

CAROLINE MORAES DA SILVA

DESIGN DE PLATAFORMAS MULTIFUNCIONAIS BASEADAS NO SISTEMA NP@MOF (NP = NANOPARTÍCULAS FOTOATIVAS, MOF = METAL-ORGANIC FRAMEWORKS). AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE DE USO EM HIPERTEMIA.

Tese apresentada ao Instituto de Química, universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina C. G. Frem

Araraquara/SP

2023

S586d

Silva, Caroline Moraes da

Design de plataformas multifuncionais baseadas no sistema NP@MOF (NP = nanopartículas fotoativas, MOF = metal-organic frameworks). Avaliação da potencialidade de uso em hipertemia / Caroline Moraes da Silva. -- Araraquara, 2023
154 p. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara

Orientadora: Regina Célia Galvão Frem

1. Materiais nanoestruturados. 2. Nanopartículas. 3. Compósitos. 4. Polímeros de coordenação. 5. Hipertermia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Design de plataformas multifuncionais baseadas no sistema NP@MOF (NP = Nanopartículas fotoativas, MOF = Metal-Organic Frameworks). Avaliação da potencialidade de uso em Hipertemia"

AUTORA: CAROLINE MORAES DA SILVA

ORIENTADORA: REGINA CÉLIA GALVÃO FREM

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Química, pela Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a REGINA CÉLIA GALVÃO FREM (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. SEVERINO ALVES JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Química Fundamental / Centro de Ciências Exatas e da Natureza - UFPE - Recife

Dr. RENAN LIRA DE FARIAS (Participação Virtual)
Departamento de Química / Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro - PUC - Rio de Janeiro

Prof. Dr. LIPPY FARIA MARQUES (Participação Virtual)
Departamento de Química Geral e Inorgânica / Instituto de Química - UERJ - Rio de Janeiro

Profa. Dra. ANA MARIA PIRES (Participação Virtual)
Departamento de Química e Bioquímica / Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNESP - Presidente Prudente

Araraquara, 04 de outubro de 2023

Documento assinado digitalmente
 **REGINA CELIA GALVAO FREM**
Data: 17/10/2023 19:56:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Impacto esperado com a pesquisa

Com a pesquisa em design de plataformas multifuncionais espera-se um impacto significativo na sociedade, principalmente na área da terapia combinada, com foco em hipertermia induzida. A hipertermia é um tratamento promissor para o câncer, onde o aumento da temperatura é direcionado para matar as células cancerígenas. O uso da nanoplateforma proposta neste trabalho, pode aprimorar essa terapia. A propriedade fototérmica das nanopartículas podem ser ativas por radiação de infravermelho e com base em parâmetros específicos contribuir para uma terapia eficiente. As plataformas multifuncionais baseadas em redes metalorgânicas (MOFs) podem ser carregadas com moléculas bioativas anticancerígenas para atuação de quimioterapia associada a hipertermia: um teranóstico. Essa plataforma teranóstica pode reduzir os efeitos colaterais da terapia combinada, por meio da liberação lenta e controlada do fármaco no local específico do tumor. Através da engenharia de superfície, pode-se introduzir à plataforma multifuncional propriedades características de bioentidades contribuindo para uma maior eficácia da terapia combinada. Em resumo, a presente pesquisa tem o potencial de revolucionar a terapia combinada, com foco em hipertermia, oferecendo tratamentos mais eficazes, com menos efeitos colaterais e um impacto positivo na qualidade de vida dos pacientes.

Expected impact of the research

With research into the design of multifunctional platforms, a significant impact on society is expected, especially in the area of combined therapy, with a focus on induced hyperthermia. Hyperthermia is a promising treatment for cancer, where the increase in temperature is targeted to kill cancer cells. The use of the nanopatform proposed in this work can improve this therapy. The photothermal property of nanoparticles can be activated by infrared radiation and based on specific parameters contribute to efficient therapy. Multifunctional platforms based on metal-organic networks (MOFs) can be loaded with bioactive anticancer molecules to act as chemotherapy associated with hyperthermia: a theranostic. This theranostic platform can reduce the side effects of combined therapy, through the slow and controlled release of the drug at the specific tumor site. Through surface engineering, properties characteristic of bioentities can be introduced to the multifunctional platform, contributing to greater effectiveness of the combined therapy. In summary, this research has the potential to revolutionize combined therapy, focusing on hyperthermia, offering more effective treatments, with fewer side effects and a positive impact on patients' quality of life.

DADOS CURRICULARES
CAROLINE MORAES DA SILVA

DADOS PESSOAIS

Nome: Caroline Moraes da Silva
Data de Nascimento: 11 de Agosto de 1993
Nacionalidade: Brasileira
Naturalidade: São João de Meriti/RJ
Filiação: Margarida Maria Moraes da Silva
Wanderlei Domingos da Silva
Email: caroline_moraesilva@outlook.com

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- 2019 – 2023 Doutorado em Química**
Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – IQ/UNESP – Campus de Araraquara.
Tese: Design de plataformas multifuncionais baseadas no sistema NP@MOF (NP = nanopartículas fotoativas, MOF = Metal-Organic Frameworks). Avaliação da potencialidade de uso em Hipertemia.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Célia Galvão Frem.
- 2017 – 2019 Mestrado em Química**
Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – IQ/UNESP – Campus de Araraquara.
Dissertação: Investigação do uso de Metal-Organic Framework (MOFs) de európio e ligantes mistos como Sensores Químicos.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Célia Galvão Frem
- 2012 – 2016 Bacharelado em Química**
Universidade Federal Fluminense – UFF – Campus de Volta Redonda
Monografia: Fotofísica Teórica de Fluoróforos BODIPY's
Orientador: Leandro Ferreira Pedrosa

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – IQ/UNESP

- 2022 – 2023 Doutoranda:** Discente ativa no Programa de Pós-Graduação em Química, sem bolsa CAPES, com vínculo empregatício.
- 2019 – 2022 Doutoranda:** Bolsista de Doutorado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

- 2022 – 2022 Representante da Pós-Graduação:** Curso de Pós-Graduação em Química.
- 2022 – 2022 Estágio Supervisionado em Docência:** Departamento de Química Geral e Inorgânica.
- 2021 – 2021 Docente colaborador:** Disciplina de a “Redes Metalorgânicas” do Programa de Pós-Graduação em Química. Docente responsável: Prof^a. Dr^a. Regina Célia Galvão Frem, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
- 2020 – 2021 Docente Auxiliar:** Programa de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior – PAADES (A).
- 2019 – 2020 Avaliadora de Painéis:** Congresso de Iniciação Científica (CIC) – Instituto de Química de Araraquara, IQAr.
- 2019 – 2020 Supervisora Científica:** Departamento de Química Geral e Inorgânica, projeto FAPESP 2019/06229-6.
- 2017 – 2017 Estágio de Docência:** Departamento de Química Geral e Inorgânica.
- Serviço Autônomo de Serviço de Água e Esgoto de Volta Redonda/RJ – SAAE**
- 2015 – 2016 Estagiária:** Laboratório de Tratamento de Efluentes.

PRÊMIOS E TÍTULOS

- 2020 – 2020 Best Poster:** Poster selected as one of the best evaluated posters presented in LatinXChem conference.
- 2019 – 2019 Oral Presentation:** Synthesis, Structure and Luminescence studies of 2D Europium Metal-Organic Frameworks in 20th International Symposium on Intercalation Compounds (ISIC), 2019, Campinas.

ATIVIDADES ACADÊMICAS RELEVANTES

Artigos completos publicados em periódicos

- ARROYOS, GUILHERME; DA SILVA, CAROLINE MORAES; CAMPANELLA, JONATAS ERICK MAIMONI; FREM, REGINA CÉLIA GALVÃO. Detection of anthrax biomarker and metallic ions in aqueous media using spherical-shaped lanthanide infinite coordination polymers. SPECTROCHIMICA ACTA PART A: MOLECULAR AND BIOMOLECULAR SPECTROSCOPY, v. 286, 2023.

- ARROYOS, GUILHERME; **DA SILVA, CAROLINE MORAES**; THEODOROVIEZ, LUCAS BITENCOURT; CAMPANELLA, JONATAS ERICK MAIMONI; FREM, REGINA CÉLIA GALVÃO. Insights on Luminescent Micro- and Nanospheres of Infinite Coordination Polymers. CHEMISTRY-A EUROPEAN JOURNAL, v. 27, p. 1-20, 2022.
- QUIJIA, C. R.; LIMA, C. J.; **SILVA, C. M.**; ALVES, R. C.; FREM, R. C. G.; CHORILLI, M. Application of MIL-100(Fe) in drug delivery and biomedicine. JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY, v. 61, p. 102217, 2020.
- **DA SILVA, CAROLINE M.**; ELLENA, JAVIER; FREM, REGINA C. G. Chemical transformation of a luminescent two-dimensional Eu(III) coordination polymer under aqueous phase. NEW JOURNAL OF CHEMISTRY, v.44, p. 10146–10152, 2020.
- MACHADO, L. A.; SOUZA, M. C.; **SILVA, C. M.**; HUGUENIN, J. Y.; REZENDE, L. C. D.; EMERY, F. S.; SIMONE, C. A.; JÚNIOR, E. N.; PEDROSA, L. F. On the synthesis, optical and computational studies of novel bodipy-based phosphoramidate fluorescent dyes. JOURNAL OF FLUORINE CHEMISTRY, v. 220, p. 9-15, 2019.
- FREM, R. C. G.; ARROYOS, G.; FLOR, J. B. S.; ALVES, R. C.; LUCENA, G. N.; **SILVA, C. M.**; COURA, M. MOFs (Metal-Organic Frameworks): Uma Fascinante Classe De Materiais Inorgânicos Porosos. QUIMICA NOVA, v. 41, p. 1178-1191, 2018.

Capítulos de livros publicados

- BOLDRIN, M. V. ; IRIKURA, K. ; SILVA, B. C. E. ; CARDOSO, J. C. ; STULP, S. ; **DA SILVA, CAROLINE** ; FREM, R. C. G. ; CANDIA-ONFRAY, C. ; ROJAS, S. ; SALAZAR, R. . Electrochemical Applications of Metal–Organic Frameworks: Overview, Challenges, and Perspectives. Electrochemical Applications of Metal–Organic Frameworks: Overview, Challenges, and Perspectives. 15ed.: , 2021, v. 1393 , p. 395-453.
- ARROYOS, G.; **DA SILVA, CAROLINE M.**; FREM, REGINA C. G. Design and Applications of Spherical Infinite Coordination Polymers (ICPS). In: Felipe de Almeida La Porta; Carlton A. Taft. (Org.). Engineering Materials. 1ed.: Springer International Publishing, 2020, v. 15, p. 391-411.

Apresentações de trabalho

- **SILVA, C. M.**; FREM, R. C. G. SYNTHESIS, STRUCTURE AND LUMINESCENCE STUDIES OF 2D EUROPIUM METAL-ORGANIC FRAMEWORKS (Apresentação Oral). In: **20th International Symposium on Intercalation Compounds (ISIC), 2019, Campinas.**

Apresentação de posters em eventos científicos

- THEODOROVIEZ, LUCAS B.; ARROYOS, GUILHERME; **SILVA, CAROLINE M.**; DOTTI, LAIS A.; FREM, REGINA C. G. FUNCTIONALIZATION OF MOFS (METAL-

ORGANIC FRAMEWORKS) TO EXTRACT HEAVY METALS FROM WATER). In: **LatinXChem Twitter Conference 2021, online.**

- ARROYOS, GUILHERME; THEODOROVIEZ, LUCAS B.; **SILVA, CAROLINE M.**; FREM, REGINA C. G. Fe^{3+} LUMINESCENT SENSING IN AQUEOUS MEDIA USING TERBIUM(III)-BASED INFINITE COORDINATION POLYMER. In: **LatinXChem Twitter Conference 2021, online**
- **SILVA, C. M.**; ARROYOS, G.; FREM, R. C. G. Two-dimensional Metal-Organic Frameworks applied to fast-response luminescent sensing for nitro compounds in solution. In: **LatinXChem, 2020, online.** Pôster entre os 500 mais bem colocados, destacado no Scimeetings (ACS). <https://doi.org/10.26226/morressier.5f6c5f439b74b699bf390b0e>
- FREM, R. C. G.; ARROYOS, G.; **SILVA, C. M.**; VERRUMA, O. F. Rare Earth-Based Coordination Polymers. In: **II Workshop of Photonics National Institute for Science and Technology (INFO)**, 2020, Araraquara. Rare Earth-Based Coordination Polymers, 2020.
- **SILVA, C. M.**; FREM, R. C. G. Synthesis, structure and luminescence studies of 2D europium metal-organic frameworks. In: **20th International Symposium on Intercalation Compounds (ISIC)**, 2019, Campinas.
- THEODOROVIEZ, L. B.; FREM, R. C. G.; ARROYOS, G.; **SILVA, C. M.** MOFs (Metal-organic frameworks) para a extração de íon térbio(III) de soluções aquosas. In: **XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, 2019, Araraquara.

Comissão organizadora

- FREM, R. C. G.; FLOR, J. B. S.; ARROYOS, G.; **SILVA, C. M.** Comissão organizadora do curso “Metal-Organic Frameworks (MOFs): uma nova classe de materiais inorgânicos porosos” realizado durante a 1ª Escola de Verão em Química – IQ UNESP no período de 26 de fevereiro a 02 de março de 2018.

Avaliadora de Painéis

- 1ª fase do XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP realizado virtualmente no período de 20 a 22 de outubro de 2020.
- 1ª fase do XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP realizado em Araraquara - SP nos dias 17 e 18 de setembro de 2019.

Supervisão Científica

- Supervisão científica do projeto de iniciação científica “MOFs (Metal-organic frameworks) para extração de íons lantanídeos (III) e metais pesados.” Desenvolvido pelo discente Lucas Bitencourt Theodoroviez (Bolsa FAPESP Processo nº 2019/06229-6) no período de 01/09/2019 – 01/09/2020.

Dedico esta Tese de Doutorado

Á Margarida Maria Moraes da Silva (in memoriam), meu primeiro incentivo na vida pessoal, social e profissional. E toda conquista, todo sonho e principalmente, toda esperança que eu ousar ter, será dedicado a ela, minha mãe e agora minha eterna flor margarida.

Aos Programas de Incentivo e Fomento à Pesquisa Científica Brasileira, por meio deles, sou a primeira doutora da família Silva e Moraes e ousar dizer, a primeira de muitas (os) que virão.

Á minha família, que conviveram com a minha ausência e me deram incentivo em todos os momentos, mesmo desconhecendo a rotina e o dia a dia de um pós-graduando.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me sustentar nessa jornada de quatro anos que foi o Doutorado. Uma caminhada longa, exaustiva, que valeu cada esforço... até aqui me guiou e sustentou o Senhor! Cada desafio é uma forma de aprender a caminhar na rota da vida. Gratidão por cada ensinamento, por cada momento... Foi tudo mais do que imaginei.

Agradeço a minha família Silva e Moraes pelo exemplo de vida. Eles são minha referência de sucesso, me inspiram a ser e viver meus sonhos. Mesmo a alguns quilômetros de distância deles, sempre lembraram de mim, mesmo não estando presente. Essa conquista é nossa, a primeira (de outros(as) que virão) doutora, negra, da família Silva e Moraes!

Às políticas públicas, que quando bem aplicadas, ajudam a formar pessoas qualificadas, mudar estatísticas e alavancar o desenvolvimento do país. Ao sistema público de ensino e todos os professores que formaram a minha base... Sem eles, essa tese não estaria sendo escrita por mim.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Regina Frem por me apresentar as redes metalorgânicas (MOFs), pelos ensinamentos, encorajamentos, confiança depositada na minha pessoa/projetos e por todas as oportunidades concedidas. Sempre lembrarei com muito carinho nossas comemorações em sua casa com cachorro-quente (em especial a mim que adoro rs), música, dança e jogatinas.

A todos que eu tive o prazer de conhecer e conviver nessa jornada de 06 anos em Araraquara/SP. Conheci pessoas, culturas, lugares, compartilhei histórias, fui até campeã com o time de basquete da Unesp... fiz amigos para a vida! Talvez eu esqueça do resultado escrito nesta tese, mas não esquecerei dos momentos vividos até aqui a qual fizeram a jornada mais prazerosa.

Aos meus colegas de trabalho Lucas, Olavo, Augusto, Isabela, Laís, Jader, Renata, Gilmar, Renan Marson, Christian e todos do grupo dos Organometálicos: Ronan, Renan Zanetti, Naira, Manuela, Bárbara, Renan Lira (e Mônica), Mariete, Ana Polez, Ana, Débora, Wladimir e Thales. Obrigada pela partilha do conhecimento, das experiências e dia a dia no laboratório.

Em especial aos colegas que se tornaram meus grandes amigos: Camila Lima, Jécika Maciel e Guilherme Arroyos. Obrigada pelos inúmeros cafés, almoços e shows no Cacarejo. Muito feliz em ver vocês realizados, muito orgulho de vocês!

Ao Instituto de Química da Unesp de Araraquara, pela infraestrutura disponibilizada para a elaboração e execução do trabalho. Pelos pesquisadores, grupos renomados de pesquisa e equipamentos ali instalados.

Aos técnicos do departamento de Química analítica, Físico-química e Inorgânica, em especial ao Rafael Domenegueti (Rafa), pela ajuda e suporte com os equipamentos e fluxo do laboratório, espectros no infravermelho e UV. Em especial, a Neide pelos difratogramas de raios-X e ao Diego pelas microscopias eletrônicas de varredura.

Ao Roberto Viana, que acompanhou esta jornada me incentivando e me fazendo lembrar do meu propósito. Obrigada meu bem!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

As Redes Metalorgânicas (*Metal-Organic Frameworks*, abreviado pelo acrônimo MOFs) são uma classe de polímeros de coordenação porosos formados pela coordenação entre moléculas orgânicas e íons/clusters metálicos. Nesta tese, uma série de MOFs baseados no ligante (i) 2-metilimidazol e íons Zn(II), (ii) 1,3,5-benzenotricarboxílico e íons Fe(III) e (iii) 2-butenodióico e íons Fe(III) foram obtidos, a saber: sistema **ZIF-8** (i), **MIL-100** (ii) e **MIL-88A** (iii), respectivamente. Dentro desse contexto, o objetivo central do trabalho foi investigar o uso de diferentes metodologias para a construção de nanoplateformas multifuncionais baseadas no sistema NP@MOF (NP = nanopartículas fotoativas) para serem utilizadas no tratamento de células cancerígenas pelo método de Hipertermia. Sendo assim, dois materiais baseados na partícula azul da Prússia funcionalizados com polivinilpirrolidona (**PB-PVP**) e citrato (**PBcitrato**) foram sintetizadas e a propriedade do efeito fototérmico foi investigada sob irradiação de laser no comprimento de 808 nm, variando os parâmetros tempo de irradiação (0 – 600 s) e potência do laser (1,0; 1,5 e 2,0 W cm⁻²). O trabalho prosseguiu então, no desenvolvimento de uma rota de preparação de três compósitos do tipo *core-shell*, nos quais o caroço (*core*) foi constituído pelas partículas fotoativas e a casca (*shell*), pelas redes metalorgânicas (i) ZIF-8, (ii) MIL-100, (iii) MIL-88A. A partir das técnicas de difração de raios X, imagem de microscopia de transmissão e varredura, espectroscopia por dispersão de elétrons, espalhamento de luz dinâmico e potencial zeta foi possível estabelecer a condição *core-shell* dos sistemas, o tamanho das partículas e a espessura do *shell* na superfície das partículas. O fármaco 6-mercaptopurina (6MP), um imunossupressor, foi incorporado no sistema compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** pelo método *in-situ* com uma eficiência de encapsulação de 98,02%. Estudos de liberação controlado do fármaco em meio de solução tampão PBS (pH 5,0 e pH 7,0) indicam uma liberação de 14% em meio ácido (pH 5,0). Além da síntese, caracterização e estudo fototérmico e de liberação de fármaco, foi realizado o revestimento do compósito com membranas celulares de macrófagos (MM), dando origem à plataforma multifuncional **PB-PVP@ZIF8@6MP@MM**. Além disso, foi possível como esse mesmo material, a formação de bioadesivos a base de polpa de cebola (*allium cepa* L.) com a produção do material **PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC** como proposta para uso tópico acrescentando propriedades medicinais (características antioxidantes, anticarcinogênicas e antimicrobianas das fibras de cebola) à nanoplateforma. Os materiais **PBcitrato@MIL-100(Fe)** e **PB-PVP@MIL-100(Fe)** foram obtidos com sucesso a partir de duas rotas sintéticas distintas: auto-montagem assistida por microondas e auto-montagem do tipo LBL (layer-by-layer). Alguns estudos adicionais ainda foram realizados, mas em sua fase preliminar como a formação do sistema **PB-PVP@MIL-88A** e a tentativa de obtenção de uma MOF inédita contendo íons Zn(II) e o fármaco 6-mercaptopurina como ligante, denominado de **1(Zn/6MP)** e posteriormente **PB-PVP@1(Zn/6MP)**.

Palavras-chave: Materiais nanoestruturados, Nanopartículas, Compósitos, Polímeros de coordenação, Hipertermia.

Abstract

Metal-Organic Frameworks (abbreviated by the acronym MOFs) are a class of porous coordination polymers formed by coordination between organic molecules and metal ions/clusters. In this thesis, a series of MOFs based on the ligand (i) 2-methylimidazole and Zn(II) ions, (ii) 1,3,5-benzenetricarboxylic acid and Fe(III) ions and (iii) 2-butenedioic acid and Fe(III) were obtained, namely: **ZIF-8** system (i), **MIL-100** (ii) and **MIL-88A** (iii), respectively. Within this context, the central objective of the work was to investigate the use of different methodologies for the construction of multifunctional nanoplatforms based on the NP@MOF system (NP = photoactive nanoparticles) to be used in the treatment of cancer cells using the Hyperthermia method. Within this context, the central objective of the work was to investigate the use of different methodologies for the construction of multifunctional nanoplatforms based on the NP@MOF system (NP = photoactive nanoparticles) to be used in the treatment of cancer cells using the Hyperthermia method. Therefore, two materials based on the Prussian blue particle functionalized with polyvinylpyrrolidone (**PB-PVP**) and citrate (**PBcitrate**) were synthesized and the property of the photothermal effect was investigated under laser irradiation at a length of 808 nm, varying the irradiation time parameters. (0 – 600 s) and laser power (1.0, 1.5 and 2.0 W cm⁻²). The work then continued, developing a route for preparing three core-shell composites, in which the core was made up of photoactive particles and the shell was made up of metal-organic networks (i) **ZIF-8**, (ii) **MIL-100**, (iii) **MIL-88A**. Using X-ray diffraction techniques, transmission and scanning microscopy imaging, electron scattering spectroscopy, dynamic light scattering and zeta potential, it was possible to establish the core-shell condition of the systems, the size of the particles and the thickness of the shell on the surface of the particles. The drug 6-mercaptopurine (6MP), an immunosuppressant, was incorporated into the **PB-PVP@ZIF-8@6MP** composite system by the in-situ method with an encapsulation efficiency of 98.02%. Controlled release studies of the drug in PBS buffer solution (pH 5.0 and pH 7.0) indicate a release of 14% in acidic medium (pH 5.0). In addition to the synthesis, characterization and photothermal and drug release studies, the composite was coated with macrophage cell membranes (MM), giving rise to the multifunctional platform **PB-PVP@ZIF8@6MP@MM**. Furthermore, it was possible, using this same material, to form bioadhesives based on onion pulp (*allium cepa* L.) with the production of the material **PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC** as a proposal for topical use, adding medicinal properties (characteristics antioxidants, anticarcinogenic and antimicrobial properties of onion fibers) to the nanoplatform. The materials **PBcitrate@MIL-100(Fe)** and **PB-PVP@MIL-100(Fe)** were successfully obtained from two distinct synthetic routes: microwave-assisted self-assembly and layer-by-layer self-assembly. Some additional studies were still carried out, but in their preliminary phase, such as the formation of the **PB-PVP@MIL-88A** system and the attempt to obtain an unprecedented MOF containing Zn(II) ions and the drug 6-mercaptopurine as a ligand, called **1(Zn/6MP)** and later **PB-PVP@1(Zn/6MP)**.

Keywords: Nanostructured materials, Nanoparticles, Composites, Coordination Polymers, Hyperthermia.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Representação dos blocos de construção das redes metalorgânicas (MOFs). As redes são formadas pela coordenação da molécula orgânica (círculo amarelo) ao íon metálico ou cluster (círculo verde). O espaço vazio é ilustrado pelo círculo azul. A propagação da rede no espaço 2D ou 3D é representado pela linha pontilhada e a área superficial do poro é representado pela forma geométrica quadrada e hexagonal. Fonte: Adaptado da referência [9]..... 26
- Figura 2.** Representação dos domínios de um material MOF - Química de metais, Química de ligantes e Grupos funcionais - presente nos blocos de construção das MOFs. Fonte: Adaptado da referência [10]. 27
- Figura 3.** Representação esquemática da nucleação e crescimento de nanopartícula MOF de acordo com o modelo de LaMer. Em azul, síntese de nanopartículas MOF pequenas e uniformes consiste na formação rápida de núcleos abundantes. Em vermelho, síntese de nanopartículas MOF grandes e uniformes consiste na formação lenta de núcleos. Fonte: Adaptado da referência 30
- Figura 4.** Curva dose resposta da tolerância de elementos essenciais (a) e não-essenciais (b) no organismo. Região I – Sobrevivência, II – Dose ideal, III – Toxicidade, IV – Letalidade e V – Tolerável. Fonte: Adaptado da referência [67]. 32
- Figura 5.** Relação do tamanho de partícula versus via de administração para bioaplicações. À esquerda: representação das vias de administração. À direita: representação dos diferentes processos dependentes do tamanho. Fonte: Adaptado da referência [86]. 35
- Figura 6.** Representação das interações de partículas na presença de biomoléculas, incluindo interação eletrostática, ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica, interação ligante-receptor, interação estereosseletiva, coordenação e efeitos de curvatura da membrana. Fonte: Reproduzida da referência [62]. 38
- Figura 7.** Métodos de modificação pós sintética (PSM) via ligação coordenada (em vermelho) ou covalente (em azul). Fonte: Adaptado da referência [95]. 39
- Figura 8.** Representação esquemática do método promissor para a formação de MOFs biomiméticos a partir do revestimento das partículas por membranas celulares. Fonte: Reproduzida da referência [96]. 39
- Figura 9.** Representação esquemática de biocompósitos baseados em MOF obtidos pela estratégia de encapsulamento de acordo com a bioentidade encapsulada. Adaptado de Velásquez-Hernández, 2021. Fonte: Adaptada da referência [86]. 41
- Figura 10.** Ilustração representativa da hipertermia convencional e localizada. A hipertermia convencional cria um gradiente de calor da região da superfície do corpo para o interior. As abordagens de hipertermia localizada promovem o aquecimento específico do tecido tumoral, evitando danos nas células próximas. Fonte: Reproduzida da referência [102]. 42

Figura 11. Ilustração esquemática da profundidade de penetração da luz dependente do comprimento de onda. Fonte: Reproduzido da referência [104].	43
Figura 12. Ilustração esquemática do design de plataformas multifuncionais baseadas no sistema NP@MOF . Fonte: Autoria Própria.	46
Figura 13. Mecanismo proposto para a formação de nanopartículas de azul da Prússia funcionalizadas por citrato.	63
Figura 14. Mecanismo proposto para a formação de nanopartículas azul da Prússia revestidas de polivinilpirrolidona.	66
Figura 15. Espectros FTIR das amostras PBcitrato , PB-PVP e seus precursores ácido cítrico e polivinilpirrolidona (PVP).	68
Figura 16. Difrátogramas de raios X das amostras PBcitrato , PB-PVP e o respectivo padrão simulado (CCDC Number: 708099).	69
Figura 17. Microscopia de difração de elétrons da área selecionada (SAED) da amostra PB-PVP .	71
Figura 18. Diâmetro hidrodinâmico médio das partículas PBcitrato e PB-PVP em dispersão aquosa.	73
Figura 19. Imagens MEV-FEG das partículas PBcitrato (A) e PB-PVP (B). Histogramas da contagem de 100 a 150 partículas da amostra PBcitrato (C) e PB-PVP (D).	76
Figura 20. Imagens MEV-FEG das partículas PBcitrato (A) e PB-PVP (B) com ampliação de 100.000x	77
Figura 21. Imagens de microscopia de transmissão das partículas (A) PBcitrato e (B) PB-PVP .	78
Figura 22. Imagens MET da partícula PB-PVP isolada (A), imagem de alta resolução da interface PB e PVP (B).	78
Figura 23. Diferença entre o tamanho de partícula e o tamanho hidrodinâmico.	79
Figura 24. Histogramas da contagem de 50 partículas da amostra PB-PVP obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.	80
Figura 25. Curvas TGA (em azul) e DTG (em vermelho) das partículas PB-PVP .	81
Figura 26. Espectros de absorção na região UV-Vis-NIR da dispersão aquosa das partículas PBcitrato (A) e PB-PVP (B) e suas respectivas soluções aquosas precursoras.	83
Figura 27. Espectros eletrônicos na região do Vis-NIR das partículas PBcitrato e PB-PVP dispersas em fase aquosa.	85

Figura 28. Estudos de transdução fototérmica de dispersões aquosas das amostras (1 mg mL ⁻¹): (A) PBcitrato , (B) PB-PVP e a dependência da potência do laser.....	87
Figura 29. Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras ZIF-8 , 6-MP e os compósitos PB-PVP@ZIF-8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP nas regiões de (A) 4000 – 400 cm ⁻¹ , (B) 1800 – 400 cm ⁻¹	90
Figura 30. Difrátogramas de raios-X das amostras PB-PVP@ZIF-8 , 6MP , PB-PVP@ZIF-8@6MP e das nanopartículas PB (CCDC Number: 708099) e ZIF-8 (CCDC Number: 864309) simulados.....	91
Figura 31. Microscopia de difração de elétrons de área selecionada (SAED) dos materiais PB-PVP@ZIF-8 (A) e PB-PVP@ZIF-8@6MP (B).....	92
Figura 32. (A) Imagens MEV-FEG e (B) Histograma de tamanho das partículas PB-PVP@ZIF-8	93
Figura 33. (A) Imagens MEV-FEG e (B) Histograma de tamanho das partículas do material PB-PVP@ZIF-8@6MP	93
Figura 34. Espectros EDS dos materiais PB-PVP@ZIF-8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP	95
Figura 35. Imagens de microscopia de transmissão das partículas dos materiais (A) PB-PVP@ZIF-8 e (B) PB-PVP@ZIF-8@6MP	95
Figura 36. Potencial zeta das partículas ZIF-8 , PB-PVP e das partículas dos compósitos PB-PVP@ZIF-8 (<i>representado pela abreviação NPs@ZIF-8</i>) e PB-PVP@ZIF-8@6-MP (<i>representado pela abreviação NPs@MOF@6MP</i>).	96
Figura 37. Curvas TGA dos compostos PB-PVP (linha azul escuro), MOF ZIF-8 (linha cinza) e PB-PVP@ZIF-8 (linha azul claro).	98
Figura 38. Curvas TGA das amostras PB-PVP (linha azul), ZIF-8 (linha cinza), do fármaco 6-MP (linha amarela) e do compósito PB-PVP@ZIF-8@6MP (linha verde).. ..	99
Figura 39. Diâmetros hidrodinâmicos médios das partículas de PB-PVP , PB-PVP@ZIF-8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP em dispersão aquosa.	102
Figura 40. Espectros UV-Vis-NIR das amostras PB-PVP , ZIF-8 , 6-MP , PB-PVP@ZIF-8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP	103
Figura 41. Curva de calibração da 6-mercaptopurina (6MP) em solução aquosa ($\lambda = 323$ nm).	105
Figura 42. Representação esquemática das estruturas da rede metalorgânica ZIF-8 e do 6-mercaptopurina (6-MP).	105
Figura 43. Curvas de calibração da 6-mercaptopurina (6MP) em solução tampão fosfato, em dois diferentes valores de pH.	106

Figura 44. Curvas de liberação do fármaco 6MP a partir da matriz PB-PVP@ZIF-8@6MP em diferentes valores de pH (5,0 e 7,0) e temperatura de 37 °C.....	107
Figura 45. Espectros Vis-NIR das amostras PB-PVP@ZIF8 e PB-PVP@ZIF8@6MP	108
Figura 46. Efeito fototérmico do compósito PB-PVP@ZIF-8@6MP sob irradiação laser (808 nm) de três diferentes potências.....	109
Figura 47. Imagens termográficas de camundongos portadores de tumor injetado com (B) - (E) nanopartículas e (F) - (I) solução salina em diferentes tempos de irradiação. Fonte: Reproduzida da referência [111].	110
Figura 48. Efeito fototérmico da partícula PB-PVP (1 mg mL ⁻¹) e do compósito PB-PVP@ZIF-8@6MP (0,1 mg mL ⁻¹).	111
Figura 49. Imagens dos filmes obtidos. (A) FBC-6,4% , (B) PB@ZIF-8@6MP@FBC-4,4% e (C) FBC-2,6%	113
Figura 50. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do material PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC . (A) 5000x (B) 10.000x (C) 25.000x (D) 50.000x	114
Figura 51. Representação do feixe do laser sob os filmes compósitos, a partir de uma perspectiva de vista superior. Fonte: Autora.	114
Figura 52. Espectro EDS das partículas do compósito PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC-4,4% . Inset: microscopia eletrônica de varredura da partícula utilizada na análise pontual via EDS.	115
Figura 53. Padrões de raios-X da plataforma nanoestruturada PB@ZIF-8@6MP@FBC-4,4% e seus componentes.....	116
Figura 54. Curvas TG e DTG do do compósito PB-PVP@ZIF8@6MP (inferior), biofilme de polpa de cebola (FBC 2,6%) (no meio) e do compósito incorporado no biofilme (PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC-4,4% (superior).....	117
Figura 55. Imagens de microscopia MEV-FEG da amostra PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM (A) 10.000x (B) 50.000x.....	118
Figura 56. Espectros EDS das partículas PB-PVP@ZIF-8@6MP não-revestidas (em azul) e revestidas com membranas de macrófagos PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM (em vermelho).....	119
Figura 57. Valores de potencial zeta das amostras PB-PVP@ZIF-8@6MP , MM e PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM	120
Figura 58. Espectros FTIR das amostras MIL-100(Fe) , PBcitrato e PBcitrato@MIL-100(Fe) MW.	122
Figura 59. Imagens das partículas do compósito PBcitrato@MIL-100 obtido pelo método assistido por microondas. (A) Imagens de MEV-FEG e o histograma da	

contagem de partículas. (B) Imagens de MET e o histograma da contagem de partículas.	123
Figura 60. (A) Comparação da coloração da dispersão aquosa 0,1 mg mL ⁻¹ das amostras PBcitrato (a esquerda) e PBcitrato@MIL100 (a direita). (B) Amostras PBcitrato@MIL100 MW e suas respectivas concentrações.	124
Figura 61. Espectros de absorção Vis-NIR (a) e efeito fototérmico (b) da dispersão aquosa de PBcitrato@MIL-100 (MW) 1 mg mL ⁻¹	125
Figura 62. Espectros FTIR das amostras MIL-100(Fe) , PBcitrato e PBcitrato@MIL-100(Fe)LBL	126
Figura 63. Imagens de microscopia eletrônica de (A) varredura e (B) transmissão do compósito PBcitrato@MIL-100 obtido pelo método <i>layer-by-layer</i>	127
Figura 64. Espectros FTIR das amostras MIL-100(Fe) , PB-PVP@MIL-100(Fe) 1 ciclo e PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos	128
Figura 65. Imagens de microscopia eletrônica (A) de varredura (MEV) e (B) de transmissão (MET) do compósito PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos	129
Figura 66. Espectros no infravermelho dos compostos PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos LBL , PB-PVP@MIL-88A MW e seus precursores ácido fumárico e nanopartículas PB-PVP NPs	131
Figura 67. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do material PB-PVP@MIL-88A MW (A e B) e PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos LBL (C e D). (A) 20.000x (B) 100.000x (C) 20.000x (D) 100.000x.....	132
Figura 68. Espectros vibracionais na região do infravermelho do ligante 6-mercaptopurina (6-MP) e da estrutura 1 (Zn/6MP)	133
Figura 69. Imagem MEV do material 1(Zn/6MP)	134
Figura 70. Espectro EDS das partículas do material 1(Zn/6MP)	134
Figura 71. Espectros vibracionais na região do infravermelho dos compósitos PB@1(Zn/6-MP) (A) e PB@ZIF8@6MP (B).....	136
Figura 72. Representação esquemática da coordenação via N-doador do ligante 6-mercaptopurina no composto 1(Zn/6MP) e 2-metilimidazol no composto PB-PVP@ZIF-8@6MP	137
Figura 73. Microscopia eletrônica de varredura das partículas do compósito PB@1(Zn/6MP) e o histograma correspondente a contagem de 100 partículas.	138
Figura 74. Curvas de calibração do fármaco 6-mercaptopurina em metanol (à esquerda) e solução aquosa (à direita).	139

Figura 75. Espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo dos compostos **ZIF-8**, **6-MP**, **PB@ZIF-8@6-MP**, **PB@1(Zn/6MP)** e **1(Zn/6MP)**. 140

Figura 76. Espectros no UV-Vis-NIR de dispersões aquosas da amostra **PB-PVP@1(Zn/6MP)**. 141

Lista de Tabelas

Tabela 1. Exemplos de metais bioativos usados na medicina, Dose letal oral Composição dos metais em humanos e dose oral 50 letal em rato (LD ₅₀).....	33
Tabela 2. Tamanho de cristalito para as partículas PB-citrato e PB-PVP calculados pela equação de Scherrer com base nos difratogramas.	70
Tabela 3. Distâncias interplanares do azul da Prússia obtidas a partir de dados experimentais e dos dados do padrão de cristal simulado.....	71
Tabela 4. Valores de raio diâmetro hidrodinâmico das partículas PBcitrato e PB-PVP	73
Tabela 5. Valores de potencial zeta das partículas PBcitrato e PB-PVP	74
Tabela 6. Tamanho médio das partículas PBcitrato e PB-PVP	76
Tabela 7. Valores comparativos entre o tamanho médio obtido pela análise MET e o diâmetro hidrodinâmico obtido pela técnica DLS das partículas PB-PVP	80
Tabela 8. Valores de perda de massa atribuídos aos eventos térmicos para as partículas de PB-PVP	81
Tabela 9. Distâncias interplanares do composto PB-PVP@ZIF-8 a partir de dados experimentais e dados do padrão de cristal simulado para as partículas PB-PVP e ZIF-8	92
Tabela 10. Valores comparativos entre o tamanho médio (largura) obtido pela análise MEV das partículas PB-PVP	94
Tabela 11. Dados experimentais de perdas de massa das amostras PB-PVP , ZIF-8 e PB-PVP@ZIF-8 com base nas análises térmicas.....	98
Tabela 12. Dados experimentais de perdas de massa das amostras PB-PVP , ZIF-8 , 6MP e PB-PVP@ZIF-8@6MP com base nas curvas TGA.....	99
Tabela 13. Valores de raio hidrodinâmico das partículas PB-PVP@ZIF-8 e PB- PVP@ZIF-8@6MP	101
Tabela 14. Dados referentes ao cálculo de peso seco da polpa de cebola.	112
Tabela 15. Comparação entre a variação de temperatura e o tempo de irradiação para as partículas PBcitrato e composto.	125
Tabela 16. Valores de potencial zeta das partículas PBcitrato , PBcitrato@MIL-100 2 ciclos e PBcitrato@MIL-100 5 ciclos	127
Tabela 17. Valores de potencial zeta dos componentes PB-PVP , MIL-100(Fe) e compósito PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL	130

Tabela 18. Principais atribuições da energia vibracional nas amostras PB-PVP@ZIF-8@6MP e PB-PVP@1(Zn/6MP)	135
Tabela 19. Valores de potencial zeta do compósito PB@1(Zn/6MP) e seus componentes.....	137
Tabela 20. Resultados do ensaio de encapsulação do fármaco 6-MP no sistema 1(Zn/6MP)	139

Sumário

1. Introdução	25
1.1. Metal-Organic Frameworks (MOFs).....	25
1.2. MOFs em aplicações biológicas	31
1.3. Toxicidade de MOFs	34
1.4. Biocompatibilidade.....	37
1.5. MOFs como sistemas de liberação controlada de fármacos	40
1.6. Terapia Fototérmica usando sistemas baseados em MOFs	41
1.7. Sistemas de indução de mecanismos citotóxicos em células tumorais.....	44
1.8. Nanoplateformas multifuncionais.....	45
1.9. Motivação	46
2. Objetivos.....	47
2.1. Objetivos específicos.....	47
3. Metodologia	48
3.1. Métodos Instrumentais	48
3.1.1. Reator micro-ondas	48
3.1.2. Estufa Solvotérmica/Hidrotérmica.....	48
3.1.3. Difração de raios X de pó.....	48
3.1.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....	48
3.1.5. Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (MET) e Microscopia de difração de elétrons da área selecionada (SAED).....	49
3.1.6. Análise Termogravimétrica.....	49
3.1.7. Potencial Zeta.....	49
3.1.8. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	49
3.1.9. Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis-NIR....	50
3.1.10. Efeito Fototérmico.....	50
3.2. Métodos Experimentais	50
3.2.1. Síntese de nanopartículas	50
3.2.1.1. Azul da Prússia, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, funcionalizadas por ânions citrato (PBcitrato)	50
3.2.1.2. Partículas de azul da Prússia, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, revestidas pelo polímero polivinilpirrolidona (PB-PVP)	51
3.2.1.3. Processo <i>scale-up</i> de nanopartículas de Azul da Prússia revestidas com polivinilpirrolidona (PVP)	53

3.2.2.	Síntese dos compósitos do tipo núcleo-casca NPs@MOFs	53
3.2.2.1.	Compósito PB-PVP@ZIF-8.....	53
3.2.2.2.	Automontagem assistida por agente de cobertura e incorporação <i>in-situ</i> do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP).....	54
3.2.2.3.	Compósito PBcitrato@MIL-100(Fe) pelo método <i>in situ</i> assistido por microondas.....	54
3.2.2.4.	Compósito PBcitrato@MIL-100(Fe) pelo método layer-by-layer (LBL)	55
3.2.2.5.	Compósito PB-PVP@MIL-100(Fe) pelo método layer-by-layer ..	55
3.2.2.6.	Compósito PB-PVP@MIL-88A(Fe) pelo método assistido por microondas (MW)	56
3.2.2.7.	Compósito PB-PVP@MIL-88A(Fe) pelo método <i>layer-by-layer</i> ..	56
3.2.2.8.	Compósito 1(Zn/6MP) usando 6-mercaptopurina (6-MP) como ligante	57
3.2.2.9.	Compósito PB-PVP@1(Zn/6-MP).....	57
3.2.2.10.	Preparação de biofilmes a base de cebola (FBC).....	58
3.2.2.10.1.	Preparação de nanoplateformas revestidas do tipo NPs@MOFs@FBC a partir da incorporação dos compósitos NPs@MOFs no biofilme FBC	59
3.2.2.11.	Revestimento das estruturas <i>core-shell</i> com membranas de macrófagos (MM).....	59
3.2.2.11.1.	Preparação das vesículas de macrófagos (MM).....	60
3.2.2.11.2.	Revestimento do material PB-PVP@ZIF-8@6-MP com membrana de macrófago (MM).....	60
3.2.2.12.	Estudos de encapsulamento e liberação do fármaco 6-mercaptopurina.....	60
3.2.2.12.1.	Curvas de calibração.....	60
3.2.2.12.2.	Estudo de encapsulação do fármaco 6-MP no material PB-PVP@ZIF-8	61
3.2.2.12.3.	Ensaio de liberação do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP) da matriz PB-PVP@ZIF-8@6-MP	61
4.	Resultados e Discussão	62
4.1	Nanopartículas de Azul da Prússia (PB)	62
4.1.1	Sínteses	62
4.1.1.1	Nanopartículas PB funcionalizadas por citrato (PBcitrato)	62
4.1.1.2	Nanopartículas de PB revestidas de polivinilpirrolidona (PB-PVP)	63
4.1.2	Caracterização das Nanopartículas de Azul da Prússia (PB)	66

4.1.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para as nanopartículas PBcitrato e PB-PVP	66
4.1.2.2	Difração de raios X de pó	67
4.1.2.3	Difração de elétrons em área selecionada	70
4.1.2.4	Espalhamento dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta	71
4.1.2.5	Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução	74
4.1.2.6	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução	77
4.1.2.7	Análise Térmica	80
4.1.2.8	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível e infravermelho próximo (UV-Vis-NIR)	82
4.1.2.9	Investigação do efeito fototérmico de nanopartículas de azul da Prússia	85
4.2	Compósitos PB-PVP@MOFs	87
4.2.1	Compósito PB-PVP@ZIF-8	88
4.2.1.1	<i>Encapsulamento do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP)</i>	88
4.2.1.2	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (IV)</i>	89
4.2.1.3	<i>Difração de raios-X de pó</i>	90
4.2.1.4	<i>Difração de elétrons em área selecionada</i>	91
4.2.1.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução</i>	93
4.2.1.6	<i>Espectroscopia de energia dispersiva</i>	94
4.2.1.7	<i>Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução</i>	95
4.2.1.8	<i>Determinação do Potencial Zeta</i>	96
4.2.1.9	<i>Análise Térmica</i>	97
4.2.1.10	<i>Espalhamento dinâmico de Luz (DLS)</i>	101
4.2.1.11	<i>Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível e infravermelho próximo (UV-Vis-NIR)</i>	102
4.2.1.12	Encapsulação do fármaco 6-mercaptopurina (6MP) na matriz PB-PVP@ZIF8	104
4.2.1.13	Ensaio de liberação do fármaco 6-mercaptopurina da matriz PB-PVP@ZIF-8@6MP	106
4.2.1.14	Efeito fototérmico dos materiais PB-PVP@ZIF8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP	108
4.2.1.15	Incorporação do compósito PB-PVP@ZIF-8@6MP em filmes biopoliméricos de cebola (FBC)	111
4.2.6.1	Estruturas <i>core-shell</i> do tipo PB-PVP@ZIF-8@6-MP revestidas com membranas de macrófagos (MM)	117
4.2.2	Compósitos PB-PVP@MIL-100(Fe) e PBcitrato@MIL-100(Fe)	120

4.2.2.1	PBcitrato@MIL-100(Fe): automontagem assistida por microondas (MW).....	120
4.2.6.1	Efeito fototérmico do compósito PBcitrato@MIL-100(Fe)MW..	124
4.2.3	PBcitrato@MIL-100(Fe): automontagem <i>layer by layer</i> (LBL).....	125
4.2.4	PB-PVP@MIL-100(Fe): automontagem <i>layer by layer</i> (LBL).....	128
4.2.5	Compósito PB-PVP@MIL-88A(Fe)	130
4.2.6	Sistema PB-PVP@1(Zn/6MP).....	132
4.2.6.1	Estrutura 1(Zn/6MP).....	132
4.2.6.2	Sistema PB-PVP@1(Zn/6MP).....	135
5	Considerações Finais.....	142
6	Referências	146

1. Introdução

1.1. Metal-Organic Frameworks (MOFs)

As Redes Metalorgânicas (*Metal-Organic Frameworks* no inglês, abreviado pelo acrônimo MOFs) são uma classe de polímeros de coordenação porosos com potenciais aplicações industriais e de consumo na sociedade moderna.¹⁻³ As redes metalorgânicas (a partir de agora mencionadas como MOFs) são materiais formados por repetições periódicas de unidades de íons metálicos únicos ou entidades maiores formadas por vários íons metálicos (polinucleares ou *clusters*) e moléculas orgânicas (ligantes) por meio de fortes ligações de coordenação formando uma rede bidimensional (2D) ou tridimensional (3D) contendo espaços vazios (cavidades).⁴⁻⁶ Se pensarmos nas inúmeras opções de íons metálicos e moléculas orgânicas, o céu é o limite para esses materiais; ainda ousamos dizer que esses limites são definidos apenas pela imaginação. As unidades de coordenação ou blocos de construção na formação das MOFs são mostradas na Figura 1 e ilustram os quatros principais conceitos dessa classe de material: (i) íon metálico ou cluster metálico (ii) molécula orgânica (ligante), (iii) a rede formada pela coordenação do ligante ao íon metálico e (iv) o espaço interno da estrutura formada.

A natureza da ligação química metal-ligante na formação das estruturas MOFs são predominantemente covalentes do tipo ácido/base de Lewis.^{7,8} Os ligantes orgânicos necessitam conter grupos com pares de elétrons livres acessíveis (ser base de Lewis) para a coordenação do íon ou aglomerado metálico (ácido de Lewis) e serem capazes de organizar a estrutura em uma geometria 2D ou 3D ao invés de uma estrutura discreta. As inúmeras combinações entre íon ou aglomerados metálicos e ligantes orgânicos permitem diversas possibilidades de topologias (forma de conexão das redes).⁹ Essa adaptabilidade estrutural envolve a química de metais, química de ligantes e grupos funcionais (ver Figura 2) e fazem das MOFs, materiais altamente promissores.



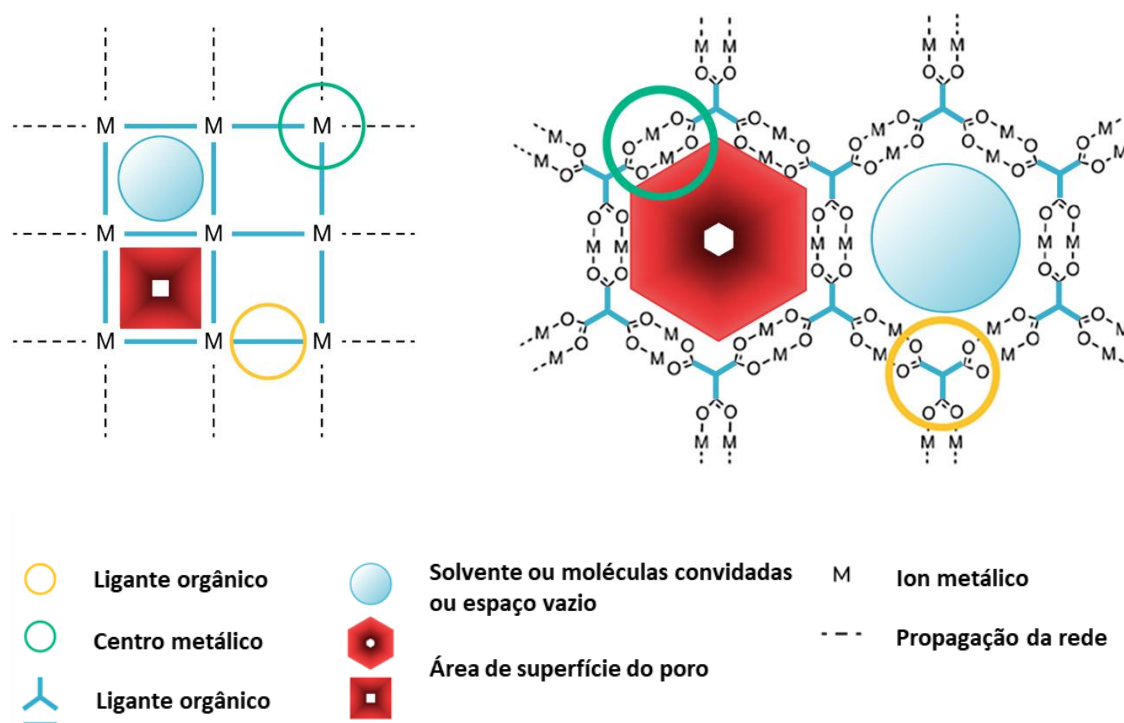


Figura 1. Representação dos blocos de construção das redes metalorgânicas (MOFs). As redes são formadas pela coordenação da molécula orgânica (círculo amarelo) ao íon metálico ou cluster (círculo verde). O espaço vazio é ilustrado pelo círculo azul. A propagação da rede no espaço 2D ou 3D é representado pela linha pontilhada e a área superficial do poro é representado pela forma geométrica quadrada e hexagonal. Fonte: Adaptado da referência [9].

As MOFs expressam uma diversidade de características que podem ser relacionadas à química usada na formação desses materiais. As moléculas orgânicas (lineares, polidentados, sistema conjugado, entre outros) contribuem na variedade de arquiteturas MOFs e no tamanho do espaço vazio, dos poros. As funcionalidades específicas da porção orgânica (ácido-base, redox, grupos polares e não-polares) caracterizam a propriedade final da MOF. Os íons metálicos ou aglomerados metálicos (clusters) acrescentam propriedades físicas às estruturas metalorgânicas como por exemplo, luminescência, catálise, biocompatibilidade, entre outros.¹⁰



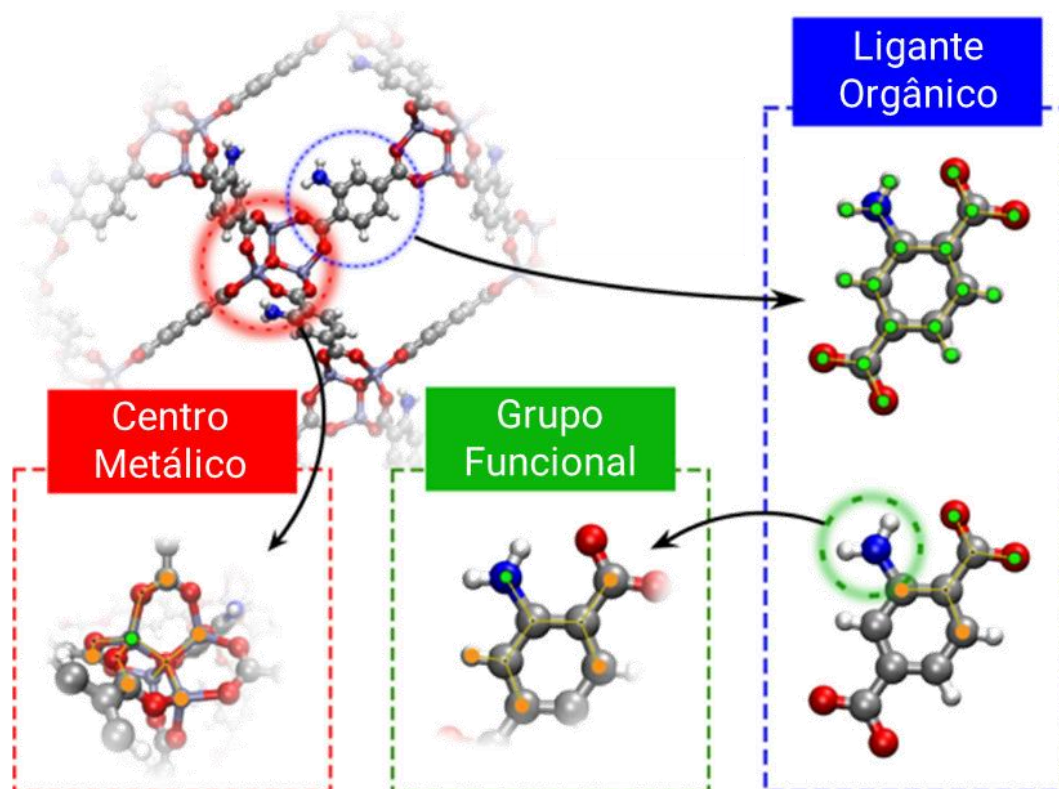


Figura 2. Representação dos domínios de um material MOF - Química de metais, Química de ligantes e Grupos funcionais - presente nos blocos de construção das MOFs. Fonte: Adaptado da referência [10].

As MOFs têm propriedades notáveis como elevada área específica, cristalinidade, estabilidade térmica, possibilidade de funcionalização e modificação pós-sintética¹¹ e vantagens, como métodos simples de síntese¹², ajuste de tamanho de partícula¹³, poro¹⁴ e biocompatibilidade¹⁵. Sua estrutura versátil, tem resultado no interesse crescente no que diz respeito à estrutura e composição, como também em esforços de otimização e funcionalidades para necessidades futuras.¹⁶

A diversidade estrutural e a possibilidade de modificação (a partir dos grupos funcionais) tornam as MOFs materiais altamente promissores com potencial impacto em aplicações como armazenamento de gás¹⁷, catálise heterogênea¹⁸, sistemas de liberação de fármacos¹⁹, sistema de detecção de compostos orgânicos²⁰, materiais biomédicos²¹, dispositivos emissores de luz²²,



entre outras. Desde a descoberta das MOFs 3D com o trabalho do Prof. Omar Yaghi em 1999, cerca de 107 mil estruturas cristalinas têm sido reportadas e estudadas até então.²³

As MOFs são construídas a partir da automontagem de íons ou clusters metálicos inorgânicos e ligantes orgânicos através de ligações coordenadas.^{7,8} O Prof. Omar Yaghi introduziu o conceito de química modular para o design racional de estruturas-alvo MOFs através da Síntese Reticular.²

As rotas de síntese na obtenção das MOFs já são bem conhecidas e discutidas em alguns artigos de revisão.^{24,25,26,12,27,28} Cada método pode levar a compostos com diferentes tamanhos de partículas, distribuições de tamanhos e morfologias que internamente levam a diferentes aplicações. Entre muitas, algumas abordagens sintéticas importantes são evaporação lenta^{21,22,23} Hidro/solvotérmica^{29,30,31,32}, assistida por microondas^{33,34,35}, sonoquímica^{36,37,38}, mecanoquímica^{39,40,41}, eletroquímica^{42,43,44}, spray-drying^{45,46,47}, ionotérmica^{48,49} entre outras sínteses, as quais têm sido empregadas e discutidas na literatura.

Em geral, a síntese em fase aquosa a partir do método convencional (aquecimento elétrico) oferece alta solubilidade dos precursores e cristais grandes de boa qualidade adequados para caracterização estrutural. No entanto, requer temperaturas (~130 °C) e longos tempos de reação. Além disso, a formação de fases impuras (precursores não-reagidos ou recristalizado) influencia no baixo rendimento do produto. Normalmente, nas sínteses solvotérmicas, solventes com alto ponto de ebulição (DMF, DMSO, DEF, acetonitrila) são usados em autoclaves revestidas com teflon.

Do ponto de vista ambiental, as abordagens sintéticas de estado sólido ou em água sob temperatura ambiente são ambientalmente amigáveis. A síntese mecanoquímica (moinho de bolas) é isenta de solvente, de alto rendimento, rápida e em temperatura ambiente. Atualmente, esse é um dos métodos de síntese em larga escala de materiais MOFs com menor custo, fácil operação e taxa de reação eficiente em comparação ao método convencional de síntese. Às vezes, para a aceleração da reação, a moagem assistida por líquido é usada.



Outra via de preparação verde são sínteses em fase aquosa. Além de ser livre de solventes perigosos, apresentam vantagens como estabilidade, alta taxa de produção, baixo custo, como também permite a produção contínua de MOFs.^{50,27,31} Além do mais, em comparação com solventes orgânicos oclusos nos canais dos poros, as moléculas de água são mais facilmente removidos no processo de ativação.^{51,52} Comparado ao método convencional, a síntese assistida por microondas é um método simples e rápido. No geral, são comumente aplicados para obter MOFs em escala nanométrica com alta pureza, distribuição uniforme e morfologia idêntica das partículas. Outro método para obtenção de nanopartículas é a síntese sonoquímica.⁵³ Este também é um método eficiente para encurtar o tempo de cristalização gerando centros de nucleação homogêneos.

A respeito da produção de MOFs em escala industrial, os métodos devem atender parâmetros importantes como custo dos reagentes, tempo de reação, concentração, quantidade de solvente, condições amenas, entre outros.^{54,55} Além do mais, em reatores industriais na maioria das vezes é necessária uma etapa de modelagem a fim de compactar o pó em dimensões milimétricas (pellets, extrudados, grânulos, monólitos, etc) mantendo a porosidade inicial das partículas.⁵⁶

As metodologias sintéticas exploradas para a preparação de materiais em nanoescala com partículas uniformes e monodispersas (conhecidos como nanoMOFs 0-D) apesar de serem conhecidas, ainda configuram um desafio significativo. Com base no mecanismo de cristalização clássico, a chave para sintetizar nanocristais uniformes é a separação da nucleação e do crescimento⁵⁷ como por exemplo, o modelo de LaMer⁵⁸ (ver Figura 3).

O mecanismo de formação típico de MOFs envolve a automontagem coordenativa entre os centros de íons ou cluster metálicos e o ligante orgânico. Essa formação pode ser compreendida pelos fundamentos da cristalização clássica, a qual envolve a transformação de fase das partículas de um arranjo desordenado a um arranjo periódico, denominado cristal.^{59,60}



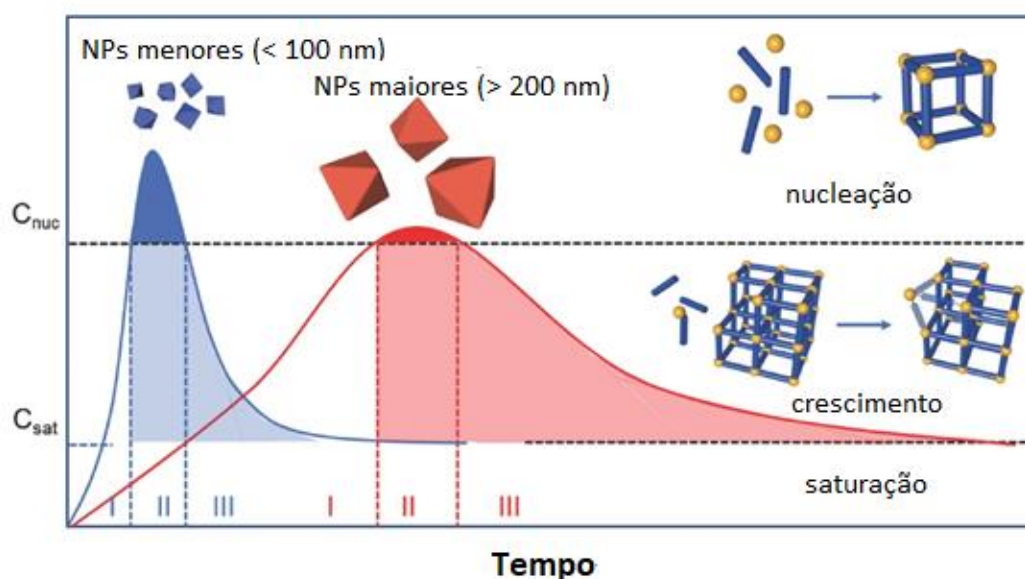


Figura 3. Representação esquemática da nucleação e crescimento de nanopartícula MOF de acordo com o modelo de LaMer. Em azul, síntese de nanopartículas MOF pequenas e uniformes consiste na formação rápida de núcleos abundantes. Em vermelho, síntese de nanopartículas MOF grandes e uniformes consiste na formação lenta de núcleos. Fonte: Adaptado da referência [61].

A formação do cristal consiste em quatro etapas (i) aumento rápido da concentração de monômeros precursores - estágio I, (ii) nucleação homogênea expressiva à medida que a concentração de monômeros reativos excede a concentração crítica de nucleação ($C_{nucleação}$), (iii) rápida nucleação na concentração de monômeros em solução (a qual inibe nucleações futuras) – estágio II e (iv) crescimento do cristal até atingir a concentração de saturação ($C_{saturação}$) – estágio III. Como pode ser observado, o período é o fator crítico para a formação de nanopartículas uniformes. Desta forma, é crucial a geração expressiva de núcleos e uma rápida nucleação, consequentemente, eliminando os precursores da solução e diminuindo o tempo de crescimento do cristal.⁶¹



1.2. MOFs em aplicações biológicas

Para bioaplicações, é essencial desenvolver uma nanoestrutura biossegura e biofuncional. A biocompatibilidade é um dos principais requisitos e está associada a natureza das interações entre o material e as entidades / estruturas vivas, e seu efeito resultante em ambientes biológicos.⁶² A segurança desses materiais MOFs incluem sua composição química, estrutura (rígida ou flexível), tamanho da partícula, morfologia e propriedades de superfície. Esses fatores são fundamentais para direcionar o transporte dessas nanoestruturas no sistema biológico de modo a evitar riscos potenciais à saúde.⁶³ Em particular, as MOFs têm várias características que as tornam excelentes candidatas em aplicações biomédicas, tais como⁶⁴:

- (i) grandes superfícies de poros e volumes associados a altas capacidades de adsorção de fármaco (carga útil e eficiência);
- (ii) superfície interna (poros) e externa funcionalizáveis, onde podem ocorrer interações específicas hospedeiro-hóspede, permitindo o processo reversível de adsorção / dessorção do fármaco e / ou a modificação de sua superfície externa para melhorar sua estabilidade in vivo e / ou biodistribuição;
- (iii) liberação controlada do fármaco evitando o conhecido "efeito de explosão" (liberação rápida da carga ativa nas primeiras horas);
- (iv) a possibilidade de usar agentes de contraste saudáveis e constituintes bioativos (cátions ou ligantes orgânicos) em suas estruturas (materiais de estrutura bioativos, também chamados de bioMOFs); e
- (v) biodegradabilidade, mantendo-se estável o suficiente para cumprir sua função, e então, sendo bioeliminada do organismo, evitando o acúmulo endógeno e efeitos de toxicidade associados.

Além disso, se tratando de mecanismos de passagem celular, partículas em escala nanométrica (0-D) com morfologias esféricas têm uma natureza invasiva.⁶⁵ De modo geral, os desafios críticos das MOFs em aplicações biomédicas não são apenas o controle preciso do tamanho das partículas e da



porosidade, mas também o efeito da afinidade de superfície em seus comportamentos metabólicos *in vivo*.⁶²

Composição química. Os efeitos tóxicos das MOFs, se correlacionam aos seus cátions metálicos, grupos funcionais nos ligantes orgânicos, contra-íons e solventes constituintes da estrutura.⁶⁴ A partir de ligantes orgânicos bioativos/moléculas endógenas e centros metálicos bioativos/biocompatíveis, as estruturas MOFs biológicas (BioMOFs)⁶⁶ podem ser construídas e a toxicidade pode ser superada. Qualquer composto ou elemento está sujeito às limitações associada à relação entre deficiência, resposta fisiológica ótima e toxicidade para uma determinada espécie em questão, de acordo com a dose conforme a curva representada na **Figura 4**. As substâncias não-tóxicas (**Figura 4A**) em baixas concentrações contribuem benéficamente no desenvolvimento do organismo, que passa de deficiente (região I) para ótimo (região II), e garante o funcionamento normal. Na região de dose ideal têm-se o balanço e o equilíbrio dos elementos essenciais, a qual, acima desta concentração uma ação tóxica atua no sistema biológico (região III). E, em uma concentração limite, a resposta fisiológica é letal ao organismo. Para as substâncias tóxicas (**Figura 4B**), há uma faixa de concentração tolerável pelo organismo (região V), seguido de uma ação tóxica acima de uma concentração limite e letal.^{67,68}

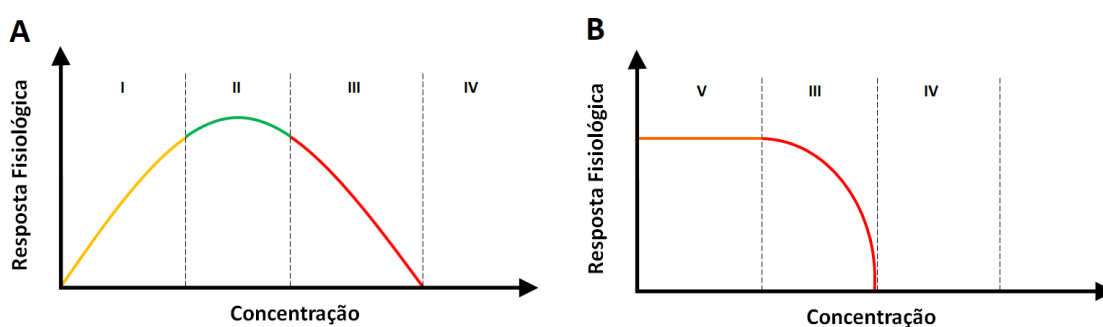


Figura 4. Curva dose resposta da tolerância de elementos essenciais (a) e não-essenciais (b) no organismo. Região I – Sobrevivência, II – Dose ideal, III – Toxicidade, IV – Letalidade e V – Tolerável. Fonte: Adaptado da referência [67].

Nesse contexto, compostos ou elementos tóxicos em baixas concentrações podem ser benéficos para o organismo, enquanto, elementos



essenciais (não-tóxicos) podem ser perigosos em altas doses. Além do mais, a toxicidade depende de outros fatores, como via de administração, tempo de exposição e acúmulo / eliminação do corpo.⁶⁸

A respeito de toxicidade, a concentração de uma substância tem como base a dose letal mediana (DL_{50}) a qual expressa a quantidade capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população em teste após um determinado período. Levando em consideração as MOFs em testes *in vivo*, a dose oral letal em ratos (DL_{50} , mg Kg^{-1}) e a composição de metais em humanos, os metais mais apropriados para bioMOFs são apresentados na **Tabela 1**.^{68,64}

Tabela 1. Exemplos de metais bioativos usados na medicina, Dose letal oral Composição dos metais em humanos e dose oral 50 letal em rato (LD_{50}).

	Elemento	DL_{50} oral em ratos (mg Kg^{-1})	Necessidade diária em humanos (mg dia^{-1})
Essenciais	Mg^{2+} (sulfato)	5000	350
	Ca^{2+} (cloreto)	1940	1200
	Fe^{3+} (cloreto)	450	15
	Zn^{2+} (acetato)	100-680	11
Inertes	Zr^{4+} (acetato)	4100	3,5
	Ti^{4+} (dióxido)	12000	0,5
Não essenciais	Cu^{2+} (sulfato)	30	2
	Al^{3+} (nitrato)	261-286	7,2
	Bi^{3+} (nitrato)	2000	0,005-0,02
	V^{5+} (óxido)	10	0,5-1
	Gd^{3+} (cloreto)	80	-
	Ru^{4+} (óxido)	4580	0,004
	Mn^{2+} (acetato)	3730	4,5-8,2

^a Média para um humano adulto de 70 kg. As quantidades relativas de cada elemento variam de indivíduo para indivíduo, principalmente devido às diferenças na proporção de gordura, músculo e osso em seu corpo.

De acordo com a **Tabela 1**, as concentrações elevadas dos metais Zn, Fe, Ca e Mg em humanos possibilitam a administração de MOFs em elevadas



concentrações sem causar, a priori, toxicidade. Outros metais potencialmente interessantes para a síntese de MOFs biocompatíveis são cátions biologicamente inertes, como Au, Ag, Zr e Ti.^{69,70,71,72}

Os ligantes orgânicos podem ser moléculas endógenas que participam do sistema metabólico e tem função fisiológica como aminoácidos, peptídeos, proteínas, nucleobases, carboidratos e porfirinas, ou moléculas exógenas biologicamente ativas como moléculas terapêuticas com grupos poli-complexantes (fármacos) na construção das estruturas MOFs biológicas.^{73,74} A desvantagem do uso das moléculas biológicas são os defeitos de simetria no produto MOF final. A flexibilidade de muitas biomoléculas leva às geometrias desfavoráveis e à interpenetração, resultando em estruturas não-porosas.⁷⁵ A toxicidade de MOFs não é bem investigada, porém mediante a decomposição estrutural, a exposição dos ligantes orgânicos pode ter risco ao sistema biológico. Quanto aos ligantes exógenos bioativos usados para síntese de MOFs como ácido tereftálico ($DL_{50} = 5 \text{ g kg}^{-1}$) na MOF-5⁷⁶ *in vitro* e UiO-66⁶⁹, ácido fumárico ($DL_{50} = 10,7 \text{ g kg}^{-1}$) na MIL-88⁷⁷, ácido láctico ($DL_{50} = 4,8 \text{ g kg}^{-1}$) na MOF-1201 e MOF-1203⁷⁸ estão envolvidos no ciclo de Krebs (ou ciclo do ácido cítrico), e são oxidados para a produção de energia (ATP).^{74,79} Além deles, 2-metilimidazol ($LD_{50} = 1,4 \text{ g kg}^{-1}$), ácido trimésico ($DL_{50} = 8,4 \text{ g kg}^{-1}$) e adenina estão disponíveis para bioaplicações das estruturas ZIF-8⁸⁰, MIL-100⁸¹ e bioMOF-1⁸², respectivamente. Algumas estruturas MOFs a partir de moléculas orgânicas endógenas foram obtidos.⁷⁵

1.3. Toxicidade de MOFs

As MOFs, a partir das ciências multidisciplinares, apresentam uma capacidade promissora no desenvolvimento de materiais para a área biomédica combinando características eficientes e aplicáveis das diversas áreas por meio de sinergismos das propriedades.⁸³ Essas estruturas apresentam a capacidade de coexistência (no mesmo material) de ligantes orgânicos bioativos e centros metálicos biologicamente relevantes, por vezes com redes muito estáveis em meio aquoso e sob condições fisiológicas.⁸⁴



Em aplicações biológicas, a rota de administração e a toxicidade do material dependem de parâmetros físico-químicos, como por exemplo, tamanho de partícula, morfologia, carga superficial e estabilidade das partículas que, em escala nanométrica, são capazes de incorporar as células.^{85,86} A combinação entre o tamanho de partícula homogêneo com morfologias bem definidas e uniformes na projeção de estruturas MOFs (nanoMOFs) para bioaplicações (ver **Figura 5**) representam um desafio para os pesquisadores.^{87,88}

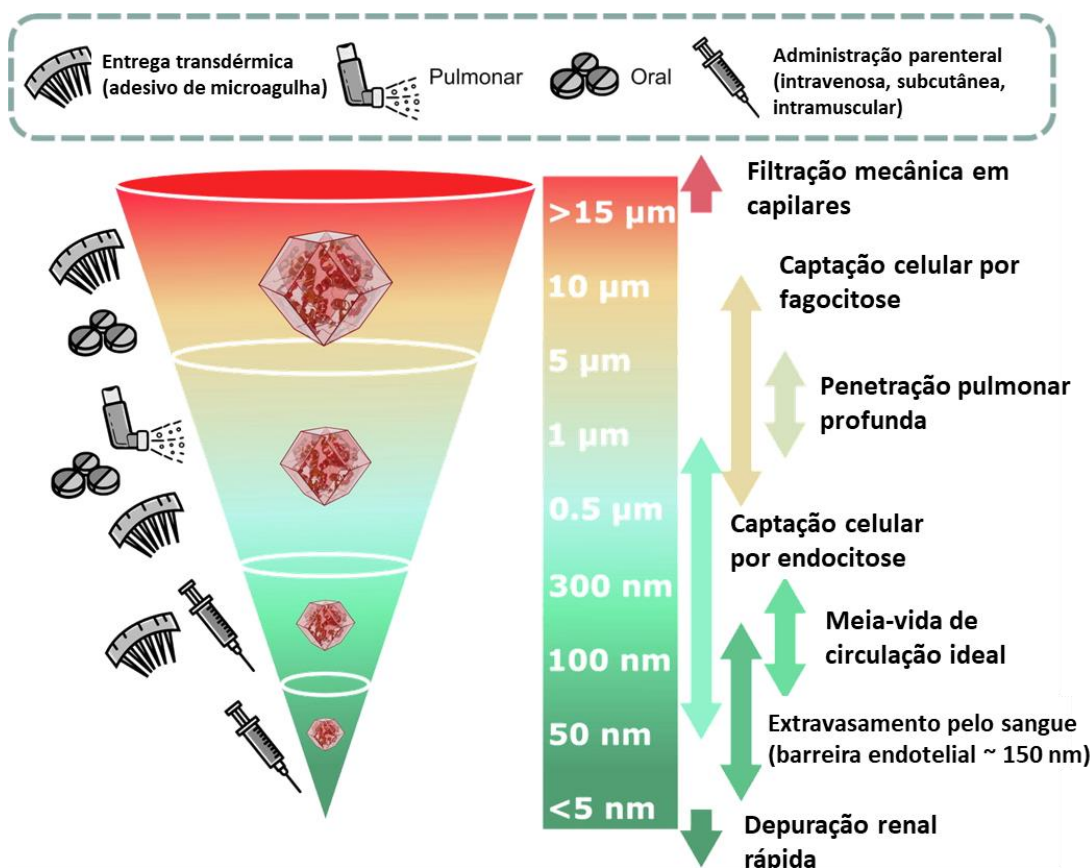


Figura 5. Relação do tamanho de partícula versus via de administração para bioaplicações. À esquerda: representação das vias de administração. À direita: representação dos diferentes processos dependentes do tamanho. Fonte: Adaptado da referência [86].

Em decorrência da miniaturização, as nanoMOFs exibem a capacidade de dispersão em meios aquosos e outros solventes sendo investigadas como um



promissor veículo de entrega de agentes terapêuticos e/ou de diagnóstico, com potencialidades de impacto na área biomédica.^{89,90} Apesar dos avanços em sistemas diagnósticos e terapêuticos associado ao uso de MOFs, dados validados sobre os riscos potenciais à saúde ainda estão sendo estabelecido.⁹¹

Por se tratar de um material (i) insolúvel em praticamente qualquer solvente, (ii) contendo centros metálicos em concentrações não toleráveis por humanos e (iii) com baixa estabilidade sob diferentes condições, esses materiais apresentam riscos toxicológicos graves. Uma vez administrado biologicamente, a MOF ou seus constituintes, podem se acumular nas células no decorrer da absorção, distribuição e excreção biológica.⁹²

A necessidade de compreender o comportamento das MOFs em sistemas biológicos é de extrema importância, mas nem todos os estudos *in vivo* apresentam o potencial efeito toxicológico. Em 2008, por exemplo, Taylor *et al.* reportaram o uso de uma nanoMOFs a base de Mn(II) como agente de diagnóstico em imageamento por ressonância magnética e apresentaram resultados *in vitro* e *in vivo* sem estudos de viabilidade celular.^{77 94} A estrutura **Mn₃(BTC)₂(H₂O)₆ (2)** consiste do ligante ácido trimésico coordenado a Mn(II) com partículas razoavelmente uniformes, morfologia do tipo haste espiral com 1-2 µm de comprimento, 50-100 nm de diâmetro e estabilidade em fase aquosa. As nanopartículas foram revestidas com sílica e funcionalizadas com peptídeo e fluoróforo. No entanto, nada consta acerca da partícula revestida e funcionalizada, muito menos, dados de citotoxicidade.

Em estudos atuais, a estabilidade das partículas MOFs no meio de cultura e os estudos de citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* estão sendo investigados em modelos animais, como *zebra fish* ou ratos. Um dos estudos mais avançados e completos de estrutura MOFs correspondem às estruturas do Instituto de Lavosier (MIL), particularmente, com o trabalho da Horcajada e colaboradores a qual além da toxicidade *in vivo*, investigaram a biodistribuição, metabolismo e excreção das partículas MIL-100(Fe), MIL-88A(Fe) e MIL-88B-4CH₃(Fe). Horcajada e colaboradores relataram que as estruturas apresentam elevada



degradação após 7 dias de incubação, com perda de cristalinidade e decomposição dos ligantes sob condições fisiológicas (PBS, 37°C) e injeção de doses de 220 mg Kg⁻¹.

Os produtos de degradação da MIL-88A, Fe(III) e ácido fumárico (*ácido (E) - butenodióico*) são endógenos, ou seja, seus constituintes podem ser oxidados para produção de energia, sendo reutilizado no ciclo de Krebs, por exemplo. Ambas as estruturas apresentam baixos valores de doses letais como LD₅₀(Fe) = 30 g kg⁻¹, LD₅₀(ácido fumárico) = 10,7 g kg⁻¹, LD₅₀(ácido trimésico) = 8,4 g kg⁻¹. Além do mais, MOFs a base de ferro apresentam a capacidade de modificar os tempos de relaxamento dos prótons da água no meio circundante sob campo magnético, com relaxividades transversais (r_2) da ordem de 50 e 70 s⁻¹ mM⁻¹ para MIL-88A e MIL-100, respectivamente, ou seja, detectável por imagens de ressonância magnética.⁹³

1.4. Biocompatibilidade

As plataformas multifuncionais enfrentam uma série complexa de barreiras biológicas que limitam severamente a biodisponibilidade específica do local, impedindo a obtenção de resultados terapêuticos adequados. Esses obstáculos incluem opsonização e subsequente sequestro pelo sistema fagocitário mononuclear (MPS), distribuição inespecífica, limitações do fluxo nos vasos sanguíneos, gradientes de pressão, internalização celular, escape dos compartimentos endossomal e lisossomal e bombas de efluxo de fármacos.⁹⁴

As estruturas baseadas em MOFs permitem o planejamento racional das interações nanomaterial – bioespécies por meio do direcionamento através das propriedades de superfícies com funções biológicas desejadas (ver **Figura 6**).⁶² Os métodos de modificação pós sintética de MOFs, tanto covalentemente quanto coordenadamente, fornecem uma tecnologia capacitadora para avançar a função desses materiais porosos, conforme ilustrado na **Figura 7**.



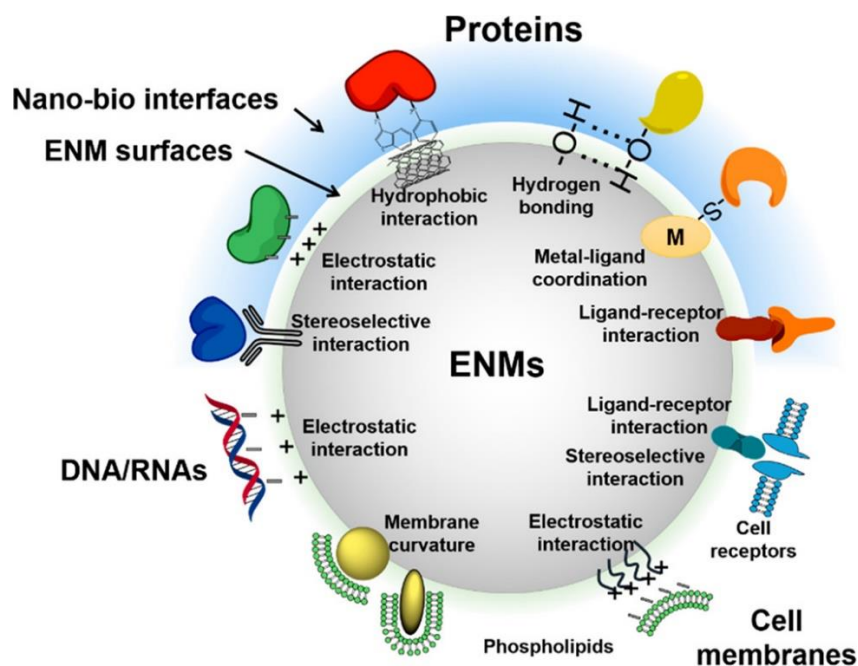


Figura 6. Representação das interações de partículas na presença de biomoléculas, incluindo interação eletrostática, ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica, interação ligante-receptor, interação estereosseletiva, coordenação e efeitos de curvatura da membrana. Fonte: Reproduzida da referência [62].

A modificação de superfície (ver **Figura 6**) permite a inclusão de grupos reativos no ligante MOF (esferas azuis representando grupos amina) para modificação por um reagente orgânico (reagente de cloreto de ácido azul) – método denominado de modificação pós sintética covalente; como também, permite a inclusão de elementos coordenativos usando uma molécula orgânica de coordenação (reagente de ácido vermelho) para se ligar a estrutura MOF – método denominado de modificação pós sintética coordenada. Esta possibilidade de ajuste de propriedades a partir do grupo funcional na superfície permite (i) melhorar a estabilidade química e coloidal em meios fisiológicos e/ou em formulações mais complexas; (ii) introduzir funcionalidades biológicas adicionais, como imagem ou detecção e (iii) controlar o destino in vivo fornecendo aos NPs propriedades furtivas, bioadesivas ou de direcionamento, entre outras.



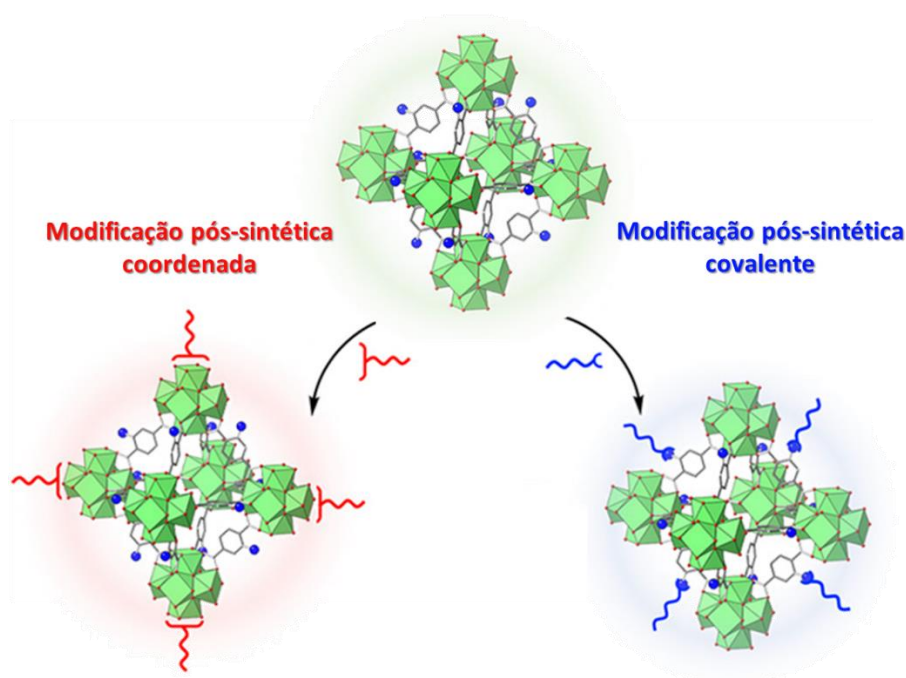


Figura 7. Métodos de modificação pós sintética (PSM) via ligação coordenada (em vermelho) ou covalente (em azul). Fonte: Adaptado da referência [95].

As estratégias de modificação pós-sintética (ver **Figura 7**) permitem o direcionamento das estruturas metalorgânicas (MOFs) em meios biológicos *in vivo*. Entretanto, ainda assim, existem vários desafios que limitam o desenvolvimento e as bioaplicações das MOFs. Para transpor essas limitações, inúmeros métodos de modificação direcionadas foram propostas. Estudos recentes, abordam um método promissor de revestimento de partículas MOFs com membrana celular para a formação de MOFs biomiméticos (reproduzindo o processo natural) como mostrado na **Figura 8**.

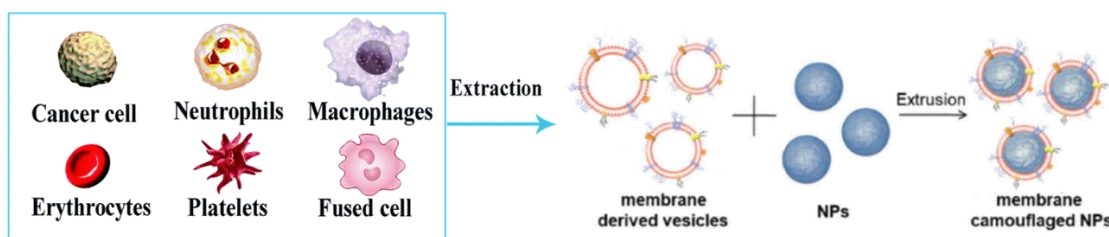


Figura 8. Representação esquemática do método promissor para a formação de MOFs biomiméticos a partir do revestimento das partículas por membranas celulares. Fonte: Reproduzida da referência [96].



As membranas celulares como glóbulos vermelhos, células imunes, células cancerígenas, plaquetas por exemplo, com suas propriedades biológicas contribuem no tempo de circulação sanguínea, no escape imunológico e na capacidade de direcionamento das partículas camufladas.

1.5. MOFs como sistemas de liberação controlada de fármacos

As MOFs são um dos nanocarreadores mais fascinantes em sistemas de liberação de fármacos e se apresentam como uma grande promessa para aplicações em biomedicina e nanomedicina devido a suas propriedades únicas: alta porosidade, poro ajustáveis (que são favoráveis ao encapsulamento de grandes quantidades de moléculas-hóspedes), cavidades hidrofílicas-hidrofóbicas para hospedar diferentes tipos de bioentidades (ver **Figura 9**) e em alguns casos, biodegradabilidade intrínseca. Além disso, a sua composição pode ter agentes terapêuticos (o próprio fármaco, por exemplo) como ligante estrutural, um metal bioativo como íons metálicos centrais e suas combinações de fármacos incorporados em MOFs.^{97,98} Em geral, nanocarreadores devem ser capazes de (1) aprisionar o *guest* com grande carga útil, (2) controlar a liberação, (3) degradar a matriz (o *host*), (4) permitir a funcionalização da superfície de modo a controlar o destino *in vivo* e (5) ser detectável por técnicas de imagem.⁹⁹ As MOFs são potenciais candidatas a nanocarregadores satisfazendo, de modo geral, aos requisitos de (1) a (4). Além disso, algumas MOFs podem também preencher a quinta condição, se ela for construída, por exemplo, usando um centro metálico luminescente (ou incorporar algum marcador luminescente em seus poros). Várias aplicações de MOFs para fins biomédicos têm sido reportadas por pesquisadores.¹⁰⁰ Devido à alta funcionalidade do grande conjunto de ligantes que podem ser usados na criação de MOFs, eles são um dos materiais mais promissores que podem em breve ser usados em vários campos, incluindo aplicações biomédicas. Estudos mostram que a integração de entidades biológicas em matrizes de MOF resulta em biocompósitos (ver **Figura 9**) com características funcionais que não podem ser observadas nos



componentes individuais, como maior estabilidade química e térmica, resistência a proteases, seletividade conferida pela MOF e liberação controlada.⁸⁶



Figura 9. Representação esquemática de biocompósitos baseados em MOF obtidos pela estratégia de encapsulamento de acordo com a bioentidade encapsulada. Adaptado de Velásquez-Hernández, 2021. Fonte: Adaptada da referência [86].

1.6. Terapia Fototérmica usando sistemas baseados em MOFs

Os processos compreendidos no mecanismo de fototerapia envolvem a irradiação dos tecidos-alvo com luz e sob condições superficiais é relativamente seguro e minimamente invasivo, além de oferecer benefícios terapêuticos que podem melhorar a adesão do tratamento pelo paciente. Dentre as inúmeras estratégias para o tratamento, a terapia fototérmica (TFT) têm se destacado por ser seletiva e pouco invasiva.¹⁰¹ O efeito fototérmico é um fenômeno associado a radiação eletromagnética gerado a partir da fotoexcitação do material, a qual resulta na produção de energia térmica. Os tratamentos baseados em hipertermia exploram a exposição do tecido alvo a altas temperaturas que podem induzir a morte de células cancerígenas (ou seja, ablação térmica, induzida por temperaturas superiores a 45°C) ou aumentar a sensibilidade das células cancerígenas a outras modalidades terapêuticas (hipertermia leve, temperaturas entre 40 e 45°C) como ilustrado na **Figura 10**. Acima de 45°C, o



superaquecimento celular pode ocasionar danos aos tecidos normais ao redor do local de tratamento.

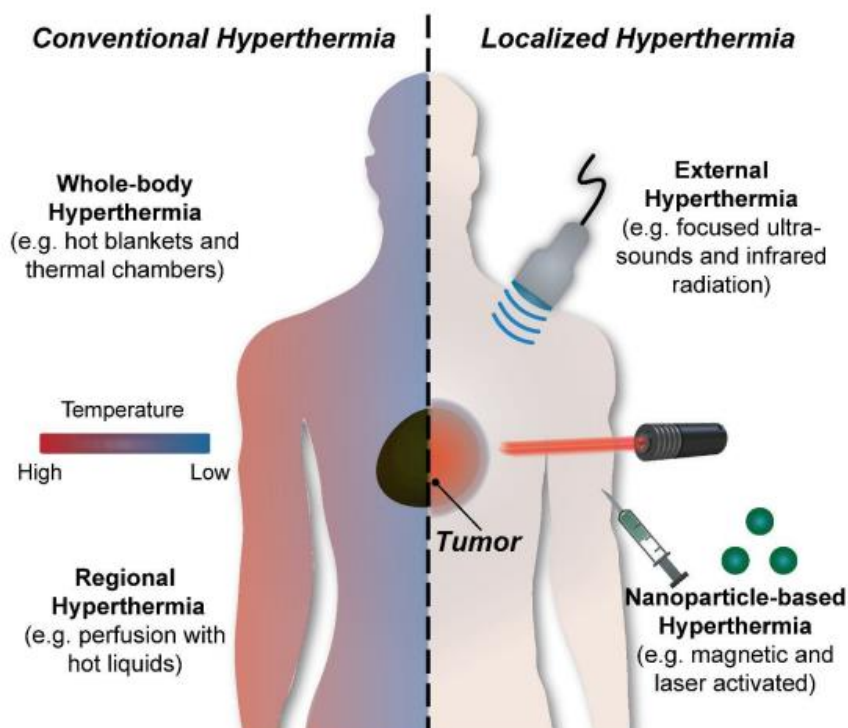


Figura 10. Ilustração representativa da hipertermia convencional e localizada. A hipertermia convencional cria um gradiente de calor da região da superfície do corpo para o interior. As abordagens de hipertermia localizada promovem o aquecimento específico do tecido tumoral, evitando danos nas células próximas. Fonte: Reproduzida da referência [102].

Na terapia fototérmica, os fótons irradiados são absorvidos e dispersos pelas células e proteínas; a profundidade de penetração depende do comprimento de onda da radiação incidente.¹⁰¹ Os tecidos biológicos exibem baixa absorção na região da janela de diagnóstico biológico (650 – 1450 nm) (ver **Figura 11**), região a qual apresenta um mínimo de interferência dos cromóforos endógenos, a penetração ideal de fótons através do tecido e a redução da dispersão de luz.¹⁰³ A radiação dentro da região de diagnóstico biológico ativa materiais foto-responsivos e tecidos biológicos, induzindo reações fotoquímicas e biológicas ou geração de calor.



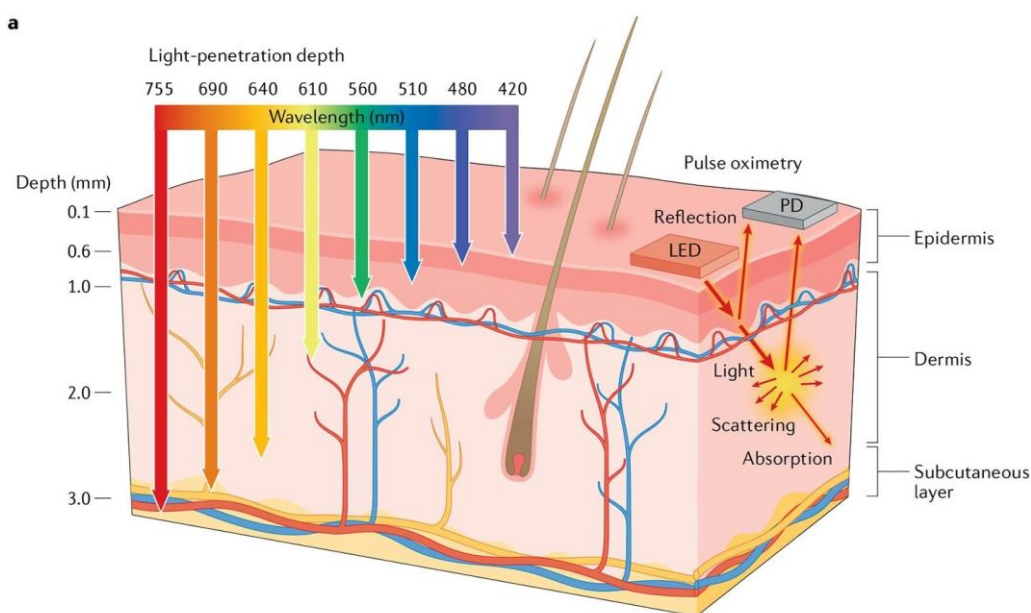


Figura 11. Ilustração esquemática da profundidade de penetração da luz dependente do comprimento de onda. Fonte: Reproduzido da referência [104].

Alguns fotossensibilizadores estão entre os materiais mais utilizados na biomedicina, particularmente em terapia fototérmica para o tratamento do câncer, induzindo a emissão de calor.¹⁰⁵ Depois de ser excitado pela luz de um comprimento de onda dentro da faixa do infravermelho próximo (NIR), o agente fotoativo sofre uma conversão interna e retorna ao estado fundamental via perdas de energia vibracional. Esse processo de relaxamento não-radiativo converte rapidamente a luz em calor local e a hipertermia resultante pode regredir tumores. Nos níveis celular e molecular, os aumentos de temperatura levam a destruição das células tumorais dentro do intervalo de 40–44 °C, o que causa danos ao DNA, desnaturação de proteínas e ruptura da membrana celular, resultando na possível erradicação dos tecidos tumorais.¹⁰⁶ Acima dessa temperatura, de acordo com a extensão do dano induzido pelo aumento da energia térmica, o superaquecimento celular pode ocasionar apoptose (55-58 °C), necrose (60-68 °C) e morte imediata (≥ 72 °C) aos tecidos normais vizinhos à região sob tratamento.¹⁰⁷



No entanto, a terapia fototérmica requer altas temperaturas no centro do tumor para uma morte celular rápida e completa. Sendo assim, tumores pequenos têm maior probabilidade de serem completamente destruídos com terapia fototérmica; em contraste, grandes tumores são propensos a recidiva tumoral causada por células cancerígenas residuais e, portanto, são frequentemente resistentes à terapia fototérmica.⁸⁹ O uso de fármacos anticancerígenos pode auxiliar na destruição das células recidivas potencializando, dessa forma, a eficiência da terapia. Essa área de pesquisa é muito recente e trabalhos interessantes estão sendo reportados sobre o uso de MOFs em plataformas teranósticas inteligentes para diagnóstico e tratamento do câncer.^{84,89}

1.7. Sistemas de indução de mecanismos citotóxicos em células tumorais

- **Fármaco anticancerígeno.** O composto 6-mercaptopurina (6-MP) é um imunossupressor farmacológico comumente usados para tratamento de leucemia, colite ulcerativa, doença de Crohn e artrite. Recentemente, foi demonstrado por Snyder *et al.* a eficácia desse fármaco na inibição tumoral em células de melanoma A-375 e câncer de mama MCF-7.¹⁰⁸ O potencial desse agente anticancerígeno combinado em estruturas metalorgânicas (MOFs) para alcançar a liberação controlada pode ser uma alternativa viável de tratamento frente a possibilidade de recidiva tumoral. Do que seja do nosso conhecimento, o único trabalho envolvendo MOFs e a 6-mercaptopurina foi reportado por Kaur *et al.* usando o composto de zinco(II) com o ligante 2-metilimidazol conhecido como ZIF-8.¹⁰⁹
- **Agentes fototérmicos.** Fotossensibilizadores podem ser moléculas orgânicas¹¹⁰, mas nanopartículas (NPs) inorgânicas¹¹¹ têm sido usadas como uma alternativa importante para aumentar o potencial do efeito fototérmico.¹¹² Dentro dessa perspectiva, nanobastões de ouro (AuNRs) têm sido utilizados devido, principalmente, a facilidade de funcionalização da superfície com moléculas que melhorem a sua biocompatibilidade (Au-tiol, por exemplo), a



intensa absorção no NIR ($\lambda_{\text{abs}} = 650\text{-}1350\text{ nm}$), além do ajuste da propriedade óptica pelo dimensionamento do comprimento do bastão.¹¹³ O efeito ressonante, conhecido como ressonância plasmônica de superfície localizada, baseado nas oscilações sincronizadas de plasmons de superfície resultam na absorção e dispersão da luz aplicada. Os AuNRs apresentam duas bandas de absorção relacionados à ressonância plasmônica de superfície: transversal (500-550 nm) e longitudinal (650-850 nm). Outro nanomaterial escolhido para esse trabalho trata-se de nanopartículas de azul da Prússia (PBNPs). O azul da Prússia é um pigmento azul escuro, modelo protótipo de compostos do tipo hexacianoferratos de metais de transição de valência mista ($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) e é definido como um polímero de coordenação contendo cátions Fe^{3+} e o complexo hexacianoferrato(II), $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Os íons Fe^{2+} são coordenados aos átomos de carbono do ligante cianeto (CN^-) que atua como ponte para a coordenação dos íons Fe^{3+} aos átomos de nitrogênio.¹¹⁴ Esses materiais apresentam biocompatibilidade, biodegradabilidade, forma e tamanho controláveis, baixo custo de produção e facilidade de síntese e têm sido utilizados em aplicações biomédicas. A absorção desse material no infravermelho próximo (500 - 900 nm) está associada à transição de transferência de carga entre $\text{Fe}(\text{II})$ e $\text{Fe}(\text{III})$, resultando no efeito fototérmico via decaimento não-radiativo.^{115,116}

1.8. Nanoplateformas multifuncionais

Comparada com a terapia convencional de liberação de fármaco único, a proposta de construir sistemas contendo mais do que um componente (nesse caso associando com um agente fototérmico)¹¹⁷ deve possibilitar efeitos terapêuticos sinérgicos além de oferecer bifuncionalidade para o tratamento do câncer, como mostrado na **Figura 12**. E nesse sentido, as MOFs são de fato excelentes estruturas para imobilizar nanopartículas nos poros de modo a evitar a sua agregação que pode limitar a performance do material,¹¹⁸ realizar modificação da superfície que, no geral, fornece uma funcionalidade específica



ou bioconjugar moléculas de DNA, proteínas e enzimas na superfície da estrutura.⁸⁸

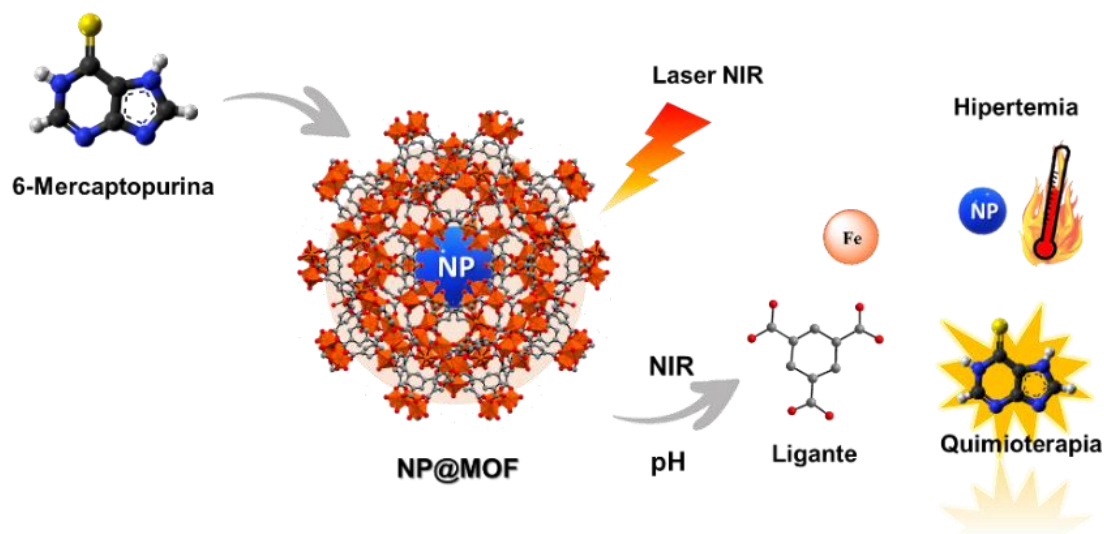


Figura 12. Ilustração esquemática do design de plataformas multifuncionais baseadas no sistema **NP@MOF**. Fonte: Autoria Própria.

1.9. Motivação

No contexto das MOFs, a nível de design estrutural e aplicação, o céu é o limite. Com o avanço do conhecimento das propriedades das MOFs, uma nova possibilidade de uso deste material ganha projeção. Dentro dessa visão, muitos esforços têm sido feitos a fim de obter sistemas multifuncionais para o tratamento, diagnóstico ou aplicações teranósticas. Nesse sentido, as estruturas metalorgânicas (*Metal Organic Frameworks* – MOFs, no inglês) como uma plataforma multifuncional, têm sido extensivamente investigadas como excelentes candidatas a nanocarreadores para aplicações biomédicas.



2. Objetivos

O objetivo central desse trabalho é a construção de plataformas funcionais baseadas em compósitos nanoestruturados do tipo **NP@MOF**, revestidos com membrana de macrófagos ou incorporados em biopolímeros, com potencialidade de uso em terapia fototérmica de células tumorais. A partir do compósito nanoestruturado NP@MOF obtido, avaliar o comportamento da plataforma como carreador do fármaco 6-mercaptopurina por meio de estudos de incorporação e liberação visando aplicações de tratamento quimioterápico.

2.1. Objetivos específicos

- Sintetizar e funcionalizar nanopartículas de azul da Prússia com o polímero polivinilpirrolidona (**PB-PVP**) e ânions citrato (**PBcitrato**);
- Caracterizar e investigar o efeito fototérmico dos materiais **PB-PVP** e **PBcitrato**;
- Realizar estudo completo e sistemático envolvendo a nanoplataforma bifuncional **PB-PVP@ZIF-8@6-MP**, incluindo construção, caracterização, estudos de incorporação e liberação do fármaco, investigação do efeito fototérmico e revestimento com biofilme de cebola e membranas de macrófagos;
- Investigar o efeito de duas rotas sintéticas distintas na formação de compósitos do tipo *core-shell* baseados nos sistemas **PBcitrato@MIL-100(Fe)** e **PB-PVP@MIL-100(Fe)** e avaliar o efeito de fototermia;
- Realizar estudos preliminares envolvendo mais dois sistemas: **PB-PVP@MIL-88A** e um segundo envolvendo nanopartículas de Azul da Prússia e um material inédito contendo íons zinco(II) e o fármaco 6-MP como ligantes estrutural.



3. Metodologia

3.1. Métodos Instrumentais

3.1.1. Reator micro-ondas

A síntese do material compósito e da MOF foi realizada no equipamento *CEM* modelo Discover SP disponível no laboratório de redes metalorgânicas (*Applied MOFs*) no departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara.

3.1.2. Estufa Solvotérmica/Hidrotérmica

A nanopartícula Azul da Prússia foi sintetizada pelo método solvotérmico realizado na estufa M.S. Mistura Equipamento para Laboratórios disponível no laboratório de redes metalorgânicas no departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara.

3.1.3. Difração de raios X de pó

O difratograma do material sintetizado foi obtido no equipamento DIFFRAC PLUS XRD Commander, marca SIEMENS, modelo D5000 disponível no laboratório multiusuários disponível no departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara. Os parâmetros utilizados foram radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$); $2\theta = 4^\circ - 70^\circ$; Passo tempo = 0,05/1s. Agradecemos ao GFQM-IQ pelas medidas de DRX de pó.

3.1.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

As imagens de microscopia e espectros de energia dispersiva foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (FEG-MEV) da marca JEOL, modelo JSM-7500F, com software de operação PC-SEM v 2,1,0,3 disponível no Laboratório de microscopia avançada do departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara. O equipamento possui detectores de elétrons secundários, retroespalhados e análise química (energy dispersive spectroscopy – EDS) da



marca Thermo Scientific, modelo Ultra Dry, com software de operação NSS 2.3. As imagens foram obtidas sem nenhum tipo de recobrimento, com as partículas dos materiais suportadas em fita de carbono. Agradecemos ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização do microscópio eletrônico de varredura.

3.1.5. Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (MET) e Microscopia de difração de elétrons da área selecionada (SAED)

As imagens de microscopia de alta resolução foram obtidas utilizando um microscópio FEI Tecnai G2F20, operado a 200 kV, instalado no Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Protocolos em Nanotecnologia do Instituto de Química da UNESP- Araraquara. As amostras foram suspensas em isopropanol por tratamento ultrassônico e uma gota da suspensão foi depositada em uma grade de cobre revestida com filme de carbono. O equipamento foi utilizado para a obtenção de imagens da rede utilizando o modo de difração de elétrons de área selecionada (*Selected Area Electron Diffraction* – SAED).

3.1.6. Análise Termogravimétrica

As medidas de termogravimetria (TG) foram realizadas no equipamento TA Instruments Q500, instalado no Laboratório Multiusuários de Análises Químicas do Instituto de Química da Unesp de Araraquara, feitas sob atmosfera de ar sintético, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

3.1.7. Potencial Zeta

O potencial zeta da dispersão das amostras foi medido no equipamento *Malvern Zetasizer Nano ZS90* instalado no Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN) da Unesp de Araraquara.

3.1.8. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros FTIR foram registrados no espectrofotômetro *NICOLET* modelo *SX-FT Impact 400*, na região de 4000 – 400 cm⁻¹, resolução de 2 cm⁻¹, utilizando pastilha de KBr. Equipamento instalado no Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara.



3.1.9. Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis-NIR

Os espectros eletrônicos na região do UV-visível-NIR foram obtidos utilizando o espectrofotômetro Lambda 1050 da Perkin Elmer, instalado no Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do Instituto de Química da Unesp de Araraquara.

3.1.10. Efeito Fototérmico

Os estudos de transdução térmica dos materiais foram realizados no equipamento Laser Tool, fibra óptica de infravermelho com emissão no comprimento 880 nm, instalado no Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica do instituto de Química da Unesp de Araraquara. Para a realização do estudo, foi utilizado um agitador magnético e uma barra magnética para homogeneização da dispersão dos compósitos.

3.2. Métodos Experimentais

Os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram adquiridos de fontes comerciais com padrão de pureza analítica e utilizados sem purificação adicional.

3.2.1. Síntese de nanopartículas

3.2.1.1. Azul da Prússia, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, funcionalizadas por ânions citrato (**PBcitrato**)

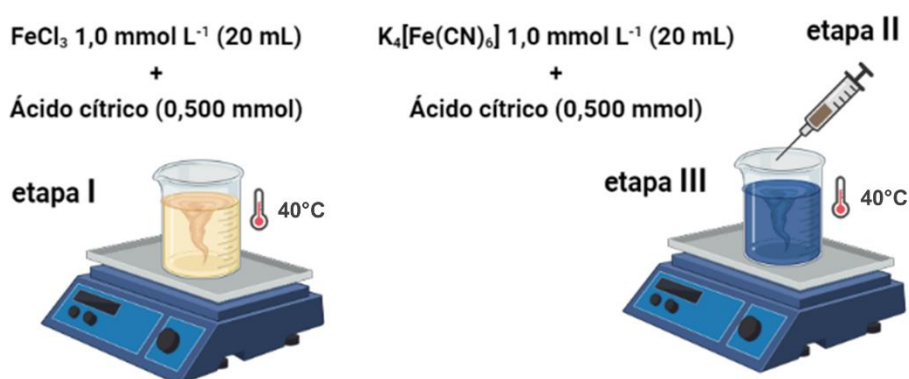
A preparação de nanopartículas de azul da Prússia funcionalizadas de citrato (**PBcitrato**) foram obtidas a partir de modificações feitas em um procedimento descrito na literatura.^{117,119} Primeiro, foram preparadas duas soluções aquosas de FeCl_3 e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$: Para isso, foram adicionados 3,224 mg de cloreto de ferro(III) anidro (**solução A**) em 20 mL de água destilada e 7,367 mg de ferrocianeto de potássio (**solução B**) em 20 mL de água destilada. Em ambas as soluções, foram adicionados 96,06 mg de ácido cítrico. Em seguida, as soluções foram mantidas sob forte agitação mecânica, em banho de glicerina e temperatura controlada de 40°C . Então, nanopartículas **PBcitrato** foram obtidas pela adição lenta (*gota-a-gota*) da



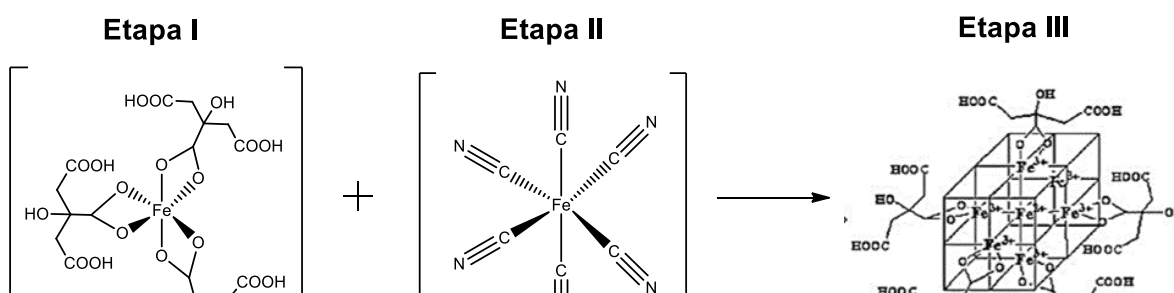
solução A à **solução B** ainda sob banho de glicerina a 40 °C e intensa agitação. Após a formação completa do material, um volume de 40 mL de acetona foi adicionado à dispersão e as nanopartículas foram isoladas por centrifugação a 25000 rpm (rotor Beckman JA-25.50, 30 min, 10°C), lavadas com acetona e secas em estufa a uma temperatura de 60 °C. O material obtido foi rotulado de **PBcitrato**. As etapas de síntese para a formação das nanopartículas estão ilustradas no

Esquema 1.

Esquema 1. Etapas de síntese das nanopartículas azul da Prússia funcionalizadas por grupos carboxilato (**PBcitrato**).



Fonte: Autoria Própria



Fonte: Autoria Própria

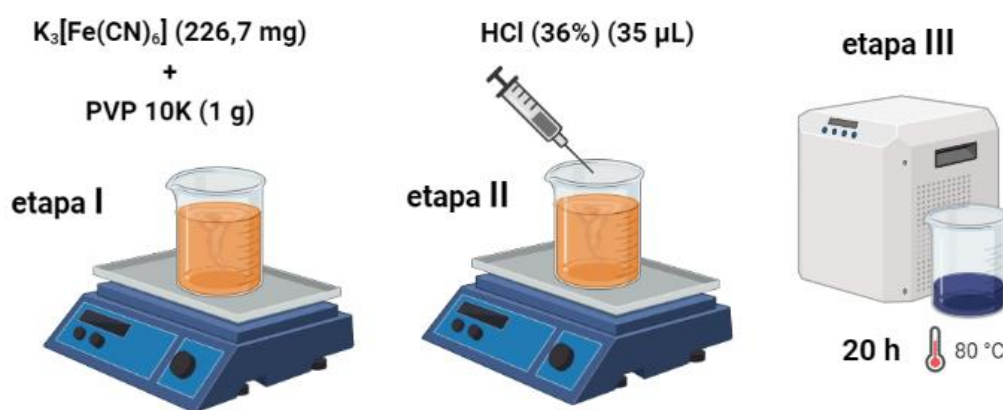
3.2.1.2. Partículas de azul da Prússia, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, revestidas pelo polímero polivinilpirrolidona (PB-PVP)

As nanopartículas de azul da Prússia revestidas com polivinilpirrolidona (PVP) foram obtidas a partir de metodologia modificada do grupo Yamauchi.¹²⁰

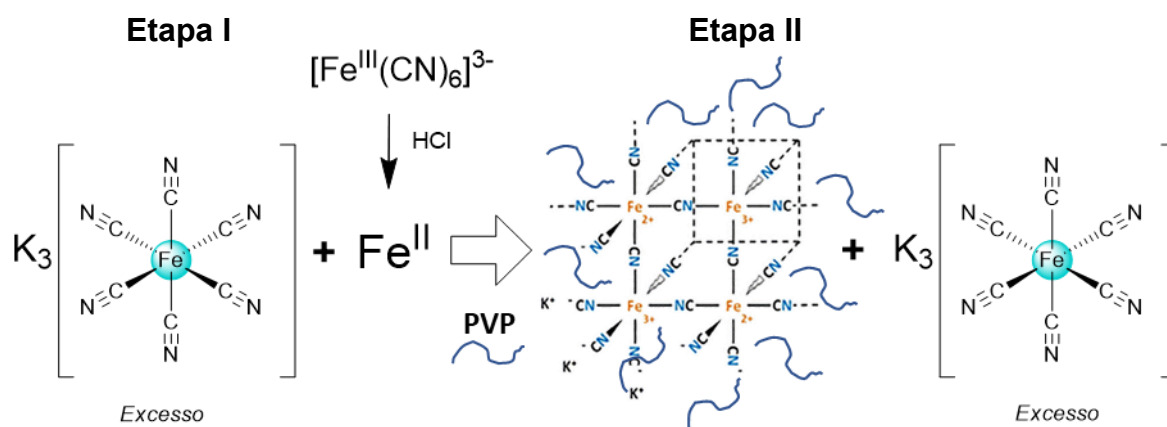


Em um erlenmeyer, foi adicionado 1,0 g de PVP-10K e 226,7 mg de $K_3[Fe(CN)_6]$ e dissolvidos em 40 mL de água deionizada, sob agitação vigorosa até formar uma solução aquosa límpida. Após, foram adicionados 35,0 μ L de ácido clorídrico concentrado (36%) e o sistema foi mantido sob agitação por 30 min. Em seguida, a solução foi colocada em um forno elétrico aquecido a 80 °C e mantida por 20 h. Ao final, o sistema foi resfriado a temperatura ambiente e em seguida, sob refrigeração (overnight). O produto foi então isolado por centrifugação a 25000 rpm (rotor Beckman JA-25.50, 40 min a 10°C)¹²¹, lavado várias vezes com água destilada e etanol e seco em forno a 60 °C por 12 h. O produto obtido foi nomeado **PB-PVP** e a metodologia de síntese é ilustrada no **Esquema 2**.

Esquema 2. Etapas de síntese das nanopartículas de azul da Prússia revestidas pelo polímero polivinilpirrolidona (**PB-PVP**).



Fonte: Autoria Própria



Fonte: Autoria Própria

3.2.1.3. Processo *scale-up* de nanopartículas de Azul da Prússia revestidas com polivinilpirrolidona (PVP)

A preparação em larga escala das nanopartículas **PB-PVP** foi realizada a partir da metodologia adaptada de Xu e colaboradores.¹²¹ Para o processo *scale-up* de produção, em um béquer (*capacidade de 3000 mL*) foi adicionado 50 g de PVP-K10 e 11,335 g de $K_3[Fe(CN)_6]$ em 2000 mL de água destilada e mantidos sob agitação mecânica vigorosa até obter uma solução límpida. Em seguida, foi adicionado 1750 μ L de HCl concentrado (36%) sob agitação mecânica e mantidos por 5 min. Finalmente, a solução foi vertida em erlenmeyer (*capacidade de 2000 mL*) e colocada em estufa elétrica com circulação de ar (M.S.Mistura) aquecida a 80 °C e mantida por 20 h. Ao final, as nanopartículas **PB-PVP** foram isoladas por centrifugação a 25000 rpm (rotor Beckman JA-25.50, 40 min a 20°C), redispersas em água e mantidas 2 horas em banho de ultrassom. Após esse período, foram isoladas por centrifugação a 25000 rpm (rotor Beckman JA-25.50, 60 min a 20°C), lavadas com etanol e secas em forno a 60 °C por 12 h.

3.2.2. Síntese dos compósitos do tipo núcleo-casca NPs@MOFs

3.2.2.1. Compósito PB-PVP@ZIF-8

O compósito **PB-PVP@ZIF-8** foi preparado a partir da metodologia modificada de Wang *et al.*¹¹⁵ Em um erlenmeyer, foram adicionados 13,3 mg de PVP 10K, 8 mg de PB-PVP e 12 mL de água destilada. Em seguida, a dispersão foi mantida em banho de ultrassom por 30 minutos, seguido de agitação magnética por 5 minutos. Para a formação *in situ* da MOF, foi usada uma razão molar metal:ligante (zinco: 2-metilimidazol, 2-Melm) igual a 1:4. Para isso, 25,58 mg de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ foi solubilizado em 2 mL de água milli-Q e em seguida, adicionados à dispersão **PB-PVP** e mantidos sob agitação magnética vigorosa por 10 minutos. Após, 112,9 mg de 2-metilimidazol (2-Melm) foi solubilizado em 8 mL de água milli-Q e adicionado lentamente (gota a gota) à suspensão contendo as nanopartículas **PB-PVP** e os íons $Zn(II)$, e o sistema foi mantido sob



agitação magnética por 6 horas. Ao final, o produto foi isolado por centrifugação à 6000 rpm e lavado 3x com etanol e água. A amostra **PB-PVP@ZIF-8** foi seca sob atmosfera de vácuo durante 6 horas.

3.2.2.2. Automontagem assistida por agente de cobertura e incorporação *in-situ* do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP)

O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** do tipo *core-shell* foi também preparado *in situ* a partir das metodologias modificadas de Wang *et al* e Kaur *et al* seguindo o mesmo procedimento descrito acima.^{109,115} A solução de síntese foi preparada com razão molar Zn(II): 2-Melm: 6MP igual a 1:4:0,1. Cabe destacar que após inúmeras tentativas, a razão descrita acima foi encontrada. Foi preparada inicialmente uma solução de 6-mercaptopurina solubilizando 4,4 mg do fármaco em 6 mL de DMSO. Em seguida, a solução de 6MP foi misturada a solução aquosa do ligante orgânico (2-Melm) e adicionados gota a gota a dispersão contendo as nanopartículas **PB-PVP** e íons Zn(II). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 6 horas. Ao final, o produto foi isolado por centrifugação à 6000 rpm e lavado 3x com etanol e água. A amostra **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi seca sob atmosfera de vácuo durante 6 horas. Os sobrenadantes foram recolhidos e submetidos a quantificação por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis-NIR.

3.2.2.3. Compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)** pelo método *in situ* assistido por microondas

A superestrutura do tipo *core-shell* do material **PBcitrato@MIL-100(Fe)** foi preparada pela automontagem da MOF **MIL-100(Fe)** na superfície das nanopartículas **PBcitrato** através da síntese assistida por micro-ondas. Primeiro, foi preparada uma suspensão aquosa de **PBcitrato** (2 mg mL⁻¹) e o pH foi ajustado para 7,0 com uma solução de NaOH 0,5 mol.L⁻¹. Em seguida, foi adicionado 81,1 mg de cloreto de ferro(III) à dispersão e o sistema foi homogeneizado por ultrassom. Após, foi adicionado 35 mg de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (H₃BTC) à dispersão e o sistema permaneceu por 20 minutos em ultrassom. Finalmente, o meio reacional foi então levado a um reator



hidrotérmico assistido por micro-ondas, a 150 °C, 299 W de potência, por 30 minutos. O produto obtido (**PBcitrato@MIL-100(Fe)**) foi isolado por centrifugação a 14000 rpm (MIKRO 220R, 20 min, 25°C), lavado com água destilada e etanol, seco em dessecador a temperatura ambiente.

3.2.2.4. Compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)** pelo método *layer-by-layer* (LBL)

O material **PBcitrato@MIL-100(Fe)** foi preparado controlando a espessura da casca (MOF) pelo método da automontagem LBL a partir de etapas cíclicas de reação, a saber nanopartículas **PBcitrato**, seguido de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e do ligante H_3BTC . O procedimento teve início com a preparação de 2 mL da dispersão aquosa **PBcitrato** (6 mg mL^{-1}) em um erlenmeyer. Em seguida, foi adicionado 4 mL de uma solução aquosa de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 mmol L^{-1}) e mantidos sob agitação magnética constante por 15 minutos. Após, 4 mL de solução aquosa do ligante H_3BTC (10 mmol L^{-1}) foi adicionada gota-a-gota e mantido em agitação magnética sob banho de glicerina a 70 °C por 30 minutos. O compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)** foi isolado por centrifugação a 14000 rpm (MIKRO 220R, 10 min, 4°C) e lavado com etanol várias vezes para remover o excesso de moléculas dos precursores não-reagidos. Entre cada etapa do ciclo de formação das camadas, o compósito obtido foi isolado e lavado com etanol.

3.2.2.5. Compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)** pelo método *layer-by-layer*

O material **PB-PVP@MIL-100(Fe)** foi preparado mantendo a espessura da casca (MOF) controlada pelo método da automontagem *layer-by-layer*. O procedimento teve início com a preparação de 100 mL de solução aquosa de cloreto de ferro e 1,3,5-benzenotricarboxílico (H_3BTC) (10 mmol L^{-1}), respectivamente. Em seguida, 12 mg de **PB-PVP** foi disperso em 5 mL da solução do precursor metálico em banho de ultrassom por 10 minutos, seguidos de agitação mecânica intensa por 15 min. Após, as partículas foram isoladas por centrifugação (10000 rpm por 10 min) e o pellet redisperso em 5 mL de solução de H_3BTC sob agitação magnética constante sob banho de glicerina a 70 °C por 30 minutos. Ao final de cada etapa do ciclo, formação das camadas, o produto



PB-PVP@MIL-100(Fe) obtido, foi isolado por centrifugação a 6000 rpm por 10 min e uma quantidade úmida foi reservada para posterior análise. Na etapa final, as partículas foram lavadas várias vezes com etanol para remoção das nanopartículas de azul da Prússia livres e precursores não-reagidos. A amostra **PB-PVP@MIL-100(Fe)** foi utilizada nos ciclos na condição úmida.

3.2.2.6. Compósito **PB-PVP@MIL-88A(Fe)** pelo método assistido por microondas (MW)

O compósito **PB-PVP@MIL-88A** foi obtido pela automontagem assistida por microondas, seguindo a metodologia adaptada de Illes *et al.* e Chalanti *et al.*^{122,123} A síntese foi realizada na proporção mássica de 1,2: 1,0812: 0,46428 g L⁻¹ (PB-PVP: Fe(III): ligante). Em um erlenmeyer, foi adicionado 0,010812 g de cloreto de ferro(III) hexahidratado e solubilizados em 10 mL de água milli-Q sob agitação até a formação de solução homogênea. Em seguida, 12 mg de **PB-PVP** foi adicionado à solução e dispersos em um banho de ultrassom por 5 minutos. Após, a dispersão foi mantida sob agitação magnética e 0,0046428 g de ácido fumárico foi adicionado e mantidos até completa solubilização. Finalmente, a mistura foi vertida em um reator de vidro e submetido ao reator de microondas (299 W, 299 psi) configurado em duas etapas: 5 min sob 80°C seguido de 45 min sob 30°C. O produto obtido foi isolado por centrifugação (14.000 rpm por 10 min), lavados com etanol até obter sobrenadante incolor e secos sob vácuo a temperatura ambiente.

3.2.2.7. Compósito **PB-PVP@MIL-88A(Fe)** pelo método *layer-by-layer*

O material **PB-PVP@MIL-88A(Fe)** foi preparado pelo método da automontagem *layer-by-layer*, controlando a espessura da casa. O procedimento teve início com a preparação de 100 mL de solução aquosa de cloreto de ferro e ácido fumárico (10 mmol L⁻¹), respectivamente. Em seguida, 12 mg de **PB-PVP** foi disperso em 5 mL da solução do precursor metálico em banho de ultrassom por 10 minutos, seguidos de agitação mecânica intensa por 15 min. Após, as partículas foram isoladas por centrifugação (10000 rpm por 10 min) e o pellet redisperso em 5 mL de solução de ácido fumárico sob agitação magnética constante sob banho de



glicerina a 70 °C por 30 minutos. Ao final de cada etapa do ciclo, formação das camadas, o produto **PB-PVP@MIL-88A(Fe)** obtido, foi isolado por centrifugação a 6000 rpm por 10 min e uma quantidade úmida foi reservada para posterior análise. Na etapa final, as partículas foram lavadas várias vezes com etanol para remoção das nanopartículas de azul da Prússia livres e precursores não-reagidos. A amostra **PB-PVP@MIL-88A(Fe)** foi utilizada nos ciclos na condição úmida.

3.2.2.8. Compósito 1(Zn/6MP) usando 6-mercaptopurina (6-MP) como ligante

As partículas do **1(Zn/6MP)** usando 6-mercaptopurina (6-MP) como ligante foram sintetizadas por precipitação química a partir da metodologia adaptada de síntese da ZIF-8(Zn).¹¹⁵ Primeiro, as soluções precursoras $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,01 M) e 6-MP (0,04 M) foram preparadas em metanol. Para a solução de íons $\text{Zn}(\text{II})$, em um erlenmeyer de 25 mL, 5,95 mg foi dissolvido em 2 mL de metanol. Para a solução do ligante, em um béquer de 25 mL, 54,46 mg foi dissolvido em 8 mL de metanol quente (30 segundos sob imersão de banho glicerina à 60°C). Em seguida, a solução 6-MP foi adicionada gota-a-gota à solução $\text{Zn}(\text{II})$ sob agitação magnética vigorosa e temperatura ambiente. Após completa adição, a mistura foi mantida em agitação vigorosa por 6 horas. O sobrenadante foi recolhido e submetido a quantificação por espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis. Após o intervalo de tempo, a amostra foi isolada por centrifugação a 14000 rpm (MIKRO 220R, 10 min, 28°C), lavada com metanol e seco em dessecador a temperatura ambiente.

3.2.2.9. Compósito PB-PVP@1(Zn/6-MP)

O compósito **PB-PVP@1(Zn/6-MP)** do tipo core-shell foi preparado a partir da metodologia modificada de Wang *et al.*¹¹⁵ Primeiro, o material do núcleo (nanopartículas PB) previamente preparado, foi coberto com polivinilpirrolidona (PVP). Para isso, 0,0133 g de PVP(10K) foram dissolvidos em 12 mL de metanol. Em seguida, 8 mg de PB não-funcionalizado foram dispersos a solução, ultrasonificados por 10 minutos, seguido de agitação magnética por 10 minutos. Em seguida, foram preparadas as soluções precursoras $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,01 M)



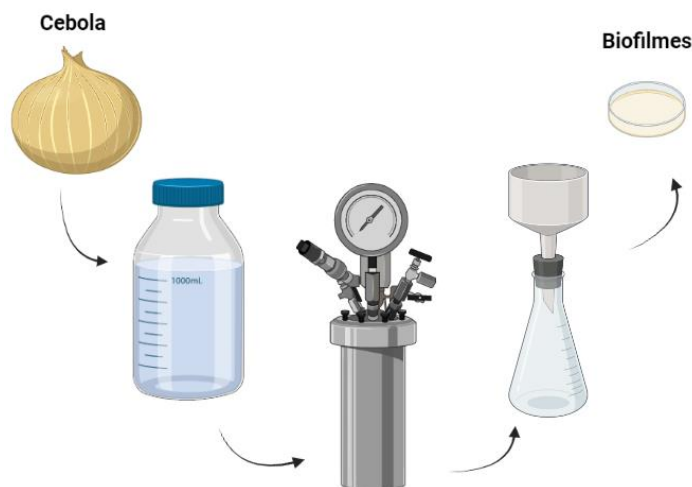
pela dissolução de 5,95 mg em 2 mL de metanol e a solução 6-MP ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) pela dissolução de 54,46 mg em 8 mL de metanol quente (30 segundos sob imersão de banho glicerina à 60°C). Então, 2 mL de Zn(II) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionado a dispersão PB-PVP e agitados mecanicamente, intensidade vigorosa, por 15 minutos. Após, 8 mL de 6-MP $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados gota-a-gota à mistura PB-PVP e Zn(II) e mantidos sob agitação mecânica por 6 horas. Ao final, o produto foi isolado por centrifugação à 14000 rpm (MIKRO 220R, 10 min, 28°C). Os sobrenadantes foram recolhidos e submetidos a quantificação por espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis. Em seguida, o precipitado foi lavado 3x com metanol. A amostra **PB-PVP@1(Zn/6MP)** foi seca sob atmosfera de vácuo durante 6 horas.

3.2.2.10. Preparação de biofilmes a base de cebola (FBC)

Os filmes foram produzidos de acordo com a metodologia descrita por Dias *et al.*¹²⁴ utilizando cebolas amarelas de tamanho médio (*Allium cepa* L.) adquiridas comercialmente, previamente lavadas e descascadas. Para o preparo da polpa, as cebolas foram cortadas verticalmente em oito pedaços, colocadas em um frasco reagente seguidos da adição de água destilada até cobrir os bulbos. Em seguida, a mistura foi tratada hidrotermicamente com pressão de $1,2 \text{ kg f cm}^{-2}$ sob 121°C por 30 min em autoclave vertical (AVPlus). A fração líquida foi descartada e a polpa foi dispersa a 7000 rpm por 10 min em um dispersor Ultra Turrax. Em seguida, com o auxílio de um funil, a polpa foi lavada várias vezes ($\sim 10\text{x}$) com água destilada até que não fossem encontrados vestígios de quercetina na água. A presença de quercetina foi analisada pelo teste de NaOH (2 mol L^{-1}) na água de lavagem, a qual, fica amarela na presença de NaOH. A metodologia do processo é ilustrada no **Esquema 3**.



Esquema 3. Etapas de produção de filmes a partir da incorporação dos materiais compósitos no biofilme **FBC**.



Fonte: Autoria Própria.

3.2.2.10.1. Preparação de nanoplataformas revestidas do tipo ***NPs@MOFs@FBC*** a partir da incorporação dos compósitos ***NPs@MOFs*** no biofilme ***FBC***

A polpa úmida foi suspensa em água destilada e a concentração foi estimada por meio de uma balança de infravermelho instalada no Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais (BioPolMat) na Uniara, com aquecimento para a determinação do peso seco da polpa de cebola em 100,0 g de água destilada. A partir do peso seco de polpa de cebola, uma determinada concentração do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi vertida sobre a polpa úmida e misturados com o auxílio de uma bagueta. A suspensão foi vertida em placas de Petri de poliestireno de 90 mm e secas em exaustor à temperatura ambiente com circulação de ar até o desprendimento do filme (aproximadamente 6 h). O produto obtido foi nomeado de **PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC**.

3.2.2.11. Revestimento das estruturas *core-shell* com membranas de macrófagos (MM)

As células RAW 264.7 de tipo macrófago murino foram cultivadas no meio celular padrão recomendado pela *American Type Culture Collection* (ATCC), sob



37 °C, em uma atmosfera de 5% de CO₂ em parceria com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP sob supervisão do Prof. Dr. Marllus Chorilli.

3.2.2.11.1. Preparação das vesículas de macrófagos (MM)

Previamente, todas as vidrarias, ponteiras e solução tampão PBS foram esterilizadas em autoclave e armazenadas em papel/plástico. As vesículas de macrófagos foram preparadas mediante o método de citólise hipotônica conforme reportado por Gao *et al* e Rao *et al*.^{125,126} As células foram isoladas por centrifugação a 1015 rpm (MIKRO 220R, 5 min a 4°C) e lavadas 3x com solução tampão PBS pH 7,4. Em seguida, o pellet foi suspenso em 1 mL de solução tampão de lise hipotônico consistindo em 20 mM de Tris-HCl, 10 mM de KCl, 2 mM de MgCl e 1 comprimido inibidor de miniprotease livre de EDTA. Na sequência, foram enucleados em um homogeneizador Dounce portátil (20x) imersos em banho de gelo e, após, vertidos em um eppendorf. As vesículas **MM** foram isoladas por centrifugação a 5430 rpm (MIKRO 220R, 5 min a 4°C), o sobrenadante foi recolhido e armazenado. A etapa de citólise hipotônica foi repetido 10x, até o fim da solução tampão lise, enucleando em homogeneizador (20x) e recolhendo o sobrenadante. Na etapa final, as vesículas **MM** foram isoladas a 11750 rpm (MIKRO 220R, 30 min a 4°C).

3.2.2.11.2. Revestimento do material PB-PVP@ZIF-8@6-MP com membrana de macrófago (MM)

Os sobrenadantes recolhidos e a vesícula foram vertidos para um tubo (material plástico) e 5 mg de **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** foi adicionado e deixados agitando em banho de gelo por 30 min. Após, o material foi isolado a 10.000 rpm (MIKRO 220R, 8 min a 10°C) e disperso em solução tampão PBS pH 7,4.

3.2.2.12. Estudos de encapsulamento e liberação do fármaco 6-mercaptopurina

3.2.2.12.1. Curvas de calibração

O 6-MP foi quantificado por espectroscopia de absorção UV a partir de diluições da solução estoque. Para análise, foi preparado 5 mL de solução



estoque de 2 mg mL⁻¹, dissolvendo 10 mg de 6-MP em 5 mL de solução DMSO. Em seguida, foi preparado uma solução de trabalho de 33 µg mL⁻¹ a partir de uma diluição da solução estoque para um volume final de 100 mL com água milli-Q. As soluções padrão de calibração foram preparadas a partir da diluição da solução de trabalho, em concentrações variando de 0 a 10 µg mL⁻¹, por diluição apropriada com água milli-Q, tampão fosfato PBS pH 5,0 e pH 7,4. A medição da absorbância foi realizada a 323, 323 e 320 nm para água milli-Q, tampão fosfato PBS pH 5,0 e pH 7,4, respectivamente.

Para a curva de calibração em metanol, foi preparado 5 mL de solução estoque de 2 mg mL⁻¹, dissolvendo 10 mg de 6-MP em 5 mL de solução metanol quente a 60 °C. Em seguida, foi preparado uma solução de trabalho seguindo o racional descrito acima.

3.2.2.12.2. Estudo de encapsulação do fármaco 6-MP no material PB-PVP@ZIF-8

A porcentagem de fármaco no sobrenadante isolado das sínteses foram determinadas por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta. O sobrenadante dos produtos **PB-PVP@ZIF-8@6MP** e **1(Zn/6MP)** foram quantificados pela curva de calibração de 6-MP construídas em água e metanol, respectivamente. A porcentagem de encapsulamento de 6-MP foi calculada com base na Eq. (1):

$$EE(\%) = \frac{(6-MP)_i - (6-MP)_s}{(6-MP)_i} \times 100\% \quad (\text{Equação 1})$$

Onde (6-MP)_i é a concentração inicial de 0,1565 mg mL⁻¹ para **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, 6,8075 mg mL⁻¹ para **1(Zn/6MP)** e 2,4754 mg mL⁻¹ para **PB-PVP@1(Zn/6MP)**, (6-MP)_s é a concentração de 6-MP no sobrenadante.

3.2.2.12.3. Ensaio de liberação do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP) da matriz PB-PVP@ZIF-8@6-MP

Os perfis de liberação de 6-MP foram obtidos usando meio fisiológico simulado (solução tamponada de PBS) em pH 5,0 (o pH endossomal das células



cancerígenas) e pH 7,4 (o pH fisiológico) em um banho seco com agitação (Thermo shaker - KASVI). Para isso, 2 mg de **PB-PVP@ZIF-8@6MP** carregados com **6MP** (1,86 mg 6MP total) foram suspensos em 15 mL de solução de PBS em pH diferente (pH = 7,4 e 5,0) e temperatura (37 °C) em um tubo falcon e mantidos sob agitação branda de 500 rpm. A quantidade de **6MP** liberada no meio foi determinada por UV-vis. Em diferentes intervalos de tempo (0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 18; 24; 36; 48; 60 h), 2,0 mL de solução foram coletados para determinar a concentração de 6MP usando a técnica UV-vis e, em seguida, 2,0 mL de solução de PBS fresca foram adicionados de volta ao tubo.

4. Resultados e Discussão

4.1 Nanopartículas de Azul da Prússia (PB)

4.1.1 Sínteses

4.1.1.1 Nanopartículas PB funcionalizadas por citrato (PBcitrato)

As partículas de azul da Prússia funcionalizadas por citrato foram obtidas pelo método de co-precipitação. O método de formação das partículas **PBcitrato** (ver reação no **Esquema 1**) envolve o uso de ácido cítrico como quelante do íon Fe(III) no precursor $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e ferrocianeto, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Considerando a reação de substituição aplicada à formação das partículas **PBcitrato**, tem-se a reação entre o precursor metálico Fe(III) e o ligante aniônico O-doador do citrato, seguido da reação entre o ligante aniônico N-doador do grupo cianeto e o Fe(III). O mecanismo proposto para esta reação, envolve primeiramente (i) a coordenação do grupo carboxílico (COO^-) ao centro metálico, seguido da (ii) troca do ligante citrato pela coordenação do cianeto ao centro metálico.

Segundo a representação do mecanismo proposto apresentado **Figura 13**, a coordenação do carboxilato ao centro metálico Fe(III) origina uma espécie intermediária, o complexo citrato férrico, pela substituição das moléculas de água da esfera de coordenação. O complexo intermediário reage instantaneamente com o complexo ferrocianeto $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, sendo a velocidade de troca do citrato pelo íon cianeto muito rápida (lábil), evidenciado pelo rápido aparecimento da



coloração azul, característica da formação do azul da Prússia funcionalizado (**PBcitrato**).

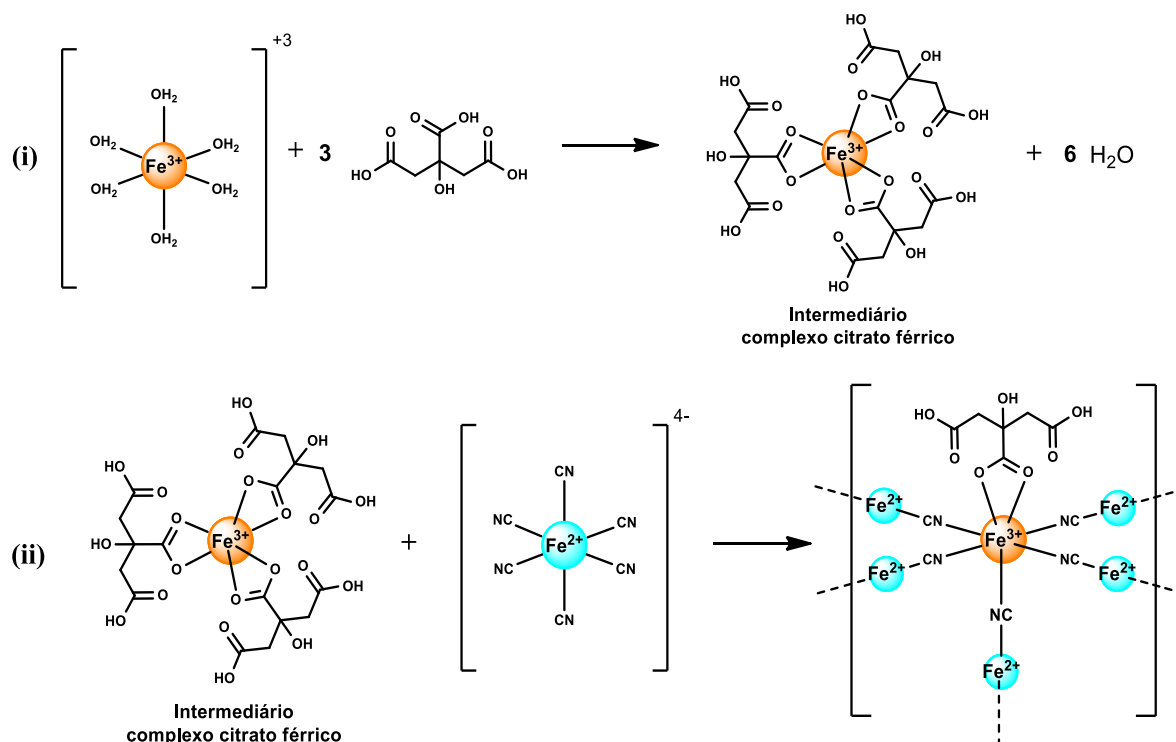


Figura 13. Mecanismo proposto para a formação de nanopartículas de azul da Prússia funcionalizadas por citrato.

Como demonstrado pelo mecanismo de reação, a superfície das partículas de azul da Prússia são funcionalizadas por ânions citrato. O ácido cítrico atua como agente de cobertura com o objetivo de evitar a aglomeração das partículas. O citrato como grupo terminal ajuda no controle do tamanho de partícula. Adicionalmente, por se tratar de um ácido orgânico, intermediário no ciclo do ácido cítrico e presente no metabolismo de todos os organismos aeróbicos, fornece biocompatibilidade às nanopartículas. Além de atuar como agente *template*, a qual pela desprotonação dos grupos carboxilatos permite a nucleação e crescimento de MOFs na superfície das partículas **PBcittrato** (ver a seguir).

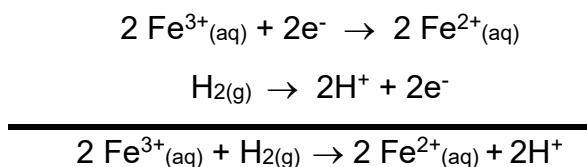
4.1.1.2 Nanopartículas de PB revestidas de polivinilpirrolidona (PB-PVP)



As partículas de azul da Prússia revestidas com o polímero polivinilpirrolidona (PVP) foram obtidas pelo método de síntese hidrotérmica, com controle de temperatura, pH e taxa de nucleação. Nessa metodologia proposta, o uso do PVP visa estabilizar a interface entre as nanopartículas e o meio de preparação do compósito core-shell.¹²⁷

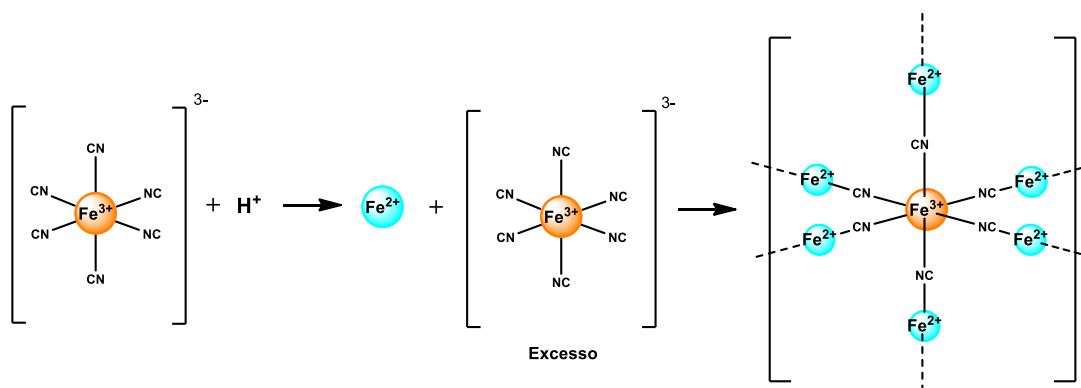
O PVP com suas propriedades físico-químicas únicas, quando adsorvido na superfície da partícula, permite absorver aproximadamente 40% de água (em relação a sua massa). Sendo assim, o material **PB-PVP** pode ser hidratado formando uma maior zona hidratada na superfície e, estericamente, evitar a aglomeração das partículas e contribuir para a formação de um sistema mais homogêneo.¹²⁸

O método de formação das partículas **PB-PVP** (ver reação no **Esquema 2**) envolve o uso de ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$) e HCl como fontes precursoras de íons $Fe(III)$ e H^+ , respectivamente, e do polímero PVP como agente de cobertura. As partículas **PB-PVP** são formadas por reações de oxirredução com a transferência de elétrons entre as espécies. O mecanismo proposto para esta reação envolve primeiramente a formação do precursor de $Fe(II)$ a partir da redução de $K_3[Fe(CN)_6]$ em meio ácido, sob temperatura, sem mudança na esfera de coordenação (reação de esfera externa). O complexo $[Fe(CN)_6]^{-3}$ com $Fe(III)$ de spin baixo (t_{2g}^5), forte agente oxidante ($E = +0,77$ eV), ganha um elétron e se reduz a $Fe(II)$ de spin baixo (t_{2g}^6). Com isso, com base nos dados de energia do campo cristalino e energia de emparelhamento descrito na Tabela 10.6 do Miessler¹²⁹, o desdobramento do campo cristalino passa de $(-2,0\Delta_o + 2P = 32000 \text{ cm}^{-1})$ para $(-2,4\Delta_o + 3P = 62000 \text{ cm}^{-1})$ com a redução do estado de oxidação do metal de $Fe(III)$ a $Fe(II)$, respectivamente, que, então, reage com $K_3[Fe(CN)_6]$ formando $KFe_{III}[Fe_{II}(CN)_6]$.¹³⁰



Segundo a representação do mecanismo proposto apresentado na **Figura 14**, o processo de formação é lento e influencia a etapa de nucleação e crescimento das partículas de azul da Prússia (PBNPs). A partir da obtenção do $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$, ocorre a nucleação das partículas individuais formando pequenas nanopartículas.

O polímero polivinilpirrolidona (PVP) utilizado nesse processo, atua auxiliando na agregação ordenada das partículas. As pequenas partículas são fixadas na cadeia do PVP formando uma nova semente, a qual aumenta de tamanho gradualmente, de forma uniforme. Além da influência dos íons H^+ na formação do azul da Prússia, a morfologia do material e a temperatura da reação são dependentes da concentração inicial de íons H^+ .¹³¹



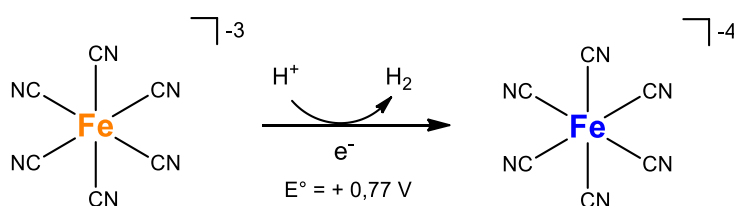
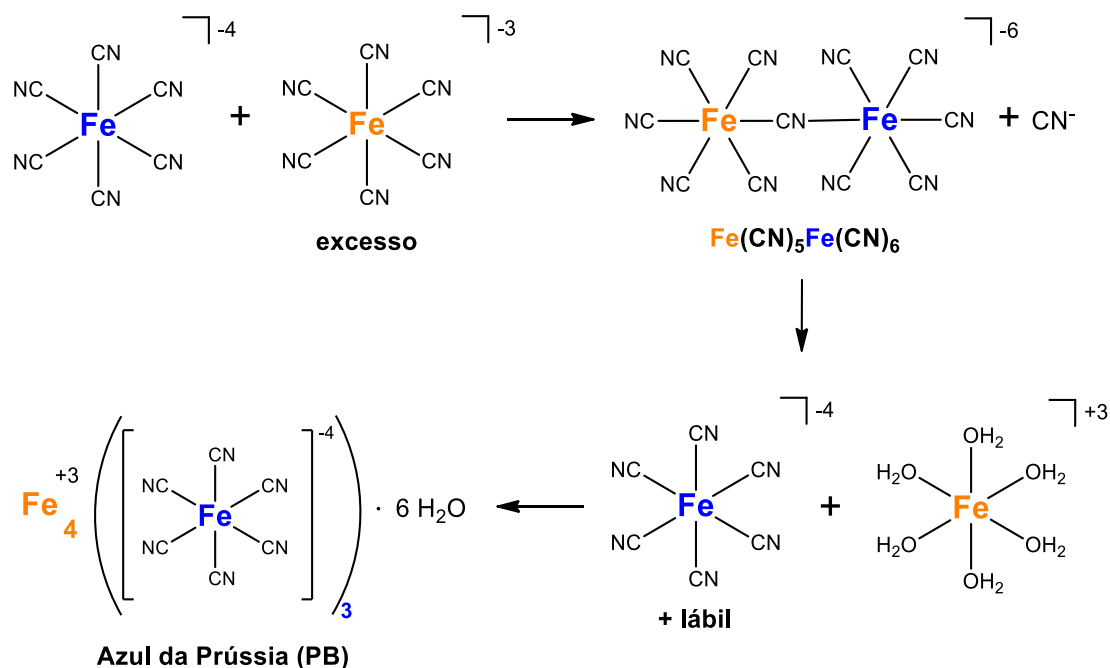
Esfera externa**Esfera interna**

Figura 14. Mecanismo proposto para a formação de nanopartículas azul da Prússia revestidas de polivinilpirrolidona.

4.1.2 Caracterização das Nanopartículas de Azul da Prússia (PB)

4.1.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para as nanopartículas PBcitrato e PB-PVP

Os espectros no infravermelho com transformada de Fourier das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP** foram coletados na região de 4000-400 cm^{-1} (**Figura 15**) e podem ser interpretados à luz dos principais modos ativos de vibração característicos do azul da Prússia (**PB**); do ácido cítrico e do polímero polivinilpirrolidona, a saber, $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\delta(\text{Fe(II)}-\text{CN}-\text{Fe(III)})$; $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ e $\nu(\text{C}=\text{O})$, respectivamente.



As bandas observadas em 2085 e 502 cm^{-1} no espectro vibracional das partículas PBcitrato e PB-PVP como mostra a **Figura 15** são atribuídas ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ e a deformação $\delta(\text{Fe(II)-CN-Fe(III)})$, respectivamente. A presença dessas bandas confirma a coordenação de Fe(III) a Fe(II) ligados por uma ponte de ligante ciano ($-\text{CN}$), principal característica do azul da Prússia.¹³²

No espectro infravermelho da amostra **PBcitrato** (ver espectro azul na **Figura 15**), a banda larga centrada em 3438 cm^{-1} pode ser atribuída ao modo vibracional de estiramento $\nu(\text{OH})$ enquanto a banda observada em 1279 cm^{-1} deve estar associada ao estiramento $\nu(\text{C}-\text{O})$ dos grupos carboxílicos. As bandas em 1608 e 1372 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos antissimétrico e simétrico das porções de carboxilato $\nu(\text{COO}^-)$ do ácido cítrico, respectivamente. O deslocamento das respectivas bandas de carboxilato na sua forma neutra $\nu(\text{COOH})$ sugere a formação do complexo intermediário citrato férrico, concordando com a proposta de formação de azul da Prússia contendo grupos citrato.^{133,134}

Para o revestimento com polivinilpirrolidona (PVP) proposto nesse trabalho, os espectros vibracionais relacionados ao polímero livre e à amostra **PB-PVP** (espectros PVP e PB-PVP na **Figura 15**) exibem o deslocamento da banda, associada ao modo de estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$ de 1660 cm^{-1} (polímero livre) para 1620 cm^{-1} na amostra **PB-PVP**. Este deslocamento sugere a interação, via ligação coordenada do íon Fe(III) à porção carbonila do PVP, corroborando com a proposta de formação das nanopartículas de azul da Prússia funcionalizada com o polímero orgânico (amostra **PB-PVP**).

4.1.2.2 Difração de raios X de pó

Os padrões de raios X da amostra **PB-PVP** foram obtidos a partir da dispersão aquosa da amostra concentrada em substratos de vidro e os difratogramas são apresentados na **Figura 16**. Os planos hkl (200), (220) e (400) característicos do azul da Prússia são exibidos no material obtido. Os picos de difração do **PB-PVP** podem ser indexados à rede cúbica de face centrada (F m 3 m) de $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ de acordo com Bueno, *et al.*¹³⁵



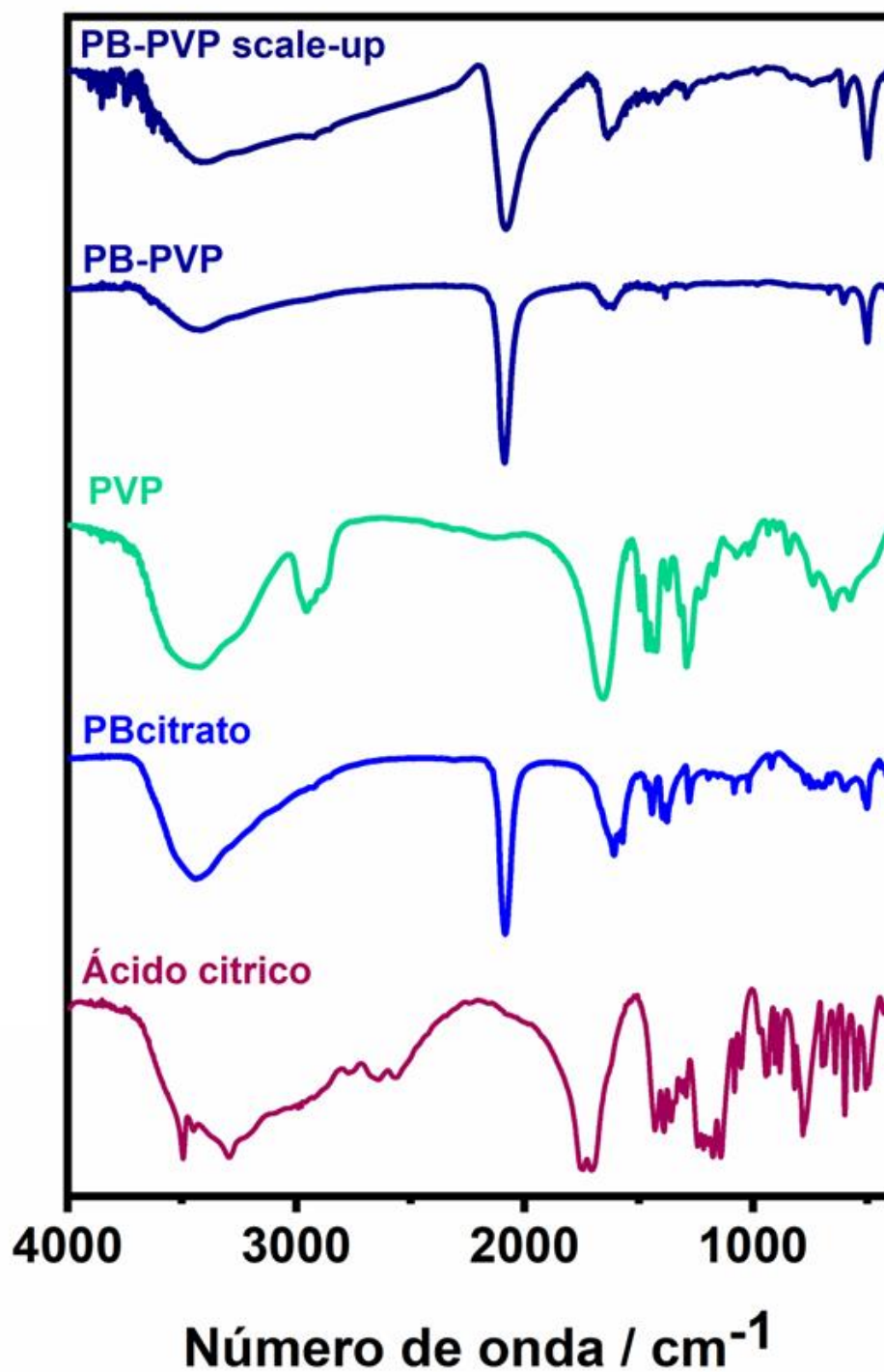


Figura 15. Espectros FTIR das amostras **PBcitrato**, **PB-PVP** e seus precursores ácido cítrico e polivinilpirrolidona (PVP).



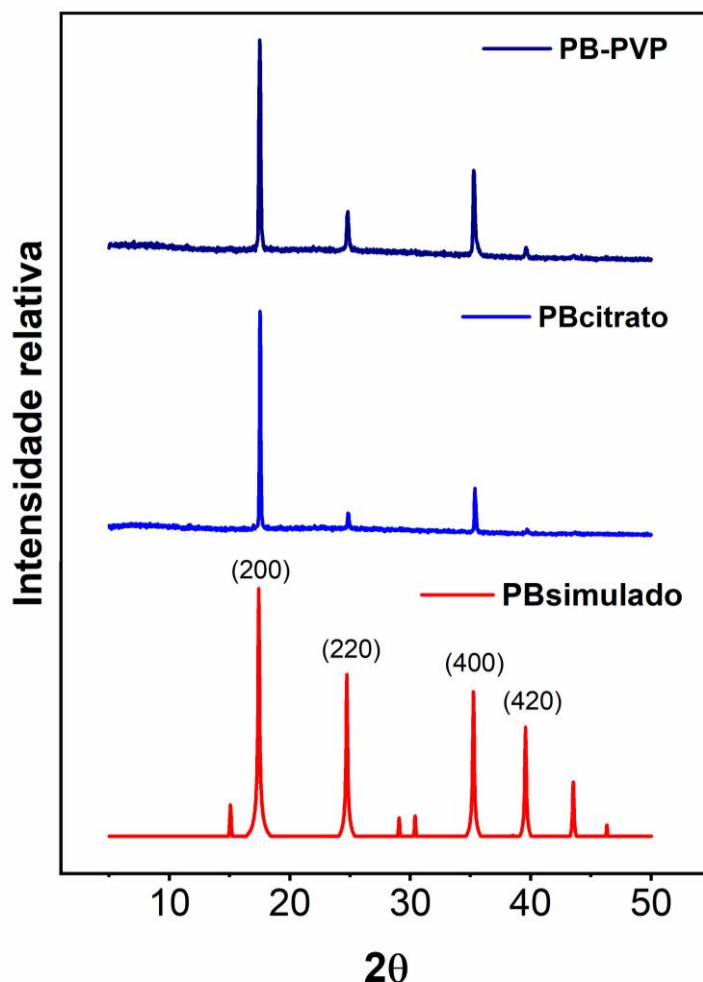


Figura 16. Difratomogramas de raios X das amostras **PBcitrato**, **PB-PVP** e o respectivo padrão simulado (CCDC Number: 708099).

Com base na lei de Scherrer ($D = 0,89\lambda/\beta\cos\theta$) e com o auxílio do *software Origin*, os ajustes de curvas gaussianas foram realizados para cada pico. Os valores das larguras dos picos de difração (FWHM) e a posição do centro do pico, necessários para o cálculo pela equação de Scherrer, foram obtidos pelas constantes da função. Os valores do tamanho médio do cristalito para ambas as amostras são apresentados na **Tabela 2**.



Tabela 2. Tamanho de cristalito para as partículas **PB-citrato** e **PB-PVP** calculados pela equação de Scherrer com base nos difratogramas.

Amostra	Tamanho médio do cristalito (nm)	Desvio Padrão (nm)	Tamanho de partícula no pico de maior intensidade (nm)
PBcitrato	60,64	$\pm 10,76$	72,67
PB-PVP	42,36	$\pm 2,76$	46,19

4.1.2.3 Difração de elétrons em área selecionada

A análise de difração de elétrons em área selecionada (“SAED” do inglês *Selected Area Electron Diffraction*) da microscopia eletrônica de transmissão foi realizada para as partículas **PB-PVP** (ver **Figura 17**). A partir dos resultados, informações cristalográficas do azul da Prússia foram obtidas.

O padrão de difração SAED das partículas **PB-PVP** é composto de duas características: pontos (tipo cristalino) e anéis (tipo policristalino), a qual foram analisadas apenas os anéis. A distância dos planos cristalográficos foi estimada pela intensidade da difração dos elétrons, usando os pixels da imagem obtida.

Com base na equação $R_{hkl}d = \lambda L$, sendo λL a constante de câmara, d a distância interplanar dentro de uma família de planos (hkl) e R a distância do centro do feixe a um ponto ou anel de difração, os cálculos foram realizados. O microscópio foi calibrado usando como padrão um policristal de ouro. O valor experimental da constante de câmara (λL) foi 1089 Å.pixel.

A partir da equação descrita acima e a constante de câmara, as distâncias interplanares para as partículas **PB-PVP** foram obtidas pelos padrões de anel. Os valores foram equiparados aos dados conhecidos para um padrão de cristal de estrutura cúbica (CCDC 708099).

Foram observados três anéis e as medições são destacadas na **Figura 17**. Os resultados correspondem aos planos (200), (220) e (400) e corroboram



com a natureza da estrutura do azul da Prússia. Importante destacar que a baixa intensidade do terceiro anel não permite a confiança na determinação do plano. Os valores obtidos e comparados com a ficha cristalográfica do azul da Prússia são apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Distâncias interplanares do azul da Prússia obtidas a partir de dados experimentais e dos dados do padrão de cristal simulado.

Planos hkl	d_{exp} (Å)	CCDC 708099 (Å)	Erro(%)
220	3,521	3,598	2,14
400	2,512	2,544	1,25
420	2,285	2,275	0,43

Ajuste da escala 2535 pixels $\text{\AA}^{-1}$ | distâncias medidas por imageJ 0,122 Å (309,27 pxl), 0,171 Å (433,485 pxl), 0,188 Å (476,58 pxl) | 1089 pxl $\text{\AA}^{-1}$ constante de câmera |

Os dados da **Tabela 3** mostram um erro pouco significativo entre os resultados experimentais e teóricos, corroborando com a presença das principais fases da estrutura do azul da Prússia.

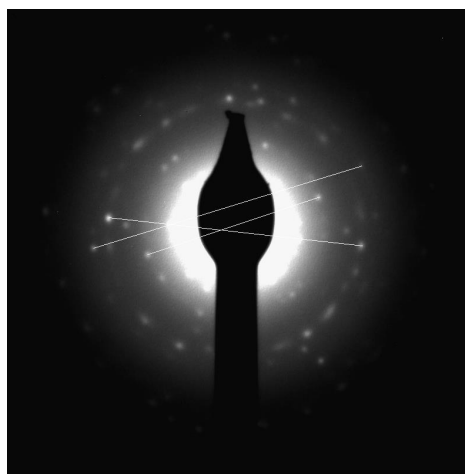


Figura 17. Microscopia de difração de elétrons da área selecionada (SAED) da amostra **PB-PVP**.

4.1.2.4 Espalhamento dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta

O tamanho das partículas foi investigado em solução aquosa a partir de medições de dispersão de luz (DLS, do inglês “*Dynamic light scattering*”) e as distribuições de tamanho resultantes estão mostradas na **Figura 18**. As medidas



foram realizadas para confirmar os raios hidrodinâmicos das amostras obtidas, isto é, **PBcitrato** e **PB-PVP** em solução aquosa.

Para ambas as suspensões, o perfil estreito de distribuição de tamanho das partículas sugere uma suspensão monodispersa, isto é, com múltiplas partículas de mesmo tamanho. Este fenômeno está relacionado a densidade máxima de empacotamento, a qual, partículas com tamanho não-variável impedem a formação de espaços vazios à medida que as partículas vão se empacotando.¹³⁶ O índice de polidispersão (PDI do inglês “*polydispersity index*”) $\leq 0,2$ indica baixa polidispersidade das partículas, ou seja, confirmando a homogeneidade da amostra e validando a evidência da suspensão monodispersa.¹³⁷

A partir do movimento browniano das partículas em suspensão, modelado pela equação de Stokes-Einstein¹³⁸, os tamanhos hidrodinâmicos das partículas foram analisados diretamente pelo *software* do equipamento *Zetasizer*¹³⁹ e os resultados são descritos na **Tabela 4**. As partículas funcionalizadas de citrato (**PBcitrato**) apresentam um tamanho médio maior do que as partículas revestidas de polivinilpirrolidona (**PB-PVP**).

Ambas as metodologias sintéticas, levando em consideração o desvio padrão, resultam em valores aproximados de diâmetro hidrodinâmico. Assim sendo, o ácido cítrico e a polivinilpirrolidona, atuantes com agente de cobertura na formação das partículas, inibem o crescimento excessivo e a agregação delas. Vale ressaltar que o tamanho de partícula determinado pelo espalhamento dinâmico de luz (DLS) deve ser associado ao termo hidrodinâmico. Isto é, o tamanho de partícula é representado pelo tamanho de uma esfera envolvendo a hidratação das partículas.



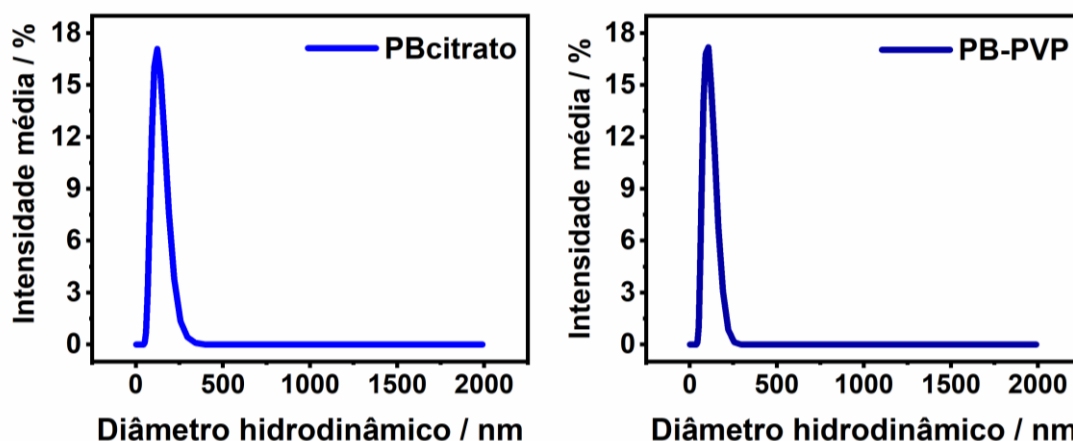


Figura 18. Diâmetro hidrodinâmico médio das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP** em dispersão aquosa.

Tabela 4. Valores de diâmetro hidrodinâmico das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP**.

	PBcitrato	PB-PVP
Diâmetro hidrodinâmico (PDI)	133,7 ± 38,62 nm (0,264)	95,88 ± 28,92 nm (0,133)

Assim como os fenômenos de hidratação, a carga superficial também tem um efeito potencialmente forte no tamanho hidrodinâmico efetivo das partículas. De modo complementar ao estudo, a carga superficial das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP** foi investigada em solução aquosa a partir de medições de potencial zeta e os resultados são apresentados na **Tabela 5**.

O potencial zeta quantifica o momento eletrostático representado pela atração ou repulsão das partículas em uma suspensão. Isto é, se as partículas têm carga superficial positiva, moléculas ou íons com carga negativa ocupam a superfície e vice-versa. Em consequência, as suspensões favorecem a sedimentação das partículas e, tido como efeito, a estabilidade da suspensão.¹⁴⁰

Os valores descritos na **Tabela 5** mostram partículas com carga superficial de sinal negativo. A diferença na magnitude do potencial elétrico (31,2 mV para



PB-PVP e 18,2 mV para **PBcitrato**) afeta o comportamento interpartículas de maneira distinta para ambas as suspensões.

A dispersão aquosa **PBcitrato** com baixo potencial zeta/menor carga superficial (em magnitude, ou seja, mais próxima a zero), sugere uma fraca repulsão de suas partículas com a diminuição das distâncias entre elas. Em comparação, a dispersão aquosa **PB-PVP** com maior potencial zeta sugere uma forte repulsão capaz de superar as forças de van der Waals, responsável pela aglomeração das partículas.

Em resumo, a amostra **PB-PVP** apresenta uma maior estabilidade coloidal, impedindo o fenômeno de sedimentação das partículas. Enquanto a amostra **PBcitrato**, em um intervalo de tempo, favorece o acúmulo/floculação das partículas devido à baixa estabilidade coloidal, quando comparado ao que ocorre no material **PB-PVP**.

Tabela 5. Valores de potencial zeta das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP**.

	PBcitrato	PB-PVP
Potencial zeta	-18,1 ± 10,3 mV	- 31,2 ± 8,48 mV

4.1.2.5 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução

A partir dos resultados do tamanho de partícula em solução, estudos de morfologia das partículas em estado sólido foram realizados a partir de imageamento em microscópio eletrônico de varredura e as imagens são mostradas na **Figura 19**.

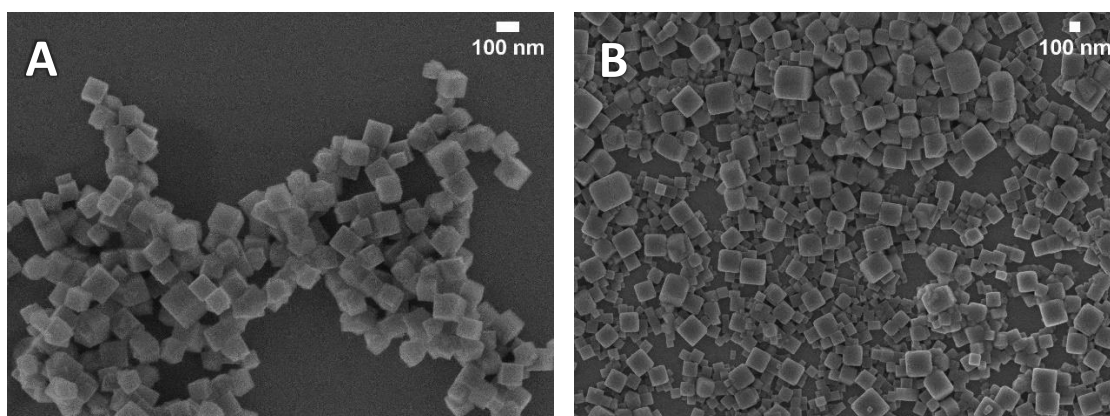
As imagens de microscopia de ambas as amostras (ver **Figura 19A-B**) mostram o efeito de aglomeração das partículas de morfologia cúbica condizente com a carga de superfície das partículas. Como pode ser observado, as partículas **PBcitrato** (ver **Figura 19A**) favorecem a aglomeração mediante a uma menor distância entre as partículas, corroborando a discussão sobre a carga de superfície da partícula. O mesmo pode ser observado para as partículas **PB-PVP** (ver **Figura 19B**), na qual o elevado potencial zeta supera as forças de atração entre as partículas resultando em partículas não-aglomeradas.



O tamanho médio das partículas foi estimado pela contagem de partículas usando o *software* gratuito *ImageJ*.¹⁴¹ Para essa estimativa, foram contabilizadas entre 100 e 150 partículas e o histograma da contagem de partículas pode ser analisado nas **Figura 19C-D**. Os resultados obtidos a partir da análise de distribuição de frequências são apresentados na **Tabela 6**.

Nos histogramas apresentados, a dimensão das partículas observadas por microscopia reflete na simetria dos dados. As partículas **PBcitrato** apresentam dados mais simétricos em comparação as partículas de **PB-PVP**. Sendo assim, a uniformidade do tamanho da partícula **PBcitrato** resulta em um melhor ajuste da linha de distribuição, e conseqüentemente, um ajuste discrepante para as partículas **PB-PVP**, como esperado.

O tamanho das partículas varia de 40-120 nm para a amostra **PBcitrato** (**Figura 19C**) e 40-200 nm para a amostra **PB-PVP** (**Figura 19D**), tendo o pico dessa variação em 75 nm e 70-90 nm, respectivamente. O ajuste da distribuição revela uma confiabilidade nos dados para a amostra **PBcitrato** com baixo desvio padrão (± 15 nm) comparado a amostra **PB-PVP** (± 41 nm), a qual a estimativa de confiabilidade é imprecisa.



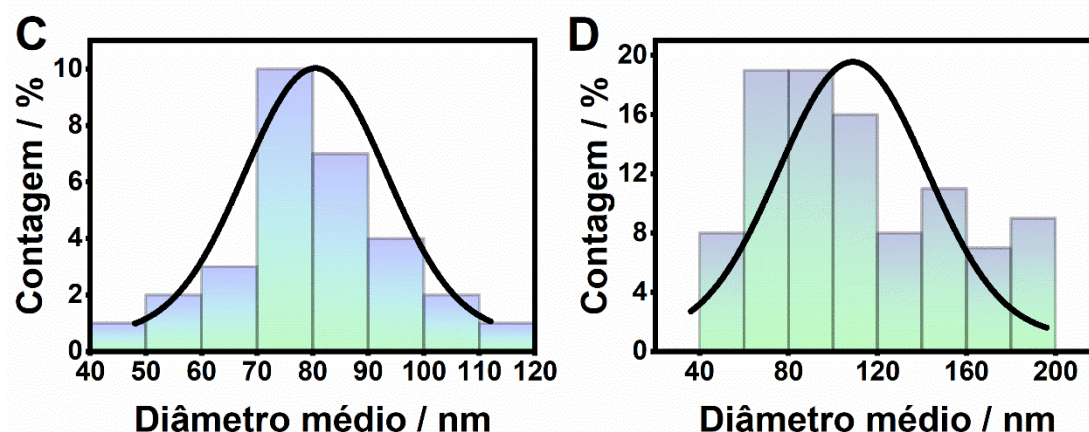


Figura 19. Imagens MEV-FEG das partículas **PBcitrato** (A) e **PB-PVP** (B). Histogramas da contagem de 100 a 150 partículas da amostra **PBcitrato** (C) e **PB-PVP** (D).

Tabela 6. Tamanho médio das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP**.

	PBcitrato	PB-PVP
Tamanho médio	80,59 ± 15,91 nm	111,09 ± 41,69 nm

A superfície das partículas foi analisada a partir de imagens obtidas com uma aproximação de 100.000x, a qual são mostradas na **Figura 20**. Apesar de ambas as amostras serem características da estrutura do azul da Prússia, diferenças podem ser observadas na forma das partículas cúbicas.

A imagem de microscopia da amostra **PBcitrato** (ver **Figura 20A**) exibe partículas cúbicas perfeitas, isto é, arestas, face e vértice bem definidos. Além de superfícies lisas. Em comparação, o contrário é observado na partícula **PB-PVP** (ver **Figura 20B**). A partir de imagens MEV, superfícies irregulares foram observadas nos vértices do cubo, resultando na característica “arredondada” e consequentemente, arestas não definidas. No entanto, as faces são bem definidas com superfície lisa. A rugosidade sugere que a partícula **PB-PVP** foi formada pela agregação de pequenas nanopartículas de azul da Prússia, condizente com o processo de formação lenta.¹²⁰



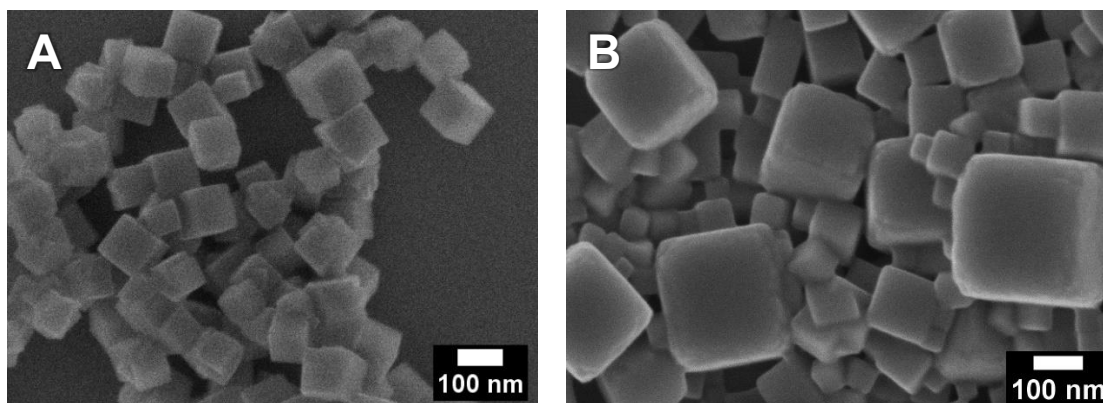


Figura 20. Imagens MEV-FEG das partículas **PBcitrato** (A) e **PB-PVP** (B) com ampliação de 100.000x

4.1.2.6 *Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução*

Imagens de microscopia eletrônica de transmissão também foram obtidas para esses materiais e estão ilustradas na **Figura 21**. Os resultados mostram a presença de partículas cúbicas (ver círculos vermelhos) envolvidas em uma aglomeração na amostra **PBcitrato** (**Figura 21A**) e isoladas na amostra **PB-PVP** (**Figura 21B**). As partículas cúbicas são maciças e conseqüentemente impedem a transmissão do feixe, sendo representadas pelas regiões escuras, a qual está relacionada com a densidade atômica das partículas. Em contrapartida, as partes mais claras são evidências dos agentes de cobertura, isto é, citrato para a amostra **PBcitrato** e polivinilpirrolidona para **PB-PVP**, corroborando com toda a discussão anterior. Sendo possível, também, observar partículas cúbicas mais claras para a amostra **PB-PVP**.

Importante mencionar a sensibilidade dos compostos orgânicos ao feixe de elétrons. As ligações covalentes, características de estruturas orgânicas, sob interação de um feixe de elétrons, resultam na quebra das ligações. Esse fenômeno limita a aquisição de dados estruturais ou químicos em alta resolução espacial.¹⁴² Mediante a este fato, imagens de alta resolução não puderam ser obtidas para as amostras **PBcitrato** devido à funcionalização de porções de citrato na superfície da partícula azul da Prússia.



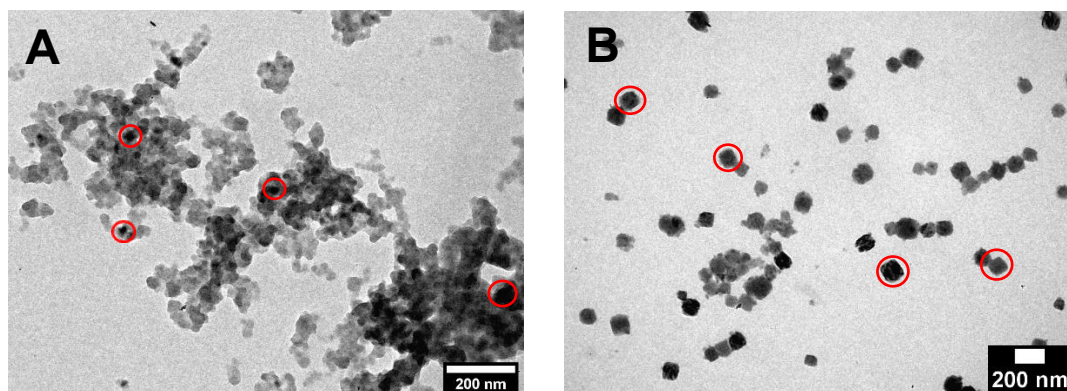


Figura 21. Imagens de microscopia de transmissão das partículas (A) **PBcitrate** e (B) **PB-PVP**.

Para informações mais detalhadas, imagens altamente ampliadas da partícula **PB-PVP** foram obtidas. A ausência de vértices bem definidos, como descrito anteriormente, pode também ser observada na **Figura 22A**. A região mais clara, ao redor da superfície da partícula, sugere a proposta de revestimento com polivinilpirrolidona. Com o auxílio do software *ImageJ*, a espessura do revestimento com PVP foi determinada em cerca de 10 nm.

A partir das imagens de transmissão de alta resolução das partículas **PB-PVP** mostradas na **Figura 22B**, informações estruturais foram investigadas. As imagens exibem a orientação dos planos na região mais escura, característica da cristalinidade das partículas de azul da Prússia. Enquanto a região mais clara se caracteriza como amorfa, ou seja, sem orientação dos planos.

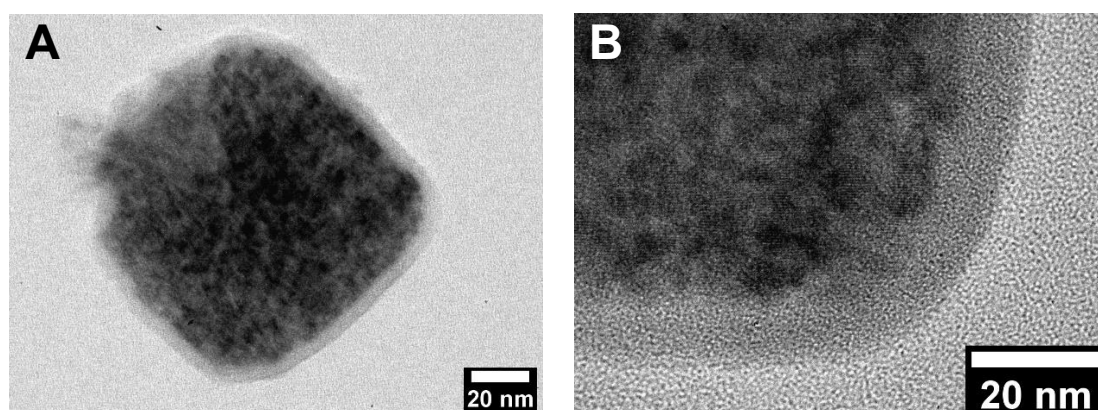
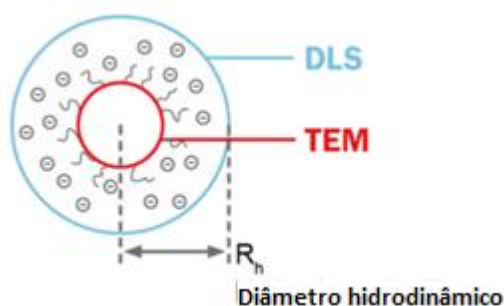


Figura 22. Imagens MET da partícula **PB-PVP** isolada (A), imagem de alta resolução da interface **PB** e **PVP** (B).



Os valores de diâmetro de partícula obtidos pelas análises DLS e MET são diferentes, como esperado. Importante destacar que ambas as análises refletem propriedades diferentes do sistema das partículas conforme a ilustração na **Figura 23**. A técnica DLS indica o diâmetro hidrodinâmico da partícula e como ela se comporta em um fluido. Como também, dá informações sobre qualquer tipo de revestimento na superfície. Em contrapartida, técnicas que sondam os elétrons da partícula, enxergam apenas o núcleo interno e consequentemente, o diâmetro de partícula será menor.¹⁴³



Fonte: Adaptado do site da FRITSCH¹⁴⁴

Figura 23. Diferença entre o tamanho de partícula e o tamanho hidrodinâmico.

Com base nisso, o tamanho das partículas obtidas por microscopia de transmissão (**Figura 21B** e **Figura 22A**) foi determinado. O histograma da contagem de partículas é mostrado na **Figura 24**. Como pode ser observado, a partícula de azul da Prússia exibe um tamanho médio de cerca de 90 nm. Com o auxílio do *imageJ*, a espessura do revestimento PVP foi quantificado em 11 nm (ver **Figura 24B**). Os resultados são condizentes com o diâmetro hidrodinâmico das partículas **PB-PVP** obtido pela técnica DLS (ver sub-ítem 0). Os valores são comparados na **Tabela 7** e de fato existe uma diferença de cerca de 5 nm entre os dados obtidos através das diferentes técnicas. Essa diferença evidencia a superfície da partícula e corrobora com os resultados anteriores sobre o revestimento com o polímero PVP.



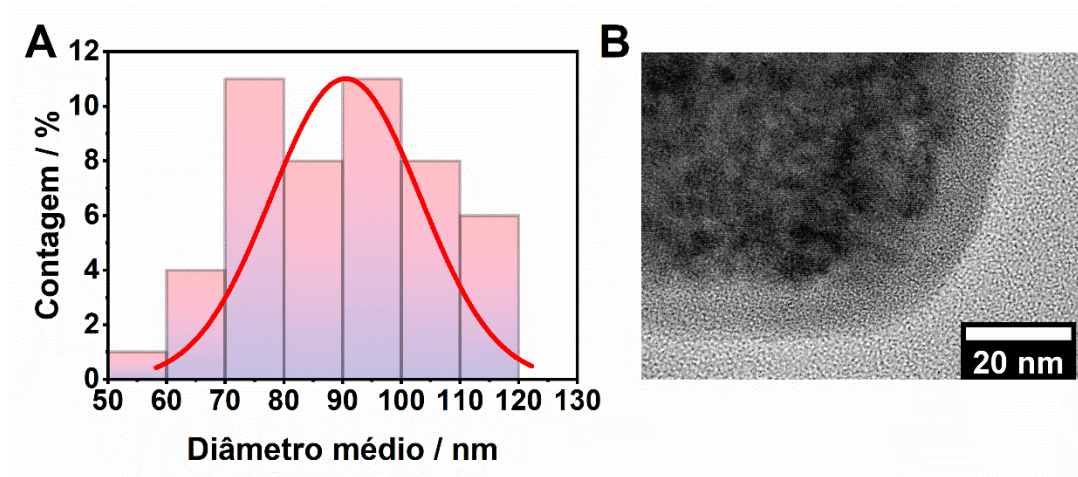


Figura 24. Histogramas da contagem de 50 partículas da amostra **PB-PVP** obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.

Tabela 7. Valores comparativos entre o tamanho médio obtido pela análise MET e o diâmetro hidrodinâmico obtido pela técnica DLS das partículas **PB-PVP**.

Tamanho médio (MET)	Diâmetro hidrodinâmico (DLS)	Diferença
90,38 ± 15,89 nm	95,88 ± 28,92 nm	5,5 nm

4.1.2.7 Análise Térmica

O comportamento térmico do composto **PB-PVP** foi investigado através da técnica de análise térmica (TA, do inglês “*Thermal analysis*”) e as curvas são mostradas na **Figura 25**. De modo complementar a análise TGA, as variações de perda de massa em relação a temperatura associadas aos eventos térmicos da amostra foram analisadas pela curva DTG (curva em vermelho). Através da DTG a faixa (início e fim) de decomposição térmica do material foi identificada.

As partículas **PB-PVP** apresentam três eventos de decomposição descritos na **Tabela 8**. A primeira perda de massa (9,38%) observada na região de 26-196 °C se origina da perda de moléculas de água fisicamente adsorvidas na superfície das partículas. O segundo evento de decomposição entre 200-390 °C é atribuído principalmente a perda de matéria orgânica, como também, a volatilização de moléculas de água coordenada a rede do azul da Prússia (22,78%), sendo o pico máximo de decomposição em 300°C. A terceira perda de



massa (10,38%), aproximadamente em 650°C, está associado à quebra das ligações coordenadas do azul da Prússia, isto é, a decomposição completa da estrutura azul da Prússia.^{145,146}

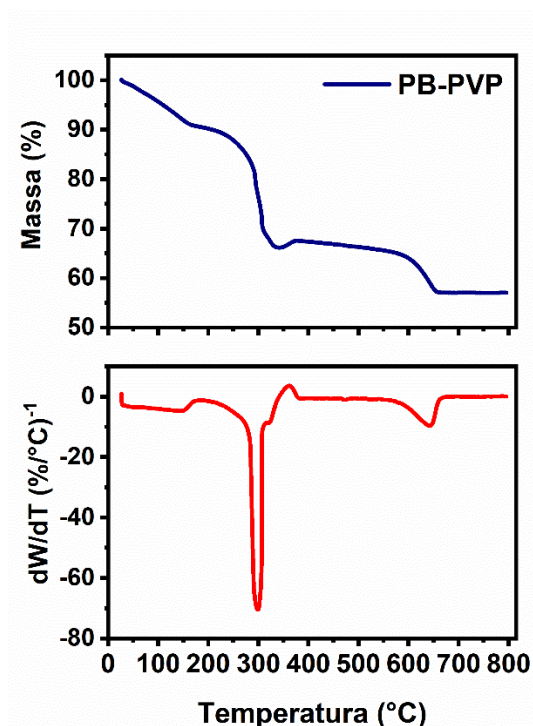


Figura 25. Curvas TGA (em azul) e DTG (em vermelho) das partículas **PB-PVP**.

Tabela 8. Valores de perda de massa atribuídos aos eventos térmicos para as partículas de **PB-PVP**.

Amostra	Evento Térmico								
	I			II			III		
	T _i /°C	T _f /°C	Δm /%	T _i /°C	T _f /°C	Δm /%	T _i /°C	T _f /°C	Δm /%
PB-PVP	26	196	9,68	200	390	22,78	390	795	10,38

T_i – Temperatura inicial, T_f – Temperatura final, Δm – Variação de massa

Obs. - A análise térmica das partículas **PBcitrato** não foram realizadas. A decomposição desse material pode gerar gás cianeto, consequentemente, se faz necessário um ambiente com circulação de ar ou capela exaustor. Desta



forma optou-se pelas análises do **PB-PVP**, por questões de segurança, e uma única análise foi realizada para as amostras de **PB-PVP**.

4.1.2.8 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível e infravermelho próximo (UV-Vis-NIR)

Os resultados discutidos anteriormente confirmam a formação das partículas azul da Prússia. Com base nisso, as propriedades fotoquímicas das amostras **PBcitrato** e **PB-PVP** foram investigadas pela espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta e visível, como também na região do infravermelho próximo (NIR) e os espectros são mostrados na **Figura 26**.

Como ilustrado, a dispersão aquosa de ambas as partículas apresenta absorção na região do ultravioleta (< 400 nm), na região do visível (400 – 780 nm) e do infravermelho próximo (780-2500 nm), sendo esta última, a faixa de interesse para o estudo de fototermia.

Os espectros eletrônicos dos compostos precursores e dos materiais obtidos são apresentados nas **Figura 26A-B**. As bandas de absorção ocorrem em λ_{max} = 200, 259 e 293 nm para ácido cítrico, ferrocianeto de potássio e cloreto de ferro(III) hexahidratado, respectivamente.

O espectro eletrônico do material **PBcitrato** (ver **Figura 26A**) exibe picos de absorção em λ_{max} = 206, 259, 285 e 697 nm. As três bandas na região do UV são características dos três precursores e a banda larga estendida da região do visível até o infravermelho próximo, característica do azul da Prússia.

A banda de absorção em 206 nm está associada ao grupo carboxílico do ácido cítrico, com transição $n \rightarrow \pi^*$. Observa-se um deslocamento batocrômico do grupo carboxílico livre (λ_{max} = 200 nm) para o grupo carboxilato (λ_{max} = 206 nm) confirmando a formação do citrato férrico (ver **Figura 13**). As bandas observadas em 259 e 285 nm estão associadas às transições de transferência de carga do $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (TCML) e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (TCLM), transições $t_{2g} \rightarrow \pi^*$ e $\sigma \rightarrow e_g$, respectivamente.¹²⁹



A banda de absorção centrada em 697 nm é atribuída à transferência de carga intervalência metal-ligante-metal de espécies Fe(II) para Fe(III) na estrutura do azul da Prússia. Essa transferência eletrônica se origina a partir da interação do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ com os íons de Fe(III), resultando na ponte Fe(II)-CN-Fe(III), característica principal do azul da Prússia.

O espectro eletrônico das partículas **PB-PVP** (ver **Figura 26B**) apresenta similaridade com as bandas de absorção do **PBcitrato**, evidenciando a formação do azul da Prússia. O espectro exibe três picos de absorção em $\lambda_{\text{max}} = 205, 257$ e 279 nm e uma banda larga na região do Vis-NIR, com pico máximo em 689 nm.

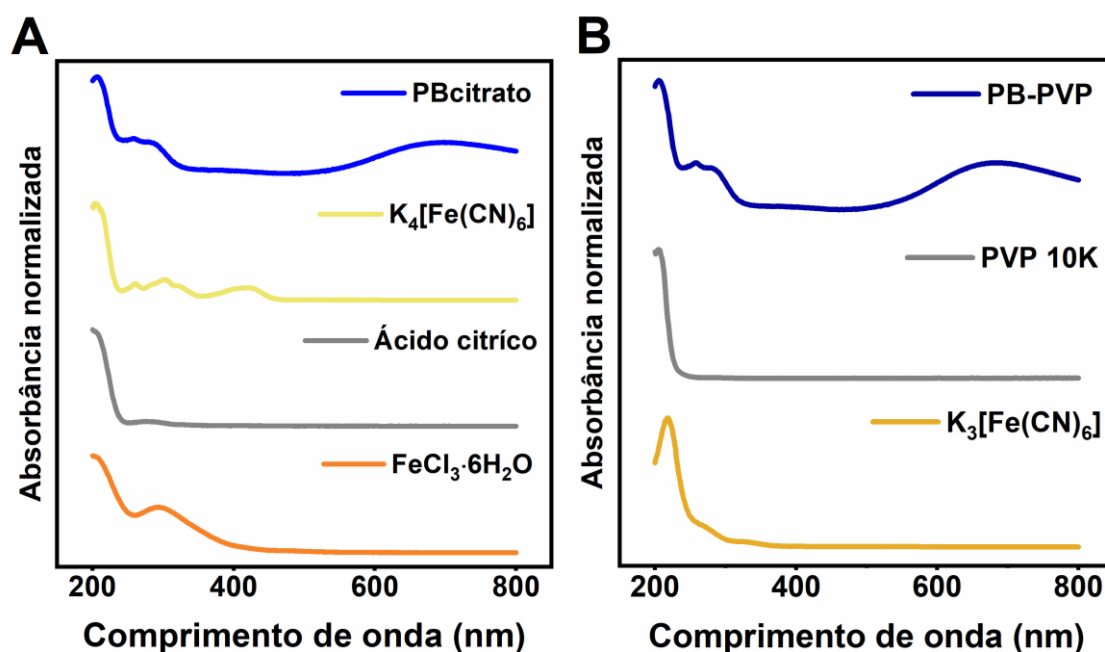


Figura 26. Espectros de absorção na região UV-Vis-NIR da dispersão aquosa das partículas **PBcitrato** (A) e **PB-PVP** (B) e suas respectivas soluções aquosas precursoras.

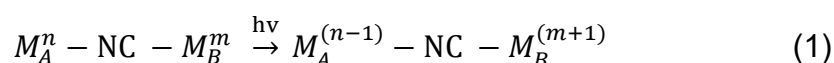
A banda de absorção em 205 nm está associada a presença do grupo funcional carbonila no PVP (transição $n \rightarrow \pi^*$). A banda observada em 257 nm está associada à transferência de carga do íon Fe(II) para o ligante (TCML), transição $t_{2g} \rightarrow \pi^*$ e sua presença confirma a ocorrência da reação de esfera



externa, isto é, a redução de $K_3[Fe(CN)_6]$ em meio ácido. A banda em 279 nm é atribuída à transferência de carga ligante-metal do $K_3[Fe(CN)_6]$, transição $\sigma \rightarrow e_g$. E finalmente, o aparecimento da banda centrada em 689 nm confirma a formação do azul da Prússia, posto que está associada à transição eletrônica intervalente entre os íons Fe(II) e Fe(III), através da ponte de ciano.

No que se refere à presença nos espectros eletrônicos da banda observada no fim do visível e início do IV próximo, a **Figura 27** mostra que existe um deslocamento dessa banda entre os dois materiais. O espectro da amostra **PBcitrato** ($\lambda_{max} = 697$ nm) exibe um deslocamento batocrômico de 17 nm em relação a amostra **PB-PVP** ($\lambda_{max} = 689$ nm). O fenômeno observado para esse deslocamento do máximo da banda de absorção evidencia que a funcionalização da superfície da nanopartícula de azul da Prússia com citrato afeta a energia envolvida no processo de transferência eletrônica entre Fe(II)-CN-Fe(III), modificando o *band gap*.

De modo geral, a transição associada à transferência de carga metal-metal (TCMM) atua como meio de estímulo óptico responsável pelas propriedades fotofísicas do azul da Prússia. A banda na região do Vis-NIR responsável pela transferência de carga entre os íons Fe(II) e Fe(III) pode ser representada pela reação (1), onde m e n são os estados de oxidação formal do metal.¹⁴⁷



O íon M_A sofre uma redução como resultado da transferência de carga do íon M_B . O estado excitado sofre um processo de relaxamento para o estado excitado mais baixo, via conversão interna. Os elétrons no nível vibracional mais baixo do estado excitado sofrem, então, um processo de decaimento não-radiativo gerando calor, o chamado efeito fototérmico.¹⁴⁸



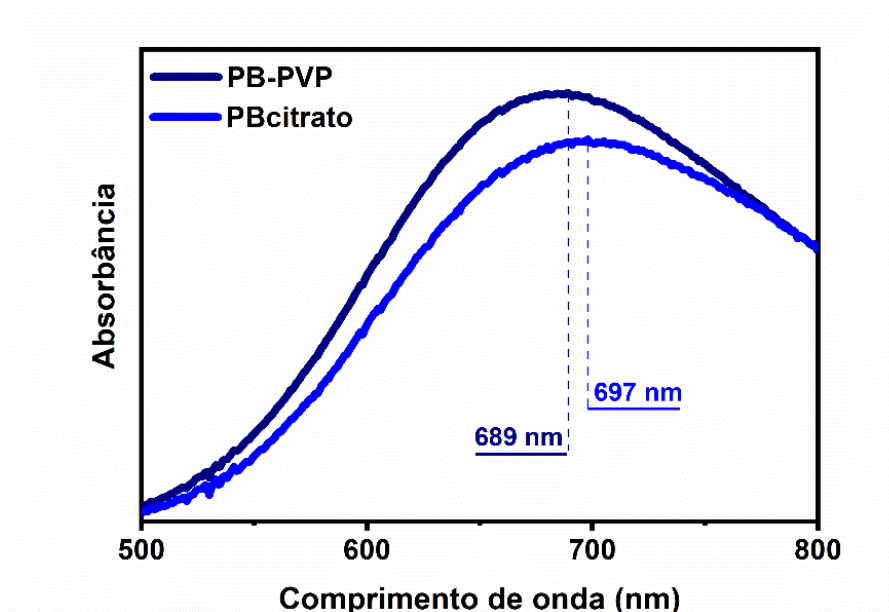


Figura 27. Espectros eletrônicos na região do Vis-NIR das partículas **PBcitrato** e **PB-PVP** dispersas em fase aquosa.

4.1.2.9 Investigação do efeito fototérmico de nanopartículas de azul da Prússia

A eficiência das partículas como fotossensibilizadores, avaliada pela capacidade de absorção na região do infravermelho próximo, foi confirmada nesse estudo pela espectroscopia eletrônica no UV-Vis-NIR (ver discussão anterior). Entretanto, para uma aplicação fototérmica, essa capacidade de absorção deve ser convertida em calor. Fundamentado nisso, a emissão de calor, avaliada através do aumento da temperatura das amostras **PBcitrato** e **PB-PVP**, foi investigada através de estudos de eficácia da transdução fototérmica mediada por laser infravermelho no comprimento de 808 nm.

Os gráficos de elevação de temperatura são mostrados nas **Figura 28A-B**. As amostras, na concentração de 1 mg mL^{-1} , irradiadas pelo laser 808 nm, exibem uma elevação significativa de temperatura, em comparação ao branco (água), confirmando a emissão de calor pelo decaimento não-radiativo do estado excitado.



Importante mencionar que os tratamentos térmicos se baseiam na condução de uma parte ou de todo o corpo acima da temperatura normal por um período definido, conhecido como hipertermia. Cabe acrescentar, também, que existe uma faixa de temperatura ótima para atuar na remissão do tumor, isto é, 40-45 °C.¹⁴⁹

Nesse trabalho, a irradiação sob baixa potência (0,3 e 0,5 W cm⁻²) em ambas as amostras não se mostrou viável para a aplicação de terapia fototérmica pois não atingem a faixa necessária para a ação terapêutica. No entanto, sob potência média (0,8 e 1,0 W cm⁻²), a amostra **PBcittrato** atinge 40 °C a partir de 400 s (~ 6 min) e permanece na faixa de 40 – 45 °C por 13 minutos (0,8 W cm⁻²) e 6 minutos (1,0 W cm⁻²). Sob potências elevadas (1,5 e 2,0 W cm⁻²), a elevação de temperatura é muito rápida. Com 170 s (1,5 W cm⁻²) ou 100 s (2,0 W cm⁻²) a temperatura é elevada até 40 °C. E com 60 s (1,5 W cm⁻²) ou 40 s (2,0 W cm⁻²) a temperatura é elevada para 45 °C.

Visando uma aplicação biológica, vários parâmetros devem ser analisados, incluindo a manutenção da temperatura na faixa de temperatura terapêutica. Sob elevada potência de laser, adotando uma aplicação real, o material levaria o centro do tumor à uma temperatura de 50 °C rapidamente, sugerindo uma morte celular mais rápida; no entanto, a rapidez da conversão fototérmica gera um aumento não-gradual da zona irradiada acarretando o efeito colateral de células saudáveis.

As partículas **PB-PVP** sob elevadas potências atingem 40°C com 90 s (1,5 W cm⁻²) e 80 s (2,0 W cm⁻²), respectivamente. A temperatura se mantém na faixa de 40 – 45 °C por 50 s (1,5 W cm⁻²) e 40 s (2,0 W cm⁻²) de irradiação. Sob potência média a temperatura atinge a faixa ótima a partir de 150 s (1,0 W cm⁻²) e 270 s (0,8 W cm⁻²), respectivamente. A temperatura se mantém nesta faixa, por 100 s (1,0 W cm⁻²) e 310 s (0,8 W cm⁻²), respectivamente.



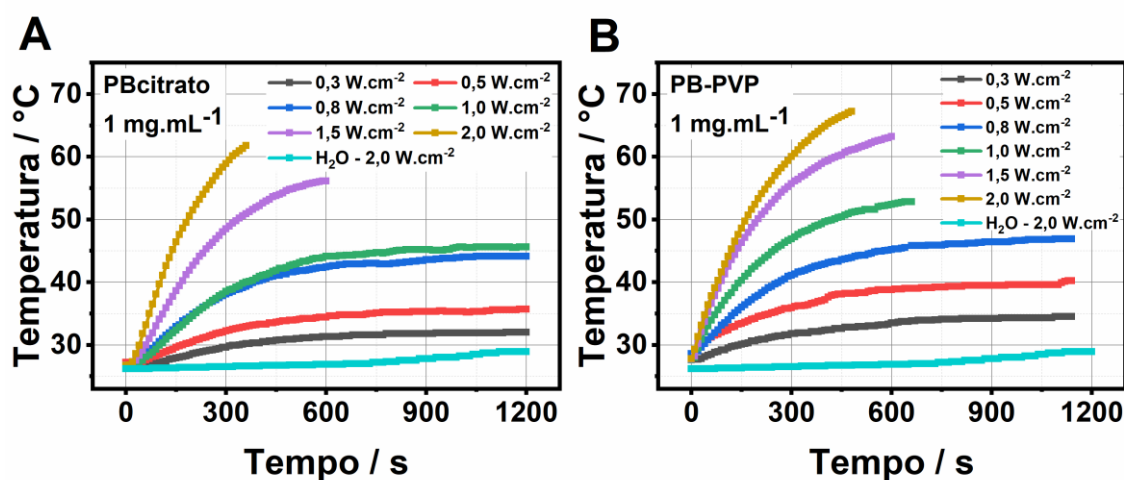


Figura 28. Estudos de transdução fototérmica de dispersões aquosas das amostras (1 mg mL⁻¹): (A) **PBcitrato**, (B) **PB-PVP** e a dependência da potência do laser.

Obs. – Foram escolhidas as nanopartículas **PV-PVP** para a continuidade dos estudos, exceto no que concerne o compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)** (ver itens 4.2.2.1 e 4.2.2.2), porque apesar do elevado desvio padrão (± 41 nm) nos dados de MET, gerando imprecisão na estimativa do tamanho de partícula, as nanopartículas de azul da Prússia funcionalizadas com o polímero orgânico apresentaram uma maior estabilidade coloidal (potencial zeta igual a - 31 mV), o revestimento PVP permitiu a aquisição de dados estruturais em alta resolução, além de ter sido possível a obtenção dessas nanopartículas em alto rendimento (síntese em larga escala).

4.2 Compósitos PB-PVP@MOFs

A partir da viabilidade de uso das nanopartículas de azul da Prússia funcionalizadas com o polímero PVP (**PB-PVP**) como material fotossensibilizador, as investigações prosseguiram para a segunda proposta do trabalho. Esta tem como objetivo a formação de compósitos do tipo *core-shell*, tendo a partícula **PB-PVP** como núcleo (*core*) e MOFs como casca (*shell*). Essa etapa do trabalho procurou investigar, então, os processos de automontagem de três diferentes MOFs sobre a superfície das partículas **PB-PVP**, como também,



os processos de interação entre ambos os componentes dos compósitos obtidos. Dentro desse contexto, três estruturas MOFs foram analisadas, contendo:

- (i) íons Zn(II) e o ligante 2-metilimidazol (**ZIF-8**);
- (ii) íons Fe(III) e o ligante ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (**MIL-100**);
- (iii) íons Fe(III) e o ligante ácido *trans*-butenodióico (**MIL-88**).

Por serem materiais porosos, as redes metalorgânicas (MOFs) têm sido utilizadas como sistemas de liberação de fármacos e nessa proposta foram escolhidas para a construção de plataformas multifuncionais do tipo PB@MOF@fármaco. Inicialmente, a dimensão da estrutura cristalina do fármaco 6-mercaptopurina (ccdc 1211285) foi analisada no software *Mecury*¹⁵⁰ e então, comparada com o tamanho dos poros das matrizes porosas utilizadas. Em seguida, foram efetuados ensaios de encapsulação do fármaco, via impregnação por via úmida ou método *in-situ*, e subseqüentes experimentos de liberação controlada nos sistemas investigados.

4.2.1 Compósito PB-PVP@ZIF-8

O compósito **PB-PVP@ZIF-8** foi preparado a partir da metodologia adaptada de Wang *et al*, partindo das nanopartículas **PB** como núcleo (*core*) e a MOF **ZIF-8** como casca (*shell*).¹¹⁵ As moléculas de PVP na superfície das partículas fornece uma afinidade pelos blocos de construção da rede metalorgânica ZIF-8. As possíveis interações entre as nanopartículas de azul da Prússia funcionalizada e a MOF podem envolver, por exemplo, a coordenação entre os anéis de pirrolidona (C=O) do polímero PVP e íons Zn(II), interações hidrofóbicas entre grupos apolares do PVP e do ligante orgânico e interações eletrostáticas.¹²⁸

4.2.1.1 Encapsulamento do fármaco 6-mercaptopurina (6-MP)

O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** carreando o fármaco 6-mercaptopurina foi preparado *in situ*, a partir da metodologia adaptada de Kaur



*et al.*¹⁰⁹ A rota sintética escolhida permitiu a formação direta da estrutura da MOF **ZIF-8**, já carregando o fármaco 6-MP, sobre a superfície das nanopartículas **PB-PVP**, cujas caracterizações passam a ser apresentadas a seguir.

4.2.1.2 *Espectroscopia na região do infravermelho (IV)*

Os espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** são ilustrados na **Figura 29**. O espectro vibracional do compósito **PB-PVP@ZIF-8** mostra a presença das bandas características dos componentes precursores (**PB-PVP** e **ZIF-8**). As bandas observadas em 2085 e 502 cm⁻¹ são correspondentes, respectivamente, ao estiramento C≡N e à deformação Fe(II)-CN-Fe(III), principais características das nanopartículas **PB-PVP**. As bandas características da **ZIF-8** estão destacadas, na região espectral de interesse, na **Figura 29B**. Como observado, o espectro no IV do compósito apresenta também bandas em 1580, 1421, 1146 e 422 cm⁻¹ associadas aos estiramentos C=N, C-N e Zn-N, respectivamente, da MOF **ZIF-8**.¹⁵¹

Com relação ao material obtido após o encapsulamento do fármaco, os espectros vibracionais dos compósitos **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** mostram similaridades entre si, exceto na região entre 1300 – 1100 cm⁻¹ como destacado na **Figura 29B**. O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** apresenta um pico em 1224 cm⁻¹ atribuído ao modo de estiramento $\nu(\text{C}=\text{S})$, evidenciando a interação do fármaco **6MP** com o compósito **PB@ZIF8**. Entretanto, outras evidências da presença do fármaco como bandas atribuídas ao grupo tiol (-SH) (2620 – 2550 cm⁻¹), ao grupo N-H em 3420 cm⁻¹ e ao grupo C-N em 1343 cm⁻¹ ficaram mascarados pela intensidade dos picos de absorção dos componentes **PB-PVP** e **ZIF-8** nessas mesmas regiões.



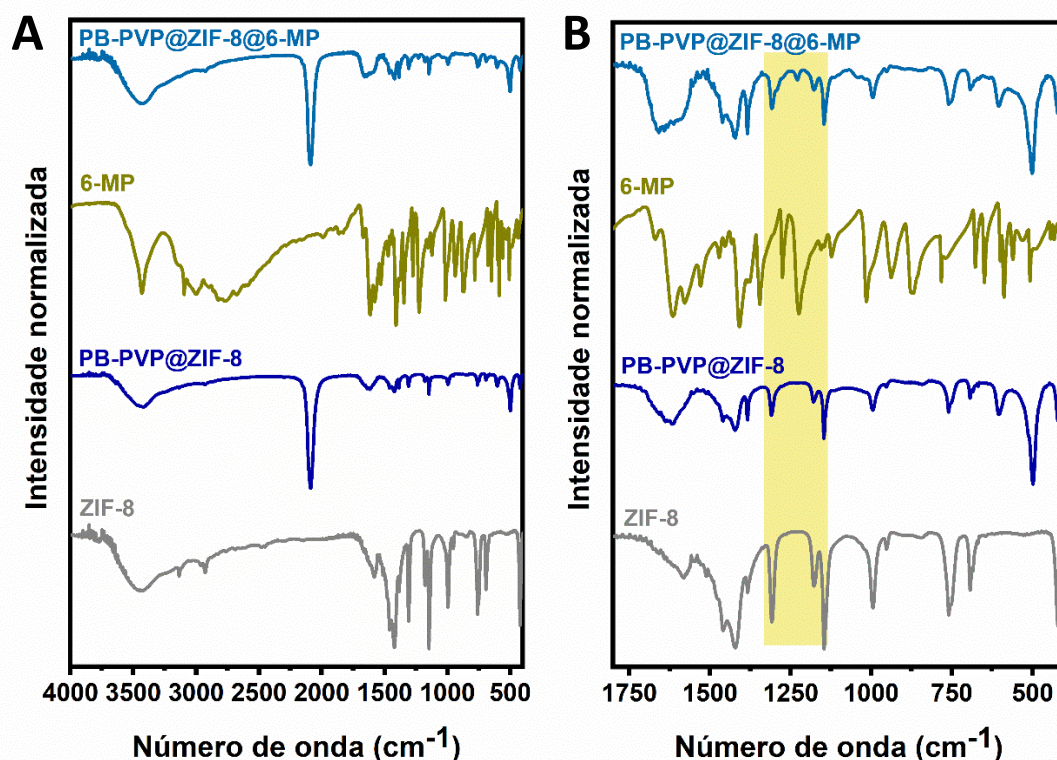


Figura 29. Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras **ZIF-8**, **6-MP** e os compósitos **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** nas regiões de (A) 4000 – 400 cm⁻¹, (B) 1800 – 400 cm⁻¹.

4.2.1.3 Difração de raios-X de pó

Os padrões de raios-X das amostras foram obtidos a partir da dispersão aquosa em substratos de vidro e os difratogramas são apresentados na **Figura 30**. Os materiais **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** mostram picos característicos dos componentes da azul da prússia (**PB**) e da MOF **ZIF-8**.



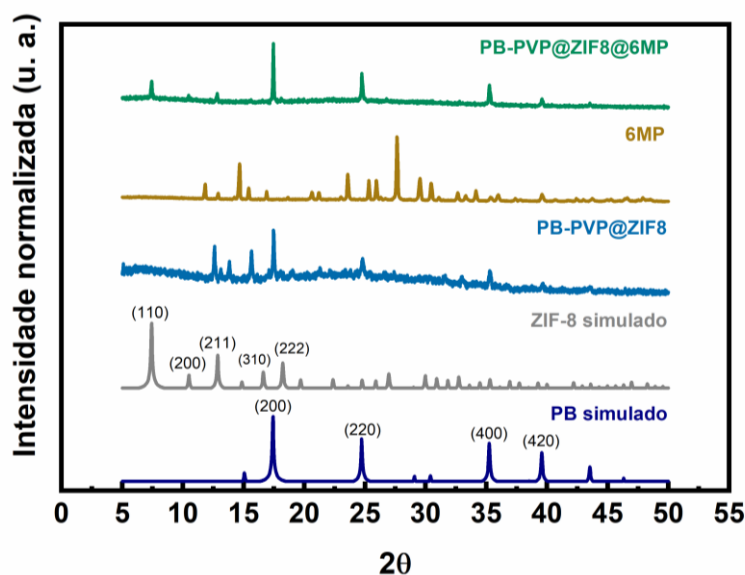


Figura 30. Difratomogramas de raios-X das amostras **PB-PVP@ZIF-8**, **6MP**, **PB-PVP@ZIF-8@6MP** e das nanopartículas **PB** (CCDC Number: 708099) e **ZIF-8** (CCDC Number: 864309) simulados.

Os padrões de raios-X dos compósitos exibem os planos hkl (200), (220), (400) e (420) do **PB simulado** (ver difratograma azul) e os planos hkl (110), (200) e (211) da MOF **ZIF-8** (ver difratograma cinza). Os resultados obtidos mostram que não há nenhuma evidência de mudança de fase das estruturas após a formação dos compósitos, **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

O difratograma da amostra **PB-PVP@ZIF-8@6MP** não exhibe as fases do fármaco **6MP**, revelando a integridade das fases da amostra e indicando que a interação fármaco-MOF não altera a estrutura.

4.2.1.4 Difração de elétrons em área selecionada

A análise de difração de elétrons em área selecionada foi utilizada para obter informações cristalográficas dos compósitos. As imagens SAED obtidas para os materiais **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** são mostradas na **Figura 31**.



Como pode ser visto nas imagens, para ambos os compósitos, foram observados mais de três anéis, exatamente como observado para as nanopartículas de azul da Prússia livres (ver **Figura 17**).

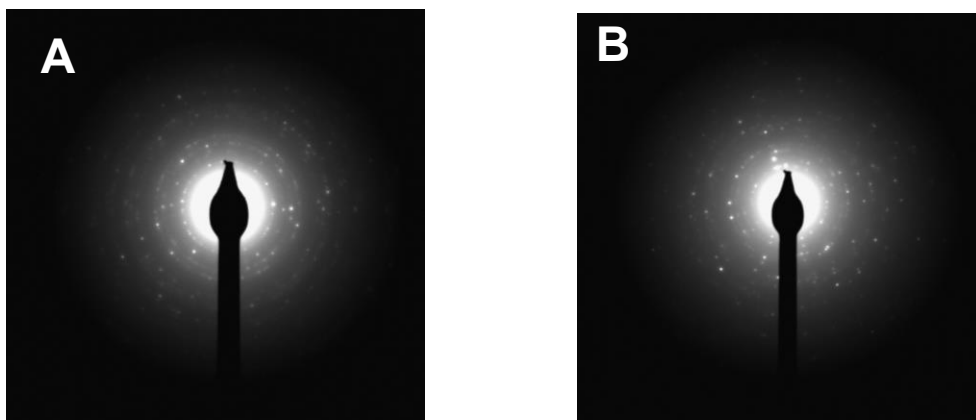


Figura 31. Microscopia de difração de elétrons de área selecionada (SAED) dos materiais **PB-PVP@ZIF-8** (A) e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (B).

Os dados de distância interplanares (experimentais e calculados) estão apresentados na **Tabela 9**. Os resultados são também condizentes com os planos *hkl* das partículas **PB-PVP** observados no difratograma de raios-X. No entanto, os planos característicos da **ZIF-8** não puderam ser detectados, muito provavelmente por essa fase estar em menor proporção, quando comparada às partículas **PB-PVP**.

Tabela 9. Distâncias interplanares do compósito **PB-PVP@ZIF-8** a partir de dados experimentais e dados do padrão de cristal simulado para as partículas **PB-PVP** e **ZIF-8**.

Planos <i>hkl</i>	d_{exp} (Å)	PB-PVP (Å) CCDC 708099	Erro(%)
220	3,550	3,598	1,33
400	2,527	2,544	0,66
420	2,237	2,275	1,67

Planos <i>hkl</i>	d_{exp} (Å)	ZIF-8 (Å) CCDC 864309	Erro(%)
211	-	6,879	-

Ajuste da escala 2535 pixels Å⁻¹ | 1089 pxl Å⁻¹ constante de câmera | distâncias medidas por imageJ **PB@ZIF-8**: 0,121 Å (306,74 pxl), 0,148 Å (375,18 pxl), 0,170 Å (430,95 pxl), 0,192 Å (486,72 pxl), 0,239 Å (605,86 pxl), 0,267 Å (676,84 pxl), 0,317 Å (803,60 pxl).



4.2.1.5 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução

Os resultados da microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** são mostrados na **Figura 32** e **Figura 33**, respectivamente. As imagens do compósito **PB-PVP@ZIF-8** mostram a formação de partículas cúbicas, de arestas bem definidas (ver **Figura 32A**) e distribuição não homogênea de tamanho (ver **Figura 32B**). Como mostra o histograma, o tamanho da maioria das partículas está compreendido entre 100-120 nm, entretanto o diâmetro médio de partícula é igual a $152,21 \pm 65,59$ nm. O histograma do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (ver **Figura 33B**) mostra partículas com tamanho na faixa de 99,5 – 120 nm e diâmetro médio de partícula igual a $137,48 \pm 48,99$ nm.

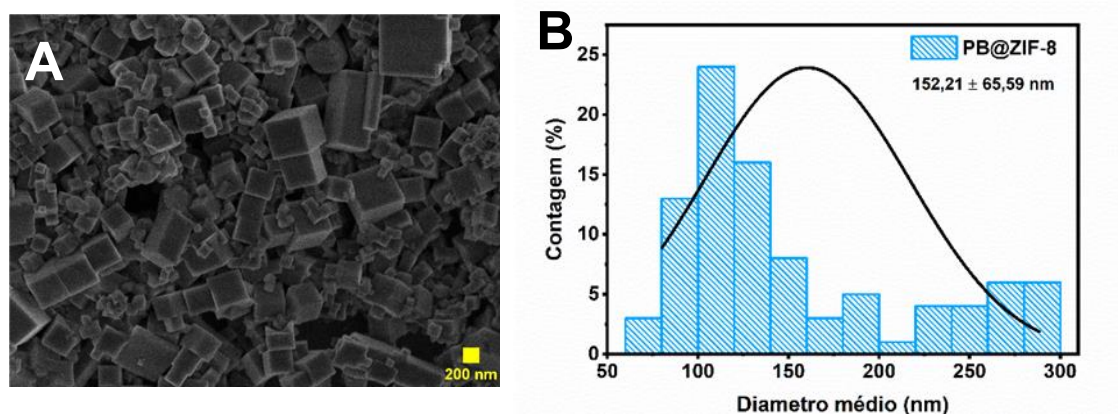


Figura 32. (A) Imagens MEV-FEG e (B) Histograma de tamanho das partículas **PB-PVP@ZIF-8**.

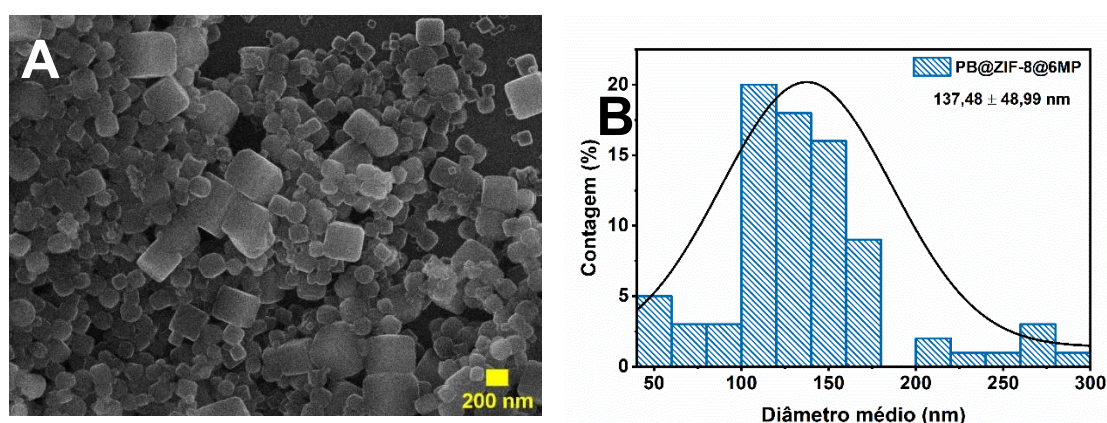


Figura 33. (A) Imagens MEV-FEG e (B) Histograma de tamanho das partículas do material **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.



O tamanho médio das partículas dos materiais **PB-PVP**, **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foram comparados e os resultados estão compilados na **Tabela 10**. Como esperado, os compósitos apresentam um aumento no tamanho de partícula de 37% (para **PB-PVP@ZIF-8**) e 23% (para **PB-PVP@ZIF-8@6MP**), sendo esse o primeiro indício de formação da casca na superestrutura *core-shell* desejada.

Tabela 10. Valores comparativos entre o tamanho médio (largura) obtido pela análise MEV das partículas **PB-PVP**.

PB-PVP	PB-PVP@ZIF-8	PB-PVP@ZIF-8@6MP
111,09 ± 41,69 nm	152,21 ± 65,59 nm	137,48 ± 48,99 nm

Em relação ao tamanho dos compósitos **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, há uma variação nos valores. No entanto, as microscopias revelam alteração na morfologia do material. O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** revela partículas com arestas menos definidas, resultando em partículas com extremidades arredondadas (ver **Figura 33A**). Ao contrário do compósito **PB-PVP@ZIF-8** a qual mostra partículas cúbicas “perfeitas” ao observar, principalmente, os vértices do material (ver **Figura 32A**).

4.2.1.6 Espectroscopia de energia dispersiva

A composição dos compósitos **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi estimada pela obtenção dos espectros EDS, que estão apresentados na **Figura 34**. A presença dos elementos Zn (zinco da **ZIF-8**) e S (enxofre do grupo tiol do **6MP**) evidencia a formação do compósito e incorporação do fármaco.



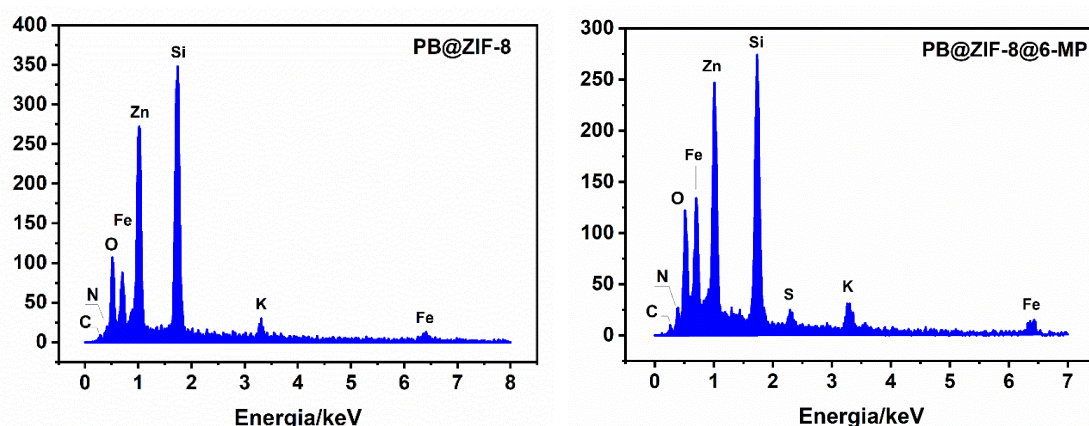


Figura 34. Espectros EDS dos materiais **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

4.2.1.7 Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução

A espessura da casca constituída pela MOF **ZIF-8** sobre a superfície da nanopartícula de azul da Prússia foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão e as imagens são mostradas na **Figura 35**. As imagens do compósito **PB-PVP@ZIF-8** revela um núcleo (**PB**) com 46,23 nm e núcleo-casca (**PB-PVP@ZIF-8**) com 72,40 nm de tamanho estimado. Sendo assim, a espessura estimada de **ZIF-8** na superfície da **PB** foi de cerca de 26 nm.

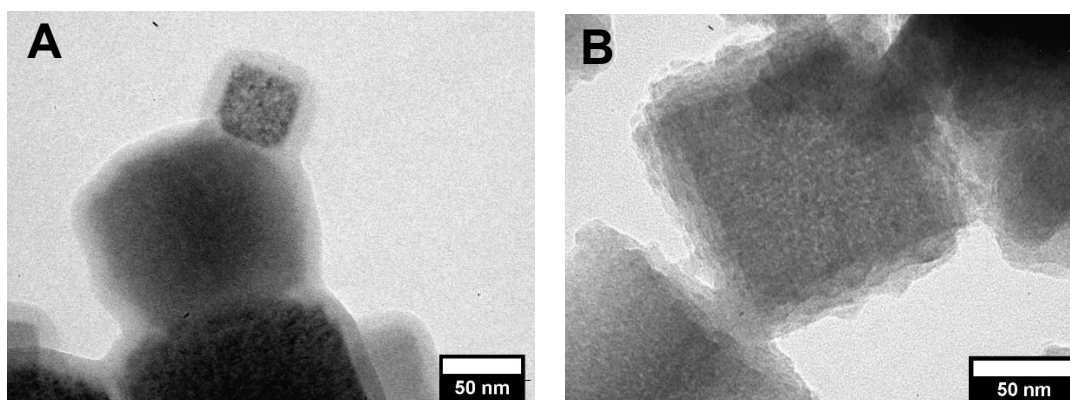


Figura 35. Imagens de microscopia de transmissão das partículas dos materiais (A) **PB-PVP@ZIF-8** e (B) **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

A microscopia da amostra após a incorporação do fármaco, **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, está ilustrada na **Figura 35B** e mostra uma partícula **PB** com 104,28 nm e o compósito núcleo-casca com 134,79 nm. Sendo estimado, para o **ZIF-**



8@6MP, uma espessura de cerca de 30 nm. Apesar de tamanho de partícula não-homogêneo, os valores são condizentes, uma vez que se trata da mesma metodologia sintética, corroborando a reprodutibilidade da rota sintética.

4.2.1.8 Determinação do Potencial Zeta

De modo a complementar os resultados da caracterização dos materiais, as amostras **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foram submetidas à análise de potencial zeta e os resultados são apresentados na

Figura 36. As medidas de potencial zeta sugerem a influência da carga da **ZIF-8** sobre a superfície das partículas de azul da Prússia.

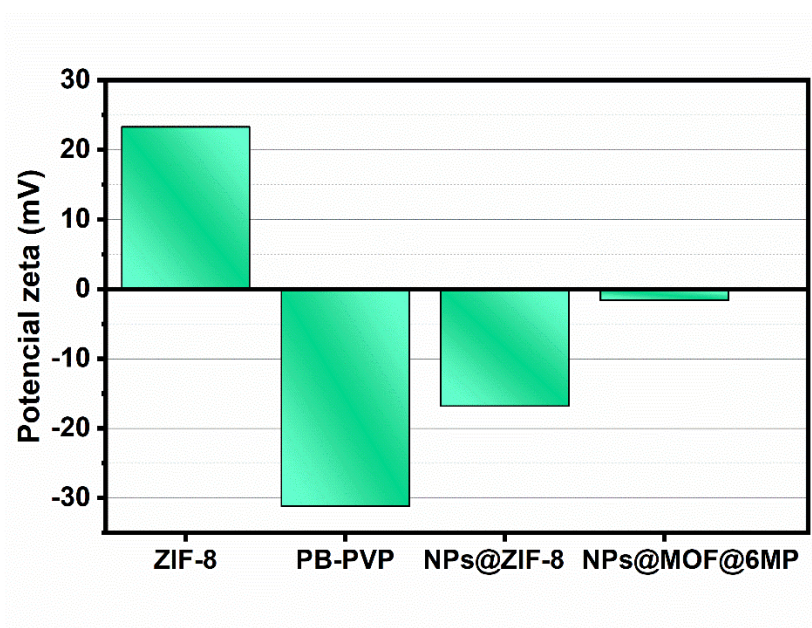


Figura 36. Potencial zeta das partículas **ZIF-8**, **PB-PVP** e das partículas dos compósitos **PB-PVP@ZIF-8** (representado pela abreviação **NPs@ZIF-8**) e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (representado pela abreviação **NPs@MOF@6MP**).

Como mostrado, as partículas da MOF **ZIF-8** apresentam potencial positivo de magnitude igual a $23,3 \pm 3,75$ mV.¹⁵² Como esperado, a automontagem da rede metalorgânica **ZIF-8** na superfície do azul da Prússia ($-31,2 \pm 8,48$ mV) desloca o potencial para magnitude negativa igual a $-16,8 \pm 5,60$ mV para o *core-shell* **PB-PVP@ZIF-8**. Como pode também ser observado, a formação *in situ* do compósito contendo o fármaco, **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, resulta em partículas com potencial negativo de $-1,62 \pm 5,02$ mV. Cabe ressaltar



que um potencial próximo a zero implica necessariamente em uma suspensão coloidal instável e, portanto, as partículas devem se agregar.

Importante destacar o processo de formação do material compósito. Neste caso, inicialmente, as partículas de azul da Prússia funcionalizadas **PB-PVP** interagem com o centro metálico Zn(II). Em seguida, os íons Zn(II) interagem com o ligante orgânico, formando a rede metalorgânica **ZIF-8** ao redor das partículas do material fotoativo. Sendo assim, as medidas de potencial zeta também corroboram com a presença de partículas da MOF estruturadas sobre a superfície das nanopartículas **PB-PVP**.

4.2.1.9 *Análise Térmica*

A composição dos materiais também foi confirmada pelos resultados de análise térmica (TA), que são mostrados nas **Figura 37** (compósito **PB-PVP@ZIF-8**) e **Figura 38** (compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP**). Com base na literatura¹¹⁵, foi assumido que as moléculas de água evaporam totalmente até 180 °C.

As amostras **PB-PVP** e **PB-PVP@ZIF-8** exibem uma perda inicial de massa de 9,35 e 6,02 % associada à liberação de moléculas de água, como mostrado na **Figura 37**. Acima de 180 °C, ocorre a decomposição térmica associada a perdas de massa de 33,59; 60,30 e 56,17% das amostras **PB-PVP**, **ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8**, respectivamente (ver também **Tabela 11**).



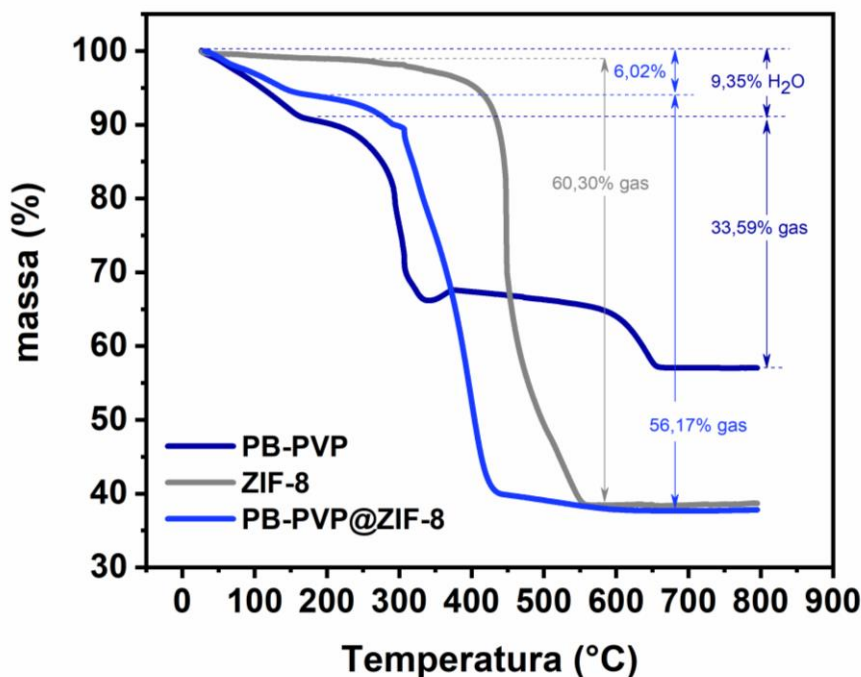


Figura 37. Curvas TGA dos compostos **PB-PVP** (linha azul escuro), MOF **ZIF-8** (linha cinza) e **PB-PVP@ZIF-8** (linha azul claro).

Tabela 11. Dados experimentais de perdas de massa das amostras **PB-PVP**, **ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8** com base nas análises térmicas.

Massa (%) Amostras	H ₂ O	Gás ¹	Resto ²	Gás / (gás + resto)	resto / (gás + resto)
PB-PVP	9,35	33,59	57,06	37,05	62,94
ZIF-8	0	61,30	38,7	61,30	38,7
PB-PVP@ZIF-8	6,02	56,17	37,81	59,76	40,23

¹ Gás liberado com a decomposição do material

² Resto = resíduo gerado da decomposição como óxidos.

De acordo com a análise térmica, os resultados associados aos eventos de decomposição foram estruturados em um sistema de equações. Para isso, foi assumido que a massa do material **PB-PVP** é x e o do **ZIF-8** é y , como também, **PB-PVP@ZIF-8** é o mesmo que $x + y = 100$ g.

$$0,3705 x + 0,6130 y = 59,76 \text{ g} \dots\dots\dots (1)$$

$$0,6294 x + 0,3870 y = 40,23 \text{ g} \dots\dots\dots (2)$$



Isolando x na equação 2 e substituindo na equação 1, obtém-se $x = 6,32$ g e $y = 93,66$ g. Portanto, a razão de massa de **PB-PVP/ZIF-8** foi estimada em 6,32/93,66. Ou seja, 93,66% de ZIF-8 presente no compósito **PB-PVP@ZIF-8**.

A decomposição térmica do compósito com o fármaco encapsulado *in-situ* **PB-PVP@ZIF-8@6MP** também foi investigada e as curvas termogravimétricas estão apresentadas na **Figura 37**. As perdas de massa são descritas na **Tabela 12**.

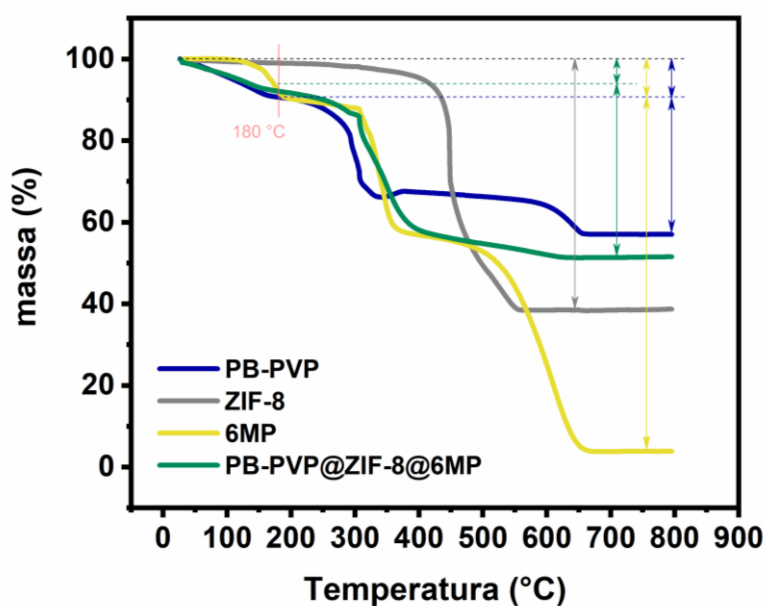


Figura 38. Curvas TGA das amostras **PB-PVP** (linha azul), **ZIF-8** (linha cinza), do fármaco **6-MP** (linha amarela) e do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (linha verde).

Tabela 12. Dados experimentais de perdas de massa das amostras **PB-PVP**, **ZIF-8**, **6MP** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** com base nas curvas TGA.

Amostras \ Massa (%)	H ₂ O	Gás ¹	Resto ²	Gás / (gás + resto)	resto / (gás + resto)
PB-PVP	9,35	33,59	57,06	37,05	62,94
ZIF-8	0	61,30	38,7	61,30	38,7
6MP	9,17	86,95	3,87	95,73	4,26
PB-PVP@ZIF-8@6MP	7,81	40,64	51,55	44,08	55,91

¹ Gás liberado com a decomposição do material

² Resto = resíduo gerado da decomposição como óxidos.



Para estimar o conteúdo de fármaco presente no compósito, observou-se a relação entre **PB-PVP** e **ZIF-8**, como também, **PB-PVP** e **6MP**. Foi assumido que:

- (i) a massa de **PB-PVP** é x e **ZIF-8** é y , como também, **PB-PVP@ZIF-8@6MP** é o mesmo que $x + y = 100$ g.
- (ii) a massa de **PB-PVP** é z e **6MP** é w , como também, **PB-PVP@ZIF-8@6MP** é o mesmo que $z + w = 100$ g.

Sistema (i):

$$0,3705 x + 0,6130 y = 44,08 \text{ g} \dots\dots\dots (3)$$

$$0,6294 x + 0,3870 y = 55,91 \text{ g} \dots\dots\dots (4)$$

A partir desse sistema, foi estimada, para esse compósito, uma razão de massa de **PB-PVP/ZIF-8** igual a 71,00/28,99.

Sistema (ii):

$$0,3705 x + 0,9573 y = 44,08 \text{ g} \dots\dots\dots (5)$$

$$0,6294 x + 0,0426 y = 55,91 \text{ g} \dots\dots\dots (6)$$

A partir da equação 5 e 6, foi estimada uma razão de massa de **PB-PVP/6MP** igual a 88,02/11,98.

Como esperado, a relação mássica mostra a influência do fármaco na formação do compósito. Os resultados foram normalizados em relação ao **PB-PVP**, isto é, para cada 1 g de **PB-PVP** têm-se 0,4083 g de **ZIF-8** e 0,136 g de **6MP**. Logo, a razão mássica (g) do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi estimado em 1:0,4083:0,136 para **PB-PVP:ZIF8:6MP**, respetivamente.

Na teoria, a razão de peso (g) entre **PB-PVP** e **6MP** foi 0,09:0,0109; isto é, o equivalente a 1:0,121. As razões teóricas e experimentais apresentam um erro de -11,03%.



4.2.1.10 Espalhamento dinâmico de Luz (DLS)

O tamanho das partículas foi estimado através de análise DLS e a distribuição de tamanho é mostrada na **Figura 39**, assim como os dados são apresentados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Valores de raio hidrodinâmico das partículas **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

	PB-PVP	PB-PVP@ZIF-8	PB-PVP@ZIF-8@6MP
Diâmetro hidrodinâmico (PDI)	95,88 ± 28,92 nm (0,133)	269,3 ± 55,2 nm (0,377)	271,3 ± 88,55 nm (0,168)

As medições foram realizadas para confirmar os raios hidrodinâmicos dos compósitos obtidos, isto é, **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** em solução aquosa. O índice de polidispersão da amostra **PB-PVP** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, foi baixo (< 0,3) para ambas as dispersões obtidas, indicando a formação de sistemas monodispersos. Apesar do baixo potencial zeta da partícula **PB-PVP@ZIF-8@6MP** que caracteriza um sistema instável, a presença da molécula apolar 6-mercaptopurina (6-MP) estabiliza as partículas em dispersão. Para a amostra **PB-PVP@ZIF-8** o valor de PDI alto (> 0,3) indica a formação de sistemas polidispersos e evidencia a agregação das partículas no material.



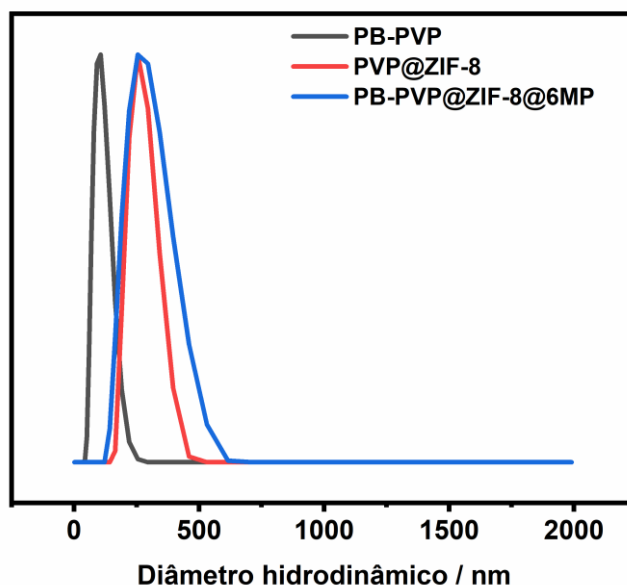


Figura 39. Diâmetros hidrodinâmicos médios das partículas de **PB-PVP**, **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** em dispersão aquosa.

4.2.1.11 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível e infravermelho próximo (UV-Vis-NIR)

Os espectros no UV-vis-NIR foram obtidos e estão ilustrados na **Figura 40**, onde podem ser observadas diferenças nas transições eletrônicas entre os componentes (**PB-PVP**, **ZIF-8** e **6MP**) e os materiais compósitos (**PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**). Como pode ser observado, o espectro eletrônico das nanopartículas **PB-PVP** apresenta três bandas características em (i) 205 nm associado as transições $n \rightarrow \pi^*$ do grupo ciano, (ii) 257 nm associados à transferência de carga na ponte Fe(II)-CN-Fe(III) e (iii) 689 nm associados à transição eletrônica Fe(II) e Fe(III). Já o espectro registrado para a MOF **ZIF-8** (sólido branco) apresenta uma única banda centrada em 202 nm, atribuída à transição $n \rightarrow \sigma^*$ do grupo imidazol do ligante orgânico formador da rede metalorgânica¹⁵³ e o fármaco **6MP** em 194 nm associado as transições $n \rightarrow \sigma^*$ do grupo R-SH, 220 nm associado as transições $n \rightarrow \sigma^*$ do grupo R=S conjugado resultado de formas tautoméricas¹⁵⁴ e 320 nm associado as transições $n \rightarrow \pi^*$ do grupo C=N.¹⁵⁵



Como esperado, o espectro de absorção eletrônica do compósito **PB-PVP@ZIF8** exibe as bandas características de seus componentes, a saber, a MOF **ZIF-8** e as nanopartículas de azul da Prússia **PB-PVP** em 198 e 739 nm, respectivamente. Convém mencionar que em comparação com as nanopartículas livres de azul da Prússia funcionalizada, a banda de absorção no Vis-NIR observada no espectro da amostra **PB-PVP@ZIF8** sofre um deslocamento batocrômico (deslocamento para o vermelho), evidenciando a influência da presença da MOF **ZIF-8** na superfície da partícula de azul da Prússia, modificando o processo de transferência eletrônica do cromóforo principal **PB-PVP**.

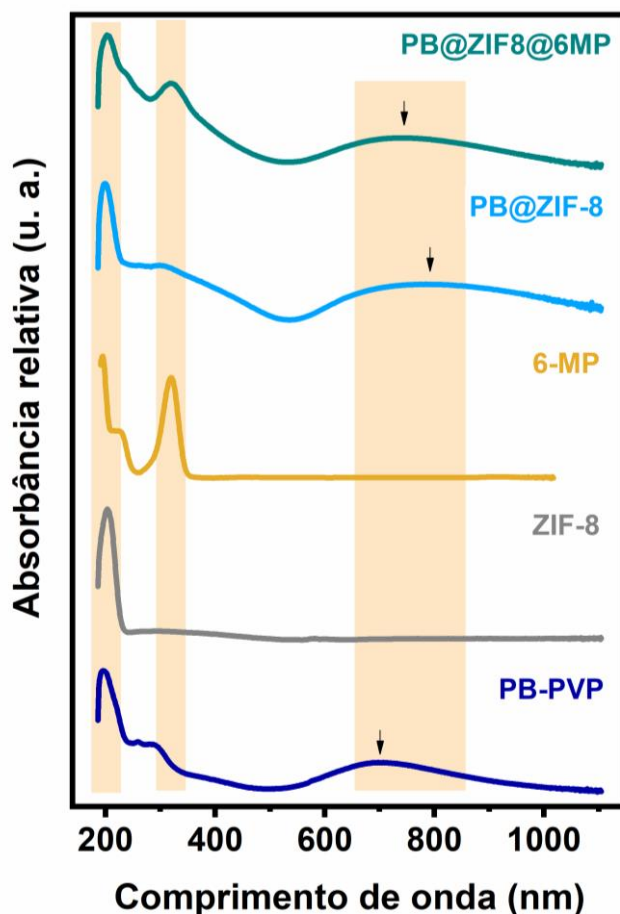


Figura 40. Espectros UV-Vis-NIR das amostras **PB-PVP**, **ZIF-8**, **6-MP**, **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.



Nesses experimentos, destaque deve ser dada à curva ilustrada em verde escuro na **Figura 40**, que se refere ao espectro eletrônico do *core-shell* contendo o fármaco 6-mercaptopurina (amostra **PB-PVP@ZIF8@6MP**). Isso porque pode ser claramente evidenciada a formação do material desejado, uma vez que bandas associadas aos três distintos componentes, **ZIF-8**, **6-MP** e **PB-PVP**, podem ser visualizadas em 202, 320 e 739 nm, respectivamente.

Cabe destacar que as nanopartículas de azul da Prússia, devido à forte absorbância óptica na região do infravermelho próximo, são utilizadas como agente fotossensibilizador. Além da sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixo custo de produção e síntese simples, o que as tornam promissores agentes fototérmicos.¹⁵⁶ O estudo fototérmico dos sistemas baseados nesse material fotoativo estão descritos a seguir, no item 4.2.1.14 dessa Tese.

4.2.1.12 Encapsulação do fármaco 6-mercaptopurina (6MP) na matriz **PB-PVP@ZIF8**

Como será apresentado a seguir, os resultados desta parte do trabalho demonstraram que a incorporação do fármaco **6MP** na matriz foi muito bem-sucedida. Para a quantificação do fármaco no sistema **PB-PVP@ZIF8@6MP**, o sobrenadante do meio reacional foi analisado por espectroscopia de absorção eletrônica no UV-Vis. A curva de calibração de **6MP** em solução aquosa foi plotada com medidas de absorbância realizadas em $\lambda = 323$ nm (ver **Figura 41**). Com base na equação linear da curva de calibração, a concentração de fármaco **6MP** no sobrenadante foi igual a $0,003095 \text{ mg mL}^{-1}$, e de acordo com a (Equação 1, a eficiência de encapsulação foi de 98,02%.



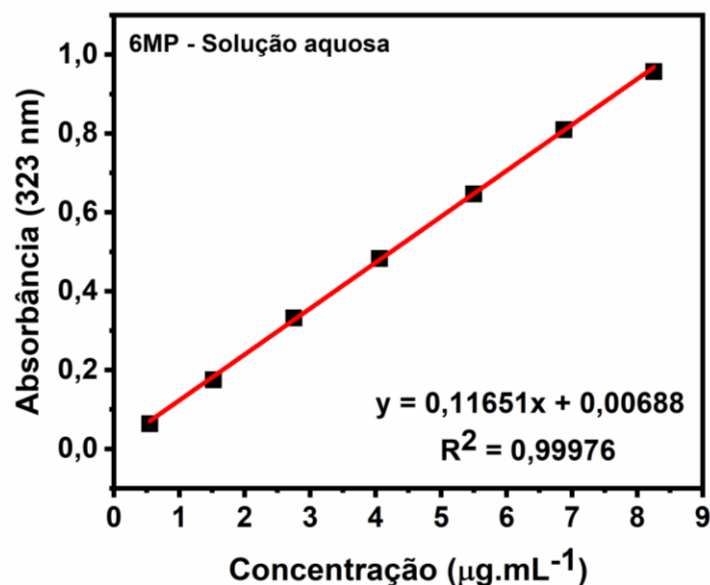


Figura 41. Curva de calibração da 6-mercaptopurina (**6MP**) em solução aquosa ($\lambda = 323 \text{ nm}$).

A elevada capacidade de incorporação do fármaco pode estar relacionada à formação *in situ* da MOF **ZIF-8** sobre as nanopartículas **PB-PVP**. A ligação coordenada entre os grupos nitrogenados do fármaco e os íons Zn(II) da rede metalorgânica **ZIF-8** (ver **Figura 42**) deve governar esse fenômeno.

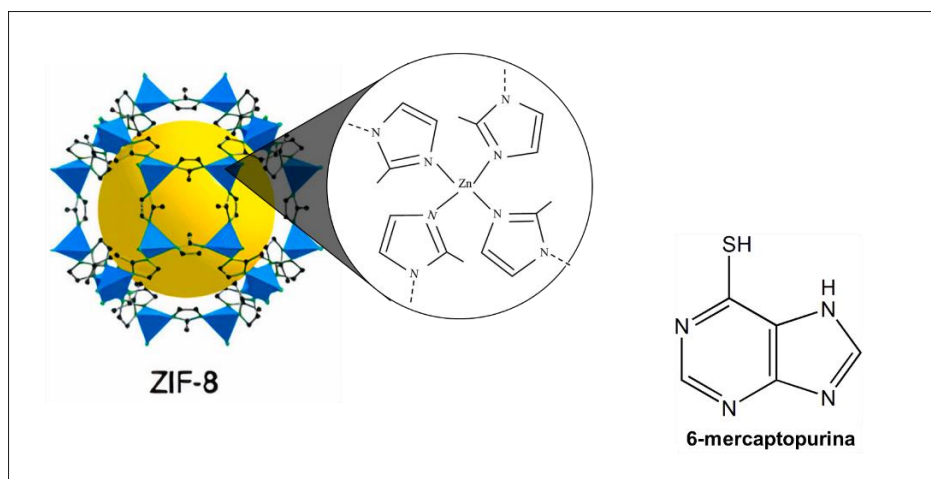


Figura 42. Representação esquemática das estruturas da rede metalorgânica ZIF-8 e do 6-mercaptopurina (6-MP).



Um segundo tipo de associação pode estar relacionado às interações do tipo π - π *stacking* (ver **Figura 42**) entre o grupo aromático do fármaco **6MP** e as ligações $\text{-C}\equiv\text{N-}$, características da parede dos poros das nanopartículas **PB-PVP** (ver **Esquema 2 – Etapa II**). Não pode ser descartada também o aprisionamento do fármaco nos poros da matriz, provenientes da automontagem, posto a elevada área específica da MOF **ZIF-8**, cerca de $1700 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$.¹⁵⁷

4.2.1.13 Ensaio de liberação do fármaco 6-mercaptopurina da matriz PB-PVP@ZIF-8@6MP

Antes da realização do estudo de liberação da 6-mercaptopurina no material **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, foram construídas duas curvas de calibração para o fármaco **6MP** em tampão fosfato-salino (PBS) usando dois diferentes valores de pH (7,4 e 5,0). As curvas estão ilustradas na

Figura 43.

Em seguida, o comportamento de liberação da **6MP** encapsulada nos poros da **ZIF-8** no sistema **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi estudado.

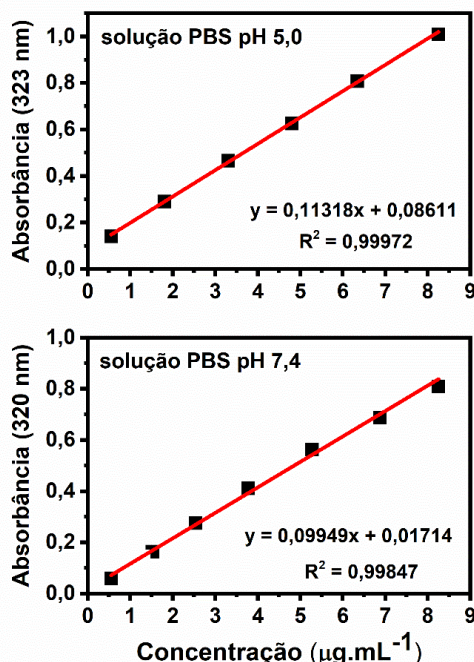


Figura 43. Curvas de calibração da 6-mercaptopurina (6MP) em solução tampão fosfato, em dois diferentes valores de pH.



Os perfis de liberação cumulativa sob dois valores de pH (7,4 e 5,0) e temperatura de 37 °C são mostrados na **Figura 44**. Os sobrenadantes foram coletados em diferentes intervalos de tempo e a concentração cumulativa do fármaco em cada intervalo, foi determinada com base na curva de calibração em solução tampão PBS usando o pH correspondente.

Os resultados mostram que o compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** exibe propriedade de liberação de **6MP** responsiva ao pH. A menor quantidade de liberação do fármaco foi observada em meio básico (pH 7,4) e um aumento da porcentagem de liberação de **6MP** em meio ácido (pH 5,0). Em razão de que o ambiente do tecido tumoral é moderadamente ácido em comparação com células saudáveis, logo um sistema de entrega de fármaco responsivo ao pH pode reduzir os efeitos indesejáveis relacionados ao transporte de fármacos na circulação sanguínea e melhorar a entrega de fármacos ao tecido tumoral.¹⁵⁸ Os resultados obtidos mostram uma liberação pequena (14% no máximo) o que pode indicar uma forte interação do fármaco dentro e/ou na superfície da MOF.

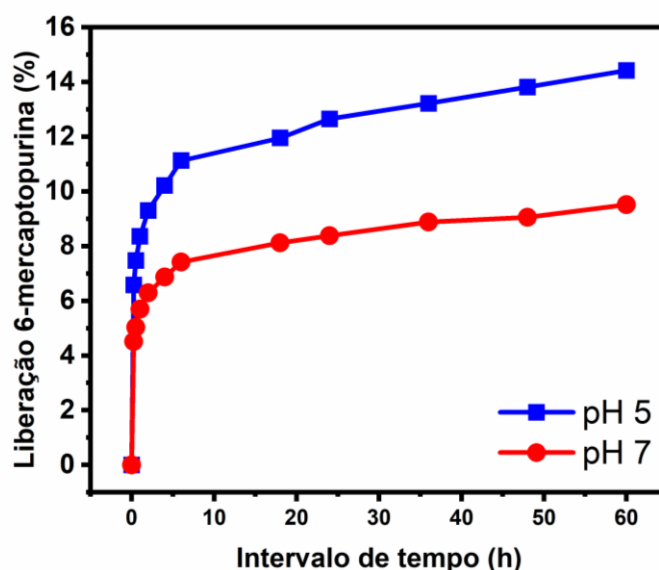


Figura 44. Curvas de liberação do fármaco **6MP** a partir da matriz **PB-PVP@ZIF-8@6MP** em diferentes valores de pH (5,0 e 7,0) e temperatura de 37 °C.



4.2.1.14 Efeito fototérmico dos materiais PB-PVP@ZIF8 e PB-PVP@ZIF-8@6MP

A habilidade de conversão fototérmica das nanopartículas de azul da Prússia (PB-PVP) e dos compósitos antes (PB-PVP@ZIF8) e após a incorporação do fármaco (PB-PVP@ZIF-8@6MP) foi investigada pela capacidade de absorção na região do infravermelho próximo (ver **Figura 45**). O crescimento da MOF ZIF-8 na superfície das nanopartículas PB-PVP amplia a região de absorção, como pode ser observado pelo alargamento da banda espectral, acompanhado por um deslocamento do λ_{max} de 702 nm (PB-PVP) para 785 nm (PB-PVP@ZIF-8) e 739 nm (PB-PVP@ZIF8@6MP) em consequência da influência da ZIF-8 e 6MP na superfície da partícula de azul da Prússia, modificando o processo de transferência eletrônica do cromóforo principal PB-PVP.

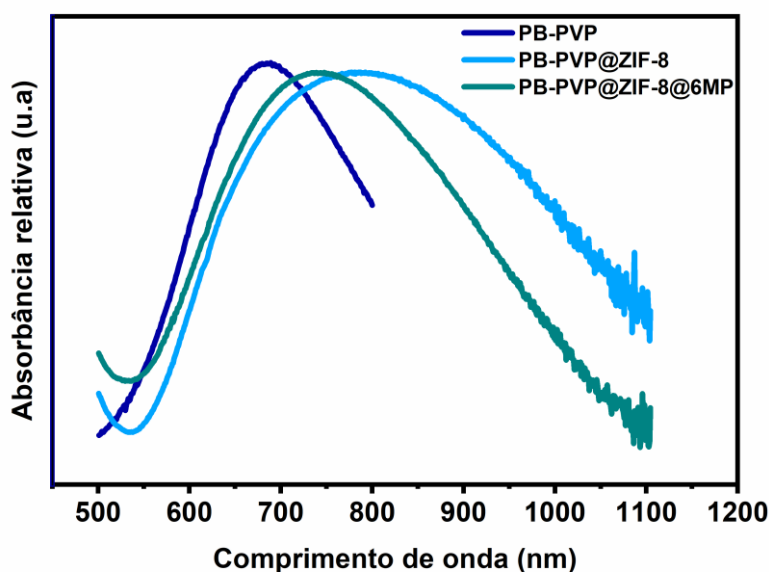


Figura 45. Espectros Vis-NIR das amostras PB-PVP@ZIF8 e PB-PVP@ZIF8@6MP.

A capacidade de elevação da temperatura com excitação no infravermelho do *core-shell* carregado com o fármaco (PB-PVP@ZIF-8@6MP) foi investigada e o resultado está ilustrado na **Figura 46**. As dispersões aquosas,



de concentração igual a $0,20 \text{ mg mL}^{-1}$, foram submetidas por 15 minutos à radiação de um laser de 808 nm de comprimento de onda, usando três potências diferentes ($1,0$, $1,5$ e $2,0 \text{ W cm}^{-2}$).

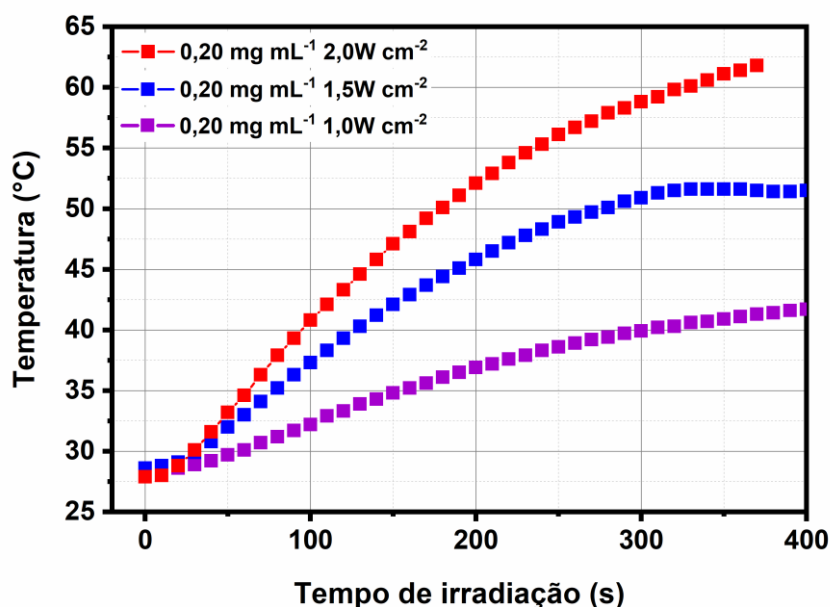


Figura 46. Efeito fototérmico do composto **PB-PVP@ZIF-8@6MP** sob irradiação laser (808 nm) de três diferentes potências.

A irradiação em baixa potência ($1,0 \text{ W cm}^{-2}$) não eleva a temperatura à faixa necessária para a ação terapêutica ($\sim 45^\circ\text{C}$). No entanto, esse efeito pode ser observado quando potências mais altas são utilizadas ($1,5$ e $2,0 \text{ W cm}^{-2}$) após somente cerca de 120 e 180 segundos de irradiação, respectivamente. Sob potência moderada ($1,5 \text{ W cm}^{-2}$), a dispersão aquosa do material **PB-PVP@ZIF-8@6MP** atinge 40°C a partir de 130 s (~ 2 min) e permanece na faixa de $40 - 45^\circ\text{C}$ por 1 minuto. Em potência elevada ($2,0 \text{ W cm}^{-2}$), a dispersão atinge a temperatura de 40°C com 100 s ($\sim 1,5$ min) e permanece na faixa de $40 - 45^\circ\text{C}$ por 10 s e na faixa de $40 - 50^\circ\text{C}$ por 20 s. Entretanto, esse aumento rápido de temperatura gera um aumento do diâmetro da zona irradiada, elevando a temperatura da região periférica, ou seja, das células saudáveis conforme representação esquemática do gradiente de temperatura (ver **Figura 47**).^{102 111}



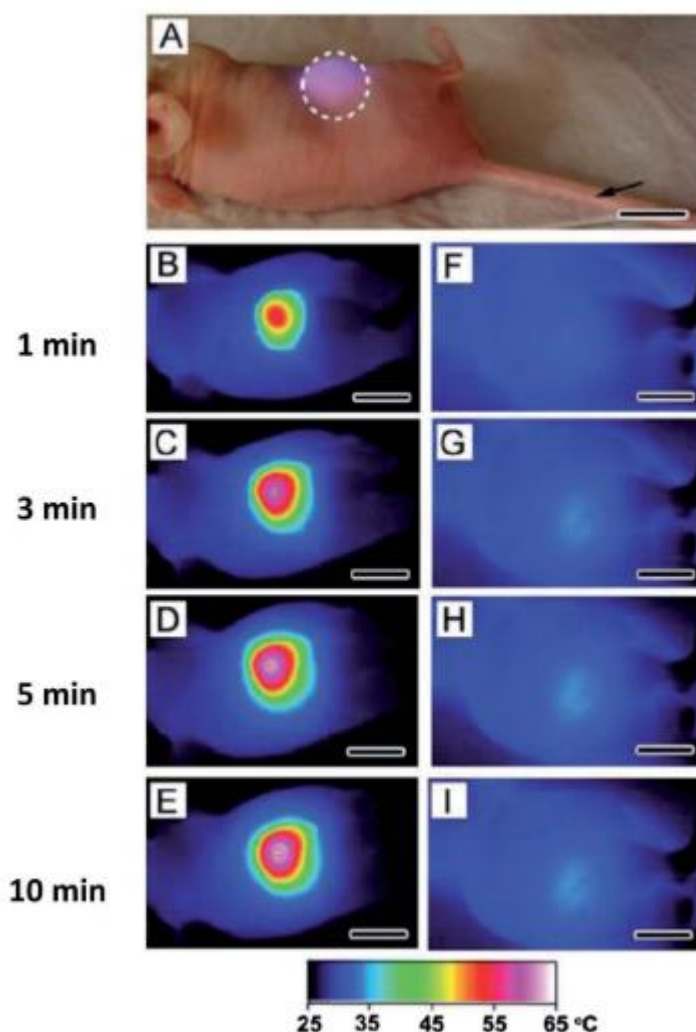


Figura 47. Imagens termográficas de camundongos portadores de tumor injetado com (B) - (E) nanopartículas e (F) - (I) solução salina em diferentes tempos de irradiação. Fonte: Reproduzida da referência [111].

O efeito fototérmico da partícula de partida (**PB-PVP**) e do material compósito com o fármaco ocluído (**PB-PVP@ZIF-8@6MP**) é comparado na **Figura 48**. Como pode ser observado, o comportamento de transdução fototérmica da partícula de partida se mantêm após a formação do compósito. A concentração de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ na dispersão do compósito permite uma elevação de temperatura lenta (faixa de $40 - 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$) sob potência $1,5 \text{ W}$, região suficiente para ocasionar mecanismos citotóxicos em uma célula tumoral.¹¹¹ Como pode ser observado, a temperatura aumenta com o tempo de irradiação, atingindo uma temperatura máxima próxima a 52°C por 10 min (600 seg) de irradiação.



Temperaturas na faixa de 41 – 48 °C levam a um desdobramento e agregação de proteínas e danos irreversíveis para exposições longas (> 60 min). A nanoplataforma proposta neste trabalho demonstra que, pensando no caso de uma localização completa do **PB-PVP@ZIF-8@6MP** dentro de um tumor, o calor gerado sob a irradiação do laser de comprimento 808 nm pode desencadear mecanismos citotóxicos na célula tumoral. Cabe mencionar, que o *range* de 3 – 6 min do tempo de irradiação é a faixa ótima para minimizar os danos colaterais durante tratamentos fototérmicos fazendo uso da nanoplataforma. Ainda assim, o fármaco ocluído na estrutura pode ser liberado pela ação da irradiação do laser gerando uma ação teranóstica: hipertemia e quimioterapia. Resultados demonstram uma nanoplataforma inédita com eficiência de aplicação a partir de ajuste de tempo de irradiação e potência do laser, da concentração da dispersão do compósito e taxa de liberação do fármaco.

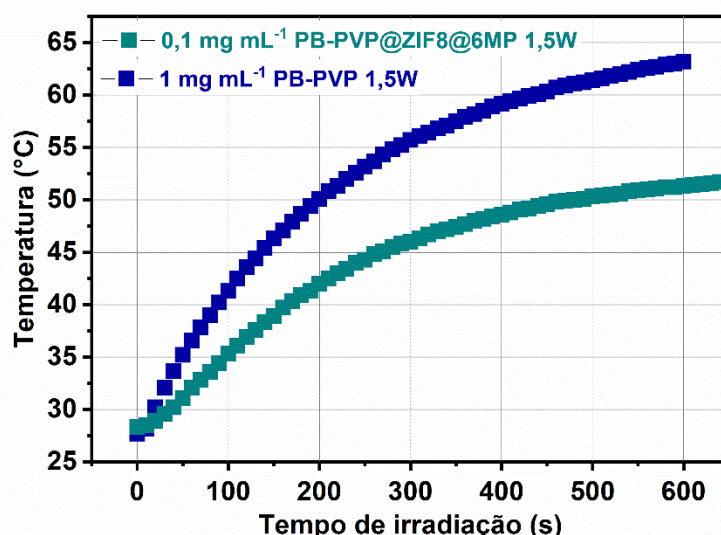


Figura 48. Efeito fototérmico da partícula **PB-PVP** (1 mg mL⁻¹) e do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (0,1 mg mL⁻¹).

4.2.1.15 Incorporação do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** em filmes biopoliméricos de cebola (FBC)

O processo de preparação da polpa de cebola (ver **Esquema 3**) exige uma remoção completa da quercetina, através de inúmeras lavagens com água



destilada. Ao final deste processo, a concentração da polpa foi estimada pelo percentual de peso seco a partir da **Equação 2**, isto é, a massa de polpa de cebola em 100,0 g de água destilada.

$$PS = \frac{(S - E)}{(U - E)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

onde,

PS = peso seco da amostra (%)

S = peso da amostra seca + *eppendorf* (g)

U = peso da amostra úmida + *eppendorf* (g)

E = peso do *eppendorf* (g)

A polpa de cebola lavada foi suspensa em água destilada nas concentrações de 6,4 e 2,6% (mm), isto é, 6,4 e 2,6 g de polpa de cebola seca em 100,0 g de água destilada. Em seguida, com o auxílio de uma bagueta, a dispersão aquosa dos compósitos **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foram misturados à polpa úmida, vertidos em uma placa de polipropileno e mantidos sob capela de exaustão até secagem total do substrato. O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi incorporado a polpa de cebola pelo método *solvent casting*.¹⁵⁹ Os valores de massa das amostras e massa seca são descritos na **Tabela 14**.

Tabela 14. Dados referentes ao cálculo de peso seco da polpa de cebola.

Massa do <i>eppendorf</i> (g)	Massa da amostra úmida + <i>eppendorf</i> (g)	Massa da amostra seca + <i>eppendorf</i> (g)	Massa Seca (%)
0,8656	1,2109	0,8879	6,4
0,8792	1,0768	0,8844	2,6

Inicialmente e como prova de conceito, foi investigada a polpa de cebola na concentração de 4,4%. Para isso, foi utilizada uma balança de massa seca a qual estima automaticamente a massa seca através da massa úmida da amostra. Em seguida, 23 g de polpa úmida (equivalente a 1,012 g de polpa seca)

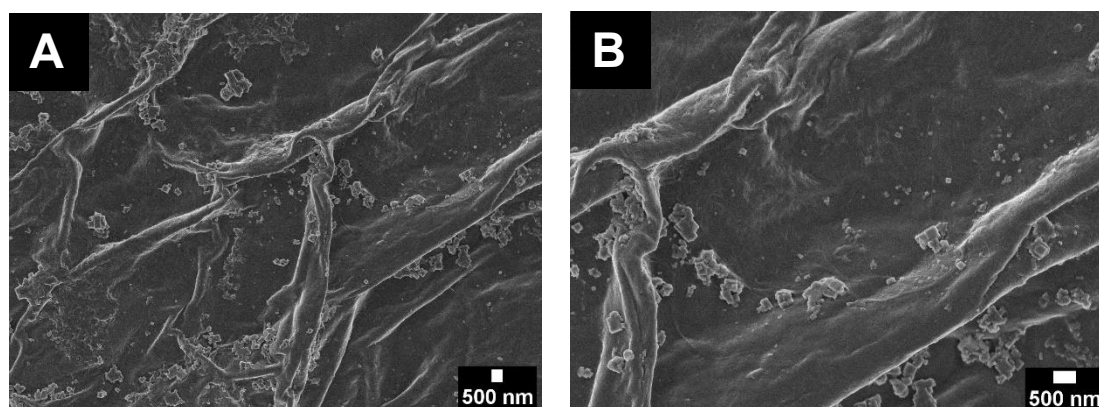


foi misturado a 2,5 mL de dispersão aquosa de **PB@ZIF8@6MP** 1,28 mg mL⁻¹ (equivalente a 0,0032 g de **PB@ZIF-8@6MP**). Como resultado, foi incorporado 0,316 % de partículas **PB@ZIF-8@6MP** no biofilme de cebola (**FBC**). O filme compósito denominado **PB@ZIF-8@6MP@FBC-4,4%** é mostrado na **Figura 49B**.



Figura 49. Imagens dos filmes obtidos. (A) **FBC-6,4%**, (B) **PB@ZIF-8@6MP@FBC-4,4%** e (C) **FBC-2,6%**.

A microscopia eletrônica desse biofilme contendo o compósito é mostrada na **Figura 50**. Como mostrado, tanto a presença das fibras da cebola como as partículas associadas ao material compósito podem ser identificadas na imagem. É possível observar que o biopolímero a base de cebola (**FBC**) está presente em uma maior proporção em relação ao compósito nanoestruturado **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.



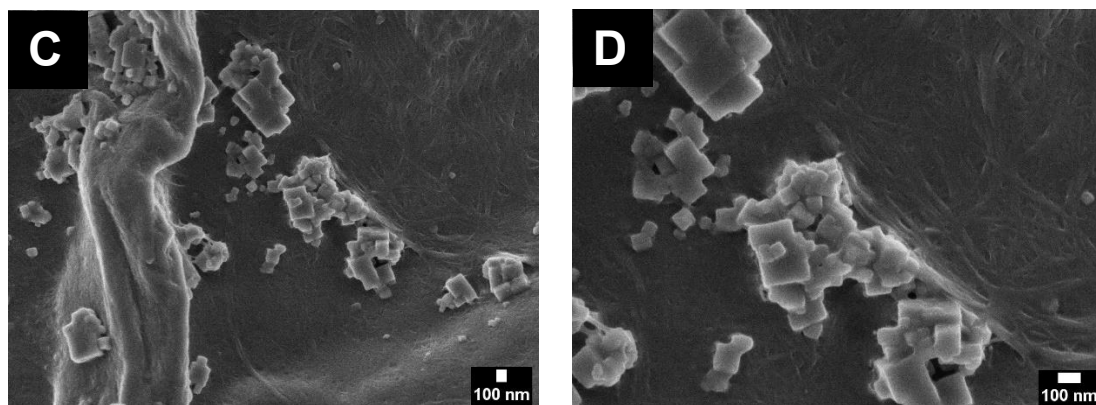


Figura 50. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do material **PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC**. (A) 5000x (B) 10.000x (C) 25.000x (D) 50.000x

Como ilustrado, as partículas do compósito nanoestruturado se distribuem de forma aleatória sobre as fibras da cebola. Importante destacar que a concentração das partículas é de fundamental interesse para a propriedade do efeito fototérmico desejada. No entanto, a área do feixe do laser 808 nm é de 1 cm², isto é, 1×10^{14} nm². Sendo assim, o laser é capaz de abranger as regiões contendo as partículas tanto em ponto centrado (amostra perto do laser) como em holofote (amostra distante do laser), ilustrado na **Figura 51**.

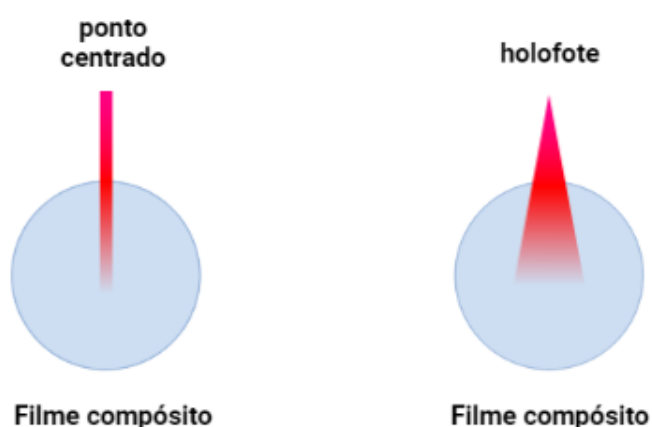


Figura 51. Representação do feixe do laser sob os filmes compósitos, a partir de uma perspectiva de vista superior. **Fonte:** Autora.

A composição do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC-4,4%** foi estimada pela obtenção do espectro de EDS, que se encontra na



Figura 52. A presença dos elementos zinco (da **ZIF-8**), enxofre (do grupo tiol do fármaco **6-MP**), ferro (da amostra de azul da Prússia **PB-PVP**), bem como cálcio e fósforo (do filme de cebola) fornece evidências da formação do compósito a partir da incorporação das partículas no biofilme de cebola. De acordo com a comparação da composição química de três diferentes tipos de cultivos da cebola (*Allium cepa* L.) realizado pelo Jurgiel-Malecka e colaboradores, o filme de cebola contém os elementos Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Enxofre (S) como macronutrientes e os elementos Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Mangânes (Mn), Zinco (Zn) e Cobre (Cu) como micronutrientes.¹⁶⁰

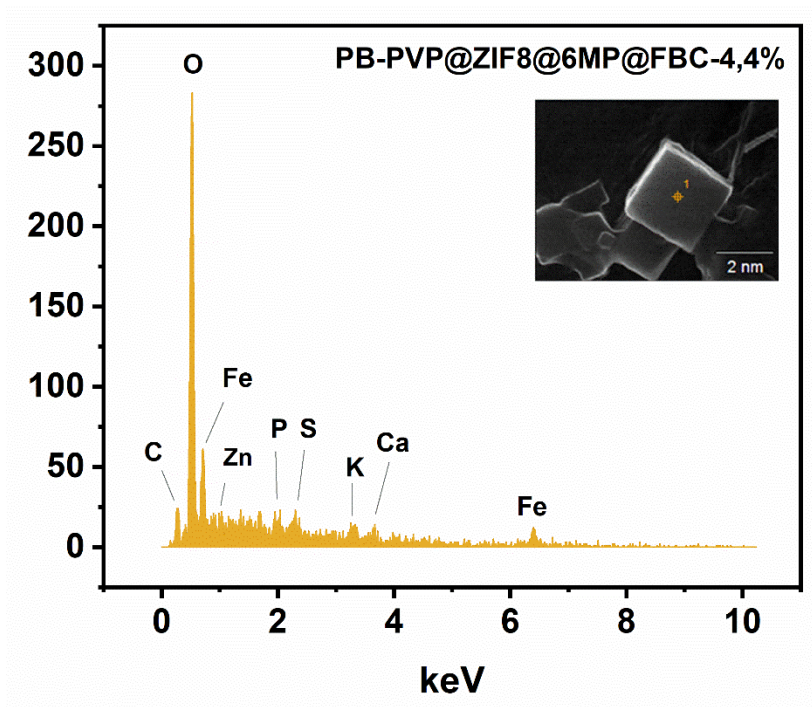


Figura 52. Espectro EDS das partículas do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC-4,4%**. Inset: microscopia eletrônica de varredura da partícula utilizada na análise pontual via EDS.

As fases do filme compósito foram investigadas pela difração de raios X (ver **Figura 53**). Como esperado, as fases das partículas **PB-PVP** estão presentes no padrão do filme compósito (**PB@ZIF-8@6MP@FBC**) evidenciando que os padrões de simetria (simetria da célula unitária, parâmetro de rede) e identificação de fases estão conformes aos componentes individuais. A



intensidade dos picos de difração revela uma diferença na proporção das fases dos componentes individuais, condizente com as imagens de microscopia (ver **Figura 50**). Os padrões de raios X corroboram com os resultados da microscopia eletrônica, discutidos acima.

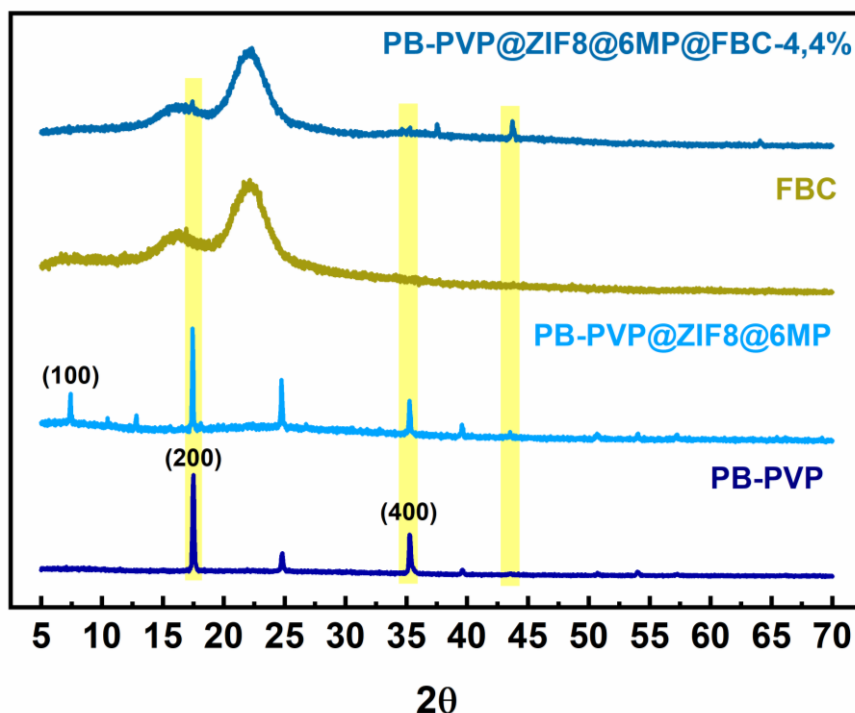


Figura 53. Padrões de raios-X da plataforma nanoestruturada **PB@ZIF-8@6MP@FBC-4,4%** e seus componentes.

A composição também foi confirmada pelos resultados da análise termogravimétrica (TGA) mostrados na **Figura 54**. O biofilme de polpa de cebola **FBC 2,6%** apresenta perda de massa em 37, 325 e 501°C. O compósito **PB-PVP@ZIF8@6MP** apresenta perda de massa em 136, 307 e 350°C. A análise térmica derivada do compósito incorporado no biofilme de cebola, material **PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC-4,4%**, apresenta as respectivas perdas de massa dos componentes individuais. Como ilustrado, o material **PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC-4,4%** apresenta perda de massa em 89, 339 e 505°C evidenciando a presença e a interação de ambos os componentes no compósito, através do deslocamento dos picos de perda mássica. As partículas **PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC-4,4%** apresentam três eventos de decomposição:



- (i) a primeira perda de massa observada na região de 28-184 °C se origina da perda de moléculas de água fisicamente adsorvidas na superfície das partículas.
- (ii) o segundo evento de decomposição entre 184-384 °C é atribuído principalmente a perda de matéria orgânica, sendo o pico máximo de decomposição em 339°C.
- (iii) a terceira perda de massa entre 453–583 °C está associado a oxidação da estrutura polimérica do filme de cebola, sendo o pico máximo de decomposição em 506 °C.

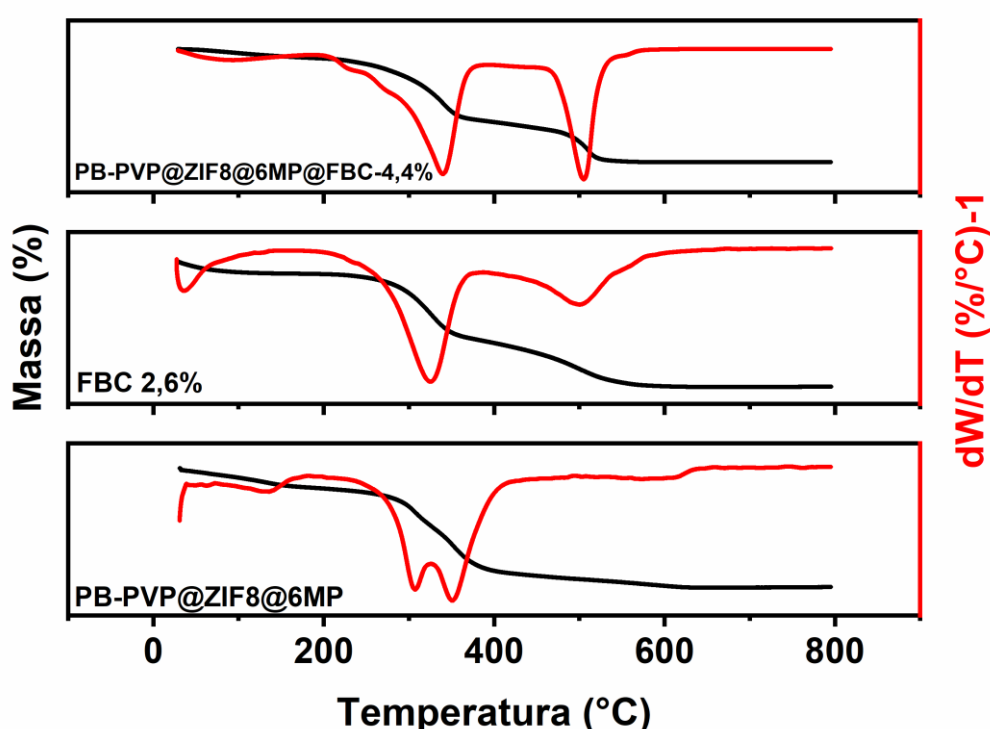


Figura 54. Curvas TG e DTG do do compósito **PB-PVP@ZIF8@6MP** (inferior), biofilme de polpa de cebola (**FBC 2,6%**) (no meio) e do compósito incorporado no biofilme (**PB-PVP@ZIF8@6MP@FBC-4,4%** (superior).

4.2.6.1 Estruturas *core-shell* do tipo **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** revestidas com membranas de macrófagos (MM)

O compósito **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** foi revestido com vesículas de macrófagos (MM) a partir das metodologias adaptadas de Gao *et al* e Rao *et al*.^{125,126} As vesículas de macrófagos foram escolhidas como estratégia para a



nanoplateforma por ser uma entidade biológica, que faz parte do sistema autoimune ou seja, com um direcionamento aos sistemas anômalos/tumorais.

A amostra foi denominada **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@MM** e as imagens de microscopia eletrônica são apresentadas na **Figura 55**. Como ilustrado, a formação *in-situ* das vesículas de macrófagos ocorre englobando as partículas **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** em seu interior. A **Figura 55B** ilustra, perfeitamente, o revestimento das partículas **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** pelas membranas celulares.

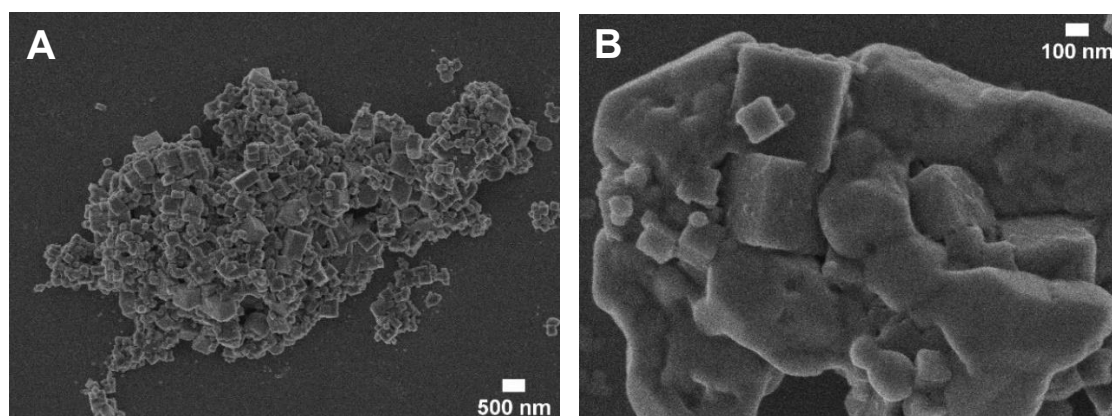


Figura 55. Imagens de microscopia MEV-FEG da amostra **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@MM** (A) 10.000x (B) 50.000x.

A composição do material **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM** foi investigada a partir da espectroscopia EDS, cujo espectro está ilustrado na **Figura 56**. Como pode ser observado, a comparação entre o espectro do compósito não-revestido (**PB-PVP@ZIF-8@6MP**) com aquele revestido pela membrana de macrófago (**PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM**), revela a ausência dos elementos Zn e S neste último espectro, o que sugere a baixa profundidade do feixe sob a amostra. No entanto, as imagens MEV confirmam a presença do componente de partida **PB-PVP@ZIF-8@6MP**. O compósito revestido **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM** revela a presença dos elementos Na e Cl, a qual são provenientes da solução tampão lise utilizada para destruir as membranas celulares e, o tempo de contato da solução lise em que as células ficam submetidas podem influenciar na concentração das substâncias/elementos presentes na membrana.



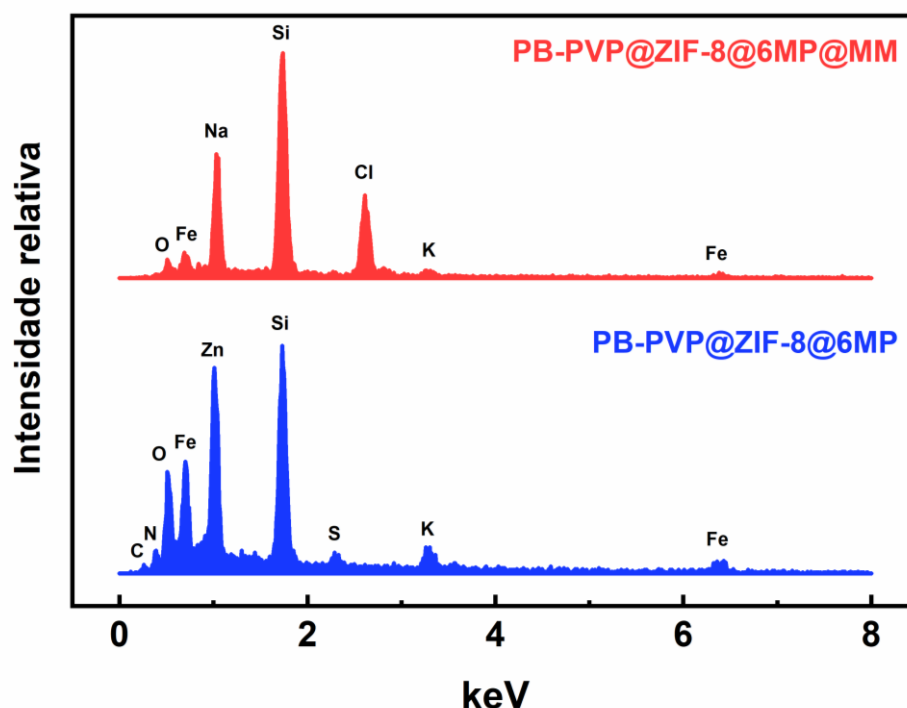


Figura 56. Espectros EDS das partículas **PB-PVP@ZIF-8@6MP** não-revestidas (em azul) e revestidas com membranas de macrófagos **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM** (em vermelho).

A **Figura 57** apresenta os valores de potencial zeta das vesículas de macrófago **MM**, das partículas **PB-PVP@ZIF-8@6MP** e do compósito revestido pela membrana celular (amostra **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM**). De acordo com os resultados, o compósito não revestido é carregado negativamente e possui um potencial zeta médio de - 20 mV. O revestimento com as vesículas **MM** reflete em um valor menor de $\zeta = - 30$ mV. A diminuição do potencial ζ é evidência direta de um revestimento químico da superfície do compósito **PB-PVP@ZIF-8@6MP** com as vesículas **MM** e corroboram com o revestimento proposto do material com vesículas de macrófagos.



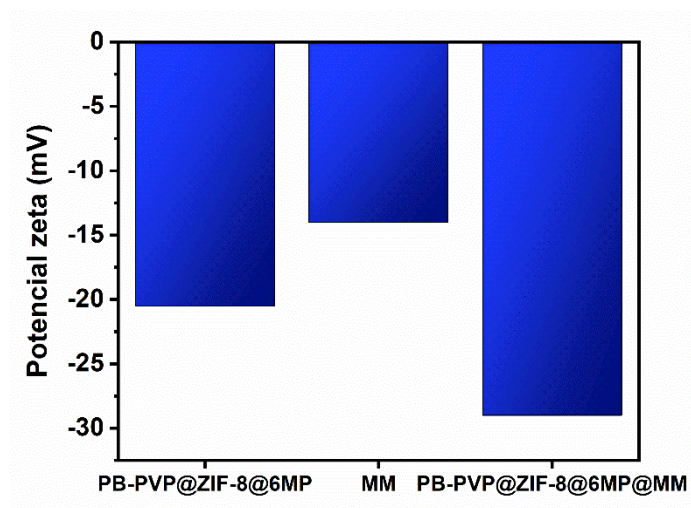


Figura 57. Valores de potencial zeta das amostras **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, **MM** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM**.

4.2.2 Compósitos PB-PVP@MIL-100(Fe) e PBcitrato@MIL-100(Fe)

Os compósitos **PBcitrato@MIL-100(Fe)** e **PB-PVP@MIL-100(Fe)** foram preparados através de duas metodologias distintas, partindo das nanopartículas **PB** como núcleo e a MOF **MIL-100(Fe)** como casca. Foram investigadas as metodologias de auto-montagem *in situ* assistida por microondas e a técnica LBL (*layer by layer*).

4.2.2.1 PBcitrato@MIL-100(Fe): automontagem assistida por microondas (MW)

O compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)** foi obtido mediado pela dispersão das partículas de azul da Prússia funcionalizadas com ânions citrato, amostra **PBcitrato**. A escolha do pH 7,0 teve como critério ultrapassar os valores dos pKas do ácido cítrico (3,05; 4,67; 5,39), de modo a promover a desprotonação total das porções de carboxilato na superfície das nanopartículas para posterior coordenação aos íons Fe(III) da **MIL-100** sintetizada na sequência. A mistura no início do processo varia sua coloração de azul (cor característica das partículas **PBcitrato**) para verde, uma vez que soluções aquosas de cloreto férrico



apresentam coloração amarela. No final da reação, o meio reacional sob irradiação de microondas, resultou na formação de um sólido de coloração esverdeado, cuja caracterização passa a ser descrita a seguir.

O espectro vibracional do compósito **PBcitrato@MIL-100** é mostrado na **Figura 58**. Como mostrado, o espectro vibracional do compósito obtido (**PBcitrato@MIL-100 MW**) apresenta bandas de absorção características tanto das nanopartículas **PBcitrato** quanto da MOF **MIL-100(Fe)**. A presença das bandas em 2085, 1630, 1383 e 479 cm^{-1} correspondem às vibrações $\nu(\text{CN})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ e $\delta(\text{Fe-CN-Fe})$, respectivamente, características da presença do azul da Prússia funcionalizada no material. No entanto, essas bandas relativas aos grupos carboxilatos também podem estar relacionadas não somente ao ânion citrato como também ao ligante precursor da MOF, o ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (H_3BTC). No entanto, com base nos conceitos de Pearson (teoria ácido-base), o íon Fe(III) (ácido duro) apresenta forte interação com os grupos carboxilatos (base dura). Sendo assim, propõe-se que o íon Fe(III) esteja coordenado às porções de carboxilatos do ânion citrato formando uma camada de ferro na superfície da nanopartícula de **PB** e em seguida, as porções de carboxilato do ligante precursor H_3BTC se coordenam aos íons Fe(III) na superfície da **PBcitrato** formando o compósito. No entanto, como destacado em amarelo no espectro da **Figura 58**, a intensidade da banda $\nu(\text{CN})$ diminuiu de modo significativo com a formação do compósito. De modo qualitativo, essa diminuição pode estar relacionada a proporção entre a **MIL-100** e **PBcitrato**, sugerindo a presença de partículas de **MIL-100** isoladas no sistema e/ou formação de compósito **PBcitrato@MIL-100 MW** com elevada espessura da casca MOF **MIL-100** na superfície das partículas **PBcitrato**.



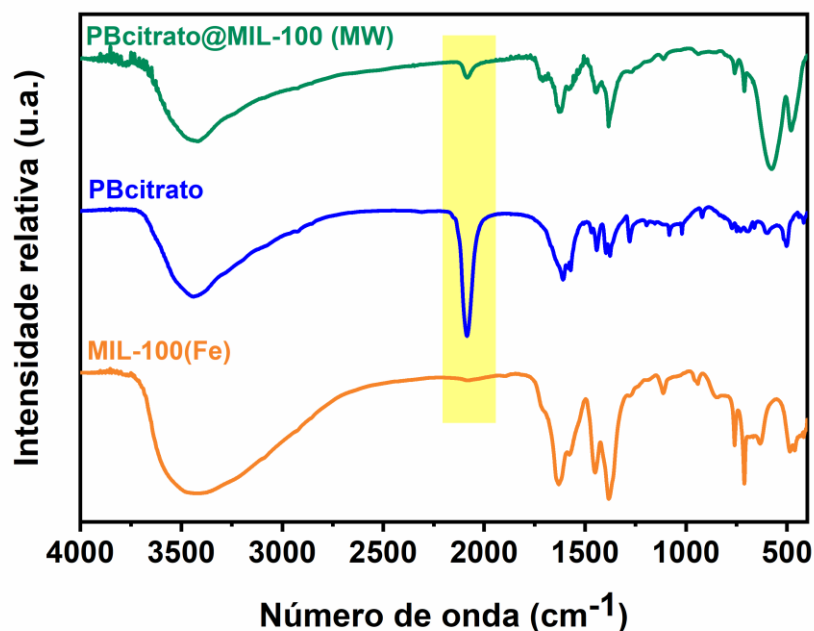


Figura 58. Espectros FTIR das amostras MIL-100(Fe), PBcitrato e PBcitrato@MIL-100(Fe) MW.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão são apresentadas nas **Figura 59A** e **Figura 59B**, respectivamente. O tamanho médio das partículas foi investigado pela contagem das partículas realizada com o software *ImageJ*¹⁴¹ a partir das imagens de MEV (ver **Figura 59A-B**). O histograma da contagem de partículas revela um diâmetro médio de $137,70 \pm 20,06$ nm. No entanto, as imagens obtidas pelo MET (ver **Figura 59B**) revelam a incompleta formação da estrutura *core-shell*, com partículas de diâmetro médio de $121,55 \pm 17,73$ nm. É possível observar a presença de partículas MIL-100(Fe) isoladas, sem a presença do PBcitrato com núcleo (*core*). De fato, esse resultado corrobora com aquele obtido referente à fraca intensidade de absorção da banda $\nu(\text{CN})$ no espectro vibracional do material (ver **Figura 58**), que pode ser tomada como uma informação semiquantitativa das nanopartículas PBcitrato no compósito.



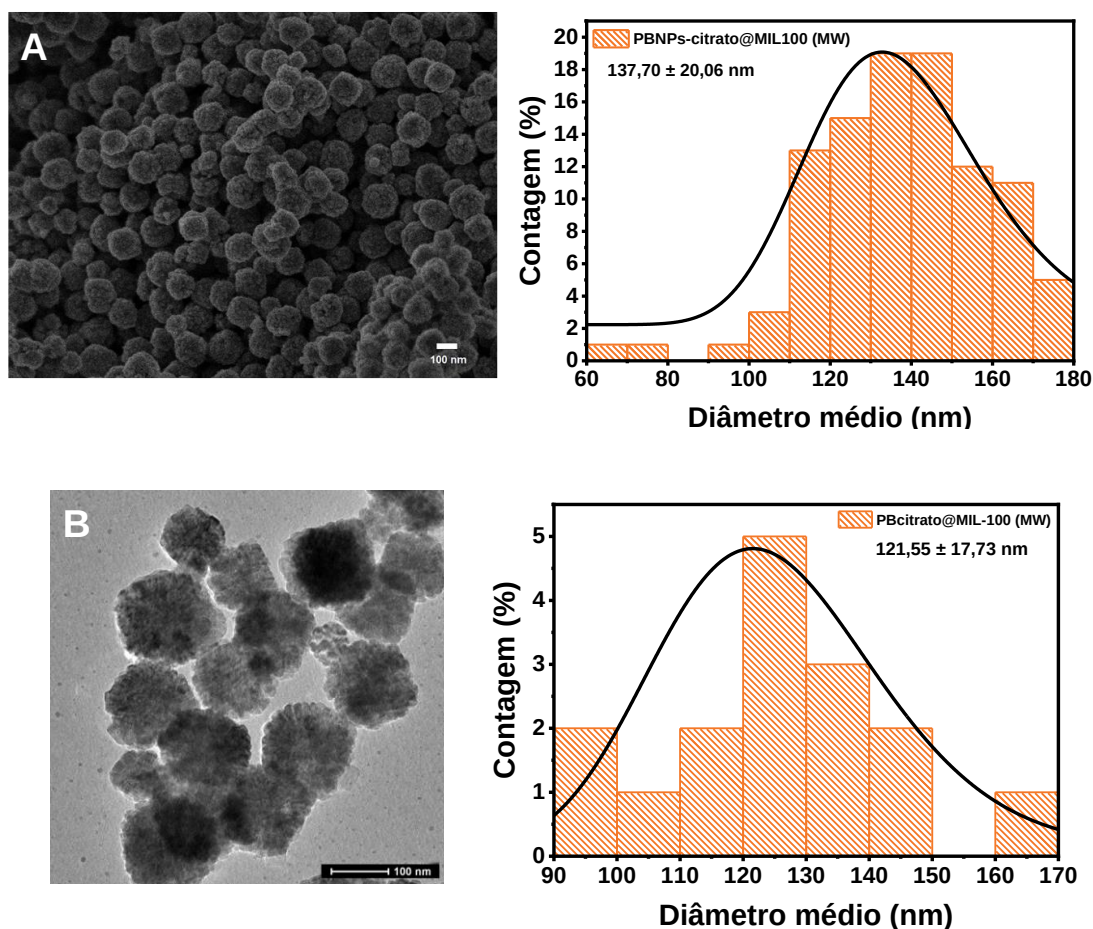


Figura 59. Imagens das partículas do composto **PBcitrato@MIL-100** obtido pelo método assistido por microondas. (A) Imagens de MEV-FEG e o histograma da contagem de partículas. (B) Imagens de MET e o histograma da contagem de partículas.

A amostra **PBcitrato@MIL-100 MW** obtida, foi dispersada em água nas concentrações $0,025 - 2,000 \text{ mg.mL}^{-1}$ conforme tabela e imagens da dispersões na **Figura 60**. Como ilustrado, a coloração da amostra é intermediária entre o azul da amostra **PBcitrato** e o alaranjado da **MIL-100(Fe)**. Apesar da formação não-homogênea do composto **PBcitrato@MIL-100**, a absorção eletrônica na região do Vis-NIR foi investigada. Os espectros Vis-NIR são apresentados na **Figura 61**.



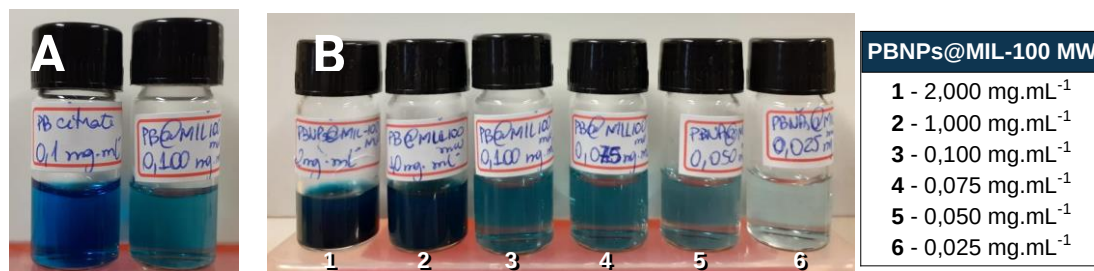


Figura 60. (A) Comparação da coloração da dispersão aquosa $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ das amostras **PBcitrate** (a esquerda) e **PBcitrate@MIL100** (a direita). (B) Amostras **PBcitrate@MIL100 MW** e suas respectivas concentrações.

4.2.6.1 Efeito fototérmico do compósito **PBcitrate@MIL-100(Fe)MW**

A dispersão aquosa **PBcitrate@MIL100** apresenta a capacidade de absorção na região desejada ($\sim 700 \text{ nm}$), sob irradiação de luz laser no comprimento de 808 nm , sugerindo a presença das partículas **PBcitrate no material** (ver **Figura 61A**).

A propriedade associada ao efeito fototérmico pode ser observada no compósito pela variação de temperatura ao sofrer excitação de radiação no infravermelho, como mostrado na **Figura 61B**. Os resultados de variação de temperatura do compósito **PBcitrate@MIL-100 (MW)** são similares à variação observada para a partícula **PBcitrate** isolada (ver **Figura 28A**) quando irradiadas pelo laser de comprimento 808 nm . Em baixa ($0,3 - 0,5 \text{ W}$), média ($0,8 - 1,0 \text{ W}$) e elevada ($1,0 - 2,0 \text{ W}$) potência, a temperatura máxima atingida é de aproximadamente 37 , 47 e $67 \text{ }^{\circ}\text{C}$, entretanto, o tempo de irradiação é menor no material compósito conforme descrito na **Tabela 15**. Os estudos para entendimento deste comportamento não foram realizados, mas uma hipótese a ser abordada é a estabilidade da dispersão da amostra. Entende-se que amostras mais estáveis apresentam uma velocidade de sedimentação menor, mantendo a partícula sob o feixe do laser por mais tempo.



Tabela 15. Comparação entre a variação de temperatura e o tempo de irradiação para as partículas PBcittrato e composto.

Partícula Isolada			Partícula Compósito		
Potência	Tempo irradiação.	PBcittrato	Potência	Tempo de irradiação	PBcittrato@MIL-100 (MW)
0,3 W	20 min	32,0 °C	0,3 W	8 min	32,9 °C
0,5 W	20 min	35,7 °C	0,5 W	8 min	36,5 °C
0,8 W	20 min	44,1 °C	0,8 W	8 min	42,9 °C
1,0 W	20 min	45,6 °C	1,0 W	8 min	46,8 °C
1,5 W	10 min	56,1 °C	1,5 W	8 min	58,6 °C
2,0 W	06 min	61,8 °C	2,0 W	8 min	66,8 °C

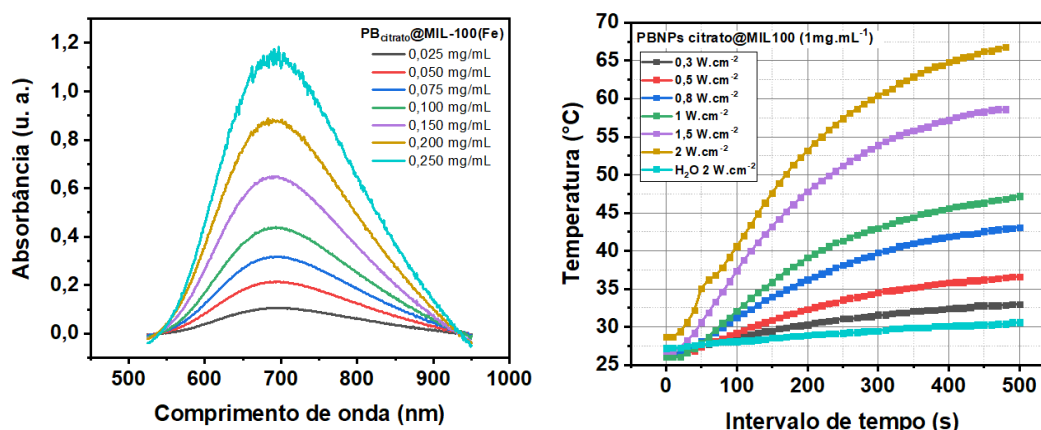


Figura 61. Espectros de absorção Vis-NIR (a) e efeito fototérmico (b) da dispersão aquosa de **PBcittrato@MIL-100** (MW) 1 mg mL⁻¹.

A partir desses resultados, foi investigada a possibilidade de obtenção desse compósito **PBcittrato@MIL-100** através de outra metodologia, a saber, via formação controlada da MOF **MIL-100** pela automontagem do tipo LBL (*layer-by-layer*).

4.2.3 PBcittrato@MIL-100(Fe): automontagem *layer by layer* (LBL)

O compósito **PBcittrato@MIL-100(Fe)LBL** foi obtido com sucesso depois de seis ciclos de formação da MOF **MIL-100** sobre a superfície das partículas **PBcittrato**. Os espectros vibracionais do compósito obtido e seus componentes são mostrados na **Figura 62**, onde pode ser constatado que o espectro vibracional do compósito **PBcittrato@MIL-100(Fe)LBL** exibe bandas associadas



tanto aos modos vibracionais do azul da Prússia (2085, 1630, 1383 e 479 cm^{-1}) quanto aos modos vibracionais associados aos grupos carboxilatos da MOF de ferro. Destaque nesse caso deve ser dada, como identificado em laranja nos espectros da **Figura 62**, às intensidades relativas das bandas $\nu(\text{CN})$ (azul da Prússia) e $\nu(\text{COO}^-)$ (MOF), sugerindo um certo equilíbrio na proporção entre os componentes **MIL-100** e **PBcitrato** no material.

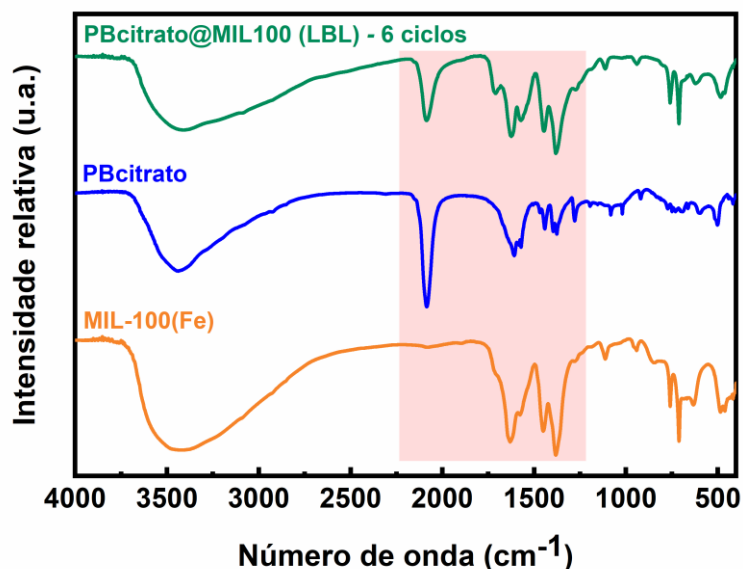


Figura 62. Espectros FTIR das amostras **MIL-100(Fe)**, **PBcitrato** e **PBcitrato@MIL-100(Fe)LBL**.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão do material obtido pelo método LBL são apresentadas nas **Figura 63A** e **Figura 63B**, respectivamente. Como pode ser observado na imagem MEV, o material se organiza na forma de um aglomerado de partículas de dimensão nanométrica. Informações mais detalhadas puderam ser obtidas com as imagens TEM, onde pode ser claramente observada a formação de uma estrutura *core-shell* (ver **Figura 63B**). No entanto, o uso dessa metodologia alternativa de formação dessas superestruturas não evitou a formação de várias partículas associadas apenas à presença da MOF **MIL-100** isolada.



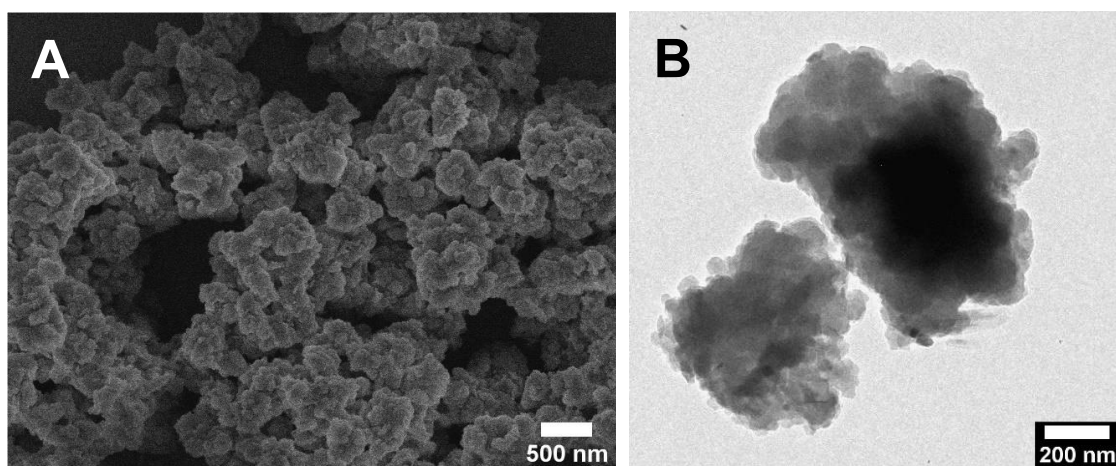


Figura 63. Imagens de microscopia eletrônica de (A) varredura e (B) transmissão do composto **PBcitrato@MIL-100** obtido pelo método *layer-by-layer*.

Valores de potencial zeta do material **PBcitrato@MIL-100(Fe)LBL** foram obtidos após o segundo e o quinto ciclo de reação e os resultados são apresentados na **Tabela 16**. A variação do potencial zeta evidencia a modificação de superfície do composto **PBcitrato@MIL-100(Fe)LBL**. A carga de superfície das partículas diminui com as sucessivas etapas cíclicas de formação. O potencial do segundo ciclo, próximo ao potencial da partícula isolada, sugere que 2 ciclos de **MIL-100(Fe)** não é quantidade suficiente para formar a casca (*shell*) ao redor das partículas **PBcitrato**.

Tabela 16. Valores de potencial zeta das partículas **PBcitrato**, **PBcitrato@MIL-100 2 ciclos** e **PBcitrato@MIL-100 5 ciclos**.

	PBcitrato	PBcitrato @MIL-100 2 ciclos	PBcitrato @MIL-100 5 ciclos
Potencial zeta (mV)	$-18,1 \pm 10,3$	$-18,9 \pm 5,69$	$-22,5 \pm 3,85$

A propriedade fototérmica da dispersão aquosa do composto **PBcitrato@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos** não foi investigada.



4.2.4 PB-PVP@MIL-100(Fe):automontagem layer by layer (LBL)

O compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL** foi obtido por etapas cíclicas de formação de camadas, totalizando 6 ciclos de formação de **MIL-100** na superfície das partículas **PB-PVP**. Os espectros vibracionais dos componentes **PB-PVP** e **MIL-100(Fe)** e do compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)** são mostrados na **Figura 64**. O espectro vibracional do compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos** exibem bandas em 2085, 1711, 1625, 1382 e 499 cm^{-1} correspondentes às vibrações $\nu(\text{CN})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ e $\delta(\text{Fe-CN-Fe})$, respectivamente, dos dois diferentes componentes do material: as nanopartículas do material fotoativo e as da MOF de ferro. Como mostrado, o número de ciclos impacta na intensidade das vibrações dos estiramentos dos carboxilatos $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ evidenciando o aumento do número de camadas de MOF **MIL-100** na superfície da partícula.

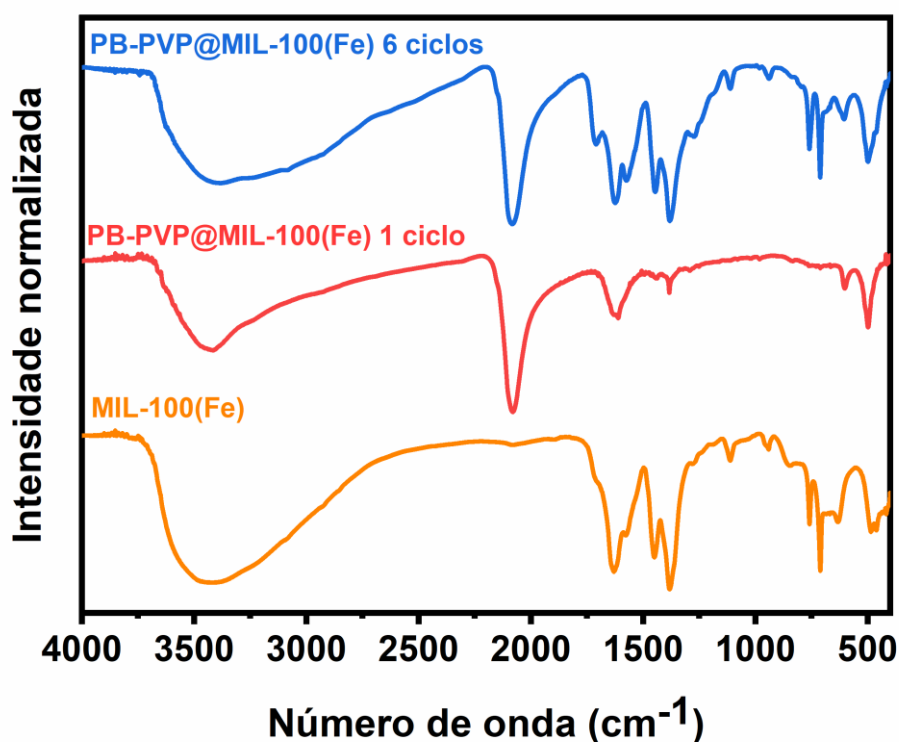


Figura 64. Espectros FTIR das amostras **MIL-100(Fe)**, **PB-PVP@MIL-100(Fe)** 1 ciclo e **PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos**.



A morfologia das partículas obtidas foi investigada inicialmente por microscopia eletrônica de varredura, cuja imagem é mostrada na **Figura 65A**. Como pode ser observado, poucas informações podem ser obtidas dessa imagem, exceto de que o material se organiza na forma de um aglomerado de partículas, cujos tamanhos não apresentam uma distribuição muito homogênea. No entanto, a linda imagem TEM representada na **Figura 65B** revela claramente a formação com sucesso do compósito *core-shell* desejado, contendo a partícula **PB-PVP** como núcleo e a MOF **MIL-100(Fe)** como casca. Como ilustra a figura, podem ser visualizadas três diferentes regiões. Como descrito no item 4.1.7, as partículas cúbicas do azul da Prússia são maciças e impedem a transmissão do feixe de elétrons, sendo representadas, portanto, pela região escura na imagem de microscopia. A região mais clara na superfície da partícula sugere o revestimento com a MOF **MIL-100(Fe)**, cuja espessura foi estimada em cerca de 12 nm conforme o software *ImageJ*. A região intermediária revela a presença do agente de cobertura polivinilpirrolidona (PVP) usado como ponto de coordenação para a formação da MOF **MIL-100(Fe)**.

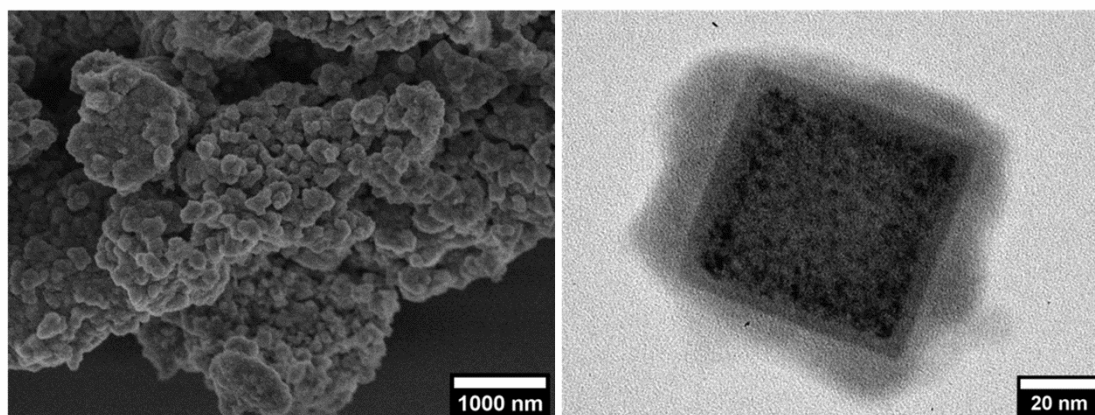


Figura 65. Imagens de microscopia eletrônica (A) de varredura (MEV) e (B) de transmissão (MET) do compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)**LBL 6 ciclos.



Os valores de potencial zeta do material compósito e seus componentes são descritos na **Tabela 17**. O compósito revela potencial de magnitude negativa sugerindo as porções de carboxilato na superfície da partícula associado as etapas layer-by-layer, centro metálico e ligante orgânico, respectivamente.

Tabela 17. Valores de potencial zeta dos componentes **PB-PVP**, **MIL-100(Fe)** e compósito **PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL**.

	PB-PVP	PB-PVP@MIL-100(Fe)LBL 6 ciclos
Potencial zeta	- 31,2 ± 8,48 mV	-17,9 ± 5,72 mV

A espectroscopia Vis-NIR e os estudos de fototermia não foram realizados para esse sistema.

4.2.5 Compósito PB-PVP@MIL-88A(Fe)

Os espectros no infravermelho com transformada de Fourier das amostras **PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos (LBL)** e **PB-PVP@MIL-88A MW** e seus componentes constituintes são mostrados na **Figura 66**. Esse estudo foi o primeiro a demonstrar o sucesso na preparação dos compósitos, posto que os espectros apresentam os principais modos ativos de vibração característicos do azul da Prússia (**PB-PVP NPs**) e do ácido fumárico nos materiais, como por exemplo, $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\delta(\text{Fe(II)}-\text{CN}-\text{Fe(III)})$ e $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$, $\nu(\text{C}=\text{O})$, respectivamente (ver a seguir).

Como discutido anteriormente, as bandas observadas em 2085 e 502 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ e à deformação $\delta(\text{Fe(II)}-\text{CN}-\text{Fe(III)})$ características das partículas de azul da Prússia. Por outro lado, a presença do ácido fumárico pode ser atestada pelo aparecimento de uma banda larga centrada em 3083 cm^{-1} , associada ao modo vibracional de estiramento $\nu(\text{OH})$ e a banda em 1274 cm^{-1} associada ao estiramento $\nu(\text{C}-\text{O})$ dos grupos carboxílicos desse ligante.



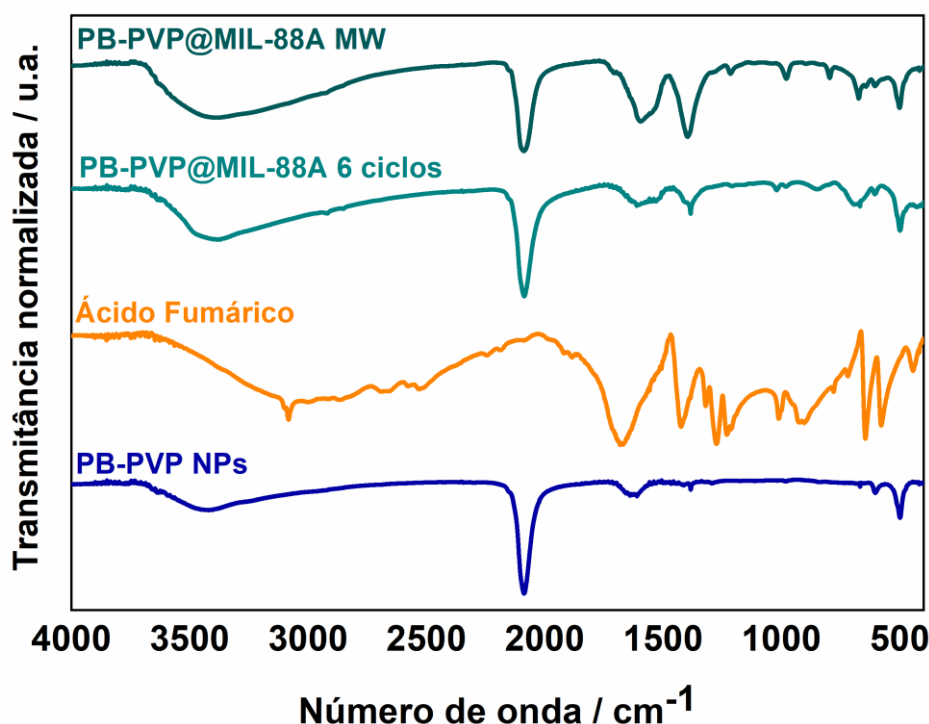


Figura 66. Espectros no infravermelho dos compostos **PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos LBL**, **PB-PVP@MIL-88A MW** e seus precursores ácido fumárico e nanopartículas **PB-PVP NPs**.

A morfologia das partículas dos compósitos **PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos LBL** e **PB-PVP@MIL-88A MW** foi avaliada a partir de imagens de microscopia eletrônica de varredura, conforme mostra a **Figura 67**. Apesar da atribuição das bandas no FTIR serem semelhantes aos compostos obtidos por diferentes rotas sintéticas (MW e LBL), a microscopia ilustra morfologia de partículas distintas em consequência da diferença das rotas de síntese.

Na rota de síntese assistido por microondas (MW), a **Figura 67A** e **Figura 67B** mostra partículas de aparência cúbica de acordo com o material de partida azul da Prússia (**PB-PVP NPs**). O revestimento da superfície das partículas **PB-PVP** pela MOF **MIL-88A** é evidenciado pela baixa definição das arestas (ver **Figura 67**). Na rota de síntese layer-by-layer (LBL), a **Figura 67C** e **Figura 67D** mostra a formação de partículas MOF **MIL-88A** isoladas, evidenciando a ausência do revestimento. Observa-se que a síntese LBL proporciona uma



nucleação lenta, resultando na formação de cristais da estrutura **MIL-88A**. Diante desse fato, para esse sistema, o método *layer-by-layer* não é uma rota de síntese eficaz para a formação do compósito, uma vez que resulta em partículas **MIL-88A** isoladas influenciando na pureza de fase do material. Entretanto, para tal afirmação, se faz necessário os estudos de difração de raios X.

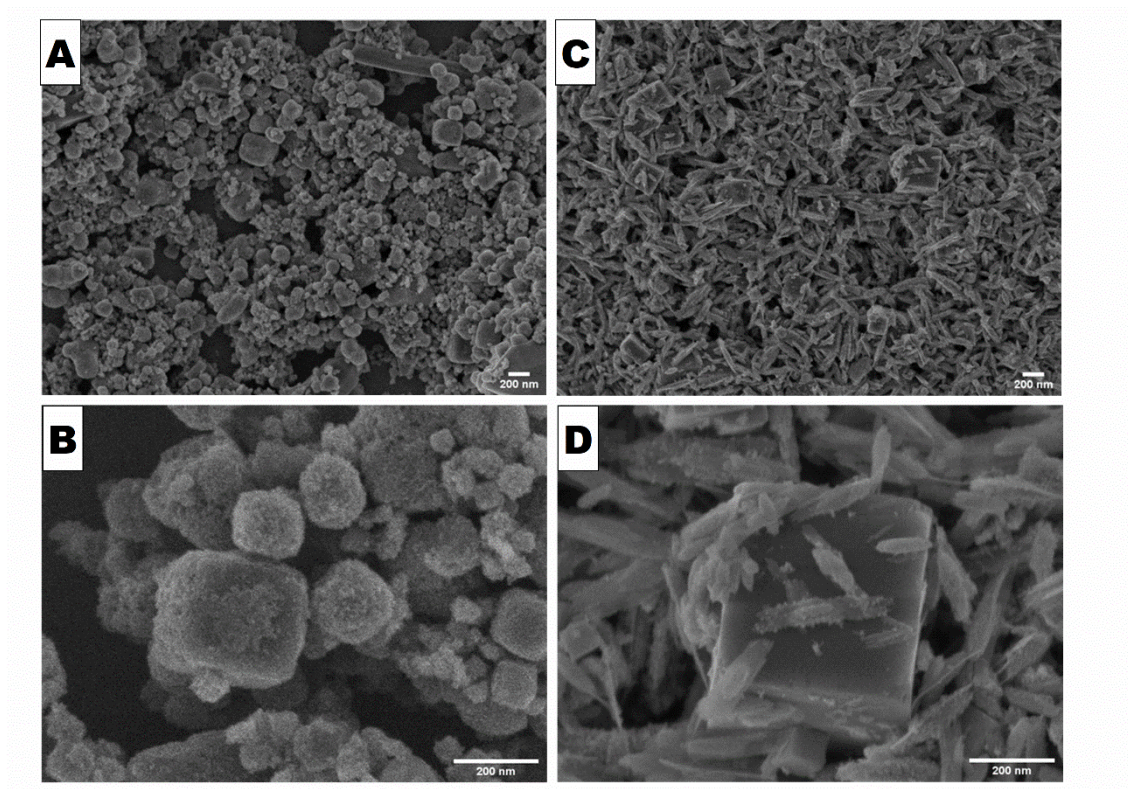


Figura 67. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do material **PB-PVP@MIL-88A MW** (A e B) e **PB-PVP@MIL-88A 6 ciclos LBL** (C e D). (A) 20.000x (B) 100.000x (C) 20.000x (D) 100.000x

Para a proposta de compósitos nanoestruturados no sistema **PB-PVP@MIL-88A**, a rota de síntese assistida por microondas resulta em uma melhor interação entre os componentes **PB-PVP** e **MIL-88A**. Entretanto, falta complementar os estudos com difração de raios X, espectroscopia de absorção na região do UV-Vis-NIR, estudos fototérmicos, incorporação e liberação do fármaco 6-mercaptopurina (**6MP**).

4.2.6 Sistema PB-PVP@1(Zn/6MP)

4.2.6.1 Estrutura 1(Zn/6MP)



Os espectros vibracionais na região do infravermelho do fármaco 6-MP livre e do composto obtido quando íons Zn(II) foram usados como centros metálicos para a formação da estrutura são apresentados na **Figura 68**. Como mostrado, a presença de três importantes bandas associadas às vibrações C=N , C=S e N-H do fármaco confirmam as ligações coordenadas na amostra **1 (Zn/6-MP)**. A banda observada em 1614 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação do anel, através das ligações C=N da estrutura, especificamente as ligações C_4N_3 , C_4C_5 e C_5N_7 .¹⁵⁴ No espectro do composto, ainda podem ser observadas (i) uma banda em 1224 cm^{-1} atribuída ao modo de vibração C=S ; (ii) uma banda de alongamento atribuída a ligação N-H nos anéis de imidazol em 1420 cm^{-1} e (iii) três bandas atribuídas na região entre 3430 e 3156 cm^{-1} associadas a pirimidina.

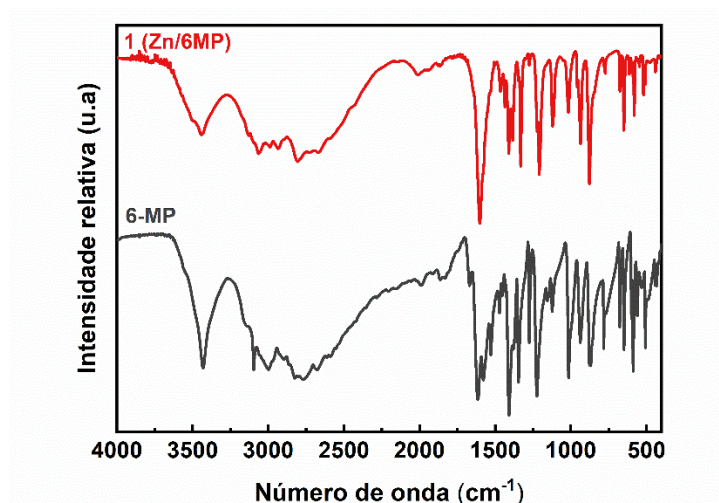


Figura 68. Espectros vibracionais na região do infravermelho do ligante 6-mercaptopurina (6-MP) e da estrutura **1 (Zn/6MP)**.

A morfologia e tamanho de partícula foram investigados por microscopia eletrônica de varredura, como mostrado na **Figura 69**. Como pode ser observado, o material **1(Zn/6MP)** se organiza na forma de um aglomerado de partículas em forma de blocos, cujos tamanhos estão compreendidos entre 1 – 5 μm .



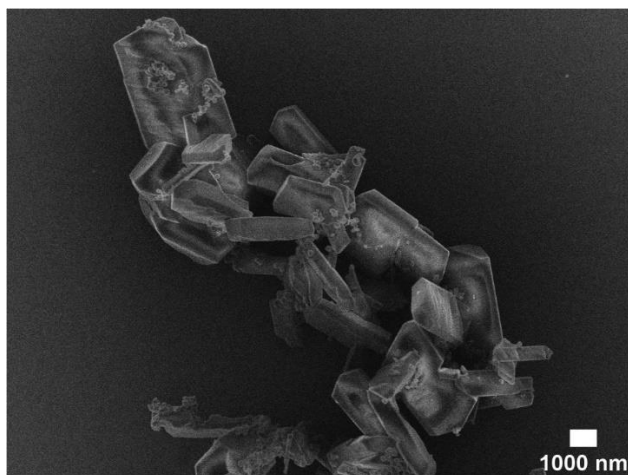


Figura 69. Imagem MEV do material **1(Zn/6MP)**.

A composição do composto **1(Zn/6MP)** foi investigada por espectroscopia de energia dispersiva, cujo resultado está ilustrado na **Figura 70**. Como pode ser observado, a elevada intensidade do pico em 1,1 e 2,2 KeV revela a presença do elemento zinco (Zn) e enxofre (S), respectivamente, mostrando a presença desses elementos no sistema da estrutura obtida a partir de Zn e 6-mercaptopurina (6MP).

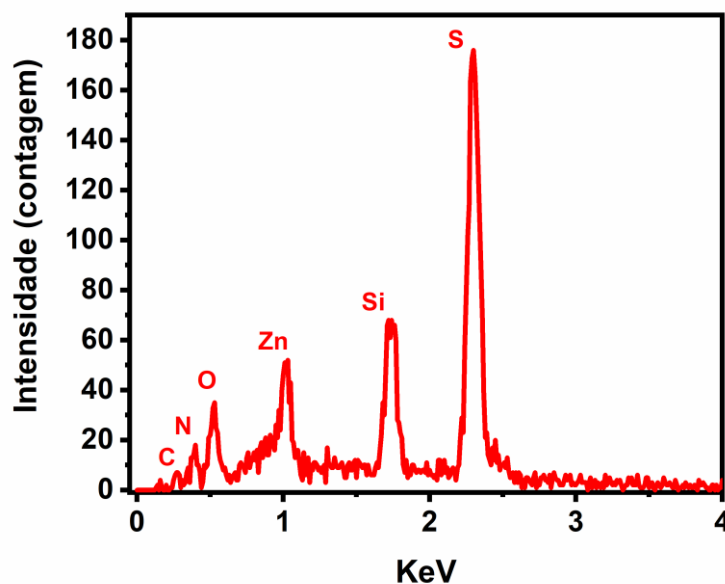


Figura 70. Espectro EDS das partículas do material **1(Zn/6MP)**.



4.2.6.2 Sistema PB-PVP@1(Zn/6MP)

O espectro vibracional na região do infravermelho foi obtido para a amostra **PB-PVP@ZIF-8@6MP** conforme ilustrado na **Figura 71A** e a comparação entre os espectros vibracionais do compósito **1(Zn/6MP)** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** (ver **Figura 71B**) mostra a diferença nas bandas de estiramento e deformação em ambos os compósitos, observada na região *fingerprint*, conforme região 1650–400 cm^{-1} destacada em vermelho e ampliada na direita dos espectros. As principais atribuições são apresentadas na **Tabela 18**.

Tabela 18. Principais atribuições da energia vibracional nas amostras **PB-PVP@ZIF-8@6MP** e **PB-PVP@1(Zn/6MP)**.

		PB-PVP@ZIF-8@6MP	PB-PVP@1(Zn/6MP)
Atribuições / cm^{-1}	$\sigma(\text{anel})$	1658	1612
	$\nu(\text{N-H})$	1420	1384
	$\nu(\text{C=S})$	1224	1185
	$\nu(\text{S-Zn(II)})$	---	1054
	$\nu(\text{S-Zn(II)})$	---	864
	$\nu(\text{S-Zn(II)})$	---	663
	$\sigma(\text{Fe(II)-CN-Fe(III)})$	500	499
	$\nu(\text{N-Zn(II)})$	422	---



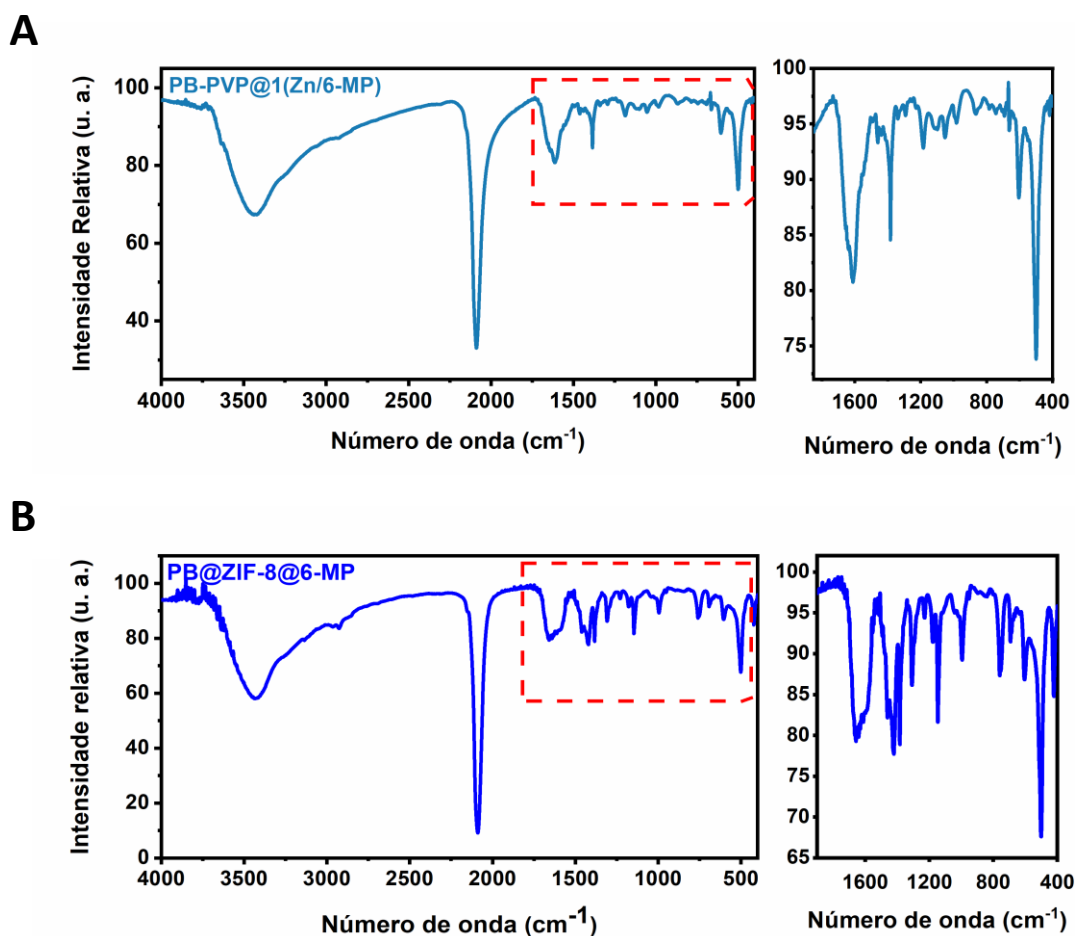


Figura 71. Espectros vibracionais na região do infravermelho dos compósitos **PB@1(Zn/6-MP)** (A) e **PB@ZIF8@6MP** (B).

Os espectros apresentam bandas similares entre ambos os compósitos, com exceção do estiramento da banda Zn-N. O compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** evidencia que o modo de coordenação do N-doador do 6-mercaptopurina é diferente do 2-metilimidazol e, a coordenação do metal Zn(II) ocorre via S-doador¹⁶¹, conforme representação ilustrativa na **Figura 72**. Com base na teoria ácido-base de Pearson⁸, o nitrogênio no imidazol tem caráter mole pelo aumento da polarizabilidade conferido pelo anel aromático entretanto, o sulfeto (S²⁻) sendo um ânion grande, apresenta baixa densidade de carga e é mais polarizável. Sendo assim, o Zn²⁺ (ácido mole de Lewis) interage mais fortemente com o grupo tiol (-SH) na 6-mercaptopurina (**1(Zn/6MP)**) comparado ao grupo azeolato do imidazol (**PB-PVP@ZIF-8@6MP**).



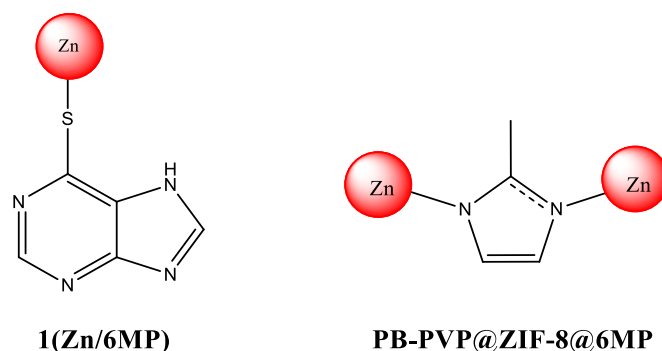


Figura 72. Representação esquemática da coordenação via N-doador do ligante 6-mercaptopurina no composto **1(Zn/6MP)** e 2-metilimidazol no composto **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

De modo complementar, as análises de potencial zeta do material **1(Zn/6MP)** e do compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** foram realizadas e o resultado é descrito na **Tabela 19**. Os resultados do compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** revelam partículas com carga superficial negativa e instáveis com tendência a aglomeração.

Tabela 19. Valores de potencial zeta do compósito **PB@1(Zn/6MP)** e seus componentes.

	PB-PVP	1(Zn/6MP)	PB-PVP@1(Zn/6MP)
Potencial zeta	- 31,2 ± 8,48 mV	- 15,3 ± 4,61 mV	- 21,8 ± 6,03 mV

Os resultados de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras do compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** são mostrados na **Figura 73**. A microscopia mostra partículas cúbicas características da nanopartícula de Azul da Prússia de partida e tamanhos não homogêneos. De acordo com o histograma, as partículas apresentam tamanho na faixa de 80 – 130 nm, sendo o tamanho médio de 100 nm.



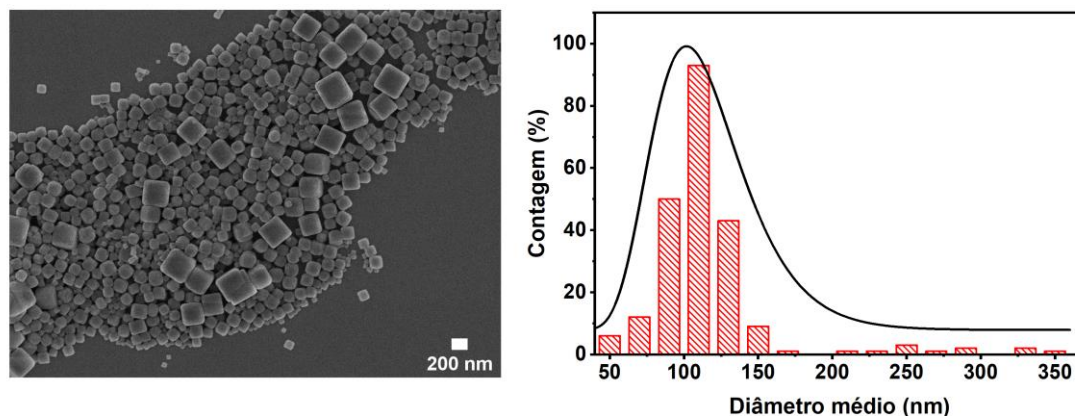


Figura 73. Microscopia eletrônica de varredura das partículas do composto **PB@1(Zn/6MP)** e o histograma correspondente a contagem de 100 partículas.

▪ **Ensaio de encapsulação do 6-mercaptopurina (6MP) no composto PB-PVP@1(Zn/6MP).**

A eficiência de encapsulação do 6-mercaptopurina (6-MP) na estrutura **PB-PVP@1(Zn/6MP)** foi determinada com base na equação da reta mostrada na **Figura 74**. A partir da determinação da concentração de 6-MP no sobrenadante isolado por centrifugação, foi possível quantificar o fármaco nesses materiais. Os dados para o cálculo da quantificação do fármaco nos sistemas propostos são apresentados na **Tabela 20**. Para o sistema com o fármaco 6MP como ligante, a coordenação ocorreu com uma eficácia de 99%. Com base no espectro vibracional (ver **Figura 71A**) a coordenação ocorre pelo grupo S-doador do 6-mercaptopurina. Na proposta do sistema **PB-PVP@1(Zn/6MP)**, a interação do **PB-PVP** e **1(Zn/6MP)** ocorre pela interação do tipo π - π *stacking* entre o grupo aromático do fármaco **6MP** e as ligações $-C\equiv N$, características da parede dos poros das nanopartículas **PB-PVP**. A baixa eficiência de encapsulação (~72%) é condizente com a natureza fraca da interação π - π *stacking*. Em comparação com o sistema **PB-PVP@ZIF-8@6MP** a elevada eficiência de encapsulação está associada a coordenação do fármaco (pela porção N-doador) aos íons Zn(II) da **ZIF-8** na superfície da partícula **PB-PVP** e as associações π - π *stacking*. Kaur e colaboradores¹⁰⁹ relataram a **ZIF-8** como potencial carreadora do fármaco 6-mercaptopurina, entretanto dados de



eficiência de encapsulação não são descritos, sendo os dados do estudo dessa tese inéditos para o sistema **PB-PVP@ZIF-8@6MP**.

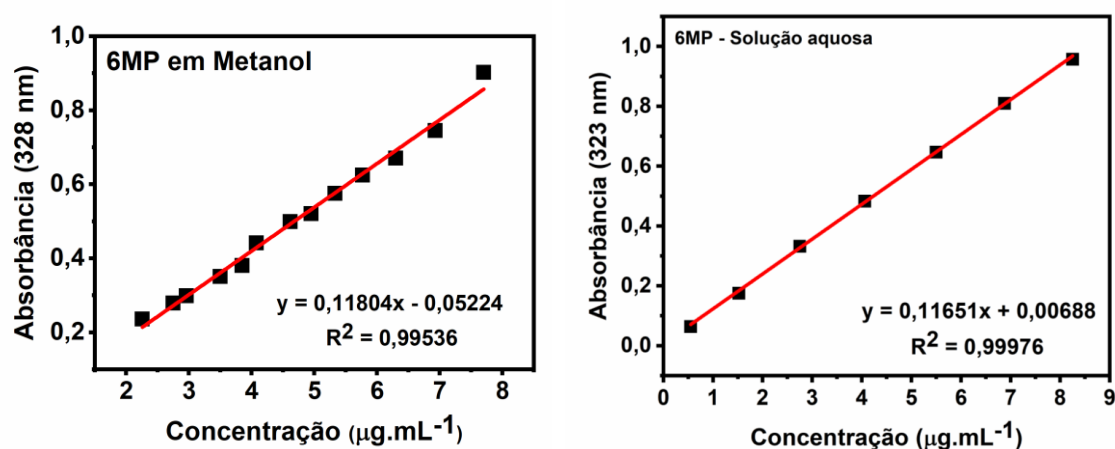


Figura 74. Curvas de calibração do fármaco 6-mercaptopurina em metanol (à esquerda) e solução aquosa (à direita).

Tabela 20. Resultados do ensaio de encapsulação do fármaco 6-MP no sistema **1(Zn/6MP)**.

	Absorbância (322 nm)	Absorbância (328 nm)	Diluição	Concentração (mg mL ⁻¹)	EE(%)
1(Zn/6MP)	---	0,6577	10x	6,0141	99,11
PB-PVP@1(Zn/6MP)	---	0,7703	100x	0,6969	71,84
PB-PVP@ZIF-8@6MP	0,3675	---	1x	3,0952·10 ⁻³	98,02

A capacidade de absorção eletrônica do compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** na região do UV-vis-NIR foi avaliada pela espectroscopia na região do UV-Vis-NIR conforme ilustrado na **Figura 75**, juntamente com os espectros das amostras **1(Zn/6MP)**, **PB-PVP@ZIF-8@6MP**, **6-MP** e **ZIF-8**. Como apresentado, pode-se observar a absorção característica da 6-mercaptopurina em ambos os materiais, bem como a absorção característica das nanopartículas **PB** na região de infravermelho próximo (NIR) nos espectros dos compósitos. Sendo a absorção do 6-MP mais proeminente na estrutura **1(Zn/6MP)** comparado a estrutura



encapsulada (**PB-PVP@ZIF-8@6MP**), uma vez que o fármaco é o ligante da estrutura.

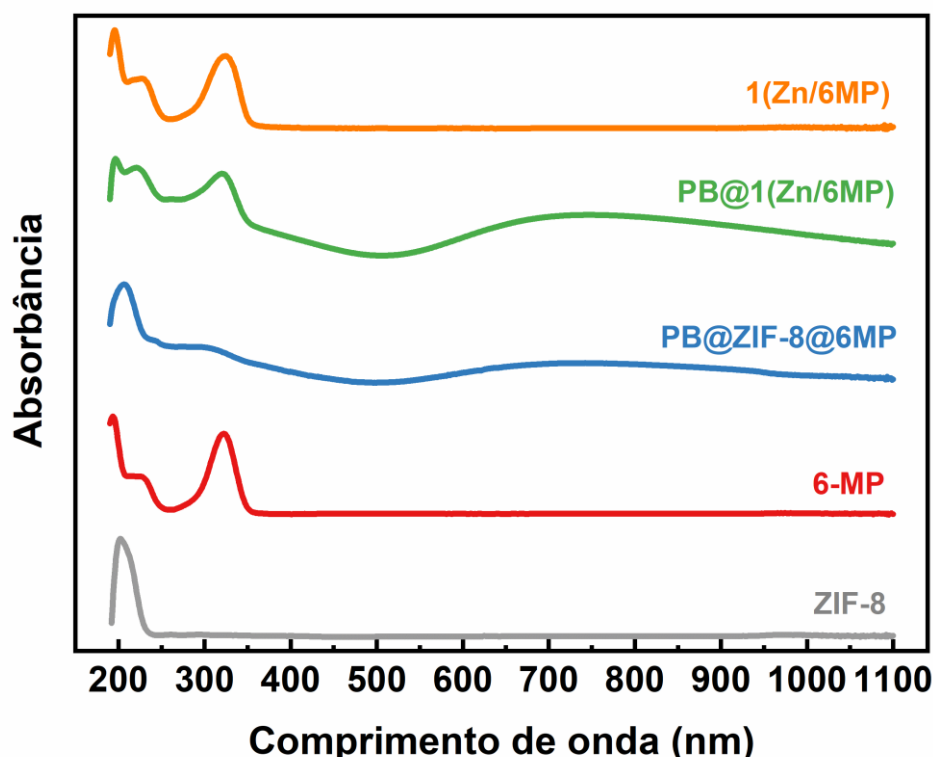


Figura 75. Espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo dos compostos **ZIF-8**, **6-MP**, **PB@ZIF-8@6-MP**, **PB@1(Zn/6MP)** e **1(Zn/6MP)**.

Os espectros no UV-vis-NIR (ver **Figura 75**) exibem as bandas características dos componentes Azul da Prússia (**PB-PVP**) e 6-mercaptopurina (**6-MP**). Como pode ser observado, o ligante **6MP** apresenta uma banda em 320 nm, evidenciando a incorporação/presença da molécula do fármaco como bloco de construção no sistema.¹⁵⁵ Como esperado, o espectro do compósito **PB-PVP@1(Zn/6MP)** apresenta uma banda de absorção na região característica do fármaco 6-mercaptopurina (**6MP**) e outra na região do VIS-NIR característica das partículas de azul da Prússia (PB-PVP) com comprimento máximo de absorção em 739 nm, associada à transição intervalente das espécies Fe(II) para Fe(III), como ilustrado na **Figura 76**.



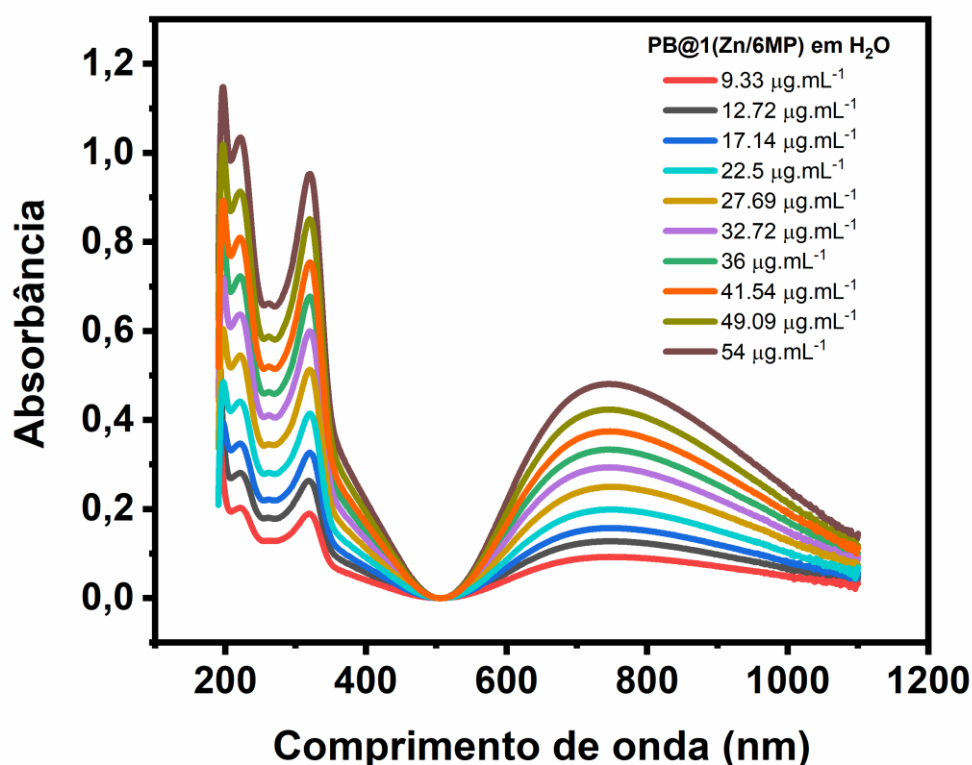


Figura 76. Espectros no UV-Vis-NIR de dispersões aquosas da amostra **PB-PVP@1(Zn/6MP)**.

Cabe destacar que pequenos deslocamentos também podem ser observados com o aumento da concentração da dispersão aquosa e uma resposta linear à intensidade dessa transição. O estudo mostra a capacidade de absorção, entretanto, estudos do comportamento de transdução fototérmica se faz necessário para a correlação da concentração das partículas e o efeito fototérmico - estudo a ser realizado para esse sistema.



5 Considerações Finais

Nessa Tese de Doutorado foram planejados, sintetizados e avaliados quatro sistemas compósitos do tipo *core-shell* baseados em duas nanopartículas funcionalizadas (de citrato e polivinilpirrolidona) de azul da Prússia como núcleo e quatro diferentes MOFs como casca. Foram escolhidas redes metalorgânicas biocompatíveis, a saber, MOF MIL-88A de Fe(III), MIL-100 de Fe(III), ZIF-8 de Zn(II) e um sistema inédito de Zn(II) e 6-mercaptopurina (6MP). Os materiais compósitos e partículas de azul da Prússia foram avaliados pelas técnicas de microscopia eletrônica de transmissão a qual contribuiu para a determinação da característica núcleo-casca. A espectroscopia de absorção na região do UV-vis-NIR identificou as bandas características da transição Fe(II)-CN-Fe(III) presente no azul da Prússia, as bandas do fármaco 6-mercaptopurina e contribuiu na quantificação do fármaco presente e/ou incorporado no sistema **1(Zn/6MP)** e **PB-PVP@ZIF-8**, respectivamente. As técnicas de DLS e Potencial Zeta foram apropriadas para a identificação da magnitude e carga superficial das partículas, contribuindo desta forma, para o estudo da dispersão da amostra. A difração de raios X permitiu a identificação das fases do sistema, contribuindo para a determinação do grau de pureza de fase dos componentes e do compósito. As análises térmicas indicaram alta estabilidade térmica ($\sim 300^{\circ}\text{C}$) para as partículas funcionalizadas de polivinilpirrolidona e com base em um sistema de equações associado aos eventos de decomposição dos materiais compósitos **PB-PVP@ZIF-8** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP** foi possível estimar a razão de 6,32/93,66 para o sistema **PB-PVP@ZIF-8** e a razão de 1:0,4083:0,136 para o sistema **PB-PVP@ZIF8@6MP**.

As partículas funcionalizadas **PBcitrato** e **PB-PVP** apresentaram absorção na região do Vis-NIR e capacidade de transdução térmica sob irradiação de laser no comprimento de 808 nm. A partir do estudo de investigação fototérmica, foi possível determinar a potência e faixa de tempo de irradiação associada a elevação de temperatura, dentro do *range* de temperatura zona segura ($40\text{-}45^{\circ}\text{C}$) para processos de hipertemia. A propriedade do efeito



fototérmico se mantêm nos compósitos formados como **PVP@ZIF8**, **PB-PVP@ZIF-8@6MP** e **PBcitrato@MIL100(Fe)**.

Ensaio de incorporação do fármaco 6-mercaptopurina (6MP) no sistema **PB-PVP@ZIF-8@6MP** evidenciaram uma eficiência de encapsulação de 98,02% associado a interação coordenada da porção N-doador do fármaco aos íons Zn(II) da rede ZIF-8 e interações *stacking* dos anéis aromáticos. Os ensaios de liberação do fármaco mostram liberação responsiva ao pH e evidenciam a liberação de 14% em solução tampão PBS pH 5,0 e 9% em solução tampão PBS pH 7,4 em um intervalo de 60 h, respectivamente.

Os estudos de revestimento da nanoplateforma bifuncional **PB-PVP@ZIF-8@6-MP** com biofilme de cebola e membranas de macrófagos, **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@FBC** e **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@MM** respectivamente, revelam o resultado satisfatório da proposta. As imagens de microscopia eletrônica evidenciam a vesícula de macrófago aglomerando as partículas em seu interior no sistema **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@MM** e as partículas envolvidas nas fibras do biofilme de cebola no sistema **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@FBC**. Os espectros de energia dispersiva corroboram o revestimento **@MM** pela ausência do feixe associado aos elementos Zn e S indicando a baixa profundidade do feixe sob a amostra e o revestimento **@FBC** pela presença dos feixes associados aos elementos Ca e P provenientes do filme de cebola.

Duas rotas sintéticas foram investigadas para a formação do compósito **PBcitrato@MIL-100(Fe)**, auto-montagem assistida por microondas e auto-montagem layer-by-layer. O compósito obtido pela rota assistida por microondas mostra partículas esféricas na microscopia eletrônica de varredura e mistura de fases na microscopia eletrônica de transmissão. A auto-montagem layer-by-layer evidencia o controle da espessura da casca do *core-shell*. Entretanto, ambas as rotas resultam em compósitos com propriedades de efeito fototérmico a partir da irradiação do laser de comprimento 808 nm.



As rotas de auto-montagem assistida por microondas e layer-by-layer foram avaliadas para o compósito **PB-PVP@MIL-88A(Fe)**. As imagens de microscopia eletrônica de varredura para os compósitos obtidos pela rota assistida por microondas **PB-PVP@MIL-88AMW** evidenciam partículas cúbicas com arestas arredondadas indicando a MOF MIL-88A na superfície. As microscopias para o compósito **PB-PVP@MIL-88ALBL** evidencia a formação de partículas **MIL-88A** isoladas no sistema, entretanto, as imagens mostram a interação das partículas na superfície da partícula **PB-PVP**.

Para o sistema inédito **1(Zn/6MP)** proposto neste trabalho, o resultado de microscopia eletrônica de varredura mostra partículas com morfologia de paralelepípedo (semelhantes a “tijolos”) com tamanho na faixa de 1 – 5 μm . Os espectros de FTIR evidenciam o modo de coordenação pela porção S-doador do fármaco 6MP ao íon Zn(II) pela banda em 1054, 864 e 663 cm^{-1} . A porcentagem de incorporação do fármaco na rede **1(Zn/6MP)**, realizada pela análise UV-Vis do sobrenadante do meio reacional, revela uma eficiência de 99,11% de encapsulação do fármaco na rede.

Neste trabalho, os estudos nos itens a seguir não foram realizados a tempo de fechamento desta tese. A saber: (i) estudo completo do comportamento fototérmico para os sistemas **PB-PVP@ZIF-8@6MP@FBC** e **PB-PVP@ZIF-8@6MP@MM**; (ii) estudo de liberação estimulada pelo laser de comprimento de 808 nm sob condições de tampão PBS; (iii) estudo completo e sistemático do sistema **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@MM** e a investigação do efeito fototérmico e liberação do fármaco a partir do estímulo óptico (laser 808 nm) no sistema **PB-PVP@ZIF-8@6-MP@FBC**; (iv) estudo de liberação do fármaco 6MP a partir do estímulo pelo pH e estímulo óptico (laser 808 nm) no sistema **1(Zn/6MP)**.

Como perspectivas para o trabalho, o primeiro ponto a ser destacado é que o uso de MOFs no meio biológico ainda é um grande desafio. Há a necessidade do estudo de parâmetros (a qual não puderam ser avaliados neste estudo) como toxicidade, viabilidade celular, influência das condições do meio biológico, via de administração, concentração ideal da amostra, potência do laser



808 nm, tempo de irradiação, entre outros. Com isso, espera-se que estes estudos possam ser realizados para o avanço do trabalho.



6 Referências

- 1 S. R. Batten, N. R. Champness, X.-M. Chen, J. Garcia-Martinez, S. Kitagawa, L. Öhrström, M. O’Keeffe, M. Paik Suh and J. Reedijk, *Pure Appl. Chem.*, 2013, **85**, 1715–1724.
- 2 O. M. Yaghi, M. O’Keeffe, N. W. Ockwig, H. K. Chae, M. Eddaoudi and J. Kim, *Nature*, 2003, **423**, 705–714.
- 3 C. Gropp, S. Canossa, S. Wuttke, F. Gándara, Q. Li, L. Gagliardi and O. M. Yaghi, *ACS Cent. Sci.*, 2020, **6**, 1255–1273.
- 4 S. R. Batten, N. R. Champness, X.-M. Chen, J. Garcia-Martinez, S. Kitagawa, L. Öhrström, M. O’Keeffe, M. P. Suh and J. Reedijk, *CrystEngComm*, 2012, **14**, 3001.
- 5 M. O. & O. M. Y. Hailian Li, Mohamed Eddaoudi, *Nature*, 1999, **402**, 276–279.
- 6 R. Frem, G. Arroyos, J. Flor, R. Alves, G. Lucena, C. Silva and M. Coura, *Quim. Nova*, 2018, **41**, 1178–1191.
- 7 C. S. Diercks, M. J. Kalmutzki, N. J. Diercks and O. M. Yaghi, *ACS Cent. Sci.*, 2018, **4**, 1457–1464.
- 8 R. G. Pearson, *Coord. Chem. Rev.*, 1990, **100**, 403–425.
- 9 L. Öhrström and F. M. Amombo Noa, *Metal-Organic Frameworks*, American Chemical Society, Washington, DC, USA, 2021.
- 10 S. M. Moosavi, A. Nandy, K. M. Jablonka, D. Ongari, J. P. Janet, P. G. Boyd, Y. Lee, B. Smit and H. J. Kulik, *Nat. Commun.*, 2020, **11**, 4068.
- 11 K. K. Tanabe and S. M. Cohen, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 498–519.
- 12 Y.-R. Lee, J. Kim and W.-S. Ahn, *Korean J. Chem. Eng.*, 2013, **30**, 1667–1680.
- 13 A. Carné, C. Carbonell, I. Imaz and D. Maspoch, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 291–305.
- 14 D. Bradshaw, S. El-Hankari and L. Lupica-Spagnolo, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 5431–5443.
- 15 S. Keskin and K. Seda, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2011, **50**, 1799–1812.
- 16 Y. Cui, B. Li, H. He, W. Zhou, B. Chen and G. Qian, *Acc. Chem. Res.*, 2016, **49**, 483–493.
- 17 J. Liu, G. P. Yang, Y. Wu, Y. Deng, Q. Tan, W. Y. Zhang and Y. Y. Wang, *Cryst. Growth Des.*, 2017, **17**, 2059–2065.
- 18 L. Zeng, X. Guo, C. He and C. Duan, *ACS Catal.*, 2016, **6**, 7935–7947.
- 19 R. C. Huxford, J. Della Rocca and W. Lin, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2010,



- 14**, 262–268.
- 20 J. Tao, X. Wang, T. Sun, H. Cai, Y. Wang, T. Lin, D. Fu, L. L. Y. Ting, Y. Gu and D. Zhao, *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 1–8.
- 21 A. J. Amoroso and S. J. A. Pope, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 4723–4742.
- 22 X. Wang, P. Yan, Y. Li, G. An, X. Yao and G. Li, *Cryst. Growth Des.*, 2017, **17**, 2178–2185.
- 23 The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)., <https://www.ccdc.cam.ac.uk/News/List/CCDC-MOF-CIF-collection/>.
- 24 M. Rubio-Martinez, C. Avci-Camur, A. W. Thornton, I. Imaz, D. Maspoch and M. R. Hill, *Chem. Soc. Rev.*, 2017, **46**, 3453–3480.
- 25 N. Stock and S. Biswas, *Chem. Rev.*, 2012, **112**, 933–969.
- 26 Y. Sun and H. C. Zhou, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2015, **16**, 54202.
- 27 C. Duan, Y. Yu, J. Xiao, X. Zhang, L. Li, P. Yang, J. Wu and H. Xi, *Sci. China Mater.*, 2020, **63**, 667–685.
- 28 D. Sud and G. Kaur, *Polyhedron*, 2021, **193**, 114897.
- 29 W. Fan, S. Yuan, W. Wang, L. Feng, X. Liu, X. Zhang, X. Wang, Z. Kang, F. Dai, D. Yuan, D. Sun and H.-C. Zhou, *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, **142**, 8728–8737.
- 30 Y. Pan, J. Wang, X. Guo, X. Liu, X. Tang and H. Zhang, *J. Colloid Interface Sci.*, 2018, **513**, 418–426.
- 31 J. Huo, M. Brightwell, S. El Hankari, A. Garai and D. Bradshaw, *J. Mater. Chem. A*, 2013, **1**, 15220.
- 32 N. Reimer, H. Reinsch, A. K. Inge and N. Stock, *Inorg. Chem.*, 2015, **54**, 492–501.
- 33 J. Klinowski, F. A. Almeida Paz, P. Silva and J. Rocha, *Dalt. Trans.*, 2011, **40**, 321–330.
- 34 J. Cui, T. Liu, Q. Zhang, T. Wang and X. Hou, *Chem. Eng. J.*, 2021, **404**, 126453.
- 35 V. A. Polyakov, V. V. Butova, E. A. Erofeeva, A. A. Tereshchenko and A. V. Soldatov, *Energies*, 2020, **13**, 6306.
- 36 S. Bagheri, F. Pazoki and A. Heydari, *ACS Omega*, 2020, **5**, 21412–21419.
- 37 R. G. Deghadi, A. S. Eliwa, A. E. Ali, W. M. Hosny and G. G. Mohamed, *Comments Inorg. Chem.*, 2021, 1–24.
- 38 Z. Q. Li, L. G. Qiu, T. Xu, Y. Wu, W. Wang, Z. Y. Wu and X. Jiang, *Mater. Lett.*, 2009, **63**, 78–80.



- 39 D. Lv, Y. Chen, Y. Li, R. Shi, H. Wu, X. Sun, J. Xiao, H. Xi, Q. Xia and Z. Li, *J. Chem. Eng. Data*, 2017, **62**, 2030–2036.
- 40 P. A. Julien, K. Užarević, A. D. Katsenis, S. A. J. Kimber, T. Wang, O. K. Farha, Y. Zhang, J. Casaban, L. S. Germann, M. Etter, R. E. Dinnebier, S. L. James, I. Halasz and T. Friščić, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**, 2929–2932.
- 41 Z. Wang, Z. Li, M. Ng and P. J. Milner, *Dalt. Trans.*, 2020, **49**, 16238–16244.
- 42 A. M. Joaristi, J. Juan-alcan, P. Serra-crespo, F. Kapteijn and J. Gascon, *Cryst. Growth Des.*, 2012, **12**, 3489–3498.
- 43 W. Cao, Y. Liu, F. Xu, J. Li, D. Li, G. Du and N. Chen, *J. Electrochem. Soc.*, 2020, **167**, 050503.
- 44 N. Campagnol, T. Van Assche, T. Boudewijns, J. Denayer, K. Binnemans, D. De Vos and J. Fransaer, *J. Mater. Chem. A*, 2013, **1**, 5827–5830.
- 45 J. Troyano, C. Çamur, L. Garzón-Tovar, A. Carné-Sánchez, I. Imaz, D. Maspoch and D. Maspoch, *Acc. Chem. Res.*, 2020, **53**, 1206–1217.
- 46 A. Carné-Sánchez, I. Imaz, M. Cano-Sarabia and D. Maspoch, *Nat. Chem.*, 2013, **5**, 203–211.
- 47 A. Carné-Sánchez, K. C. Stylianou, C. Carbonell, M. Naderi, I. Imaz and D. Maspoch, *Adv. Mater.*, 2015, **27**, 869–873.
- 48 S.-H. Kim, S.-T. Yang, J. Kim and W.-S. Ahn, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2011, **32**, 2783–2786.
- 49 L. Xu, E.-Y. Choi and Y.-U. Kwon, *Inorg. Chem. Commun.*, 2008, **11**, 1190–1193.
- 50 M. Sánchez-Sánchez, N. Getachew, K. Díaz, M. Díaz-García, Y. Chebude and I. Díaz, *Green Chem.*, 2015, **17**, 1500–1509.
- 51 J. E. Mondloch, O. Karagiari, O. K. Farha and J. T. Hupp, *CrystEngComm*, 2013, **15**, 9258–9264.
- 52 X. Zhang, Z. Chen, X. Liu, S. L. Hanna, X. Wang, R. Taheri-Ledari, A. Maleki, P. Li and O. K. Farha, *Chem. Soc. Rev.*, 2020, **49**, 7406–7427.
- 53 S. Głowniak, B. Szczęśniak, J. Choma and M. Jaroniec, *Molecules*, 2023, **28**, 2639.
- 54 G. Zhan and H. C. Zeng, *Chem. Commun.*, 2017, **53**, 72–81.
- 55 A. D. G. Firmino, R. F. Mendes, J. P. C. Tomé and F. A. Almeida Paz, *Met. Fram.*, 2018, 57–80.
- 56 B. Valizadeh, T. N. Nguyen and K. C. Stylianou, *Polyhedron*, 2018, **145**, 1–15.



- 57 X. Cai, Z. Xie, D. Li, M. Kassymova, S.-Q. Zang and H.-L. Jiang, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **417**, 213366.
- 58 V. K. LaMer and R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, **72**, 4847–4854.
- 59 M. J. Van Vleet, T. Weng, X. Li and J. R. Schmidt, *Chem. Rev.*, 2018, **118**, 3681–3721.
- 60 B. Seoane, S. Castellanos, A. Dikhtiarenko, F. Kapteijn and J. Gascon, *Coord. Chem. Rev.*, 2016, **307**, 147–187.
- 61 S. Wang, C. M. McGuirk, A. d'Aquino, J. A. Mason and C. A. Mirkin, *Adv. Mater.*, 2018, **30**, 1–14.
- 62 Y. Wang, R. Cai and C. Chen, *Acc. Chem. Res.*, 2019, **52**, 1507–1518.
- 63 R. Liu, T. Yu, Z. Shi and Z. Wang, *Int. J. Nanomedicine*, 2016, **11**, 1187–1200.
- 64 S. Rojas, A. Arenas-vivo and P. Horcajada, *Coord. Chem. Rev.*, 2019, **388**, 202–226.
- 65 J. Yang and Y. Yang, *Small*, 2020, **16**, 1906846.
- 66 H. Cai, Y. Huang and D. Li, *Coord. Chem. Rev.*, 2019, **378**, 207–221.
- 67 F. LIMA, Veronica Ferreira; MERÇON, *Química Nov. na Esc.*, 2011, 199–205.
- 68 S. Rojas, T. Devic and P. Horcajada, *J. Mater. Chem. B*, 2017, **5**, 2560–2573.
- 69 I. Abánades Lázaro and R. S. Forgan, *Coord. Chem. Rev.*, 2019, **380**, 230–259.
- 70 S. Rojas, N. Guillou and P. Horcajada, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, **11**, 22188–22193.
- 71 G. Lan, K. Ni, S. S. Veroneau, X. Feng, G. T. Nash, T. Luo, Z. Xu and W. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 4204–4208.
- 72 B.-T. Qu, J.-C. Lai, S. Liu, F. Liu, Y.-D. Gao and X.-Z. You, *Cryst. Growth Des.*, 2015, **15**, 1707–1713.
- 73 S. R. Miller, D. Heurtaux, T. Baati, P. Horcajada, J.-M. Grenèche and C. Serre, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 4526.
- 74 I. Tibbetts and G. Kostakis, *Molecules*, 2020, **25**, 1291.
- 75 I. Imaz, M. Rubio-Martínez, J. An, I. Solé-Font, N. L. Rosi and D. MasPOCH, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 7287–7302.
- 76 G. Chen, J. Luo, M. Cai, L. Qin, Y. Wang, L. Gao, P. Huang, Y. Yu, Y. Ding, X. Dong, X. Yin and J. Ni, *Molecules*, 2019, **24**, 3369.
- 77 P. Horcajada, T. Chalati, C. Serre, B. Gillet, C. Sebrie, T. Baati, J. F.



- Eubank, D. Heurtaux, P. Clayette, C. Kreuz, J. S. Chang, Y. K. Hwang, V. Marsaud, P. N. Bories, L. Cynober, S. Gil, G. Férey, P. Couvreur and R. Gref, *Nat. Mater.*, 2010, **9**, 172–178.
- 78 J. Yang, C. A. Trickett, S. B. Alahmadi, A. S. Alshammari and O. M. Yaghi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 8118–8121.
- 79 M.-X. Wu and Y.-W. Yang, *Adv. Mater.*, 2017, **29**, 1606134.
- 80 Y.-B. Pan, S. Wang, X. He, W. Tang, J. Wang, A. Shao and J. Zhang, *J. Mater. Chem. B*, 2019, **7**, 7683–7689.
- 81 T. Simon-Yarza, T. Baati, F. Neffati, L. Njim, P. Couvreur, C. Serre, R. Gref, M. F. Najjar, A. Zakhama and P. Horcajada, *Int. J. Pharm.*, 2016, **511**, 1042–1047.
- 82 R. A. Marson Armando, M. P. Abuçafy, A. E. Graminha, R. S. da Silva and R. C. G. Frem, *J. Solid State Chem.*, 2021, **297**, 122081.
- 83 P. Wiśniewska, J. Haponiuk, M. R. Saeb, N. Rabiee and S. A. Bencherif, *Chem. Eng. J.*, 2023, **471**, 144400.
- 84 J. Liu, J. Huang, L. Zhang and J. Lei, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, **50**, 1188–1218.
- 85 C. R. Marshall, S. A. Staudhammer and C. K. Brozek, *Chem. Sci.*, 2019, **10**, 9396–9408.
- 86 M. de J. Velásquez-Hernández, M. Linares-Moreau, E. Astria, F. Carraro, M. Z. Alyami, N. M. Khashab, C. J. Sumby, C. J. Doonan and P. Falcaro, *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **429**, 213651.
- 87 E. Baa, G. M. Watkins, R. W. Krause and D. N. Tantoh, *Chinese J. Chem.*, 2019, **37**, 378–404.
- 88 Y. Liu, Y. Zhao and X. Chen, *Theranostics*, 2019, **9**, 3122–3133.
- 89 J. Yang and Y. Yang, *View*, 2020, **1**, 1–26.
- 90 R. Ettlinger, U. Lächelt, R. Gref, P. Horcajada, T. Lammers, C. Serre, P. Couvreur, R. E. Morris and S. Wuttke, *Chem. Soc. Rev.*, 2022, **51**, 464–484.
- 91 R. F. Mendes, F. Figueira, J. P. Leite, L. Gales and F. A. Almeida Paz, *Chem. Soc. Rev.*, 2020, **49**, 9121–9153.
- 92 K. M. L. Taylor, W. J. Rieter and W. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 14358–14359.
- 93 M. Shokouhimehr, E. S. Soehnlén, J. Hao, M. Griswold, C. Flask, X. Fan, J. P. Basilion, S. Basu and S. D. Huang, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 5251–5259.
- 94 E. Blanco, H. Shen and M. Ferrari, *Nat. Biotechnol.*, 2015, **33**, 941–951.



- 95 M. Kalaj and S. M. Cohen, *ACS Cent. Sci.*, 2020, **6**, 1046–1057.
- 96 R. H. Fang, A. V. Kroll, W. Gao and L. Zhang, *Adv. Mater.*, 2018, **30**, 1–34.
- 97 H. D. Lawson, S. P. Walton and C. Chan, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021, **13**, 7004–7020.
- 98 Z. Sun, T. Li, T. Mei, Y. Liu, K. Wu, W. Le and Y. Hu, *J. Mater. Chem. B*, 2023, **11**, 3273–3294.
- 99 W. Shang, L. Peng, P. Guo, H. Hui, X. Yang and J. Tian, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2020, **6**, 1008–1016.
- 100 A. A. Vodyashkin, A. V. Sergorodceva, P. Kezimana and Y. M. Stanishevskiy, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, **24**, 7819.
- 101 S. H. Yun and S. J. J. Kwok, *Nat. Biomed. Eng.*, 2017, **1**, 0008.
- 102 N. Fernandes, C. F. Rodrigues, A. F. Moreira and I. J. Correia, *Biomater. Sci.*, 2020, **8**, 2990–3020.
- 103 G. H. Lee, H. Moon, H. Kim, G. H. Lee, W. Kwon, S. Yoo, D. Myung, S. H. Yun, Z. Bao and S. K. Hahn, *Nat. Rev. Mater.*, 2020, **5**, 149–165.
- 104 G.-H. Lee, H. Moon, H. Kim, G. H. Lee, W. Kwon, S. Yoo, D. Myung, S. H. Yun, Z. Bao and S. K. Hahn, *Nat. Rev. Mater.*, 2020, **5**, 149–165.
- 105 P. Zarrintaj, Z. Ahmadi, M. Hosseinneshad, M. R. Saeb, P. Laheurte and M. Mozafari, *Mater. Today Proc.*, 2018, **5**, 15836–15844.
- 106 J. Nam, S. Son, K. S. Park, W. Zou, L. D. Shea and J. J. Moon, *Nat. Rev. Mater.*, 2019, **4**, 398–414.
- 107 P. N. Youssef, N. Sheibani and D. M. Albert, *Eye*, 2011, **25**, 1–14.
- 108 B. L. Snyder, H. S. Mohammed, D. S. K. Samways and D. A. Shipp, *Macromol. Biosci.*, 2020, **20**, 1–9.
- 109 H. Kaur, G. C. Mohanta, V. Gupta, D. Kukkar and S. Tyagi, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2017, **41**, 106–112.
- 110 H. S. Jung, P. Verwilt, A. Sharma, J. Shin, J. L. Sessler and J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 2280–2297.
- 111 D. Jaque, L. Martínez Maestro, B. Del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J. L. Plaza, E. Martín Rodríguez and J. García Solé, *Nanoscale*, 2014, **6**, 9494–9530.
- 112 S. Li, Q. Deng, Y. Zhang, X. Li, G. Wen, X. Cui, Y. Wan, Y. Huang, J. Chen, Z. Liu, L. Wang and C. Lee, *Adv. Mater.*, 2020, **32**, 2001146.
- 113 X. Huang and M. A. El-Sayed, *J. Adv. Res.*, 2010, **1**, 13–28.
- 114 G. Dacarro, A. Taglietti and P. Pallavicini, *Molecules*, 2018, **23**, 1–20.



- 115 D. Wang, J. Zhou, R. Shi, H. Wu, R. Chen, B. Duan, G. Xia, P. Xu, H. Wang, S. Zhou, C. Wang, H. Wang, Z. Guo and Q. Chen, *Theranostics*, 2017, **7**, 4605–4617.
- 116 D. Wang, J. Zhou, R. Chen, R. Shi, G. Zhao, G. Xia, R. Li, Z. Liu, J. Tian, H. Wang, Z. Guo, H. Wang and Q. Chen, *Biomaterials*, 2016, **100**, 27–40.
- 117 K. Szigeti, N. Hegedűs, K. Rácz, I. Horváth, D. S. Veres, D. Szöllősi, I. Futó, K. Módos, T. Bozó, K. Karlinger, N. Kovács, Z. Varga, M. Babos, F. Budán, P. Padmanabhan, B. Gulyás and D. Máthé, *Contrast Media Mol. Imaging*, 2018, **2018**, 1–10.
- 118 P. Railey, Y. Song, T. Liu and Y. Li, *Mater. Res. Bull.*, 2017, **96**, 385–394.
- 119 M. Shokouhimehr, E. S. Soehnlen, J. Hao, M. Griswold, C. Flask, X. Fan, J. P. Basilion, S. Basu and S. D. Huang, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 5251.
- 120 M. Hu, S. Furukawa, R. Ohtani, H. Sukegawa, Y. Nemoto, J. Reboul, S. Kitagawa and Y. Yamauchi, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, 2012, **51**, 984–988.
- 121 Y. Xu, Y. Zhang, X. Cai, W. Gao, X. Tang, Y. Chen, J. Chen, L. Chen, Q. Tian, S. Yang, Y. Zheng and B. Hu, *Int. J. Nanomedicine*, 2019, **14**, 271–288.
- 122 B. Illes, P. Hirschle, S. Barnert, V. Cauda, S. Wuttke and H. Engelke, *Chem. Mater.*, 2017, **29**, 8042–8046.
- 123 T. Chalati, P. Horcajada, R. Gref, P. Couvreur and C. Serre, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 2220–2227.
- 124 D. dos S. Dias, C. G. Otoni, R. R. da Silva, A. B. Meneguim, L. H. C. Mattoso, H. da S. Barud and C. A. Ribeiro, *Ind. Crops Prod.*, 2020, **145**, 111847.
- 125 C. Gao, Z. Lin, B. Jurado-Sánchez, X. Lin, Z. Wu and Q. He, *Small*, 2016, **12**, 4056–4062.
- 126 L. Rao, Z. He, Q. Meng, Z. Zhou, L. Bu, S. Guo, W. Liu and X. Zhao, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 2017, **105**, 521–530.
- 127 R. Javed, M. Zia, S. Naz, S. O. Aisida, N. ul Ain and Q. Ao, *J. Nanobiotechnology*, 2020, **18**, 172.
- 128 G. Lu, S. Li, Z. Guo, O. K. Farha, B. G. Hauser, X. Qi, Y. Wang, X. Wang, S. Han, X. Liu, J. S. DuChene, H. Zhang, Q. Zhang, X. Chen, J. Ma, S. C. J. Loo, W. D. Wei, Y. Yang, J. T. Hupp and F. Huo, *Nat. Chem.*, 2012, **4**, 310–316.
- 129 G. . MIESSLER, P. J. . FISCHER and D. A. . TARR, *Química Inorgânica*, Pearson Education, São Paulo, 5ª ed., 2014.
- 130 S. Kjeldgaard, I. Dugulan, A. Mamakhel, M. Wagemaker, B. B. Iversen and A. Bentien, *R. Soc. Open Sci.*, 2021, **8**, 201779.



- 131 M. Hu, J. Sen Jiang, R. P. Ji and Y. Zeng, *CrystEngComm*, 2009, **11**, 2257–2259.
- 132 R. E. Wilde, S. N. Ghosh and B. J. Marshall, *Inorg. Chem.*, 1970, **9**, 2512–2516.
- 133 H. A. Hoffman, L. Chakrabarti, M. F. Dumont, A. D. Sandler and R. Fernandes, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 29729–29734.
- 134 S. A. Brandán, L. C. Bichara, H. E. Lans, E. G. Ferrer and M. B. Gramajo, *Adv. Phys. Chem.*, , DOI:10.1155/2011/347072.
- 135 P. R. Bueno, F. F. Ferreira, D. Giménez-Romero, G. Oliveira Setti, R. C. Faria, C. Gabrielli, H. Perrot, J. J. Garcia-Jareño and F. Vicente, *J. Phys. Chem. C*, 2008, **112**, 13264–13271.
- 136 The influence of particles on suspension rheology, <https://wiki.anton-paar.com/en/the-influence-of-particles-on-suspension-rheology/>.
- 137 M. Danaei, M. Dehghankhold, S. Ataei, F. Hasanzadeh Davarani, R. Javanmard, A. Dokhani, S. Khorasani and M. R. Mozafari, *Pharmaceutics*, 2018, **10**, 1–17.
- 138 Horiba, Dynamic Light Scattering (DLS) Particle Size Distribution Analysis, <https://www.horiba.com/bra/en-en/technology/measurement-and-control-techniques/material-characterization/dynamic-light-scattering/>.
- 139 Malvern Panalytical, Zetasizer Nano ZS, <https://www.malvernpanalytical.com/br/support/product-support/zetasizer-range/zetasizer-nano-range/zetasizer-nano-zs>.
- 140 S. Bhattacharjee, *J. Control. Release*, 2016, **235**, 337–351.
- 141 W. Rasband, Image J, <http://imagej.nih.gov/ij>.
- 142 Z. J. W. A. Leijten, A. D. A. Keizer, G. De With and H. Friedrich, *J. Phys. Chem. C*, 2017, **121**, 10552–10561.
- 143 S. Bhattacharjee, *J. Control. Release*, 2016, **235**, 337–351.
- 144 Fritsch, FRITSCH website, <https://www.fritsch.pt/medicao-de-particulas/conhecimento-fritsch/hydrodynamic-diameter/>, (accessed 25 May 2022).
- 145 J. Li, L. He, J. Jiang, Z. Xu, M. Liu, X. Liu, H. Tong, Z. Liu and D. Qian, *Electrochim. Acta*, 2020, **353**, 136579.
- 146 D. Wang, J. Zhou, R. Chen, R. Shi, G. Zhao, G. Xia, R. Li, Z. Liu, J. Tian, H. Wang, Z. Guo, H. Wang and Q. Chen, *Biomaterials*, 2016, **100**, 27–40.
- 147 D. M. Rogers and J. O. Johansson, *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, 2018, **227**, 28–38.



- 148 Y. Liu, P. Bhattarai, Z. Dai and X. Chen, *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**, 2053–2108.
- 149 N. Fernandes, C. F. Rodrigues, A. F. Moreira and I. J. Correia, *Biomater. Sci.*, 2020, **8**, 2990–3020.
- 150 C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler and J. Van De Streek, *J. Appl. Crystallogr.*, 2006, **39**, 453–457.
- 151 J. C. Cardoso, S. Stulp, J. F. de Brito, J. B. S. Flor, R. C. G. Frem and M. V. B. Zanoni, *Appl. Catal. B Environ.*, 2018, **225**, 563–573.
- 152 H. Zhang, W. Chen, K. Gong and J. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, **9**, 31519–31525.
- 153 S. Chirra, L.-F. Wang, H. Aggarwal, M.-F. Tsai, S. S. Soorian, S. Siliveri, S. Goskula, S. R. Gujjula and V. Narayanan, *Mater. Today Commun.*, 2021, **26**, 101993.
- 154 A. Cuin, A. C. Massabni, G. A. Pereira, C. Q. F. Leite, F. R. Pavan, R. Sesti-Costa, T. A. Heinrich and C. M. Costa-Neto, *Biomed. Pharmacother.*, 2011, **65**, 334–338.
- 155 V. Agrawal, M. K. Paul and A. K. Mukhopadhyay, *J. Liposome Res.*, 2005, **15**, 141–155.
- 156 X. Cai, X. Jia, W. Gao, K. Zhang, M. Ma, S. Wang, Y. Zheng, J. Shi and H. Chen, *Adv. Funct. Mater.*, 2015, **25**, 2520–2529.
- 157 B. Olaniyan and B. Saha, *Energies*, 2020, **13**, 521.
- 158 A. R. Chowdhuri, D. Laha, S. Pal, P. Karmakar and S. K. Sahu, *Dalt. Trans.*, 2016, **45**, 18120–18132.
- 159 F. V. Borbolla-Jiménez, S. I. Peña-Corona, S. J. Farah, M. T. Jiménez-Valdés, E. Pineda-Pérez, A. Romero-Montero, M. L. Del Prado-Audelo, S. A. Bernal-Chávez, J. J. Magaña and G. Leyva-Gómez, *Pharmaceutics*, 2023, **15**, 1914.
- 160 M. Jurgiel-Malecka, G., Gibczynska, M., & Nawrocka-Pezik, *Comp. Chem. Compos. Sel. Cultiv. white, yellow red onions.*, 2015, **21**, 736–741.
- 161 L.-N. Liu, J.-G. Dai, T.-J. Zhao, S.-Y. Guo, D.-S. Hou, P. Zhang, J. Shang, S. Wang and S. Han, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 35075–35085.

