



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Janine dos Santos Ferreira da Silva

Sistema Multifuncional nPANI@nZIF-8:

do *Design* ao uso na terapia do câncer

Recife

2018

Janine dos Santos Ferreira da Silva

Sistema Multifuncional nPANI@nZIF-8:

do *Design* ao uso na terapia do câncer

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Química

Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Severino Alves Júnior

Co-orientador: Dr. Gilberto Fernandes Sá

Recife
2018

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

S586s Silva, Janine dos Santos Ferreira da.
Sistema Multifuncional nPANI@nZIF-8: do Design ao uso na terapia do câncer/
Janine dos Santos Ferreira da Silva. – 2018.
97f.: il., fig., tab.

Orientador: Severino Alves Júnior.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química,
Recife, 2018.
Inclui referências.

1. Química Inorgânica. 2. Nanocarreadores. 3. Terapia do câncer. 4. Hipertermia.
I. Alves Júnior, Severino. (orientador) II. Título.

546

CDD (22. ed.)

UFPE-CCEN 2020-172

JANINE DOS SANTOS FERREIRA DA SILVA

SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8:

DO DESIGN AO USO NA TERAPIA DO CÂNCER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovado em: 02/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Severino Alves Junior (Orientador)

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Ricardo Oliveira da Silva

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Paulo Neilson Marques dos Anjos

Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas
Universidade Estadual de Santa Cruz

Prof. Emiliano de Oliveira Barreto

Institutos de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal de Alagoas

Prof. Carlos Alberto Fernandes de Oliveira

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba

RESUMO

Neste trabalho, um novo sistema multifuncional com base em nanopartículas da MOF ZIF-8 (nZIF-8) sintetizadas in situ em uma solução de nanopartículas de polianilina (nPANI) foi desenvolvido e utilizado como uma nova plataforma para terapia do câncer. A porosidade e elevada área superficial da rede nZIF-8 e a propriedade de conversão fototérmica das nPANI, resultaram em um sistema multifuncional com efeito sinérgico, para a ablação de células tumorais de câncer de mama (MCF7). A síntese das nZIF-8, foi realizada in situ na solução coloidal de nPANI (50nm, 0,5mg.mL⁻¹) e metanol, na proporção de 5mL e 95mL respectivamente, para a obtenção do nanomaterial nPANI@nZIF-8. A morfologia, estabilidade estrutural, tamanho de partícula, área superficial e volumes de poros do nanomaterial foram analisados por difração de raios-x de pó (DRX), análises de infravermelho (FT-IR), análise de Porosimetria (BET) e microscopia eletrônica de Transmissão (MET). As imagens de MET exibiram a rede nZIF-8 “decoradas” por nPANI e apresentou tamanho de partícula de 200nm para nPANI@nZIF-8 em contraste com 80nm das nZIF-8 puras. O nanomaterial apresentou elevada cristalinidade, observada através da análise de raio-X, com picos característicos da rede nZIF-8. A análise de porosimetria exibiu elevada área superficial e volume de poros para as redes ZIF-8 comercial (1745.4 m²/g e 0.720 cm³/g respectivamente) e rede ZIF-8 nanoestruturada (1515.92 m²/g e 1.26 cm³/g respectivamente), possuem, portanto, potencial para serem usados como carreadores ou materiais de suporte para outras substâncias. A ZIF-8 comercial foi eficaz na adsorção do antibiótico oxitetraciclina de águas residuais, verificado através de uma redução da área superficial e volume de poros (831.8 m²/g e 0.377cm³/g respectivamente). Para a rede nanoestruturada ZIF-8 a microporosidade aumentou, após a interação com a polianilina, de 44,4% para 87,3 a 96,5% e o volume dos meso e macroporos diminuíram drasticamente, indicando que a interação com nPANI ocorreu principalmente em poros maiores. A análise termogravimétrica do material nPANI@nZIF-8, apresentou um aumento de Δ100°C para a ocorrência da perda do ligante, exibindo assim, maior estabilidade que a rede nZIF-8 pura. O nanomaterial foi irradiado no estado sólido por um laser NIR (λ =980nm, 0,5W/cm²) e à temperatura máxima atingiu cerca de 120°C, apresentadas através de imagens termográficas, e gráficos de aquecimento, corroborando assim, que o sistema nPANI@nZIF-8 exibe propriedade fototermal reproduzível. O estudo fototérmico em estado aquoso (200μL, 1mg.mL⁻¹) provocou hipertermia local e atingiu cerca de 70 °C. Esse aquecimento é diretamente proporcional à concentração do material. Devido a porosidade da rede nZIF-8, este sistema foi então usado como nanocarreador do fármaco antitumoral 5-Fu, alcançando um carregamento de 0,3g de 5-FU/ g de nPANI@nZIF-8, medido por UV-VIS. Esse sistema apresentou melhor liberação do fármaco em pH 5,2 e sob irradiação laser NIR (λ =980nm, 0,8 W/cm²), atingindo cerca de 80%. A viabilidade celular das células MCF7 in vitro diminuiu para aproximadamente 33%, após incubação com nPANI@nZIF-8/5-FU por 72h e sob ação laser NIR(λ=980nm, 0,8 W/cm²), por 5 min. Portanto, nPANI@nZIF-8/5-Fu é uma plataforma quimio-fototérmica promissora e apresenta potencialidade para ser empregado na terapia do câncer de mama.

Palavras-chaves: Nanocarreadores. Terapia do câncer. Hipertermia.

ABSTRACT

In this work, a new multifunctional system based on MOF ZIF-8 nanoparticles (nZIF-8), synthesized in situ in a polyaniline nanoparticle solution (nPANI), was developed and used as a new platform for cancer therapy. The porosity and high surface area of nZIF-8 and the photothermal conversion property of nPANI resulted in a multifunctional system with synergistic effect for the ablation of breast cancer tumor cells (MCF7). The synthesis of nZIF-8 was performed in situ in the colloidal solution of nPANI (<50nm, 0.5 mg.mL⁻¹) and methanol, in the proportion of 5mL and 95mL, respectively, to obtain nPANI@nZIF-8 nanomaterial. The morphology, structural stability, particle size, surface area and pore volumes of the nanomaterial were analyzed by powder X-ray diffraction (XRD), infrared (FT-IR) analysis, porosimetry (BET) analysis and electron microscopy of Transmission (TEM). TEM images exhibited the nZIF-8 network "decorated" by nPANI and presented particle size of 200nm for nPANI nZIF-8 in contrast to 80nm of pure nZIF-8. The nanomaterial presented high crystallinity, observed through X-ray analysis, with characteristic peaks of the nZIF-8 network. The porosimetry analysis showed a high surface area and pore volume for commercial ZIF-8 (1745.4 m²/g and 0.720 cm³ / g respectively) and nanostructured ZIF-8 (1515.92 m²/g and 1.26 cm³/g respectively), show, therefore, potential to be used as carriers or support materials for other substances. The commercial ZIF-8 was effective in the adsorption of the antibiotic oxytetracycline of waste water, verified by a reduction of the surface area and volume of pores (831.8 m²/g and 0.377cm³/g respectively). For the nanostructured network ZIF-8 the microporosity increased after interaction with polyaniline from 44.4% to 87.3 to 96.5% and the volume of the meso and macropores decreased dramatically, indicating that the interaction with nPANI occurred mainly in larger pores. The thermogravimetric analysis of the nPANI@nZIF-8 material showed an increase of Δ100 °C for the occurrence of binder loss, thus exhibiting higher stability than the pure nZIF-8 network. The nanomaterial was irradiated in the solid state by a NIR laser (λ = 980nm, 0.5W / cm²) and at maximum temperature reached about 120 °C, presented through thermographic images, and heating graphs, thus corroborating that the system nPANI @ nZIF-8 displays reproducible photothermal property. The photothermal study in the aqueous state (200 μL, 1mg.mL⁻¹) caused local hyperthermia and reached about 70°C. This heating is directly proportional to the material concentration. Due the porosity of the nZIF-8 network, this system was then used as a nanocarrier of the 5-FU antitumor drug, achieving a carry of 0.3 g of 5-FU / g nPANI@ nIF-8 as measured by UV- VIS. This system showed better release of the drug at pH 5.2 and under NIR laser irradiation (λ = 980nm, 0.8 W/cm²), reaching about 80%. Cell viability of MCF7 cells in vitro decreased to approximately 33%, after incubation with nPANI@NFIF-8/5-FU for 72 h and under NIR laser action (λ=980nm, 0.8 W/cm²) for 5 min. Therefore, nPANI@nZIF-8/5-Fu is a promising chemo-photothermal platform and has potential to be employed in breast cancer therapy.

Keywords: Nanocarriers. Cancer therapy. Hyperthermia.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	PRINCIPAIS ESTÁGIOS DO PROCESSO DE FORMAÇÃO DO CÂNCER.....	13
FIGURA 2-	DISTRIBUIÇÃO PROPORCIONAL DOS DEZ TIPOS DE CÂNCER MAIS INCIDENTES ESTIMADOS PARA 2016 POR SEXO, EXCETO PELE NÃO MELANOMA*. (FONTE: INCA- ESTIMATIVA 2016, INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL).....	14
FIGURA 3-	EVOLUÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS ENVOLVENDO SISTEMAS MULTIFUNCIONAIS E CÂNCER. (FONTE: WEB OF SCIENCE. PESQUISA PELOS TERMOS: “MULTIFUNCTIONAL SYSTEMS” AND “CÂNCER”.....	15
FIGURA 4-	FÓRMULA ESTRUTURAL DA POLIANILINA.....	17
FIGURA 5-	ESTRUTURAS DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS CONDUTORES.....	18
FIGURA 6-	ESTADOS MAIS COMUNS DE OXIDAÇÃO DA POLIANILINA. (A) LEUCOESMERALDINA (B) ESMERALDINA (C) NIGRANILINA (D) PERNIGRANILINA	19
FIGURA 7-	ESQUEMA DA FORMAÇÃO DE DOPAGEM DA ESMERALDINA (ISOLANTE) POR ÁCIDO CLORÍDRICO, FORMANDO O SAL HIDROCLORETO DE ESMERALDINA (CONDUTOR).....	19
FIGURA 8-	AUTOAGREGADOS DE SURFACTANTES EM SOLUÇÃO FORMANDO AS CHAMADAS MICELAS. (1) MICELAS NORMAIS (2) MICELAS REVERSAS.....	22
FIGURA 9-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA FOTOTÉRMICO.....	23
FIGURA 10-	ESQUEMA DO USO DE FIBRAS COMPOSTAS POR POLIANILINA COMO UM AGENTE FOTOTÉRMICO TERAPÊUTICO PARA MATAR TUMORES IN VIVO.....	24
FIGURA 11-	(A) CAPACIDADE DE ADSORÇÃO PARA OS DIFERENTES ÍONS DE METAIS PESADOS EMPREGADOS; (B) FOTOGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO COMPOSTO DE PANI-PS ANTES E DEPOIS DA INTERAÇÃO COM OS ÍONS DE METAIS PESADOS.....	25
FIGURA 12-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DE SÍNTESE DAS FNPS(SI/HA)@PANI E FNPS@ PANI.....	26
FIGURA 13-	CLUSTERS METÁLICOS, LIGANTES ORGÂNICOS E AS ESTRUTURA DAS MOF'S OBTIDAS.....	27
FIGURA 14-	ESTRUTURA DA MOF ZIF-8 E O SEU LIGANTE ISOLADO 2-METILIMIDAZOL À DIREITA.....	29
FIGURA 16-	MECANISMO DE INCORPORAÇÃO IN SITU DE PEQUENAS MOLÉCULAS NA SÍNTESE DE MOFS.....	30
FIGURA 17-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PREPARAÇÃO DO CCM@NZIF-8 E AS SUAS APLICAÇÕES EM VITRO (BIOIMAGEM) E EM VIVO NA TERAPIA ANTICÂNCER.....	31
FIGURA 18-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DOS NANOCRISTAIS ZIF-8/GO, CARREGADOS COM DROGA FLUORESCEÍNA, SISTEMA COM EFEITO SINÉRGICO DE ENTREGA DO FÁRMACO E TERAPIA FOTOTÉRMICA.....	32

FIGURA 19-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS ZIF-8/GQD COM ENCAPSULAMENTO DE MOLÉCULAS DOX SISTEMA COM EFEITO SINÉRGICO DE ENTREGA DE DOX E TERAPIA FOTOTÉRMICA.....	33
FIGURA 20-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FORMAÇÃO DE DOX/PD@AU@ZIF-8 E SUA APLICAÇÃO QUÍMIO-FOTOTÉRMICA, NO TRATAMENTO DE CÉLULAS CANCERÍGENAS, DESENCADEADO POR PH E IRRADIAÇÃO NIR.....	34
FIGURA 21-	ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS NANOPARTÍCULAS $Fe_3O_4@CARBON@ZIF-8$ COMO VEÍCULOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS COM PH-RESPOSTA: O PROCEDIMENTO SINTÉTICO DAS NANOPARTÍCULAS, O CARREGAMENTO DE DOX, A ENTREGA DO FÁRMACO PARA OS LOCAIS DO TUMOR ATRAVÉS DO EFEITO EPR E LIBERAÇÃO DE FÁRMACO CONTROLADA PELO PH.....	35
FIGURA 22-	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DE UCNPS@ZIF-8/FA, TRANSPORTADOR DE FÁRMACO ANTICANCERÍGENO DIRECIONADO E CARREGADO COM A DROGA 5-FU PARA ENTREGA DO FÁRMACO COM RESPOSTA AO PH.....	36
FIGURA 23-	PROCEDIMENTO DE SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA.....	39
FIGURA 24-	APARATO ELETROSPINNING. (A) BOMBA DE INFUSÃO (B) SERINGA ACOPLADA (C) PLACA COLETORA (D) FONTE DE ALTA TENSÃO.....	40
FIGURA 25-	SÍNTESE COMPLETA DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA.....	44
FIGURA 26-	ESPECTRO UV-VIS-NIR DE NPANI SAL ESMERALDINA.....	44
FIGURA 27-	ESPECTRO DE INFRAVERMELHO DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA.....	45
FIGURA 28-	SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI (A) IMAGEM DAS FIBRAS DE NPANI (B).....	46
FIGURA 29-	IMAGENS DE MEV DAS FIBRAS DE PANI + PVA (A) E DE FIBRAS DE PVA (B).....	47
FIGURA 30-	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE ZIF-8.....	48
FIGURA 31-	DRX DA NZIF-8.....	49
FIGURA 32-	ESPECTRO DE IR DA NZIF-8.....	50
FIGURA 33-	IMAGENS DE TEM DA NZIF-8.....	51
FIGURA 34-	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO / DESSORÇÃO DE N_2 EM (A) ZIF-8, (B) ZIF-8 APÓS CONTATO COM 10 mg. L^{-1} DE OTC E (C)ZIF-8 APÓS CONTATO COM 25 mg. L^{-1} DE OTC.....	52
FIGURA 35-	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO-DESSORÇÃO DE N_2 EM NZIF-8 E EM NPANI@NZIF-8, SINTETIZADO COM 50mL DA SOLUÇÃO NPANI, REALIZADAS A 77,4 K.....	54
FIGURA 36-	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E DESSORÇÃO DE N_2 DA REDE NZIF-8 E DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8, SINTETIZADO COM DIFERENTES QUANTIDADES DE NPANI, REALIZADAS A 77,4K	55

FIGURA 37-	ANÁLISE DE DRX DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50 mL DA SOLUÇÃO NPANI (À ESQUERDA). ANÁLISE DE DRX DE NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA PURA POR YINYIN CHEN (À DIREITA).....	57
FIGURA 38-	IMAGEM DE MET DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50mL DA SOLUÇÃO NPANI.....	57
FIGURA 39-	SÍNTESE DE NPANI@NZIF-8 IN SITU EM 5ML DE SOLUÇÃO NPANI E 95ML DE METANOL. NO BÉQUER À DIREITA TEMOS O INÍCIO DA SÍNTESE, NO BÉQUER À ESQUERDA TEMOS A SÍNTESE DE NZIF-8 EVIDENCIADA PELA TURBIDEZ DA SOLUÇÃO APÓS 10MIN DE AGITAÇÃO.....	58
FIGURA 40-	SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE DRX DE NZIF-8 PURO (CALCULADO E EXPERIMENTAL) E DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM DIFERENTES VOLUMES DE NPANI.....	59
FIGURA 41-	SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE IV DE NPANI, NZIF-8 E NPANI@NZIF8.....	60
FIGURA 42-	NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5mL DA SOLUÇÃO DE NPANI.....	60
FIGURA 43-	IMAGENS DE TEM DO NANOMATERIAL NZIF-8 PURO (A) E NPANI@NZIF-8 PREPARADO COM 5mL DA SOLUÇÃO DE NPANI (B).....	61
FIGURA 44-	ANÁLISE TGA DE NZIF8 (A) E NPANI@NZIF8 (B).....	63
FIGURA 45-	ANÁLISE DE UV-VIS DE NZIF-8(SÓLIDO), NPANI(AQUOSO) E NPANI@NZIF-8 (SÓLIDO).....	64
FIGURA 46-	ANÁLISE DE UV-VIS DE NPANI@NZIF-8, SÓLIDO E EM SUSPENSÃO AQUOSA.....	65
FIGURA 47-	CURVA DE CALIBRAÇÃO DO FÁRMACO 5-FU.....	66
FIGURA 48-	CÉLULAS MCF7 DE CÂNCER DE MAMA SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR POR DIFERENTES DENSIDADES DE POTÊNCIA, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 E 2,5 W.cm ⁻²	68
FIGURA 49-	SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DO FÁRMACO 5-FU.....	70
FIGURA 50-	NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50ML DE NPANI (0,5 mg. mL ⁻¹), SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm ⁻² DURANTE 3 MINUTOS.....	72
FIGURA 51-	GRÁFICO DE AQUECIMENTO DE NPANI@NZIF-8 EM PÓ, SINTETIZADO COM 50ML DE NPANI (0,5 mg. mL ⁻¹), SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm ⁻²	73
FIGURA 52-	NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5mL (0,5 mg. mL ⁻¹) DE NPANI, SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm ⁻² DURANTE 3 MINUTOS.....	74
FIGURA 53-	GRÁFICO DE AQUECIMENTO DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5ML (0,5 mg.. mL ⁻¹) DE NPANI, SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm ⁻² DURANTE 3 MINUTOS.....	75
FIGURA 54-	IMAGENS TERMOGRÁFICAS DAS NANOPARTÍCULAS DE ZIF-8 SÓLIDAS PURAS SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm ⁻²	75

FIGURA 55-	TESTE DE VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR ($\lambda=980\text{NM}$)	76
FIGURA 56-	TESTE DE VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR ($\lambda=980\text{NM}$)	77
FIGURA 57-	EFEITO FOTOTÉRMICO DE NPANI@NZIF8 EM SUSPENSÃO (200 μL), DURANTE IRRADIAÇÃO NIR ($\lambda=980\text{ NM}$, $0,8\text{ W. cm}^{-2}$) POR 5 MIN, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 mg / mL. ÁGUA PURA FOI UTILIZADA COMO BRANCO.....	78
FIGURA 58-	ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA DROGA 5-FU ANTES E DEPOIS DO CONTATO COM AS NANOPARTÍCULAS PANI ZIF8 (48H). JUNTAMENTE, A CURVA DE CALIBRAÇÃO 5-FU A 285NM.....	79
FIGURA 59-	CURVA CINÉTICA DE ADSORÇÃO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF-8.....	81
FIGURA 60-	SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE DRXS, ANTES (NPANI@NZIF-8) E APÓS (NPANI@NZIF-8/5-FU) A INCORPORAÇÃO DO FÁRMACO 5-FU.....	82
FIGURA 61-	SOBREPOSIÇÃO DE IV DE NPANI@NZIF-8, 5-FU E NPANI@NZIF-8/5-FU.....	83
FIGURA 62-	PERFIS DE LIBERAÇÃO DE 5-FU, DO SISTEMA INCORPORADO NPANI@NZIF-8/5-FU, EM SOLUÇÕES TAMPÃO COM PH 7.2, PH 5.2 E PH 5.2 + IRRADIAÇÃO ON/OFF DO LASER NIR (980 NM, $0,8\text{ W.cm}^{-2}$).....	84
FIGURA 63-	VIABILIDADE CELULAR DE CÉLULAS MCF7 APÓS 72 HORAS DE INCUBAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS NPANI@NZIF-8 A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, MEDIDA POR MEIO DE UM ENSAIO MTT. OS VALORES SÃO MOSTRADOS COMO MÉDIA \pm DP.....	85
FIGURA 64-	CITOTOXICIDADE IN VITRO DE 5-FU PURO, NPANI@NZIF-8, NPANI@NZIF8/5-FU E NPANI@ NZIF8/5-FU+NIR, NAS CONCENTRAÇÕES 0,25 E 0,125 $\mu\text{g/mL}$, EM CÉLULAS MCF7 APÓS 72 HORAS DE INCUBAÇÃO. OS VALORES SÃO MOSTRADOS COMO MÉDIA \pm DP; N = 4, * P <0,05, ** P <0,01.....	86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	ÁREA DE SUPERFÍCIE E VOLUME DE POROS PARA ZIF-8 PURA E ZIF-8 CARREGADA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OTC.....	53
TABELA 2-	ÁREA DE SUPERFÍCIE E VOLUME DE POROS PARA NZIF-8 PURA E NZIF-8 CARREGADA COM DIFERENTES QUANTIDADES DE NPANI.....	56
TABELA 3-	VALORES COMPARATIVOS DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DO FÁRMACO (DEE%) E DO CARREAMENTO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF8 (DLC%) POR CINÉTICA DE ADSORÇÃO E POR DECOMPOSIÇÃO DE 1mg DO MATERIAL CARREADO.....	80

SUMÁRIO

1	<u>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</u>	13
1.1	CANCER.....	13
1.2	SISTEMAS MULTIFUNCIONAIS.....	15
1.3	PROPRIEDADES GERAIS DA POLINILINA.....	17
1.3.1	ESTADOS DE OXIDAÇÃO DA POLINILINA.....	18
1.3.2	SÍNTESE DE POLIANILINA E POLIANILINA NANOESTRUTURADA.....	20
1.3.3	POSSÍVEIS APLICAÇÕES DA POLIANILINA.....	22
1.4	MOF ZIF-8 (ZN-2-METIL IMIDAZOL).....	27
2	<u>OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS</u>	37
2.1	OBJETIVO GERAL.....	37
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
3	<u>SÍNTESE DE MATERIAIS CONTENDO POLIANILINA</u>	38
3.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	38
3.2.1	SÍNTESE DA SOLUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA (NPANI).....	38
3.2.2	SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI.....	39
3.2.3	SÍNTESE DA NZIF-8 PURA E IN SITU NA SOLUÇÃO DE NPANI (NPANI@NZIF-8).....	40
3.2.4	OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE DE NPANI@NZIF-8.....	41
3.2.5	ESTUDO DE SORÇÃO: ANÁLISE DE POROSIMETRIA E ÁREA DE SUPERFÍCIE DE NZIF-8 E NPANI@NZIF-8.....	41
3.3	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS.....	41
3.3.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	41
3.3.2	DIFRATOMETRIA DE RAIOS X DE PÓ (DRX).....	41
3.3.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV).....	42
3.3.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET).....	42
3.3.5	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO (UV-VIS).....	42
3.3.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	42
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA POLIANILINA PURA.....	43
3.4.2	SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI.....	46
3.4.3	SÍNTESE DA NZIF-8 E DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8.....	48
3.4.4	ESTUDO DE POROSIMETRIA E ÁREA SUPERFICIAL DAS REDES ZIF-8, NZIF-8 E NPANI@NZIF-8.....	51
3.4.5	OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8.....	56
3.4.6	CONCLUSÕES PARCIAIS.....	65

<u>4</u>	<u>APLICAÇÃO DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL nPANI@nZIF-8.....</u>	<u>66</u>
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	66
4.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	67
4.2.1	ANÁLISE DO EFEITO FOTOTÉRMICO DO NANOMATERIAL, NPANI@NZIF-8, SOB IRRADIAÇÃO DE UM LASER NIR ATRAVÉS DE IMAGENS TERMOGRÁFICAS.....	67
4.2.2	ESTUDO DA VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR: ESTUDO DE POTÊNCIA.....	67
4.2.3	EFEITO FOTOTÉRMICO DE NPANI@NZIF-8 EM SOLUÇÃO AQUOSA: EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO MATERIAL.....	68
4.2.4	CARREAMENTO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF-8 E LIBERAÇÃO CONTROLADA DESSE FÁRMACO EM FUNÇÃO DO TEMPO.....	68
4.2.5	CITOTOXICIDADE IN VITRO.....	70
4.2.6	TERAPIA QUIMIOFOTOTERMAL DE NPANI@NZIF-8/5-FU IN VITRO.....	71
4.2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	71
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
4.3.1	ANÁLISE DO EFEITO FOTOTÉRMICO DO NANOMATERIAL, NPANI@NZIF-8, SOB IRRADIAÇÃO DE UM LASER NIR ATRAVÉS DE IMAGENS TERMOGRÁFICAS	72
4.3.2	NPANI@NZIF-8 COMO NANOCARREADOR DO FÁRMACO 5-FLUORACIL (NPANI@NZIF-8/5-FU).....	79
4.3.3	CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO 5-FLUORACIL.....	83
4.3.4	CITOTOXICIDADE DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8 <i>IN VITRO</i>	85
4.3.5	TERAPIA QUIMIOFOTOTERMAL DE NPANI@NZIF-8/5-FU <i>IN VITRO</i>	86
4.3.6	CONCLUSÕES PARCIAIS.....	87
<u>5</u>	<u>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</u>	<u>88</u>
	<u>REFERÊNCIAS.....</u>	<u>89</u>

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 **CANCÊR**

Atualmente o câncer é uma das doenças mais desafiadoras, que ameaça a saúde pública e a vida humana¹. De acordo com o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo^{1,2}. A metástase é a maior causa de morte de pacientes com câncer³. O acúmulo, dessas células cancerígenas, forma tumores ou neoplasias malignas enquanto que tumores benignos são apenas massas que se assemelham ao seu tecido original².

Existem vários tipos de células pelo corpo humano e por esse motivo podemos gerar vários tipos de cânceres. Sarcoma é o câncer iniciado em tecidos ditos conjuntivos (ossos, músculos, cartilagem). Enquanto que carcinoma é o câncer iniciado em tecidos epiteliais (pele ou mucosas)⁵. A velocidade da metástase também diferencia os tipos e periculosidade dos cânceres existentes³.

Em organismos saudáveis as células-mães multiplicam-se e geram células “filhas” iguais as células-mãe e formam tecidos e órgãos. Entretanto, quando uma célula "filha" torna-se diferente da célula "mãe", significa que ocorreu uma mutação genética (alterações no DNA dos genes), e, pode indicar o surgimento de um câncer^{1,5}. Na divisão celular, as células normais crescem e se reproduzem (duplicação do DNA) e morrem. Entretanto, as células normais podem sofrer alteração no material genético (DNA) e formar uma mutação. A célula que sofrer mutação pode se dividir de maneira desordenada e invadir outros tecidos e órgãos dando origem ao tumor (Figura 1)²

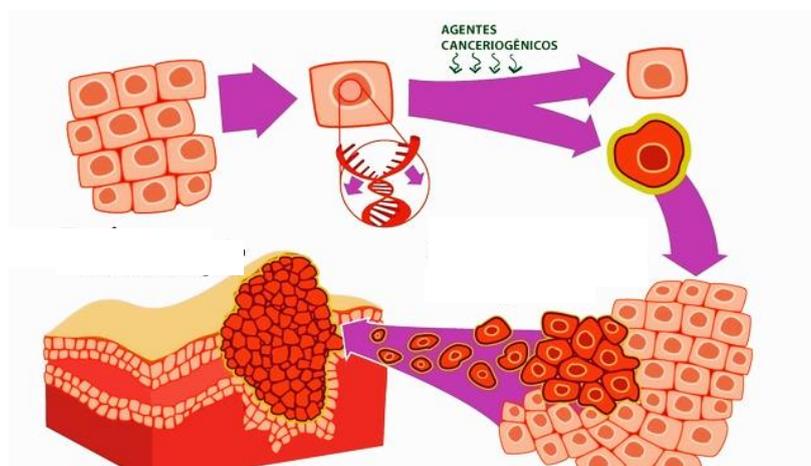


FIGURA 1- PRINCIPAIS ESTÁGIOS DO PROCESSO DE FORMAÇÃO DO CÂNCER

Entre as mulheres, o câncer de mama é o mais frequente, com mais de 1,38 milhões de novos casos resultando em aproximadamente 458.400 mortes a cada ano (Figura 2). Os tratamentos do câncer de mama geralmente incluem intervenção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia⁴.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	61.200	28,6%	Homens	Mulheres	Mama feminina	57.960	28,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.330	8,1%			Cólon e Reto	17.620	8,6%
Cólon e Reto	16.660	7,8%			Colo do útero	16.340	7,9%
Estômago	12.920	6,0%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%
Cavidade Oral	11.140	5,2%			Estômago	7.600	3,7%
Esôfago	7.950	3,7%			Corpo do útero	6.950	3,4%
Bexiga	7.200	3,4%			Ovário	6.150	3,0%
Laringe	6.360	3,0%			Glândula Tireoide	5.870	2,9%
Leucemias	5.540	2,6%			Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%
Sistema Nervoso Central	5.440	2,5%			Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

FIGURA 2- DISTRIBUIÇÃO PROPORCIONAL DOS DEZ TIPOS DE CÂNCER MAIS INCIDENTES ESTIMADOS PARA 2016 POR SEXO, EXCETO PELE NÃO MELANOMA*. (FONTE: INCA-ESTIMATIVA 2016, INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL).

Tratamentos que sejam eficazes contra o câncer apresentam um desafio para clínicos e pesquisadores no mundo todo devido à complexidade e variabilidade relacionadas à progressão e tipos do câncer.

Os tratamentos convencionais de câncer, incluem quimioterapia, radioterapia e intervenção cirúrgica. Esses tratamentos exibem limitações, como efeitos tóxicos e muitas vezes, resistência das células tumorais aos múltiplos fármacos⁶. Os procedimentos cirúrgicos são invasivos e a retirada de células tumorais pode não ser total.

A quimioterapia consiste em utilizar drogas, que podem ser quimioterápicos, hormonioterápicos, bioterápicos, imunoterápicos ou alvoterápicos, os quais podem ser administrados continuamente ou a intervalos regulares. A ação das drogas no organismo não é seletiva, atacando tanto células saudáveis quanto aquelas acometidas com o câncer, podendo causar ao paciente sequelas, nas quais podem ser evidenciadas pela queda de cabelo, alteração na cor das unhas e pele, ferimentos e diminuição da imunidade.

Com a radioterapia é empregado um feixe de radiações ionizantes eletromagnéticas ou corpusculares sobre o local do tumor. Essas radiações, ao interagirem com o tecido, tem a capacidade de arrancar elétrons, ionizando-o. Esta ionização pode provocar, por exemplo, a hidrólise da água, ou ainda promover a ruptura de cadeias de DNA e causar a apoptose celular. Entretanto, induz efeitos colaterais locais ou sistêmicos⁷.

Pesquisas recentes buscam desenvolver novas abordagens, acessíveis, não invasivas, com menores efeitos colaterais e de baixo custo.

Terapias multifuncionais já estão sendo relatadas e consistem na união de dois ou mais tipos de tratamento num único sistema, combinados de forma eficaz e simultânea. O uso combinado sinérgico pode reduzir as desvantagens de cada método quando usado sozinho^{8,9,10}.

1.2 SISTEMAS MULTIFUNCIONAIS

Os sistemas multifuncionais atraíram muita atenção e estão sendo desenvolvidos para fornecer alternativas melhores e mais baratas no tratamento do câncer^{9,10}. Esses sistemas oferecem dois ou mais mecanismos terapêuticos em um único material que por efeito sinérgico apresenta um tratamento mais eficaz em relação à monoterapia ou terapia convencional do câncer¹¹.

Nesse contexto, vários sistemas multifuncionais de tratamento do câncer foram projetados e relatados¹²⁻¹⁶. Isso pode ser comprovado no crescimento exponencial do número de publicações envolvendo Sistemas multifuncionais e Câncer (Figura 3).

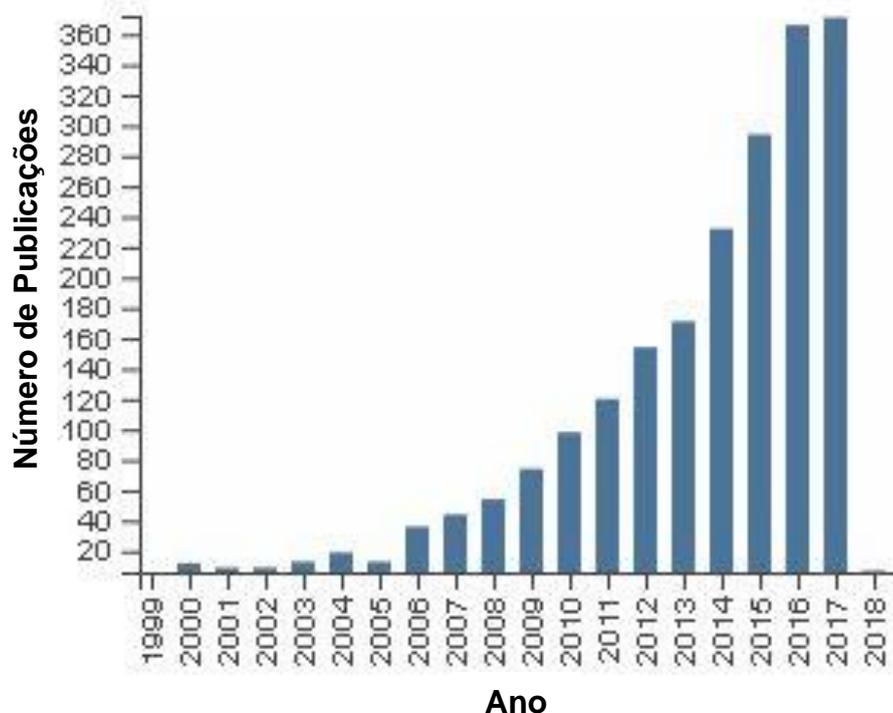


FIGURA 03- EVOLUÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS ENVOLVENDO SISTEMAS MULTIFUNCIONAIS E CÂNCER. (FONTE: WEB OF SCIENCE. PESQUISA PELOS TERMOS: “MULTIFUNCTIONAL SYSTEMS” AND “CÂNCER”)

Um sistema multifuncional que alcançou proeminência nos últimos anos é o quimio-fototermal, que consiste em um nanomaterial carreador para a entrega de medicamentos e um nanomaterial que possui conversão fototérmica¹⁶⁻¹⁹.

A terapia fototérmica (PTT, do inglês “photothermal therapy”) utiliza materiais, chamados de agentes fototérmicos, que absorvem radiação eletromagnética do infravermelho próximo (NIR) e convertem em energia térmica provocando um aumento da temperatura (hipertermia) de forma localizada, podendo levar a necrose tumoral²⁰. A irradiação NIR (faixa de 700 a 1100nm) é usada por causa da menor absorção dos tecidos saudáveis circundantes causando menor lesão na área irradiada. Pode efetivamente penetrar através dos tecidos com intensidade suficiente bem como maior precisão espacial e raramente é absorvido. Os tecidos moles e o sangue são relativamente transparentes nessa região²¹.

As maiores vantagens da PTT descrita por pesquisadores é de ser minimamente invasiva e direcionada, causando mínimos danos aos tecidos saudáveis¹⁶⁻²⁰.

Um dos grandes desafios da terapia fototermal é a busca por novos agentes fototérmicos adequados com eficiência de conversão fototérmica, baixa citotoxicidade para sistemas vivos, escala nanométrica e formato uniforme, boa dispersão em solução aquosa, e fotoestabilidade^{22,23}.

Atualmente, os agentes fototérmicos já relatados compreendem principalmente nanopartículas de metal ou semimetais (Au, Ag, Pd e Ge), principalmente combinado com outros materiais. No entanto, eles apresentam alto custo e baixa fotoestabilidade sob irradiação de um laser a longo prazo²⁴⁻²⁷. Nanopartículas semicondutoras²⁸, e nanomateriais baseados em carbono (nanotubos de carbono e grafenos)²⁹⁻³¹ também já foram utilizados como agentes fototérmicos.

Os polímeros estão entre alguns materiais alternativos no uso de PTT, em destaque polipirrol³²⁻³⁴ e polianilina^{23,35,36}.

A polianilina (Pani) possui alta aplicabilidade, estabilidade química, baixo custo e fácil síntese de polimerização³⁷. Além disso, não é citotóxica e tem sido usada com sucesso como material eletroativo para estudar a proliferação celular³⁸. A polianilina nanoestruturada (nPANI) exibe maior área superficial e maiores interações do polímero com o meio³⁹. E por estas razões foi escolhida como agente fototérmico para este trabalho.

1.3 PROPRIEDADES GERAIS DA POLIANILINA

A polianilina é um polímero intrinsecamente condutor muito explorado pela comunidade científica devido a sua alta aplicabilidade³⁷.

Os polímeros são macromoléculas que são formadas por unidades que se repetem chamadas monômeros por um processo chamado de polimerização⁴⁰. Os polímeros são macromoléculas, porém existem macromoléculas que não são polímeros. De modo geral, macromoléculas são moléculas grandes, de elevado peso molecular, que podem ou não, apresentar unidades químicas repetidas⁴¹.

Os polímeros possuem alto peso molecular, em torno de milhares ou milhões de unidade de massa atômica e por isso é inviável tentar representar uma molécula polimérica completa. Por essa razão, a unidade que representa a molécula do polímero é escrita entre parênteses ou mais comumente entre colchetes⁴². A fórmula estrutural da Pani é definida como mostrada na figura 4.

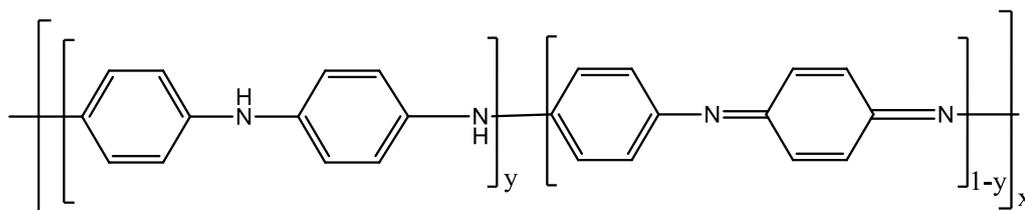


FIGURA 4- FÓRMULA ESTRUTURAL DA POLIANILINA

A Pani é sintetizada a partir monômero anilina na qual y e 1-y representam anéis C₆H₄ nas formas benzenóide e quinóide, respectivamente, unidos entre si por átomos de nitrogênio nas posições “para”⁴³.

Ser um polímero condutor implica basicamente na presença de um sistema eletrônico conjugado π em sua estrutura, que permite a geração e propagação de portadores de carga⁴⁴. As ligações entre os átomos de carbono são duplas alternadas (sistema conjugado), ocasionando uma ressonância com deslocalização dos elétrons da ligação π , que podem saltar espontaneamente quando são formados sítios livres na molécula do polímero⁴⁵.

Esta característica estrutural permite a superposição de orbitais π em uma larga extensão da cadeia polimérica e com isso ocorre a mobilidade de elétrons, ou seja, a condução elétrica. Entretanto, polímeros intrinsecamente condutores não apresentam

condutividade no estado neutro. Sua condutividade intrínseca necessita da formação de sítios livres na molécula do polímero. Esse fenômeno pode ser conseguido através da oxidação, redução ou dopagem da cadeia polimérica⁴⁶.

Entre os principais polímeros condutores encontram-se o politiofeno, poliacetileno, polipirrol e polianilina. Suas estruturas são apresentadas na figura 5. A polianilina vem se destacando entre os polímeros condutores por apresentar elevada estabilidade química a temperatura ambiente, baixo custo do monômero anilina e síntese de fácil polimerização³⁷.

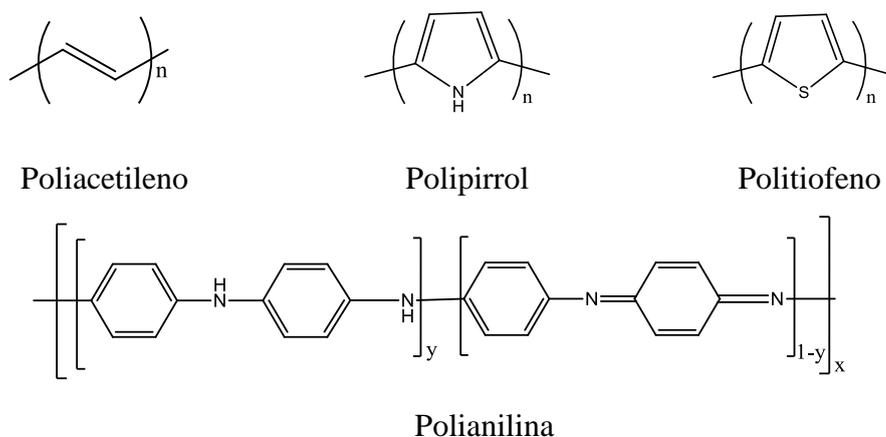


FIGURA 5- ESTRUTURAS DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS CONDUTORES.

1.3.1 ESTADOS DE OXIDAÇÃO DA POLIANILINA

A forma base da PANI (não dopada), possui unidades repetitivas reduzidas (y) e oxidadas ($1-y$)⁴³, como representado na Figura 1. Quando a polianilina está totalmente reduzida, é chamada de leucoesmeraldina (contendo apenas nitrogênios amina), sendo $y=1$ de acordo com a fórmula estrutural supracitada e apresenta cor amarelo. No estado totalmente oxidada é chamada de pernigranilina (contendo apenas nitrogênios imina), sendo $y=0$, na fórmula estrutural, e tem cor violeta. E o estado intermediário de oxidação em 50% é chamado de esmeraldina e possui coloração azul (verde, no estado protonada), com $y=0,5$. Existem ainda outros estados de oxidação para pani com $y=0,75$ e $y=0,25$ chamadas de protoesmeraldina e nigranilina respectivamente⁴⁷. As estruturas dos estados de oxidação mais comuns da PANI estão representadas na figura 6.

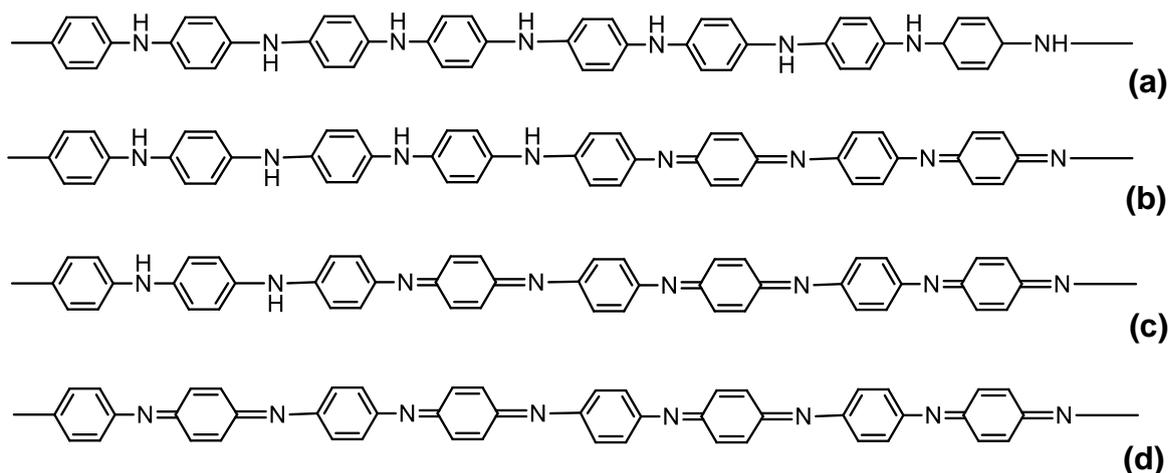


FIGURA 6- ESTADOS MAIS COMUNS DE OXIDAÇÃO DA POLIANILINA. (A) LEUCOESMERALDINA (B) ESMERALDINA (C) NIGRANILINA (D) PERNIGRANILINA

Além de oxidada a polianilina pode ser dopada por protonação, através de uma reação redox interna, ou seja, sem que haja alteração no número de elétrons da cadeia polimérica. O grau de protonação depende do grau de oxidação que o polímero foi sintetizado e da acidez do meio. Os nitrogênios imina da espécie oxidada pode estar totais ou parcialmente protonados, gerando o polímero na forma de sal. A dopagem química da polianilina esmeraldina é alcançada, mais comumente, através da protonação em solução ácida, como apresentado na figura 7, e essa dopagem ocasiona um aumento da condutividade, próxima dos materiais metálicos, em relação a polianilina não dopada⁴⁸. Entre os possíveis estados de oxidação que a polianilina possa apresentar, apenas a forma oxidada em 50% e protonada, denominada sal esmeraldina, é condutora⁵⁰.

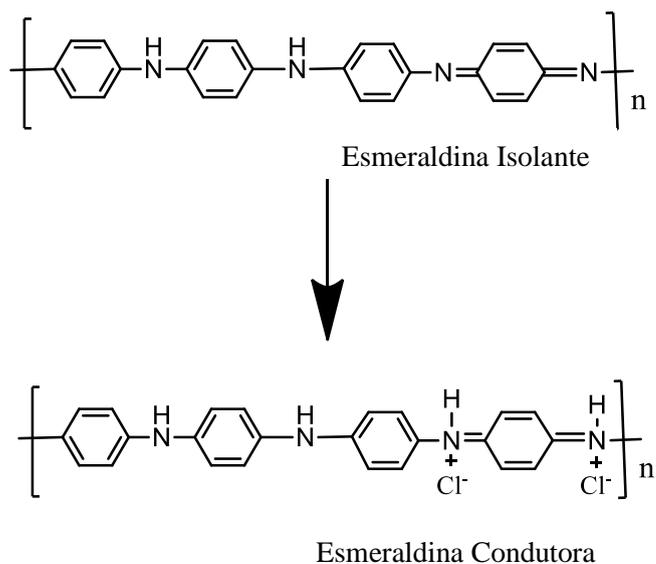


FIGURA 7- ESQUEMA DA FORMAÇÃO DE DOPAGEM DA ESMERALDINA (ISOLANTE) POR ÁCIDO CLORÍDRICO, FORMANDO O SAL HIDROCLORETO DE ESMERALDINA (CONDUTOR)⁴⁹

A variação de cor é um importante indicativo acerca da mudança do estado de oxidação da polianilina. Por esse fator, a espectroscopia eletrônica no UV-VIS-NIR é uma das técnicas que pode ser útil para caracterizar a PANI.

A leucoesmeraldina apresenta apenas uma banda de absorção em 343 nm atribuída à transição π - π^* , pois apresenta somente anéis benzênicos. A esmeraldina base, ($y = 0,5$), também apresenta uma banda em 330 nm devido à transição π - π^* e ainda uma banda em 637 nm atribuída à transferência de carga dos anéis benzênicos para os anéis quinônicos. A forma totalmente oxidada, pernigranilina, apresenta além da absorção em 330 nm, uma banda em 283 nm e uma outra em 530nm. A esmeraldina protonada ou sal esmeraldina possui uma banda de absorção em 380 nm atribuída à transição π - π^* e a banda em 420 nm característica da forma polarônica e na região de 600 nm observa-se o início de uma banda que se estende até o NIR (700-1100) que é atribuída aos segmentos polarônicos, característico dos portadores de carga livre^{47,51}.

1.3.2. SÍNTESE DE POLIANILINA E POLIANILINA NANOESTRUTURADA

Os métodos mais utilizados para a síntese de polianilinas são: a síntese química e a síntese eletroquímica.

De modo Geral, a síntese química ocorre por meio da reação de polimerização oxidativa da anilina em meio ácido. O polímero vai sendo formado com a utilização de um agente oxidante em contato com a anilina, um pó visualmente verde escuro, dopado com o ácido que foi empregado na própria síntese³⁷.

Há uma variedade de oxidantes e ácidos dopantes que já foram utilizados na síntese química de polianilinas descritos na literatura. O meio ácido pode ser gerado por ácidos inorgânicos ou orgânicos. Porém, são mais utilizadas soluções de ácidos inorgânicos como H_2SO_4 , HCl, $HClO_4$ apresentando pH abaixo de 2. O persulfato de amônio (PSA) e o cloreto férrico são os mais empregados, como agentes oxidantes⁵².

A síntese química da PANI, em geral, apresenta subprodutos de polimerização, cuja remoção é inviável, devido à elevada quantidade de solvente indispensável nesse tipo de síntese. Em contrapartida este método tem a grande vantagem de produzir um polímero de alto peso molecular e em grandes quantidades. Além disso, possibilita a produção em larga escala e, portanto, a industrialização⁵³.

Na síntese eletroquímica, o monômero anilina é oxidado no ânodo de uma célula eletroquímica sobre um eletrodo inerte, como eletrodos de platina ou de grafite, por exemplo, na presença de um eletrólito ácido, pela aplicação de uma intensidade de corrente suficiente para produzir um potencial igual ou maior que o potencial de oxidação do monômero^{50,54}, entretanto, eletrodos de carbono também podem ser usados⁵⁵.

O método eletroquímico apresenta algumas vantagens sobre o método de síntese química convencional, como por exemplo, o produto resultante é pouco contaminado por não necessitar de meio reacional. Entretanto, é obtido uma quantidade precária de material uniforme, dificultando assim seu uso em larga escala.

Nos últimos anos a polianilina nanoestruturada tem recebido atenção dos pesquisadores, visando combinar as propriedades de um polímero condutor com sistemas de nanotecnologia, originando boas propriedades físico-químicas e diversas aplicações possíveis⁵⁶. Com a morfologia em escala nanométrica (10-9m), obtêm-se aumento da área superficial, maiores interações do polímero com o meio e, deste modo melhor desempenho quando comparado ao mesmo polímero obtido por síntese convencional em aplicações que exigem maior sensibilidade e interação com o meio-ambiente⁵⁷.

A síntese das nanopartículas de polianilina se processa mais comumente do mesmo modo que a polianilina convencional, síntese oxidativa, com o auxílio de um “molde”, que pode ser físico ou químico, ou sem o “molde”⁵⁸.

Sem o auxílio de um “molde” podemos mencionar como método mais conhecido a síntese interfacial. Nesta síntese, a reação de polimerização acontece na interface de uma mistura bifásica entre dois solventes imiscíveis envolvendo água, com o agente oxidante dissolvido, e um solvente orgânico, contendo a anilina dissolvida. As nanopartículas de polianilina se desenvolvem na interface dentre as duas fases (água e solvente orgânico) e por serem hidrofílicas, se encaminham para a fase aquosa e devido à ausência do agente oxidante, não crescem, conservando-se em escala nanométrica⁵⁹.

A síntese com o “molde” físico envolve a síntese de nanopartículas de Pani, em poros ou canais de determinados materiais, tais como, membranas, zeólitas, ou óxido de alumínio⁶⁰. Esse procedimento tem a finalidade de ocasionar de maneira facilitada a redução do tamanho das partículas sintetizadas para a ordem em nanômetros. Uma das vantagens deste método deve-se em produzir nanoestruturas regulares e orientadas. As desvantagens são: o longo processo de purificação para a retirada do “molde” e a dificuldade em manter a nanoestrutura intacta e ordenada após este processo⁵⁸.

A síntese com o “molde químico”, utiliza a ação de moléculas, como: surfactantes^{61,62}, como mostrado na figura 8, ou cristais líquidos⁶³, que guiam a formação das nanopartículas.

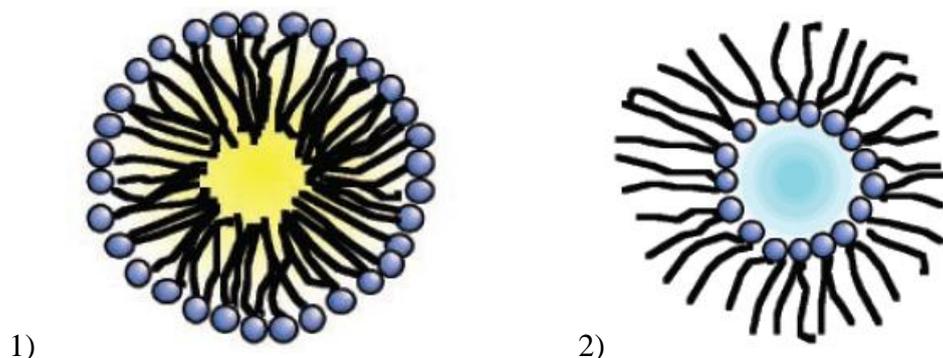


FIGURA 8- AUTOAGREGADOS DE SURFACTANTES EM SOLUÇÃO FORMANDO AS CHAMADAS MICELAS⁶⁴. (1) MICELAS NORMAIS (2) MICELAS REVERSAS

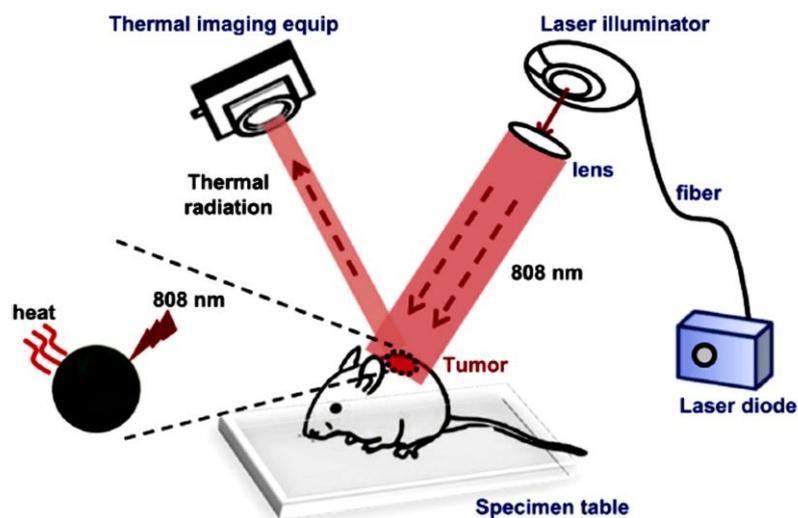
Essa capacidade que os surfactantes possuem de se automontar em estruturas bem definidas tem sido aproveitada para a síntese de materiais com dimensões nanométrica, pois essas estruturas são utilizadas como um tipo de molde para a síntese de nanomateriais⁶⁵. Esta metodologia é também chamada de “auto-organização” (selfassembly), dispensa procedimentos de purificação. Desta maneira torna-se mais prática e econômica que o método de síntese com “fôrma física” e foi utilizado neste trabalho para a obtenção de nanopartículas de polianilina, com bons resultados.

1.3.3. POSSÍVEIS APLICAÇÕES DA POLIANILINA

É encontrado na literatura inúmeros trabalhos recentes com aplicações relevantes envolvendo a polianilina. Isto se deve em particular, a ampla processabilidade da polianilina, por uma variedade de técnicas, dentre elas, filmes por solução (casting), filme-gel, blendas poliméricas, fibras, polimerização química in situ, filmes depositados eletroquimicamente, dentre outras⁴⁹.

Além de todas as aplicabilidades possíveis para a polianilina pura ainda encontramos vários trabalhos com polianilinas funcionalizadas⁶⁶ ou compondo sistemas multifuncionais⁶⁷, devido algumas limitações da polianilina condutora pura, tais como, incapacidade de ser processada a quente, ou por métodos convencionais (extrusão, injeção, etc.), devido à baixa propriedade mecânica⁶⁸.

No trabalho de Jing Zhou e colaboradores, nanopartículas de polianilina foram sintetizadas para serem aplicadas na terapia fototermal, que se baseia no princípio da conversão de energia luminosa em energia térmica, conduzindo a necrose de tumores, com uso de infravermelho próximo (NIR). Esse trabalho sintetizou nanopartículas de PANI (~50nm) por um método hidrotérmico e revestimento adicional com cadeias de polioxietileno. As PANIs foram funcionalizadas com o polímero F-127 (F-PANPs) para nivelamento da superfície e exibiram várias vantagens como tamanho apropriado, boa solubilidade em água, forte absorção NIR ($8,95 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), alta eficiência de conversão fototérmica (48,5%) e fotoestabilidade, eficaz efeito terapêutico, e sem resposta tóxica óbvia para o corpo vivo. F-PANPs foram usadas com sucesso na terapia fototermal in vivo⁶⁶ (Figura 9).



Scheme 1. Schematic illustration of the photothermal imaging system set up by our group.

FIGURA 9- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA FOTOTÉRMICO

Yinyin Chen e colaboradores sintetizaram um material usado para formar tecidos de nanofibras constituída de polianilina com poli(e-caprolactona) e gelatina (PG) por eletrospinning para tratamento ortotópico fototermal de tumores em vivo. Em suma como já mencionado, nanopartículas de polianilina têm uma forte absorção em infravermelho próximo (NIR), comprimentos de onda 808 nm sob irradiação com laser, e pode converter a energia luminosa em energia térmica. Pedacos desse material foram implantados cirurgicamente em tumores em cobaias, e a terapia fototermal provocou a ablação de células tumorais termicamente⁶⁷, figura 10.

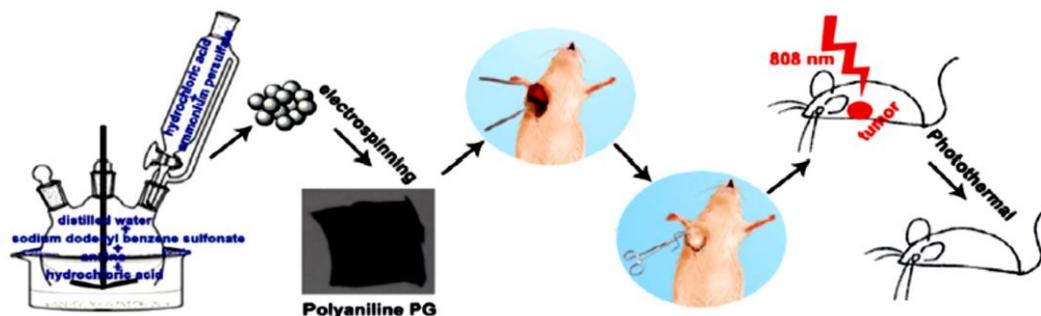


FIGURA 10- ESQUEMA DO USO DE FIBRAS COMPOSTAS POR POLIANILINA COMO UM AGENTE FOTOTÉRMICO TERAPÊUTICO PARA MATAR TUMORES IN VIVO.

Outro material sintetizado em fibras, por eletrospinning, envolve polianilina e o poliestireno. Tal material foi aplicado, na remoção de metais pesados do meio aquoso, por José J. Alcaraz-Espinoza, Alicia E. Chávez-Guajardo e colaboradores. Em particular, mostrou-se que estas fibras exibem propriedades interessantes na interação com os íons de metais pesados. Por exemplo, as suas capacidades de adsorção são elevadas para íons dispersos de Hg (II), Cd (II), Pb (II), Cr (VI), e Cu (II), figura 11a, tornando-os materiais promissores para reparação de água, por fornecer uma maneira simples de remoção desses metais de sistemas aquosos. Foi realizada uma investigação completa das mudanças ópticas e elétricas induzida pela adsorção de metais nas fibras como consequência da sua interação com os íons metálicos. Um aspecto visual na mudança das fibras, mais evidente no caso da remoção do Cr (VI), quando as matrizes das fibras variam a sua cor de verde para roxo, figura 11b. Estas alterações estão relacionadas com a variação de estado de oxidação das cadeias de PANI. Como os íons de metais são progressivamente adsorvidos na fibra, eles promovem a conversão em diferentes graus de oxidação das nanopartículas da forma sal esmeraldina da PANI para a forma pernigranilina. E as fibras se tornam mais resistivas. Foi implementado uma investigação de impedância elétrica da carga características de transporte dessas fibras, e os resultados indicam que elas são sensíveis ao tipo de íon de metal adsorvido e que a quantidade de íons adsorvidos em cada caso, está principalmente relacionado com o potencial padrão do eletrodo do metal considerado⁶⁹.

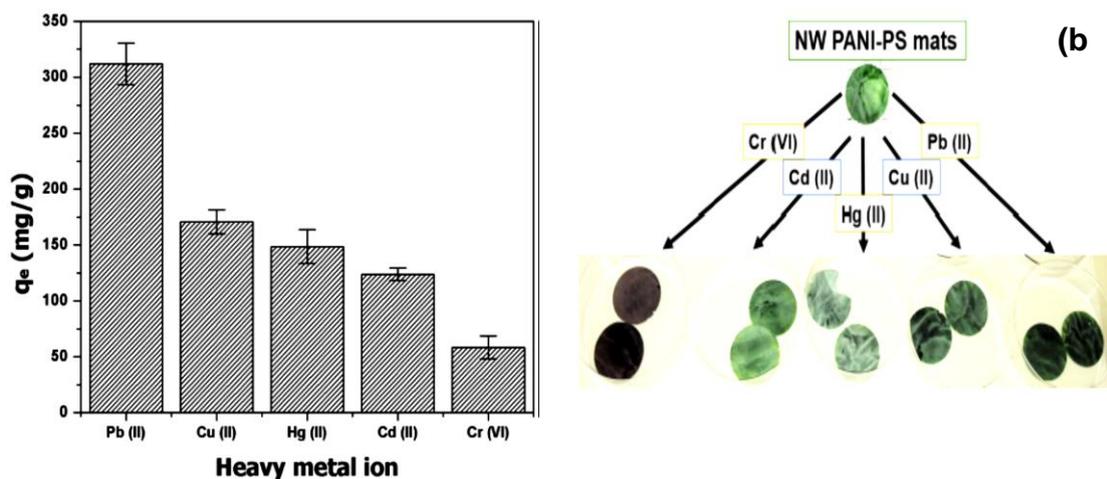


FIGURA 11- (A) CAPACIDADE DE ADSORÇÃO PARA OS DIFERENTES ÍONS DE METAIS PESADOS EMPREGADOS; (B) FOTOGRAFIAS DAS AMOSTRAS DO COMPOSTO DE PANI-PS ANTES E DEPOIS DA INTERAÇÃO COM OS ÍONS DE METAIS PESADOS

Trabalhos mais recentes utilizaram a polianilina em sistemas multifuncionais, visando suas propriedades intrínsecas.

Yang Wang e colaboradores, construíram um sensor eletroquímico condutor, UiO-66-NH₂@PANI, pela polimerização da polianilina (PANI) em torno da estrutura metalorgânica (MOF) UiO-66-NH₂. O sensor foi utilizado para a detecção e remoção confiável por pulso diferencial de voltametria de traços de íons cádmio das águas, devido ao mecanismo de quelação entre cátions metálicos e grupos amina presentes na PANI. Em condições otimizadas, uma detecção linear da faixa de concentração de Cd²⁺ de 0,5-600 µg.L⁻¹ foi repetida e obteve-se um limite de detecção de nível mais baixo de 0.3 µg.L⁻¹ com um alcance linear mais amplo e uma melhor estabilidade e reprodutibilidade quando comparado a outros sensores de Cd²⁺ já relatados⁷⁰.

Outro sistema multifuncional já relatado envolveu óxido de grafeno, ouro e PANI (GO-Au@PANI). Haolin Chen e colaboradores relataram que a PANI foi “decorada” sobre nanopartículas de ouro por polimerização oxidativa de um potenciômetro, então o Au@PANI foi anexado à folha de óxido de grafeno (GO) por empilhamento π - π e interação eletrostática. Esse material foi sintetizado para obter imagens simultâneas de espalhamento Raman (SERS) e atuar na terapia quimio-fototérmica. O GO-Au@PANI revelou eficiência de carregamento do fármaco doxorrubicina (DOX) de 189,2% e a taxa de liberação de DOX melhorou significativamente com o auxílio de irradiação com laser NIR. Cerca de 90% do DOX é liberado em 48h após irradiação com laser NIR ($\lambda=808\text{nm}$, 2,5 W.cm⁻², 10 min). Durante a irradiação NIR, observa-se um aumento de temperatura ($\Delta T \approx 55$ oC) nos locais do tumor que foram injetadas as nanoestruturas,

confirmando o promissor potencial fototérmico de GO-Au@ PANI³⁵.

Zihnil e colaboradores também descreveram um sistema multifuncional através de nanopartículas de sílica combinada com ácido hialurônico conjugado com dopamina fluorescente (Si/HA-DA) ligados eletrostaticamente à polianilina (PANI) para formar nanopartículas fluorescentes e fototérmicas [FNPs(Si/HA)@PANI] (Figura 12). A absorção em células tumorais de FNPs@PANI foi cerca de 12,6%, valor inferior a absorção de FNPs(Si/HA)@PANI (31,3%) em células tumorais após 48 h de incubação. Isso correlaciona-se com a presença de HA nas nanopartículas FNPs(Si/HA)@PANI. As porções de HA foram eficientes na entrega seletiva das nanopartículas [FNPs(Si/HA)@PANI] em células tumorais através do receptor CD44 dessas células, distinguindo de células normais. A irradiação NIR, mostrou um aumento acentuado do calor, gerando temperaturas de 22-52°C a concentrações de 0.001-1mg mL⁻¹, quando expostas a 5 minutos de luz NIR⁷¹.

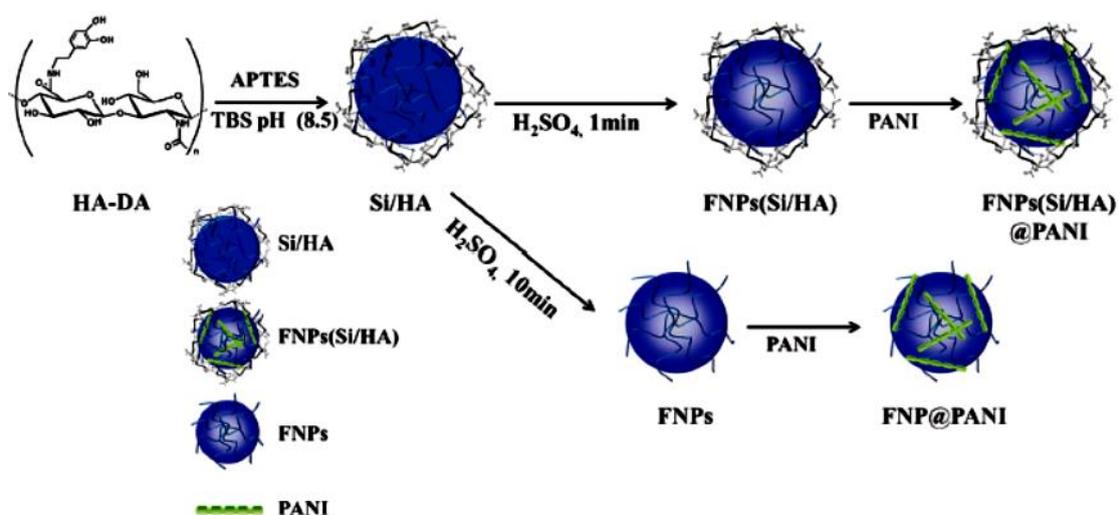


FIGURA 12- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DE SÍNTESE DAS FNPS(SI/HA)@PANI E FNPS@PANI.

Observou-se, portanto, a partir dos trabalhos descritos acima, que a empregabilidade da polianilina em sistemas multifuncionais, merece atenção especial na pesquisa científica, visando as mais variadas aplicações possíveis, destacando sua propriedade de conversão fototérmica.

1.4 MOF ZIF-8 (ZN-2-METIL IMIDAZOL)

Em um sistema quimio-fototérmico, um nanomaterial carreador para a entrega de medicamentos, deve apresentar grande área superficial, alto volume de poros, biocompatibilidade e que não só possa transportar moléculas de fármacos para a quimioterapia, mas também seja capaz de encapsular ou acoplar os agentes fototérmicos. Um tipo de material que possui esse perfil, e é amplamente utilizado como carreador de fármacos é a classe Metal Organic Frameworks (MOFs).

MOFs também conhecidas como Redes de coordenação metalorgânicas, são materiais que possuem espaços vazios formados entre um metal e um ligante orgânico unidos por ligações coordenadas, geralmente, em duas ou três dimensões^{40,41,42}.

Os ligantes agem como uma ponte, unidos geralmente a dois centros metálicos a partir de seus sítios de coordenação. As propriedades das MOFs podem mudar segundo os ligantes e/ou o metal empregados na sua construção⁴³. Figura 13.

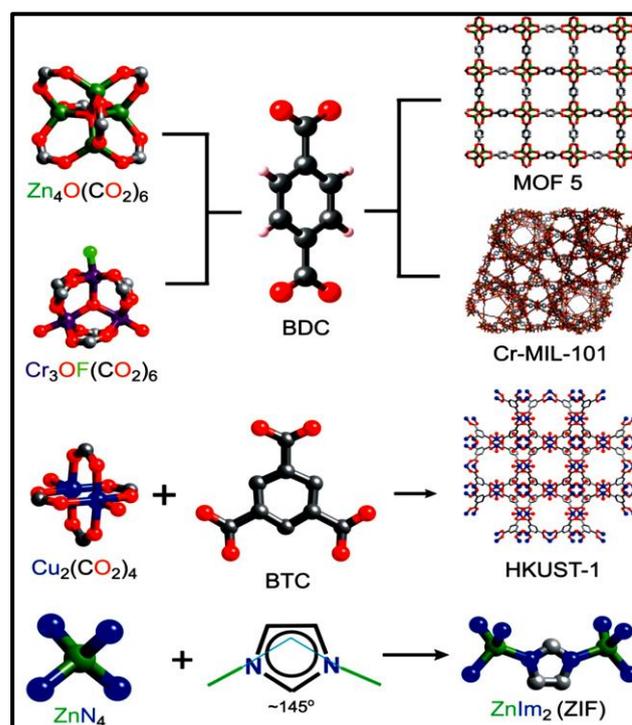


FIGURA 13- CLUSTERS METÁLICOS, LIGANTES ORGÂNICOS E AS ESTRUTURA DAS MOF'S OBTIDAS⁷⁶

Esses materiais possuem estruturas com área superficial e volume de poro bastante elevado. Mesmo as MOFs que possuem o menor percentual de volume livre em sua estrutura, como as MOFs isoreticulares (IRMOF-5) com 55,8% de volume livre, ainda são maiores do que uma das zeólitas de maior interstício, a faujasita, com 45 a 50% de volume livre do cristal⁷⁷.

Podemos citar como aplicação^{78,79} de MOF's, o armazenamento de metano e hidrogênio gasoso, a seletividade da adsorção de um gás, a separação de gases, a catálise, as propriedades magnéticas, a área de luminescência e sensorial, adsorção de resíduos de fármacos e corantes em águas residuais e ainda o emprego como carreadores de fármacos.

Na medicina explora-se aplicar as MOFs em escala nanométrica (nMOFs), a fim de facilitar a absorção celular. Diversas metodologias, para incorporar agentes de imagem e drogas dentro das nMOFs já foram estudadas e demonstraram aplicações clínicas potenciais em diversas áreas, tais como, imagiologia biomédica e sensoriamento, carreadores de fármaco, e na terapia contra o câncer⁸⁰.

A MOF utilizada, nesse trabalho, faz parte do grupo Zeolitic Imidazolate Frameworks (ZIF)^{81,82}. Especificamente, esse grupo apresenta centros tetraédricos metálicos, habitualmente Zn^{2+} ou Co^{2+} que são coordenados apenas por átomos de nitrogênio nas posições 1 e 3 do ligante imidazol ($Im=C_3N_2H_3^-$), empregado como ponte, M-Im-M, formando ângulos de 145° entre si. Podem ainda dar origem a uma multiplicidade de cadeias em três dimensões abertas com topologias semelhantes às encontradas nos aluminossilicatos das zeólitas. As ZIFs combinam as características de estabilidade química e térmica das zeólitas com a imensa diversidade topológica e a harmonia no tamanho dos poros das MOFs^{83,84}. A ZIF-8 possui o metal Zn coordenado pelo ligante 2-metil imidazol⁸², figura 14.

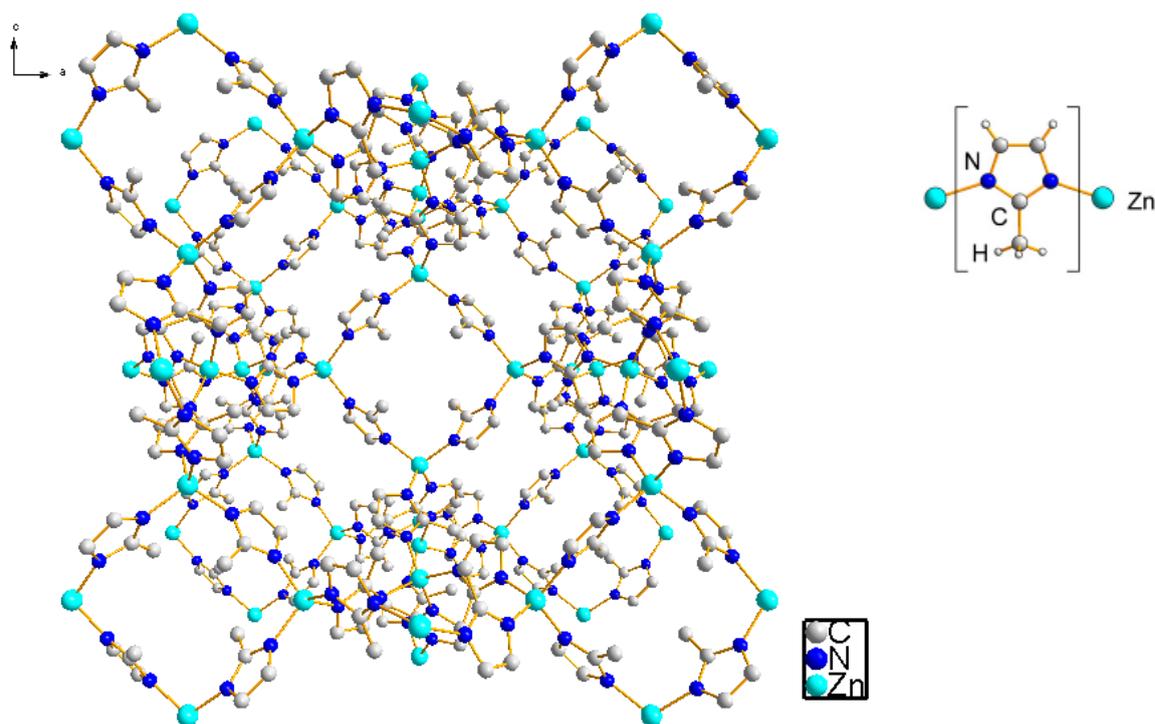


FIGURA 14- ESTRUTURA DA MOF ZIF-8 E O SEU LIGANTE ISOLADO 2-METILIMIDAZOL À DIREITA.

Notavelmente as estruturas das ZIFs com o imidazol substituído apresentam topologias de rede, que correspondem exatamente às redes zeólitas-Sodalita. Além disso, a ZIF-8 possui alta simetria cristalina cúbica, densidade relativamente baixa, dispondo de uma alta porosidade, grande área superficial e apresenta uma excelente estabilidade em água⁸²⁻⁸⁶. Sabendo de todas essas atribuições alguns pesquisadores recentemente usaram a ZIF-8 como carreadores de fármacos anti-tumoral a fim de contribuir na medicina⁸⁷.

Chandan Adhikari⁸⁸ e colaboradores, em 2015, realizaram de maneira fácil e bem-sucedida o encapsulamento de doxorrubicina, uma droga anticâncer dentro de duas MOFs do tipo ZIF, as ZIF-7 e ZIF-8, e estudou-se a liberação controlada do fármaco a partir dessas duas redes metalorgânicas sob estímulos externos, tais como a alteração no pH em sistemas biomiméticos. Os resultados experimentais demonstram que ZIF-7 permanece intacta quando as mudanças de pH de condição fisiológica a condição de acidez, enquanto ZIF-8 lança com sucesso droga sob condição ácida. No caso de ZIF-8, a entrega da droga pode ser controlada durante 3 h, enquanto que o seu análogo ZIF-7 fornece o fármaco durante um tempo período de 10 h, devido a maior rigidez da sua estrutura.

Jia Zhuang⁸⁹ e colaboradores avaliaram a versatilidade da incorporação de pequenas moléculas em nano ZIF-8 (nZIF-8), durante sua síntese. Nanoesferas de

fluoresceína foram encapsuladas e são comumente usadas como um marcador fluorescente "imitador de drogas". Nesse trabalho o único mecanismo de incorporação está em aprisionamento *in situ*, como mostraram o esquema na figura 16, e foi assim de maneira geral para pequenas moléculas de diferentes propriedades físico-químicas. Encapsularam o agente anticâncer, camptotecina, e comprovaram o sucesso do encapsulamento bem-sucedido na nZIF-8 através da fluorescência azul resultante. Também encapsularam o Fe_3O_4 como nanopartículas magnéticas para, posteriormente, aplicar um campo magnético externo direcionando a migração de nanoesferas fluorescentes, para tecidos doentes e alcançar a entrega de drogas específicas.

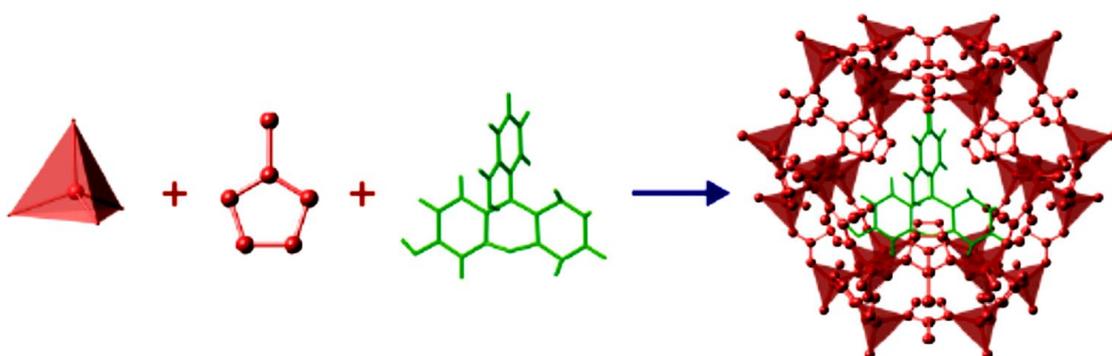


FIGURA 16- MECANISMO DE INCORPORAÇÃO⁸⁹ *IN SITU* DE PEQUENAS MOLÉCULAS NA SÍNTESE DE MOFS

Min Zheng⁹⁰ Também desenvolveu um método simples e direto de nanoprecipitação para carrear nanopartículas de curcumina (quimioterápico natural), dispersas em água, em nanopartículas da rede metalorgânica ZIF-8, figura 17. As nZIF-8 demonstraram alta eficiência de encapsulação da droga (88,2%), boa estabilidade química e rápida liberação da curcumina (CCM) no tumor microambiente ácido. Os experimentos *in vivo* anticancerígenos indicaram que o material CCM@nZIF-8 apresentam muito maior eficácia antitumoral do que a CCM livre.

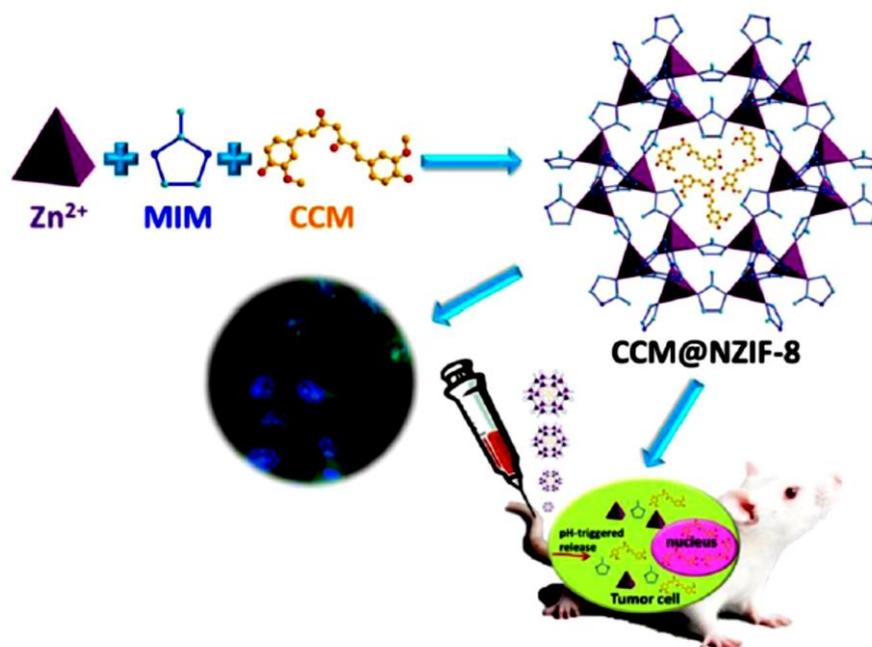


FIGURA 17- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA⁹⁰ DA PREPARAÇÃO DO CCM@NZIF-8 E AS SUAS APLICAÇÕES EM VITRO (BIOIMAGEM) E EM VIVO NA TERAPIA ANTICÂNCER.

Em nosso grupo de pesquisa, Iane e colaboradores⁹¹, em 2012, já vinham observando a alta capacidade de carregamento e liberação controlada de fármacos exibida pelas redes metalorgânicas (MOFs). Os autores realizaram a incorporação da doxorrubicina (droga anticâncer) na rede metalorgânica ZIF-8 (0,049 g de doxorrubicina/g ZIF-8) e observaram que a sua liberação foi altamente controlada e progressiva com 66% do fármaco liberado após 30 dias. Foi mostrado que o material doxorrubicina@ZIF-8 expõe menor citotoxicidade do que a doxorrubicina pura para as células cancerígenas testadas, possivelmente devido à liberação mais lenta do fármaco incorporado. Além disso, as interações hospedeiro-hóspede foram abordadas a partir de uma perspectiva microscópica de simulações de docking molecular. Em conjunto com a caracterização experimental, os cálculos sugeriram que a doxorrubicina liga-se preferencialmente à superfície, em vez de no interior dos poros de ZIF-8, cujo diâmetro de entrada é, pelo menos, metade do tamanho do eixo mais curto da droga.

Nos últimos anos foi evidenciado a síntese de MOFs em escala nanométrica (nMOFs) para serem aplicados na medicina, como nanocarreadores, visando a absorção celular⁹². Alguns trabalhos relataram a incorporação de fotossensibilizadores, agentes de contraste, materiais magnéticos, materiais de luminescência e medicamentos, em nMOFs. Esses materiais demonstraram possíveis aplicações clínicas, como imagens biomédicas, detecção, terapia fotodinâmica e administração de medicamentos na terapia do

câncer^{10,17,19,93}.

Nanopartículas da MOF ZIF-8 (nZIF-8) já foram amplamente empregadas na terapia do câncer como nanocarreadores em sistemas multifuncionais quimio-fototérmicos.

Zhengfang Tian et al. produziu dois sistemas multifuncionais quimio-fototérmicos envolvendo nZIF-8. O primeiro trabalho relatou a síntese da nZIF-8 com nanocristais de óxido de grafeno (GO) com encapsulamento de fluoresceína simultaneamente (Figura 18). Foi obtida uma liberação controlada de fluoresceína por ação de pH (98% a pH = 4,5). Um laser NIR 808nm, 2,5 W / cm², foi utilizado durante 3 min no material nZIF-8 / GO e a temperatura dos nanocristais foi aumentada de 30 ° C para 46,5 ° C. Também houve diminuição significativa na viabilidade celular (40% e 21%) quando as células foram cultivadas com a fluoresceína-nZIF-8/GO, 50 µg/ml e 100µg/ml, respectivamente, durante 8h e depois irradiadas¹⁵.

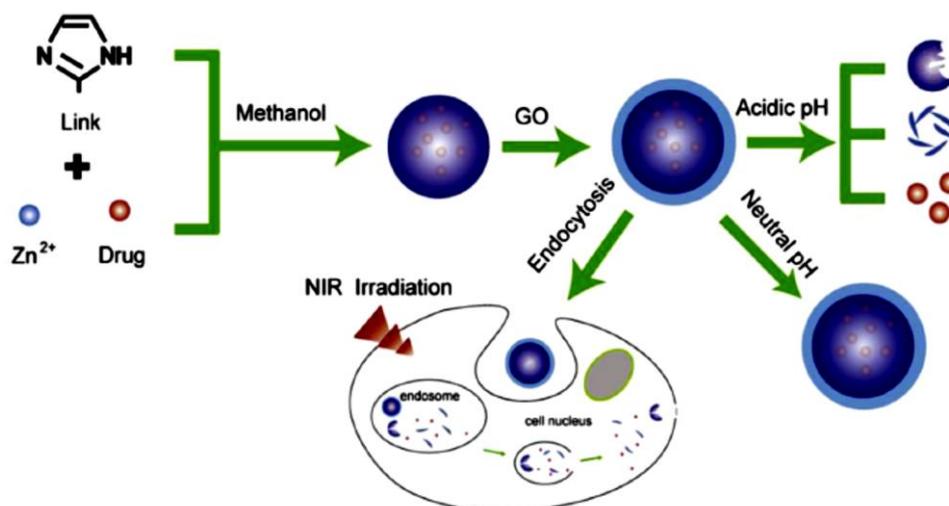


FIGURA 18- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DOS NANOCRISTAIS ZIF-8/GO, CARREGADOS COM DROGA FLUORESCÉINA, SISTEMA COM EFEITO SINÉRGICO DE ENTREGA DO FÁRMACO E TERAPIA FOTOTÉRMICA.

No segundo trabalho, o nZIF-8 foi proposto como um nanocarreador de doxorrubicina (DOX) e os pontos quânticos de grafeno embutidos (GQDs) como sementes fototérmicas locais, como mostrado na figura 19, exibindo um comportamento de liberação de DOX sensível ao pH (80% de liberação no pH 4,5)⁹⁴. A suspensão DOX-ZIF-8 / GQD (5 mg / mL) foi irradiada com laser de 808 nm a uma potência de 2,0 W / cm² durante 10 min e resultou em um aumento de 30 ° C para 49,5 ° C. In vitro, as células foram tratadas durante 8 h com as nanopartículas e foram seguidas por

irradiação NIR a 808 nm durante 3 min a $2,5 \text{ W / cm}^2$, com a viabilidade celular diminuindo em 18%.

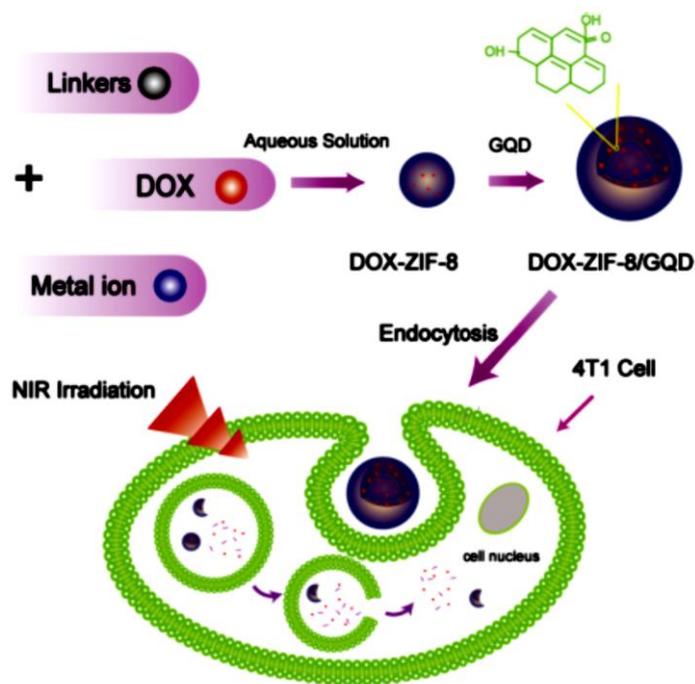


FIGURA 19- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS ZIF-8/GQD COM ENCAPSULAMENTO DE MOLÉCULAS DOX SISTEMA COM EFEITO SINÉRGICO DE ENTREGA DE DOX E TERAPIA FOTOTÉRMICA.

Xue Yang et al. também produziram um sistema multifuncional chemo-fototérmico envolvendo nZIF-8⁹⁵. Eles relataram um novo nanocompósito baseado em ZIF-8, com nanopartículas Pd-Au e a droga doxorrubicina (DOX) encapsulada (Figura 20). Em $\text{pH} = 4$, alcançou 65,2% de liberação da DOX em até 600 min. A amostra DOX / Pd @ Au @ ZIF-8 ($0,0375 \text{ mg mL}^{-1}$) após irradiação com um tratamento com laser NIR de 780nm ($2,1 \text{ W cm}^{-2}$) durante 10 min alcançou um aumento gradual da temperatura ($\sim \Delta 17 \text{ }^\circ \text{C}$). As células pré-tratadas com DOX/Pd@Au@ ZIF-8 ($80 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) durante 24 h e depois irradiadas pelo laser NIR durante 10 min diminuíram a viabilidade das células cancerosas para 11%.

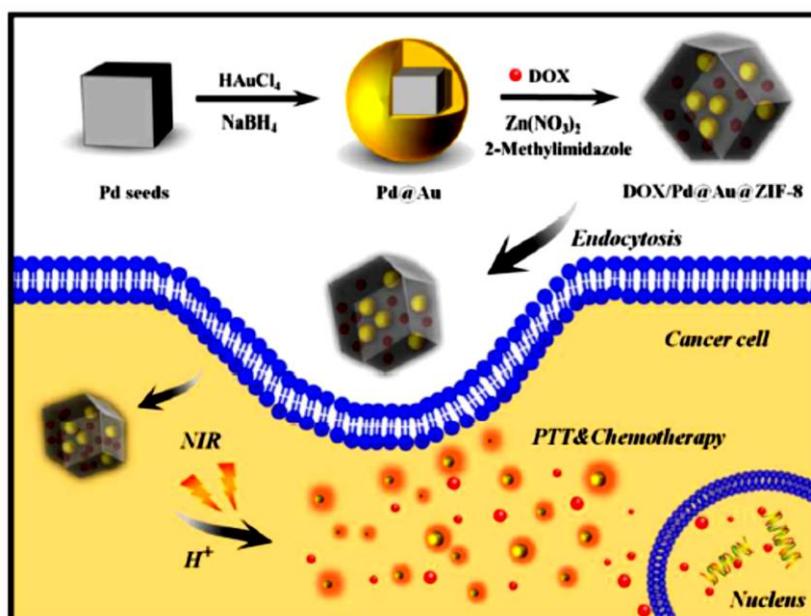


FIGURA 20- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FORMAÇÃO DE DOX/PD@AU@ZIF-8 E SUA APLICAÇÃO QUIMIO-FOTOTÉRMICA, NO TRATAMENTO DE CÉLULAS CANCERÍGENAS, DESENCADEADO POR PH E IRRADIAÇÃO NIR.

Outros tipos de sistemas multifuncionais envolvendo nZIF-8 também já foram relatados.

Em 2015, Dan Yang⁹⁶ e colaboradores sintetizaram um sistema terapêutico sinérgico de nanoestruturas de Fe₃O₄/ZIF-8@Au₂₅ (IZA). Sintetizaram a nZIF-8 estrutura multifuncional com Fe₃O₄ e depois anexaram o novo agente fotossensibilizante Au₂₅(Capt)18 combinando as terapias não-invasiva de terapia fototermal (PTT) e terapia fotodinâmica (PDT) em um único sistema para tratamento de câncer. No processo de PTT, a nanoestrutura absorveu energia de fótons e dissipou a energia absorvida pelo decaimento radiativo como não-aquecimento, o que pôde causar irreversível danos celulares e a regressão do tumor subsequente, aumentando a temperatura suficientemente nos locais tumorais.

A temperatura das células HeLa incubadas com Fe₃O₄/ZIF-8-5mLAu₂₅ aumentou para cerca de 60 °C após 10 min de irradiação. A terapia fotodinâmica age numa reação química ativada pela luz usada para destruição seletiva de um tecido e eles utilizaram o Au₂₅(Captopril)18 como um agente fotossensibilizante no tecido-alvo, uma fonte de luz e oxigênio. Os clusters de Au₂₅(Capt)18 - puderam ser diretamente sensibilizados sob irradiação NIR 808 nm para produzir eficientes espécies altamente reativas de oxigênio tais como radicais livres ou oxigênio singlete (¹O₂), levando toxicidade para as células-alvo. A maioria das células incubadas com Fe₃O₄/ZIF-8-Au₂₅ após dois tipos de

estímulos (luz NIR e controle remoto magnético) foram mortos, apresentando menos de 15% de viabilidade celular.

Mengni He et al. construíram com sucesso nanopartículas híbridas (NPs) multifuncionais de Fe_3O_4 @carbon@ZIF-8 (FCZ)¹⁴. Os carbon Dots (CDs) embutidos no carbono poroso e nanocristais de óxido de ferro superparamagnéticos funcionam simultaneamente como imagem de fluorescência intracelular e agentes de contraste de ressonância magnética ponderada T2* (MRI), respectivamente (Figura 21). O conteúdo de carregamento DOX atingiu aproximadamente 73 mg de DOX/100 mg FCZ NPs. Os perfis de liberação mostraram que a liberação de DOX foi consideravelmente maior em pH ácido, com 94,7% de conteúdo de liberação de DOX a pH 5,5. Em contraste, apenas 37,7% de DOX em condições neutras. Também foi demonstrado que as nanopartículas híbridas FCZ/DOX poderiam inibir o crescimento tumoral efetivamente (64,5%) em comparação com o DOX livre (16,1%) no câncer de pulmão.

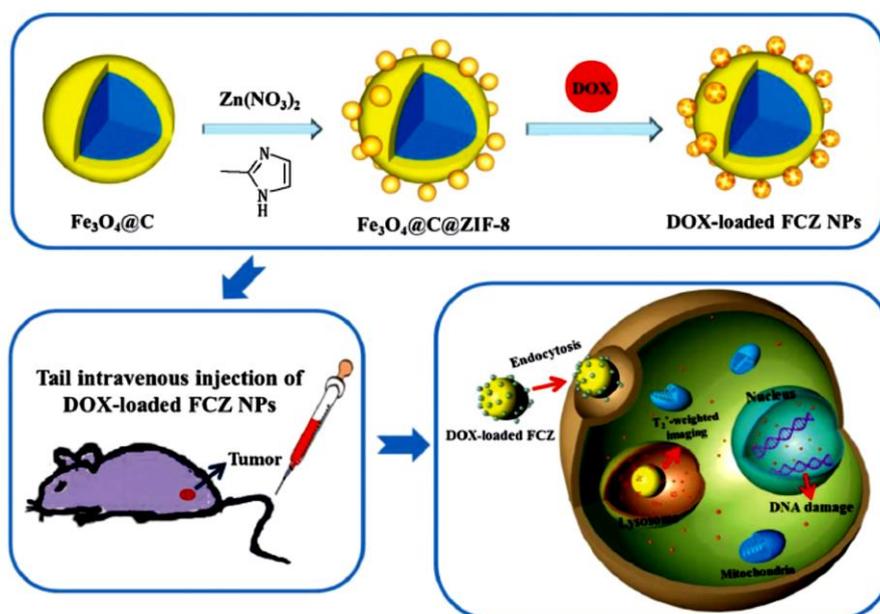


FIGURA 21- ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS NANOPARTÍCULAS Fe_3O_4 @CARBON@ZIF-8 COMO VEÍCULOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS COM PH-RESPOSTA: O PROCEDIMENTO SINTÉTICO DAS NANOPARTÍCULAS, O CARREGAMENTO DE DOX, A ENTREGA DO FÁRMACO PARA OS LOCAIS DO TUMOR ATRAVÉS DO EFEITO EPR E LIBERAÇÃO DE FÁRMACO CONTROLADA PELO PH.

Angshuman Ray Chowdhuri et al. desenvolveu um nanomaterial multifuncional com nanopartículas de conversão ascendente (UCNPs), $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}$ e Er^{3+} , encapsuladas por nZIF-8, ácido fólico funcionalizado (UCNPs@ZIF-8/FA) e carregadas com a droga 5-FU (Figura 22). O nanomaterial UCNPs@ZIF-8/FA foi utilizado simultaneamente

como transportador e em imagens de células devido às suas propriedades luminescentes. O medicamento 5-fluorouracilo (5-FU) foi absorvido nos UCNP@ZIF-8/FA (685 mg.g⁻¹) e a liberação de fármaco com resposta pH (82% a pH 5,5)⁹⁷.

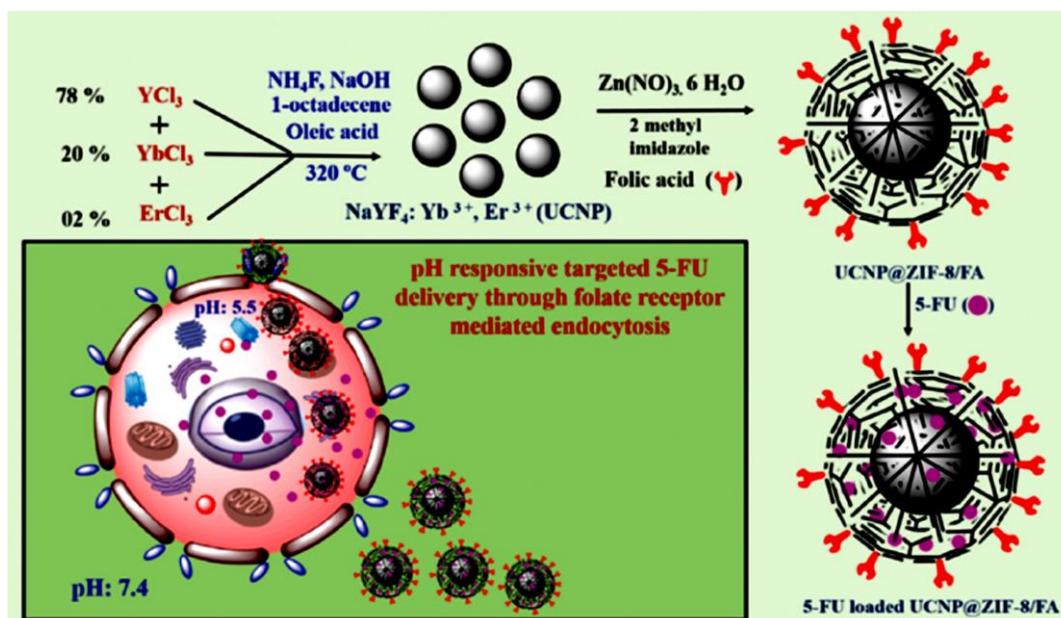


FIGURA 22- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SÍNTESE DE UCNPS@ZIF-8/FA, TRANSPORTADOR DE FÁRMACO ANTICANCERÍGENO DIRECIONADO E CARREGADO COM A DROGA 5-FU PARA ENTREGA DO FÁRMACO COM RESPOSTA AO PH.

No entanto, diante do que foi buscado na literatura, não há nenhum trabalho que aborde a rede ZIF-8 ou nZIF-8 funcionalizada com a polianilina. Dessa forma, dentro dos aspectos dos trabalhos citados, esta tese busca contribuir de forma satisfatória com uma nova plataforma quimiofototérmica, unindo a terapia fototermal e o carreamento do fármaco 5-Fluoracil, para o tratamento do câncer de mama.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sistema multifuncional utilizando nanopartículas de Zn-2-metilimidazol (nZIF-8) decoradas com polianilina nanoestruturada, carregadas com o fármaco antitumoral 5-Fluoracil (5-FU), nPANI@nZIF-8/5-FU, e avaliar o seu efeito quimio-fototérmico para a ablação de células de câncer de mama.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas de polianilina (PANI) em solução ácida;
- Preparar fibras de polianilina por eletrospinning;
- Sintetizar nZIF-8 in situ na matriz de nanopartículas de polianilina (50nm), gerando o sistema nPANI@nZIF-8;
- Estudar a porosimetria e área superficial dos materiais ZIF-8 e nZIF-8 antes e depois de substâncias adsorvidas.
- Otimizar o processo de síntese do sistema nPANI@nZIF-8;
- Caracterizar o material inorgânico por DRX, MET, MEV, TGA, UV-VIS e IV;
- Estimar o efeito fototermal do sistema nPANI@nZIF-8 em sólido e aquoso. Sob irradiação de um laser NIR;
- Avaliar o sistema nPANI@nZIF-8 sintetizado, como carreador do fármaco 5-fluoracil e estudar a liberação desse fármaco sob ação do laser NIR e em pH ácido;
- Avaliar o efeito sinérgico quimio-fototérmico de nPANI@nZIF-8/5-FU in vitro.

3 SÍNTESE DE MATERIAIS CONTENDO POLIANILINA

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os reagentes utilizados possuíam pureza analítica. As soluções foram preparadas com água destilada. Para a síntese da MOF nZIF-8, $C_8H_{12}N_4Zn$, foi utilizado $Zn(NO_3)_2$ (Aldrich), 2-metilimidazol (Aldrich) e o solvente CH_3OH (Dinâmica). A anilina ($C_6H_5NH_2$), monômero precursor da polianilina, foi obtida da Vetec. Antes de ser utilizada, experimentalmente, foi realizada a sua destilação a vácuo a temperatura de $60^\circ C$. Foram empregados ainda os seguintes reagentes químicos : HCl (Vetec) para ajuste de pH, Dodecil sulfato de sódio, $C_{12}H_{25}NaSO_4$ (Merck), surfactante para gerar micelas, Persulfato de amônio, $(NH_4)_2S_2O_8$ (Vetec), como oxidante e o fármaco 5-fluoracil, 5-Fu (Aldrich), antitumoral. As medidas de pH foram feitas utilizando um pHmetro Quimis® modelo Q400MT.

3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A seguir, será apresentado o procedimento para as sínteses de nanopartículas de polianilina, fibras contendo polianilina e a otimização da síntese para a obtenção do Sistema nPANI@nZIF-8.

3.2.1 SÍNTESE DA SOLUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA (NPANI)

O procedimento de síntese empregado, foi obtido da literatura^{98,99}. Foram utilizados 83 mL de anilina destilada, 0,042 g de persulfato de amônio e 1,329g de dodecil sulfato de sódio. Esses reagentes foram dissolvidos em 50mL de solução aquosa 0,1M de HCl, para obtenção de nanopartículas de polianilina menores que 50nm. Colocou-se os reagentes supracitados em um béquer e deixou-se agitando por 24h, sobre um agitador magnético (Figura 23).

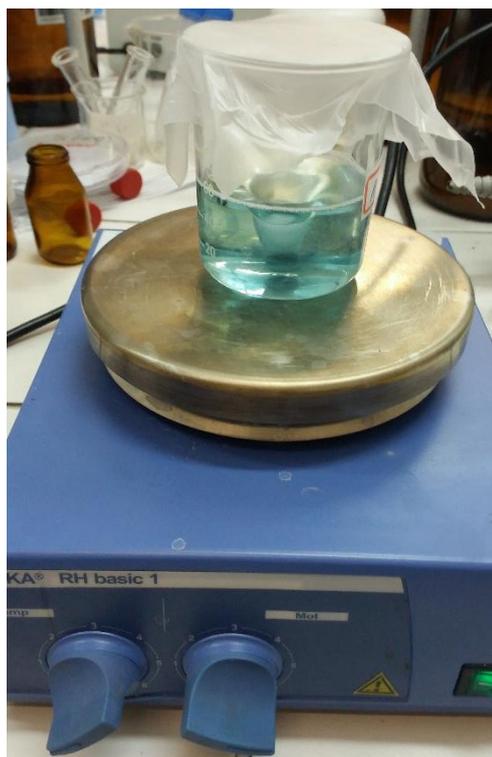


FIGURA 23- PROCEDIMENTO DE SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA

3.2.2 SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI

Foi utilizada a técnica de eletrospinning¹⁰⁰ para a fabricação de fibras com as soluções de nPANI. Para alcançar a viscosidade necessária foi indispensável adicionar 5% de PVA, à 5mL de solução de nPANI.

O aparato utilizado era composto de uma seringa com o diâmetro de 4,4cm que é acoplada a uma bomba de infusão de seringa que controla a taxa de vazão, uma placa coletora e uma fonte de alta tensão de 15 KV, como mostrado na figura 24. Na placa coletora foi anexada películas de vidro e a fibra se depositou sobre elas, para possíveis caracterizações.

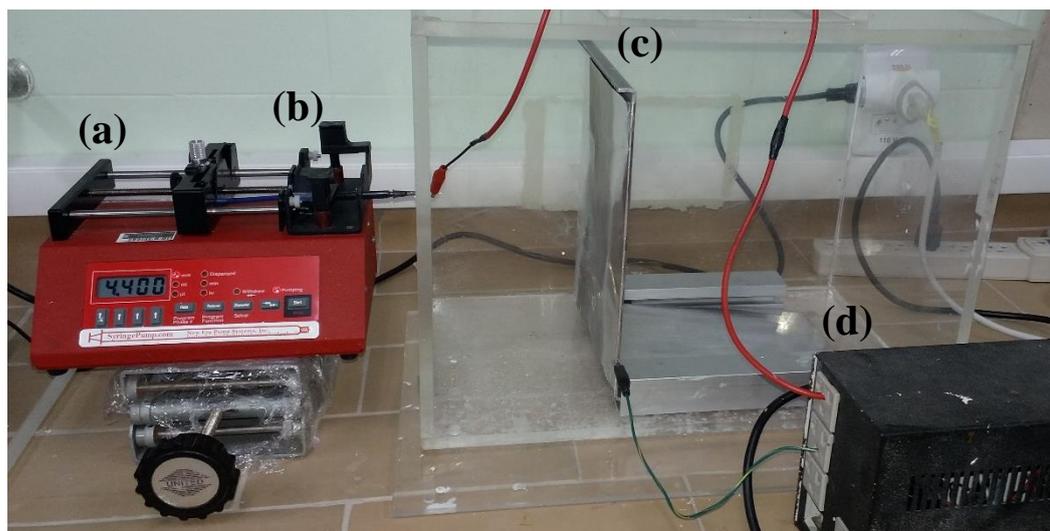


FIGURA 24- APARATO ELETROSPINNING. (A) BOMBA DE INFUSÃO (B) SERINGA ACOPLADA (C) PLACA COLETORA (D) FONTE DE ALTA TENSÃO

3.2.3 SÍNTESE DA NZIF-8 PURA E IN SITU NA SOLUÇÃO DE NPANI (NPANI@NZIF-8)

A síntese da nano ZIF-8 pura, foi conduzida como descrito na literatura¹⁰¹. Em dois béqueres foram dissolvidos os reagentes 2-metil Imidazol (810mg) e Nitrato de zinco (742mg) em 50mL de metanol cada um. Em seguida a solução contendo o ligante, 2-metil Imidazol, é adicionada ao béquer que contém a solução do íon metálico zinco e deixa-se sob agitação por 15 minutos. Após esse tempo retira-se da agitação e deixa-se 24 horas em repouso. Após a síntese houve a centrifugação e o produto final foi lavado com metanol e água de 1:1 e suspenso três vezes com o auxílio de um agitador Vortex. O sólido final foi seco em um dessecador acoplado a uma bomba de vácuo a fim de ser caracterizado.

A síntese da nZIF-8 in situ, na matriz polimérica da nPANI, baseou-se na metodologia de Guang Lu e colaboradores descrita na literatura¹⁰². Usou-se 50mL de solução de nano polianilina (50nm) previamente preparada e adicionou-se quantidade de metanol suficiente para completar 100mL. Em seguida esse volume foi dividido, em dois béqueres para dissolver os reagentes 2-metil Imidazol (810mg) e Nitrato de zinco (742mg), respectivamente. Em seguida a solução contendo o ligante, 2-metil Imidazol, é adicionada ao béquer que contém o íon metálico zinco e deixou-se sob agitação por 15 minutos. O restante do procedimento da síntese da nZIF-8, in situ, se deu de forma igualitária a síntese da nZIF-8 pura.

3.2.4 OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE DE NPANI@NZIF-8

Posteriormente, necessitou-se sintetizar a nZIF-8 in situ em outras proporções da solução nPANI e metanol. Usou-se 10mL, 5mL e 1mL de solução de nano polianilina (50nm) previamente preparada e adicionou-se quantidade de metanol suficiente para completar 100mL de “solvente”. O procedimento seguiu os passos da síntese de nPANI@nZIF-8, descrito na sessão 2.1.5.

3.2.5 ESTUDO DE SORÇÃO: ANÁLISE DE POROSIMETRIA E ÁREA DE SUPERFÍCIE DE NZIF-8 E NPANI@NZIF-8.

As medidas de volume de poro e área superficial foram obtidas em um equipamento Micromeritics ASAP 2020M. Antes de cada análise, uma quantidade de, aproximadamente, 100 mg de cada amostra foi aquecida à 150 °C sob vácuo durante 48 h para a remoção de impurezas na superfície das amostras, antes de serem introduzidas em uma célula de quartzo e anexadas ao aparelho de fisiossorção. A área de superfície BET e o volume dos poros foram obtidos por fisiossorção de N₂ a 77,4 K.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

3.3.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As amostras foram preparadas sobre fitas de carbono em suporte de alumínio para serem metalizadas por um filme de ouro com 10-20 nm de espessura no Sputter coater SCD 050 Baltec. As imagens foram obtidas em um microscópio Scanning Eletron Microscopy JSM-5900 Jeol, do laboratório de Microscopia do Departamento de Física da UFPE com voltagem de 15 KV, sonda 4.0 e distância de trabalho variando entre 18 e 24 nm.

3.3.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X DE PÓ (DRX)

As fases cristalográficas presentes nas amostras supracitadas foram analisadas por difração de raios x de pó. O difratômetro de raios X utilizado foi o Rigaku modelo 2400 DMAX, usando uma raia K α de radiação de cobre (0,15nm), operando com tubo alvo de

cobre a 40 kv com 40 mA, do laboratório de difratometria do Departamento de Física da UFPE. Os difratogramas foram obtidos na faixa de 5 a 60° e passo 0,02°/s à temperatura de 25°C.

3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO (IV)

As frequências dos modos vibracionais das amostras foram obtidas nos espectros na região do infravermelho variando entre 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , obtidos a temperatura ambiente em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier Modelo VERTEX 70/70v da Bruker, utilizando pastilha de KBr.

3.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

Técnica que possibilita a aquisição de imagens com resolução elevada para compostos nanométricos. Foi utilizado o microscópio eletrônico de transmissão modelo Tecnai Spirit G1 Bio Twin da Fei Company e o microscópio Jeol, JEM-2100, Thermo scientific. As imagens foram obtidas por meio dos programas: Microscope User Interface (Fey Company) e TEM Imagine and Analysis, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Fiocruz Recife e do Laboratório LabMic- UFG (Goiás).

3.3.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO (UV-VIS)

O equipamento utilizado para a obtenção dos espectros de absorção na região do ultravioleta- visível (UV-VIS) e infravermelho próximo (NIR), foi o espectrofotômetro UV-2600 da empresa Shimadzu, operando na faixa de 1400 a 185 nm, com lâmpadas de deutério (D_2) e halogênio tungstênio (WI). O software UVProbe 2.5 foi utilizado para projeção dos resultados.

3.3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

O equipamento utilizado foi o Shimadzu, modelo DTG-60H –Simultaneous DTA-TG Apparatus, do laboratório de Terras Raras do Departamento de Química Fundamental da UFPE. Foi utilizado um fluxo de 50 mL min^{-1} de N_2 com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 800 $^{\circ}\text{C}$.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados os resultados da síntese das nanopartículas de polianilina, das fibras contendo polianilina e do sistema nPANI@nZIF-8.

Essa avaliação será descrita através do estudo de caracterização das amostras obtidas, através das análises de IV, microscopia (Eletrônica de varredura e de Transmissão), difração de raios-X de pó (DRX), análise termogravimétrica (TGA) e análise espectroscópica UV-VIS.

Será apresentado também um estudo da porosimetria e área superficial da rede de coordenação ZIF-8 e nZIF-8 antes e após processos hospedeiro-convidado (do inglês “host-guest”).

3.4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA POLIANILINA PURA

As nanopartículas de polianilina foram obtidas e apresentou a coloração verde escuro no final do processo, como mostrado na figura 25, indicando o estado de oxidação nPANI sal esmeraldina¹⁰³. O início da mudança de coloração, se deu após 1 hora de agitação e seguiu gradualmente por 20 minutos até um verde escuro e indica o início da polimerização. Quanto maior a massa do surfactante SDS adicionado à síntese, mais lento é o início da polimerização, devido a formação das micelas que são os “moldes” químicos para a obtenção das nanopartículas de polianilina¹. A agitação foi deixada por 24 horas para a certeza da completa polimerização. Após as 24h o material foi lavado três vezes com metanol e três vezes com água e depois centrifugada a 15000 rpm. Obteve-se aproximadamente ~25mg de nPANI. Portanto, na solução inicialmente obtida havia uma concentração de 0,5 mg. mL⁻¹ de nanopartículas de polianilina.



FIGURA 25- SÍNTESE COMPLETA DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA

Na Figura 26, é apresentado o espectro de UV-VIS-NIR da solução nPANI (50nm) obtida. O espectro de absorção apresentado concorda com os reportados na literatura para a polianilina sob a forma de sal esmeraldina. É observado uma banda de absorção em 380 nm atribuída à transição $\pi-\pi^*$ e a banda em 420 nm devido aos segmentos polarônicos (polímero dopado) juntamente com uma “calda” de banda que tem seu máximo na região NIR e é característico dos portadores de carga livre^{103,104}.

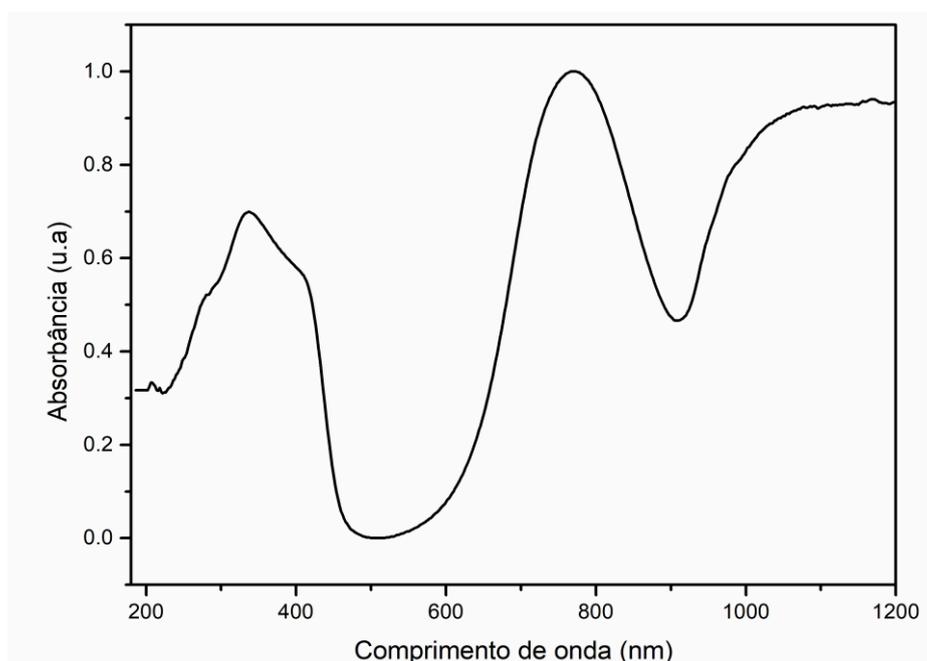


FIGURA 26- ESPECTRO UV-VIS-NIR DE NPANI SAL ESMERALDINA

A técnica espectroscópica UV-VIS é bastante utilizada para caracterização da polianilina. Isso deve-se ao fato de a polianilina apresentar um espectro de absorção característico para cada estado de oxidação¹⁰⁴.

A análise de infravermelho para as nanopartículas de polianilina (50nm) também foi avaliada e está apresentada na figura 27.

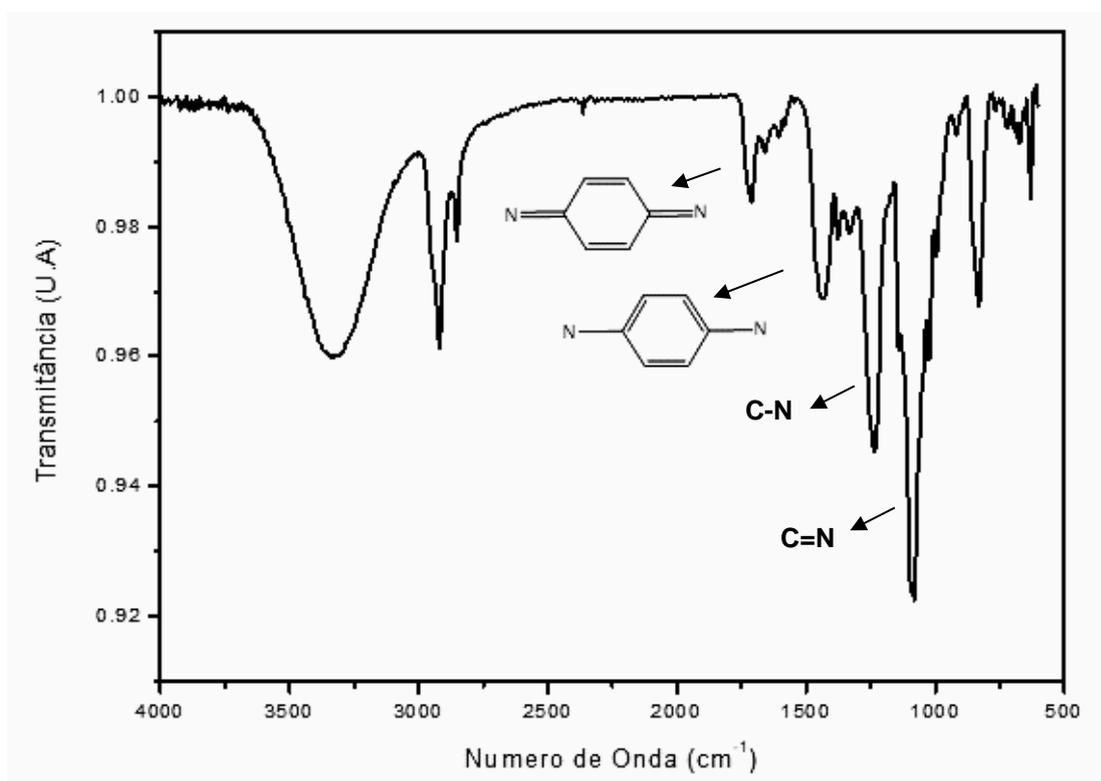


FIGURA 27- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA

O espectro de infravermelho está de acordo com o esperado, quando em comparação com resultados já reportados na literatura¹⁰⁵, apresentando picos característicos da polianilina. Os estiramentos a cerca de 1594 e 1504 cm^{-1} , representam os anéis quinóide e benzenóide presentes na nPANI.

Os picos a 1300 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} estão relacionados com os modos de estiramento C-N e C=N, respectivamente. A banda larga em 3500 cm^{-1} evidencia presença de água no material sintetizado.

3.4.2 SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI

A síntese das fibras com as nanopartículas de polianilina foi realizada como descrito no procedimento experimental. A 5mL de polianilina foi adicionada 263mg de PVA (5% de PVA). A adição de PVA à solução de polianilina tem o intuito de alcançar a viscosidade necessária para o uso da técnica de eletrospinning, e por conseguinte formação das fibras, como visto na figura 28. Os elétrons dos orbitais σ são responsáveis pela rigidez das ligações covalentes e estão localizados entre dois “vizinhos”, tornando o polímero mais viscoso. Os elétrons π , também envolvidos na ligação covalente, presentes em polímeros condutores como a polianilina, tendem a formar ligações fracas e não localizadas, diminuindo a viscosidade do polímero¹⁰⁶.

(a)



(b)



FIGURA 28- SÍNTESE DAS FIBRAS DE NPANI (A) IMAGEM DAS FIBRAS DE NPANI (B).

As nanopartículas de polianilina foram encapsuladas em fibras compostas por PVA para formar um novo “sistema fototérmico”, figura 29a. A superfície das fibras apresenta grânulos e é irregular em comparação com a superfície lisa das fibras do PVA sem nanopartículas de polianilina (Fig. 29b). Isto sugere que as nanopartículas de polianilina são esféricas⁹⁹ e estão distribuídas dentro das fibras de PVC. As imagens de MEV, mostram que os materiais são fiáveis e têm uma superfície e espessura uniforme.

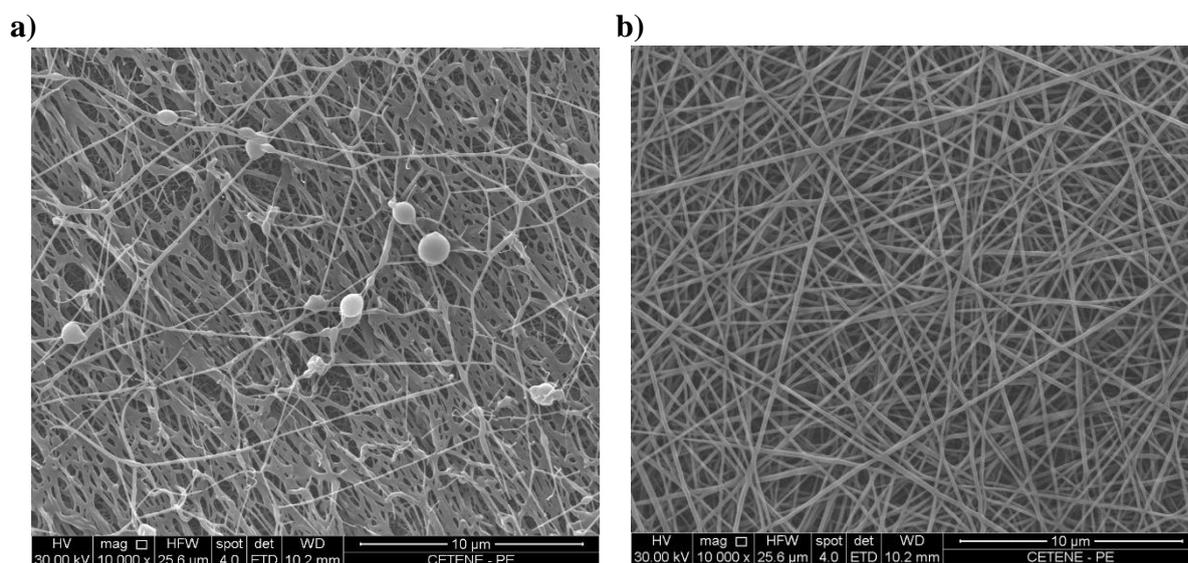


FIGURA 29- IMAGENS DE MEV DAS FIBRAS DE PANI + PVA (A) E DE FIBRAS DE PVA(B)

Esse material fototérmico foi publicado por Yinyin Chen e colaboradores que estavam realizando a pesquisa contemporaneamente em 2015. O artigo intitulado: “Polyaniline electrospinning composite fibers for orthotopic photothermal treatment of tumors in vivo” relata a síntese de nanofibras constituída de polianilina com poli (ϵ -caprolactona) e gelatina por eletrospinning para tratamento ortotópico fototermal de tumores em vivo¹⁰⁵.

Devido, a necessidade de um sistema inovador para compor o trabalho de tese tornou-se inviável a continuação do trabalho relacionado as fibras de polianilina.

Portanto, pensou-se na construção de um sistema nanométrico entre a polianilina e a rede de coordenação MOF-ZIF-8.

3.4.3 SÍNTESE NZIF-8 E DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8

A nanoZIF-8 pura foi obtida através da síntese descrita no procedimento experimental. Após o contato entre os reagentes 2-metilimidazol e o Zn^{2+} , a solução sob agitação, mostrou uma turbidez esbranquiçada, Figura 30, que caracteriza a formação da MOF nano ZIF-8 conforme descrito na literatura¹⁰¹.

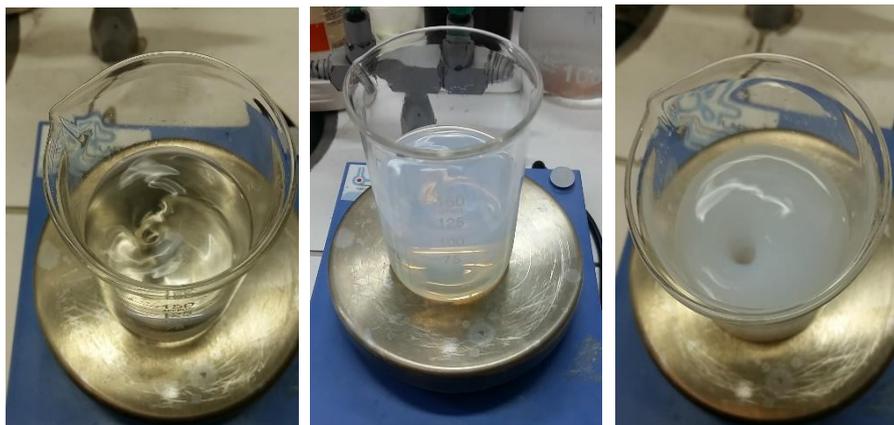


FIGURA 30- SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE ZIF-8

Além disso, a síntese da nZIF-8 pôde ser evidenciada pelas caracterizações do DRX, IV e MET apresentadas nas figuras 31, 32 e 33, respectivamente.

As análises de raios-X de pó, foram obtidas com o intuito de verificar qualitativamente as fases cristalográficas da amostra. A figura 31 apresenta o difratograma para a MOF nZIF-8, na qual pode-se observar a presença de picos estreitos indicando a sua cristalinidade, estando de acordo com trabalhos já relatados na literatura^{107,108}.

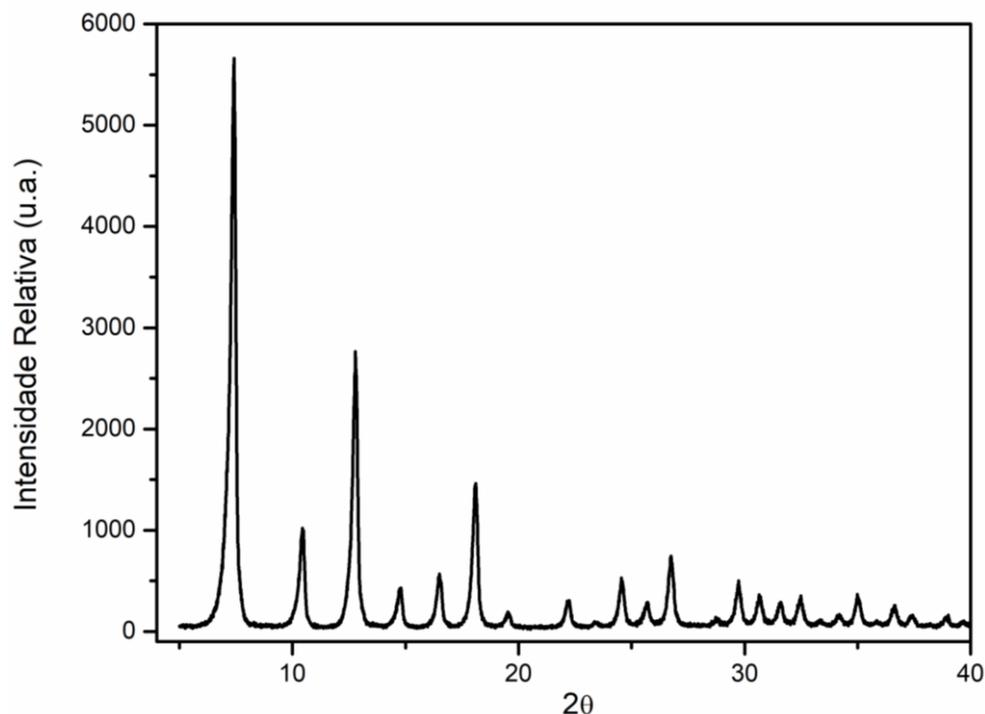


FIGURA 31- DRX DA NZIF-8

Observa-se na figura 32, a análise de IV para a rede nZIF-8, contendo o estiramento N-H em 3135 cm^{-1} e dos estiramentos C-H dos grupos metila 2929 cm^{-1} (C-H alifático do imidazol) e 1307 cm^{-1} . O pico correspondente às ligações C-N e C=N se localizam em 1457 , 1423 e 1145 cm^{-1} , deslocadas devido à coordenação com o centro metálico. Nota-se também uma deformação axial para C=N em 1576 cm^{-1} . A pico de absorção em 421 cm^{-1} é associada ao modo de estiramento Zn-N. As bandas estão de acordo com o esperado para o ligante orgânico e resultados similares são reportados na literatura¹⁰⁷.

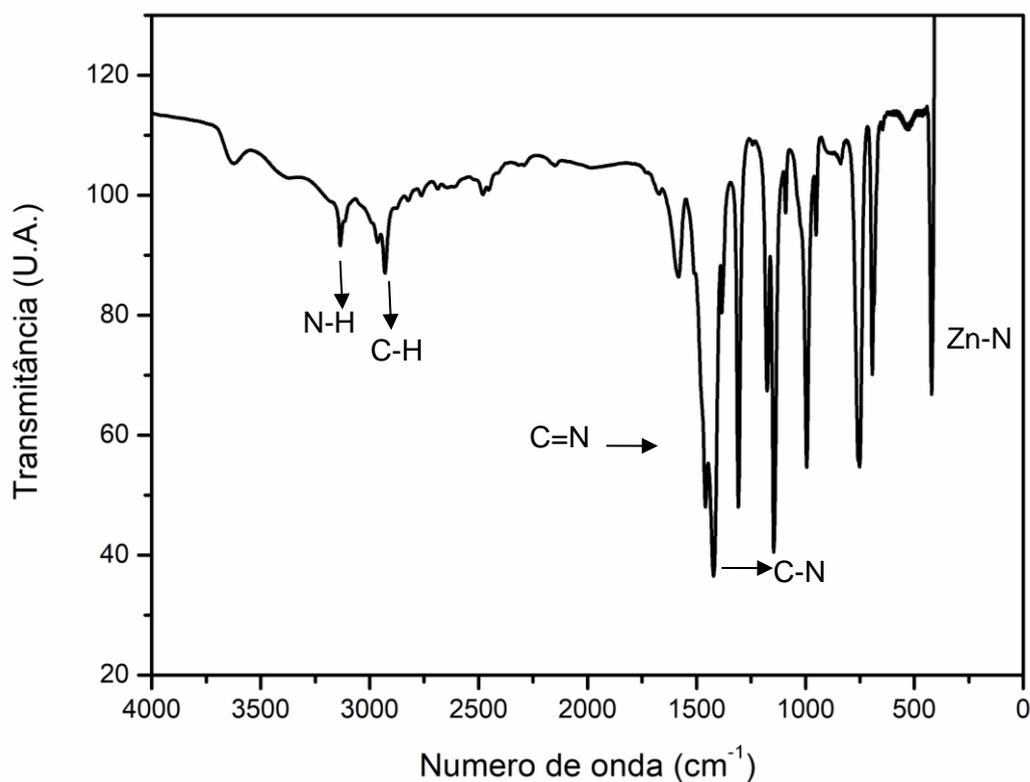


FIGURA 32- ESPECTRO DE IR DA NZIF-8

Os nanocristais da nZIF-8 são bem definidos e possuem forma rômica dodecaédrica, com 12 faces {110}. Esta é uma forma especial de cristal do grupo pontual cristalográfico $4\bar{3}m$ (em conformidade com o grupo espacial cúbico $I4\bar{3}m$ da MOF cristalina ZIF-8)¹⁰¹. Nota-se que o arranjo rômico dodecaédrico, quando visualizado diretamente sobre a face {110}, aparecem com uma seção transversal hexagonal, como visto na figura 33.

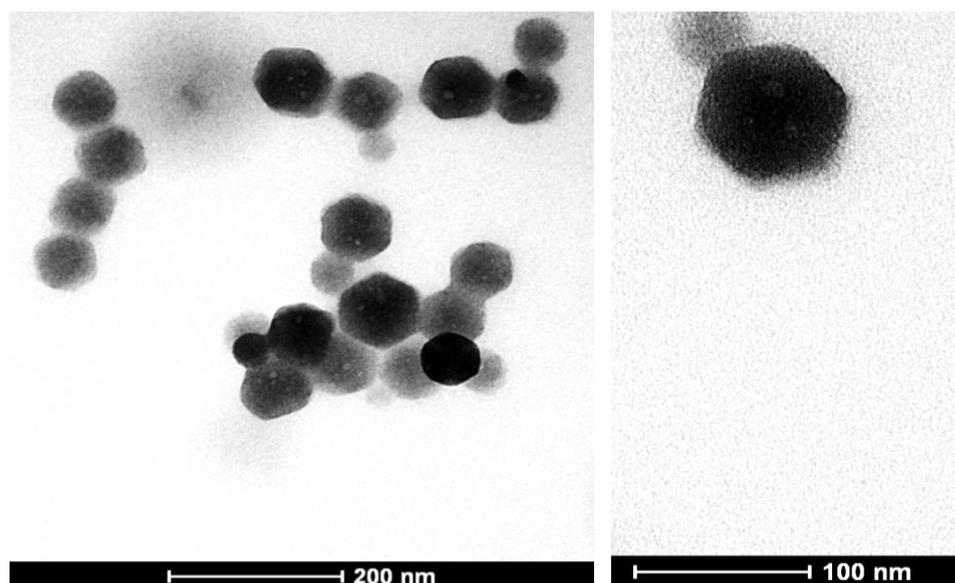


FIGURA 33- IMAGENS DE TEM DA NZIF-8.

O sistema nPANI@nZIF-8 foi pensado e direcionado para a ablação de células tumorais. Isso implica que o tamanho da partícula resultante deve ser menor que 300nm, buscando uma possível penetração na célula do tumor^{109,110}. O nanomaterial sintetizado seguiu a metodologia adaptada descrito na literatura¹⁰⁶ e relatado no procedimento experimental.

Para a síntese in situ da nano ZIF-8 foi utilizado inicialmente 50mL (0,5 mg.mL⁻¹) de nanopartículas de polianilina e 50mL de metanol. Após a síntese, o material obtido nPANI@nZIF-8 foi investigado inicialmente por análise de porosimetria e área superficial.

3.4.4 ESTUDO DE POROSIMETRIA E AREA SUPERFICIAL DAS REDES ZIF-8, NZIF-8 E NPANI@NZIF-8

Um material poroso é um material constituído na fase sólida que possui no seu interior cavidades, canais ou interstícios. Em colaboração com o Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia (LQSN) da Universidade Fluminense -RJ, foi realizado o estudo da porosidade e área superficial das redes ZIF-8 comercial e nanopartículas de ZIF-8 (nZIF-8) antes e após processos hospedeiro-convidado, do inglês “host-guest”, a fim de ampliarmos as possibilidades do uso para esse material.

Inicialmente foi realizado a investigação da porosidade e área superficial da rede ZIF-8 comercial, denominada BASOLITE Z1200, para possível comparação com as

nanopartículas nZIF-8, bem como compreender a técnica de Porosimetria. E aproveitando essa investigação, pôde-se elucidar o comportamento adsorptivo da ZIF-8 comercial antes e após a sorção do antibiótico oxitetraciclina (OTC) de águas residuais, completando um trabalho antes desenvolvido para esse sistema.

A Fig. 34 mostra as isotermas de sorção de N₂ de ZIF-8, ZIF-8 após contato com 10 mg.L⁻¹ de OTC e ZIF-8 após contato com 25 mg.L⁻¹ de OTC realizadas a 77,4 K.

A isoterma do composto ZIF-8 pura (comercial) apresenta uma combinação das curvas do tipo I e II segundo a classificação da IUPAC¹⁰⁹. Essa curva tem uma absorção abrupta de N₂ a baixa pressão ($P / P_0 < 0,03$), indicando uma microporosidade. Um segundo aumento pode ser observado em pressões mais altas ($P / P_0 > 0,09$), que é característica de meso e macroporos. O cálculo da área superficial e do volume de poros da isoterma de adsorção de N₂ em ZIF-8 foi de 1745,4 e 1964,4 m² de g⁻¹ de área superficial por BET e Langmuir, respectivamente, e volume de poro total foi de 0,720 cm³ g⁻¹ (Tabela 1).

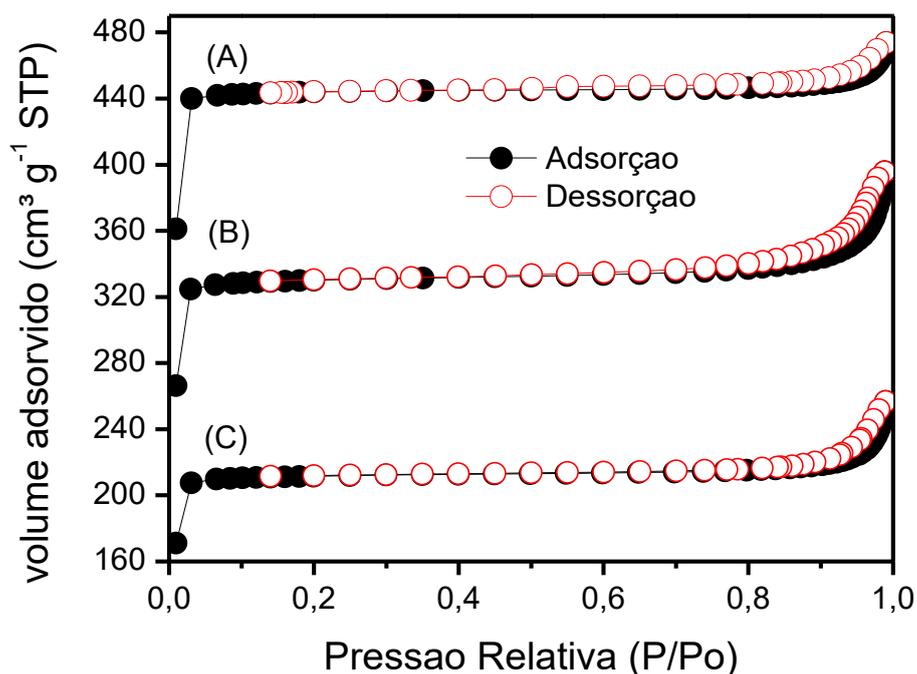


FIGURA 34- ISOTERMAS DE ADSORÇÃO / DESSORÇÃO DE N₂ EM (A) ZIF-8, (B) ZIF-8 APÓS CONTATO COM 10 mg. L⁻¹ DE OTC E (C) ZIF-8 APÓS CONTATO COM 25 mg. L⁻¹ DE OTC.

A ZIF-8 carregada com OTC mostrou uma redução da área superficial e do volume dos poros (Tabela 1), indicando uma interação entre moléculas ZIF-8 e OTC. As características estruturais interessantes do ZIF-8, ou seja, alta área superficial, grandes

cavidades esféricas (11,8 Å), pequenas aberturas (3,4 Å) e flexibilidade estrutural tornam este material atraente para estudos de adsorção¹¹⁰. Foi relatado que a rede ZIF-8 atua como uma peneira molecular para isômeros de xileno¹¹¹. Pirngruber et al. mostraram que o para-xileno, que possui diâmetro cinético (0,67 nm) maior que a abertura do poro (0,34 nm) de ZIF-8, conseguiu ser adsorvido pela ZIF-8. Aparentemente, os poros da ZIF-8 abriram como um “portão” e permitiram a entrada dessas moléculas. Por outro lado, a adsorção de ortoxileno (diâmetro cinético = 0,74 nm) nos poros de ZIF-8 foi insignificante e ocorreu principalmente na sua superfície externa. Como o antibiótico OTC é muito maior do que o orto-xileno, provavelmente as moléculas OTC são adsorvidas na superfície externa da ZIF-8.

TABELA 1- ÁREA DE SUPERFÍCIE E VOLUME DE POROS PARA ZIF-8 PURA E ZIF-8 CARREGADA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OTC.

Amostra	BET (Area superficial) $S_{BET}/m^2 g^{-1}$	Langmuir (Area superficial) $S_{Lang}/m^2 g^{-1}$	Volume total de poro $V_p/cm^3 g^{-1}$
ZIF-8	1745.4	1964.4	0.720
ZIF-8 + 10 mg.L ⁻¹ OTC	1294.7	1458.2	0.590
ZIF-8 + 25 mg.L ⁻¹ OTC	831.8	935.0	0.377

Esse estudo foi publicado no ano de 2015 com o trabalho intitulado “Adsorption in a Fixed-Bed Column and Stability of the Antibiotic Oxytetracycline Supported on Zn(II)-[2-Methylimidazolate] Frameworks in Aqueous Media” por Janine e colaboradores¹¹². A MOF ZIF-8 foi usado como material adsorvente para remover diferentes concentrações de antibiótico de oxitetraciclina (OTC) em uma coluna de leito fixo. A maior capacidade de adsorção (28,3 mg g⁻¹) foi obtida para a concentração de 25 mg L⁻¹ de OTC. A principal via de adsorção consistiu na coordenação de OTC com os centros de zinco metálico de ZIF-8.

Após entender a aplicabilidade da MOF ZIF-8 comercial como material adsorvente, buscou-se estudar a área superficial e volume de poro das nanopartículas nZIF-8 e avaliar a interação das nZIF-8 com as nanopartículas de polianilina. O segundo processo “host-guest”, portanto, foi o material obtido através da síntese in situ da rede nZIF-8 em uma solução inicial de 50mL de polianilina (0,5mg.mL⁻¹) com 50mL de metanol.

A rede nZIF-8 pura apresenta 1515,91 m² g⁻¹ de área superficial, calculada usando a equação de Brunauer-Emmet-Teller (BET), e o volume total de poros, de 1,26 cm³ g⁻¹, próximo dos valores relatados na literatura^{113,114}. Contudo, a isoterma de nZIF-8

sintetizado in situ no volume de 50mL de nPANI e 50mL de metanol não mostrou quantidade significativa de nitrogênio adsorvido e sua área superficial não pôde ser calculada, sugerindo a obstrução dos poros da rede nZIF-8 após a interação com nPANI (Figura 35).

Xian et al.¹⁸ relataram a modificação ZIF-8 com diferentes cargas de polietilenoimina (PEI) (15, 30 e 45%). Eles descobriram que a modificação do ZIF-8 com 45% de PEI diminuiu a área de superfície de 1150 m² de g⁻¹ para 21 m² de g⁻¹, em contraste com o ZIF-8 original.

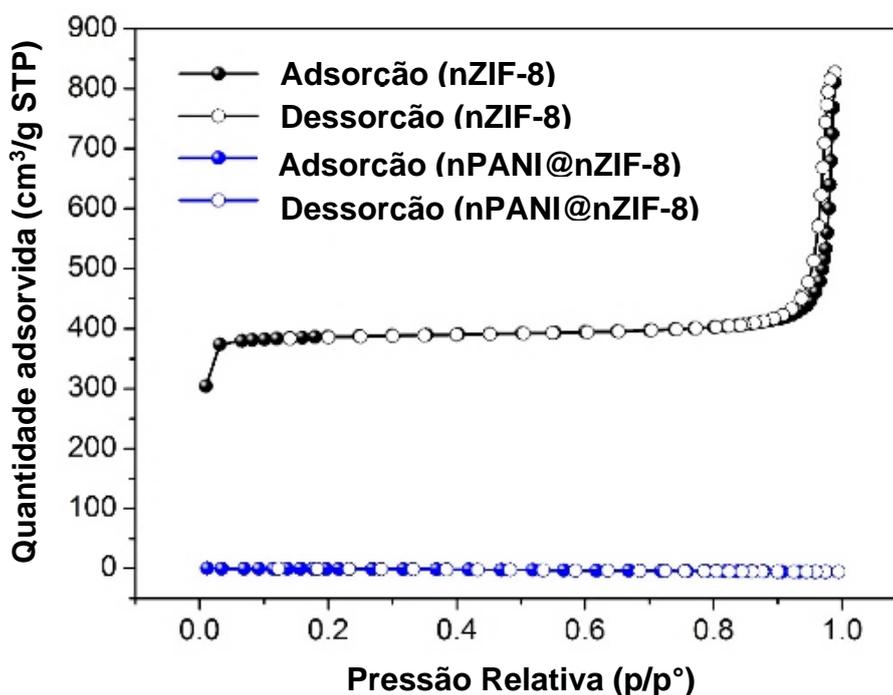


FIGURA 35- ISOTERMAS DE ADSORÇÃO-DESSORÇÃO DE N₂ EM NZIF-8 E EM NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50ML DA SOLUÇÃO NPANI REALIZADAS A 77,4 K.

Foram empregados, portanto, valores mais baixos da solução de nanopartículas de polianilina (1% v / v, 5% v / v e 10% v / v) para cada 100 mL do volume total. Após a síntese foi realizada novamente análise do volume de poros e área superficial (Figura 36).

Os materiais de nZIF-8 modificados com nPANI apresentaram isotermas do tipo I sugerindo que a modificação da nZIF-8 com a nPANI ocorreu principalmente nos mesoporos e macroporos. Esta hipótese pode ser confirmada pelos valores de volume de microporos destes materiais (Tabela 02), os quais não sofreram mudanças significativas após a modificação com a nPANI, enquanto que o volume de meso e macroporos

diminuiu drasticamente. A obstrução dos meso e macroporos resulta em um aumento da microporosidade de nZIF-8 modificados com a nPANI. Em nZIF-8 pura a microporosidade era de 44,4%, enquanto que em nZIF-8 modificadas com nPANI, os valores variam de 87,3 a 96,5% (Tabela 2). Assim, a interação com nPANI ocorreu principalmente em poros maiores (meso e macroporos), pois a difusão de moléculas grandes nestes poros pode ocorrer mais facilmente do que em poros pequenos (microporos). Esta funcionalização em baixa quantidade de nPANI (1mL) não resulta na mudança de área superficial, contudo, quando são utilizadas quantidades superiores (5 e 10 mL) é observado uma diminuição das áreas superficiais, Tabela 2.

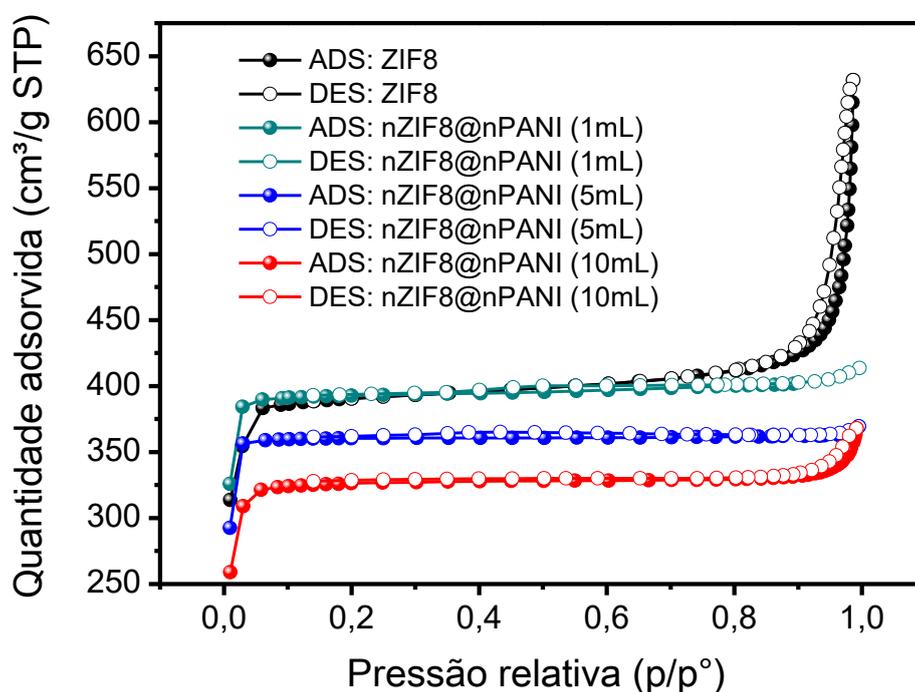


FIGURA 36- ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E DESSORÇÃO DE N₂ DA REDE NZIF-8 E DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8, SINTETIZADO COM DIFERENTES QUANTIDADES DE NPANI, REALIZADAS A 77,4 K.

TABELA 2- ÁREA DE SUPERFÍCIE E VOLUME DE POROS PARA NZIF-8 PURA E NZIF-8 CARREGADA COM DIFERENTES QUANTIDADES DE NPANI

Amostra	S_{BET}^a (m² g⁻¹)	V_{tot}^b (cm³ g⁻¹)	V_{micro}^c (cm³ g⁻¹)	V_{meso}^d (cm³ g⁻¹)	microporosidade^e (%)
ZIF8	1515.92	1.26	0.56	0.70	44,4
nZIF8@nPANI-1mL	1536.59	0.63	0.59	0.04	93,6
nZIF8@nPANI_5mL	1418.86	0.57	0.55	0.02	96,5
nZIF8@nPANI_10mL	1285.74	0.55	0.48	0.07	87,3

a= S_{BET} área superficial BET
b= Volume total de poros obtido pela soma dos volumes de micro e mesoporos
c= Volume de microporos obtidos pelo método t-Plot
d= Volume de mesoporos obtido pelo método de BJH
e= microporosidade obtida através dos volumes total de poros e de microporos

O estudo de porosimetria e área superficial destacou a empregabilidade da MOF ZIF-8 e nZIF-8 como um excelente material carreador e/ou de suporte para diversas substâncias.

3.4.5 OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE SÍNTESE DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8

Para avaliar possíveis alterações na estrutura da rede nZIF-8 e do nanomaterial nPANI@nZIF-8 bem como verificar a cristalinidade da rede nZIF-8 após ser empregada como material de suporte para a polianilina, foram realizadas análises de DRX.

Para o material nPANI@nZIF-8 sintetizado na solução inicial de 50mL de polianilina (0,5 mg. mL⁻¹) e 50mL de metanol, o difratograma (Figura 37), apresentou apenas a semi-cristalinidade da polianilina esmeraldina^{116,117}. Esse fato corroborou com a análise de BET que foi apresentado na figura 35, que sugeriu a obstrução dos poros da rede nZIF-8 devido uma quantidade excessiva de nanopartículas de polianilina que tornaram imperceptível a rede nZIF-8.

Em averiguação na literatura foi encontrado o difratograma das nanopartículas de polianilina puras, relatado por Yinyin Chen¹⁰⁵ e colaboradores. Os difratogramas da nPANI e nPANI@nZIF-8 foram comparados e apresentaram aproximadamente o mesmo perfil de semi-cristalinidade e localização dos picos.

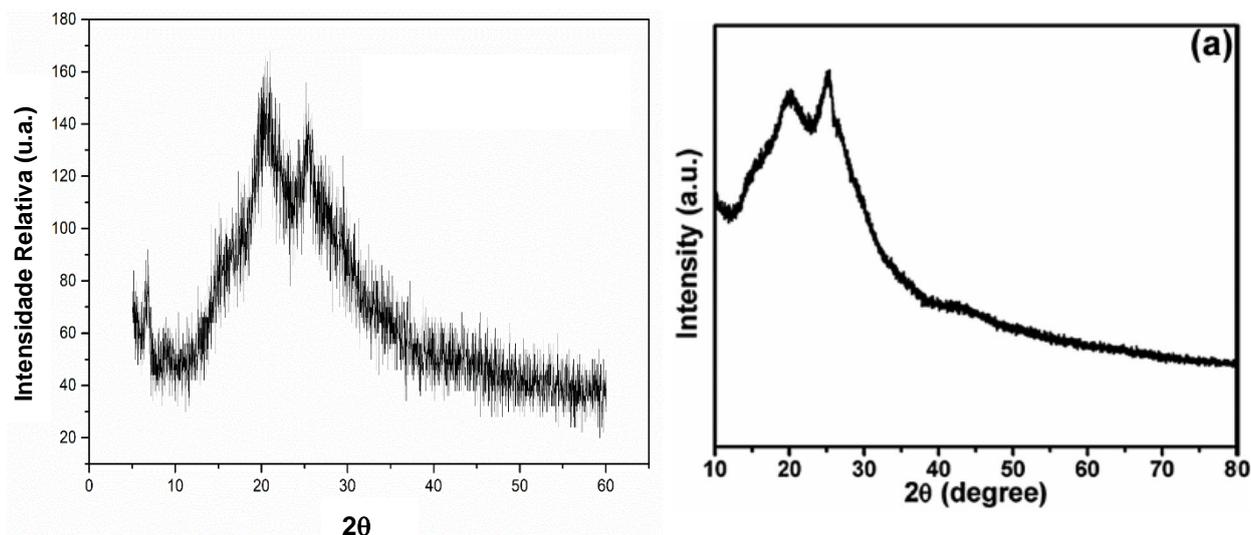


FIGURA 37- ANÁLISE DE DRX DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50 mL DA SOLUÇÃO NPANI (À ESQUERDA). ANÁLISE DE DRX DE NANOPARTÍCULAS DE POLIANILINA PURA POR YINYIN CHEN⁸ (À DIREITA)

A análise de MET (Figura 38) também evidenciou o excesso de polianilina na síntese do nanomaterial com a proporção de 50mL de volume nPANI e 50mL metanol. Pode-se observar que houve agregação das nZIF-8 e recobrimento do polímero sobre esses aglomerados ou ainda que a quantidade de nPANI dentro e fora dos poros causou um grande aumento no tamanho da nZIF-8.

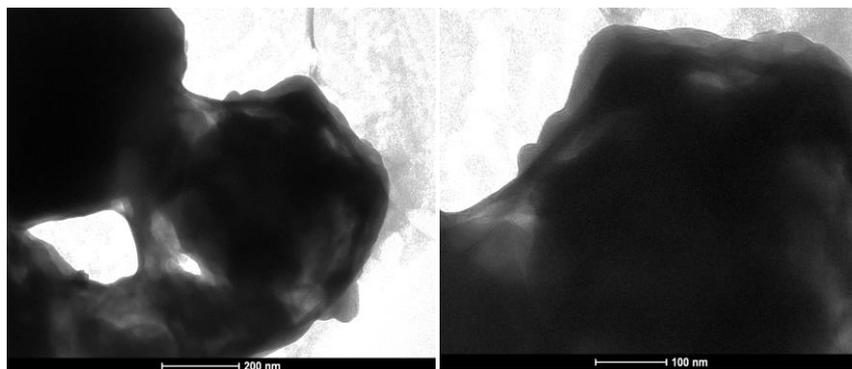


FIGURA 38- IMAGEM DE MET DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50mL DA SOLUÇÃO NPANI

Realizou-se, portanto, novos ensaios buscando uma otimização no processo de síntese do material nPANI@nZIF-8. Usou-se 10mL, 5mL e 1mL de solução de polianilina previamente preparada e adicionou-se quantidade de metanol suficiente para completar 100mL de “solvente” para a realização de cada síntese. A Figura 39, apresenta o processo de síntese in situ. No béquer à esquerda observamos a turbidez, após

10 minutos de agitação, característica da formação da rede nZIF-8.



FIGURA 39- SÍNTESE DE NPANI@NZIF-8 IN SITU EM 5ML DE SOLUÇÃO NPANI E 95ML DE METANOL. NO BÉQUER À DIREITA TEMOS O INÍCIO DA SÍNTESE, NO BÉQUER À ESQUERDA TEMOS A SÍNTESE DE NZIF-8 EVIDENCIADA PELA TURBIDEZ DA SOLUÇÃO APÓS 10MIN DE AGITAÇÃO.

Após as novas sínteses com menores quantidades de polianilina foram realizadas novas análises de DRX para o nanomaterial nPANI@nZIF-8 sintetizado em diferentes proporções de solução de polianilina e metanol (Figura 40).

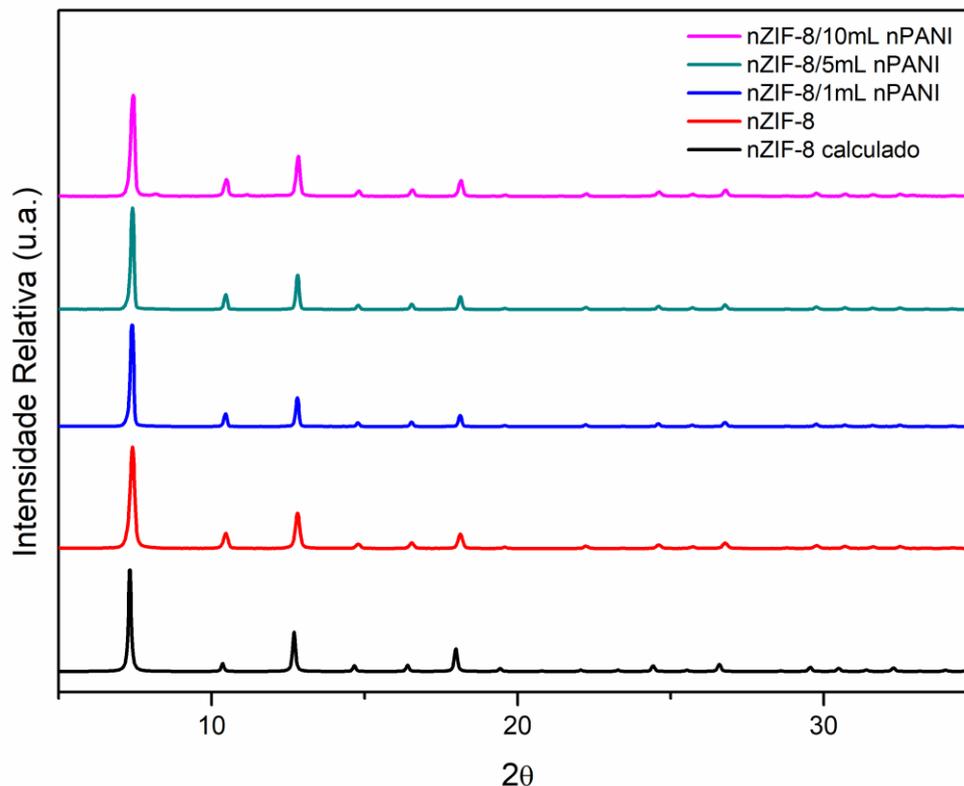


FIGURA 40- SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE DRX DE NZIF-8 PURO (CALCULADO E EXPERIMENTAL) E DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM DIFERENTES VOLUMES DE NPANI

As análises DRX de nPANI@nZIF-8 não mostraram alterações em relação ao DRX calculado do MOF ZIF-8 (COD # 4118891). Os DRXs mostraram picos intensos, estreitos e bem definidos que indicam a cristalinidade do nZIF-8 de acordo com os trabalhos já relatados^{113,114}. Portanto, não houve mudança nas fases cristalográficas da rede nZIF-8 devido à presença de nanopartículas de polianilina.

Para alcançar um sistema quimiofototérmico ideal, é necessário a combinação de elevada porosidade do material carreador, com relevante hipetermia causada pelo agente fototérmico. Escolhemos, utilizar, em nosso trabalho, o volume de 5mL ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) de nPANI para a síntese final do nanomaterial nPANI@nZIF-8. Visto que, com apenas 1mL de nanopartículas de polianilina para a síntese do material, não teríamos uma significativa conversão fototérmica para o sistema multifuncional nPANI@nZIF-8.

Na figura 41, é apresentada a análise de IV da nZIF-8 em comparação com IV da nPANI e do material nPANI@nZIF-8. Existe uma sobreposição com os trechos e bandas das nanopartículas de polianilina¹⁰⁵. Os picos a 1300 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} estão relacionados aos estiramentos C-N e C = N, respectivamente. Estas ligações estão presentes nos dois compostos aumentando a intensidade do pico nesta região. Os picos a cerca de 1594 e

1504 cm^{-1} representam os anéis quinoides e benzenóides presentes em nPANI.

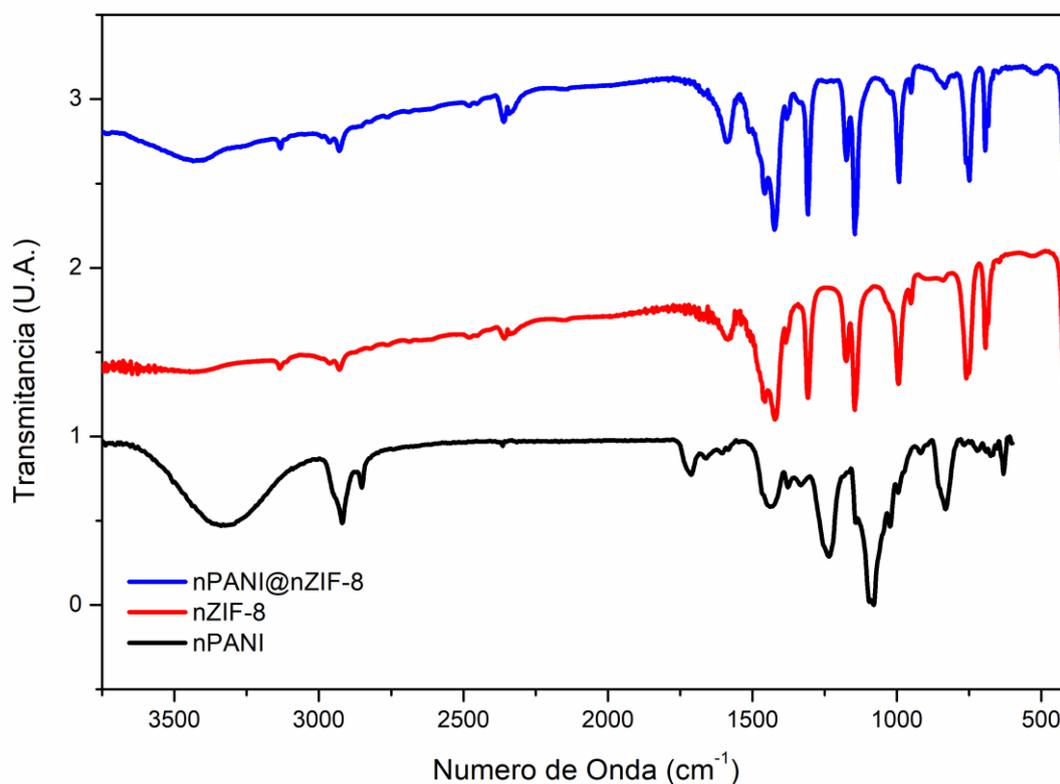


FIGURA 41- SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE IV DE NPANI, NZIF-8 E NPANI@NZIF-8.

Quando sintetizado com nPANI, a cor do nZIF-8 passou de branco para azul/violeta escuro apresentado na figura 42, evidenciando uma possível mudança na oxidação das nanopartículas de polianilina¹¹⁷.

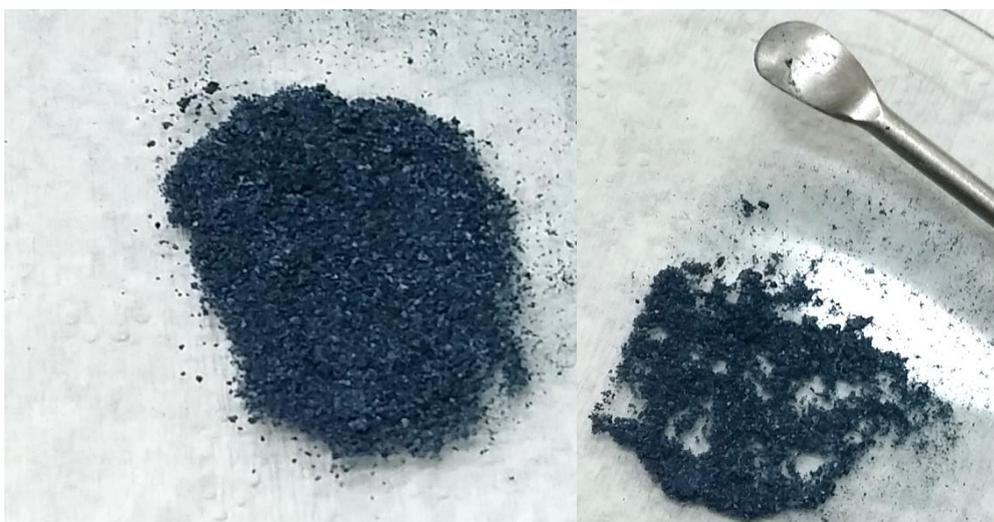


FIGURA 42- NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5ML DA SOLUÇÃO DE NPANI

Utilizando 5mL da solução de nPANI o tamanho da nPANI@nZIF-8 é de aproximadamente 200nm, ideal para uma melhor interação de nanopartículas com componentes do sangue e absorção pelas células^{119,120}.

A imagem de nZIF8 puro também é mostrada na Figura 43a. O tamanho médio da nanopartícula de nZIF-8 foi de aproximadamente 80 nm. Após o contato com nPANI, o tamanho de nPANI@nZIF8 aumentou para aproximadamente 200nm devido a presença da polianilina. As imagens de microscopia eletrônica de transmissão confirmaram que, as nPANI modificaram a superfície externa de nZIF-8, “decorando” sua estrutura (Figura 43b). Esta modificação pode ser devido a atração eletrostática e mecanismo de quelação, entre os locais básicos da PANI (nitrogênio amina e imina ao longo do esqueleto do polímero) e o cátion metálico (Zn^{2+})¹²¹. A Polianilina pode reagir como uma base de Lewis. Assim, quando em contato com metais de transição, torna-se doador de elétrons para o grupo metálico¹²².

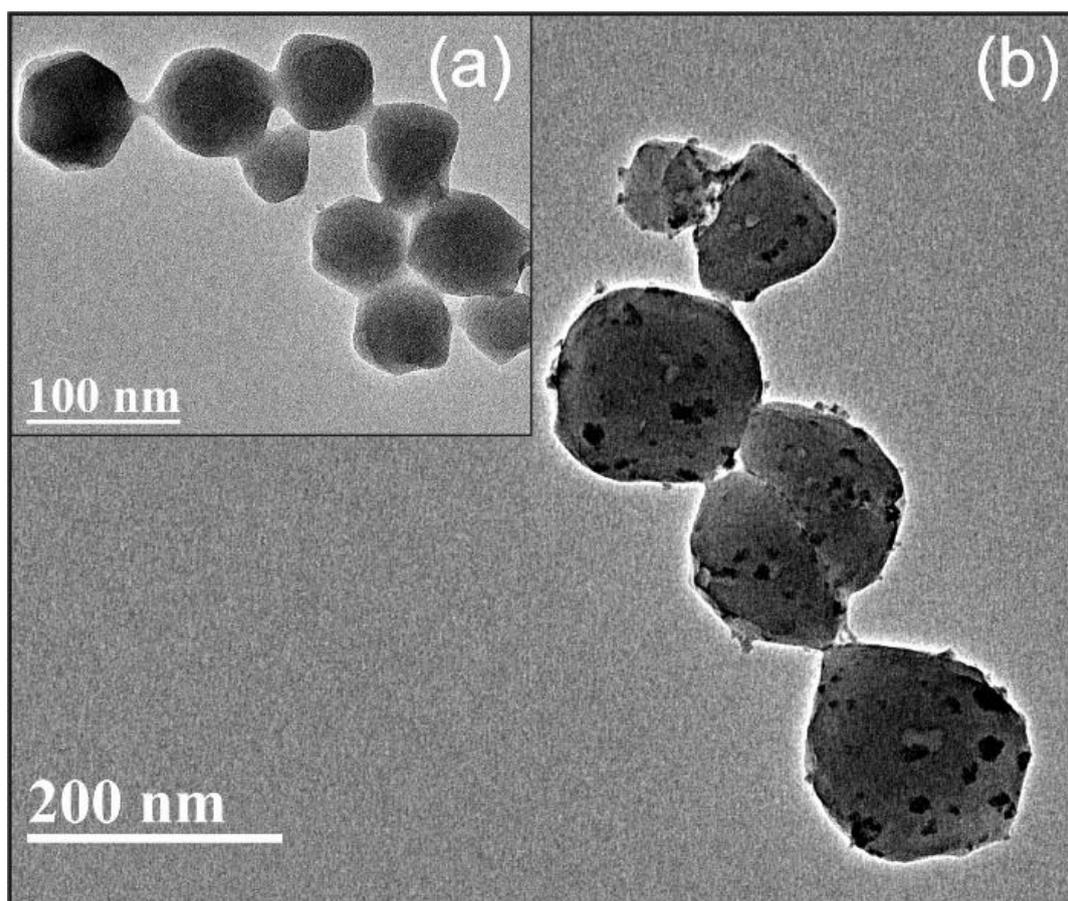


FIGURA 43- IMAGENS DE TEM DO NANOMATERIAL NZIF-8 PURO (A) E NPANI@NZIF-8 PREPARADO COM 5ML DA SOLUÇÃO DE NPANI (B)

A estabilidade e a decomposição térmica dos materiais nZIF-8 e nPANI@nZIF-8 foram avaliadas por TGA (Figura 44a e 44b, respectivamente). A figura 44a apresenta a curva termogravimétrica para a nZIF-8 puro. O seu perfil termoanalítico mostra basicamente uma única etapa, a qual pode ser interpretada como perda do ligante orgânico (imidazolato) entre 350 e 650°C. A massa do ligante (com um carbono a menos na fórmula molecular) é 152 g mol⁻¹ e corresponde a 65,8% da massa da ZIF-8. Esse valor teórico colabora com o valor experimental obtido. Um carbono se ligou ao zinco para formar, ZnC, gerando a massa residual após a liberação da parte orgânica e equivale a ~34,2% da massa molecular da ZIF-8, esses resultados estão de acordo com os reportados na literatura¹⁰¹.

O nanomaterial nPANI@nZIF-8 mostrou o mesmo perfil termoanalítico de nZIF8 puro, apenas com uma mudança na faixa de temperatura em relação a perda do ligante orgânico, imidazolato, de 350 a 750 °C. Sugere-se que esta maior estabilidade do ligante seja devido à interação com as nanopartículas de polianilina.

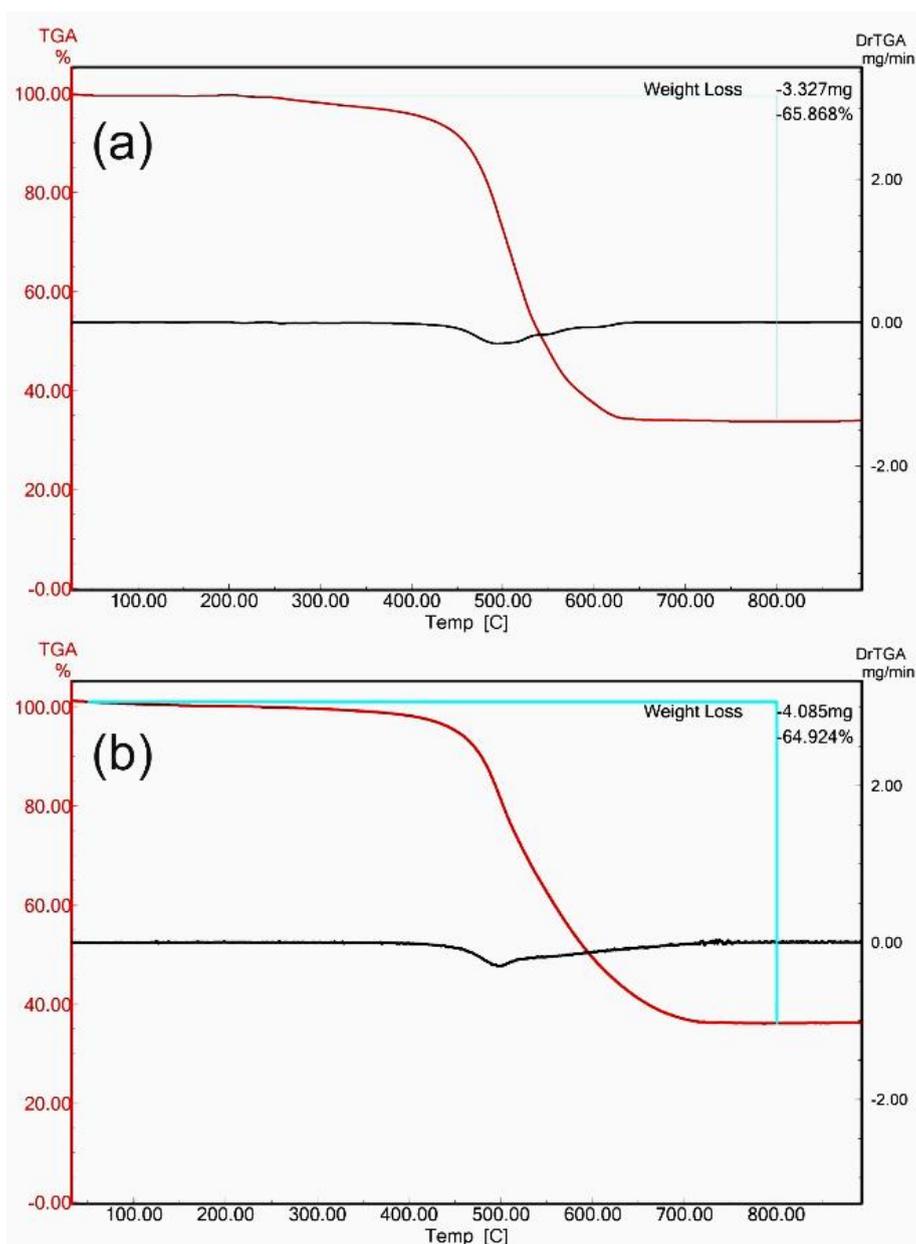


FIGURA 44- ANÁLISE TGA DE NZIF8 (A) E NPANI@NZIF8 (B).

Na Figura 45 são mostrados os espectros UV-VIS da MOF nZIF-8 puro e do sistema nPANI@nZIF-8, ambos no estado sólido, em comparação com o UV-VIS da nPANI no estado aquoso (apresentado na Figura 23). O nZIF-8 puro apresentou apenas uma banda de absorção em aproximadamente 214nm, em concordância com outros trabalhos relatados na literatura¹²³.

Apenas nPANI e nPANI@nZIF-8 apresentaram banda de absorção na região do infravermelho próximo (NIR), ou seja, na faixa de 700-1100 nm, faixa espectral onde o tecido humano torna-se parcialmente transparente, “janela biológica”¹²⁴. Portanto, sugere-se que o nanomaterial nPANI@nZIF-8 possui propriedade para ser usados como agentes de ablação fototérmica em células cancerosas, devido a presença da nPANI, pela sua absorção, espalhamento e conversão fototérmica de luz na região NIR.

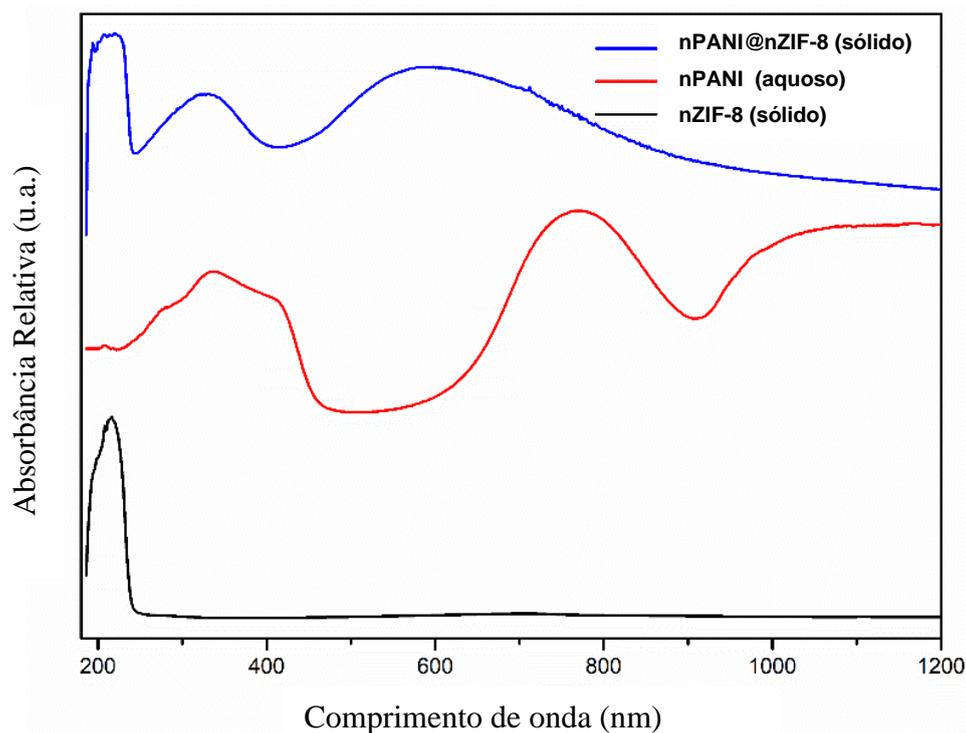


FIGURA 45- ANÁLISE DE UV-VIS DE NZIF-8(SÓLIDO), NPANI(AQUOSO) E NPANI@NZIF-8 (SÓLIDO).

Em solução aquosa, as bandas de absorção nPANI@nZIF-8 deslocaram-se para a direita, apontando a interação da nPANI com nZIF-8. Esse deslocamento das bandas de absorção, possivelmente, está relacionado a protonação da nPANI. Essa protonação é caracterizada pela formação da “calda” de banda na região NIR, característico dos portadores de carga livre^{103,104} (Figura 46). Essa protonação pode ser causada pelo cátion Zn^{2+} presente na nZIF-8, através da pseudo-protonação do nitrogênio imínico¹²⁵.

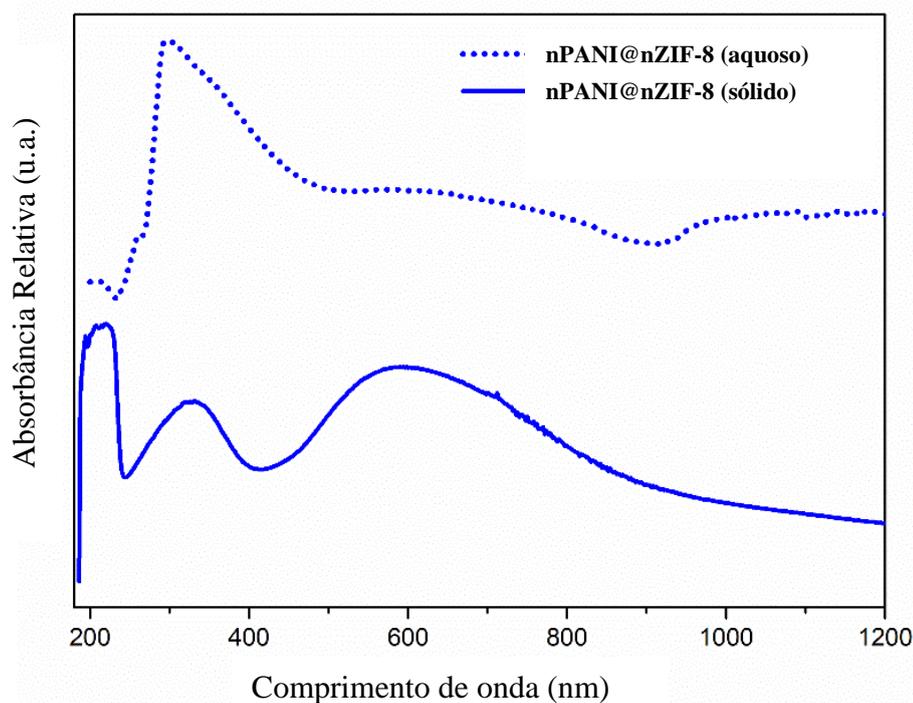


FIGURA 46- ANÁLISE DE UV-VIS DE NPANI@NZIF-8, SÓLIDO E EM SUSPENSÃO AQUOSA.

3.4.6. CONCLUSÕES PARCIAIS

Em resumo, descrevemos pela primeira vez a síntese de um nanomaterial baseado em nanopartículas de ZIF-8 decoradas com nanopartículas de polianilina com tamanho médio de 200nm. A otimização da síntese se fez necessária, uma vez que a quantidade excessiva de polianilina causava obstrução dos poros da rede nZIF-8. O estudo da porosimetria foi de suma importância para elucidação da sorção do antibiótico oxitetraciclina na rede ZIF-8 comercial, bem como avaliar a polianilina suportada, nos meso e macroporos da rede nZIF-8.

As caracterizações permitiram ainda constatar que o nanomaterial nPANI@nZIF-8 apresenta maior estabilidade e absorve radiação na região NIR, devido a presença da polianilina em ambos resultados.

Acreditamos que o uso desse sistema multifuncional, nPANI@nZIF-8, pode ser uma nova plataforma quimiofototermal com a propriedade intrínseca da polianilina de conversão fototérmica permanente. Esse sistema pode ainda ser testado como carreador de fármacos antitumorais, devido as propriedades de porosidade e alta área superficial presente em nZIF-8.

4 APLICAÇÃO DO SISTEMA MULTIFUNCIONAL NPANI@NZIF-8

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo fototérmico foi realizado com o auxílio de um laser (diodo laser), número de série-1002, de equipamentos DMC LTDA. Equipado com um diodo de excitação de 980 ± 10 nm, de fibra óptica UV/SR e $600\mu\text{m}$. As imagens termográficas foram obtidas por um Termovisor de marca FLIR Modelo E4.

A cinética de liberação do fármaco teve o auxílio de um banho maria a 37°C , termômetro e uma membrana de diálise (corte Mw, 3,5 KDa).

Um espectrofotômetro, UV-Vis, Agilent modelo 8453 fabricado pela Agilent tecnologias (Austrália) com lâmpadas de deutério e tungstênio. O software UV-vis Chem Station, foi utilizado para monitorar as concentrações do fármaco em função do tempo. Foi traçada uma curva de calibração para as concentrações ($0,01 - 0,07 \text{ mg mL}^{-1}$) do 5-Fu com $\lambda_{\text{máx}} = 285\text{nm}$, outros trabalhos já relataram esse comprimento de onda para a absorção máxima do 5-FU¹²⁶. (Figura 47).

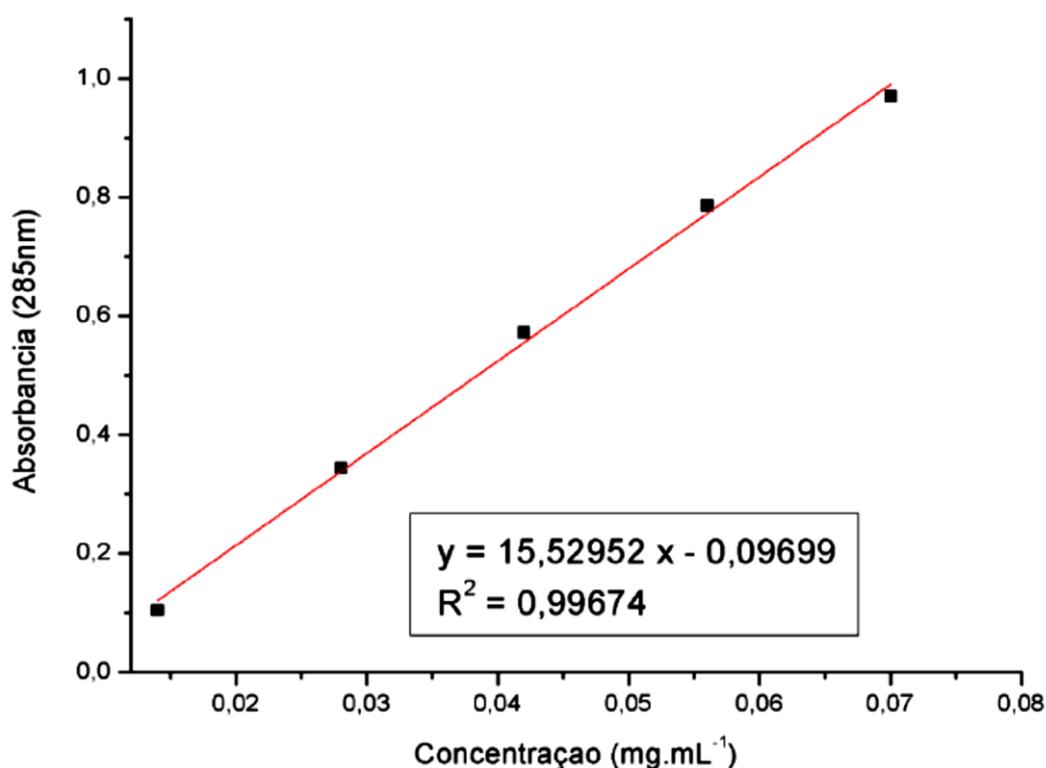


FIGURA 47- CURVA DE CALIBRAÇÃO DO FÁRMACO 5-FU.

4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A seguir, será apresentado o procedimento experimental (materiais e métodos) para o estudo fototérmico do nanomaterial nPANI@nZIF-8 em estado sólido e em solução aquosa, a metodologia para o carreamento do fármaco 5-FU em nPANI@nZIF-8, a descrição do sistema para a liberação do fármaco 5-Fu, o teste de citotoxicidade de nPANI@nZIF-8 *in vitro* e por fim, o procedimento para estimar o efeito sinérgico quimio-fototermal de nPANI@nZIF-8/5-FU *in vitro*.

4.2.1 ANÁLISE DO EFEITO FOTOTÉRMICO DO NANOMATERIAL, NPANI@NZIF-8, SOB IRRADIAÇÃO DE UM LASER NIR ATRAVÉS DE IMAGENS TERMOGRÁFICAS

Imagens termográficas infravermelhas do sistema nPANI@ZIF-8 sólido (em pó) foram realizadas com um termovisor (FLIR E4) durante a irradiação de um laser de diodo NIR de pulso contínuo, com um comprimento de onda centrado em 980 ± 10 nm e uma densidade de potência de 500 mW/cm^2 e a fibra óptica foi orientada de maneira perpendicular, sobre o nanocompósito. O perfil de temperatura foi apresentado através dos mapas de aquecimento que foram registrados de 5 em 5 s por um período de 3 minutos.

A rede de coordenação nZIF-8 pura, também foi irradiada e usada como referência.

4.2.2 ESTUDO DA VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR: ESTUDO DE POTÊNCIA

Neste estudo, células MCF7 de câncer de mama (1×10^4 células por poço) foram semeadas nas placas de 96 poços. Posteriormente, as células foram cultivadas em meios RPMI 1640 que continham FBS a 10% e incubadas sob uma atmosfera umidificada durante 24 h ($37 \text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2).

As células MCF7 foram irradiadas sob diferentes densidades de potência, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e $2,5 \text{ W/cm}^2$, durante 5 min para cada potência testada, para avaliarmos o efeito do laser NIR ($\lambda=980\text{nm}$) na viabilidade celular, averiguando a citotoxicidade causada pelo laser NIR, (Figura 48).

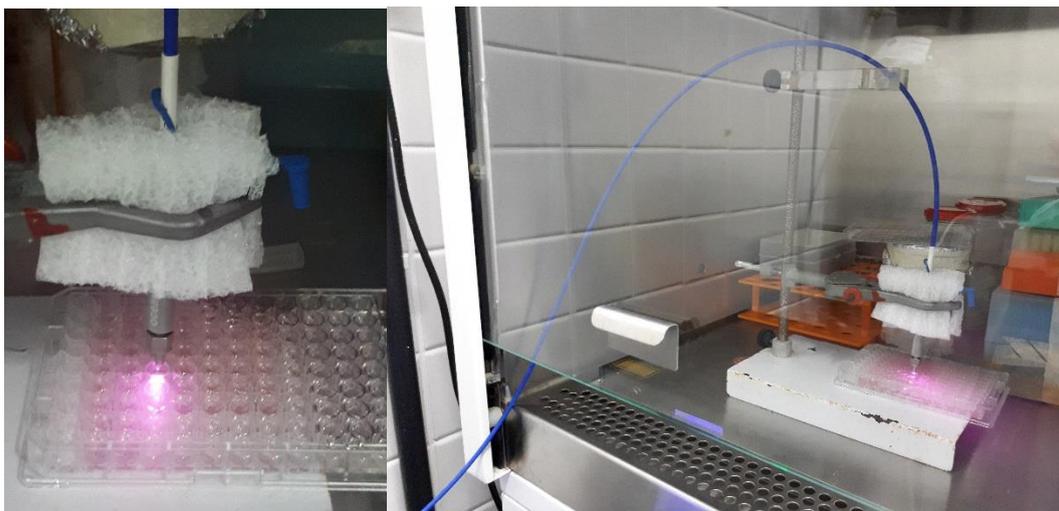


FIGURA 48- CÉLULAS MCF7 DE CÂNCER DE MAMA SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR POR DIFERENTES DENSIDADES DE POTÊNCIA, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 E 2,5 W.cm⁻²

4.2.3 EFEITO FOTOTÉRMICO DE NPANI@NZIF-8 EM SOLUÇÃO AQUOSA: EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO MATERIAL

Analisou-se o perfil fototérmico de nPANI@nZIF8, em suspensão aquosa, com diferentes concentrações: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 mg/mL de nPANI@nZIF8. O volume de 200 μ L, de cada solução, foi colocado nos poços de uma placa para cultura de células. O volume colocado em cada poço foi irradiado sob laser NIR (980nm, 0,8 W.cm⁻²) durante 5 min. A água destilada foi utilizada como branco. A temperatura máxima pontual foi medida usando uma câmera térmica infravermelha.

4.2.4 CARREAMENTO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF-8 E LIBERAÇÃO CONTROLADA DESSE FÁRMACO EM FUNÇÃO DO TEMPO.

A incorporação do fármaco 5-fluoracil (5-FU) em nPANI@nZIF8 foi realizada por contato direto, sob agitação durante 48h, de acordo com a metodologia adaptada proposta por Chun-Yi Sun e colaboradores¹²⁸.

40 mg de nPANI@nZIF8 foram secas e ativadas a 160 °C, durante 24 horas na estufa a vácuo e posteriormente adicionadas à solução do fármaco previamente preparada. O fármaco 5-Fu (60 mg) foi dissolvido por agitação e sonicação em 10 mL de metanol. As alíquotas do sobrenadante foram coletadas em tempos pré-definidos durante 48 horas e analisados por UV-vis (285nm) para obtenção de uma curva cinética de adsorção.

Com o objetivo de investigar, por outro método, a quantidade do fármaco adsorvido, 1mg de nPANI@nZIF8/5-Fu foi completamente decomposto por 0,35 μ L de HCl (2M), diluído para 3 mL de PBS e analisado por UV-vis.

A capacidade de carregamento do 5-FU em nPANI@nZIF-8/5Fu (DLC%) e a eficiência de encapsulamento do fármaco 5-FU (DEE%) foram calculados, tanto pelos dados da curva cinética de adsorção quanto pelos dados da decomposição de 1mg do nanomaterial carregado. As porcentagens DLC% e DEE% são dadas pelas equações dadas abaixo¹²⁹.

$$\text{Equação 01} \quad \text{DLC}(\%) = \frac{\text{Massa da droga carregada}}{\text{Massa do nanomaterial carreador}} \times 100$$

$$\text{Equação 02.} \quad \text{DEE}(\%) = \frac{\text{Massa da droga carregada}}{\text{Massa total da droga injetada}} \times 100$$

O estudo de liberação do fármaco foi realizado durante um período de 48 horas, em banho maria a 37°C para mimetizar a temperatura corporal. O nPANI@nZIF-8/5-Fu foi ressuspenso em 0,5 mL de solução tampão fosfato (PBS) 0,1 M, pH = 7,4, selado em uma membrana de diálise (corte Mw, 3,5 KDa) e colocado em 3 mL de PBS 0,1 M puro (Figura 49), sob oscilação. Em intervalos de tempo selecionados, alíquotas de 0,35 μ L do meio de libertação (fora do saco de diálise) foram coletadas em triplicata e diluídas para 2mL com solução tampão, PBS (pH=7,4), para análise UV-Vis (285nm). Após a retirada das alíquotas, o mesmo volume de uma solução tampão fresca foi adicionado, a fim de manter o volume constante. A quantidade liberada de 5-Fu foi determinada, usando a curva de calibração. Os testes de resposta ao estímulo para a liberação do fármaco foram realizados em pH = 5.2 também por 48 horas e sob a ação do laser NIR (λ = 980nm, 0,8 W cm⁻²) com um método on-off, atuando durante 5 minutos, em tempos pré-determinados, por um período de 6 horas.



FIGURA 49- SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DO FÁRMACO 5-FU

4.2.5 CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

A citotoxicidade *in vitro* do nPANI@nZIF-8 foi avaliada utilizando um ensaio MTT. Uma amostra foi utilizada para estudar a citotoxicidade de nPANI@nZIF-8. As células MCF7 (1×10^4 células por poço) também foram semeadas nas placas de 96 poços e subsequentemente incubadas de acordo com o método já descrito na sessão 3.3. Depois disso, as células foram tratadas respectivamente com nPANI@nZIF-8 em diferentes concentrações (0-1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$) durante 72 h. Em seguida, todos os sobrenadantes foram removidos e as células na placa de 96 poços acima foram tratadas adicionalmente com 20 μL de MTT ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) e 180 μL de meio RPMI 1640 durante 3 h. Posteriormente, o meio MTT foi cuidadosamente removido e foram adicionados 100 μL de DMSO em cada aterragem do poço, medido a 578 nm em um leitor de microplacas de detecção múltipla. A citotoxicidade foi expressa como a percentagem de células viáveis em comparação com as células de controle não tratadas.

4.2.6 TERAPIA QUIMIOFOTOTERMAL DE NPANI@NZIF-8/5-FU *IN VITRO*

Para avaliar o efeito terapêutico sinérgico de nPANI@nZIF-8/5-FU, as células MCF7 foram semeadas em placas de 96 poços sob a densidade de 1×10^4 células por poço. Os poços foram divididos em cinco grupos nomeados por: grupo controle, 5-Fluoracil puro (62,5 µg/mL), nPANI@nZIF-8 (125 e 250 µg / mL), nPANI@nZIF-8/5-FU (125 e 250 µg / mL) e nPANI@nZIF-8/5-FU + NIR (125 e 250 µg / ml) e incubadas durante 72 h. Posteriormente, nPANI@nZIF-8/5-Fu + NIR foi irradiado pelo laser NIR ($0,8 \text{ W cm}^{-2}$) durante 5 min. Após a irradiação, adicionou-se 20 µL de MTT ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) em cada poço e as células foram incubadas durante mais 3 h para medir a viabilidade celular.

4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm DP. A análise estatística foi realizada utilizando STATISTICA 8 pelo teste t de Student. * $p < 0,05$ foi considerado significativo, e ** $p < 0,01$ foi considerado altamente significativo.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir será apresentado o desempenho do nanomaterial nPANI@nZIF-8 como carreador do 5-Fluoracil em meio aquoso e sua atividade fototermal. Essa avaliação será feita através do estudo de adsorção do fármaco 5-FU no nanocompósito supracitado, calculando-se a porcentagem de retenção da droga por análise de UV-VIS do sobrenadante. A ação fototermal do nanocompósito foi avaliada através das medidas de temperatura do material, sob irradiação de um laser NIR, medidas por imagens termográficas.

Além disso, é apresentada a caracterização das amostras obtidas após o contato entre o nanocompósito e o fármaco, através das metodologias descritas no procedimento experimental, espectroscópicas (IV, UV-VIS), microscopia (Eletrônica de varredura e de Transmissão), termogravimétricas (TGA) e difração de raios-X de pó.

4.3.1 ANÁLISE DO EFEITO FOTOTÉRMICO DO NANOMATERIAL, NPANI@NZIF-8, SOB IRRADIAÇÃO DE UM LASER NIR ATRAVÉS DE IMAGENS TERMOGRÁFICAS

A forte absorção na região NIR das nanopartículas de polianilina descritas na literatura nos motivou a investigar sua aplicação como agentes de ablação fototérmica, contidas em um nanomaterial multifuncional, juntamente com a rede porosa nZIF-8.

Observa-se na Figura 50, imagens termográficas do nPANI@nZIF-8 (sólido) sintetizado com 50mL de solução nPANI ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e 50mL de metanol, sob irradiação de um laser NIR ($\lambda=980\text{nm}$, $0,5\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$).

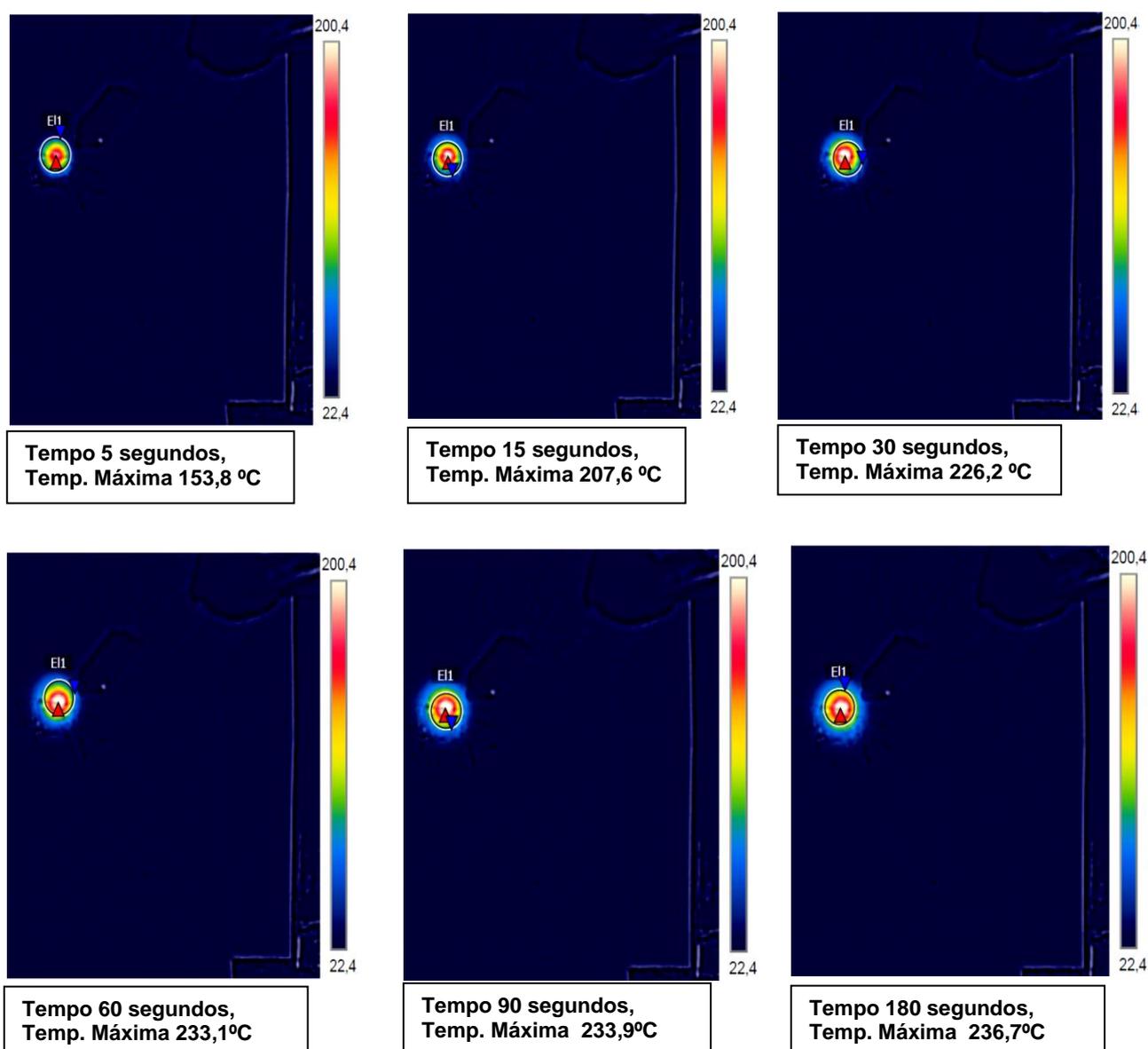


FIGURA 50- NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 50mL DE NPANI ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR $0,5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ DURANTE 3 MINUTOS.

Observou-se que o nanomaterial nPANI@nZIF-8 apresentou um alto poder de conversão fototérmica com a temperatura máxima alcançando cerca de 220°C. Com o intuito de verificar a reprodutibilidade do aquecimento produzido pelo material sólido, o mesmo material foi irradiado em três momentos distintos e apresentou aproximadamente o mesmo perfil de aquecimento como mostrado na Figura 51.

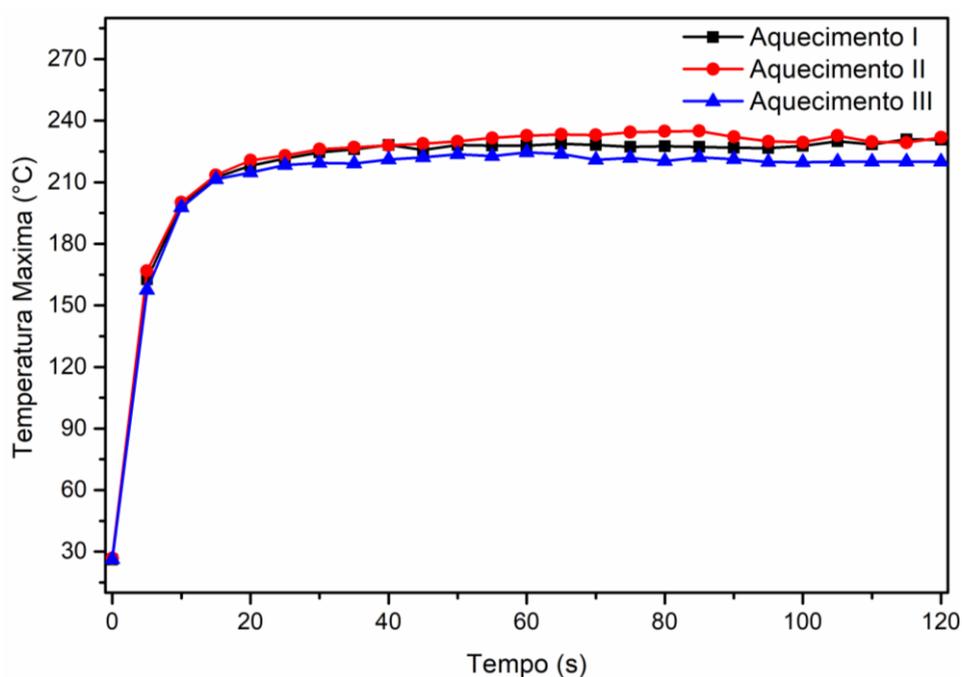


FIGURA 51- GRÁFICO DE AQUECIMENTO DE NPANI@NZIF-8 EM PÓ, SINTETIZADO COM 50ML DE NPANI (0,5 mg. mL⁻¹), SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR 0,5 W.cm⁻².

Analisou-se também o efeito fototermal de nPANI@nZIF-8 (sólido) sintetizado com 5mL de solução nPANI (0,5 mg.mL⁻¹) e 95mL de metanol (Figura 52).

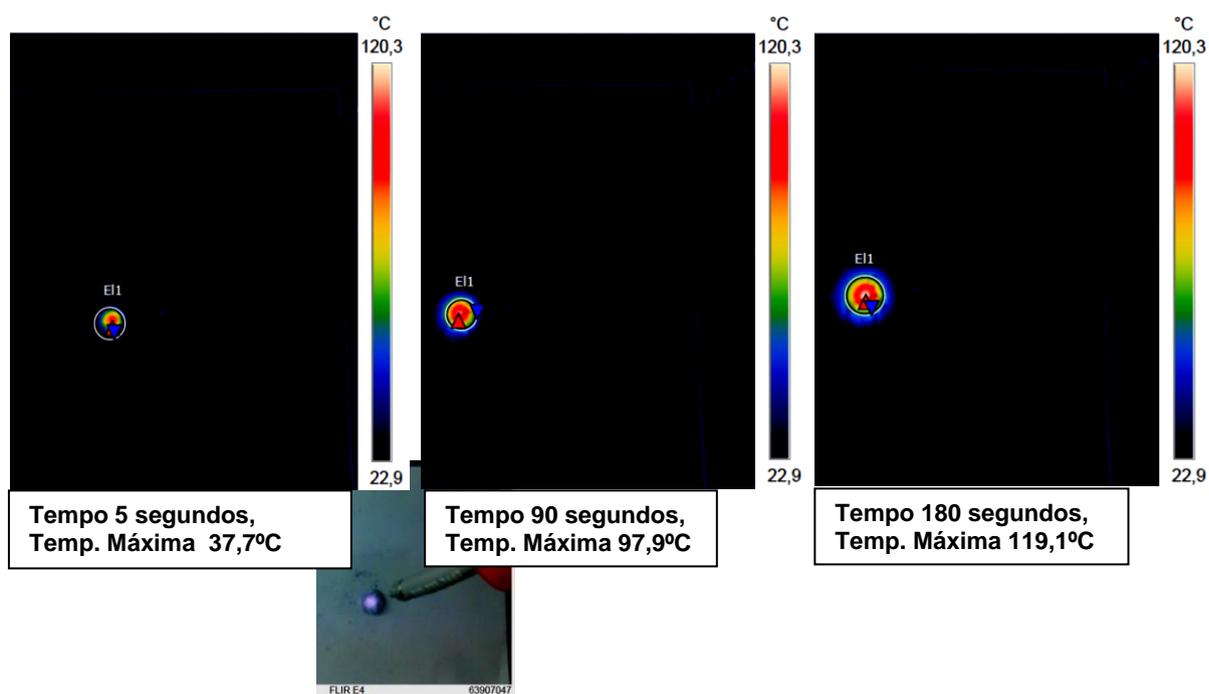


FIGURA 52- NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5mL ($0,5 \text{ mg. mL}^{-1}$) DE NPANI, SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR $0,5 \text{ W.CM}^{-2}$ DURANTE 3 MINUTOS.

Da mesma forma, foi observado um alto poder de conversão fototérmica em nPANI@nZIF-8 com a temperatura máxima alcançando cerca de 120°C .

O nanomaterial sintetizado com 5mL de nPANI também foi irradiado em três momentos distintos e apresentou aproximadamente o mesmo perfil de aquecimento como mostrado na Figura 53.

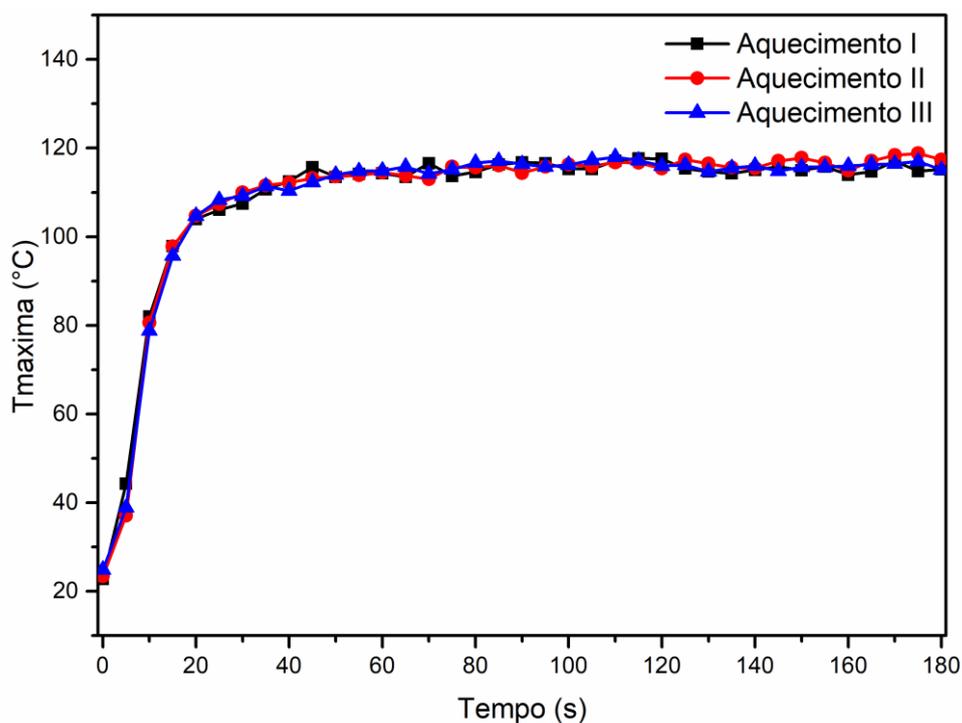


FIGURA 53- GRÁFICO DE AQUECIMENTO DE NPANI@NZIF-8 SINTETIZADO COM 5mL ($0,5 \text{ mg. mL}^{-1}$) DE NPANI, SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR $0,5 \text{ W.cm}^{-2}$ DURANTE 3 MINUTOS.

Com ausência das nanopartículas de polianilina, fez-se imagens termográficas das nZIF-8 puras (Figura 54), para observar o efeito de aquecimento desse material quando irradiado por um laser NIR, $0,5 \text{ W.cm}^{-2}$.

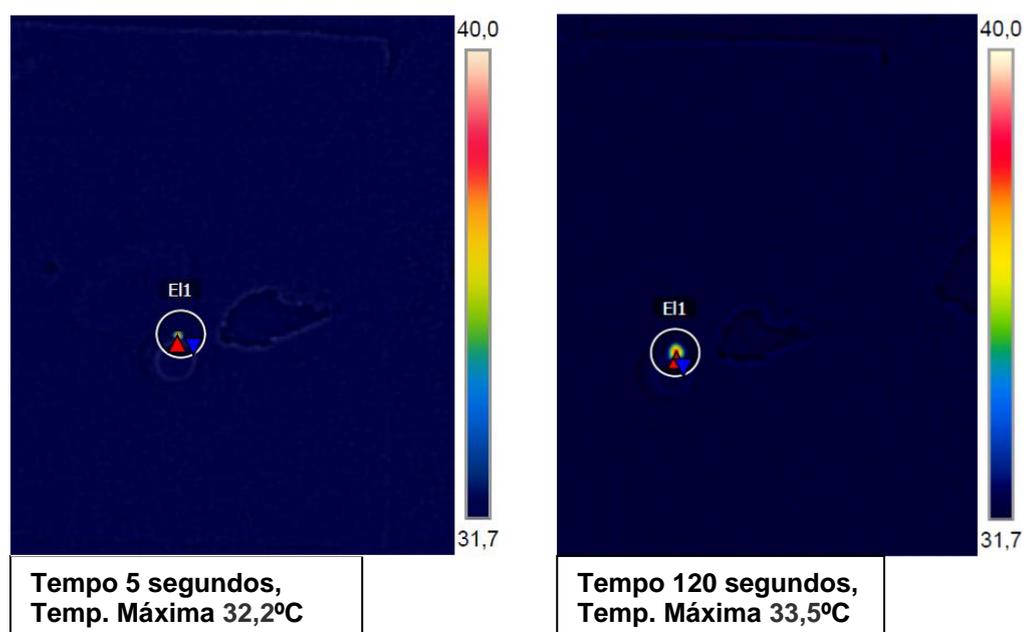


FIGURA 54- IMAGENS TERMOGRÁFICAS DAS NANOPARTÍCULAS DE ZIF-8 SÓLIDAS PURAS SOB IRRADIAÇÃO DO LASER NIR $0,5 \text{ W.cm}^{-2}$

Como previsto, as nanopartículas de ZIF-8 puras não apresentam aquecimento significativo. Atribui-se, portanto, às nanopartículas de polianilina, o aquecimento apresentado pelo sistema nPANI@nZIF-8.

Para posterior aplicação da nPANI@nZIF-8 em ambiente celular cancerígeno se fez necessário o estudo do efeito fototermal em sistema aquoso.

Inicialmente investigou-se a viabilidade celular das células *in vitro* frente a ação do laser NIR ($\lambda=980\text{nm}$) com diferentes densidades de potências de irradiação: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0, 2,5 W/cm^2 . Com esse estudo, observou-se que a irradiação com potência igual ou acima de $1\text{W}/\text{cm}^2$ ocasiona acentuada diminuição da viabilidade celular como mostra na Figura 55.

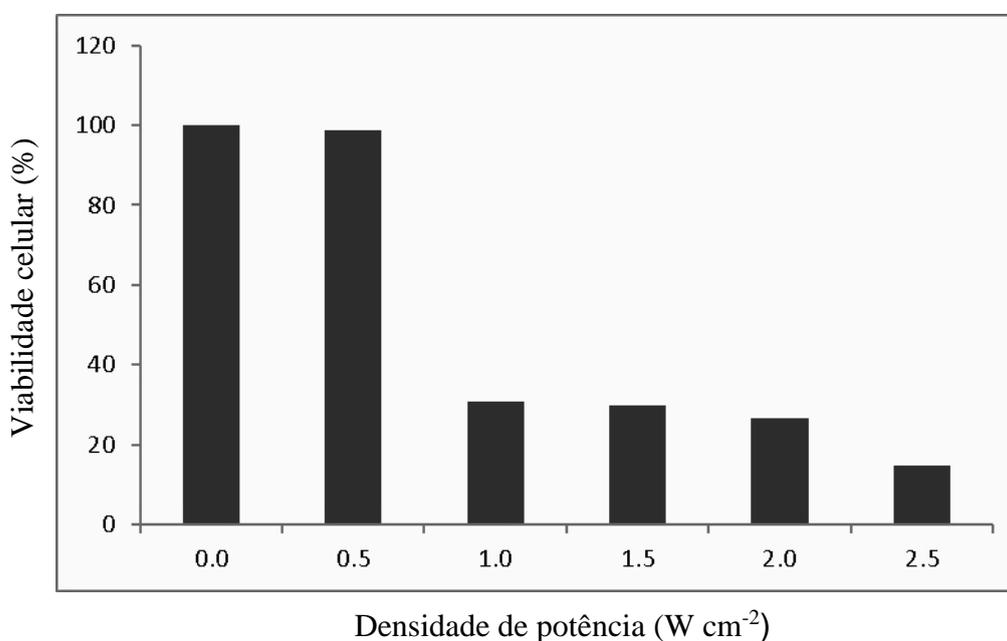


FIGURA 55- TESTE DE VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR ($\lambda=980\text{nm}$)

Devido a esse resultado, houve a repetição do teste de viabilidade celular sob ação apenas do laser NIR com as potências entre 0,5 e $1\text{W}/\text{cm}^2$ (Figura 56). Mais de 93,32% das células MCF cancerosas sobreviveram após a irradiação com laser NIR com uma densidade de potência de 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 W/cm^2 , respectivamente. No entanto, ao aumentar a densidade de potência do laser NIR para $1,0\text{W}/\text{cm}^2$, a viabilidade celular diminuiu para 66,33% de sobrevivência. Esta diminuição da viabilidade celular pode ser atribuída à hipertermia desencadeada pelo laser NIR na densidade de potência alta.

Escolheu-se, portanto, $0,8\text{W}/\text{cm}^2$ como a densidade de potência do laser para os

ensaios fototermais posteriores, pois essa potência apresenta viabilidade celular de 98,62%, ou seja, baixa citotoxicidade para células. A irradiação sobre o meio de cultura celular durante 5min, com essa potência não causa a morte celular, no entanto, pode desencadear o efeito de conversão fototérmica sobre nPANI@nZIF-8.

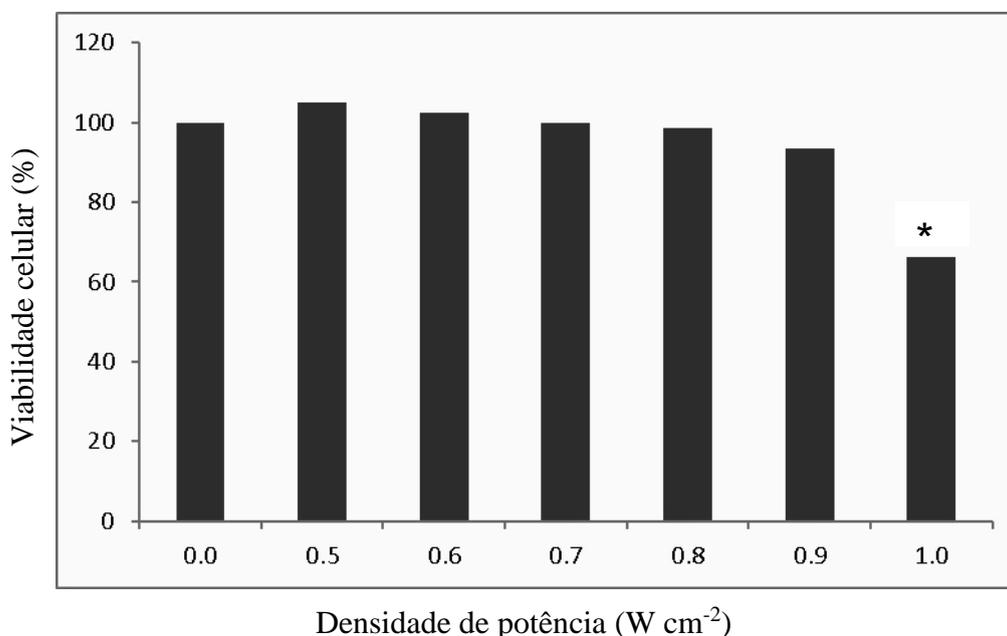


FIGURA 56- TESTE DE VIABILIDADE CELULAR SOB AÇÃO DO LASER NIR ($\lambda=980\text{nm}$)

Após encontrarmos a potência ideal para a viabilidade celular, analisou-se o perfil fototérmico de nPANI@nZIF8, no volume de 200 μL de solução deste nanomaterial com diferentes concentrações: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 mg/mL de nPANI@nZIF8. Esse volume foi colocado nos poços de uma placa para cultura de células. O volume colocado em cada poço foi irradiado sob laser NIR (980nm, 0,8 W.cm⁻²) durante 5 min (Figura 57), a água pura foi selecionada como controle.

É possível observar no perfil fototérmico que a temperatura aumenta com o aumento da concentração de nPANI@nZIF8 e com o aumento do tempo de irradiação.

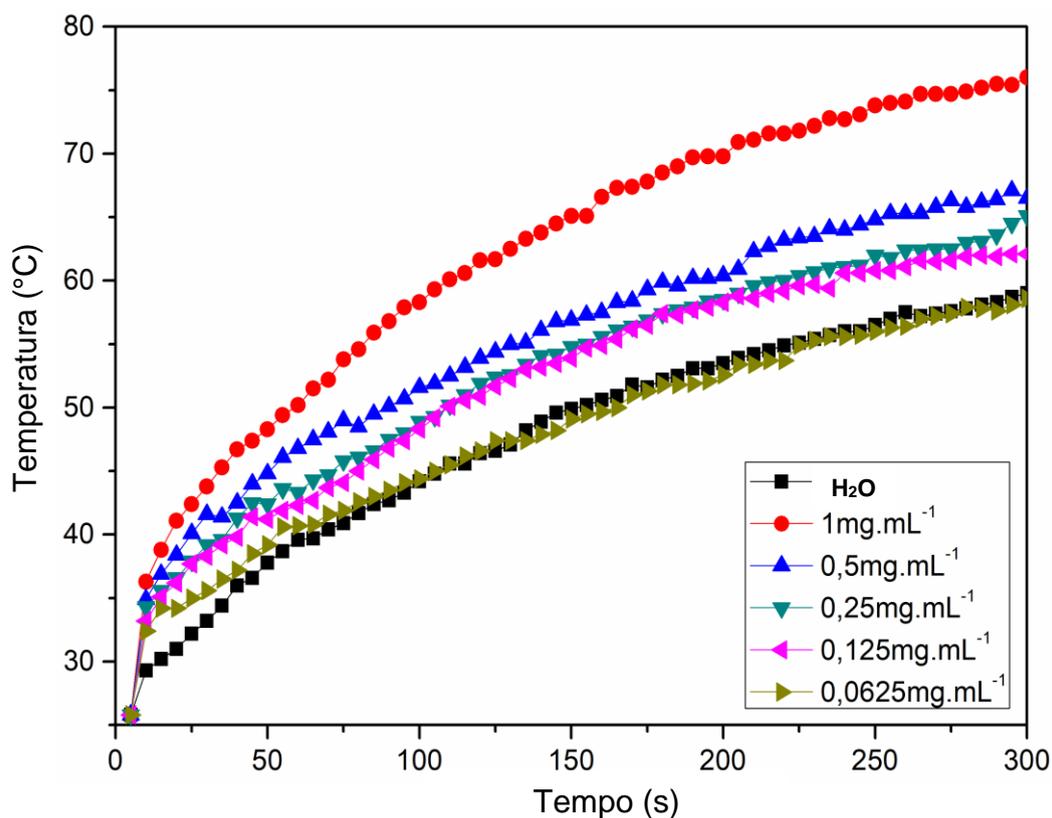


FIGURA 57- EFEITO FOTOTÉRMICO DE NPANI@NZIF8 EM SUSPENSÃO (200µL), DURANTE IRRADIAÇÃO NIR ($\lambda = 980 \text{ nm}$, $0,8 \text{ W. cm}^{-2}$) POR 5 MIN, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 mg / mL. ÁGUA PURA FOI UTILIZADA COMO BRANCO.

Como já mencionado, esse aumento de temperatura acontece quando um material é capaz de converter a energia da radiação eletromagnética absorvida em calor localizado. Esse aquecimento pode ser aproveitado na terapia fototérmica contra o câncer causando hipertermia (aquecimento local entre 41 e $48 \text{ }^\circ\text{C}$)¹³⁰ ou para ablação do tumor (temperaturas acima de $48 \text{ }^\circ\text{C}$)¹³¹.

O uso de laser de 980nm tem algumas vantagens em comparação à lasers com comprimentos de onda menores. Por exemplo, o limite conservador da intensidade do laser de 980 nm definido para a exposição da pele humana é $\sim 0,726 \text{ W cm}^{-2}$, que é mais do que o dobro ($\sim 0,33 \text{ W cm}^{-2}$) do laser de 808 nm , com base no American National Standard para o uso seguro de lasers. Assim, a profundidade de irradiação do laser a 980nm pode ser de vários centímetros em tecidos biológicos¹³². Além disso, a potência do laser utilizada no nosso trabalho ($0,8 \text{ W/cm}^2$), necessária para causar um aquecimento significativo e com alta viabilidade celular ($\sim 98\%$), é menor do que a relatada em outro trabalho publicado na literatura com o uso do laser 980nm ¹³².

4.3.2 NPANI@NZIF-8 COMO NANOCARREADOR DO FÁRMACO 5-FLUORACIL (NPANI@NZIF-8/5-FU)

O fármaco 5-Fu foi selecionado como modelo antitumoral pelo seu tamanho pequeno, além de ser amplamente utilizado para o tratamento de câncer colorretal, mama, cabeça e pescoço¹²⁸. A espectroscopia de absorção UV-Vis foi utilizada para determinar a capacidade efetiva de armazenamento de 5-Fu em nPANI@nZIF8.

Devido à presença das nanopartículas de polianilina, houve uma diminuição elevada no volume dos mesoporos da rede metalográfica nZIF-8. Portanto, o carregamento da droga 5-Fu ocorreu preferencialmente nos microporos (vide Tabela 1, do item 3.4.4). Com base no volume de microporos, as nanopartículas nPANI@nZIF8, possuem capacidade para serem excelentes carreadores de fármacos.

Os espectros de absorção UV-Vis da solução “mãe” do fármaco 5-Fu (zero horas) e o teor residual de 5-Fu no sobrenadante após 48 horas de interação com nPANI@nZIF8, são apresentados na Figura 58. As alíquotas foram analisadas por UV-vis e o fármaco 5-FU foi quantificado usando uma curva de calibração com $R^2 = 0,9967$.

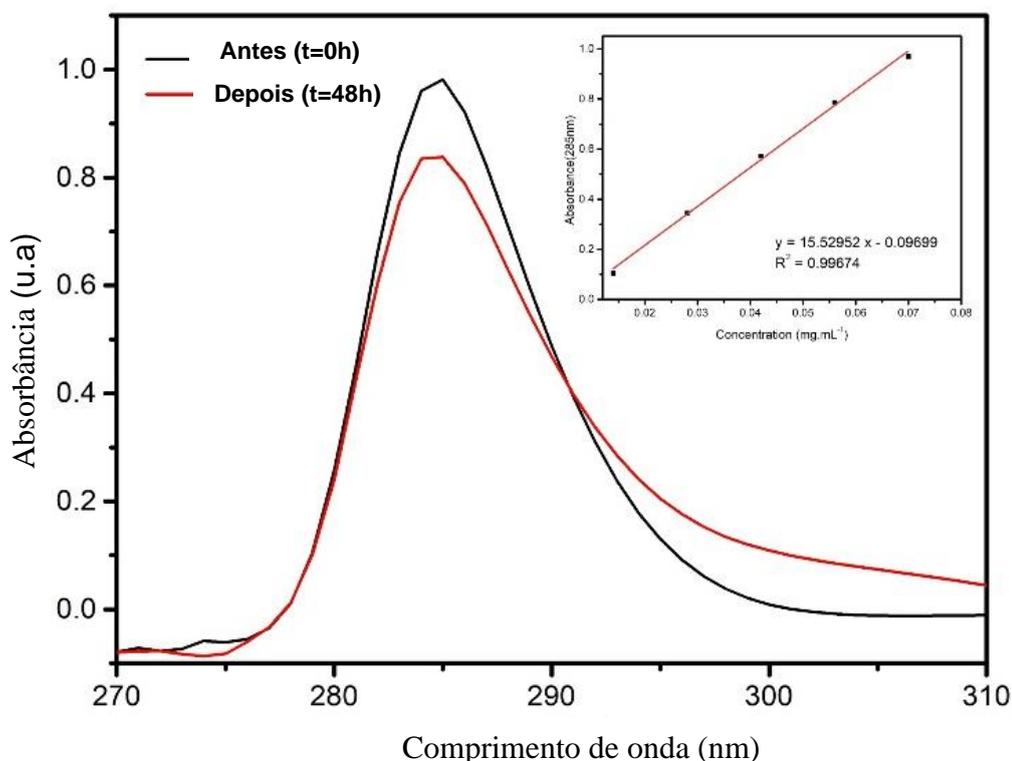


FIGURA 58- ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA DROGA 5-FU ANTES E DEPOIS DO CONTATO COM AS NANOPARTÍCULAS PANI ZIF8 (48H). JUNTAMENTE, A CURVA DE CALIBRAÇÃO 5-FU A 285nm.

Considerando a concentração inicial do 5-FU, 60 mg. mL^{-1} , e a concentração do fármaco sobrenadante, $47,8 \text{ mg. mL}^{-1}$ após 48h de contato com nPANI@nZIF-8, o processo adsorptivo foi eficaz em 20,22% pelo método analítico adsorptivo.

Investigou-se a eficiência de encapsulamento do fármaco pelo método de decomposição de 1mg do nanomaterial carregado (nPANI@nZIF8/5FU). A massa do fármaco 5-FU contida em 1mg de nPANI@nZIF8/5FU é de $\sim 0,273 \text{ mg}$. Logo, $10,92 \text{ mg}$ de 5-FU foi carregado em 40 mg de nPANI@nZIF8. Esse valor de $10,92 \text{ mg}$ equivale a 18,2% em relação aos 60 mg de 5-Fu total injetado no início do processo adsorptivo. Essa pequena divergência entre os resultados, 18,2% e 20,22%, sugere que o processo de adsorção não é completamente homogêneo em toda extensão da massa de nPANI@nZIF8/5FU.

A capacidade de carregamento do 5-FU em nPANI@nZIF-8/5Fu (DLC%) foi de 27,3%, calculado pelo método de decomposição de 1mg do material carregado com fármaco. Porém, de acordo com a curva cinética de adsorção (Figura 59) a carga de 5-Fu carregado é de $0,305 \text{ mg. mg}^{-1}$ de nPANI@nZIF8, resultando em um DLC de 30,5%.

TABELA 3- VALORES COMPARATIVOS DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DO FÁRMACO (DEE%) E DO CARREAMENTO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF8 (DLC%) POR CINÉTICA DE ADSORÇÃO E POR DECOMPOSIÇÃO DE 1MG DO MATERIAL CARREADO.

	Curva cinética de adsorção (Análise do sobrenadante)	Decomposição de 1mg do material carregado (nPANI@nZIF8/5FU)
DEE(%)	20,22%	18,17%
DLC(%)	30,5%	27,2%

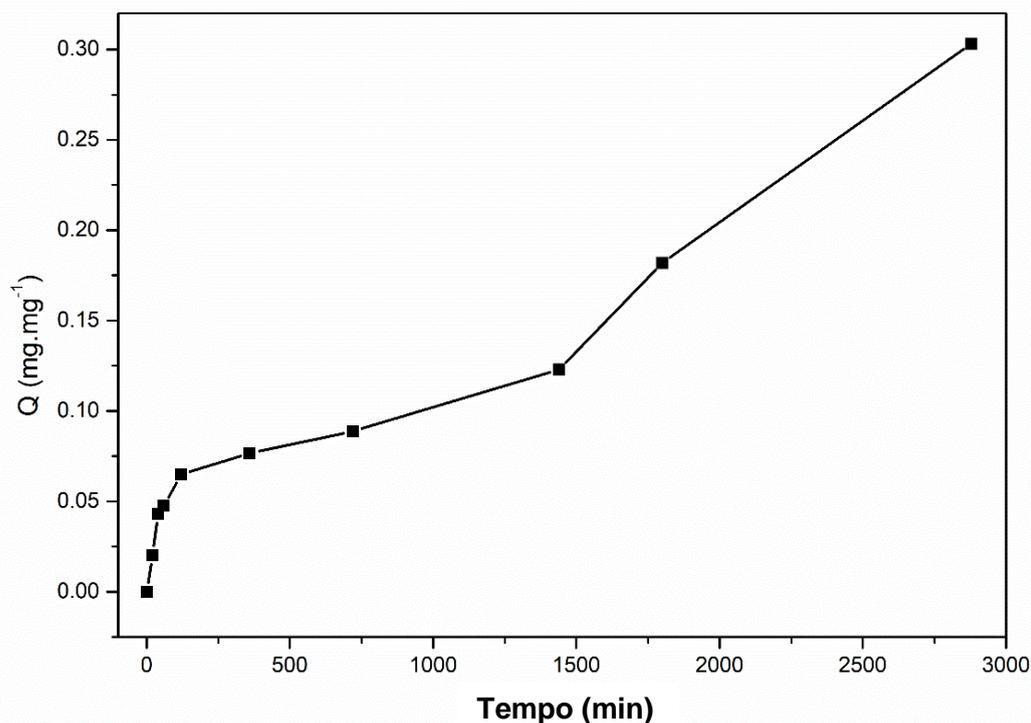


FIGURA 59- CURVA CINÉTICA DE ADSORÇÃO DO FÁRMACO 5-FU EM NPANI@NZIF-8

O processo de adsorção^{133,134} resulta da interação entre a molécula a ser adsorvida e o material adsorvente, em nosso caso, o nPANI@nZIF-8 e o 5-Fu. Estas interações, em geral, são fracas (fisiossorção). A difração de raios-X mostra-se eficaz para investigar essas variações cristalinas. Portanto, foi realizada a análise de DRX para o sistema nPANI@nZIF-8/5-Fu, Figura 60, visando observar alteração estrutural do sistema nPANI@nZIF-8 devido a presença do fármaco.

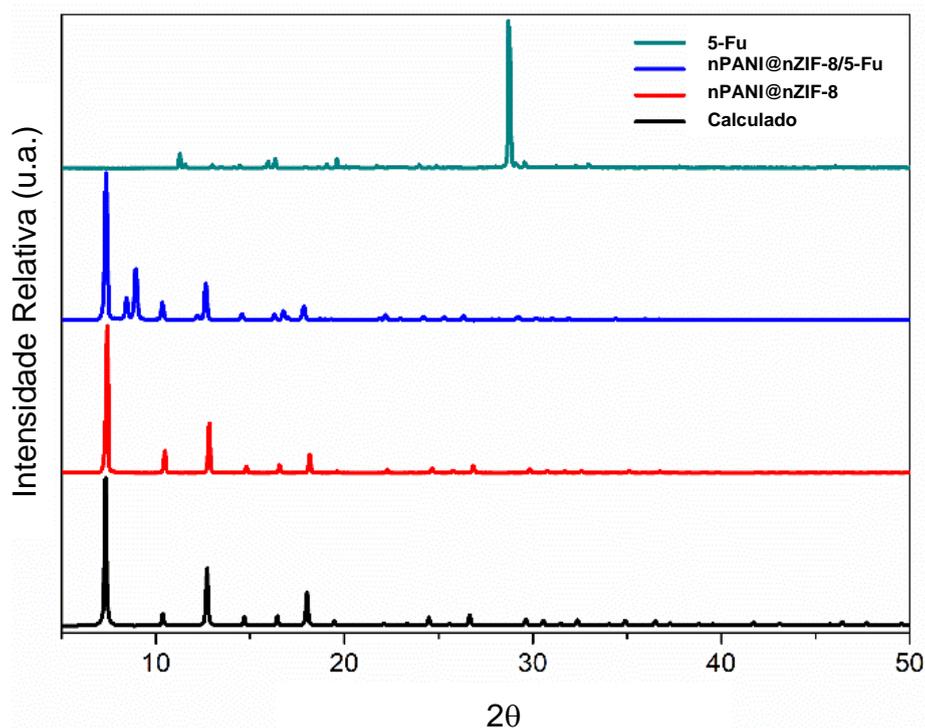


FIGURA 60- SOBREPOSIÇÃO DAS ANÁLISES DE DRXS, ANTES (NPANI@NZIF-8) E APÓS (NPANI@NZIF-8/5-FU) A INCORPORAÇÃO DO FÁRMACO 5-FU.

Entretanto, a incorporação do 5-FU em nPANI@nZIF-8 mantém a cristalinidade da rede como mostrado na Figura 60. Chun-Yi Sun e colaboradores também relatou em seu trabalho a preservação da cristalinidade da rede ZIF-8 pura no processo de incorporação da droga 5-Fu¹²⁸. O difratograma mostra os picos característicos pertencentes a rede ZIF-8.

O espectro de infravermelho indica a incorporação da molécula de fármaco após o carregamento de 5-FU em nPANI@nZIF-8. Foram observados picos novos pertencentes ao fármaco¹⁰ (Figura 61). O pico de 1275 cm^{-1} pertence à faixa de estiramento C-F, O estiramento da carbonila do 5-FU ($\text{C}=\text{O}$) em 1650 cm^{-1} , e a banda -NH do 5-Fu a $3000\text{ a }3500\text{ cm}^{-1}$.

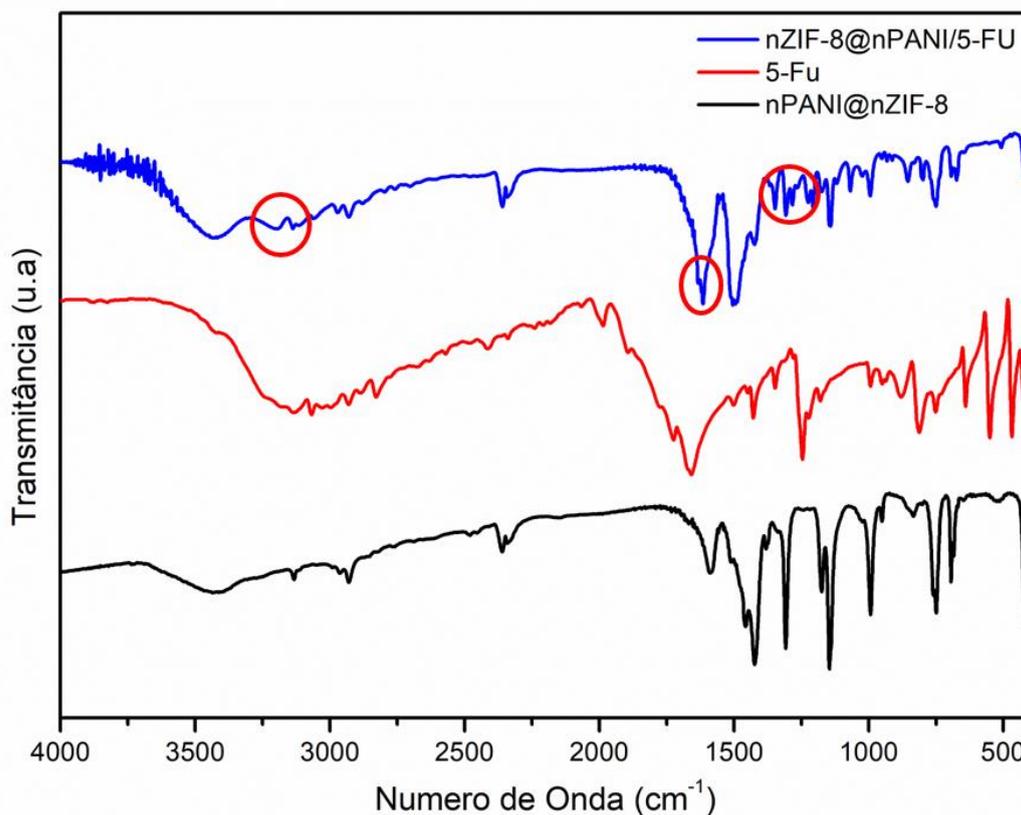


FIGURA 61- SOBREPOSIÇÃO DE IV DE NPANI@NZIF-8, 5-FU E NPANI@NZIF-8/5-FU

4.3.3 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO 5-FLUORACIL

A liberação do fármaco foi realizada em soluções PBS com pH 7,2 e 5,2, além do sistema em pH 5,2 sob a irradiação laser NIR ($\lambda = 980 \text{ nm}$, $0,8 \text{ W.cm}^{-2}$). A Figura 62 apresenta os perfis de liberação do fármaco 5-Fu a partir do nanomaterial nPANI@nZIF-8/5-Fu.

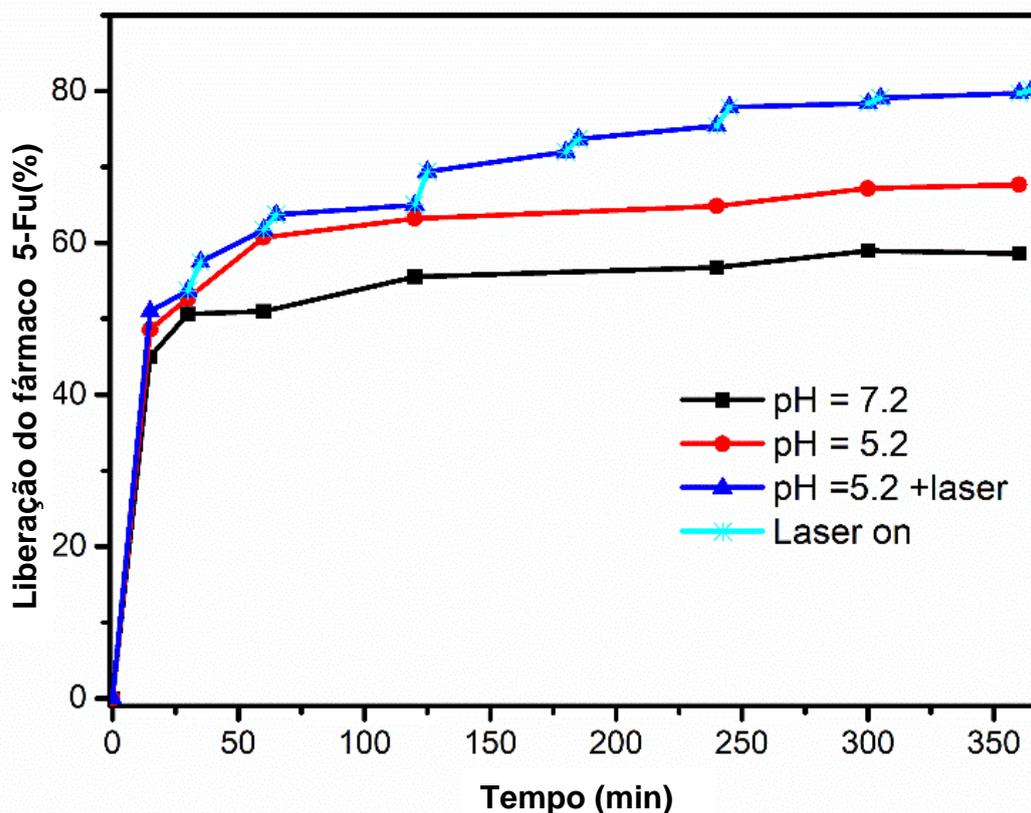


FIGURA 62- PERFIS DE LIBERAÇÃO DE 5-FU, DO SISTEMA INCORPORADO NPANI@NZIF-8/5-FU, EM SOLUÇÕES TAMPÃO COM PH 7.2, PH 5.2 E PH 5.2 + IRRADIAÇÃO ON/OFF DO LASER NIR (980 NM, 0,8 W.cm²)

Aproximadamente 58% e 68% do fármaco encapsulado foram liberados a pH 7,2 e pH 5,2, respectivamente, após 6h (Figura 62). A liberação do 5-Fu apresentou a melhor resposta em pH mais baixo e esse resultado está associado à decomposição parcial ou total do nZIF-8 como já foi relatado em vários outros trabalhos¹³⁶⁻¹³⁹. Esse comportamento da rede nZIF-8 frente ao pH torna o nanomaterial, nPANI@nZIF-8, um sistema, em potencial, de entrega de medicamentos sensível ao pH para a terapia do câncer. Em geral, as células tumorais apresentam um meio ácido¹⁴⁰ (pH 4,5-6,0), portanto, este é o local onde haverá uma maior entrega do medicamento.

Sob a ação do laser NIR, o perfil de liberação cumulativa do fármaco 5-Fu nas soluções tampão pH 5,2, atingiu 80%. Este aumento, mostra que a irradiação NIR favorece significativamente a liberação do 5-Fu.

A temperatura é um fator importante no controle da taxa de difusão das moléculas de fármaco em um polímero¹⁴¹. A absorção da luz NIR pela polianilina provoca hipertermia local, que auxilia a difusão das moléculas de fármaco contidas pelo polímero nas nanopartículas nPANI @ nZIF-8/5-Fu.

Falcaro e colaboradores sugere também que o efeito fototérmico é utilizado para interromper as interações não covalentes entre fármaco-carreador, resultando na liberação, do tipo gatilho, da droga em questão, por efeito do aquecimento local¹⁴².

4.3.4 CITOTOXICIDADE DO NANOMATERIAL NPANI@NZIF-8 *IN VITRO*

As células MCF7 foram tratadas com diferentes concentrações (0-1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$) de nanopartículas nPANI@nZIF-8 durante 72 h e, em seguida, um teste MTT foi utilizado para medir a atividade mitocondrial nas células viáveis. A Figura 63 mostra concentrações entre 62,5 a 250 $\mu\text{g} / \text{ml}$ demonstrando porcentagens das células viáveis em 80%, sugerindo que não há citotoxicidade apreciável de nPANI@nZIF-8 até 250 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Contudo, concentrações superiores a 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ diminuíram a viabilidade celular. Por conseguinte, o ensaio *in vitro* de terapia quimio-fototérmica foi realizado em concentrações de 125 e 250 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

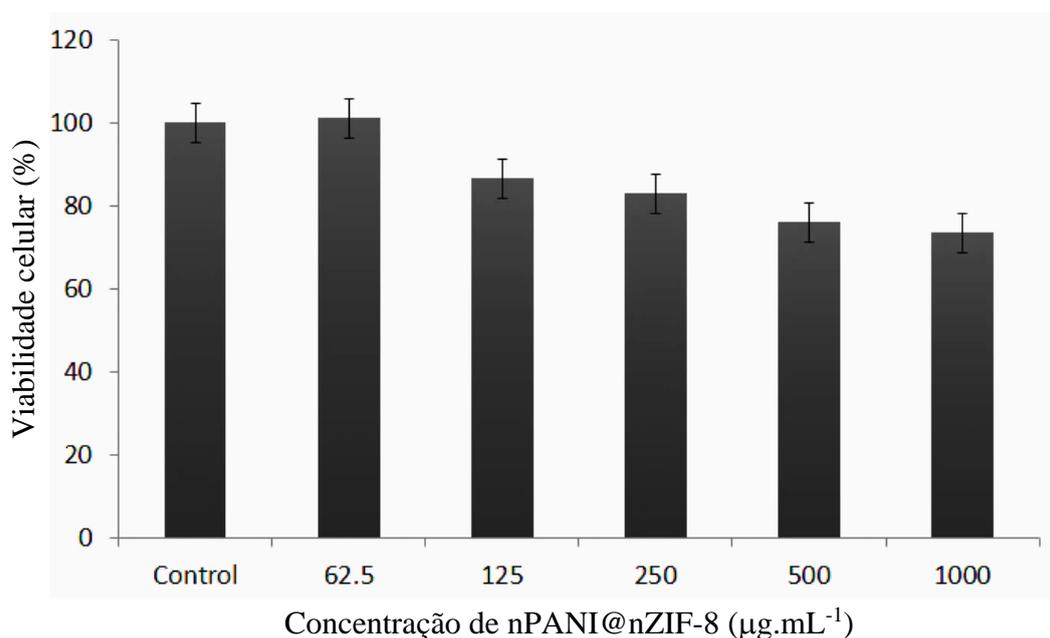


FIGURA 63- VIABILIDADE CELULAR DE CÉLULAS MCF7 APÓS 72 HORAS DE INCUBAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS NPANI@NZIF-8 A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, MEDIDA POR MEIO DE UM ENSAIO MTT. OS VALORES SÃO MOSTRADOS COMO MÉDIA \pm DP.

4.3.5 TERAPIA QUIMIOFOTOTERMAL DE NPANI@NZIF-8/5-FU IN VITRO

Investigou-se o efeito sinérgico quimio-fototermal in vitro do sistema multifuncional nPANI@nZIF-8/5-Fu. As células MCF7 foram tratadas por 72h com 5-Fu livre (0,0625 $\mu\text{g/ml}$) e com os grupos nPANI@nZIF-8 (125 e 250 $\mu\text{g/ml}$) e nPANI@nZIF-8/5FU+NIR (durante 5 min a 0,8 W. cm^{-2}) nas mesmas concentrações (125 e 250 $\mu\text{g/ml}$).

Nas concentrações estudadas, nPANI@ nZIF-8 manteve a viabilidade celular acima de 80%. Em contraste, a citotoxicidade do nPANI@nZIF-8 carregado com 5-Fu foi significativa, reduzindo a viabilidade para 70,32 e 58,98% nas concentrações de 125 e 250 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Os nanomateriais carregados com 5-Fu, mostraram-se mais eficiente do que o fármaco livre.

Quando a irradiação NIR foi aplicada para tratar células MCF7 após incubação com as nanopartículas nPANI@nZIF-8/5-Fu, a viabilidade celular diminuiu significativamente, aproximadamente 50 e 33%, nas concentrações de 125 e 250 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Isso demonstra a eficácia do uso de laser NIR, sobre o nanomaterial carregado, apresentando um potencial efeito sinérgico terapêutico.

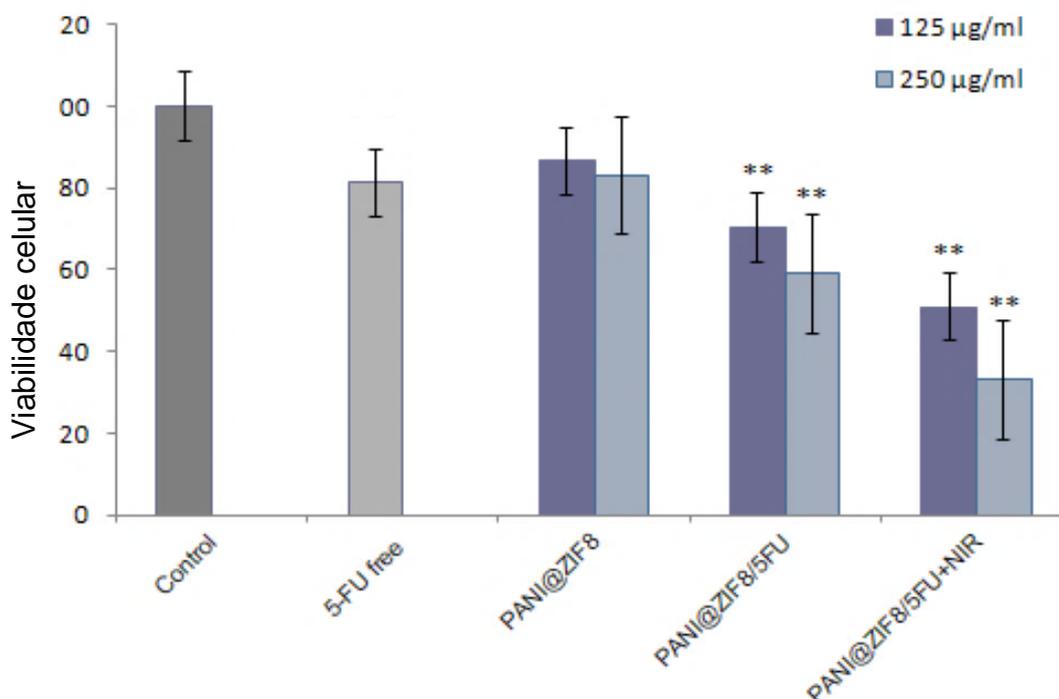


FIGURA 64- CITOTOXICIDADE IN VITRO DE 5-FU PURO, NPANI@NZIF-8, NPANI@NZIF8/5-FU E NPANI@ NZIF8/5-FU+NIR, NAS CONCENTRAÇÕES 0,25 E 0,125 MG/ML, EM CÉLULAS MCF7 APÓS 72 HORAS DE INCUBAÇÃO. OS VALORES SÃO MOSTRADOS COMO MÉDIA \pm DP; N = 4, * P <0,05, ** P <0,01.

De acordo com Tian¹³⁶ e colaboradores, o uso de ZIF-8 funcionalizado, com absorventes de fótons, localizados em tumores, ao serem irradiados, causam dano celular irreversível e posterior destruição do tumor, devido a conversão da energia irradiada do infravermelho próximo (NIR), em calor. Isso contribui para a sua utilização em plataformas multifuncionais para a combinação de terapia de liberação de fármacos e terapia fototérmica e, assim, aumenta-se a eficácia no tratamento do câncer.

Assim, pode-se concluir que as nanopartículas nPANI@nZIF-8/5-Fu, apresentaram atividade, quimiofototérmica nas células de câncer de mama.

4.3.6 CONCLUSÕES PARCIAIS

Baseando-se nos resultados apresentados, o nanomaterial nPANI@nZIF-8, apresenta potencial para ser usado na terapia quimio-fototermal do câncer.

O nanomaterial alcançou a temperatura máxima de 120°C, no estado sólido, quando irradiado por um laser NIR ($\lambda=980\text{nm}$, $0,5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$). Em suspensão aquosa, a hipertermia foi monitorada em um volume de 200 μL , com diferentes concentrações de nPANI@nZIF-8, e a maior concentração ($1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), alcançou a temperatura máxima de 70°C.

O processo adsortivo do carreamento do fármaco 5-Fu, alcançou uma eficiência de encapsulação (%DEE) de cerca de 20% em relação ao fármaco injetado, e a capacidade de carreamento do 5-FU (DLC%) cerca de 30% ($0,3\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$) em relação ao nanomaterial carreador nPANI@nZIF-8. Verificou-se através da análise de infravermelho novos picos pertencentes ao fármaco 5-Fu, confirmando o processo adsortivo.

O perfil de liberação do fármaco que apresentou melhor resultado ocorreu em pH ácido, e sob irradiação do laser NIR com um método “on-off”, atuando durante 5 minutos, em tempos pré-determinados, por um período de 6 horas atingindo aproximadamente 80% de liberação do fármaco carreado.

Nos ensaios em vitro, a viabilidade celular (MCF7) diminuiu significativamente, para aproximadamente 33%, após incubação com nPANI @ nZIF-8/5-FU e ação laser NIR a $0,8 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ por 5 minutos. Esse comportamento observado, revela a ação simultânea, da liberação efetiva do fármaco 5-Fu e da ação fototérmica, exibida pelo material, nPANI@nZIF-8, um promissor sistema multifuncional na terapia do câncer.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente trabalho desenvolveu um sistema multifuncional nanométrico, nPANI@nZIF-8, que possui ação simultânea, como nanocarreador do fármaco 5-Fu e como agente fototérmico, na terapia do câncer.

A natureza metal-orgânica das MOFs, consentem a esses materiais, a possibilidade de serem usados como suporte para o desenvolvimento de materiais multifuncionais. A MOF nano ZIF-8 investigada neste estudo, apresenta elevada porosidade e área superficial sendo amplamente usado como carreador de fármaco bem como excelentes adsorventes gasosos.

O carregamento do fármaco foi alcançado e a liberação do fármaco 5-Fu do sistema, nPANI@nZIF-8/5-Fu, sob ação do laser NIR foi potencializada e induzida por aquecimento local, de acordo com os resultados analisados. Isso revela potencial para aplicações de liberação controlada e fotoinduzida de fármacos. Na terapia quimiofototermal in vitro, observou-se uma redução significativa da viabilidade celular das células cancerígenas. No entanto, como perspectiva para esse tópico, necessitamos realizar a análise de microscopia confocal para elucidar o mecanismo de morte das células MCF7.

Nosso trabalho contribuiu na construção de uma nova plataforma quimio-fototérmica a ser empregada na terapia do câncer e serve como ponto de partida para o desenvolvimento de outros sistemas multifuncionais envolvendo diferentes MOFs e polianilina, bem como, outros fármacos a serem carregados afim de obter resultados ainda mais significativos no que tange a ideia da terapia do câncer.

Como perspectiva para novos sistemas multifuncionais, iniciamos a síntese da nano MOF Eu(BTC) in situ, nas soluções coloidais de nanopartículas de polianilina, a fim de unir as propriedades luminescentes e fototérmicas, desses materiais respectivamente. Como perspectiva iremos caracterizar esse material e buscar a sua utilização como termômetro luminescente fototérmico.

Nós acreditamos que o uso de nanopartículas de polianilina com MOFs amplia as possibilidades de aplicação. Futuras investigações ainda serão feitas para obtenção do coeficiente de extinção molar (Q_{ext}) e a eficiência de conversão fototérmica (η) do sistema nPANI@nZIF-8.

REFERÊNCIAS

1. Siegel, R.L., Miller K.D., Jernal A., Cancer Statistics. *A cancer journal for clinicians*. **65**(1), 5-29 (2015).
2. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br>> Acesso em novembro 2017.
3. Gupta, G.P., Massagué, M., Cancer metastasis: building a framework, *Cell Press*, **127**(4), 679-695 (2006).
4. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). *Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA (2015).
5. Cooper G.M., The Development and Causes of Cancer, *The Cell: A Molecular Approach*, 2nd edition, Sunderland (MA): Sinauer Associates (2000).
6. Leger, P., Limper, A. H., Maldonado, F., Pulmonary toxicities from conventional chemotherapy, *Clinics in Chest Medicine*, **38**(2), 209-222 (2017).
7. Brasil, Ministério da Saúde, SIA/SUS sistema de informações ambulatoriais, *oncologia: manual de bases técnicas*, **22**. ed. Brasília, DF (2016).
8. Yu, M.K., Jeong, Y.Y., Park, J., Park, S., Kim, J.W., Min, J.J., Kim, K., Jon, S., Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo, *Angew. Chem. Int.* **47**, 5362–5365 (2008).
9. Cao, J., Chen, D., Huang, S., Deng, D., Tang, L., Gu, Y., Multifunctional near-infrared light-triggered biodegradable micelles for chemo- and photo-thermal combination therapy, *Oncotarget*, Vol. **7**, (No. 50), 82170-82184. (2016).
10. Fu, Y., Liu, H., Ren, Z., Li, X., Huang, J., Best, S., Han, G., Luminescent CaTiO₃:Yb, Er Nanofibers Co-conjugated with Rose Bengal and Gold Nanorods for Potential Synergistic Photodynamic/Photothermal Therapy, *J. Mater. Chem. B*, **5**, 5128-5136 (2017).
11. Sailor, M. J., Park, J. H., Hybrid Nanoparticles for Detection and Treatment of Cancer, *Adv. Mater.*, **24**, 3779–3802 (2012).
12. Li, C., Chen, T., Ocoy, I., Zhu, G., Yasun, E., You, M., Wu, C., Zheng, J., Song, E., Huang, C. Z., Tan, W., Gold-Coated Fe₃O₄ Nanoroses with Five Unique Functions for Cancer Cell Targeting, Imaging, and Therapy, *Adv. Funct. Mater.*, **24**, 1772–1780 (2014).
13. Zhang, Z., Wang, L., Wang, J., Jiang, X., Li, X., Hu, Z., Ji, Y., Wu, X., Chen, C., Mesoporous silica-coated gold nanorods as a light mediated multifunctional theranostic platform for cancer treatment, *Adv. Mater.*, **24**, 1418–1423 (2012).
14. He, M., Zhou, J., Chen, J., Zheng, F., Wang, D., Shi, R., Guo, Z., Wang, H., and Chen, Q., Fe₃O₄@carbon@zeolitic imidazolate framework-8 nanoparticles as multifunctional pH-responsive drug delivery vehicles for tumor therapy in vivo, *J. Mater. Chem. B*, **3**, 9033-9042 (2015).
15. Tian, Z., Yao, X., and Zhu, Y., Simple synthesis of multifunctional zeolitic imidazolate frameworks-8/graphene oxide nanocrystals with controlled drug release and photothermal effect, *Microporous and Mesoporous Materials*, **237**, 160 (2017).
16. Wu, L., Wu, M., Zeng, Y., Zhang, D., Zheng, A., Liu, X. and Liu, J., Multifunctional PEG modified DOX loaded mesoporous silica nanoparticle@CuS nanohybrids as photo-thermal agent and thermal-triggered drug release vehicle for hepatocellular carcinoma treatment, *Nanotechnology*, **26**, 25102 (2015).
17. Chen, H., Di, Y., Chen, D., Madrid, K., Zhang, M., Tian, C., Tang, L., and Gu, Y., Combined chemo- and photo-thermal therapy delivered by multifunctional theranostic gold nanorod-loaded microcapsules, *Nanoscale*, **7**, 8884 (2015).

18. Wang, K., Chen, Q., Xue, W., Li, S., and Liu, Z., Combined chemophotothermal anti-tumor therapy using molybdenum disulfide modified with hyperbranched polyglycidyl, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **3** (10), 2325–2335 (2017).
19. Yu-Da, Z., Su-Ping, C., Zhao, H., Yang, Y., Xiao-Qin, C., Sun, J., Hong-Song, F., and Xing-Dong, Z., PPy@MIL-100 Nanoparticles as a pH- and Near-IR-Irradiation-Responsive Drug Carrier for Simultaneous Photothermal Therapy and Chemotherapy of Cancer Cells, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**, 34209 (2016).
20. Terry, H., Ling, T., Yan, Z., Phd1, Matthew, H., Ji-Xin, C., Phd1,2, and Alexander, W., Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells, *Nanomedicine*, **2**(1): 125 (2007).
21. Tian, Q., Tang, M., Sun, Y., Zou, R., Chen, Z., Zhu, M., Yang, S., Wang, J. and Hu, J., Hydrophilic Flower-Like CuS Superstructures as an Efficient 980 nm Laser-Driven Photothermal Agent for Ablation of Cancer Cells, *Adv. Mater.*, **23**, 3542–3547 (2011).
22. Melancon, M.P., Zhou, M., Li, C., Cancer theranostics with near-infrared light activatable multimodal nanoparticles, *Acc Chem. Res.*, **44**(10):947-956 (2011).
23. Zhou, J., Lu, Z., Zhu, X., Wang, X., Liao, Y., Ma, Z., Li, F., NIR photothermal therapy using polyaniline nanoparticles, *Biomaterials*, **34**, 9584-9592 (2013).
24. Kuo, W.S., Chang, Y.T., Cho, K.C., Chiu, K.C., Lien, C.H., Yeh, C.S., Gold nanomaterials conjugated with indocyanine green for dual-modality photodynamic and photothermal therapy, *Biomaterials*; **33**(11):3270-8 (2012).
25. Wu, W., Shen, J., Banerjee, P., Zhou, S., Water-dispersible multifunctional hybrid nanogels for combined curcumin and photothermal therapy, *Biomaterials*, **32**(2),598-609 (2011).
26. Fang, W., Tang, S., Liu, P., Fang, X., Gong, J., Zheng, N., Pd nanosheet-covered hollow mesoporous silica nanoparticles as a platform for the chemophotothermal treatment of cancer cells, *Small*; **8** (24), 3816-22 (2012).
27. Lambert, T.N., Andrews, N.L., Gerung, H., Boyle, T.J., Oliver, J.M., Wilson, B.S., Water-soluble germanium (0) nanocrystals: cell recognition and near-infrared photothermal conversion properties, *Small*, **3**(4),691-9 (2007).
28. Hessel, C.M., Pattani, V.P., Rasch, M., Panthani, M.G., Koo, B., Tunnell, J.W., Copper selenide nanocrystals for photothermal therapy, *Nano Lett*, **11**(6):2560-6 (2011).
29. Zhou, F., Wu, S., Song, S., Chen, W.R., Resasco, D.E., Xing, D., Antitumor immunologically modified carbon nanotubes for photothermal therapy, *Biomaterials* **33**(11),3235-42 (2012).
30. Robinson, J.T., Tabakman, S.M., Liang, Y., Wang, H., Casalongue, H.S., Vinh, D., Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-infrared absorbance for photothermal therapy, *J. Am. Chem. Soc.*,**133**(17),6825-31(2011).
31. Yang, K., Feng, L., Shi, X., Liu, Z., Nano-graphene in biomedicine: theranostic applications, *Chem. Soc. Rev.*, **42**(2),530-47 (2013).
32. Zha, Z., Yue, X., Ren, Q., Dai, Z., Uniform polypyrrole nanoparticles with high photothermal conversion efficiency for photothermal ablation of cancer cells, *Adv. Mater.*, **25**(5),777-82 (2013).
33. Yang, K., Xu, H., Cheng, L., Sun, C., Wang, J., Liu, Z., In vitro and in vivo near-infrared photothermal therapy of cancer using polypyrrole organic nanoparticles. *Adv. Mater.*, **24**(41),5586-92 (2012).

34. Chen, M., Fang, X., Tang, S., Zheng, N., Polypyrrole nanoparticles for highperformance in vivo near-infrared photothermal cancer therapy, *Chem. Commun.*, **48**(71), 8934-6 (2012).
35. Chen, H., Liu, Z., Li, S., Su, C., Qiu, X., Zhong, H. and Guo, Z., Fabrication of Graphene and AuNP Core Polyaniline Shell Nanocomposites as Multifunctional Theranostic Platforms for SERS Real-time Monitoring and Chemo-photothermal Therapy, *Theranostics*, **6**(8), 1096-1104 (2016).
36. Yang, J., Choi, J., Bang, D., Kim, E., Lim, Eun-K., Park, H., Suh, Jin-S., Lee, K., Yoo, Kyung-H., Kim, Eun-K., Huh, Yong-M., and Haam, S., Convertible Organic Nanoparticles for Near-Infrared Photothermal Ablation of Cancer Cells, *Angew. Chem. Int.*, **50**, 441– 444 (2011).
37. Bhadra, S., Khastgir, D., Singhaa, N. K., Leeb, J. H., Progress in preparation, processing and applications of polyaniline, *Progress in Polymer Science*, **34** 783–810 (2009).
38. Heeger A.J., Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials (nobel lecture), *Angew Chem. Int.*, **40**(14), 2591-611 (2001).
39. Huang, J., Virji, S., Weiller, B. H., Kaner, R. B., Nanostructured Polyaniline Sensors. *Chemistry*, **10**, 1314-1319, (2004).
40. Stevens, M. P., *Polymer Chemistry: An introduction*, Oxford University Press, New York, (1999).
41. Nicholson, J. W., *The Chemistry of Polymers*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (1994).
42. Young, R. J., Lovell, P. A., *Introduction to Polymers*, Chapman & Hall, London, (1994).
43. Huang, Wu-S., Humphrey, B. D., and MacDiarmid, A.G., Polyaniline, a novel conducting polymer. Morphology and chemistry of its oxidation and reduction in aqueous electrolytes, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **82**, 2385-2400 (1986).
44. Unsworth, J., Lunn, B. A., Innis, P. C., Jin, Z., Kaynak, A., Booth, N. G., Technical review: conducting polymer electronics, *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, **3**, 380–95 (1992).
45. Bhadra, S., Singha, N. K., Khastgir, D., Polyaniline by new miniemulsion polymerization and the effect of reducing agent on conductivity, *Synthetic Metals*, **156**, 1148–54 (2006).
46. Lange, U., Roznyatovskaya, N. V., Mirsky, V. M., Conducting Polymers in Chemical Sensors and Arrays, *Analytica Chimica Acta*, **614**, 1-26 (2008).
47. Kang, E.T., Neoh, K.G. and Tan, K.L., Polyaniline: A polymer with many interesting intrinsic redox states, *Prog. Polym. Science*, **23**, 277-324 (1998).
48. Ray, A., Richter, A. F., Macdiarmid, A. G., Epstein, A. J., Polyaniline:Protonation/Deprotonation of Amine and Imine Sites, *Synthetic Metals*, **29**, 151-156 (1989).
49. Mattoso, L.H.C., Polianilina:Síntese, Estrutura e Propriedades. *Química Nova*.São Carlos, SP.Brasil.,**19**,4, 388-399 (1996).
50. Genies, E. M., Boyle, A., Lapkowski, M., Tsintavis, C., Polyaniline: A Historical Survey, *Synthetic Metals*, **36**,139-182 (1990).
51. Huang, W.S., MacDiarmid, A.G., Optical properties of polyaniline. *Polymer*, **34**(9),1833-1845(1993).
52. Mohamad, M. A., Zaki, E. A., Doping of polyaniline films with organic sulfonic acids in aqueous media and the effect of water on these doped films, *European Polymer Journal*, **44**, 3741-3747 (2008).

53. Guimard, N. K., Gomez, N., Schmidt, C. E., Conducting Polymers in Biomedical Engineering, *Progress in Polymer Science*, **32**, 876-921 (2007).
54. Mohilner, D. M., Adams, R. N., Argersinger Jr., W., Investigation of the kinetics and mechanism of the anodic oxidation of aniline aqueous sulfuric acid solution at a platinum electrode, *Journal of the American Chemical Society*, **84**, 3618-3622 (1962).
55. Hand, R. L., Nelson, R. F., Anodic oxidation pathways of N-alkylanilines, *Journal of the American Chemical Society*, **96**, 850-860 (1974).
56. Huang, J., Synthesis and Applications of Conducting Polymer Polyaniline Nanofibers, *Pure and Applied Chemistry*, **78**, 15-27 (2006).
57. Huang, J., Virji, S., Weiller, B. H., Kaner, R. B., Nanostructured Polyaniline Sensors, *Chemistry*, **10**, 1314-1319 (2004).
58. Zhang, D., Wang, Y., Synthesis and applications of one-dimensional nanostructured polyanilines: An overview, *Materials Science and Engineering B*, **134**, 9-19 (2006).
59. Huang, J., Kaner, R. B., Nanofiber Formation in the Chemical Polymerization of Aniline: A Mechanistic Study, *Angewandte Chemie International*, **43**, 5817-5821 (2004).
60. Wu, C. G., Bein, T., Conducting polyaniline filaments in a mesoporous channel host, *Science*, **264**, 1757-1759 (1994).
61. Long, Y. Z., Chen, Z. J., Zheng, P., Wang, N. L., Zhang, Z. M., Wan, M. X., *Journal of Applied Physics*, **93**, 2962-2965 (2003).
62. Saravanan, C., Palaniappan, S., Chandezon, F., Synthesis of Nanoporous Conducting Polyaniline Using Ternary Surfactant, *Materials Letters*, **62**, 882-885 (2008).
63. Jan, L. S., Radiman, S., Siddig, M. A., Muniandy, S. V., Ramid, M. A., Jamali, H. D., Preparation of nanoparticles of polystyrene and polyaniline by γ -irradiation in lyotropic liquid Crystal, *Colloids and Surface A: Physicochemical Engineering Aspects*, **251**, 43-52 (2004).
64. Pileni, M-P., The role of soft colloidal templates in controlling the size and shape of inorganic nanocrystals. *Nature Materials*, **2**, 145 (2003).
65. Holmberg, K., Surfactant-templated nanomaterials synthesis, *Journal of Colloid and Interface Science*, **274**, 355-364 (2004).
66. Zhou, NIR photothermal therapy using polyaniline nanoparticles, *Biomaterials*, **34**, 9584-9592 (2013).
67. Chen, Y., Polyaniline electrospinning composite fibers for orthotopic photothermal treatment of tumors in vivo, *New J. Chem.*, **39**, 4987-4993 (2015).
68. Lenz, D. M., Polyaniline Synthesized with Functionalized Sulfonic Acids for Blends Manufacture, *Materials Research*, **10**, 4, 425-429 (2007).
69. Alcaraz-Espinoza, J. J., Chávez-Guajardo, A.E., Hierarchical Composite Polyaniline (Electrospun Polystyrene) Fibers Applied to Heavy Metal Remediation, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **7**, 7231-7240 (2015).
70. Yang, W., Lu, W., Wei, H., Ting, Z., Xiaoya, H., Jason, A. P., and Shengqian, M., Metal-organic framework and conducting polymer based electrochemical sensor for high performance cadmium ions detection, *J. Mater. Chem. A*, **5**, 8385-8393 (2017).
71. Zihnil, A. I. M., Cheong, A. C., Sung, H. K., Gibaek, L., Sangkug, L., Insik I., Kang-Dae, L. and Sung, Y. P., Target-specific induced hyaluronic acid decorated silica fluorescent nanoparticles@polyaniline for bio-imaging guided near-infrared photothermal therapy, *J. Mater. Chem. B*, **5**, 7099 (2017).
72. Öhrström, L., Review: Let's Talk about MOFs—Topology and Terminology of Metal-Organic Frameworks and Why We Need Them, *Crystals*, **5**, 154-

162 (2015).

73. Rowsell, J. L.C., Yaghi, O.M., Review Metal–organic frameworks: a new class of porous, *Microporous and Mesoporous Materials*, **73**, 3–14 (2004).

74. James, S.L., Metal-organic frameworks, *Chemical Society Reviews*, **32**, 276–288 (2003).

75. Eddaoudi, H., Li, M., O’Keeffe, M., Yaghi, O. M., Design and Synthesis of an Exceptionally Stable and Highly Porous Metal–Organic Framework, *Nature*, **402**, 276–279 (1999), Featured in (1) Chemical and Engineering News, (1999), and (2) Science News, (1999).

76. Dey, C., Kundu, T., Biswal, B. P., Mallick, A., and Banerjee, R., Crystalline metal–organic frameworks (MOFs): synthesis, structure and function, *Acta Cryst. B*, **70**, 3–10 (2014).

77. Eddaoudi, M., Kim, J., Li, H., Rosi, N., Yaghi, M. O., Isoreticular metal–organic frameworks, process for forming the same, and systematic design of pore size and functionality therein, with application for gas storage. *Patente EP138775 A1* (2004).

78. Qiu S., Zhu G., molecular engineering for synthesizing novel structures of metal–organic frameworks with multifunctional properties, *China: Coordination Chemistry Reviews*, **253**, 2891–2911 (2009).

79. Kuppler, R., Timmons, D., Fang, Q., Rong, L. J., Makal, T., Young, D., Yuan D., Zhao D., Zhuang W., Zhou H., Potential applications of metal–organic frameworks. *USA: Coordination Chemistry Reviews*, **253**, 3042–3066 (2009).

80. Chunbai, H., Demin L., and Wenbin L., Nanomedicine Applications of Hybrid Nanomaterials Built from Metal–Ligand Coordination Bonds: Nanoscale Metal–Organic Frameworks and Nanoscale Coordination Polymers, *ACS Chem. Rev.* **115**, 11079–11108(2015).

81. Tian, Y.Q., The silica-like extended polymorphism of cobalt (II) imidazolate three-dimensionais frameworks: X-ray single-crystal structures and magnetic properties, *Chemistry—A European Journal*, **9**(22), 5673–5685 (2003).

82. Huang XC, Lin YY, Zhang JP, Chen XM, Ligand-directed strategy for zeolite-type metal–organic frameworks: Zinc (II) imidazolates with unusual zeolitic topologies, *Angewandte Chemie International*, **45**(10),1557–1559 (2006).

83. Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F.J., Chae, H. K., O’Keeffe, M., Yaghi, O. M. , Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, **103** (27) 10186 –10191 (2006).

84. Hayashi H., Côté A. P., Furukawa H., O’Keeffe M., Yaghi O. M., Zeolite A imidazolate frameworks, *Nature Materials*, **6** (2007).

85. Cychosz, K.A., Matzger, A. J., water stability of microporous coordination polymers and the adsorption of pharmaceuticals from water, *Langmuir*, **26** (22), 17198–17202 (2010).

86. Tan, J. C., Bennett, T. D., Anthony, K., Chemical structure, network topology, and porosity effects on the mechanical properties of Zeolitic Imidazolate Frameworks, *Cheetham PNAS Early*, **107**(22), 9938-43 (2010).

87. Keskin, S. and Kızılel, S., Biomedical Applications of Metal Organic Frameworks, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **50** (4), 1799–1812 (2011).

88. Adhikari, C., Das, A., Chakraborty, A., Zeolitic Imidazole Framework (ZIF) Nanospheres for Easy Encapsulation and Controlled Release of an Anticancer Drug Doxorubicin under Different External Stimuli: A Way toward Smart Drug Delivery System, *ACS Mol. Pharmaceutics*, **12**, 3158–3166 (2015).

89. Jia, Z., Chun-Hong, K., Lien-Yang, C., De-Yu, L., Eranthie, W., and Chia-Kuang, T., Optimized Metal Organic- Framework Nanospheres for Drug Delivery: Evaluation of Small-Molecule Encapsulation, *ACS Nano*, **8**, 3,2812–2819 (2014).
90. Min, Z., Shi, L., Xingang, G., and Zhigang, X., One-Step Synthesis of Nanoscale Zeolitic Imidazolate Frameworks with High Curcumin Loading for Treatment of Cervical Cancer, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **7** (40), 22181–22187 (2015).
91. Vasconcelos, I.B., Silva, T. G., Militão, G.C. G., Soares, T. A., Rodrigues, N. M., Rodrigues, M. O., Costa Jr., N. B., Freire, R.O. and Alves Jr., Severino, Cytotoxicity and slow release of the anti-cancer drug doxorubicin from ZIF-8, *RSC Advances*, **2**, 9437–9442 (2012).
92. He, D. L., and Lin, W., Nanomedicine Applications of Hybrid Nanomaterials Built from metal–Ligand Coordination Bonds: Nanoscale Metal–Organic Frameworks and Nanoscale Coordination Polymers, *ACS Chem. Rev.*, **115**, 11079 (2015).
93. Xiangjun, C., Manjie, Z., Shengnan, L., Lu, L., Lingyu, Z., Tingting, W., Min Y., Zhongcheng, M. and Chungang, W., Facile synthesis of polypyrrole@metal–organic framework core–shell nanocomposites for dual-mode imaging and synergistic chemo-photothermal therapy of cancer cells, *J. Mater. Chem. B*, **5**, 1772-1778 (2017).
94. Zhengfang, T., Xianxian, Y., Kexin, M., Xingxing, N., Julia, G., Qingni, X., Liansheng, L., Stefan, K., e Yufang, Z., Metal–Organic Framework/Graphene Quantum Dot Nanoparticles Used for Synergistic Chemo- and Photothermal Therapy, *ACS Omega*, **2** (3), 1249–1258, (2017).
95. Xue, Y., Liling, L., Dinggeng, H., Luo, H., Jinlu, T., Haifeng, L., Xiaoxiao, H. and Kemin, W., A metal–organic framework-based nanocomposite with co-encapsulation of Pd@Au nanoparticles and doxorubicin for pH- and NIR-triggered synergistic chemo-photothermal treatment of cancer cells, *J. Mater. Chem. B*, **5**, 4648-4659 (2017).
96. Dan, Y., Guixin, Y., Shili, G., Fei H., Guanghui, A., Yunlu, D., Ruichan, L. and Piaoping, Y., Au₂₅ cluster functionalized metal–organic nanostructures for magnetically targeted photodynamic/photothermal therapy triggered by single wavelength 808 nm near-infrared light, *Nanoscale*, **7**, 19568-19578 (2015).
97. Chowdhuri, A. R., D., Laha, S. P., Karmakar, P. and Sahu, S. K., One-pot synthesis of folic acid encapsulated upconversion nanoscale metal organic frameworks for targeting, imaging and pH responsive drug release, *Dalton Trans.*, **45**, 18120 (2016).
98. Guajardo, A. E. C., Melo C.P., Compósitos Magnéticos baseados em polímeros condutores e sua aplicação para a separação de metais pesados e biomoléculas. Tese de doutorado UFPE (2015).
99. Kim B-J., Oh S-G., Han M-G., Im S-S., Synthesis and characterization of polyaniline nanoparticles in SDS micellar solutions, *Synthetic Metals*, **122**, 297–304 (2001).
100. Bhardwaj, N. and Kundu, S.C., Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, **28**(3): 325-347 (2010).
101. Cravillon, J., Nayuk R., Springer, S., Feldhoff, A., Huber, K., and Wiebcke, M., Controlling Zeolitic Imidazolate Framework Nano- and Microcrystal Formation: Insight into Crystal Growth by Time-Resolved In Situ Static Light Scattering, *Chem. Mater*, **23**, 2130–2141 (2011).
102. Lu, G., Li, S., Guo, Z, Farha, O. K., Hauser, B.G., Qi, X., Yi, W., Wang, X., Han, S., Liu, X., DuChene, J. S., Zhang, H., Zhang, Q., Chen, JanMa, Loo, S.C.J., Wei D. W., Yang, Y., Hupp, J. T. and Huo, F., Imparting functionality to a metal–organic framework material by controlled nanoparticle encapsulation, *Nature Chemistry*, **4**, 310 (2012).

103. Kang, E.T., Neoh, K.G. and Tan, K.L., Polyaniline: A polymer with many interesting intrinsic redox states, *Prog. Polym. Science*, **23**, 277-324, (1998).
104. Huang, W.S., MacDiarmid, A.G., Optical properties of polyaniline, *Polymer*, **34**(9):1833-1845 (1993).
105. Chen, Y., Polyaniline electrospinning composite fibers for orthotopic photothermal treatment of tumors in vivo, *New J. Chem.*, **39**, 4987-4993 (2015).
106. Ravve, A., Principles of polymer Chemistry, LLC (1995).
107. Ordoñez, M.J.C., Balkus Jr., K.J., Ferraris, J.P., Musselman, I. H., molecular sieving realized with ZIF-8/Matrimid® mixed-matrix membranes, *Journal of Membrane Science*, **361**, 28-37(2010).
108. Pan, Y., Liu, Y., Zeng, G., Zhao, L., Lai, Z., Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system, *Chemical communications*, Cambridge, England, **47**, 2071-3 (2011).
109. Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A., Moscou, W., Pierotti, L., R. A., Rouquerol, J., Siemieniewska, T., Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity, *Pure & Appl. Chem.*, **57**, 603 (1985).
110. Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H. K., O'Keeffe, M., Yaghi, O. M., Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks, *PNAS*, **103**, 10186 (2006).
111. Peralta, D., Chaplais, G., Paillaud, J.-L., Simon-Masseron, A., Barthelet, K., Pirngruber, G. D., The separation of xylene isomers by ZIF-8: A demonstration of the extraordinary flexibility of the ZIF-8 framework, *Micropor. Mesopor. Mater.*, **173**, 1 (2013).
112. Silva, J. S. F., López, M. D., Anceski, B.G, Nogueira, E. M., Machado, R.C., Alves, J. S., Adsorption in a Fixed-Bed Column and Stability of the Antibiotic Oxytetracycline Supported on Zn(II)-[2-Methylimidazolate] Frameworks in Aqueous Media, *PLoS ONE*, **10**(6): e0128436. doi:10.1371/journal.pone.0128436, (2015).
113. Schejrn, A., Mazet, T., Falk, V., Balan, L., Aranda, L., Medjahdi, G., Schneider, R., Fe₃O₄@ZIF-8: magnetically recoverable catalysts by loading Fe₃O₄ nanoparticles inside a zinc imidazolate framework, *Dalton Trans.*, **44**, 10136 (2015).
114. Jing, H.-P., Wang, C.-C., Zhang, Y.-W., Wanga, P., Li, R., Photocatalytic degradation of methylene blue in ZIF-8, *RSC Adv.*, **4**, 54454 (2014).
115. Xian, S., Xu, F., Ma, C., Wua, Y., Xia, Q., Wanga, H., Li, Z., Vapor-enhanced CO₂ adsorption mechanism of composite PEI@ZIF-8 modified by polyethyleneimine for CO₂/N₂, *Chem. Eng. J.*, **280**, 363 (2015).
116. Jozefowicz, M. E., Laversanne, R., Javadi, H. H. S., and Epstein, A. J., Multiple lattice phases and polaron-lattice-spinless-defect competition in polyaniline, *physical review B*, **39** 12958 (1989).
117. Pouget, J. P., Jozefowicz, M. E., Epstein, A. J., Tang, X., MacDiarmid, A. G., X-ray Structure of Polyaniline, *Macromolecules*, **24**, 779-789 (1991).
118. Wu-Song H., Humphrey, B. D. and MacDiarmid, A. G., Polyaniline, a novel conducting polymer. Morphology and chemistry of its oxidation and reduction in aqueous electrolytes, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **82**, 2385-2400 (1986).
119. Gupta, R. B, Kompella, U. B, Nanoparticle technology for drug delivery, *Drugs and The Pharmaceutical Science*, **159**, (2006).
120. Shang, L., Nienhaus, K. and Nienhaus, G., U., Review Engineered nanoparticles interacting with cells: size matters, *Journal of Nanobiotechnology*, **12**, 5 (2014).

121. Morsi, R. E., Elsabee, M. Z., Polyaniline Nanotubes: Mercury and Competative Heavy Metals Uptake, *American Journal of Polymer Science*, **5**(1), 10 (2015).
122. Gosk, J.B., Kulszewicz-Bajer, I. E, Twardowski. A., Magnetic Properties of Polyaniline Doped With FeCl₃, *Synthetic Metals*, **156**, 773-778 (2006).
123. Chen, B., Zhu, Y. and Xia, Y., Controlled in situ synthesis of graphene oxide/zeolitic imidazolate framework composites with enhanced CO₂ uptake capacity, *RSC Adv.*, **5**, 30464-30471 (2015).
124. Jaque, D., Martínez, M. L., Rosal, B. D., Nanoparticles for photothermal therapies, *Nanoscale*, **6**, 16, 9494–9530 (2014).
125. Chen, S.A., Lin, L.C., Polyaniline doped by the new class of dopant, ionic salt: structure and properties, *Macromolecules*, **28**(4), 1239-1245 (1995).
126. Rongrong Z., Xianzheng W., Yu, X., Bo, G., Qian X., Hui L., and Shilong, W., Synergetic Effect of SLN-Curcumin and LDH-5-Fu on SMMC-7721 Liver Cancer Cell Line, *Cancer Biotherapy And Radiopharmaceuticals*, **28**, 8 (2013).
127. Frazier, N., Ghandehari, H., Review: Hyperthermia Approaches for Enhanced Delivery of Nanomedicines to Solid Tumors, *Biotechnology and Bioengineering*, **112**, 10 (2015).
128. Chun-Yi, S., Chao, Q., W. Xin-Long, Y., Guang-Sheng, S., Kui-Zhan, L., Ya-Qian, S., Zhong-Min, H., Peng, W., Chun-Gang and En-Bo, W., Zeolitic imidazolate framework-8 as efficient pH-sensitive drug delivery vehicle, *Dalton Trans.*, **41**, 6906 (2012).
129. Chowdhuri, A. R., Tripathy, S., Haldar, C., Roy, S. and Sahu, S. K., Single step synthesis of carbon dot embedded chitosan nanoparticles for cell imaging and hydrophobic drug delivery, *J. Mater. Chem. B*, **3**, 9122–9131 (2015).
130. Chatterjee, D. K., Diagaradjane, P., Krishnan, S., Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy, *Therapeutic delivery*, **2**, 8, 1001–1014 (2011).
131. Torti, S. V., Byrne, F., Whelan, O., Thermal ablation therapeutics based on CN(x) multi-walled nanotubes, *International Journal of Nanomedicine*, **2**, 4, 707–714, (2007).
132. Tian, Q., Tang, M., Sun, Y., Zou, R., Chen, Z., Zhu, M., Yang, S., Jingng, W., Jianhua, W., and Junqing, H., Hydrophilic flower-like CuS superstructures as an efficient 980 nm laser-driven photothermal agent for ablation of cancer cells, *Adv. Mater.*, **23**, 3542 (2011).
133. Dabrowski, A., Adsorption – from theory to practice. *Advances and Interface*, **93**, 135-224 (2001).
134. Ruthven, D.M., principles of adsorption e adsorption processes, *wiley Interscience*, 1984, (1) ch. 2, p. 29.
135. Olukman, M., Şanlı, O. and Solak, E., Release of Anticancer Drug 5-Fluorouracil from Different Ionically Crosslinked Alginate Beads, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, **3**, 4, 469-479 (2012).
136. Tian, Z., Yao, X., and Zhu, Y., Simple synthesis of multifunctional zeolitic imidazolate frameworks-8/graphene oxide nanocrystals with controlled drug release and photothermal effect, *Microporous and Mesoporous Materials*, **237**, 160 (2017).
137. Tian, Z., Yao, X., Ma, K., Niu, X., Julia, G., Xu, Q., Liu, L., Kaskel, S., and Zhu, Y., Metal Organic Framework/Graphene Quantum Dot Nanoparticles Used for Synergistic Chemo- and Photothermal Therapy, *ACS Omega*, **2**, 1249 (2017).
138. Chowdhuri, A. R., Laha, D., Pal, S., Karmakar, P. and Sahu, S. K., One-pot synthesis of folic acid encapsulated upconversion nanoscale metal organic frameworks for targeting, imaging and pH responsive drug release, *Dalton Trans.*, **45**, 18120 (2016).

139. Lu, G., Li, S., Guo, Z., Farha, O. K., Hauser, B.G., Qi, X., Wang, Y., Wang, X., Han, S., Liu, X., DuChene, J. S., Zhang, H., Zhang, Q., Chen, X., JanMa, S., Loo, C. J., Wei, W. D., Yang, Y., Hupp, J. T. and Huo, F., Imparting functionality to a metal-organic framework material by controlled nanoparticle encapsulation, *Nature Chemistry*, **4**, 310 (2012).
140. Tao, C., Zhu, Y., Magnetic mesoporous silica nanoparticles for potential delivery of chemotherapeutic drugs and hyperthermia, *Dalton Trans.*, **43**, 15482 (2014).
141. Chiang, W.-L., Lin, T.-T., Sureshbabu, R., Chia, W.-T., Hsiao, H.-C. , Liu, H.-Y. , Yang, C.-M. , Sung, H.-W., A rapid drug release system with a NIR light-activated molecular switch for dual-modality photothermal/antibiotic treatments of subcutaneous abscesses, *Journal of Controlled Release*, **199**, 53–62 (2015).
142. Falcaro, P., Ricco, R., Yazdi, A., Application of Metal and Metal Oxide Nanoparticles@MOFs, *Coordination Chemistry Reviews*, **307**, (2015).
143. Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J.Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H., K., O’Keeffe, M. and Yaghi, O. M., Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks, *PNAS*, **27**, 10186–10191 (2006).
144. Danaci, D., Singh, R., Xiao, P., Webley, P. A., Assessment of ZIF materials for CO₂ capture from high pressure natural gas streams *Chemical Engineering Journal*, **280**, 486-493 (2015).
145. Liu, P.-F., Tao, Kai, Li, G.-C., Wu, M.-K., Zhu, S.-R., Yi, F.-Y., Zhao, W.-N. and Han, L., in situ growth of ZIF-8 nanocrystals on layered double hydroxide nanosheets for enhanced CO₂ capture, *Dalton Trans.*, **45**, 12632-12635 (2016).