

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/02/2019.

JULIANA MORENO DE PAIVA

Nanoestruturas de óxido de grafeno magnético: modificação e funcionalização de superfície para terapia fotodinâmica e fototérmica

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques

Araraquara

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

P142n Paiva, Juliana Moreno de
Nanoestruturas de óxido de grafeno magnético:
modificação e funcionalização de superfície para terapia
fotodinâmica e fototérmica / Juliana Moreno de Paiva. –
Araraquara : [s.n.], 2017
76 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Rodrigo Fernando Costa Marques

1. Grafeno. 2. Câncer. 3. Fotoquimioterapia.
4. Fototerapia. 5. Diagnóstico por imagem. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de
Araraquara

JULIANA MORENO DE PAIVA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 09 de fevereiro de 2017.

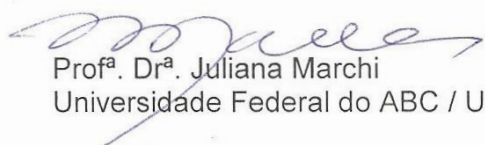
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Profª Drª Maria Aparecida Zaghete Bertochi
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Profª Drª Juliana Marchi
Universidade Federal do ABC / UFABC / Santo André - SP

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Juliana Moreno de Paiva

Nome em citações bibliográficas: Paiva, J. M.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Rua Prof. Francisco Degni, 55, Quitandinha, 14800-060, Araraquara, SP

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Licenciada em Química, concluído 2014 no Instituto de Química de Araraquara/UNESP.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Painel “Homogeneous coprecipitation through urea solid decomposition for magnetic nanoparticles synthesis”, Fourth International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, Sitiges, março de 2015.

Apresentação Oral “Surface Engineering of Graphene Oxide for Theranostic Cancer Application”, XV Brazilian Materials Research Society meeting, Campinas, setembro 2016.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

XV Brazilian Materials Research Society meeting, Campinas, setembro 2016.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação não carrega só uma pesquisa, mas uma colaboração de muitas pessoas que fizeram com que ela acontecesse. Por isso, mais que agradecer, quero demonstrar gratidão e reconhecimento a todos que me ajudaram nesse período. Talvez não existam palavras suficientes e significativas pela ajuda e apoio dado por vocês, mas é tudo o que me resta. Apenas posso me expressar através da limitação de meras palavras.

Mãe e pai, suas palavras e gestos de carinho, reconfortaram meu coração, me apoiaram e me deram força em todos os momentos.

Tiago, obrigada por viver este mundo científico comigo, despertar minha curiosidade científica, me inspirar profissionalmente, me apoiar e ajudar sempre com um sorriso no rosto.

Queridos amigos Xurupitenses e agregados, a amizade de vocês sempre me deu forças para continuar. Obrigada por me ouvirem, ajudarem a procurar soluções e deixarem meus dias mais leves.

Professor Rodrigo, obrigada por me aceitar como orientanda, acreditar em mim, me incentivar, me apoiar sempre que foi preciso e ter permitido que eu tomasse algumas iniciativas, motivando meu estudo e fazendo com que eu aprendesse a tomar decisões científicas.

Colegas de trabalho, o tempo que passei na companhia de vocês contribuiu imensamente para meu crescimento pessoal e profissional graças ao companheirismo e disposição de todos. Gostaria de agradecer em especial ao Professor Miguel, a Anna Carolina e o Rodolfo pelos ensinamentos, por terem me salvado em vários momentos e na colaboração durante minha pesquisa.

A CAPES pela bolsa concedida, o Instituto de Química, cuja formação e apoio me possibilitaram a realização desse trabalho e aos funcionários que direta ou indiretamente ajudaram.

“Queremos ter certezas e não
dúvidas, resultados e não
experiências, mas nem mesmo
percebemos que as certezas só
podem surgir através das dúvidas e
os resultados somente através das
experiências.”

Carl Jung

RESUMO

As terapias fotodinâmica e fototérmica vêm sendo desenvolvidas de forma a oferecer melhores e mais baratas alternativas no tratamento de câncer. Os principais desafios na utilização destas técnicas estão na obtenção de novos materiais fototérmicos e fotosensibilizadores que absorvam no mesmo comprimento de onda. Neste contexto, este trabalho desenvolveu um material com este potencial. Para isso foi escolhido como base o óxido de grafeno devido suas propriedades hidrofílica e atóxica, boa estabilidade térmica, capacidade de absorção de luz e possibilidade de funcionalização. Nanopartículas de óxido de ferro magnéticas, fluoresceína *o*-metacrilato e o Verteporfin foram ligados em sua superfície trazendo novas características como a possibilidade do uso como agente de contraste no diagnóstico por ressonância magnética nuclear e terapia fotodinâmica. Para isso, estratégia de síntese foi feita em quatro etapas: síntese do óxido de grafeno, óxido de grafeno magnético, óxido de grafeno magnético fluorescente e óxido de grafeno magnético fluorescente com fotossensibilizador. Na primeira etapa empregou-se o método de Hummers modificado para obtenção do óxido de grafeno pela oxidação e esfoliação do grafite. Em seguida, nanopartículas de óxido de ferro magnético foram imobilizadas em sua superfície pelo método de coprecipitação simples. A propriedade de fluorescência foi então inserida pela ancoragem da fluoresceína *o*-metacrilato juntamente com o ácido acrílico (AA), persulfato de amônio e bissulfito de sódio. Por fim, o óxido de grafeno foi funcionalizado com o fotossensibilizador Verteporfin por uma reação de transesterificação. A fim de verificar o caráter físico-químico e estrutural dos intermediários e produtos finais de cada etapa foram utilizadas técnicas de caracterização, como microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (FEG-MEV), difratometria de raios X (DRX), espectroscopia RAMAN, espectroscopia na região do ultravioleta/visível (UV-Vis), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de fluorescência, potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS). A partir dos resultados obtidos, verificou-se que o material obtido tem potencial teranóstico multifuncional com propriedades advindas do óxido de grafeno magnético modificado para aplicações nas terapias fototérmicas e fotodinâmicas.

Palavras-chave: Óxido de grafeno. Tratamento fototérmico. Tratamento fotodinâmico. Câncer. Teranóstico.

ABSTRACT

Photodynamic and photothermal therapies have been developed in order to offer better and cheaper alternatives in cancer treatment. The main challenges in the use of these techniques are in obtaining new photothermal and photosensitizers materials that absorb at the same wavelength. In this context, this work has developed a material with this potential. For this, graphene oxide was chosen as the base due to its hydrophilic and nontoxic properties, good thermal stability, light absorbing capacity and possibility of functionalization. Magnetic iron oxide nanoparticles, fluorescein *o*-methacrylate and Verteporfin were linked on their surface bringing new features such as the possibility of use as a contrast agent in the diagnosis by nuclear magnetic resonance and photodynamic. For this, the synthesis strategy was done in four steps: synthesis of graphene oxide, magnetic graphene oxide, fluorescent magnetic graphene oxide and fluorescent magnetic graphene oxide with photosensitizer. In the first step, the modified Hummers method was used to obtain graphene oxide by the oxidation and exfoliation of graphite. Next, nanoparticles of magnetic iron oxide were immobilized on their surface by the simple co-precipitation method. The fluorescence property was then inserted by fluorescein *o*-methacrylate anchoring along with acrylic acid (AA), ammonium persulfate and sodium bisulfite. Finally, the graphene oxide was functionalized with the Verteporfin photosensitizer by a transesterification reaction. In order to verify the physical-chemical and structural character of the intermediates and final products of each step, characterization techniques were used, such as high-resolution scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffractometry (XRD), RAMAN spectroscopy, Ultraviolet/visible spectroscopy (UV-Vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), fluorescence spectroscopy, zeta potential and dynamic light scattering (DLS). From the obtained results, it was verified that the material obtained has a multifunctional thermostatic potential with properties derived from modified magnetic graphene oxide for photothermal and photodynamic therapies.

Keywords: Graphene oxide. Photothermal treatment. Photodynamic treatment. Cancer. Teranostic.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Câncer	10
1.2	Terapias fototérmica e fotodinâmica	13
1.3	Óxido de grafeno	15
1.4	Nanopartículas de óxido de ferro magnéticas e a ressonância magnética nuclear	16
1.5	Fluoresceína o-metacrilato e o fotodiagnóstico	17
1.6	Verteporfin	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	Geral	20
2.2	Específicos	20
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	21
3.1	Síntese do óxido de grafeno (OG)	21
3.2	Síntese do óxido de grafeno magnético (OGM)	22
3.3	Síntese do óxido de grafeno magnético fluorescente (OGMF)	22
3.4	Síntese do óxido de grafeno magnético fluorescente com fotossensibilizador (OGMFV)	23
3.5	Caracterizações	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	Caracterizações da síntese do óxido de grafeno (OG)	27
4.1.1	Análise térmica por TG/DTA	28
4.1.2	Microscopia eletrônica de varredura	29
4.1.3	Diâmetro hidrodinâmico	30
4.1.4	Potencial zeta	31
4.1.5	Difratometria de raios X	32

4.1.6	Espectroscopia Raman	34
4.1.7	Espectroscopia na região UV-Vis	37
4.1.8	Espectroscopia na região do infravermelho	38
4.2	Caracterizações da síntese do óxido de grafeno magnético (OGM)	40
4.2.1	Microscopia eletrônica de varredura	41
4.2.2	Diâmetro hidrodinâmico	43
4.2.3	Potencial zeta	43
4.2.4	Difratometria de raios X	44
4.2.5	Espectroscopia Raman	45
4.2.6	Espectroscopia na região do infravermelho	48
4.3	Caracterizações da síntese do óxido de grafeno magnético fluorescente (OGMF)	50
4.3.1	Microscopia eletrônica de varredura	53
4.3.2	Diâmetro hidrodinâmico	54
4.3.3	Potencial zeta	55
4.3.4	Espectroscopia Raman	55
4.3.5	Espectroscopia na região UV-Vis e fluorescência	58
4.3.6	Espectroscopia na região do infravermelho	59
4.4	Caracterizações da síntese do óxido de grafeno magnético fluorescente com fotossensibilizador (OGMFV)	62
4.4.1	Diâmetro hidrodinâmico	64
4.4.2	Potencial zeta	64
4.4.3	Espectroscopia na região UV-Vis	65
4.4.4	Espectroscopia na região do infravermelho	66
5	CONCLUSÕES	70
	REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

As características da sociedade mundial foram se modificando com os avanços da ciência, tecnologia juntamente com os processos de urbanização e industrialização. Essas modificações trouxeram um novo estilo de vida, expondo as pessoas de forma mais intensa aos fatores de risco próprios do mundo contemporâneo, alterando consideravelmente o perfil de morbimortalidade. Houve uma queda da frequência das patologias infectocontagiosas e assim o foco principal se tornou outro, o das doenças não transmissíveis (DNT).¹

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2012, de 56 milhões de mortes no mundo, 38 milhões (68% do total) foram devido a essas doenças. O câncer aparece como segundo maior fator de mortalidade (8,2 milhões), perdendo apenas para as doenças cardiovasculares (17,5 milhões de mortes). Neste mesmo ano a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (AIPC) estimou 12,4 milhões de casos incidentes da doença. A OMS estima que em 2030 o número total de mortes aumente em 4 milhões.²

No Brasil segundo a OMS, em 2014, aproximadamente 224 mil (17% das mortes por DNT) foram por câncer. Baseado nas informações do Sistema de Morbidade por Câncer e o Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) estima-se 576 mil novos casos novos para os próximos anos. Estes valores reforçam a magnitude do câncer como problema de saúde pública no país, cujo controle e prevenção devem ser priorizados.¹

Atualmente as estratégias propostas para o tratamento de câncer incluem os métodos de quimioterapia, radioterapia e cirurgia, podendo ser utilizados separados ou combinados de acordo com a neoplasia.³

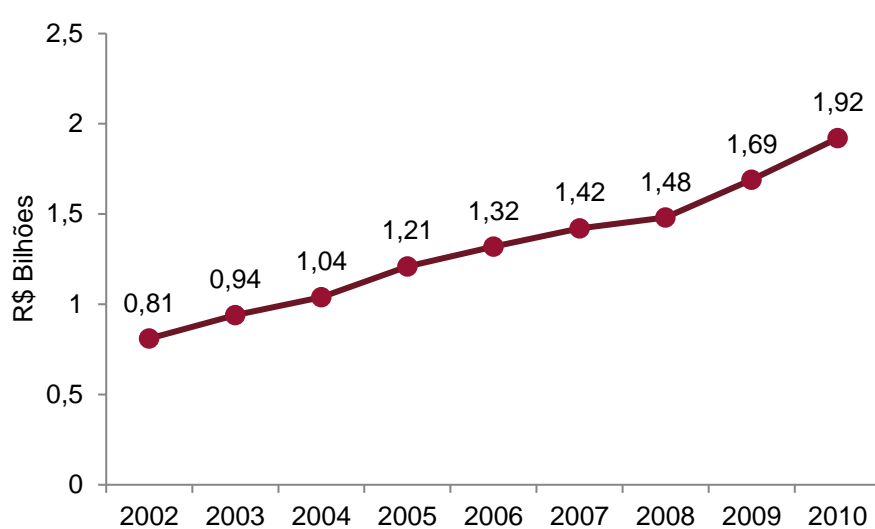
A quimioterapia é um tratamento sistêmico do câncer que utiliza medicamentos, que podem ser quimioterápicos, hormonioterápicos, bioterápicos, imunoterápicos ou alvoterápicos, os quais podem ser administrados continuamente ou a intervalos regulares.^{1,3}

Já a radioterapia é um tratamento local, no qual é empregado um feixe de radiações ionizantes eletromagnéticas ou corpusculares. Essas radiações, ao interagirem com o tecido, tem a capacidade de arrancar elétrons e um átomo, ionizando-o. Esta ionização pode provocar quebras químicas modificando a estrutura molecular, causando, por exemplo, a hidrólise da água, ou ainda promovendo a ruptura de cadeias de DNA e, assim, causando a apoptose celular.^{1,3}

Estes tratamentos, mesmo que efetivos, não possuem uma alta capacidade de distinguir entre células doentes ou não, afetando ou destruindo células saudáveis e assim induzindo efeitos colaterais locais ou sistêmicos. Além disso, podem proporcionar a possibilidade de algumas células tumorais se tornarem resistentes com o tempo. Esta somatória de fatores pode levar o paciente à interrupção do tratamento. Por sua vez, os procedimentos cirúrgicos são invasivos e tem sua eficácia questionada uma vez que a retirada de células tumorais pode não ser total.⁴

Além destes obstáculos, outro aspecto que deve ser observado são os custos oncológicos, pois estes tratamentos comumente empregados possuem alto custo e, a nível nacional, comprometem a receita de saúde pública. No Brasil, houve um aumento nas despesas públicas do Sistema Único de Saúde (SUS) em 1,1 bilhões entre 2002 a 2010, chegando a aproximadamente 2 bilhões em 2010, como pode ser observado na Figura 1. Sendo que nestes dados, consultas, exames de diagnóstico, procedimentos cirúrgicos fora dos centros habilitados em oncologia, não estão inclusos.⁵

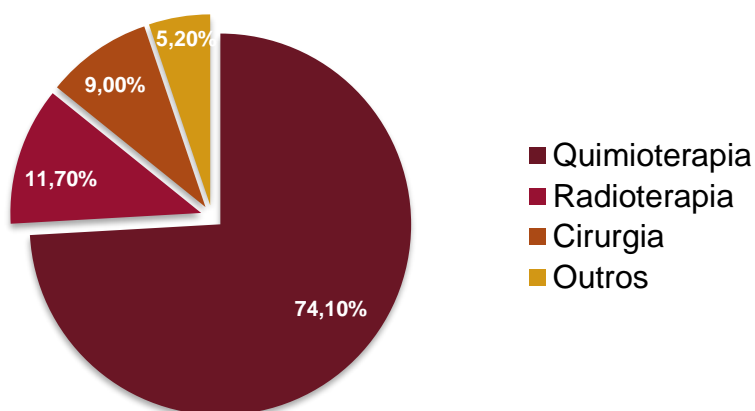
Figura 1 - Despesas federais com tratamentos ambulatoriais e hospitalares de oncologia do SUS no Brasil



Fonte: Tribunal de Contas da União.⁵

Na Figura 2 podemos ver a participação dos tratamentos na despesa total no ano de 2010, com a quimioterapia em maior prevalência de despesas, correspondendo a quase três quartos dos gastos totais.⁵

Figura 2 - Participação com cada tipo de tratamento oncológico nas despesas totais com tratamento – Brasil - 2010



Fonte: Tribunal de Contas da União.⁵

Com todos esses desafios, pesquisadores vêm estudando novas formas de tratamentos e diagnósticos precoce mais eficientes, acessíveis, não invasivos, com menores efeitos colaterais e baixo custo.

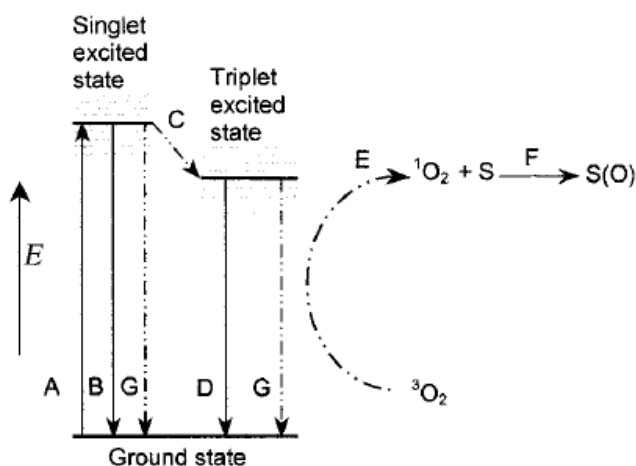
1.2 Terapias fototérmica e fotodinâmica

A fotomedicina surgiu como um novo ramo na medicina, a qual emprega luz para o tratamento de diversas doenças. Dentre estes tratamentos, as terapias fototérmica (TFT) e fotodinâmica (TFD) são tipos emergentes que vêm tendo destaque no tratamento de câncer. Essa notoriedade é dada por sua seletividade na área de interesse, com natureza minimamente ou não invasiva, não havendo resistência do organismo e conseqüentemente diminuindo os efeitos secundários graves.⁶

A TFT utiliza materiais biocompatíveis, chamados de agentes fototérmicos, que são capazes de absorver radiação eletromagnética, e transforma-la em energia térmica, provocando um aquecimento local, de 41 a 47 °C. Este aquecimento causa um dano irreversível às células pela desnaturação das proteínas, causando o rompimento da membrana celular.^{7,8}

Já a TFD utiliza uma combinação de irradiação com luz, oxigênio e fármacos fotoativos, também chamados de fotosensibilizadores, para provocar a apoptose celular no tecido tumoral. Para isso inicialmente incide-se luz com comprimento de onda de acordo com a absorção do fotossensibilizador excitando-o. Essa excitação gera espécies reativas de oxigênio, como o singleto e o tripleto de oxigênio, que podem oxidar organelas celulares e subcelulares, incluindo membrana plasmática, mitocôndrias, lisossomos e membrana nuclear, levando a danos irreversíveis nas células tumorais. Na Figura 3 pode se observar um esquema de como ocorre a TFD.⁷⁻⁹

Figura 3 - Diagrama de excitação e relaxamento em um fotossensibilizador: (A) excitação; (B) fluorescência; (C) passagem entre os sistemas; (D) fosforescência; (E) transferência não radiativa de energia para singlete de oxigênio; (F) oxidação do substrato por singlete de oxigênio; (G) conversão interna.



Fonte: Gao *et al.*⁸

Atualmente, os principais desafios na utilização destas técnicas estão na obtenção de novos materiais fototérmicos e fotossensibilizadores que absorvam no mesmo comprimento de onda. Assim há a possibilidade de utilizar simultaneamente o TFT e o TFD potencializando a eficácia do tratamento e diminuindo o custo e o tempo do tratamento por ambos necessitarem de apenas uma fonte de luz.

Assim sendo, este trabalho propõe o desenvolvimento de um material que tenha potencial para superar estas dificuldades. Além disso propriedades para que ele também possa atuar como diagnóstico de neoplasias por ressonância magnética nuclear (RMN) e fotodiagnóstico serão inseridas.

Para a síntese deste material utilizou-se óxido de grafeno, para atuar como agente fototérmico, verteporfin como fotossensibilizador, fluoresceína *o*-metacrilato como marcador fluorescente do material no organismo e nanopartículas de óxido de ferro magnético para potencializar o contraste de tecidos no diagnóstico por RMN. Cada uma destas substâncias será abordada nos tópicos seguintes, enfatizando suas predileções.

1.3 Óxido de grafeno

A síntese do óxido de grafeno tem como matéria prima o grafite em flocos e pode ser dividida em três etapas cruciais: oxidação do grafite, clivagem por ultrassom e remoção das impurezas.¹⁰ Este grafite é utilizado por possuir maior tamanho do cristalito, maior distância entre as camadas além de ter uma direção preferida das folhas, facilitando sua oxidação.¹¹

Seu primeiro relato foi feito em 1859 com Brodie, utilizando HNO_3 fumegante como intercalante nas folhas de grafite e KClO_3 como oxidante. Contudo, a síntese é demorada perdurando por 4 dias e necessitando 4 ciclos de oxidação, lavagem, secagem. Os gases N_2O_4 e NO_2 , prejudiciais à saúde e ClO_2 , o qual é altamente explosivo também são produzidos.¹²

Staudenmaier¹³ em 1898, com uma mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HNO}_3$ (2:1), conseguiu a oxidação em apenas uma etapa, porém as outras dificuldades não foram sanadas.

Ao final da década de 50, Hummers e Offeman¹⁴ desenvolveram o método até hoje empregado. Utilizaram H_2SO_4 e NaNO_3 para intercalar as folhas no grafite e KMnO_4 para oxidar. Com isso eles diminuíram o tempo de síntese para apenas algumas horas apresentando-se mais segura com a remoção KClO_3 , não formando ClO_2 . Contudo, ainda há a liberação de gases tóxicos N_2O_4 e NO_2 e, ao final, difícil remoção dos íons Na^+ e NO_3^- .

Atualmente novas alternativas de rota de síntese vêm sendo desenvolvidas de acordo com sua aplicação. Em biomedicina o óxido de grafeno vem sendo estudado nas áreas de crescimento e diferenciação celular, biossensores, *drug delivery*, engenharia de tecidos, tratamentos de doenças. Dessa forma buscam-se novas formas de torná-la mais rápida e mais segura, com produção em massa de óxido de grafeno e com propriedades de acordo com sua aplicação.^{10,15}

Estes esforços provem de suas características físico-químicas atraentes que o tornam uma potencial substância para o desenvolvimento de biomateriais, pois suas características hidrofílicas e atóxicas o tornam interessantes para atuação biológica. Além disso, sua boa estabilidade térmica e capacidade de absorção de luz fazem dele um potencial agente fototérmico. E, por fim, a presença de grupos funcionais

em sua superfície, tais como epóxi, hidroxil e carboxil, auxiliam sua funcionalização, trazendo novas características ao material.¹⁵

1.4 Nanopartículas de óxido de ferro magnéticas e a ressonância magnética nuclear

O diagnóstico por RMN é feito pela exposição do tecido a um campo magnético externo. Transversalmente ao tecido emite-se uma onda pulsada com rádio frequência, provocando perturbação nos prótons, principalmente de moléculas de água. Quando os prótons retornam ao estado inicial, obtém-se a imagem pela conversão da radiação emitida por eles. Essa retomada é chamada de relaxação, podendo ser longitudinal ou transversal. Cada tecido possui uma velocidade de relaxação e densidade de prótons diferente diferenciando os tecidos e mapeando-os.^{16,17}

Para melhorar a resolução das imagens através do contraste obtido pela variação dos tempos de relaxação, alguns agentes de contraste são aplicados.

Dentre estes agentes, utilizou-se nanopartículas de óxido de ferro magnéticas neste trabalho, pois quando um campo magnético externo é aplicado neste material ele responde com grande momento magnético, e assim as interações dipolares entre as nanopartículas e os prótons do solvente resultam no aumento da relaxação transversal e longitudinal, gerando um contraste ainda maior nas imagens. Além disso, seu tamanho na ordem nanométrica (10^{-9}) é interessante, pois elas podem acessar macromoléculas biológicas, tais como as células (10 – 100 μm), vírus (20 – 450 nm), proteínas (5 – 50 nm) e DNA (2 nm de largura e 10-100 nm de comprimento). Possuem possibilidade de modificação de sua superfície, a qual novas propriedades podem ser inseridas. [16,17] [16,18,19,20]

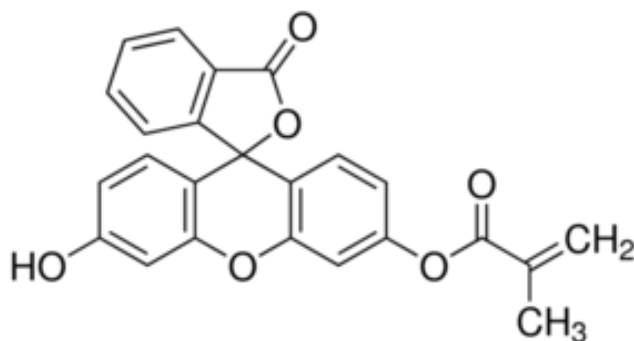
Atualmente tem-se algumas nanopartículas sendo comercializadas, dentre as principais destaca-se: Feridx®, constituído por nanopartículas de primeira geração, produzido pela Bayer HealthCare Pharmaceuticals Inc., e o Resovist®, constituído por nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas, revestidas com carboxidextrana, produzido pela Bayer Schering Pharma AG.

1.5 Fluoresceína o-metacrilato e o fotodiagnóstico

O fotodiagnóstico baseia-se na forma em que tecidos normais e cancerígenos absorvem luz, permitindo então a visualização de fluorescência diferencial nestes tecidos. Tecidos cancerígenos possuem uma hiperatividade celular aumentando assim a produção de protoporfirina IX, que é uma substância presente em um dos passos para produção de hemoglobina. Esse composto absorve fótons em 410 nm e emite em 635 nm fazendo com que o tecido apresente coloração vermelha, dando contraste com o tecido que fica azul. Assim o diagnóstico pode ser feito antes mesmo da presença de lesões visíveis a olho nu.⁷

Com base nisso, estipulou-se que o material a ser desenvolvido tivesse características fluorescentes, de cor diferente do tumor (vermelho) e do tecido (azul), identificando o local em que ele se encontra no corpo, ou seja, se já foi ou não acumulado pelo tecido tumoral. Para isso a fluoresceína o-metacrilato, um fluoróforo orgânico constituído por vários anéis aromáticos, o qual pode ser observado na Figura 4, que emite 514 nm (verde), foi escolhido como marcador. Além de sua emissão, ainda possui características como: elevado coeficiente de absorção e capacidade de formar ligações covalentes ou não covalentes com outros materiais, proporcionando melhor fotoestabilidade, hidrofiliabilidade, atóxicidade e biocompatibilidade.²¹⁻²³

Figura 4 - Molécula de Fluoresceína o-metacrilato



Fonte: Autor

1.6 Verteporfin

O tratamento de câncer por TFD necessita, além de luz e oxigênio, fotossensibilizadores. Contudo nem todos os tipos podem ser utilizados, pois, para este tipo de aplicação, vários critérios devem ser cumpridos. Eles devem ter baixa toxicidade, acumular seletivamente no tecido tumoral e minimizar a sensibilidade da pele. Ter rápida remoção pelo organismo, ou seja, estabilidade in vivo limitada. Deve ter absorção em comprimentos de onda mais longos na região do infravermelho/visível, absorvendo um grande número de fótons aumentando a penetração da luz no tecido. Além disso, sua banda de absorção não deve sobrepor às bandas de absorção de outros cromóforos presentes nos tecidos.²⁴

Os fotossensibilizadores são classificados em três gerações. Os de primeira geração, derivados de Hematoporfirina e seus correlatos. Os de segunda, compostos estruturalmente distintos com absorção de longo comprimento de onda. E os de terceira, fotossensibilizadores de segunda geração ligados a carregadores para melhor seletividade.²⁴

Os de segunda, em relação ao de primeira, são melhores por sua facilidade de reprodução, além de ter maior seletividade para o tecido tumoral e ser rapidamente excretadas do corpo. Sua absorção é em uma faixa de comprimento de onda maior (de 675 a \pm 800 nm) e com isso permite maior penetração de luz.²⁴

Dentre estes fotossensibilizadores de segunda geração, o verteporfin é um potente agente fotossensibilizador. As indústrias QLT Phototherapeutics de Vancouver (Canadá) e a Ciba Vision Corporation de Duluth (EUA) em colaboração o produziram sob o nome comercial Visudyne. Atualmente ele é empregado no tratamento de degeneração macular relacionada com a idade e está em ensaios clínicos de Fase III para o câncer de pele do tipo não melanoma cutâneo e de Fases I/II contra o tipo não melanoma.²⁴⁻²⁶

Comparado ao fármaco de primeira geração, o Photofrin, o verteporfin possui uma absorbância mais intensa em um comprimento de onda maior (690nm), com penetração 50% maior de luz no tecido. Além disso, é rapidamente absorvido pelo tumor, com taxa tecido/tumor entre 30 a 150 minutos após a injeção intravenosa, e

sua fotossensibilidade na pele dura apenas alguns dias, pois é eliminada do corpo entre 1 a 2 dias.²⁴⁻²⁷

5 CONCLUSÕES

As rotas propostas, com base no estudo da literatura de métodos de síntese do óxido de grafeno, nanopartículas de óxido de ferro magnéticas, ancoragem de polímeros e transesterificação, possibilitaram a obtenção de nano estruturas de óxido de grafeno magnético fluorescente com fotossensibilizador.

O processo de síntese de Hummers modificado removendo NaNO_3 da reação se mostrou possível através dos perfis dos espectros de Raman e UV/Vis. Na região do infravermelho, a oxidação da amostra foi observada pela presença dos grupos carbonil, epóxi e hidroxil, evidenciados também nas curvas termogravimétricas. A interação entre os grupos funcionais pode ser observada na micrografia eletrônica de varredura através das rugas e dobras em sua superfície. Sua estrutura foi confirmada pelo difratograma de raios X com um pico próximo a 11° .

O método de coprecipitação para inserir as nanopartículas no óxido de grafeno também se mostrou satisfatória. Nas micrografias feitas por FEG-MEV, a presença de OGP juntamente com o Fe_3O_4 foi observada. Para confirmar esse dado, caracterizações por DRX, espectroscopia de IV mostraram perfis da presença do óxido de ferro magnético. Contudo, ainda através da técnica de IV, juntamente com os espectros Raman, OG foi identificado de acordo com as bandas atribuídas.

A funcionalização com a FMA no OGM, para formar o OGMF, foi observada pela detecção de fluorescência nas técnicas de UV/Vis e fluorimetria. Na técnica de IV apenas foi possível observar a presença do AA.

Ao final, por espectroscopia na região do IV pode-se verificar a funcionalização do OGMF com o verteporfin pela presença da banda de C-N em 2130 cm^{-1} .

A sequência de sínteses desenvolvidas neste trabalho possibilitou a obtenção de um material com potencialidade teranóstica multifuncional com propriedades advindas do óxido de grafeno magnético modificado para aplicações em TFT e TFD.

REFERÊNCIAS

- 1 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2014**: incidência de câncer no Brasi. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outros-destaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf>. Acesso em: 19 out. 2014.
- 2 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report**: on noncommunicable diseases 2014. Geneva, c2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2016.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. **SI/SUS sistema de informações ambulatoriais: oncologia: manual de bases técnicas**. 22. ed. Brasília, DF, 2016.
- 4 YUAN, A. et al. Application of near-infrared dyes for tumor imaging, photothermal, and photodynamic therapies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, p. 6-28, 2013.
- 5 TRIBUNAL DE CONTAS DA UNIÃO. **Política nacional de atenção oncológica**. Brasília, 2011. (Relatório de auditoria operacional). Disponível em: <<http://www.sbradioterapia.com.br/pdfs/relatorio-tribuna-contas-uniao.pdf>> Acesso em: 13 dez. 2016.
- 6 HUANG, P. et al. Folic acid-conjugated graphene oxide loaded with photosensitizers for targeting photodynamic therapy. **Theranostics**, v. 1, p. 240-250, 2011.
- 7 SHIBUA, E. S. et al. Nanomaterials formulations for photothermal and photodynamic therapy of cancer. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 15, p. 53-72, 2013.
- 8 GAO, L. et al. Hypocrellin-loaded gold nanocages with high two-photon efficiency for photothermal/photodynamic cancer therapy in vitro. **ACS Nano**, v. 6, p. 8030-8040, 2012.
- 9 MacDONALD, I. J.; DOUGHERTY, T. J. Basic principles of photodynamic therapy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 5, p. 105-129, 2001.
- 10 SHAO, G. et al. Graphene oxide: the mechanisms of oxidation and exfoliation. **Journal of Materials Science**, v. 47, p. 4400-4409, 2012.
- 11 WISSLE, M. Graphite and carbon powders for electrochemical applications. **Journal of Power Sources**, v. 156, p. 142-150, 2006.

12 BRODIE, B. C. On the atomic weight of graphite. **Philosophical Transactions**, v. 149, p. 249-259, 1859.

13 STAUDENMAIER, L. Verfahren zur darstellung der graphitsäure. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 31, p. 1481-1487, 1898.

14 HUMMERS, W. S. Jr.; OFFEMAN, R. E. Preparation of graphitic oxide. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, p. 1339, 1958.

15 AKHAVAN, O.; GHADERI, E. Graphene nanomesh promises extremely efficient in vivo photothermal therapy. **Nano Micro Small Journal**, v. 9, n. 21, p. 3593-3601, 2013.

16 PANKHURST, Q. A. et al. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 42, p. 1-15, 2009.

17 PANKHURST, Q. A. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, p. 167-181, 2003.

18 YANG, J. et al. Preparation of polycaprolactone nanoparticles containing magnetite for magnetic drug carrier. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 324, p. 185-190, 2006.

19 GUPTA; R. B.; KOMPELLA, U. B. **Nanoparticle technology for drug delivery**. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 416 p.

20 LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHUTH, F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p. 1222-1244, 2007.

21 BLACKWELL, W. **Fluorescence microscopy**: from principles to biological applications. Bonn: Ulrich Kubitscheck, 2013. 539 p.

22 GONÇALVES, M. S. T. Fluorescent labeling of biomolecules with organic probes. **Chemical Reviews**, v. 109, p. 190-212, 2009.

23 GOVINDAIAH, P. et al. Synthesis and characterization of multifunctional Fe₃O₄/poly(fluorescein O-methacrylate) core/shell nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 379, p. 27-32, 2012.

24 DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 233/234, p. 351-371, 2002.

25 JOSEFSEN, L. B.; BOYLE, R. W. Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitisers. **Metal-Based Drugs**, 2008. doi:10.155/2008/276109.

26 SLIWINSKA, P. N. et al. Verteporfin, photofrin II, and merocyanine 540 as PDT photosensitizers against melanoma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 349, p. 549-555, 2006.

27 BUSETTI, A. et al. High efficiency of benzoporphyrin derivative in the photodynamic therapy of pigmented malignant melanoma. **British Journal of Cancer**, v. 79, p. 821-824, 1999.

28 GOLLAVELLI, G.; LING, Y. C. Multi-functional graphene as an in vitro and in vivo imaging probe. **Biomaterials**, v. 33, p. 2532-2545, 2012.

29 XUE, Y. et al. Oxidizing metal ions with graphene oxide: the in situ formation of magnetic nanoparticles on self-reduced graphene sheets for multifunctional applications. **Chemical Communications**, v. 47, p. 11689-11691, 2011.

30 POHL, K.; RODRIGUES, F. Adiabatic polymerization of acrylamide using a persulfate-bisulfite redox couple. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 26, p. 611-618, 1981.

31 SHEN, B. et al. Chemical functionalization of graphene oxide toward the tailoring of the interface in polymer composites. **Composites Science and Technology**, v. 77, p. 87-94, 2013.

32 BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson, 2006. v. 2, 704 p.

33 MITTAL, V. Functional polymer nanocomposites with graphene: a review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 299, p. 906-931, 2014.

34 LAURENT, S. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations and biological applications. **Chemical Reviews**, v. 108, p. 2064-2110, 2007.

35 BOKIAS, G.; DURAND, A.; HOURDET, D. Molar mass control of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(acrylic acid) in aqueous polymerizations initiated by redox initiators based on persulfates. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 199, p. 1387-1392, 1998.

36 WARREN, B. E. **X-ray diffraction**. London: Addison-Wesley, 1969. v. 1, 381 p.

37 STANKOVICH, S. et al. Synthesis and exfoliation of isocyanate-treated graphene oxide nanoplatelets. **Carbon**, v. 44, p. 3342-3347, 2006.

38 CHEN, J. et al. High-yield preparation of graphene oxide from small graphite flakes via an improved Hummers method with a simple purification process. **Carbon**, v. 81, p. 826-834, 2015.

39 CHEN, J. et al. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. **Carbon**, v. 64, p. 225-229, 2013.

40 ROBERT, F. S. **Thermal analysis of materials**. New York: Marcel Dekker, 1994. 298 p.

41 LEE, S. et al. Graphene oxide/poly(acrylic acid) hydrogel by γ -ray pre-irradiation on graphene oxide surface. **Macromolecular Research**, v. 22, p. 165-172, 2014.

42 HOSSEINZADEH, H.; RAMIN, S. Magnetic and pH-responsive starch-g-poly(acrylic acid-co-acrylamide)/graphene oxide superabsorbent nanocomposites: one-pot synthesis, characterization, and swelling behavior. **Starch**, v. 68, p. 200-212, 2016.

43 GENG, Y.; WANG, S. J.; KIM, J. K. Preparation of graphite nanoplatelets and graphene sheets. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 336, p. 592-598, 2009.

44 DU, Q. et al. Preparation of functionalized graphene sheets by a low-temperature thermal. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 3897-3903, 2010.

45 KONKENA, B.; VASUDEVAN, S. Understanding aqueous dispersibility of graphene oxide and reduced graphene oxide through pKa measurements. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 3, p. 867-872, 2012.

46 COTE, L. J.; SILVA, R. C.; HUANG, J. Flash reduction and patterning of graphite oxide and its polymer composite. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, p. 11027-11032, 2009.

47 SHEN, J. et al. One step synthesis of graphene oxide-magnetic nanoparticle composite. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, p. 1498-1503, 2010.

48 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principle of instrumental analysis**. 5th ed. Philadelphia: Hartcourt Brace & Company, 1997. 849 p.

49 SOCRATES, G. **Infrared characteristic group frequencies: tables and charts**. 3rd ed. New York: Wiley, 2004. 366 p.

50 ZUBIR, N. A. et al. Structural and functional investigation of graphene oxide-Fe₃O₄ nanocomposites for the heterogeneous Fenton-like reaction. **Scientific Reports**, v. 4, 2014. doi:10.1038/srep04594.

51 WU, H. et al. Control on the formation of Fe₃O₄ nanoparticles on chemically reduced graphene oxide surfaces. **CrystEngComm**, v. 14, p. 499-504, 2012.

52 DENG, J. H.; ZHANG, X. R.; ZENG, G. M. Simultaneous removal of Cd(II) and ionic dyes from aqueous solution using magnetic graphene oxide nanocomposite as an adsorbent. **Chemical Engineering Journal**, v. 226, p. 189-200, 2013.

- 53 ZHANG, J. et al. Poly(acrylic acid) functionalized magnetic graphene oxide nanocomposite for removal of methylene blue. **RSC Advances**, v. 5, p. 32272-32282, 2015.
- 54 GOVINDAIAH, P. et al. Synthesis and characterization of multifunctional Fe₃O₄/poly(fluorescein O-methacrylate) core/shell nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 379, p. 27-32, 2012.
- 55 HUANG, C. et al. A graphene oxide/hemoglobin composite hydrogel for enzymatic catalysis in organic solvents. **Chemical Communications**, v. 47, p. 4962-4964, 2011.
- 56 WAN, S. et al. Nacre-inspired integrated strong and tough reduced graphene oxide–poly(acrylic acid) nanocomposites. **Nanoscale**, v. 8, p. 5649-5656, 2016.
- 57 HA, H.; SHANMUGANATHAN, K.; ELLISON, C. J. Mechanically stable thermally crosslinked poly(acrylic acid)/reduced graphene oxide aerogels. **Applied Materials & Interfaces**, v. 7, p. 6220-6229, 2015.