de um nanocompósito teranóstico.....	38
Figura 11 – Sistemas teranósticos baseados em quelatos de Gd^{3+} e AgNPs com diferentes morfologias: (a) esférica e (b) prismática.....	39
Figura 12 – Representação do procedimento geral de preparação das AgNPs esféricas e prismáticas.	42
Figura 13 - Ilustração das medidas retiradas das imagens de MET para o cálculo da área superficial e do volume das AgNPs.	44
Figura 14 - Representação esquemática da preparação dos complexos de Gd^{3+} funcionalizados com His, Cys e GSH.	45
Figura 15 – (a) Espectros de absorção do alaranjado de xilenol na presença de diferentes quantidades de Gd^{3+} . (b) Curva de Calibração para determinação da quantidade de Gd^{3+} livre utilizando o alaranjado de xilenol.....	47
Figura 16 – Espectros de absorção das sínteses das AgNPs esféricas.	50
Figura 17 – Espectro de absorção das sínteses das AgNPs E4.	51
Figura 18 – Espectro de absorção das sínteses das AgNPs prismáticas.	52
Figura 19 – Espectros de absorção das sínteses das AgNPs prismáticas selecionadas.	53
Figura 20 – Fotografia das AgNPs (a) esférica e (b) prismática que apresentaram os melhores resultados.	54
Figura 21 – Imagens obtidas por MET para as AgNPs esféricas.	56
Figura 22 – Imagens obtidas por MET para as AgNPs prismáticas.	56
Figura 23 – Histogramas e suas respectivas curvas gaussianas para a (a) AgNP E4 e (b) AgNP P9.....	57

Figura 24 – Fotografia dos complexos sinterizados após a funcionalização com os linkers.	58
Figura 25 – Espectros de FTIR para os complexos DOTA-Gd ³⁺ com e sem os linkers.	60
Figura 26 – Espectros de FTIR ampliados para os complexos contendo os linkers.	61
Figura 27 – Fotografia dos sistemas teranósticos sintetizados.	62
Figura 28 – Espectros de absorção para os sistemas teranósticos e suas respectivas NPs.	62
Figura 29 – Espectros FTIR ampliados para os sistemas teranósticos.	63
Figura 30 – Fotografia do teste inicial do estudo fototérmico para os sistemas teranósticos: (a) E4_GSH e (b) P9_GSH	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros e proporções volumétricas utilizadas em cada síntese.....	43
Tabela 2 – Valores obtidos no teste do alaranjado de xilenol para o cálculo da curva de calibração para determinação da concentração de Gd^{3+} livre.....	47
Tabela 3 – Valores encontrados para caracterização através de potencial Zeta e DLS.....	55
Tabela 4 – Tamanho médio das AgNPs obtidos por MET.....	57
Tabela 5 – Rendimento da complexação dos complexos de Gd^{3+} e tempos de relaxação longitudinal (T_1) e respectiva relaxividade (r_1) dos complexos de Gd^{3+} tiolados preparados (60 MHz e 37 °C).....	59
Tabela 6 – Valores de relaxividade r_1 dos sistemas teranósticos preparados (60 MHz e 37 °C).....	65

LISTA DE ABREVIações

ACs	Agentes de Contraste
AgNPs	Nanopartículas de Prata
AgNP-E	Nanopartículas de Prata Esféricas
AgNP-P	Nanopartículas de Prata Prismáticas
AgNO ₃	Nitrato de Prata
ATR	Reflectância Total Atenuada
B ₀	Campo Magnético Externo
Cit	Citrato de Sódio Tribásico
Cys	L-cisteína
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DOTA	Ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético
DOTA-Cys	Dota funcionalizado com Cisteína
DOTA-Gd	Dotarem®
DOTA-GSH	Dota funcionalizado com Glutathione
DOTA-His	Dota funcionalizado com Histidina
DOTA-NHS	DOTA ativado
DTPA	Ácido de dietilenotriaminapenta-acético
EDC	<i>N</i> -etil- <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPR	Efeito de Permeabilidade e Retenção Aprimoradas

FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
GOx	Glicose Oxidase
GSH	L-glutathiona
H ₂ O ₂	Peroxido de Hidrogênio
His	L-histidina
ICP	Plasma por Acoplamento Indutivo
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IRM	Imagem Por Ressonância Magnética
<i>I</i>	Número Momento Angular de Spin
LSPR	Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
Mz	Magnetização
NaBH ₄	Borohidreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NHS	<i>N</i> -hidroxissuccinimida
NIR	Infravermelho Próximo
NPs	Nanopartículas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PDA	Polidopamina
PTT	Terapia Fototérmica
QDs	Pontos Quânticos
RF	Radiofrequência

ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
T_1	Tempos de Relaxação Longitudinal
T_2	Tempo de Relação Transversal
XO	Alaranjado de Xilenol
α	Estado de Menor Energia Paralelo a B_0
β	Estado de Maior Energia Antiparalelo a B_0

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Nanotecnologia na Medicina	21
2.1.1 Nanomateriais Fototérmicos	21
2.2 Ressonância plasmônica de superfície localizada.....	22
2.3 Terapia Fototérmica	24
2.4 Nanopartículas de Prata	27
2.5 Imagem por Ressonância Magnética.....	29
2.5.1 Agentes de contraste	33
2.6 Sistemas teranósticos	37
3 OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo Geral.....	40
3.2 Objetivos Específicos	40
4 METODOLOGIA	41
4.1 Reagentes	41
4.2 Equipamentos.....	41
4.3 Síntese e caracterização das AgNPs	42
4.3.1 Potencial zeta e DLS	43
4.3.2 MET	44
4.4 Preparação e caracterização dos complexos de Gd³⁺	44
4.4.1 Relaxividade	45
4.4.2 Alaranjado de Xilenol	46
4.4.3 FTIR	48
4.5 Preparação dos sistemas teranósticos	48
4.6 Caracterização dos sistemas teranósticos	49

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1	Síntese e caracterização de AgNPs	50
5.2	Preparação e caracterização dos complexos de Gd³⁺	58
5.3	Preparação e caracterização dos sistemas teranósticos	61
6	CONCLUSÃO.....	66
7	PERSPECTIVAS.....	67
8	REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia se concentra no desenvolvimento de materiais, estruturas e sistemas na escala de 1-100 nm. Em dimensões nanométricas, novas propriedades são observadas comparativamente aos mesmos materiais macroscópicos, as quais podem ser aproveitadas para os mais variados fins (Štremfelj; Smole, 2021). Desta forma, a nanomedicina surgiu como uma nova área para alavancar a utilização de nanomateriais na medicina tradicional, desenvolvendo inúmeras plataformas para diagnóstico e terapia.

Atualmente, existe um crescente interesse na preparação de nanomateriais que facilitem a detecção com elevada sensibilidade de células cancerígenas com o mínimo de invasão possível ao organismo. Ainda, a associação de fármacos e agentes de contraste para imagem e terapia concomitantes é de extrema importância para a orientação e quantificação do acúmulo dessas drogas e evolução do tratamento. No entanto, os fármacos anticancerígenos podem causar danos colaterais a células saudáveis durante as aplicações clínicas, além de serem mais difíceis de manipular e apresentarem desempenho inferior ao desejado.

Os tratamentos através de radioterapia e quimioterapia são as duas abordagens terapêuticas comumente utilizadas para o tratamento do câncer. Porém, ambos os métodos apresentam efeitos colaterais que podem ser sentidos não só ao longo do tratamento, como também a longo prazo. A radioterapia atua matando ou retardando o crescimento das células cancerígenas, mas também pode afetar células saudáveis, resultando em vários efeitos colaterais, como por exemplo descamação, escurecimento e vermelhidão da pele, náuseas e vômitos, entre outros mais específicos que dependem da área a ser irradiada. Já os agentes quimioterápicos, por serem inespecíficos, também são captados por células saudáveis, provocando danos colaterais a essas células (mesmo que em menor taxa) por meio de estresse oxidativo.

Uma alternativa promissora a esses tratamentos é a terapia fototérmica plasmônica (Mondal et al., 2022), a qual é baseada na irradiação de nanopartículas (NPs) metálicas com um *laser* de infravermelho próximo (do inglês: *near-infrared*, NIR). As NPs plasmônicas são poderosos agentes de aquecimento por indução para malignidades. Assim, a fabricação de NPs é uma

possibilidade para terapêutica contra o câncer (Marghani et al., 2022). Como o tamanho da NP é muito menor que as células humanas, há uma facilidade na sua interação com várias biomoléculas, o que contribui para uma melhor eficiência do tratamento, diagnóstico e minimização dos efeitos colaterais, uma vez que há a possibilidade de funcionalização para produzir sistemas e vetorizados para alvos específicos.

Outro aspecto relevante sobre o uso de sistemas nanoparticulados para os mais variados fins é a versatilidade de alteração da sua superfície, podendo conferir, assim, mais especificidade e/ou aplicabilidade. Como é o caso dos sistemas bimodais de imagem óptica e magnética, baseados em nanopartículas fluorescentes e quelatos paramagnéticos, ou sistemas teranósticos que combinam diagnóstico e terapia.

Dentre as técnicas comumente exploradas para o diagnóstico clínico, a IRM tem se mostrado promissora por permitir a diferenciação dos tecidos saudáveis daqueles com alguma anormalidade metabólica e/ou patológica, tendo como resposta alteração nos contrastes das imagens obtidas. Esta técnica se destaca por possuir boa resolução espacial, além de não ser invasiva e não utilizar radiação ionizante. Porém, devido a sua baixa sensibilidade, em alguns casos os exames clínicos requerem resultados mais precisos, necessitando do uso dos chamados agentes de contraste (ACs). Tais ACs são majoritariamente óxidos de ferro ou quelatos paramagnéticos, constituídos por uma molécula orgânica como ligante e íons de Gd^{3+} ou Mn^{2+} , que possuem características eletrônicas adequadas para aumentar a taxa de relaxação longitudinal e transversal dos núcleos de hidrogênio (1H) das moléculas de água do meio, aumentando assim a sensibilidade da técnica (Mishral; Kannan, 2017). No entanto, os complexos de Gd^{3+} são aqueles que apresentam os melhores resultados clínicos até o momento.

Tipicamente, os ACs comerciais têm uma capacidade de aumento do contraste limitada, fazendo com que sejam efetivos apenas em concentrações acima de 0,1 mM e, além disso, a sua relaxividade diminui com o aumento do campo magnético (Oliveira *et al.*, 2022; Pereira, Geraldês, 2007). Logo, uma estratégia que tem sido utilizada para a otimização da relaxividade dos ACs é a sua conjugação com nanopartículas, o que possibilita uma maior concentração de íons paramagnéticos (responsáveis pelo contraste) por NP, fornecendo,

consequentemente, um maior contraste sem a necessidade de aumentar a dosagem do AC. Assim, essa associação possibilita o desenvolvimento de ACs mais eficientes para diagnóstico por IRM (Albuquerque et al., 2024).

Dessa forma, neste projeto foram combinadas nanopartículas de prata (AgNPs) com os quelatos de Gd^{3+} , obtendo sistemas teranósticos eficientes, associando-se a propriedade fototérmica das NPs com a eficiência relaxométrica dos quelatos de Gd^{3+} para aplicação em IRM e terapia fototérmica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nanotecnologia na Medicina

A nanomedicina surgiu como uma área da medicina que usa ferramentas nanoestruturadas para alavancar a utilização de nanomateriais na medicina tradicional, fazendo com que as instrumentações e metodologias de análise fossem melhoradas a cada nova descoberta. Diante disso, a utilização de técnicas de diagnóstico baseadas em nanopartículas oferece uma alta sensibilidade, como por exemplo no diagnóstico de cânceres em estágios iniciais (Cancino; Marangoni; Zucolotto, 2014).

Além disso, há a possibilidade de incorporação de vários tipos de moléculas na superfície de uma única nanopartícula, incorporando propriedades adicionais ao nanomaterial. Assim, o acúmulo de nanomateriais em tecidos tumorais pode ser realizado por meio da funcionalização de sua superfície com biomoléculas como proteínas, peptídeos, e anticorpos específicos, que reconheçam especificamente células ou tecidos de interesse. Dessa forma, para o desenvolvimento de nanomateriais com alta especificidade, características como estabilidade, dispersão de tamanho, morfologia, carga superficial e toxicidade devem ser bem definidas para que os resultados desejados sejam alcançados (Štremfelj; Smole, 2021).

A formulação de materiais com nanoestruturas para abordar questões de diagnóstico e terapia direcionada ao câncer é uma interessante abordagem para detecção precoce e redução de complicações futuras do paciente. Assim, nanomedicamentos contra o câncer que incorporam tanto o diagnóstico e habilidades terapêuticas em uma única entidade são chamados de materiais teranósticos (Mishra; Kannan, 2017).

2.1.1 Nanomateriais Fototérmicos

Inicialmente, cabe destacar que conversão fototérmica é o processo no qual os materiais podem atuar como absorvedores de luz, convertendo-a na forma de energia térmica. O efeito fototérmico pode ser observado em inúmeros nanomateriais, incluindo nanoestruturas metálicas. Em contraste com estruturas macroscópicas, no entanto, nanomateriais bem projetados podem exibir

propriedades térmicas, ópticas e eletrônicas únicas ao adaptar suas formas, tamanhos, composições e ambientes circundantes, proporcionando assim muito mais possibilidades de ajuste de suas propriedades fototérmicas (Cui et al., 2023).

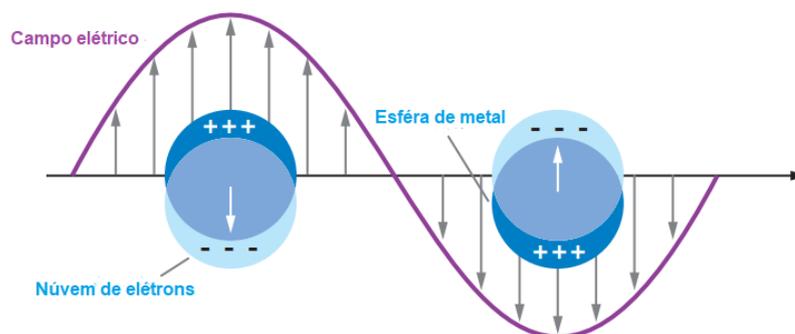
Vale salientar que o desempenho fototérmico de um material fotoexcitado é determinado principalmente por duas propriedades intrínsecas: a capacidade de coleta de luz e a eficiência de conversão de luz para calor. As seções transversais de absorção extremamente grandes de nanoestruturas metálicas plasmônicas e seu aquecimento plasmônico associado são altamente promissores para converter luz em calor por meio do efeito de ressonância plasmônica de superfície localizada (do inglês: Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR). Uma aplicação desse efeito é o gerenciamento de tumores mediados por hipertermia, técnica conhecida como terapia fototérmica (PTT) (Cui et al., 2023).

A extensa busca por novos tipos de nanomateriais fototérmicos surgiu como uma área de pesquisa de fronteira para uma ampla gama de aplicações de alto potencial em física, química e ciências biológicas. Os nanomateriais fototérmicos têm exibido grandes perspectivas na área biomédica devido ao controle remoto do aquecimento com alta seletividade e precisão espacial. Diante disso, aplicações e técnicas baseadas no efeito fototérmico foram desenvolvidas, por exemplo na PTT, administração de medicamentos, reação em cadeia da polimerase (PCR), e até mesmo na luta contra a doença do coronavírus 2019 (COVID-19) (Cui et al., 2023).

2.2 Ressonância plasmônica de superfície localizada

O efeito de LSPR é um fenômeno observado em estruturas metálicas com dimensões da ordem de comprimentos de onda submicrométricos. Este efeito refere-se às oscilações coletivas dos elétrons da banda de condução confinados dentro de nanoestruturas altamente condutoras (Figura 1). Plasmons são, portanto, os *quanta* dessas oscilações eletrônicas coletivas, uma analogia aos fótons que representam os *quanta* das ondas de luz e aos fônons que são os *quanta* das ondas sonoras.

Figura 1 – Diagrama esquemático ilustrando a formação dos plasmons de superfície localizado em partículas metálicas esféricas.



Fonte: O autor (2024). (Adaptado: Willets; Van Duyne, 2007).

A excitação de plasmons não só pode induzir um aumento significativo do campo elétrico próximo à superfície da estrutura, como também provocar uma absorção extremamente intensa e seções transversais de espalhamento na frequência de ressonância. O processo de conversão fototérmica em uma nanoestrutura metálica pode ser compreendido através da excitação e do amortecimento dos plasmons de superfície. Nanoestruturas metálicas, sendo materiais condutores, geralmente possuem um elevado número de elétrons livres e polarizáveis. Quando iluminada por luz, uma nanoestrutura plasmônica pode absorver a energia dos fótons incidentes por meio de transições eletrônicas.

Quando a energia do fóton coincide com a banda de LSPR, ocorre uma interação ressonante intensa, resultando em absorção de luz e aprimoramento do campo local. Os elétrons condutores livres da nanoestrutura metálica são deslocados de seu estado de equilíbrio intrínseco e redistribuídos na superfície da estrutura, oscilando em fase com a onda eletromagnética externa. A fotoexcitação resultante do LSPR gera um estado global fora de equilíbrio, onde a defasagem e o decaimento dos plasmons acontecem a uma velocidade extremamente rápida.

Em síntese, o efeito plasmônico para o aquecimento localizado em nanoestruturas metálicas envolve a excitação LSPRs, seguida pela absorção, geração e relaxamento aprimorados de elétrons aquecidos e a transferência de calor para o meio circundante. A transferência de energia dos fótons absorvidos para os elétrons da banda de condução em nanoestruturas metálicas ocorre por

meio dos seguintes processos: (1) excitação ressonante dos plasmons de superfície; (2) um processo atômico de colisões entre elétrons; (3) rápida termalização da rede através da dispersão elétron-fônon; e (4) lenta dissipação térmica através de colisões entre fônons.

A ressonância de plasmon está sintonizada para um comprimento de onda específico com base no tamanho e forma de nanopartículas. A maioria das nanopartículas de prata usadas na medicina são esféricas e têm uma ressonância plasmon entre 410 e 450 nm. Para permitir a absorção de energia no NIR, é necessário usar nanopartículas de prata com uma morfologia prismática, que pode deslocar a banda de absorção para a região do NIR (Sears et al., 2021).

2.3 Terapia Fototérmica

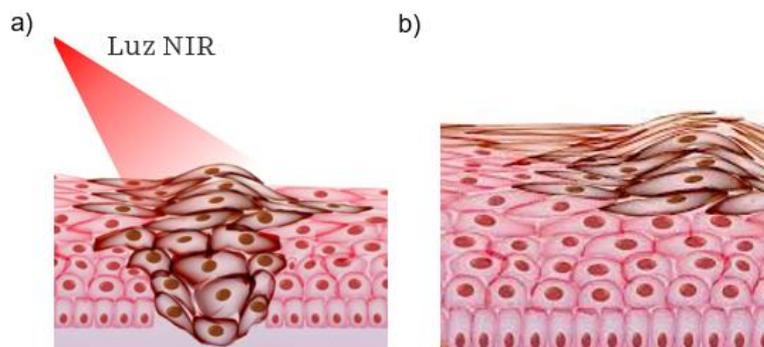
O tratamento contra o câncer é um dos desafios mais significativos que o setor de saúde enfrenta na atualidade. Pesquisas recentes revelaram que o número de novos pacientes com câncer globalmente é de aproximadamente 19,29 milhões, e o número de mortes de 9,6 milhões. Esta alta incidência e mortalidade do câncer levaram pesquisadores em todo o mundo a desenvolver estratégias de diagnóstico mais precisas e rápidas, além de métodos anticâncer mais eficazes (Zhao et al., 2021).

Dentre as terapias convencionais para tratamento do câncer, a quimioterapia e a radioterapia destacam-se como as mais utilizadas atualmente (Waks et al., 2019). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a quimioterapia utiliza medicamento, chamados de agentes quimioterápicos, os quais são transportados pelo sangue para todo o corpo, já na radioterapia utiliza-se radiações ionizantes, como por exemplo raios-X. Ambas as técnicas atuam destruindo as células doentes e impedindo que se espalhem (ou se multipliquem).

No entanto, os efeitos colaterais adversos, principalmente por serem invasivos ao organismo humano, e a resistência terapêutica limitam a eficácia desses tratamentos (Waks et al., 2019). Diante disso, com o desenvolvimento de materiais fototérmicos, a PTT surgiu como uma tecnologia terapêutica promissora, apresentando invasividade mínima, baixa toxicidade e seletividade espaço-temporal e tempos curtos de tratamento (Kadkhoda et al., 2022). A PTT

basea-se na irradiação de nanopartículas (NPs) metálicas com um *laser* na região do NIR (Figura 2) para a excitação de uma oscilação coletiva e coerente de seus elétrons de condução LSPR, que provoca o aumento da temperatura local.

Figura 2 – Ilustração simplificada do funcionamento da PTT. (a) Células patológicas irradiadas com o laser NIR. (b) Diminuição das células doentes pós-PTT, mantendo a integridade das células saudáveis periféricas.



Fonte: O autor (2024).

A PTT faz uso de nanomateriais fototérmicos para produzir hipertermia e desencadear a morte de células anormais. Quando um agente fototérmico é ativado por irradiação a *laser* em um comprimento de onda específico, o calor gerado pode se acumular em lesões, atingir precisamente os tumores e mitigar a sua metástase (Zhang *et al.*, 2017; Xing *et al.*, 2019; He *et al.*, 2015).

Para isso, é necessária uma potência de entrada relativamente baixa para a ablação de tumores, a qual pode minimizar os danos aos tecidos saudáveis circundantes, devido à absorção eficiente de luz dos nanomateriais fototérmicos (Cui *et al.*, 2023).

Portanto, esses nanocompósitos podem representar, uma medicina personalizada ao integrar propriedades ópticas em nanomateriais com eficiência fototérmica, permitindo, assim, a conversão de luz em calor por NPs de metais nobres, como ouro e prata, os quais apresentam forte absorção óptica e baixo espalhamento nas regiões visível e NIR. Depois de absorver certos comprimentos de onda da luz incidente, as NPs são usadas para gerar aquecimento em larga escala irradiando a superfície adjacente por ressonância plasmônica. Este caráter único está envolvido no processo de hipertermia

(ocorre em temperatura > 41 °C), que é usado para remover tumores sólidos de uma região específica (Marghani *et al.*, 2022). Esse processo promove a morte seletiva de células tumorais sem danificar os tecidos saudáveis devido ao efeito de permeabilidade e retenção aprimoradas (do inglês: Enhanced Permeability and Retention, EPR) relacionado às nanopartículas, o qual refere-se ao acúmulo das nanopartículas nos tecidos tumorais. Isso ocorre porque a taxa de crescimento dos tumores é significativamente maior do que a dos tecidos normais e há defeitos entre as células endoteliais vasculares do tumor, contribuindo para seu arranjo frouxo e alta permeabilidade (He *et al.*, 2022).

Evidencia-se que para atingir a erradicação completa dos tumores, a luz NIR com comprimentos de onda longos (na faixa de 650 a 1100 nm), especialmente na janela NIR-II, é mais efetiva, pois há uma maior penetração no tecido durante a PTT em comparação com os comprimentos de onda do visível. Por exemplo, na mama, o caminho livre médio para absorção de fótons na faixa NIR é superior a 15 cm, mas para dispersão é de cerca de 0,001 cm. Assim, os fótons NIR são espalhados no tecido mamário mais do que são absorvidos, levando à difusão, perda de densidade de energia e aquecimento de uma região de tecido bem fora da área focal inicial do feixe NIR (Sears *et al.*, 2021). Além disso, na região do visível também há uma menor absorção de energia por parte dos tecidos e biomoléculas. Dessa forma, como o coeficiente de dispersão diminui com o comprimento da onda, o uso de comprimentos de onda mais longos (> 950 nm) de NIR são desejáveis para aumentar a direcionalidade e diminuir as perdas por dispersão.

Por si só, a geração de calor dentro de um tumor pode ser terapêutica, resultando na morte das células cancerígenas, desde que a temperatura seja alta o suficiente por um determinado período de tempo. No entanto, a introdução de nanopartículas pode aumentar a taxa e quantidade de calor depositado no tumor em comparação com apenas a irradiação no NIR. A eficiência da conversão de luz em calor é maior quando as nanopartículas de metal são excitadas por comprimentos de onda de luz correspondentes à sua ressonância plasmônica.

Dessa forma, a PTT é, portanto, uma modalidade terapêutica anticancerígena eficaz devido a suas propriedades não invasivas e alto valor de pesquisa devido à sua operação simples, tempo de tratamento curto e

recuperação rápida, contribuindo, assim, para o avanço da ciência no tratamento contra o câncer.

2.4 Nanopartículas de Prata

As NPs plasmônicas têm despertado o interesse de pesquisadores devido à enorme variedade de áreas de aplicação médica nos últimos anos, especialmente no tratamento de tumores devido à diversidade nas suas propriedades físico-químicas, altas razões área superficial-volume, facilidade de operação e superfície ativa. Além disso, como a superfície da NP é de cerca de 10 – 100 nm há a possibilidade de interação e funcionalização com biomoléculas como proteínas, peptídeos, e anticorpos específicos devido a sua elevada área superficial.

Nanoestruturas metálicas como Au, Ag, Al e Cu atraíram enorme atenção por causa de suas LSPRs ajustáveis, as quais podem variar da região visível ao infravermelho (Štremfelj; Smole, 2021). Ademais, deve-se levar em consideração que há uma variação significativa de custo dos metais que podem sustentar os efeitos plasmônicos. O Au e a Ag são os mais utilizados, pois são menos tóxicos para biomedicina comparado aos outros metais e oferecem propriedades ópticas diferenciáveis, como por exemplo alta refletância e LSPRs. No entanto, o uso da prata se mostra mais vantajosa frente outros metais, pois combina boas qualidades em termos de efeito plasmônico, isto é, potencial de captura de luz mais eficaz devido à sua forte dispersão de luz e força plasmônica de superfície, metodologias de síntese conhecidas, com alto controle sobre tamanho e morfologia e bom custo-benefício. Além disso, as AgNPs são mais utilizadas pelos pesquisadores devido a sua biodegradabilidade e por apresentarem um perfil de biossegurança favorável (Mi *et al.*, 2021).

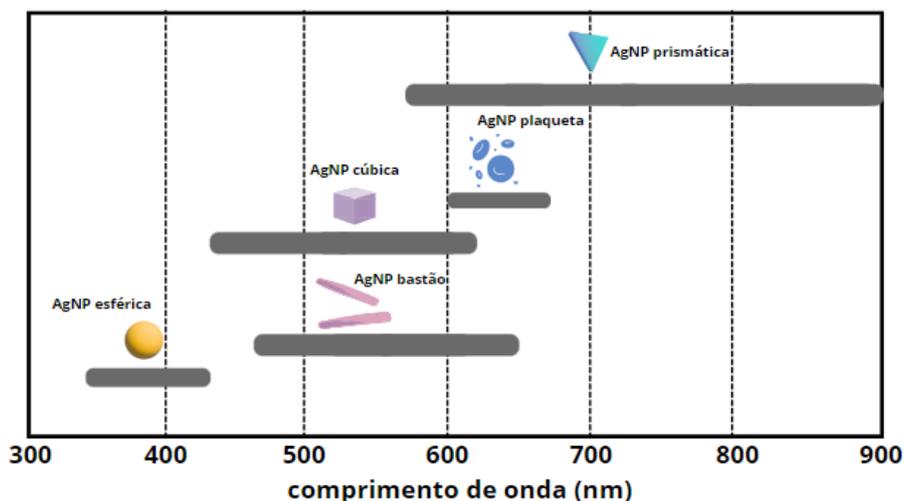
Diversos estudos apontam para a existência de propriedades antibacterianas e antitumorais nas nanopartículas de prata (AgNPs) em ensaios *in vitro* e *in vivo*, as quais são identificadas como genotóxicas e responsáveis pela morte seletiva de células cancerígenas por espécies reativas de oxigênio (do inglês, *reactive oxygen species*, ROS) induzidas por apoptose (Bose *et al.*, 2020).

Diante disso, as AgNPs são amplamente utilizados em aplicações biomédicas, uma vez que exibem pouca toxicidade na forma de NPs, mas podem

ser ativadas eficientemente para liberar Ag^+ hipertóxico em um ambiente oxidante, que pode matar células tumorais e bactérias (Behra *et. al.*, 2013; Kim *et. al.*, 2009). Zhang *et. al.*, 2020 projetaram uma nanoplataforma, aproveitando essa propriedade, para atingir ativação e liberação sob demanda de Ag^+ por meio do controle da condição de oxidação por terapia fotodinâmica induzida por luz NIR. Além das aplicações biomédicas, há evidência da utilização das AgNPs na área da biofísica e biosensorística devido à sua biocompatibilidade, inércia e facilidade de modificação química por meio da química sulfidril (Shipunova *et al.*, 2022).

As AgNPs podem apresentar diversas morfologias (como esferas, prismas, bastões e cubos) e tamanhos, os quais dependem da rota sintética utilizada e dos parâmetros selecionados, como temperatura, ordem de adição dos reagentes, pH e estabilizante. Para cada uma das formas mencionadas há uma coloração característica, variando desde o amarelo ao azul, a qual pode ser comprovada através de espectroscopia UV-Vis. A banda de absorção de luz possibilita correlacionar região de absorção com as diferentes formas obtidas, em que AgNPs esféricas apresentam uma banda de absorção com máximo em torno de 400 nm e que as prismáticas possuem um intervalo de absorção entre 550 -1000 nm (Figura 3).

Figura 3 – Correlação entre região espectral das bandas de absorção plasmônicas e morfologia de nanopartículas de prata (AgNPs).



Fonte: O autor (2024). (Adaptado: Lima, 2022).

As propriedades óticas das AgNPs estão diretamente ligadas à sua forma e ao seu tamanho. Um dos métodos utilizados para controlar a morfologia das AgNP é a utilização de H_2O_2 e de citrato de sódio, conforme foi confirmado pelos relatos realizados por Zhang *et al.*, 2011 e Lima, 2022, os quais realizaram estudos para identificar os papéis específicos de cada reagente na rota sintética de redução para chegar nas diferentes morfologias das AgNPs.

Para aplicações na medicina, a maioria das AgNPs utilizadas são em sua forma esférica, com banda de absorção próxima a 400 nm (Cheng *et al.*, 2012; Thompson *et al.*, 2014; Mi *et al.*, 2021), apesar dos comprimentos de onda ideais para atingir a erradicação completa dos tumores, por PTT, estejam no NIR, uma vez que apresentará maior penetração no tecido. Como por exemplo, Nedelcu *et. al.*, 2024 desenvolveu um nanobiosistema terapêutico fototérmico de AgNPs funcionalizados com IgG contra um tumor agressivo na região pancreática, e Shuo Yu *et. al.*, 2024, o qual sintetizou um nanoplateforma com um efeito de "ligação tripla" integrando a polidopamina (PDA), AgNPs e glicose oxidase (GOx), ambos para aplicação na PTT.

No entanto, é interessante que a banda de plasmon das AgNPs utilizadas estejam na mesma região de excitação do laser, uma vez que haverá uma absorção mais efetiva dessa excitação pelas NPs, fornecendo, conseqüentemente, um maior aquecimento. Diante disso, a síntese de AgNPs prismáticas surgem como uma alternativa promissora para um aumento da eficiência do tratamento por PTT. Sijia Liu *et. al.*, 2023 realizou estudos com AgNPs com absorção em 800 nm em linhagens de células mamárias, avaliando a sua eficácia e resposta na geração de calor para PTT, como resultado tiveram uma mudança de temperatura de 12° C, o que foi suficiente para reduzir em 45-68 % as células mamárias infectadas.

2.5 Imagem por Ressonância Magnética

A imagem por ressonância Magnética (IRM) é uma técnica de diagnóstico utilizada para diferenciar tecidos patológicos (tumores) dos saudáveis desde a década de 60, tendo como primeiros registros estudos realizados por Raymond Damadian, em que foi demonstrado que os tempos de relaxação longitudinal (T_1) dos tumores e de tecidos normais eram diferentes. Além disso, Damadian foi precursor no desenvolvimento de um aparelho propondo o uso da ressonância

magnética para detecção de tumores através de medidas de tempos de relaxação nuclear. Porém, só em 1972, Paul Lauterbur obteve as primeiras imagens por ressonância magnética e em 2003 recebeu o prêmio Nobel de Medicina pelos avanços proporcionados pela aplicação da técnica de IRM (Hage et al., 2009).

A RM é uma propriedade física exibida por núcleos de determinados elementos que, quando submetidos a um campo magnético forte emitem sinal, os quais podem ser transformados em imagem (Bloch *et al.*, 1946; Purcell *et al.*, 1946; Pykett *et al.*, 1982; Villafana, 1988). Ao contrário de outras técnicas de imagem, a IRM usa radiação de radiofrequência (RF), distinguindo as características e condições de tecidos sem os efeitos da radiação ionizante (Albuquerque et al., 2021).

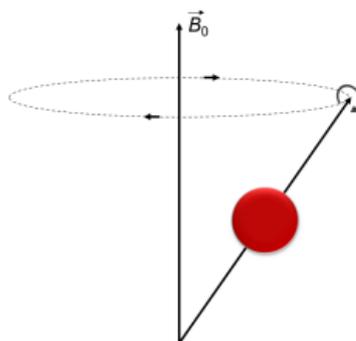
O sinal da técnica é obtido explorando os núcleos de hidrogênio, 1H , das moléculas de água presentes no corpo devido à grande concentração de água nos tecidos, correspondendo a cerca de 70% da massa corpórea humana, e de seu maior momento magnético, sendo o sinal obtido do hidrogênio-1 superior a 1000 vezes em relação a qualquer outro elemento presente nos tecidos. (Mendonça *et al.*, 1996). Na IRM, observa-se um sinal produzido pelo momento magnético do próton (ou spin nuclear), porém de acordo com a mecânica clássica, um próton apenas não é suficiente para produzir um sinal detectável. Estes prótons presentes no corpo estão orientados aleatoriamente e, com isso, a resultante dos seus vetores momento magnético é zero.

Na presença de um campo magnético externo (B_0), os spins magnéticos tendem a assumir determinadas orientações, as quais são definidas pelo número momento angular de spin I , onde, segundo a mecânica quântica, o número de orientações possíveis é igual a $2I+1$ (para o 1H , $I = \frac{1}{2}$ e por isso surgem os dois estados energéticos). As duas orientações representam diferentes estados energéticos, sendo o estado de menor energia aquele que se encontra paralelamente alinhado com B_0 , denominado estado α , e o estado de maior energia, o antiparalelo a B_0 , denominado estado β . A distribuição dos spins nos dois níveis é regida pela distribuição de Boltzmann, com resultante alinhada paralelamente a B_0 (Mz) (Albuquerque et al., 2021).

Considerando o eixo z como o eixo paralelo ao campo magnético que será aplicado e o plano xy como o plano transversal, temos que M_z aponta na mesma

direção do campo magnético principal, que é referido como eixo longitudinal ou eixo z. No entanto, os prótons não se alinham precisamente ao longo do eixo z, mas sim se movimentam em torno deste, girando em torno do seu eixo gravitacional, movimento conhecido como precessão (Figura 4), a qual depende somente da intensidade do campo magnético (Albuquerque et al., 2021).

Figura 4 – Movimento de rotação e precessão do próton ^1H na presença de um campo magnético externo.



Fonte: Albuquerque (2020).

A frequência de precessão cresce com o aumento do campo magnético, logo maior será a frequência de precessão do spin, conhecida como frequência de Larmor. Para detecção do sinal, a resultante deve ser deslocada para o plano transversal, e para que ocorra surgimento da componente vetorial em xy , é necessário a aplicação de outro campo magnético B_1 , ou seja, um pulso na região de rádio frequência, perpendicular ao B_0 de curta duração. Uma vez que esse pulso é cessado, a componente vetorial em xy retorna ao seu estado de equilíbrio, liberando energia para o ambiente. Esse processo é conhecido como relaxação e o tempo de retorno da magnetização para o eixo em questão foi denominado de tempos de relaxação, T_1 e T_2 (Coiado, 2021).

Quando B_1 é desligado e a magnetização M_z recupera em 63% da condição de equilíbrio que exibia enquanto o sistema estava sujeito apenas a B_0 , tem-se o relaxamento longitudinal (T_1), o qual ocorre por meio de interações spin-rede com uma constante exponencial de tempo. Essa constante, influenciada pela relaxação através da perda de energia para a vizinhança, dá informação sobre a velocidade de recuperação da magnetização do sistema no plano paralelo ao campo B_0 . Em outras palavras, T_1 mede o quão “rápido” o vetor

magnetização se recupera para seu estado fundamental na direção de B_0 (retorno de núcleos excitados do estado de alta energia para o de baixa energia) (Albuquerque *et al.*, 2021; Richardson *et al.*, 2005).

Simultaneamente ao relaxamento longitudinal, ocorre o relaxamento transversal, que por sua vez está relacionado a componente xy da magnetização, que surge após aplicação de B_1 . Neste caso, sob a influência de B_0 e B_1 os spins nucleares passam a precessar em fase e os momentos magnéticos, portanto, se somam de forma não nula, resultando em uma magnetização rotativa no plano xy . Após desligar B_1 , os spins nucleares já não precessam em fase e a magnetização xy diminui ao longo do tempo, até seu estado inicial, ou seja, torna-se nulo. Este relaxamento resulta das interações spin-spin e decai exponencialmente com uma constante de tempo, T_2 (tempo de relação transversal). Considera-se como o valor de T_2 o intervalo temporal em que 63% da magnetização transversal é perdida (Brown *et al.*, 2014; Ta *et al.*, 2017).

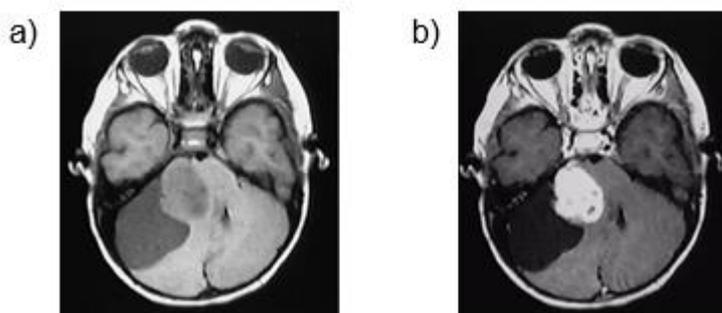
Nos tecidos biológicos, os valores de T_1 e T_2 são muito menores do que os observados em água pura devido a interações das moléculas de água com macromoléculas ou com possíveis espécies paramagnéticas endógenas. Além disso, a mobilidade da água em tumores ou em outras lesões pode aumentar os valores observados para essas grandezas, o que proporcionam contraste observado nessas imagens (Brown *et al.*, 2014).

No organismo T_2 é tipicamente muito menor do que T_1 (até uma ordem de grandeza) e na intensidade de B_0 nos equipamentos de IRM comumente utilizados clinicamente. Dessa forma, a dependência entre intensidade de B_0 e os tempos de relaxação é mais evidenciada para T_1 do que para T_2 , o que permite que T_1 possa ser mais facilmente modulado. Ademais, também deve-se levar em consideração as possíveis flutuações de B_0 , uma vez que estas heterogeneidades podem interferir em T_2 dificultando obtenção do contraste adequado para o exame clínico. As imagens são obtidas a partir da aplicação de gradientes de campo, pois nesse caso o sinal é variado em função da direção, isto é, possibilita a localização espacial do sinal de ressonância magnética ao longo de três direções perpendiculares, fornecendo, assim, a profundidade requerida. (Lufkin, 1999).

2.5.1 Agentes de contraste

Os agentes de contrastes (ACs) surgem como uma alternativa para melhorar o contraste observável nas IRM (Figura 5), uma vez que possuem características eletrônicas adequadas para diminuir os tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) dos núcleos de hidrogênio (^1H) das moléculas de água do meio, aumentando, assim, a sensibilidade da técnica (contraste observável) (Mishra; Kannan, 2017; Ni *et. al.* 2017).

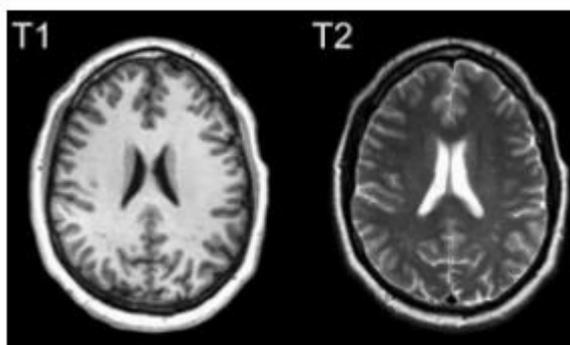
Figura 5 – Imagem por ressonância magnética (a) sem e (b) com a utilização de ACs.



Fonte: NEIS, 2013. Disponível em: <https://slideplayer.com.br/slide/3153618/>. Acesso em 25 set. 2024.

Os ACs são compostos por quelatos coordenados a íons paramagnéticos, como por exemplo Co^{2+} , Fe^{3+} , Gd^{3+} , Mn^{2+} , os quais fornecem o sinal para IRM por apresentarem momento magnético devido a seus elétrons desemparelhados (Aime *et al.*, 2003, Caravan *et al.*, 1999, Clough *et al.*, 2019, Weishaupt *et al.*, 2008). Além disso, os ACs podem ser classificados em positivos e negativos (Figura 6), que depende da razão r_2/r_1 e do campo magnético. Quando essa razão está em torno de 1-2, isto é, quando causam maior diminuição em T_1 admitem-se um contraste positivo, como por exemplo os complexos de gadolínio. Já para valores superiores a 10, quando o resultado é mais expressivo em T_2 tem-se contrastes negativos, exemplos são os óxidos de ferro (Coiado, 2021; Albuquerque, 2020).

Figura 6 – Representação da IRM em campo claro (T_1) e campo escuro (T_2).



Fonte: Albuquerque (2024).

A eficiência de um AC é monitorada em termos de relaxividade, r_1 ou r_2 , ($mM^{-1} \cdot s^{-1}$), isto é, quanto maiores estes valores, menores serão os tempos correspondentes observados. A relaxividade pode ser calculada pela equação 1 (Caravan *et. al.*, 2009), onde T_d correspondem à contribuição diamagnética pela influência do solvente na taxa de relaxação, T_p à taxa de relaxação paramagnética e T_{obs} é a taxa de relaxação observada dos sistemas com complexo.

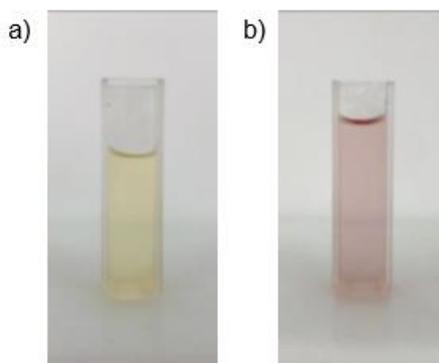
$$r_i = \frac{\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} - \left(\frac{1}{T_i}\right)_d}{[Gd^{3+}]} = \frac{\left(\frac{1}{T_i}\right)_p}{[Gd^{3+}]} \quad i = 1,2 \quad \text{Equação 1}$$

Dentre os ACs clinicamente aprovados para uso em IRM os complexos de gadolínio (Gd^{3+}) se destacam, principalmente, devido ao fato deste íon apresentar sete elétrons desemparelhados, garantindo-lhes um alto momento magnético efetivo e tempo de relaxação relativamente longo (Albuquerque, 2024; Oliveira *et. al.*, 2022). Apesar do Gd^{3+} apresentar uma alta toxicidade aos seres vivos, as interações com o meio biológico só ocorrem caso este metal esteja em sua forma livre. Por isso, uma estratégia para diminuir a toxicidade é complexar o íon Gd^{3+} com ligantes orgânicos, os quais podem ser facilmente excretados pelo organismo (Jeong & Na, 2018; Oliveira *et al.*, 2024).

Um método para avaliar se a complexação do ligante com o íon foi efetiva é o teste do alaranjado de xilenol (do inglês: Xylenol Orange, XO), através de análises qualitativa e quantitativa. A solução de XO apresenta uma coloração naturalmente alaranjada, na presença de metais livres há mudança do pH inicial

que é percebida pela mudança de cor (Figura 7) (Jeong & Na, 2018; Liosi *et al.*, 2017; Setiawan *et al.*, 2022).

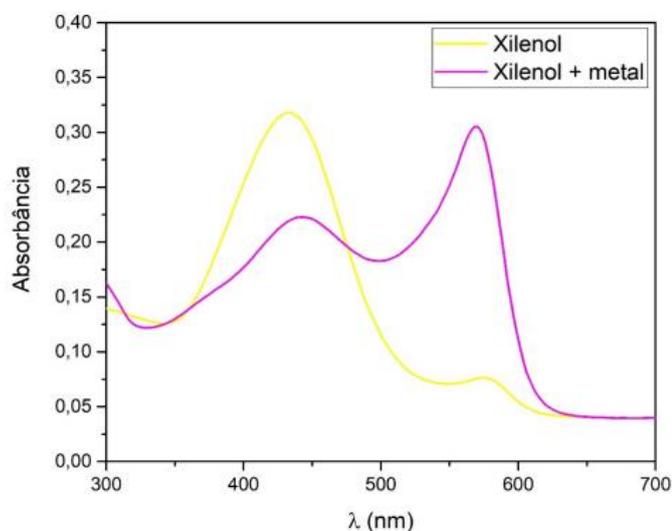
Figura 7 – Mudança na coloração observada na solução de XO. (a) Na ausência e (b) presença de um metal livre em solução.



Fonte: Albuquerque (2020).

Além disso, nesse teste é possível estimar a concentração de metal livre em solução em concentrações na faixa de micromolar por espectroscopia de absorção UV-Vis (Albuquerque, 2024). Na ausência de metal livre em solução, nota-se uma banda mais intensa em 433 nm e outra menos intensa em 573 nm, já na presença do íon a intensidade dessas bandas se inverte (Figura 8).

Figura 8 – Espectro de absorção do xilenol na ausência e presença de metal livre em solução.



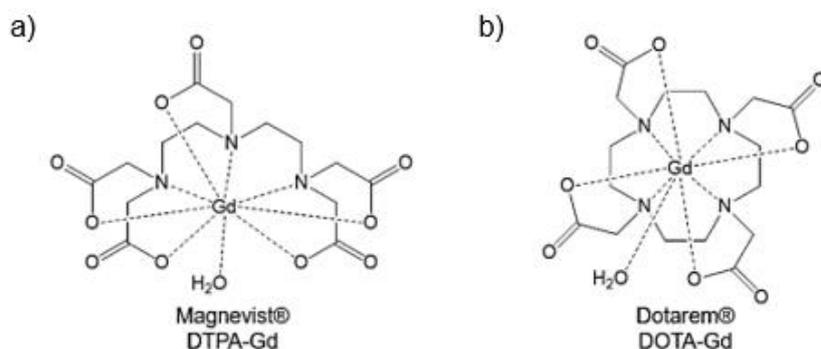
Fonte: Albuquerque (2024).

Como a concentração de Gd^{3+} é diretamente proporcional à razão entre as absorvâncias nestes dois comprimentos de onda, é possível estimá-la utilizando a equação 2 (Barge *et al.*, 2006), onde A e B são os coeficientes obtidos por regressão linear, usando uma solução de Gd^{3+} com concentração conhecida.

$$[Gd^{3+}] = A + B \frac{Abs^{573}}{Abs^{433}} \quad \text{Equação 2}$$

Há indícios de estudos relacionados aos ACs baseados em quelatos de Gd^{3+} desde a década de 80, porém o primeiro AC, um complexo de gadolínio com ácido de dietilenotriaminapenta-acético (DTPA), o Magnevist® (Figura 9a), só foi sintetizado em 1981 e utilizado clinicamente em humanos em 1988. No entanto, esses ACs possuem algumas desvantagens como certas restrições à sua aplicação *in vivo* de acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *European Medicines Agency* (EMA) (Caravan *et al.*, 1999, Clough *et al.*, 2019). Por outro lado, uma alta estabilidade cinética e termodinâmica é observada em complexos com o ligante macrocíclico ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano1,4,7,10-tetraacético (DOTA) (Figura 9b), os quais possuem excelentes habilidades quelates e exibem a maior constante de estabilidade conhecida até o momento quando complexados com lantanídeos trivalentes (Caravan *et al.*, 1999, Clough *et al.*, 2019, Tóth *et al.*, 1994). O AC baseado no ligante DOTA e quelatos de Gd^{3+} utilizado clinicamente é conhecido como o Dotarem®.

Figura 9 – Agentes de contraste mais utilizados clinicamente. (a) DPTA-Gd; (b) DOTA-Gd.



Fonte: Albuquerque (2024).

2.6 Sistemas teranósticos

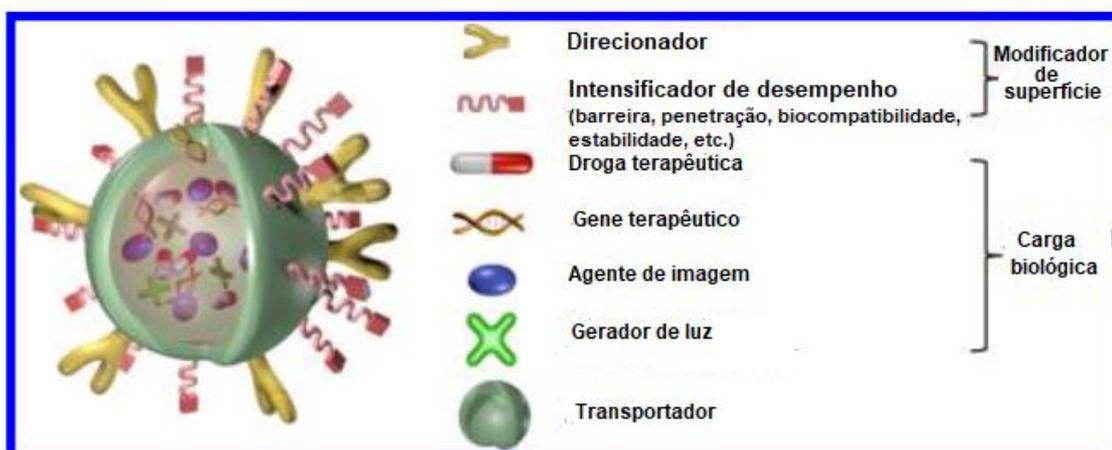
Em 1998, John Funkhouser, o CEO da PharmaNetics, usou o termo “Teranósticos” pela primeira vez como um conceito de “a capacidade de afetar a terapia ou o tratamento de um estado de doença” (Lim et al., 2015). Desde então, o termo “teranóstico” adquiriu um novo significado, sendo ele a combinação de terapia e diagnóstico, e atualmente tornou-se uma das principais palavras-chave na pesquisa sobre câncer.

Um dos principais problemas relacionados ao tratamento do câncer está ligado à sua erradicação, principalmente devido a diagnósticos tardios e falta de técnicas terapêuticas eficazes. Diante disso, nanomateriais que combinem propriedades de um medicamento terapêutico com um agente de imagem têm despertado o interesse da comunidade científica com o intuito de solucionar essa problemática (Lim et al., 2015).

Um sistema teranóstico permite administrar medicamentos e agentes de imagem nas mesmas doses para geração de imagens, cura e monitoramento do tecido doente e eficácia do medicamento por períodos prolongados (Li et al., 2018). Materiais baseados em NPs foram pioneiros como um conceito emergente de teranóstico, facilitando o diagnóstico e tratamento simultâneos do câncer (Lammers et al., 2010; Lammers et al., 2011; Kelkar et al., 2011; Xiao et al., 2018; Peng et al., 2017). O aspecto mais encorajador desses novos materiais é que a teranóstica está evoluindo para incorporar aspectos tanto da imagem molecular, quanto da terapia personalizada do câncer

O *design* desses sistemas nanoparticulados é baseado em três componentes: a carga útil biomédica, transportador e modificador de superfície (Lim et al., 2015), conforme mostrado na Figura 10. As “cargas úteis” biomédicas incluem agentes de imagem, como por exemplo: corantes orgânicos, pontos quânticos (QDs), ACs para IRM ou tomografia computadorizada e agentes terapêuticos (drogas anticâncer, nanopartículas indutoras de hipertermia, agentes geradores de ROS). O transportador tem como objetivo fornecer “proteção física” suficiente para as cargas úteis sob condições fisiológicas durante a entrega no local-alvo desejado. Por fim, o modificador fornece aos nanomateriais teranósticos propriedades adicionais, por exemplo, longo tempo de circulação, capacidade de penetração de barreira, e capacidade de ligação específica do alvo, o qual geralmente é anexado na superfície do transportador.

Figura 10 - Ilustração esquemática de um nanocompósito teranóstico.



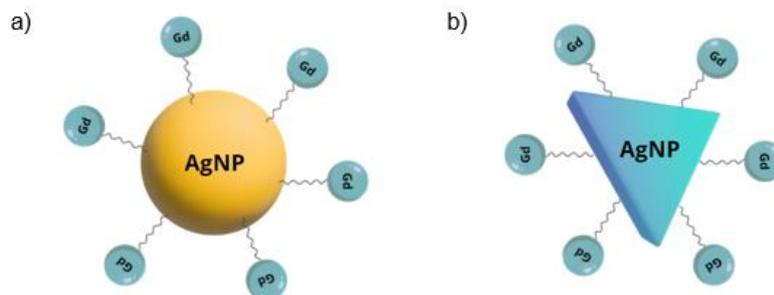
Fonte: O autor (2024). (Adaptado: Lim *et. al.*, 2015).

Dessa forma, a formulação de nanopartículas teranósticas permite monitorar a resposta ao tratamento, aumentando, assim, a eficácia e segurança do medicamento (Lee *et. al.*, 2012; Lee *et. al.*, 2011).

Atualmente, novos avanços na bioaplicação de nanomateriais estão sendo relatados, como por exemplo formulações baseadas em AgNP, as quais exibem efeitos teranósticos promissores para o tratamento de vários tipos de câncer *in vitro* e *in vivo* (Li *et. al.*, 2016; Yang *et. al.*, 2018; Liao *et. al.*, 2017; Peng *et. al.*, 2017; Lin *et. al.*, 2016) e o aumento significativo do contraste de ressonância magnética usando nanopartículas superparamagnéticas com altos valores de magnetização (Amstad *et. al.*, 2009; Dong *et. al.*, 2013; Lee, *et. al.*, 2007).

Diante disso, a sonda teranóstica pode representar uma medicina personalizada ao integrar propriedades ópticas personalizadas em nanomateriais com eficiência fototérmica. Logo, um sistema teranóstico baseado em AgNPs (esféricas e prismáticas) e quelatos de Gd^{3+} (Figura 11) é um nanomaterial promissor para o diagnóstico e tratamento do câncer, uma vez que combina as propriedades plasmônicas e fototérmicas das NPs com a eficiência relaxométrica dos quelatos de Gd^{3+} . Assim, neste trabalho foram obtidos sistemas teranósticos eficientes para aplicação em IRM e PTT.

Figura 11 – Sistemas teranósticos baseados em quelatos de Gd^{3+} e AgNPs com diferentes morfologias: (a) esférica e (b) prismática.



Fonte: O autor (2024).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento e caracterização de sistemas teranósticos baseados em nanopartículas de Ag (AgNPs) conjugadas a quelatos de gadolínio.

3.2 Objetivos Específicos

- Síntese aquosa e caracterização de AgNPs com absorção em diferentes regiões espectrais;
- Preparação e caracterização de complexos de gadolínio tiolados, usando como ligante derivados do DOTA;
- Preparação dos sistemas teranósticos através da conjugação do grupo tiol do complexo nas superfícies das AgNPs;
- Caracterização óptica dos sistemas teranósticos;
- Estudo do comportamento relaxométrico dos sistemas teranósticos.

4 METODOLOGIA

4.1 Reagentes

Todos os reagentes foram usados conforme recebidos sem purificação adicional e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de 18,2 M Ω a temperatura ambiente, Arium® Min Essential). Para síntese das AgNPs foram utilizados seguintes os reagentes: nitrato de prata (AgNO₃, 99.0%, Sigma-Aldrich), citrato de sódio tribásico (Cit, Na₃C₆H₅O₇.2H₂O, P.A - ACS, Dinâmica Química Contemporânea Ltda.), dextrose anidra (Glucose) (C₆H₁₂O₆, P.A, Dinâmica Química Contemporânea Ltda.), borohidreto de sódio (NaBH₄, P.S., Dinâmica Química Contemporânea Ltda.) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂, P.A., Química Moderna). Para a síntese dos complexos de Gd³⁺ utilizaram-se os seguintes reagentes: L-glutathiona reduzida (GSH, 98%, Sigma-Aldrich), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA, 97%, Sigma-Aldrich), *N*-hidroxissuccinimida (NHS, 98%, Sigma-Aldrich), *N*-etil-*N*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC, 98%, Sigma-Aldrich), cloreto de gadolínio (GdCl₃, 99,99%, Sigma-Aldrich), L-cisteína (Cys, 97%, Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio (NaOH, 98%, Sigma-Aldrich), L-histidina (His, 99%, Dinâmica Química Contemporânea Ltda.).

4.2 Equipamentos

Durante este trabalho foram também utilizados os seguintes equipamentos: pHmetro (FT-P21, Hanna Instruments), espectrofotômetro de absorção UV-Vis (PerkinElmer, Lambda 650), Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Analítica), relaxômetro (Minispec Bruker de 60 MHz), centrífuga (Cence TD3), espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, PerkinElmer, Spectrum 3) e microscópio eletrônico de transmissão (MET, Tecnai Spirit Biotwin G2, 120 kV, FEI Company), o microscópio foi equipado com câmeras CCD MegaView Olympus 2K e Eagle 4K, bem como *software* para captura de imagens Tecnai Imaging & Analysis (TIA) da FEI.

4.3 Síntese e caracterização das AgNPs

Na primeira etapa deste projeto foi desenvolvida uma estratégia sintética para a preparação de AgNPs (esféricas e prismáticas) em solução aquosa (Figura 12), usando como ponto de partida metodologias desenvolvidas pelo grupo de pesquisa e artigos da literatura (Lima, 2022; Zhang et al., 2011). De forma a otimizar as propriedades das NPs foram realizadas várias sínteses, nas quais variaram-se alguns parâmetros como tempo de reação, e volume adicionado de H_2O_2 (para as NPs prismáticas) e de $NaBH_4$.

Inicialmente, soluções aquosas de nitrato de prata (0,05 M), citrato trissódico (75 mM), glicose (17,5 mM) e borohidreto de sódio (100 mM) foram preparadas. Em um balão de duas bocas, foram adicionados 23,85 mL de água MilliQ (+18 $\mu\Omega$) para a preparação das NPs esféricas (AgNP E) ou 23,79 mL de água MilliQ (+18 $\mu\Omega$) para as NPs prismáticas (AgNP P). Logo após, o balão foi aquecido, sob agitação, e ao atingir 70 °C foram adicionados os seguintes reagentes, na ordem indicada: 50 μ L da solução de $AgNO_3$, 0,5 mL da solução de citrato trissódico e 0,1 mL da solução de glicose. Em seguida, adicionou-se o H_2O_2 , para as NPs prismáticas, e o $NaBH_4$, como agente redutor, ambos de acordo com as proporções volumétricas estabelecidas na Tabela 1. Por fim, o sistema permaneceu sob agitação e aquecimento a 70 °C, durante 3 ou 10 minutos. As sínteses foram feitas em duplicatas.

Figura 122 – Representação do procedimento geral de preparação das AgNPs esféricas e prismáticas.



Fonte: O autor (2024).

Tabela 1 – Parâmetros e proporções volumétricas utilizadas em cada síntese.

Síntese	Tempo (min)	H ₂ O ₂ (μL)	NaBH ₄ (μL)
AgNP E1	3	-	250
AgNP E2	10	-	250
AgNP E3	3	-	100
AgNP E4	3	-	125
AgNP E5	10	-	100
AgNP P1	3	60	250
AgNP P2	10	60	250
AgNP P3	3	70	250
AgNP P4	3	80	250
AgNP P5	3	90	250
AgNP P6	3	60	100
AgNP P7	3	60	125
AgNP P8	3	90	100
AgNP P9	3	90	125
AgNP P10	10	90	250
AgNP P11	10	90	100
AgNP P12	10	60	100

Fonte: O autor (2024).

As NPs foram caracterizadas por espectroscopia de absorção UV-Vis, compreendendo uma faixa entre 250-900 nm, sem diluição da amostra, por potencial Zeta, espalhamento dinâmico de luz (do inglês: Dynamic Light Scattering, DLS) e por Microscopia Eletrônica de Transmissão, MET.

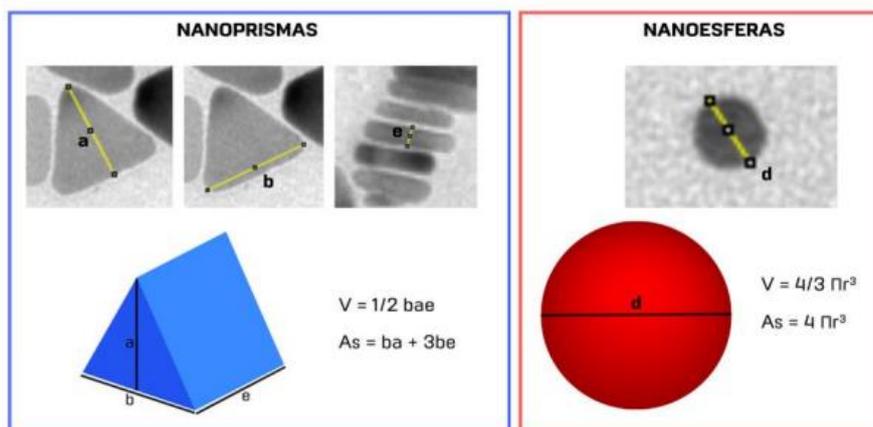
4.3.1 Potencial zeta e DLS

Para as medidas de DLS e potencial Zeta, as AgNPs foram purificadas através da centrifugação, à 3000 rpm durante 3 min, em tubos de ultracentrifugação com membrana de 10 kDa MWCO (Vivaspin®, GE Healthcare). Em seguida, as NPs foram diluídas em água ultrapura na proporção de 1:5.

4.3.2 MET

As amostras de AgNPs foram gotejadas em grade de cobre 400 Mesh com filme de carbono (holey carbon, TED PELLA, INC.), as quais seguiram para análise no equipamento. Para determinar o tamanho das nanopartículas, foi utilizado o *software* de processamento de imagem, ImageJ, de domínio público e gratuito. Por meio desse programa, foram obtidas as dimensões dos nanoprismas e o diâmetro médio das nanoesferas, conforme figura 13, os quais foram utilizados para calcular o volume e a área superficial das nanopartículas de prata obtidas.

Figura 133 - Ilustração das medidas retiradas das imagens de MET para o cálculo da área superficial e do volume das AgNPs.



Fonte: Lima, 2022.

4.4 Preparação e caracterização dos complexos de Gd³⁺

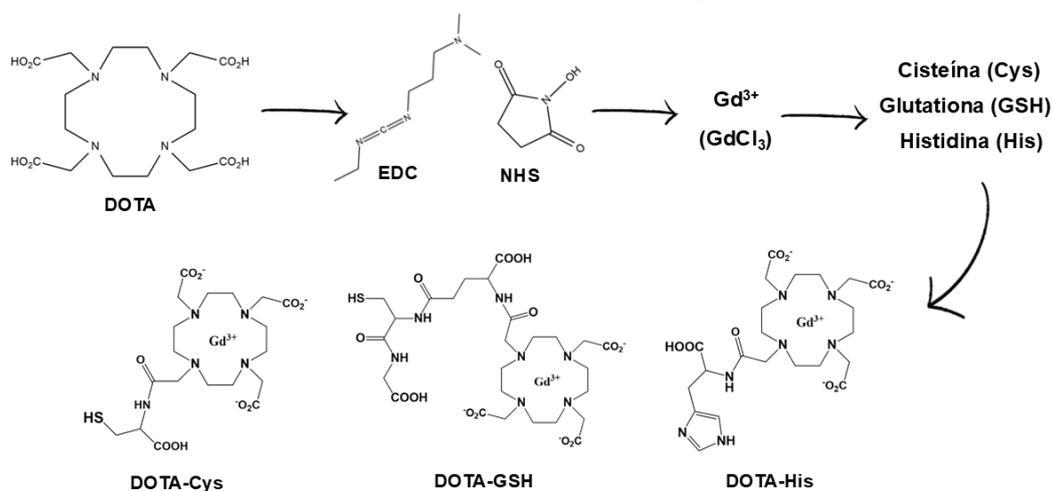
No trabalho foi utilizado como ligante, o DOTA, conjugado à His, Cys e GSH, os quais serão chamados neste trabalho de “*linkers*”. Para preparar os complexos (Figura 14), foram calculadas as quantidades necessárias dos reagentes a serem pesadas de modo a obter no final 50 mL de uma solução de DOTA-Gd a 0,01 M. De início foi dissolvido 0,5 mmol do ligante em 20 mL de água ultrapura, ajustando o pH para 5,5-5,8 a partir de uma solução de NaOH (2 M). Sob agitação, foram adicionados os agentes de acoplamento, 0,5 mmol de EDC e 0,5 mmol de NHS (ambos diluídos em 10 mL de água ultrapura), e a solução foi deixada durante 1 h a 60 °C. Para obter o complexo, esperou-se que a solução retornasse a temperatura ambiente para que o pH pudesse ser

ajustado para 7, seguindo da adição de uma solução aquosa contendo 0,45 mmol de GdCl_3 diluídos em 10 mL de água ultrapura. A solução final permaneceu sob agitação por mais 1 h a 60 °C. Por fim, a solução de 50 mL do complexo 0,01 M foi colocada a 60 °C por mais 20 minutos.

Após a obtenção do complexo ativado, em temperatura ambiente, o pH foi novamente monitorado e ajustado para 7 e a solução aquecida a 60 °C por mais 20 minutos até que o pH se mantivesse próximo de 7.

Em seguida, foram retiradas alíquotas de 2 mL da solução do complexo, onde foram adicionados os *linkers* (0,01 M) selecionados, deixando o sistema em agitação por 4 horas em temperatura ambiente e, em seguida, ajustando o pH uma última vez para 7.

Figura 144 - Representação esquemática da preparação dos complexos de Gd^{3+} funcionalizados com His, Cys e GSH.



Fonte: O autor (2024).

4.4.1 Relaxividade

A propriedade relaxométrica dos complexos foi analisada com o auxílio de um relaxômetro (60 MHz, 37 °C), através das medidas dos tempos de relaxação longitudinal (T_1) dos prótons ^1H das moléculas de água na ausência e na presença dos complexos paramagnéticos, conforme metodologia sugerida por Albuquerque (2020). O complexo formado foi caracterizado através do cálculo da relaxividade, r_i , pela equação 1, mencionada anteriormente.

$$r_i = \frac{\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} - \left(\frac{1}{T_i}\right)_d}{[Gd^{3+}]} = \frac{\left(\frac{1}{T_i}\right)_p}{[Gd^{3+}]} \quad i = 1,2 \quad \text{Equação 1}$$

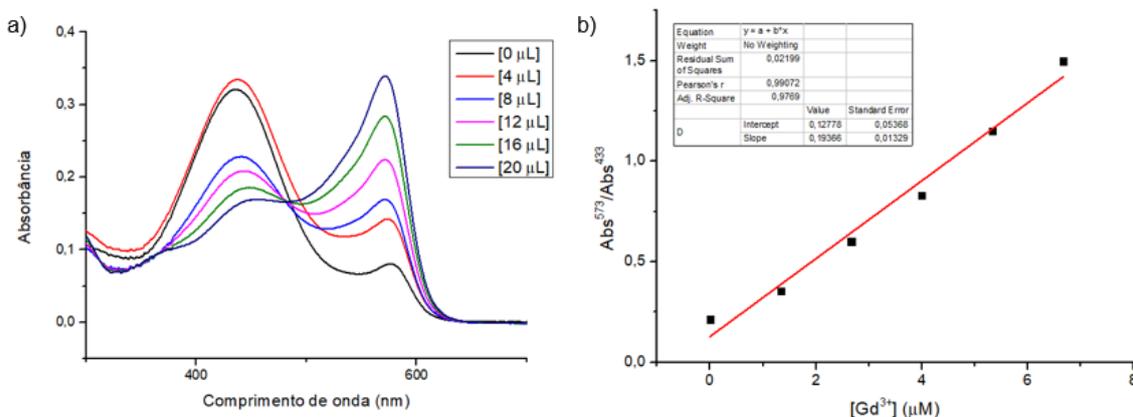
A contribuição diamagnética ($T_{i,d}$), neste caso, consistiu no tempo de relaxação medido para a suspensão aquosa contendo apenas o solvente, nesse caso água, enquanto que as medidas dos complexos referiam-se ao $T_{i,obs}$.

4.4.2 Alaranjado de Xilenol

O teste do alaranjado de xilenol foi realizado, pois trata-se de uma forma rápida de estimar a quantidade de Gd^{3+} livre em solução. A solução de alaranjado de xilenol foi preparada com base na metodologia proposta por Barge *et. al.* (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução tampão, diluindo 2,87 mL de ácido acético em 800 mL de água ultrapura, ajustando o pH para 5,8 com NaOH (2 M) e completando o volume da solução para 1 L. Em seguida, adicionou-se 3 mg de xilenol e a solução foi dividida em alíquotas de 20 mL (armazenadas à aproximadamente -6 °C).

As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro absorção UV-Vis. De início, antes da caracterização dos complexos, fez-se necessário construir uma curva de calibração da concentração de Gd^{3+} em função da razão da absorbância do alaranjado de xilenol em 573 nm e 433 nm, utilizando uma solução de Gd^{3+} 0,001 M (Figura 15), variando o seu volume adicionado em intervalos de 4 μ L em 3 mL da solução do xilenol. Os dados encontram-se na Tabela 2.

Figura 155 – (a) Espectros de absorção do alaranjado de xilenol na presença de diferentes quantidades de Gd^{3+} . (b) Curva de Calibração para determinação da quantidade de Gd^{3+} livre utilizando o alaranjado de xilenol.



Fonte: O autor (2024).

Tabela 2 – Valores obtidos no teste do alaranjado de xilenol para o cálculo da curva de calibração para determinação da concentração de Gd^{3+} livre.

Volume adicionado (μL)	$[Gd^{3+}]$ (μM)	Abs^{573}/Abs^{433}
0	0	0,2129
4	1,34	0,3545
8	2,67	0,5996
12	4,00	0,8288
16	5,34	1,1505
20	6,67	1,4975

Fonte: O autor (2024).

Desta forma, a partir destes dados, obtêm-se a equação da curva de calibração do gráfico Abs^{573}/Abs^{433} vs $[Gd^{3+}]$ (Figura 15b), com $R^2 = 0,9907$, utilizada para estimar a quantidade de metal livre em solução (equação 3).

$$[Gd^{3+}] = 0,1937 \cdot \frac{Abs^{573}}{Abs^{433}} - 0,1278 \quad \text{Equação 3}$$

Para determinar a concentração de Gd^{3+} livre em solução em cada solução de complexo, foram adicionados os mesmos volumes utilizados

anteriormente na construção da curva de calibração, dessa vez para o complexo em 3 mL da solução de alaranjado de xilenol e foram medidos os espectros de absorção. A partir dos valores obtidos para a absorbância em 433 e 573 nm da solução de xilenol e da equação 2 foi estimada a concentração de Gd^{3+} livre.

4.4.3 FTIR

Os complexos foram analisados no espectrofotômetro de infravermelho utilizando método da Reflectância Total Atenuada (do inglês: *Attenuated Total Reflectance*, ATR), o qual é baseado nas reflexões após a introdução de luz em uma amostra. Esse método permite adquirir informações estruturais e de composição da amostra analisada. Para isso, foi separada uma alíquota de aproximadamente 50 μL de cada complexo antes e após a conjugação com os *linkers*.

4.5 Preparação dos sistemas teranósticos

Os sistemas foram preparados a temperatura ambiente e em duplicata. O complexo descrito anteriormente foi conjugado na superfície das AgNPs, a partir de uma ligação metal-tiol ou metal-nitrogênio, para obter os sistemas bimodais propostos.

Inicialmente, o pH da solução das AgNPs e dos complexos foi conferido, apresentando valores entre 7-8 e 7-7,5, respectivamente. As AgNPs selecionadas (com base na análise dos resultados obtidos) foram centrifugadas a 3000 rpm por 3 min, em tubos de ultracentrifugação com membrana de 10kDa MWCO, com o intuito de concentrá-las.

Em seguida, foram adicionados 20 μL da solução do complexo preparado à 3 mL das AgNPs concentradas, e a solução foi deixada sob agitação por 2 horas.

Para realizar as medidas de relaxividade dos sistemas, de início fez-se necessário centrifugá-los a 3000 rpm por 3 min, utilizando tubos de ultracentrifugação com membrana de 10kDa MWCO. Essa etapa é importante, pois há a remoção dos íons de Gd^{3+} livres na solução e dos complexos que não conjugaram na superfície das AgNPs.

4.6 Caracterização dos sistemas teranósticos

Os sistemas bimodais foram caracterizados por espectroscopia de absorção UV-Vis, analisando a faixa entre 250-900 nm, potencial Zeta, e DLS. Para todas estas análises o preparo da amostra foi semelhante ao da AgNP.

As propriedades relaxométricas a 60 MHz e 37 °C foram obtidas de forma semelhante à caracterização dos complexos de Gd^{3+} . A contribuição diamagnética ($T_{i,d}$), neste caso, consistiu no tempo de relaxação medido para a suspensão aquosa contendo apenas a AgNP, enquanto que as medidas dos sistemas contendo os complexos referiam-se ao $T_{i,obs}$.

Além disso, os sistemas foram analisados por FTIR, utilizando o mesmo método empregado anteriormente para os complexos (ATR).

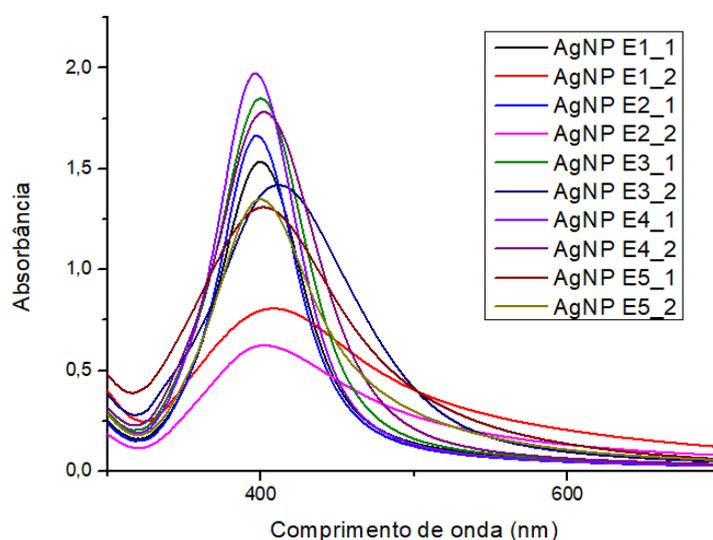
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese e caracterização de AgNPs

Ensaio preliminares foram realizados com o intuito de reproduzir o protocolo de síntese estabelecido pelo grupo de pesquisa (AgNP E1 e AgNP P1), porém com um novo estabilizante, a glicose. O comportamento das AgNPs foi analisado em função de alterações no procedimento experimental, ou seja, ao mudar o tempo de reação e volumes das soluções de H_2O_2 e $NaBH_4$ adicionados.

Observou-se que as sínteses referentes as AgNPs esféricas foram bem-sucedidas, uma vez que apresentaram uma coloração amarelada característica das AgNPs com essa morfologia. Além disso, na caracterização por espectroscopia de absorção UV-Vis, nota-se que o máximo da banda de absorção de todos os sistemas encontra-se em aproximadamente 400 nm (Figura 16), ressaltando mais uma vez que o formado desejado da NPs foi obtido.

Figura 166 – Espectros de absorção das sínteses das AgNPs esféricas.

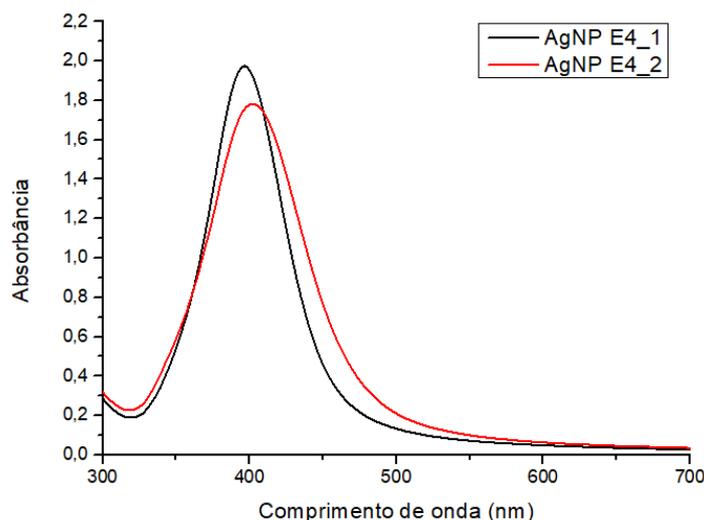


Fonte: O autor (2024).

Para definir a síntese com o melhor resultado, deve-se levar em consideração alguns pontos sugeridos por Lima, 2022: 1) a largura da banda, quanto mais estreita melhor será a distribuição de tamanhos entre as NPs; 2) a intensidade da banda, quanto mais intensa, maior será a concentração de

AgNPs presentes na suspensão. Desta forma, a síntese AgNP E4 (obtida com 125 μL de NaBH_4 em 3 min de reação) foi aquela que apresentou o melhor de todos esses requisitos e o espectro de absorção de sua duplicata ficou semelhante. Na Figura 17, pode-se observar em mais detalhe o espectro de absorção desse sistema.

Figura 177 – Espectro de absorção das sínteses das AgNPs E4.



Fonte: O autor (2024).

As sínteses AgNP E3_1 e AgNP E2_1 também apresentaram resultados relevantes, porém no espectro obtido para suas duplicadas há uma diferença significativa na altura da banda da curva de absorção, isto é, sugere-se que a concentração de AgNPs não foi reprodutível. Tal fato não ocorreu na AgNP E4, onde a diferença de altura dos picos é mínima e pode ser desconsiderada.

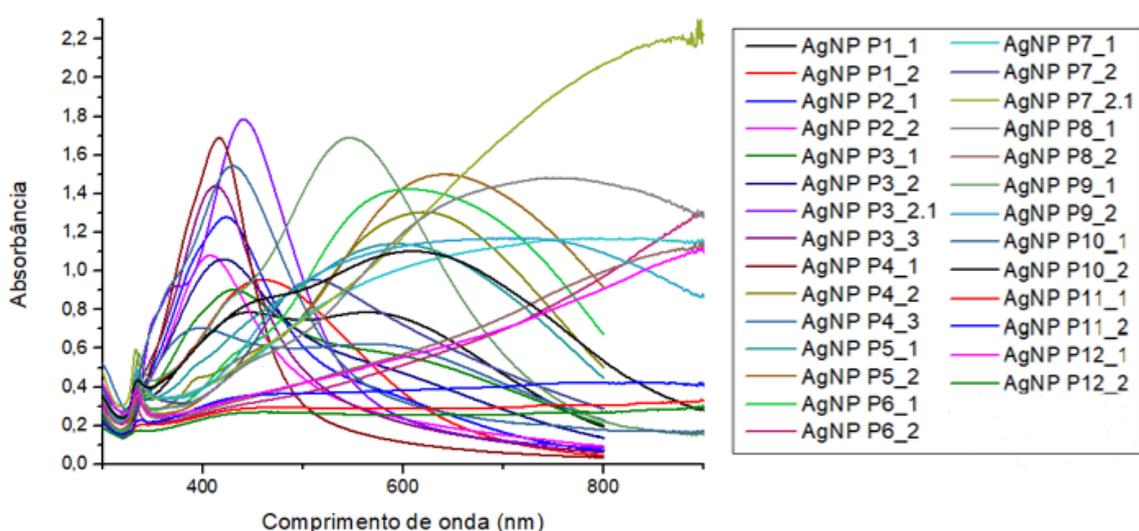
Fatores que podem ter influenciado a obtenção desses diferentes espectros é principalmente a adição de NaBH_4 utilizada. Observa-se que ao diminuir a quantidade do agente redutor houve a formação de um banda de absorção mais intensa, indicando variação na cinética de formação das NPs a partir do processo de redução, que conseqüentemente interfere na disponibilidade de espécies reduzidas durante o seu processo de nucleação e crescimento.

Em relação as AgNPs prismáticas foram obtidas sínteses com coloração azul escuro, azul claro, lilás e amarela. Vale destacar que algumas sínteses

como: AgNP P3, AgNP P4 e AgNP P7, apresentaram uma diferença na coloração obtida em comparação com a sua duplicata, por isso fez-se necessário a realização de uma triplicada para elucidação dos resultados. Os espectros de absorção para esses sistemas se encontram na Figura 18.

Uma observação importante em relação a nomenclatura dos sistemas é que as sínteses que apresentarem a terminação “2.1” foram realizadas utilizando as mesmas soluções utilizadas para preparação do ensaio 2 (duplicata), as demais foram sintetizadas com soluções diferentes, uma vez que foram feitas em dias diferentes.

Figura 188 – Espectro de absorção das sínteses das AgNPs prismáticas.

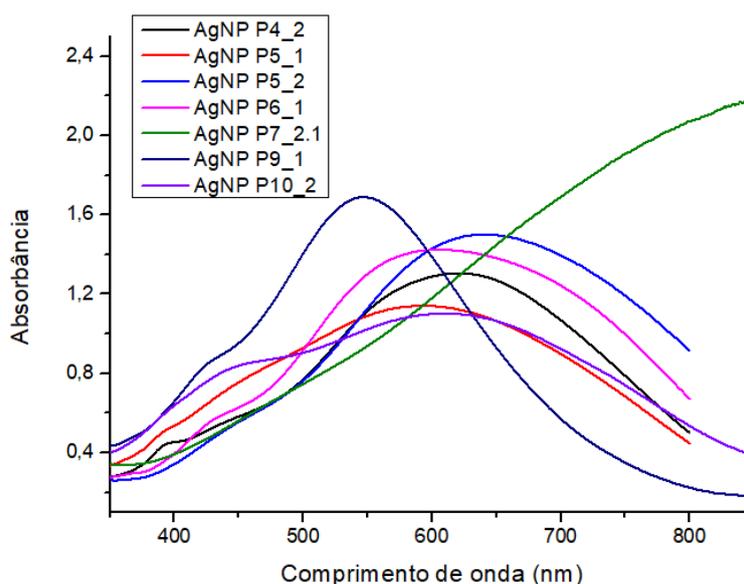


Fonte: O autor (2024).

A partir dos perfis espectrais medidos, comprova-se que houve a formação de NPs de diferentes morfologias. As sínteses que apresentaram um máximo de absorção abaixo de 500 nm foram descartadas, como por exemplo AgNP P2 e AgNP P3, pois a região característica determinada pela literatura para as NPs prismáticas é acima deste comprimento de onda (Zhang *et. al.* 2011). Além disso, algumas sínteses, como AgNP P11 e AgNP P12, obtiveram bandas com baixa intensidade, sugerindo que a concentração da AgNP é baixa. Vale destacar que ambos os sistemas apresentaram a formação de um precipitado no dia da análise.

Desta forma, as sínteses que apresentaram os melhores resultados, a partir dos dados de absorção, foram AgNP P4_2, AgNP P5, AgNP P6_1, AgNP P9 e AgNP P10. Sistemas, como por exemplo AgNP P7_2.1 e AgNP P6_2, apresentaram um máximo de absorção bastante deslocado para 900 nm e, devido a limitação do equipamento, não foi possível explorá-lo além dessa região. Para analisar essas amostras seria necessário um espectrômetro UV-Vis NIR. Na Figura 19, pode-se observar em mais detalhe os respectivos espectros de absorção dos sistemas selecionados. Nota-se, a partir de uma análise minuciosa, que as sínteses AgNP P6 e AgNP P9 se destacaram em relação ao seu espectro dentre as demais, por apresentarem curvas semelhantes àquelas encontradas na literatura para essa morfologia (Lima, 2022; Zhang, 2011).

Figura 199 – Espectros de absorção das sínteses das AgNPs prismáticas selecionadas.



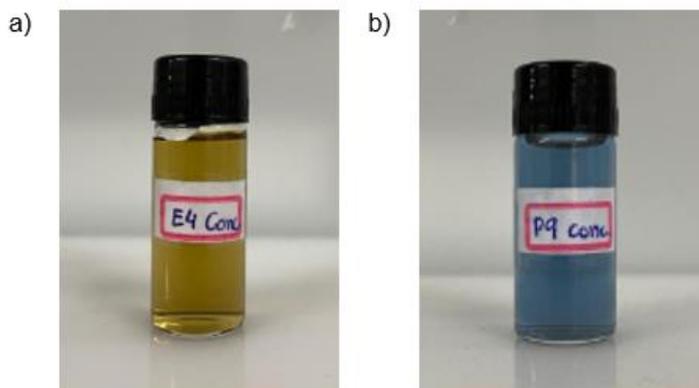
Fonte: O autor (2024).

Nesse caso, os fatores que podem ter determinado a obtenção de AgNPs com características distintas são os volumes adicionados de NaBH_4 e de H_2O_2 em cada síntese. Sabe-se, da literatura, que a formação dos prismas está diretamente relacionada à proporção entre o citrato de trissódio e o peróxido de hidrogênio (Lima, 2022; Zhang, 2011). Dessa forma, observou-se que ao aumentar o volume adicionado de H_2O_2 , a curva de absorção ficou mais definida, sugerindo uma maior homogeneidade de tamanhos nas NPs formadas. Além

disso, sabe-se que, a partir de metodologias de síntese desenvolvidas pelo grupo (Lima, 2022), a obtenção das AgNPs prismáticas é extremamente sensível, isto é, a ordem de adição dos reagentes e a proporção estabelecida entre eles, no geral, pode vir a ser um fator significativo no resultado final do experimento. Logo, o melhor resultado depende de uma proporção entre o H_2O_2 e NaBH_4 . Diante dos resultados apresentados anteriormente, observa-se que a melhor proporção é a de $90 \mu\text{L}$ e $125 \mu\text{L}$, respectivamente.

Nota-se que na síntese tanto da AgNP E4 quanto da AgNP P9 foram utilizados $125 \mu\text{L}$ de NaBH_4 . Dessa forma, com o intuito de estabelecer um padrão desse reagente, essas foram as sínteses escolhidas para dar continuidade ao projeto (Figura 20).

Figura 200 – Fotografia das AgNPs (a) esférica e (b) prismática que apresentaram os melhores resultados.



Fonte: O autor (2024).

Diante disto, as NPs selecionadas foram analisadas por potencial Zeta e DLS. A medida de potencial Zeta é importante para determinar a estabilidade de dispersões coloidais, a partir de medidas de mobilidade eletroforética média das partículas suspensas. Dessa forma, a partir da aplicação de um campo elétrico e feixe luminoso, pode-se medir a velocidade média via efeito Doppler e obter através de modelos matemáticos o valor do potencial Zeta que representa a carga de superfície da NP. O valor do potencial Zeta medido pode ser classificado em termos da magnitude da carga (+/-), pois é a magnitude e não o sinal que contribui para a estabilidade. Amostras que apresentam valores

maiores +/- 20 são consideradas estáveis e acima de +/- 30 mV considera-se partículas altamente estáveis. A partir dos dados apresentados na Tabela 3, observa-se que ambas as NPs apresentaram boa estabilidade coloidal. Já a medida de DLS serve para determinar o tamanho e a distribuição dos tamanhos de moléculas e partículas. Essa técnica de análise baseia-se no movimento browniano das partículas, o qual estabelece que em meio líquido partículas menores se movem mais rapidamente, enquanto partículas maiores se movem mais lentamente. Dessa forma, a luz difundida por essas partículas contém informações sobre a velocidade de difusão e, portanto, sobre a distribuição dos tamanhos. Materiais nanoparticulados apresentam superfícies que variam de 1 a 100 nm, logo de acordo com os valores obtidos na Tabela 3, pode-se confirmar que as partículas sintetizadas se encontram na escala nanométrica. No entanto, deve-se levar em consideração que o cálculo para medida de DLS, por defeito, faz uma aproximação para partículas esféricas. Logo, para as NPs prismáticas terá um erro associado ao método.

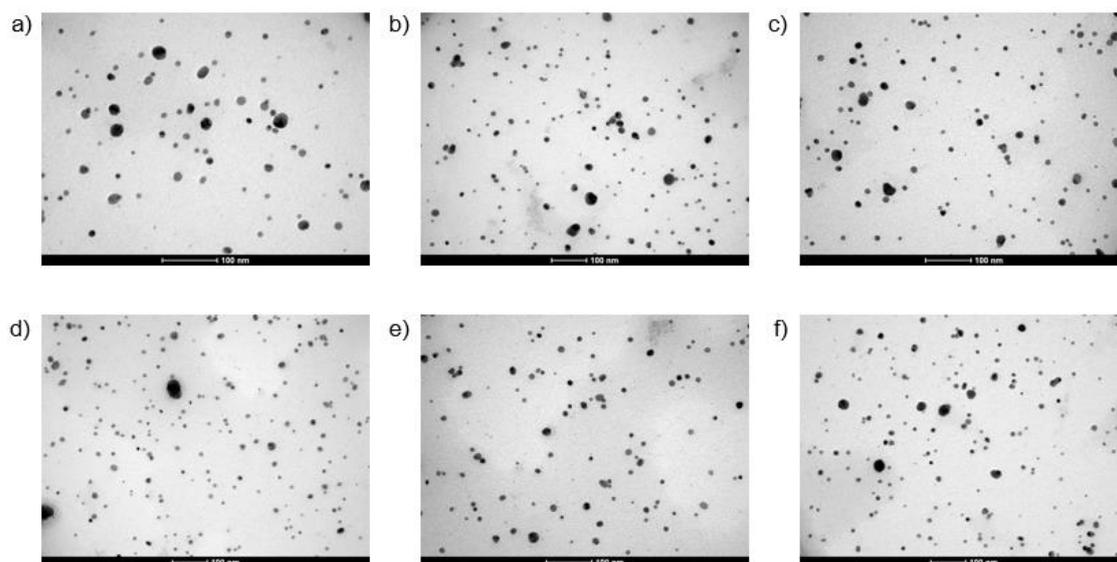
Tabela 3 – Valores encontrados para caracterização através de potencial Zeta e DLS.

Amostra	Potencial Zeta (mV)	DLS (d.nm)
AgNP E4	-20,5	37,0 ± 3,5
AgNP P9	-33,8	50,0 ± 0,8

Fonte: O autor (2024).

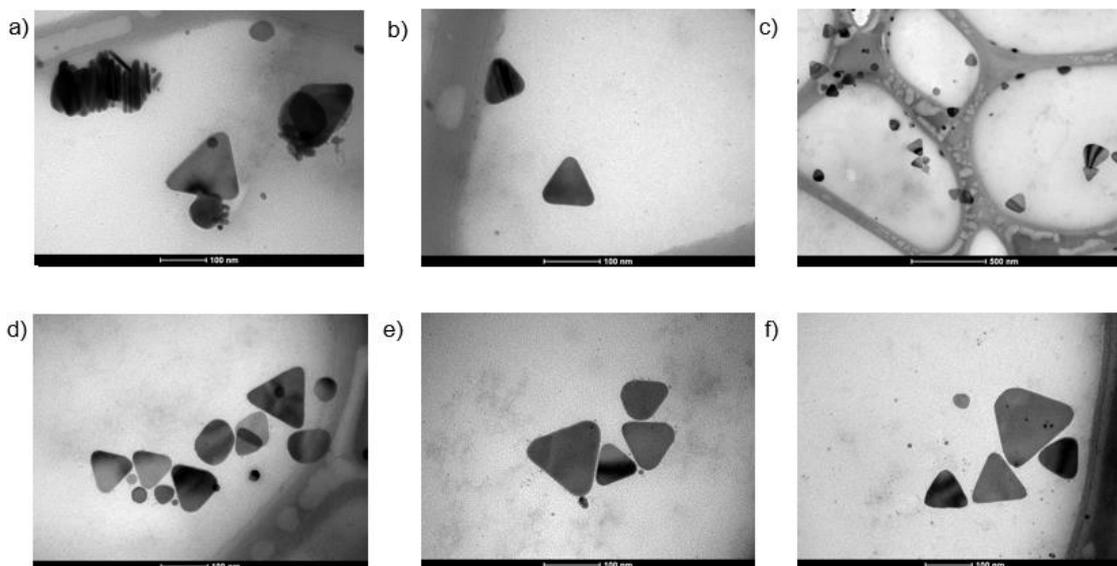
Além disso, as AgNPs foram analisadas por MET e as imagens obtidas comprovaram a morfologia obtida para cada síntese (Figuras 21 e 22). O tamanho médio das NPs foi determinado através da análise das imagens pelo programa *ImageJ*, o qual permite extrair informações sobre os diâmetros das AgNPs. Para as NPs prismáticas, o tamanho médio foi calculado manualmente, também a partir desse programa, uma vez que este não reconhece estruturas que não são esféricas. A partir dos valores encontrados foram construídos histogramas para cada NP (Figura 23), obtendo suas respectivas curvas gaussianas, das quais pode-se extrair o tamanho médio das NPs (Tabela 4).

Figura 211 – Imagens obtidas por MET para as AgNPs esféricas.



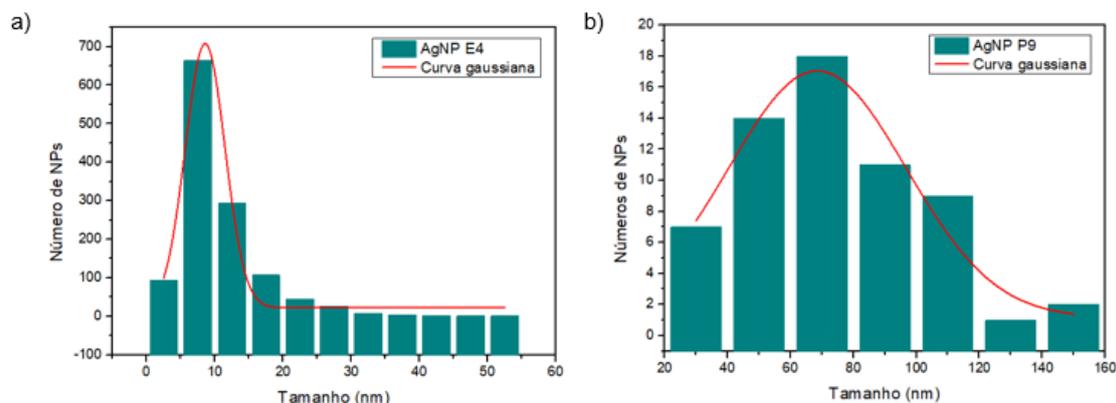
Fonte: O autor (2024).

Figura 222 – Imagens obtidas por MET para as AgNPs prismáticas.



Fonte: O autor (2024).

Figura 233 – Histogramas e suas respectivas curvas gaussianas para a (a) AgNP E4 e (b) AgNP P9.



Fonte: O autor (2024).

Tabela 4 – Tamanho médio das AgNPs obtidos por MET.

AgNP	Tamanho médio (nm)
E4	$8,5 \pm 0,3$
P9	$68,5 \pm 3,6$

Fonte: O autor (2024).

Nota-se, a partir da Figura 23, que a AgNP E4 apresentou uma curva relativamente estreita, indicando que a distribuição de tamanhos para as NPs esféricas é pequena, fato que também pode ser comprovado pelo valor do desvio padrão encontrado. Já para a AgNP P9 percebe-se uma maior distribuição de tamanhos das NPs, o que já era esperado de acordo com estudos realizados por Lima (2022).

Diante disso, observa-se, conforme esperado, que há uma diferença nos tamanhos obtidos pelas técnicas de DLS e MET. O valor encontrado na caracterização por DLS é consideravelmente maior para as NPs esféricas, pois, além da NPs, o cálculo do diâmetro hidrodinâmico leva em consideração os contra-íons e a camada de solvatação. Por outro lado, o valor obtido para as NPs prismáticas não diferiu significativamente, quando comparado as esféricas, em ambas as técnicas, sendo o tamanho encontrado no DLS menor que o da MET. Como mencionado anteriormente, para DLS o cálculo é baseado no diâmetro da partícula analisada e o prisma é uma figura tridimensional que não possui essa

grandeza, os valores não seguem a lógica utilizada para explicar a diferença de tamanho observada nas NPs esféricas.

Além disso, observa-se que as NPs prismáticas são ligeiramente maiores que as esféricas, o que também está de acordo com a literatura (da Silva *et al.*, 2015; Frank *et al.*, 2010; Tsuji *et al.*, 2012).

5.2 Preparação e caracterização dos complexos de Gd³⁺

Para avaliar a eficiência da complexação, o percentual de Gd³⁺ livre nos complexos preparados (Figura 24) foi estimado utilizando o teste do alaranjado de xilenol, com base na equação 3.

Figura 244 – Fotografia dos complexos sinterizados após a funcionalização com os *linkers*.



Fonte: O autor (2024).

Inicialmente, foi analisado o complexo DOTA ativado (DOTA-NHS), com e sem a adição dos *linkers* e observou-se que as medidas de absorção dos ensaios não apresentaram grande variação dos comprimentos de onda (λ) específicos analisados, o que significa que o DOTA-NHS e o DOTA com a adição dos *linkers* aparentam não ter Gd livre. Dessa forma, por não haver índices de grandes concentrações de íons Gd³⁺ livres, os complexos preparados apresentaram rendimento de complexação acima de 99% nos testes do xilenol (Tabela 5), sugerindo que o DOTA-NHS se mostrou estável durante a etapa de funcionalização.

Compostos com altas relaxividades são desejáveis para obter imagens com bom contraste sem a necessidade de um aumento na dosagem (Bushong

et al., 2015, Weishaupt et al., 2008). As determinações de relaxividade foram realizadas a partir das medidas dos tempos de relaxação longitudinais T_1 e da equação 1 (Albuquerque *et al.*, 2021). Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos (Tabela 5), a metodologia utilizada para a preparação dos complexos tiolados se mostrou eficaz, obtendo complexos com uma relaxividade próxima a do agente de contraste comercial, Dotarem®, (DOTA-Gd = 2,9 mM⁻¹s⁻¹, 60 MHz e 37 °C, em água) (Roher, *et al.*, 2005). Diante disso, os resultados obtidos sugerem que a adição do *linker* ao complexo ativado não provocou uma variação significativa dos valores de r_1 comparado ao DOTA ativado.

Tabela 5 – Rendimento da complexação dos complexos de Gd³⁺ e tempos de relaxação longitudinal (T_1) e respectiva relaxividade (r_1) dos complexos de Gd³⁺ tiolados preparados (60 MHz e 37 °C).

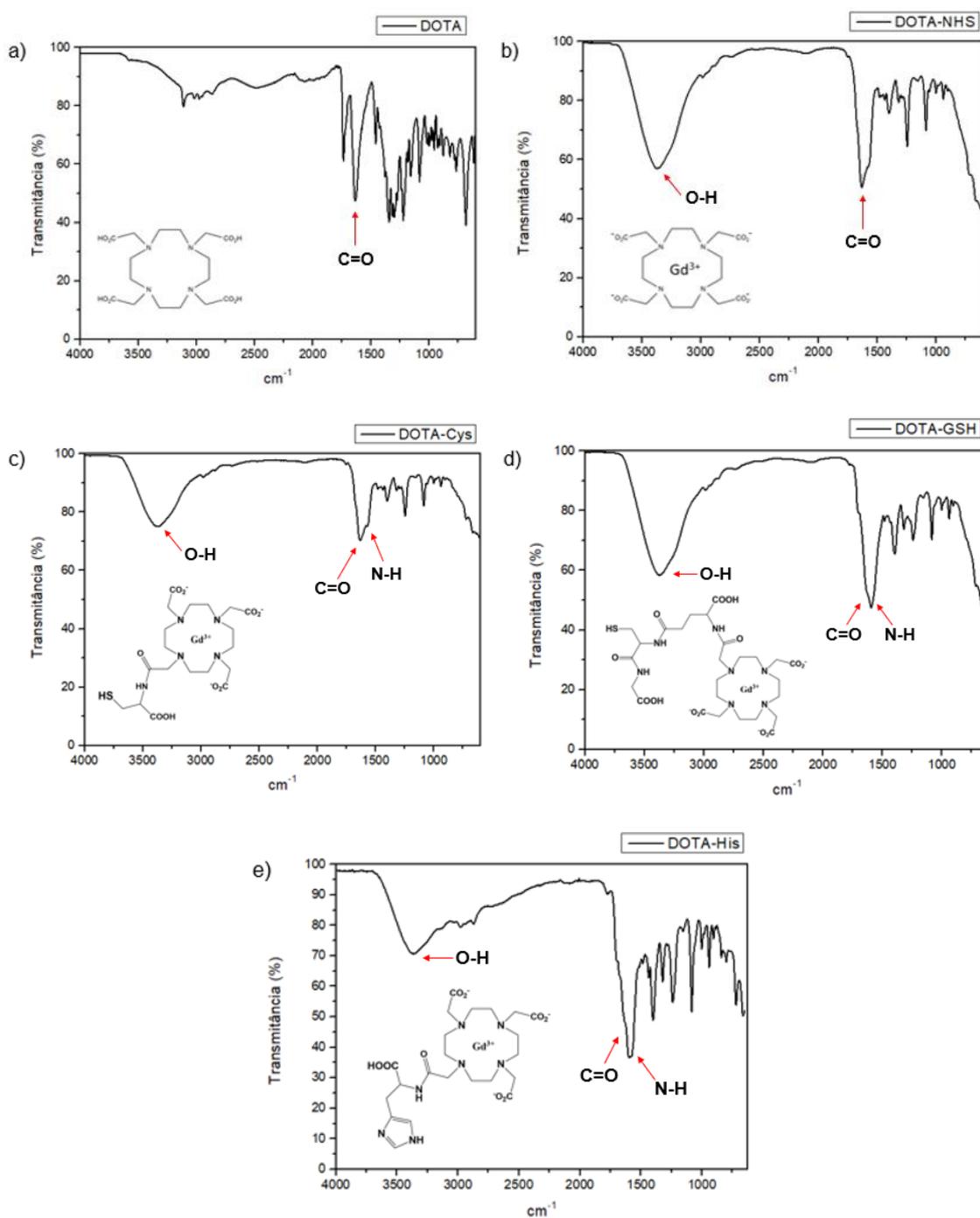
Complexo	Rendimento de complexação (%)	T_1 (ms)	r_1 (mM⁻¹s⁻¹)
Água	-	3870	-
DOTA-NHS	99,99	27,8	3,6
DOTA-His	99,92	31,9	3,1
DOTA-Cys	99,93	33,8	2,9
DOTA-GSH	99,96	30,1	3,3

Fonte: O autor (2024).

Ademais, para verificar a conjugação dos *linkers* com o DOTA, as amostras foram analisadas por FTIR (Figura 25). Vale salientar que as amostras DOTA-NHS, DOTA-Cys, DOTA-GSH e DOTA-His estão em meio aquoso, por isso a presença de uma banda larga acentuada próximo de 3500 cm⁻¹, que corresponde aos estiramentos O-H. Todos os complexos apresentam uma banda intensa aproximadamente entre 1680 e 1630 cm⁻¹, o que corresponde ao estiramento da ligação C=O característico de grupos amidas (Pavia, 2010). No entanto, nota-se o surgimento de um “ombro”, em torno de 1640 e 1550 cm⁻¹, na banda correspondente à carbonila para todos os espectros após a adição do

linker, o qual está relacionado ao desdobramento da ligação N-H e que não foi observado na molécula do DOTA, indicando que de fato houve a conjugação do *linker* com o complexo.

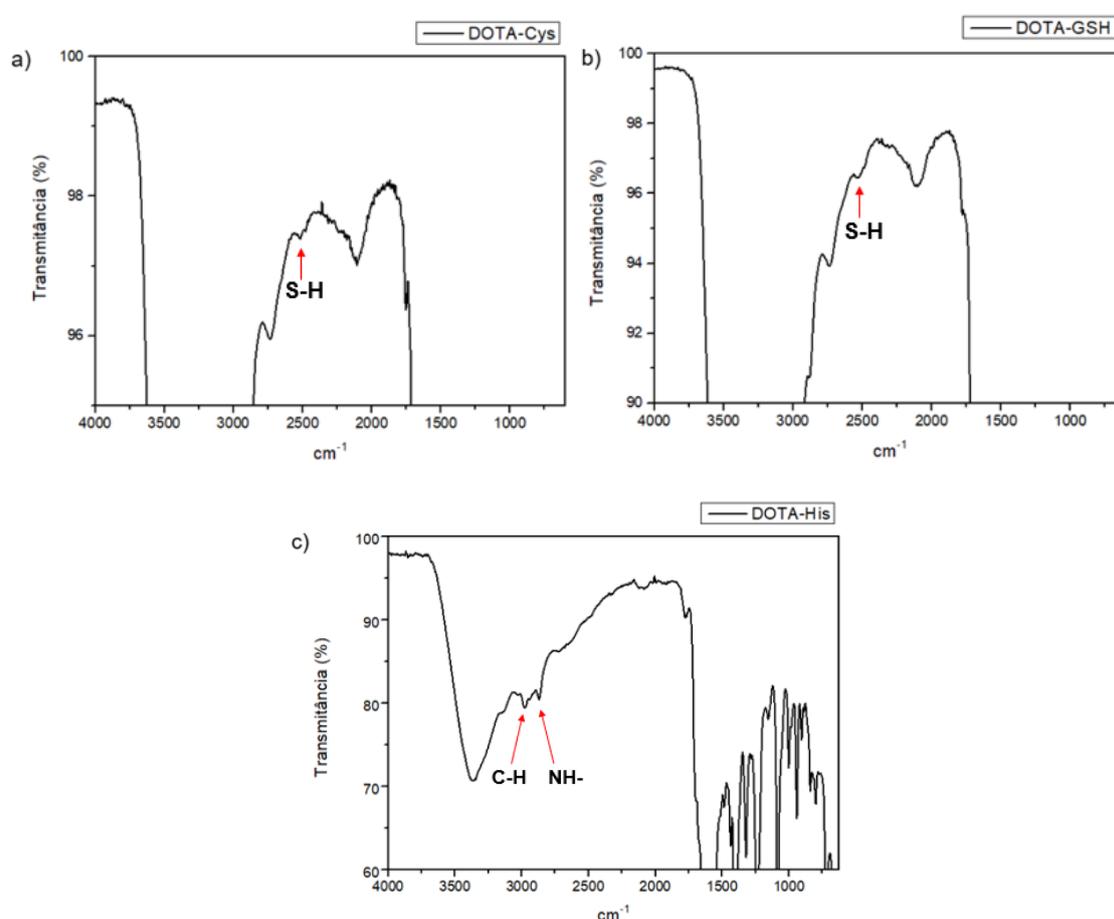
Figura 255 – Espectros de FTIR para os complexos DOTA-Gd³⁺ com e sem os *linkers*.



Fonte: O autor (2024).

Além disso, para verificar a existência da ligação S-H (em aproximadamente 2500 cm^{-1} de acordo com Pavia, 2010 nas moléculas DOTA-Cys e DOTA-GSH, os espectros foram ampliados (Figura 26 a e b), sendo, assim, possível perceber esta banda correspondente. O espectro do DOTA-His, também foi ampliado (Figura 26c) e foram observadas as vibrações características das ligações C-H e NH- do anel imidazol em 3011 e 2705 cm^{-1} , respectivamente, e as cadeias alifáticas C-H são discerníveis em 2855 cm^{-1} (Moura et al., 2024).

Figura 266 – Espectros de FTIR ampliados para os complexos contendo os *linkers*.



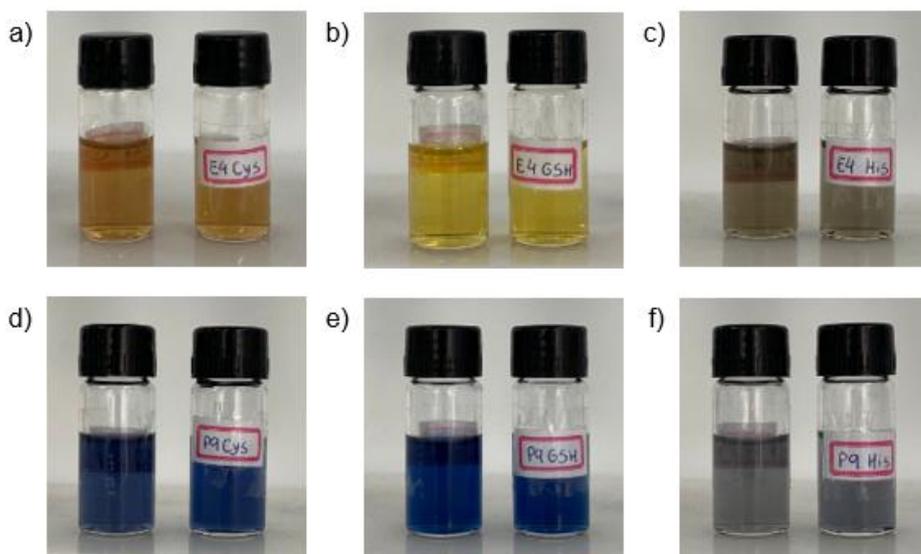
Fonte: O autor (2024)

5.3 Preparação e caracterização dos sistemas teranósticos

Os sistemas teranósticos foram preparados em duplicata conjugando os complexos de Gd^{3+} às AgNPs (Figura 27). Para a preparação dessas nanossondas, foram utilizadas as sínteses AgNP E4 e AgNP P9.

Vale salientar que as AgNPs usadas para esta preparação foram de amostras sintetizadas posteriormente ao estudo feito para os parâmetros das AgNPs, sob as mesmas condições determinadas para cada NP.

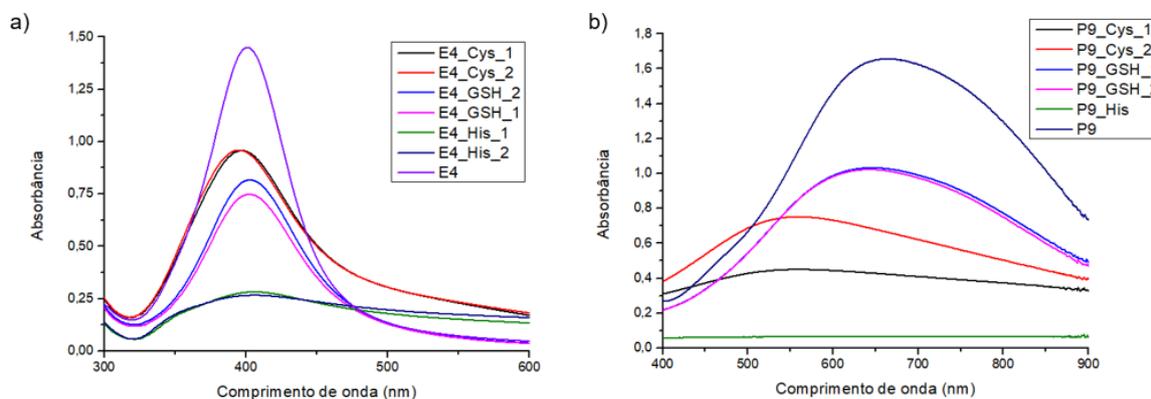
Figura 277 – Fotografia dos sistemas teranósticos sintetizados.



Fonte: O autor (2024)

Os sistemas foram caracterizados opticamente de forma semelhante a caracterização das NPs, obtendo como resultado os seguintes espectros de absorção (Figura 28).

Figura 288 – Espectros de absorção para os sistemas teranósticos e suas respectivas NPs.



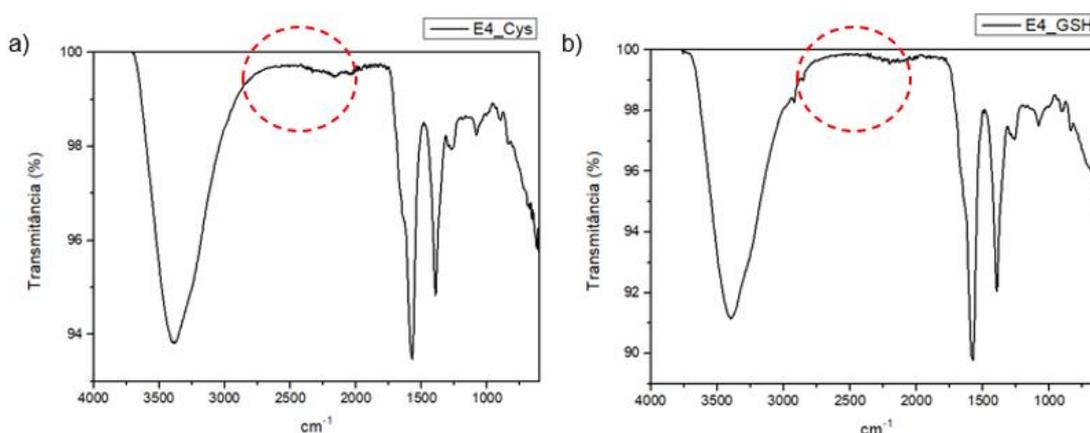
Fonte: O autor (2024).

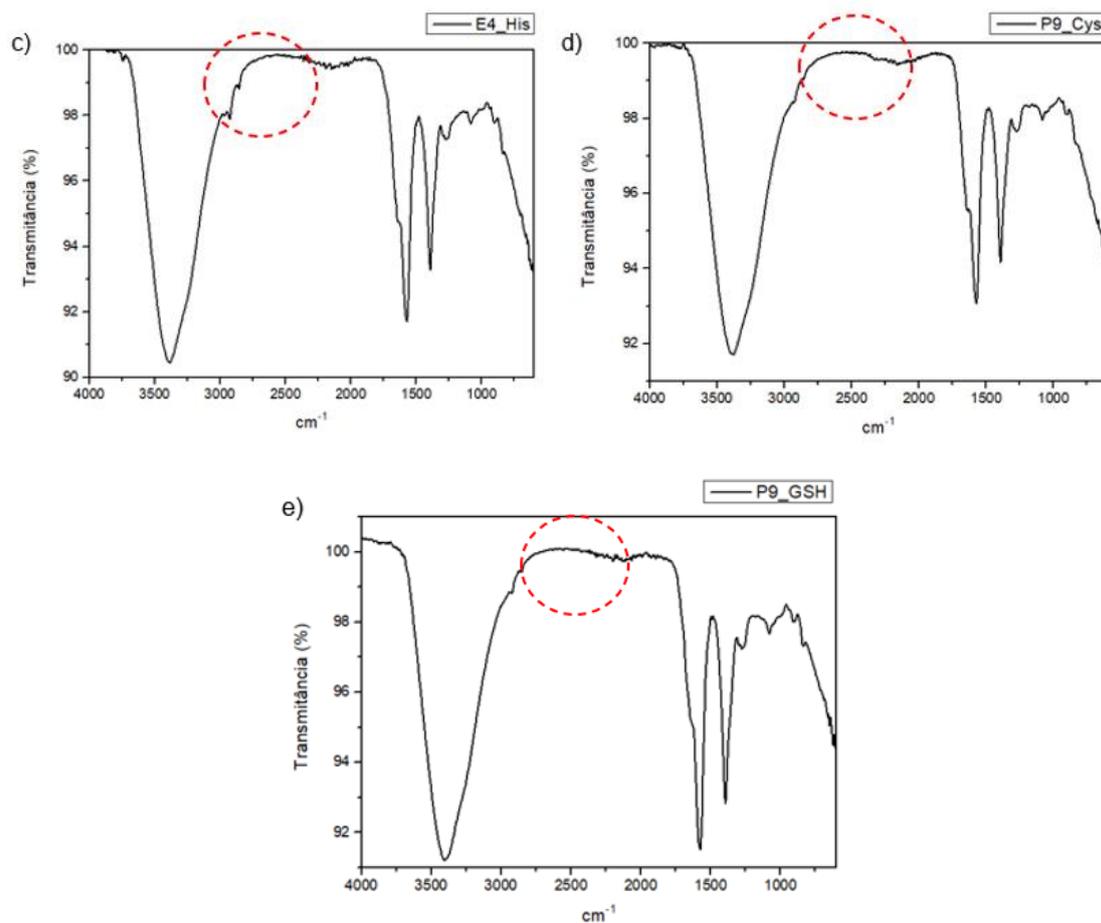
O comprimento de onda máximo de absorção observado para os sistemas não teve alteração quando comparado a sua NP correspondente, significando que não houve alteração no tamanho e morfologia do nanocristal. No entanto, percebe-se uma diminuição na intensidade de absorção dos sistemas, que está relacionado com a concentração de AgNP presente no meio. Além disso, alguns sistemas, como por exemplo aqueles ligados a His, deixaram de ter banda de plasmon, inferindo pelo espectro e pela mudança de coloração do sistema que houve uma perda de estabilidade das AgNP, as quais podem ter se aglomerado, precipitado ou degradado.

Dessa forma, os sistemas mais promissores, pela intensidade da banda de plasmon, são P9_GSH, para as prismáticas, e E4_Cys e E4_GSH para as esféricas.

Os sistemas foram submetidos à análise por FTIR, obtendo os seguintes espectros (Figura 29). Vale salientar que para a amostra P9_His não foi analisada, devido a perda de estabilidade observada pela mudança de coloração da solução, passando a ficar incolor. A conjugação dos complexos DOTA-GSH e DOTA-Cys com as NPs foi feita por ligação metal-tiol e com o DOTA-His metal-nitrogênio. Logo, o desaparecimento das bandas correspondente ao estiramento S-H e N-H do imidazol comprovam que a conjugação NP/complexo foi efetiva.

Figura 299 – Espectros FTIR ampliados para os sistemas teranósticos.





Fonte: O autor (2024).

Os tempos de relaxação dos sistemas foram medidos com um relaxômetro de 60 MHz à 37 °C. A partir desses valores, as relaxividades dos sistemas (Tabela 6) foram calculadas com a equação 1, considerando a concentração de Gd³⁺ nominal, isto é, pressupondo que a complexação e conjugação tiveram um rendimento máximo, uma vez que não foi possível efetuar medidas da concentração real do íon pela técnica de Plasma por Acoplamento Indutivo (do inglês: *Inductively Coupled Plasma*, ICP).

Assim como na caracterização anterior, os resultados das duplicatas foram similares e estão representados pela média desses valores.

Tabela 6 – Valores de relaxividade r_1 dos sistemas teranósticos preparados (60 MHz e 37 °C).

Amostra	T_1 (ms)	r_1 (mM⁻¹s⁻¹)
Água	3870	-
E4_Cys	2225	2,9
E4_His	2080	3,3
E4_GSH	2100	3,3
P9_Cys	2170	3,0
P9_His	2120	3,2
P9_GSH	2100	3,3

Fonte: O autor (2024).

Diante disso, observa-se que os valores de relaxividade para os sistemas são maiores do que o agente de contraste DOTA-Gd usado clinicamente (DOTA-Gd = 2,9 mM⁻¹s⁻¹, à 60 MHz e 37 °C, em água) (Roher, *et al*, 2005), com exceção do E4_Cys, o qual ficou relativamente próximo do esperado, comprovando assim a obtenção de um agente de contraste promissor para uso em imagem por ressonância magnética.

No entanto, vale destacar que, como a concentração real de gadolínio é menor do que a nominal e pela equação 1 tem-se uma relação inversamente proporcional entre a [Gd³⁺] e o valor da relaxividade, espera-se que os valores de relaxividades para os sistemas sejam ainda maiores que os obtidos.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível sintetizar NPs de prata em meio aquoso, reduzindo a quantidade utilizada na literatura de NaBH₄ de 250 para 125 μ L. As AgNPs apresentaram boas propriedades óticas, com máximo de absorção na região desejada. As caracterizações por potencial Zeta e DLS indicaram a formação de nanopartículas estáveis e com carga superficial negativa. Além disso, as imagens de MET comprovaram a formação de um material nanométrico com diferentes morfologias (esférica e prismática).

Ademais, foram obtidos três complexos de Gd³⁺ tiolados do tipo DOTA funcionalizados com diferentes *linkers* (Cys, GSH e His), os quais apresentaram rendimentos de complexação acima de 99% e propriedades relaxométricas semelhantes e maiores que o DOTA clínico (Dotarem®). As caracterizações por FTIR comprovaram que a funcionalização com os *linkers* foram efetivas, uma vez que houve o surgimento de bandas correspondentes às novas ligações formadas.

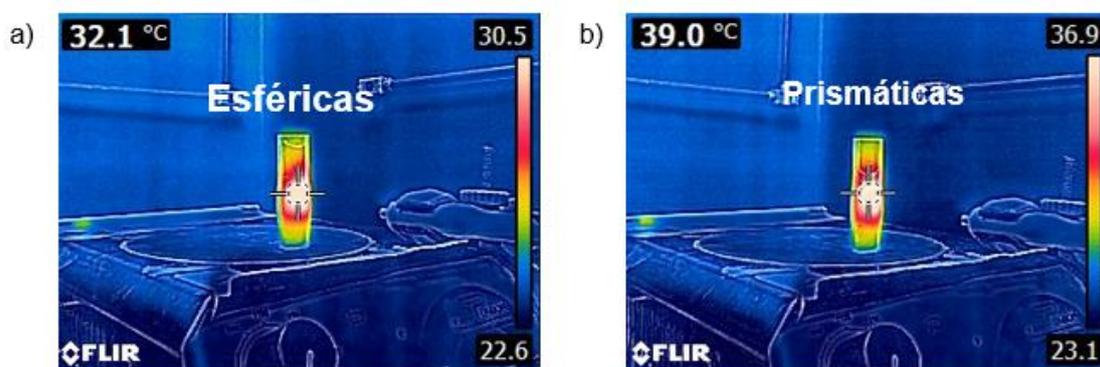
Por fim, sistemas teranósticos foram preparados, os quais apresentaram propriedades óticas semelhantes as suas NPs correspondentes, indicando manutenção do tamanho e morfologia do nanocristal. A caracterização por FTIR comprovaram, novamente, uma conjugação NP/Complexo efetiva. No entanto, os sistemas conjugados com a His perderam as suas propriedades plasmônicas, indicando que as AgNPs não permaneceram estáveis nessas condições. Além disso, também foram obtidas propriedades relaxométricas semelhantes e maiores que o DOTA clínico.

Desta forma, conclui-se que a metodologia por aquecimento utilizada para preparar os sistemas demonstrou ser eficaz, sendo sua rota de conjugação promissora e de fácil execução, indicando que os sistemas preparados têm potencial para serem utilizados tanto para terapia fototérmica, como agentes de contraste na técnica de imagem por ressonância magnética. Neste estudo, os sistemas que apresentaram resultados mais promissores, para ambas as morfologias, foram aqueles conjugados com o DOTA-GSH.

7 PERSPECTIVAS

- Realizar medidas de ICP para as AgNPs e para os complexos de gadolínio;
- Realizar medidas de T_2 para os complexos e sistemas teranósticos;
- Estudo mais detalhado da proporção NP:Complexo utilizada para sintetizar os sistemas, com o intuito de melhorar sua estabilidade e eficiência relaxométrica;
- Realizar ensaios fototérmicos para os sistemas e suas NPs correspondentes. Em um teste inicial fototérmico, pode-se perceber a partir da figura 30 que, de fato, houve um aumento da temperatura (temperatura inicial = 25 °C) dos sistemas ao irradiar um laser no NIR (908 nm) por 10 min.

Figura 300 – Fotografia do teste inicial do estudo fototérmico para os sistemas teranósticos: (a) E4_GSH e (b) P9_GSH



Fonte: O autor (2024).

8 REFERÊNCIAS

AIME, S., GIANOLIO, E., CORPILLO, D. Designing Novel Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. Synthesis and Relaxometric Characterization of three Gadolinium (III) Complexes Based on Functionalized Pyridine-Containing Macrocyclic Ligands. *Helvetica Chimica Acta*. v. 86, p. 615-632, 2003.

ALBUQUERQUE, G. M. Desenvolvimento de Nanoplateformas Multimodais Óptico-Paramagnéticas para Diagnóstico por Imagem. Tese (Doutorado em Ciências de materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ALBUQUERQUE, G. M., MELO, R. M. *et al.* Nanoprobos based on quantum dots and Gd(III) complexes for dual optical and magnetic resonance imaging. *Materials Letters*, v. 371, 136921, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2024.136921>

ALBUQUERQUE, G. M. *et al.* Quantum Dots and Gd³⁺ Chelates: Advances and Challenges Towards Bimodal Nanoprobos for Magnetic Resonance and Optical Imaging. *Topics in Current Chemistry*, v. 379, n. 12, 2021. <https://doi.org/10.1007/s41061-021-00325-x>

ALBUQUERQUE, G. M. Desenvolvimento de agentes de contraste bimodais para imagem óptica e por ressonância magnética baseados em pontos quânticos de CdTe e quelatos de Gd (III). Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

AMSTAD, E.; ZURCHER, S. *et. al.* Surface Functionalization of Single Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Targeted Magnetic Resonance Imaging. *Nano Micro Small*, v. 5, n. 11, p. 1334-1342, 2009. <https://doi.org/10.1002/sml.200801328>

BARGE, A., CRAVOTTO, G. *et. al.* How to determine free Gd and free ligand in solution of Gd chelates. A technical note. *Contrast Media & Molecular Imaging*, v. 1, n. 5, p. 184–188, 2006. <https://doi.org/10.1002/cm.110>

BEHRA, R. *et. al.* Bioavailability of silver nanoparticles and ions: from a chemical and biochemical perspective. *Journal of The Royal Society Interface*, v.10, n. 87, 2013. <https://doi.org/10.1098/rsif.2013.0396>

BOSE, P. *et al.* Quercetin loaded folate targeted plasmonic silver nanoparticles for light activated chemo-photothermal therapy of DMBA induced breast cancer in Sprague Dawley rats. *RSC Advances*, v. 10, n. 53, p. 31961–31978, 28 ago. 2020. <https://doi.org/10.1039/D0RA05793B>

BLOCH, F. *et al.* The nuclear induction experiment. *Physical Review*, New York, v.70, n.7-8, p.474-485, 1946. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.70.474>

BROWN, R. W. *et al.* *Magnetic Resonance Imaging. Physical Principles and Sequence Design.* Wiley Blackwell. 2 ed. p. 978, 2014.

BUSHONG, S. C.; CLARKE, G. *Magnetic Resonance Imaging: Physical and Biological Principles.* Elsevier. 4 ed. p. 529, 2015.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTO, V. Nanotecnologia em medicina: Aspectos fundamentais e principais preocupações. *Quimica Nova*, v. 37, n. 3, p. 521–526, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140086>

CARAVAN, P., ELLISON, J. J. *et al.* Gadolinium(III) chelates as MRI contrast agents: Structure, dynamics, and applications. *Chemical Reviews*, v. 99, n. 9, p. 2293–2352, 1999. <https://doi.org/10.1021/cr980440x>

CARAVAN, P., FARRAR, C. T., *et al.* Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents. *Contrast Media and Molecular Imaging*, v. 4, n. 2, p. 89–100, 2009. <https://doi.org/10.1002/cmmi.267>

CHENG, L. C. *et al.* Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 5, p. 2244–2253, 2012. <https://doi.org/10.1039/C1JM13937A>

CLOUGH, T. J. *et al.* Ligand design strategies to increase stability of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents. *Nature Communications*, v. 10, p. 1420, 2019.

COIADO, D. S. Nanossondas Bimodais Baseadas Em Pontos Quânticos e Complexos de Gd³⁺ Para Imagem Óptica e por Ressonância Magnética.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

CUI, X. *et al.* Photothermal Nanomaterials: A Powerful Light-to-Heat Converter. *Chemical Review*, v. 123, p. 6891-6952, 2023. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.3c00159>

DA SILVA, A. G. M. *et al.* The Fault in Their Shapes: Investigating the Surface-Plasmon-Resonance-Mediated Catalytic Activities of Silver Quasi-Spheres, Cubes, Triangular Prisms, and Wires. *Langmuir*, v. 31, n. 37, p. 10272–10278, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02838>

DONG, W.; LI, Y. *et al.* Theranostic Nanoshells: Facile Synthesis of Monodisperse Superparamagnetic Fe₃O₄ Core@hybrid@Au Shell Nanocomposite for Bimodal Imaging and Photothermal Therapy. *Advanced Materials*, v. 23, n. 45, p. 5332, 2011. <https://doi.org/10.1002/adma.201190183>

FRANK, A. J. *et al.* Synthesis of Silver Nanoprisms with Variable Size and Investigation of Their Optical Properties: A First-Year Undergraduate Experiment Exploring Plasmonic Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, v. 87, n. 10, p. 1098–1101, 2010. <https://doi.org/10.1021/ed100166g>

HAGE, M. C. F. N. *Imagem por ressonância magnética: princípios básicos.* *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.4, p.1287-1295, 2009.

HE, Y. *et al.* Liposomes and liposome-like nanoparticles: From anti-fungal infection to the COVID-19 pandemic treatment. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 17, p. 817-837, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.11.002>

HE, X.; BAO, X. *et al.* Tumor-Penetrating Nanotherapeutics Loading a Near-Infrared Probe Inhibit Growth and Metastasis of Breast Cancer. *Adv. Funct. Mater.*, v. 25, n. 19, p. 2831-2839, 2015. <https://doi.org/10.1002/adfm.201500772>

JEONG, Y., & NA, K. Synthesis of a gadolinium based-macrocyclic MRI contrast agent for effective cancer diagnosis. *Biomaterials Research*, v. 22, n.1, 2018. <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0127-9>

KADKHODA, J. *et al.* Photothermal therapy-mediated autophagy in breast cancer treatment: Progress and trends. *Life Sciences*, v. 298, p. 120499, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120499>

KELKAR, S. S. and REINEKE, T. M. Theranostics: Combining Imaging and therapy. *Bioconjug. Chem.* v. 22, n. 10, p. 1879-1903, 2011. <https://doi.org/10.1021/bc200151q>

KIM, S. *et al.* Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology in Vitro*, v. 23, n. 6, p. 1076–1084, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.06.001>

LAMMERS, T.; KIESSLING, F. *et al.* Nanotheranostics and image-guided drug delivery: Current concepts and future directions. *Mol. Pharm*, v. 7, n. 6, p. 1899–1912, 2010. <https://doi.org/10.1021/mp100228v>

LAMMERS, T.; AIME, S. *et al.* Theranostic nanomedicine. *Acc. Chem. Res.* v. 44, n.10, p. 1029–1038, 2011. <https://doi.org/10.1021/ar200019c>

LEE, D.-E.; KOO, H. *et al.* Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. *Chemical Society Reviews*, v. 41, p. 2656-2672, 2012. <https://doi.org/10.1039/C2CS15261D>

LEE, D. Y.; LI, K. C. P. Molecular theranostics: a primer for the imaging professional. *American Journal of Roentgenol*, v. 197, n.2, p. 318, 2011. <https://doi.org/10.2214/AJR.11.6797>

LEE, J. H.; HUH, Y. M. *et al.* Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular Imaging. *Nature Medicine*, v. 13, p. 95-99, 2007. <https://doi.org/10.1038/nm1467>

LI, Y. *et al.* Silver nanoparticles for enhanced cancer theranostics: In vitro and in vivo perspectives. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 14, n. 9, p. 1515–1542, 2018. <https://doi.org/10.1166/jbn.2018.2614>

Li W. T., Peng J. R. *et al.* Mild photothermal therapy/photodynamic therapy/chemotherapy of breast cancer by Lyp-1 modified Docetaxel/IR820 co-loaded micelles. *Biomaterials*, v. 106, p. 119-133, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.08.016>

LIAO, J. F., WEI, X. W. *et al.* Polymer hybrid magnetic nanocapsules encapsulating IR820 and PTX for external magnetic field-guided tumor targeting and multifunctional theranostics. *Nanoscale*, v. 9, n. 7, p. 2479, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7NR00033B>

LIOSI, G. M., DONDI, D. *et al.* Fricke-gel dosimeter: overview of Xylenol Orange chemical behavior. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 140, p. 74–77, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.01.012>

LIM, E. K. *et al.* Nanomaterials for theranostics: Recent advances and future challenges. *Chemical Reviews*, v. 115, n. 1, p. 327-394, 2015. <https://doi.org/10.1021/cr300213b>

LIMA, M. T. A. Desenvolvimento de Catalisadores Baseados em Nanopartículas Metálicas para Química Orgânica. Dissertação (Mestrado em Ciências de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

LIN, C. E. Biocompatibility analysis of NIH/3T3 cells exposed to silica-coated silver and silver nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, v. 8, n. 12, p. 1080-1088(9), 2016. <https://doi.org/10.1166/nnl.2016.2241>

LIU, S. *et al.* The Impact of Silver Nanoparticle-Induced Photothermal Therapy and Its Augmentation of Hyperthermia on Breast Cancer Cells Harboring Intracellular Bacteria. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 10, p. 2466, 2023. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102466>

LUFKIN, R.L. Manual de ressonância magnética. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

MARGHANI, B. H. *et al.* Photothermal therapeutic potency of plasmonic silver nanoparticles for apoptosis and anti-angiogenesis in testosterone induced benign prostate hyperplasia in rats. *Life Sciences*, v. 291, p. 120240, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120240>

MENDONÇA, R. *et al.* Fundamentos da ressonância magnética, p. 29. 1996. Apostila.

MI, Z. *et al.* “Trojan Horse” Salmonella Enabling Tumor Homing of Silver Nanoparticles via Neutrophil Infiltration for Synergistic Tumor Therapy and Enhanced Biosafety. *Nano Letters*, v. 21, n. 1, p. 414–423, 2021. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c03811>

MISHRA, S. K.; KANNAN, S. Doxorubicin-Conjugated Bimetallic Silver-Gadolinium Nanoalloy for Multimodal MRI-CT-Optical Imaging and pH-

Responsive Drug Release. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, v. 3, n. 12, p. 3607–3619, 2017. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00498>

MONDAL, S. *et al.* Computational analysis of drug free silver triangular nanoprism theranostic probe plasmonic behavior for in-situ tumor imaging and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, v. 41, p. 23–38, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120240>

MOURA, M. J. DA S. *et al.* Assessment of the Amino Acid L-Histidine as a Corrosion Inhibitor for a 1018 Carbon Steel in Aqueous Sodium Chloride Solution. *Crystals*, v. 14, n. 8, 2024. <https://doi.org/10.3390/cryst14080703>

NI, D., BU, W., EHLERDING, E. B., CAI, W., & SHI, J. Engineering of inorganic nanoparticles as magnetic resonance imaging contrast agents. In *Chemical Society Reviews*, v. 46, n. 23, pp. 7438–7468, 2017. Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c7cs00316a>

NEDELCO, A. *et al.* In vitro photothermal therapy of pancreatic cancer mediated by immunoglobulin G-functionalized silver nanoparticles. *Scientific Reports*, v. 14, n. 14417, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63142-4>

NEIS, Carolina. Meios de Contraste e Reações Adversas. SlidePlayer. Disponível em: <https://slideplayer.com.br/slide/3153618/>. Acesso em 25 set. 2024.

OLIVEIRA, A. C. *et al.* Modeling Gd³⁺Complexes for Molecular Dynamics Simulations: Toward a Rational Optimization of MRI Contrast Agents. *Inorganic Chemistry*, v. 61, n. 30, p. 11837–11858, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.2c01597>

OLIVEIRA, A. C., *et al.* Interaction of MRI Contrast Agent [Gd(DOTA)]⁻ with Lipid Membranes: A Molecular Dynamics Study. *Inorganic Chemistry*, v. 63, n. 24, p. 10897-10914, 2024. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.4c00972>

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. *Introdução à Espectroscopia*. 4 ed., 2010. 716.

PENG J., QIAN Y. *et al.* Erythrocyte-membrane-coated Prussian blue/manganese dioxide nanoparticles as H₂O₂-responsive oxygen generators to enhance cancer chemotherapy/photothermal therapy. *ACS Applied Materials &*

Interfaces, v. 9, n. 51, 44410-44422, 2017.
<https://doi.org/10.1021/acsami.7b17022>

PEREIRA, G. A., GERALDES, C. F. G. C. Design and Optimization of Gadolinium Based Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. *Ann. Magn. Reson.* v. 6, n. 1/2, p. 1-33, 2007.

PURCELL, E.M. *et al.* Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical Review*, New York, v.69, n.1-2, p.37-38, 1946.
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.69.37>

PYKETT, I.L. *et al.* Principles of nuclear magnetic resonance imaging. *Radiology*, Illinois, v.143, p.157-168, 1982.

RICHARDSON, J. C. *et al.* Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). In *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 57, n. 8, p. 1191–1209, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.024>

ROHRER, M. *et al.* Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solutions at Different Magnetic Field Strengths. In *Investigative Radiology*, v. 40, n. 11, p. 715-724, 2005. DOI: 10.1097/01.rli.0000184756.66360.d3

SEARS, J. *et al.* Combined photothermal and ionizing radiation sensitization of triple-negative breast cancer using triangular silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, v. 16, p. 851–865, 2021.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S296513>

SETIAWAN, H. *et al.* Synthesis and characterization of gadolinium nanoparticles using polyol method as a candidate for MRI Contrast Agent. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 2193, n. 1, 2022. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2193/1/012010>

SHIPUNOVA, V. O. *et al.* Photothermal Therapy with HER2-Targeted Silver Nanoparticles Leading to Cancer Remission. *Pharmaceutics*, v. 14, n. 5, p. 1013, 2022. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051013>

ŠTREMFLJ, J.; SMOLE, F. Nanotechnology and Nanoscience - From Past Breakthroughs to Future Prospects. *Informacije MIDEM. Journal of Microelectronics, Electronic Components and Materials*, v. 51, n. 1, p. 25-48, 2021. <https://doi.org/10.33180/InfMIDEM2021.102>

VILLAFANA, T. Fundamental physics of magnetic resonance imaging. Radiologic Clinics of North America, Philadelphia, v.26, n.4, p.701-715, 1988.

TA, H. T., LI, Z. *et al.* Effects of magnetic field strength and particle aggregation on relaxivity of ultra-small dual contrast iron oxide nanoparticles. Materials Research Express, v.4, n. 11, 2017. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa96e3>

TIAN, Q. *et al.* Sub-10 nm Fe₃O₄@Cu_{2-x}S Core–Shell Nanoparticles for Dual-Modal Imaging and Photothermal Therapy. J. Am. Chem. Soc., v. 135, n. 23, p. 8571–8577, 2013. <https://doi.org/10.1021/ja4013497>

THOMPSON, E. A. *et al.* Differential response of MCF7, MDA-MB-231, and MCF 10A cells to hyperthermia, silver nanoparticles and silver nanoparticle-induced photothermal therapy. International Journal of Hyperthermia, v. 30, n. 5, p. 312–323, 2014. <https://doi.org/10.3109/02656736.2014.936051>

TÓTH, E. *et al.* Kinetics of Formation and Dissociation of Lanthanide (III)-DOTA Complexes. Inorg. Chem. v. 33, p. 4070-7076, 1994.

TSUJI, M. *et al.* Rapid Transformation from Spherical Nanoparticles, Nanorods, Cubes, or Bipyramids to Triangular Prisms of Silver with PVP, Citrate, and H₂O₂. Langmuir, v. 28, n. 24, p. 8845–8861, 2012. <https://doi.org/10.1021/la3001027>

WAKS, A. *et al.* Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA Network*, v. 321, n. 3, p. 288-300, 2019. Doi:10.1001/jama.2018.19323

WEISHAUPT, D., KÖCHLI, V. D., MARINCEK, B. How Does MRI Work? Na Introduction to the Physics and Function of Magnetic Resonance Imaging. Springer. 2 ed. p. 172, 2008.

WILLETS, K., VAN DUYN. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. Annual Reviews, v. 58, p. 267-297, 2007. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607>

XIAO, Y. *et al.* The impact of light irradiation timing on the efficacy of nanoformulabased photo/chemo combination therapy. Journal of Materials Chemistry B v. 6, p.3692-3702, 2018. <https://doi.org/10.1039/C8TB00427G>

XING, Y. *et al.* Coral-Shaped Au Nanostructures for Selective Apoptosis Induction during Photothermal Therapy. *J. Mater. Chem. B*, v. 7, n. 40, p. 6224–6231, 2019. <https://doi.org/10.1039/C9TB01503E>

YANG, Q., PENG, J. R. *et al.* Porous Au@Pt nanoparticles: Therapeutic platform for tumor chemo-photothermal co-therapy and alleviating doxorubicin-induced oxidative damage. *ACS Applied Materials Interfaces* v. 10, n. 1, p. 150-164, 2018. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b14705>

YU, S. *et al.* A cascade nanosystem with “Triple-Linkage” effect for enhanced photothermal and activatable metal ion therapy for hepatocellular carcinoma. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 22, n. 334, 2024. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02551-z>

ZHANG, M. *et al.* Magnetic and fluorescent carbon nanotubes for dual modal imaging and photothermal and chemo-therapy of cancer cells in living mice. *Carbon*, v. 123, p. 70-83, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2017.07.032>

ZHANG, L., CHENG Q. *et al.* Near infrared light-triggered metal ion and photodynamic therapy based on AgNPs/porphyrinic MOFs for tumors and pathogens elimination. *Biomaterials*, v. 248, p. 120029, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120029>

ZHANG, Q. *et al.* A systematic study of the synthesis of silver nanoplates: Is citrate a “magic” reagent? *Journal of the American Chemical Society*, v. 133, n. 46, p. 18931–18939, 2011. <https://doi.org/10.1021/ja2080345>

ZHANG, M.; KIM, H.S. *et al.* Near-Infrared Photothermal Therapy Using EGFR-Targeted Gold Nanoparticles Increases Autophagic Cell Death in Breast Cancer. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, v. 170, p. 58–64, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.03.025>

ZHAO, L., ZHANG, X., WANG, X. *et al.* Recent advances in selective photothermal therapy of tumor. *Journal Nanobiotechnology*, v. 19, n. 335, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01080-3>