

JEAN VALDIR UCHÔA TEIXEIRA

Incorporação de gálio em partículas de polidopamina para aplicação biomédica

Jean Valdir Uchôa Teixeira

Incorporação de gálio em partículas de polidopamina para aplicação biomédica

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica na área de materiais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Rosifini
Alves Claro

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Amaral
Escada

Guaratinguetá - SP
2020

T266i	Teixeira, Jean Valdir Uchôa Incorporação de gálio em partículas de polidopamina para aplicação biomédica / Jean Valdir Uchôa Teixeira – Guaratinguetá, 2020. 59 f : il. Bibliografia: f. 54-59 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2020. Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Rosifini Alves Claro Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Lucia Amaral Escada 1. Polímeros na medicina. 2. Materiais biomédicos. 3. Gálio. I. Título. CDU 620.1(043)
-------	---

JEAN VALDIR UCHÔA TEIXEIRA

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
“MESTRE EM ENGENHARIA MECÂNICA”

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
CURSO: MESTRADO ACADÊMICO

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO


Prof.ª Dr.ª Ivonete Ávila
Coordenadora

BANCA EXAMINADORA:



Prof.ª Dr.ª ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientadora/UNESP/FEG



p/ Prof. Dr. EDSON COCCHIERI BOTELHO
UNESP/FEG
Participou por videoconferência



p/ Prof. Dr. PAULO NORONHA LISBOA FILHO
UNESP/FEB
Participou por videoconferência

Março de 2020

DADOS CURRICULARES

JEAN VALDIR UCHÔA TEIXEIRA

NASCIMENTO: 03.02.1994 – Belém / PA

FILIAÇÃO: Valdir Rocha Teixeira
Wilma Uchôa Teixeira

2013/2018: Bacharelado em Engenharia de Materiais
Instituto Federal do Pará

Dedico este trabalho à minha família, em especial a minha avó, e aos meus amigos, por todo incentivo e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, fonte da vida e da graça. Agradeço pela minha vida, minha inteligência, minha família e meus amigos;

Aos meus pais *Wilma e Valdir*, que apesar das dificuldades enfrentadas, sempre incentivaram meus estudos;

A minha orientadora, *Prof^a. Dr^a. Ana Paula Rosifini Alves Claro* que jamais deixou de me incentivar. Sem a sua orientação, dedicação e auxílio, o estudo aqui apresentado seria praticamente impossível;

A minha coorientadora, *Prof^a. Dr^a. Ana Lucia Amaral Escada*, pelo seu auxílio durante a trajetória desta dissertação.

Ao *Prof. Dr. Paulo Noronha Lisboa Filho* e aos alunos do laboratório de materiais avançados e nanotecnologia da Faculdade de ciências da Unesp Bauru.

Ao *Prof. Dr. Ronaldo Spezia Nunes* pelo auxílio na realização da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Ao *Dr. João Paulo Barros Machado* pela realização da microscopia eletrônica de varredura (MEV), realizada no LABAS/INPE.

Ao *Dr. Joaquim Miguel Oliveira*, pela realização dos ensaios de viabilidade celular.

A minha estimada amiga *Fernanda Malato Praxedes*, por todo apoio durante estes 7 anos de amizade;

Aos demais alunos do grupo de biomateriais, pelo auxílio durante os momentos de dúvida;

Aos funcionários da Faculdade de Engenharia do Campos de Guaratinguetá pela dedicação e alegria no atendimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - código de financiamento 001.

“Eu prefiro ser essa metamorfose ambulante,
do que ter aquela velha opinião formada sobre
tudo”

Raul Seixas

RESUMO

Infecção bacteriana sempre foi uma grande preocupação para medicina, principalmente devido a capacidade de adaptação de bactérias, e consequente aparecimento de cepas resistentes aos medicamentos convencionais. Como alternativa a esta problemática, estudos vem comprovando a eficácia de íons metálicos, no combate a diferentes tipos de microrganismos. Dentre metais com propriedade bactericida, há o gálio, elemento com interessante conjunto de propriedades que possibilitaram seu uso em tratamentos terapêuticos, entretanto sua ação bactericida ainda se encontra pouco explorada na literatura. Como forma veiculação deste metal, escolheu-se a polidopamina, um polímero baseado em compostos presentes na composição de moluscos, os quais lhe conferem interessantes propriedades de adesão em diferentes superfícies e capacidade de ancoragem de íons ou moléculas. Com base nas informações expostas, a presente dissertação tem por objetivo produzir partículas de polidopamina com incorporação de gálio para aplicação biomédica. Para isso, inicialmente o polímero foi sintetizado a partir da polimerização do hidrocloreto de dopamina em ambiente alcalino, com pH ajustado em 9,0 a temperatura ambiente e com agitação magnética. Em seguida o material foi centrifugado e seco. Em fase posterior, a incorporação do gálio se deu a partir da dissolução de nitrato de gálio na presença das partículas previamente produzidas, sendo mantido em solução por 18 horas. O material resultante foi novamente centrifugado e seco para posterior análises. O acompanhamento do processo de síntese mostrou a diminuição do pH, assim como o aumento da absorbância na região entre 300 nm e 600 nm, dados que evidenciam a formação de polidopamina. Com base nos resultados de microscopia eletrônica de varredura, pode-se perceber a formação de estruturas esféricas, com diâmetro médio de 320 nm. Resultados de EDS mostraram que ocorreu efetivamente a incorporação de gálio, com base nestes resultados, foi possível concluir foi possível sintetizar partículas de polidopamina com as condições adotadas, além da efetiva incorporação de gálio no material. Em ensaios *in vitro* foi possível constatar que a incorporação de gálio favoreceu a interação com células tronco originárias de material adiposo, melhorando a viabilidade celular em comparação com o material sem o metal. Com base em todos estes resultados, foi possível concluir que foi possível produzir um material com propriedades adequadas e boa interação com celular, para possível aplicação biomédica e bactericida.

PALAVRAS-CHAVE: Síntese. Polidopamina. Gálio. Partícula biocompatível.

ABSTRACT

Bacterial infection has always been a major concern for medicines, mainly due to the ability of bacteria to adapt and the consequent appearance of strains resistant to the drugs used. As an alternative to this problem, studies have proven the effectiveness of metal ions against different types of microorganisms. Among the metals with bacterial property, there is the gallium, an element with interesting set of properties that allow their use in therapeutic treatments, however, their bacterial action remain little explored in the literature. As a carrier for this metal, select polydopamine, that is a polymer based on compounds present in the shellfish composition, which give to it good abilities to attach on different surfaces and can be associated with different ions or molecules to anchor. Based on the information presented, this dissertation aims to produce polydopamine particles with incorporation of gallium to biomedical application. For this, initially, the polymer was synthesized from the polymerization of dopamine hydrochloride in the alkaline environment, with pH adjusted to 9.0 at room temperature and with magnetic stirring. Then the material was centrifuged and dried. In the later phase, an incorporation of gallium resulted from the dissolution of gallium nitrate in the presence of the initial material produced, being kept in the solution for 18 hours. The material was centrifuged again and dried for further analysis. The monitoring of the synthesis process showed a decrease in pH, such as increased absorption in the region between 300 nm and 600 nm, data showing the formation of polydopamine. Based on the results of scanning electron microscopy, the formation of spherical structures with an average diameter of 320 nm can be seen. EDS results that effectively exhibited gallium uptake but did not form a noticeable crystalline phase in X-ray diffraction. Based on the results, it was concluded that it was possible to obtain polydopamine particles synthesized with the adopted conditions, in addition to the incorporated uptake of gallium in the material. In in vitro tests, it was found that the incorporation of gallium favored the interaction with stem cells originating from adipose material, improving cell viability in comparison with material without metal. Based on all these results, it was possible to conclude that it was possible to produce a material with characteristics and allow cellular interaction, for possible biomedical and bactericidal application.

KEYWORDS: Synthesis. Polydopamine. Gallium. Biocompatible particle.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – classes de materiais em função da sua interação com microrganismos.....	21
Figura 3.2 – Micrografia do medicamento Doxil® (A) e representação do sistema de encapsulamento utilizado (B).....	23
Figura 3.3 – Representação das principais propriedades dos catecois.....	24
Figura 3.4 – Representação do processo de polimerização do hidrocloreto de dopamina...	26
Figura 3.5 – Representação dos possíveis estágios de abertura de cadeia e ciclização.....	27
Figura 3.6 – Representação das possibilidades de interação entre os monômeros de DHI.	28
Figura 3.7 – Representação dos possíveis tipos de nanopartícula de polidopamina.....	29
Figura 3.8 – Representação dos estágios de contaminação bacteriana.....	32
Figura 3.9 – Representação das formas apresentadas pelo gálio em função do pH.....	32
Figura 4.1 – Fluxograma das atividades realizadas.....	36
Figura 4.2 – Reagentes utilizados (A e B) e sistema de síntese de polidopamina (C).....	37
Figura 4.3 – Equipamento de centrifugação utilizado para separação do material sólido da solução.....	38
Figura 4.4 – Equipamento utilizado para realizar a dispersão das nanopartículas previamente sintetizadas.....	38
Figura 4.5 – Equipamento de espectrofotometria UV-VIS PerkinElmer utilizado.....	39
Figura 4.6 – Microscópio eletrônico de varredura utilizado.....	40
Figura 4.7 – Equipamento utilizado para medidas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada.....	41
Figura 4.8 – Processo de esterilização UV, com detalhamento do posicionamento do material em relação a fonte UV.....	43
Figura 5.1 – Variação do pH durante a síntese de polidopamina.....	45
Figura 5.2 – Representação das etapas de formação de dopaminocromo.....	46
Figura 5.3 – Gráfico da absorbância da solução de polidopamina no decorrer do tempo...	47
Figura 5.4 – Representação das etapas das possíveis posições de interação iônica metálico/polidopamina.....	48
Figura 5.5 – Resultados obtidos a partir da microscopia eletrônica de varredura da polidopamina (A e C) e polidopamina com incorporação de gálio (B e D) e resultados da análise química obtida por EDS (E).....	49
Figura 5.6 – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das	

amostras de dopamina (DA), polidopamina (PDA) e polidopamina com gálio (PDA@Ga).....	52
Figura 5.7 – Fluorescência confocal de amostras de partículas de polidopamina (A) e polidopamina com incorporação de gálio (B) expostos a células de tecido adiposo por 24 e 48 horas.....	54
Figura 5.8 – Atividade metabólica de dsDNA das células tronco derivadas de tecido adiposo expostas as partículas por 24 e 48 horas.....	56

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 – Termos relacionados a biocompatibilidade.....	20
Quadro 3.2 – Relação de proteínas tipo Mefp.....	25
Quadro 3.3 – Relação de nanopartículas produzidas, de acordo com sua finalidade.....	30
Quadro 3.4 – Relação dos compostos de gálio utilizados na literatura com função bactericida.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CP	Comercialmente puro
Doxil	Sulfato de doxorrubicina encapsulado em Polietilenoglicol
DHI	5,6 dihidroxilindol
DOPA	3,4-dihidroxifenilamina
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
Ga	Gálio (elemento químico)
Ga(NO ₃) ₃	Nitrato de gálio
Ga(OH) ₃	Hidróxido de gálio
GaAs	Arsenieto de gálio
GaN	Nitreto de gálio
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
LABAS	Laboratório associado de sensores e materiais
Mefp	<i>Mytilus edulis foot protein</i>
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
Np	Nanopartícula
PDA	Polidopamina
PDA@Ga	Polidopamina com incorporação de gálio
PEG	Polietilenoglicol
PET	Politereftalato de etileno
pH	Potencial hidrogênico
U.A	Unidade arbitrária
UV-VIS	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Percentual
Θ	Theta
μm	Micrometro
π	Pi
KDal	Quilodalton
Nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS.....	18
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1	CONCEITOS GERAIS EM BIOMATERIAIS	19
3.2	ASPECTOS GERAIS EM BIOMATERIAIS BACTERICIDAS.....	20
3.3	NANOPARTÍCULAS E NANOCAPSULAS DE USO BIOMÉDICO	22
3.4	POLIDOPAMINA	24
3.5	NANOPARTÍCULAS DE POLIDOPAMINA	28
3.6	AGENTE BACTERICIDA	31
3.7	GÁLIO.....	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS.....	36
4.2	ACOMPANHAMENTO DOS PARÂMETROS DE SÍNTESE	39
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	40
4.3.1	Microscopia eletrônica de Varredura.....	40
4.3.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier FTIR.....	41
4.3.3	Viabilidade Celular.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIDOPAMINA	45
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL OBTIDO	48
5.2.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	41
5.2.2	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier FTIR.....	43
5.2.3	Viabilidade Celular.....	53
6	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

No último século, importantes avanços foram realizados na área de biomateriais, como o desenvolvimento de implantes biodegradáveis, tecidos e órgãos artificiais, técnicas de remediação localizada ou hipertermia para tratamento de câncer, entre outras significativas conquistas. Apesar dos efetivos avanços e novas tecnologias desenvolvidas, questões fundamentais como as interações de superfície, a exemplo da interação implante-corpo, implante-microrganismos e corpo-microrganismos. Este último tem especial apelo, uma vez que a relação entre corpo e microrganismos como bactérias, fungos e vírus. Esta relação tem grande importância devido ao grande perigo representado por estes microrganismos a saúde humana.

De modo a minimizar os efeitos destes no bem-estar e saúde dos pacientes, diferentes estudos foram realizados em busca de materiais com potencial não citotóxico e bactericida. Nesse contexto as melaninas representam grande potencialidade, devido as possibilidade de servirem como plataforma para obter materiais bactericidas, com efeito antioxidante, proteção foto e eletromagnética, capacidade de eliminação de radicais livres, capacidade de interação com diferentes moléculas, íons e compostos inorgânicos, biodegradabilidade, biocompatibilidade e facilidade de reprodução em laboratório (Liu *et al.*, 2020).

A palavra melanina deriva do grego “μέλας” que significa preto e αἰ que significa sempre, que pode ser traduzida como sempre preto (Pavan, López e Pettinari, 2020), sendo atualmente a denominação para o conjunto de pigmentos formados pela polimerização de compostos indólicos ou fenólicos, sendo encontrados em animais, plantas e fungos (Toledo *et al.*, 2017), sendo a polidopamina um dos mais famosos representantes desta classe de compostos.

Nesse sentido, a polidopamina apresenta a grande vantagem de ser de fácil processamento, sendo uma excelente plataforma para incorporação de íons metálicos capazes de produzir efeito bactericida e bacteriostático, podendo ser utilizada na forma de filmes ou partículas, isoladamente ou como revestimento em outros materiais.

Sua utilização na forma de filmes já é amplamente discutida na literatura, sendo utilizada como revestimento bactericida com incorporação de prata (GhavamiNejad *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2017; Yin *et al.*, 2019), sendo investigado também no grupo de biomateriais da faculdade de engenharia de Guaratinguetá, a partir da incorporação de prata em filmes de polidopamina depositados em nanotubos de TiO₂ crescidos na liga Ti7,5Mo (Alves Claro *et al.*, 2018), obtendo excelentes resultados na redução de bactérias.

Por outro lado, sua utilização na forma particulada ainda apresenta grande lacuna na literatura, principalmente no que diz respeito da efetividade da sua função bactericida após incorporação de metais, devido as possíveis formas de ligação entre este material e o organismo humano, efeito da concentração de metal na citotoxicidade e do tamanho de partícula na sua efetiva interação.

Buscando o aperfeiçoamento da resposta bactericida e citotóxica desta forma de polidopamina, diferentes composições são propostas, com uso de ferro, manganês, zinco (Vega *et al.*, 2018), cobre e prata (Yeroslavsky *et al.*, 2016), os quais contribuíram para a compreensão este material particulado e microrganismos prejudiciais ao ser humano, assim como efeito do concentração do metal na citotoxicidade. Entretanto, ainda há uma lacuna na utilização de partículas de polidopamina com incorporação de gálio.

Este metal além de apresentar efeito bactericida, também é associado a diversos tratamentos terapêuticos, tais como prevenção de reabsorção óssea, tratamento contra diversos tipos de câncer e doenças auto imunes (Minandri *et al.*, 2014; Strazic-Geljic *et al.*, 2016), os quais o tornam excelente candidato a incorporação em partículas de polidopamina. Portanto, nesta dissertação será abordada a proposta de utilização de um novo material obtido a partir da síntese de polidopamina particulada com incorporação de gálio, com baixa toxicidade e ação bactericida.

2 OBJETIVOS

Com base nas informações evidenciadas, a presente dissertação tem por **objetivo geral** sintetizar partículas de polidopamina com incorporação de gálio para aplicação biomédica.

Tendo como objetivos específicos:

- Sintetizar partículas de polidopamina por meio da auto-oxidação em meio básico;
- Analisar o processo de síntese e os possíveis compostos formados durante a oxidação e ciclização da dopamina em meio básico;
- Incorporar gálio na superfície da polidopamina previamente sintetizada por meio da sua redução via interação com grupos catecolaminas presentes no material;
- Avaliar a interação entre as partículas sintetizadas com e sem incorporação de gálio e células humanas;

Com base nestes objetivos, pretende-se estabelecer um protocolo para síntese e utilização deste material futuramente em conjunto com outros materiais.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONCEITOS GERAIS EM BIOMATERIAIS

Um dos termos imediatamente associados a biomateriais é biocompatibilidade, o qual ainda apresenta controvérsias em relação a sua definição. Segundo Willians (2017), a primeira definição do termo data de 1980, quando definiram como “a habilidade de um material executar uma aplicação específica com uma resposta apropriada do hospedeiro”, sendo esta uma tentativa inicial de definir biocompatibilidade, sendo vaga e imprecisa.

Para Pappalardo e colaboradores (2019), esta definição não consegue abranger a complexidade das interações entre biomateriais e o hospedeiro, devida a diversidade de aplicações possíveis, as quais demandam diferentes propriedades e interações. Tendo em vista que este primeiro conceito tratava de materiais não absorvíveis e não biodegradáveis, tal definição não consegue abranger esta nova classe emergente de materiais.

Em uma definição mais recente, e que pretende abranger estes novos materiais, Ghasemi-mobarakeh e colaboradores (2019) definem como sendo “a habilidade de um material executar sua função desejada, com respeito a uma terapia médica, para induzir uma resposta apropriada no hospedeiro em uma específica aplicação e interagir com sistemas vivos sem causar riscos de injúria, toxicidade, ou rejeição pelo sistema imune ou efeito sistêmico inapropriado”.

Em termos mais abrangentes, algumas interações específicas também são necessárias em diversas aplicações, para considerar um determinado material biocompatível, as quais são apresentadas no quadro 3.1, e dizem podem ser requeridas ou não em uma determinada aplicação.

Todos os termos apresentados são relacionados a materiais que interajam diretamente com sistemas vivos, sejam eles animais ou humanos, e estes materiais, quando possuem as características. Em uma definição recente, estes (bio)materiais são “substâncias projetadas para tomar forma, sozinha ou como parte de um sistema complexo que será utilizado para controlar interações com outros componentes do sistema vivo, no curso de um determinado tratamento terapêutico” (Chen e Thouas, 2015).

Quadro 3.1 – Termos relacionados a biocompatibilidade.

Citotoxicidade	Habilidade de um material de induzir morte celular ou tecidual	(Chen e Thouas, 2015)
Hemocompatibilidade	Habilidade de um material em contato com o sangue de ter mínima interação com plaquetas, evitando a formação de trombos e não liberação de substâncias nocivas na corrente sanguínea.	(Ghasemi-Mobarakeh <i>et al.</i> , 2019)
Carcinogenicidade	Habilidade de um determinado elemento, composto ou material de induzir a ocorrência de um tumor ou aumentar sua incidência quando em contato com o hospedeiro.	
Trombogenicidade	Habilidade de um elemento, composto ou material de formar trombos.	
Encapsulamento fibroso	Tendência do material em formar uma camada densa e não vascularizada de colágeno que age como barreira física e biológica entre o tecido e o biomaterial.	

Fonte: Autoria própria

3.2 ASPECTOS GERAIS EM BIOMATERIAIS BACTERICIDAS

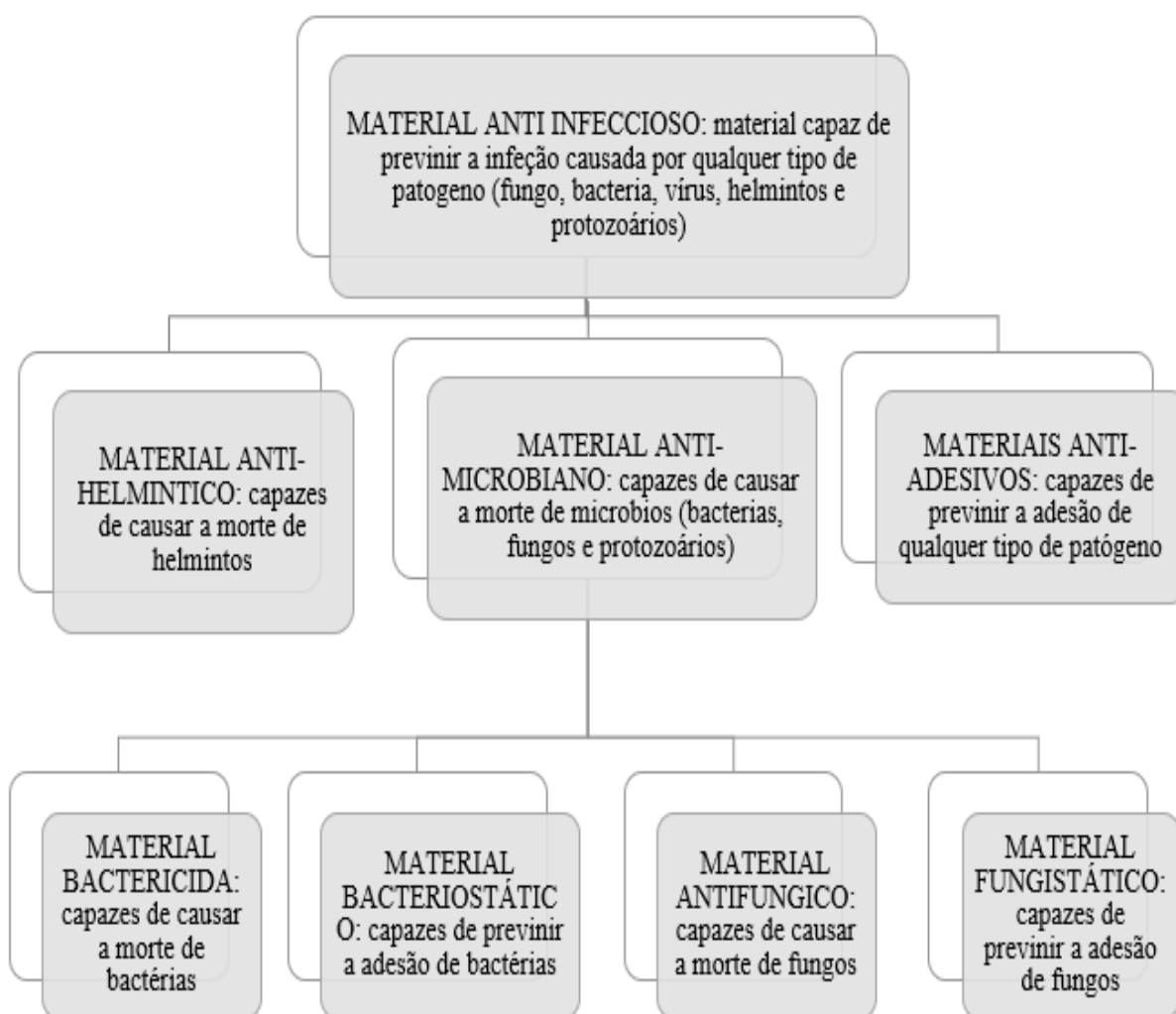
Os microrganismos estão entre os seres vivos mais antigos a habitarem a terra (Kheiri, Liu e Thompson, 2019), majoritariamente devido a sua adaptabilidade e proliferação nos mais diversos ambientes (Hasan, Crawford e Ivanova, 2013). Muitas vezes, esta adesão e proliferação levam a danos ao corpo humano, devido a processos infecciosos relacionados a bactérias e fungos.

Geralmente o organismo tem estratégias próprias de combate a estas infecções, por meio do seu sistema imunológico, geralmente iniciado pelo encapsulamento fibroso da zona

afetada, para minimizar os danos. Entretanto, quando estas zonas estão associadas a biomateriais, a situação se torna mais adversa, pois este procedimento tende a afetar a aplicabilidade do material para a devida função (Ahmed, Zhai e Gao, 2019).

Tendo em vista a necessidade de se ter biomateriais com capacidade antimicrobiana, evitando assim danos ao hospedeiro, foram sistematizadas diversas classes de materiais, de acordo com seu espectro de ação, conforme pode ser observado na Figura 3.1

Figura 3.1 – classes de materiais em função da sua interação com microrganismos.



Fonte: Adaptado de Campoccia, Montanaro, Arciola (2013).

A partir desse ponto, os materiais projetados passaram a buscar possuir uma ou mais propriedades listadas acima, de acordo com a sua função a ser exercida, seja por meio de novas rotas de processamento, ou por meio de modificações de sua superfície.

3.3 NANOPARTÍCULAS E NANOCAPSULAS DE USO BIOMÉDICO

Sistemas em escala micrométrica e manométrica tem atraído grande atenção para aplicações biomédicas, devido a capacidade de se obter maior eficácia em detrimento aos sistemas convencionais de tratamento farmacológico (Wu, Wang e Li, 2020), devido a sua elevada relação de área e volume e consequente capacidade de interação com tecido biológico e penetração na parede celular (Bansal e Zhang, 2014).

Essa tecnologia pode ser empregada em sistema de transporte (proteínas, fármacos, biomoléculas e DNA)(Gong e Winnik, 2012), sistema de resposta para bioimagem (Kim *et al.*, 2018), terapia foto-termal (Gao *et al.*, 2020), regeneração tecidual (Liu *et al.*, 2018) e aplicações bactericidas (Xu, J. *et al.*, 2017). Entretanto, a maior parte das soluções médicas disponíveis na literatura ainda se encontra em estágio de estudos iniciais, não disponíveis comercialmente.

Em outubro de 2019, havia 343 estudos clínicos registrados no instituto americano de saúde, sendo 99 deles nos estágios iniciais de registo de procedimentos e recrutamento (“National Library of Medicine”, 2019). Dentre estes números, estimativas indicam que apenas uma pequena parcela dos fármacos propostos consegue atingir a produção em escala industrial, devido principalmente as dificuldades de controle das propriedades em sistemas de produção escalonado (Wu, Wang e Li, 2020).

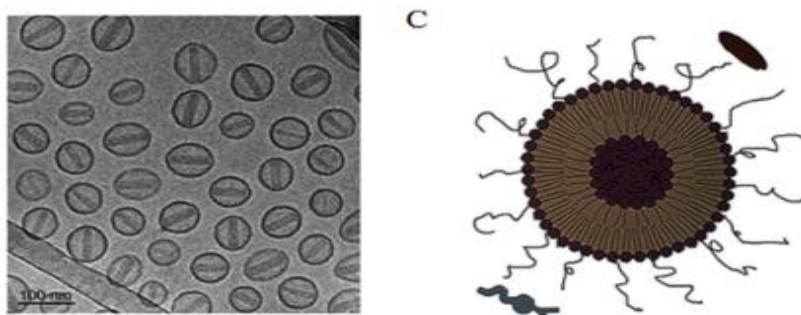
O primeiro fármaco nanoestruturado a atingir a produção industrial foi o Doxil[®], um sulfato de doxorubicina encapsulado em polietilenoglicol (PEG) (Figura 3.2), aprovado em 1995 pelo departamento administrativo americano de alimentos e drogas (FDA)(Wu, Wang e Li, 2020), sendo outros 50 aprovados nos anos seguintes até 2017, dos quais 34% são nanoestruturas poliméricas (Ventola, 2017).

Em todos os casos aprovados, o sistema apresentou em ensaios clínicos melhor controle de liberação do princípio ativo em relação aos sistemas convencionais, meia vida prolongada e menor acúmulo dos materiais no organismo, em função do controle da interação entre o material e o organismo (Ventola, 2017), com controle do tamanho, formato, carga superficial, dispersão e hidrofiliabilidade (Behzadi *et al.*, 2017).

Para o controle do tamanho, trabalhos recentes apontam a utilização de modelos bem estabelecidos, com a sílica como material de núcleo, devido as já estabelecidas técnicas de síntese deste material. Utilizando esta abordagem, Liu e colaboradores (2018) sintetizaram nanopartículas de polidopamina com núcleo de sílica, objetivando obter materiais com estreita faixa de distribuição de tamanho para tratamento de injúrias na pele. Ao observar imagens de

microscopia eletrônica de varredura, os autores observaram que a utilização do modelo possibilitou a obtenção de materiais com distribuição de tamanho uniforme, mimetizando a configuração da sílica.

Figura 3.2 – Micrografia do medicamento Doxil® (A) e representação do sistema de encapsulamento utilizado (B).



Fonte: Wu, Wang e Li (2020).

Resultados semelhantes também foram observados por Nador e colaboradores (2017), ao utilizarem nanopartículas de sílica mesoporosa como suporte para polimerização de polidopamina, obtendo assim um material com tamanho controlado e uniforme, além da possibilidade de remoção do seu núcleo, para obtenção de núcleos ocos capazes de armazenar fármacos ou outras biomoléculas de interesse.

Uma vantagem deste tipo de metodologia para obtenção de sistemas nanoparticulados é a capacidade de modificar materiais já existentes, através da utilização de agentes capazes de modificar a superfície do modelo, podendo assim obter grupos funcionais disponíveis que favoreçam a interação com meio, controlando hidrofiliicidade, cargas superficiais e consequentemente o estado de dispersão do material (Vijayakumar *et al.*, 2019). Entretanto, pode ser considerado como desvantagem a necessidade de compra deste material, ou até mesmo etapas prévias de síntese destes modelos.

No caso do controle da geometria, estratégias de modificação dos parâmetros de síntese demonstraram eficazes no controle da geometria final do material. Em exemplo recente, Erazo e colaboradores (2019) conseguiram controlar a forma de nanopartículas de óxido de zinco através da variação do solvente. No experimento no qual o ácido acético produziu material acicular, o uso de etilenoglicol formou material esferoidal.

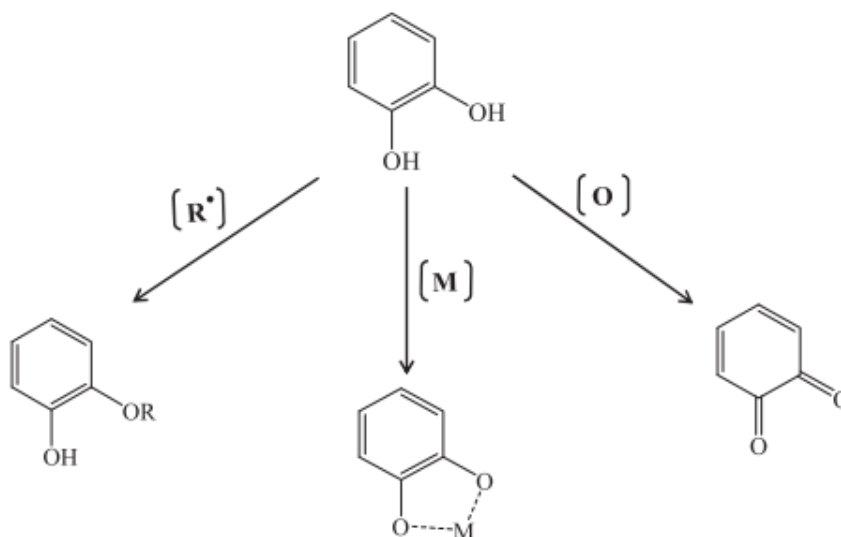
Em análises de espectroscopia de infravermelho (FTIR), os autores perceberam que ao se modificar o solvente, além de obter morfologias diferentes, também obtiveram grupos funcionais presentes distintos, o que segundo eles, tem grande efeito na funcionalidade do mate-

rial. Tais afirmações foram corroboradas ao analisar o efeito antifúngico das nanopartículas, onde o material acicular apresentou maior eficácia em relação ao óxido de zinco esférico na eliminação de *Aspergillus niger* e *Botrytis cinerea*.

3.4 POLIDOPAMINA

A polidopamina é um polímero derivado da polimerização do hidrocloreto de dopamina em ambiente alcalino, sendo importante devido a sua capacidade adesiva e redutora, devido aos grupos catecóis presentes. O primeiro relato atribuindo a capacidade adesiva aos catecóis na natureza data de 1981, quando os pesquisadores Waite e Tanzer (WAITE e TANZER, 1981) ao estudarem a capacidade adesiva de moluscos, identificaram os catecóis presentes nos biscoitos destes animais como agente responsável pela sua ancoragem nas superfícies, devido a sua elevada reatividade, podendo se ligar, interagir ou oxidar substâncias ao seu entorno, conforme mostrado na figura 3.3. Este fenômeno ocorre devido a presença de catecóis capazes de formar ligações de ponte de hidrogênio e do tipo π - π , junto aos átomos disponíveis na superfície de qualquer substrato (Jiang *et al.*, 2011).

Figura 3.3 – Representação das principais propriedades dos catecóis.



Fonte: Faure *et al.* (2013).

Os pesquisadores descobriram que os catecóis presentes nos biscoitos destes animais se encontram na forma de 3,4-dihidroxifenilamina (DOPA), com teores variando de 1 a 30% dependendo da proteína na qual está ligado, chamadas de *Mefp* (*Mytilus edulis foot protein*),

conforme mostrado no Quadro 3.2.

Quadro 3.2 – Relação de proteínas tipo Mefp.

Proteína	Massa (KDa)	DOPA mol%	Local
<i>Mefp - 1</i>	108	10-15	Cutícula
<i>Mefp - 2</i>	45	5	Bisso
<i>Mefp - 3</i>	5-7	10-20	Bisso
<i>Mefp - 4</i>	90	2	Bisso
<i>Mefp - 5</i>	9	30	Bisso
<i>Mefp - 6</i>	11	2	Bisso

Fonte: Lin *et al.* (2007).

Nos anos seguintes o estudo dos catecóis se tornou de grande interesse, em busca de materiais que conseguissem imitar a característica adesiva dos moluscos, com aplicações nos mais diversos setores da engenharia, tais como membranas, engenharia tecidual, superfícies bactericidas, antiferrugem e outras (Zhu e Edmondson, 2011).

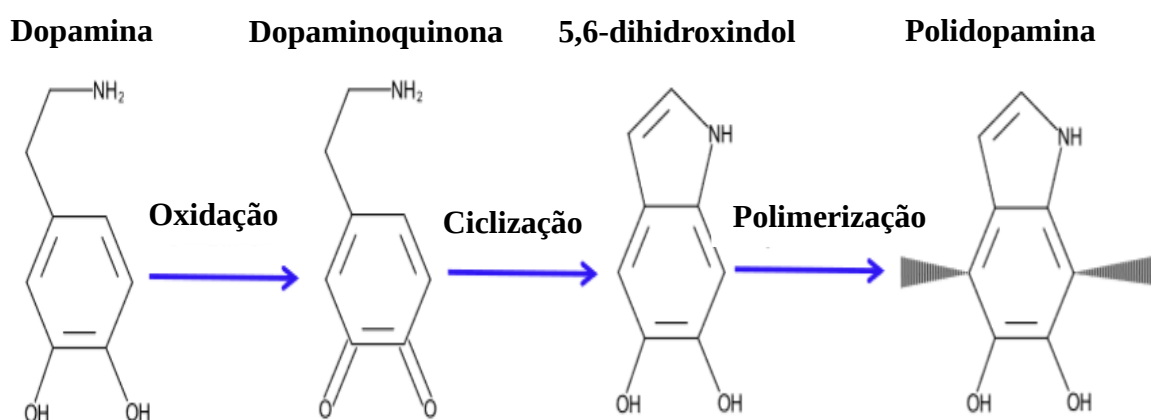
Na medicina, polímeros com grupos catecois ativos, como a polidopamina, apresentam grande potencial de uso em diversas funções, devido a sua excelente biocompatibilidade (Han *et al.*, 2016), servir como carreador de fármacos (Gao *et al.*, 2020), capacidade de se ligar a biomoléculas e íons (Dong *et al.*, 2016), Favorecer a cicatrização da pele através da coagulação do sangue (Sun *et al.*, 2014) e apresentar comportamento bactericida após exposição à radiação UV (Lei *et al.*, 2016).

No corpo humano, um composto análogo a dopamina apresenta grande importância. São o conjunto de compostos derivados da melanina, podendo ser eumelanina (pigmento insolúvel fotoprotetivo da pele e olhos), pheomelanina (pigmento de pele de pessoas ruivas, o qual as torna propensas a desenvolver câncer de pele) e neuromelanina (composto insolúvel de coloração escura, associado a degeneração neurológica e doença de Parkinson) (D’Ischia *et al.*, 2014).

Tais compostos, assim como a dopamina, apresentam propriedades singulares, e difíceis de reproduzir, devido à dificuldade de controle dos compostos formados no organismo (D’Ischia *et al.*, 2014), assim como garantir que o produto final tenha cadeias com tamanho suficiente para serem chamados de polímeros, sendo usualmente utilizado o tempo monômero tipo melanina (Chen e Buehler, 2018).

Apesar de haver ainda grande controvérsia na literatura, vários autores sugerem mecanismos de síntese para a formação da polidopamina, geralmente partindo premissa de que este composto reage de forma similar a eumelanina (Zhu e Edmondson, 2011), porém podendo variar de acordo com os reagentes utilizados, assim como natureza da solução alcalina (Habibi Rad *et al.*, 2018), partindo da formação de 5,6 dihidroxilindol (DHI) em função da oxidação da 3,4-dihidroxi-feniletanamina (dopamina) (Hong *et al.*, 2012), como pode ser visto na figura 3.4.

Figura 3.4 – Representação do processo de polimerização do hidrocloreto de dopamina



Fonte: Zhao *et al.* (2018).

As etapas seguintes ainda são controversas, tendo em vista que dependendo das condições do meio, o DHI pode se polimerizar formando DOPA, assim como se manter na forma de pequenos monômeros, reagindo com compostos de baixo peso molecular através de ligações não covalentes (Dreyer *et al.*, 2012; Martin E Lynge† *et al.*, 2015).

Devido a diferença de estado de oxidação e ciclização, os compostos com diferentes cargas tendem a se aproximar, interagindo por ligações não covalentes as quais criam desordem supramolecular, também chamada de aglomerados (D'Ischia *et al.*, 2014), os quais tendem a precipitar e formar filmes de espessura manométrica sobre qualquer superfície disponível, da ordem de 40 nm (Ball *et al.*, 2012).

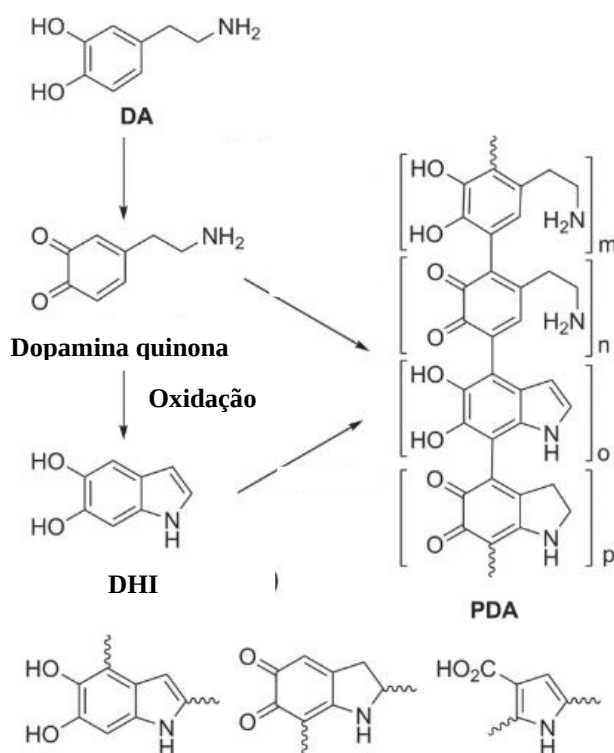
Em função desta grande dispersão de possíveis produtos durante a síntese, alguns autores indicam a possibilidade de que durante certas condições, não ocorrer a formação efetiva de polímeros, ocorrendo a formação de “dopamina tipo melanina” (D'Ischia *et al.*, 2014), tendo em vista que o conjunto de partículas agregadas pode ser formada por oligômeros e monômeros com interações de empilhamento π , π – cátion ou pontes de hidrogênio (Martin E Lynge†

et al., 2015), devido aos seus diferentes estágios de abertura de cadeia e insaturação possíveis, de acordo com a figura 3.5.

Outra vertente assumida para a polimerização da dopamina, indica que após a formação de DHI, ocorre a formação de compostos de elevado peso molecular (polímeros), devido as ligações covalentes entre as cadeias, assim como interações fracas, formando sobreposições tridimensionais de cadeias poliméricas, com crescimento contínuo via transferência de carga nos grupos de ligação (Moulay, 2014), como exemplificado na figura 3.6.

Devido a estas divergências, ainda há uma grande lacuna literatura acerca de como as variáveis de síntese podem influenciar no produto formado, entretanto, em trabalho recente, Patel e colaboradores (2018) indicaram que o solvente, tem grande influência nas propriedades finais do material, em função de possíveis variações na estrutura formada. Em seu estudo, foram utilizados solução tampão tris, tampão fosfato salino, bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio. Ao fixar a concentração em 10 mM e o pH em 8,5, os autores identificaram variações significativas na ação bactericida e molhabilidade de filmes de PDA formados na superfície de politereftalato de etileno (PET).

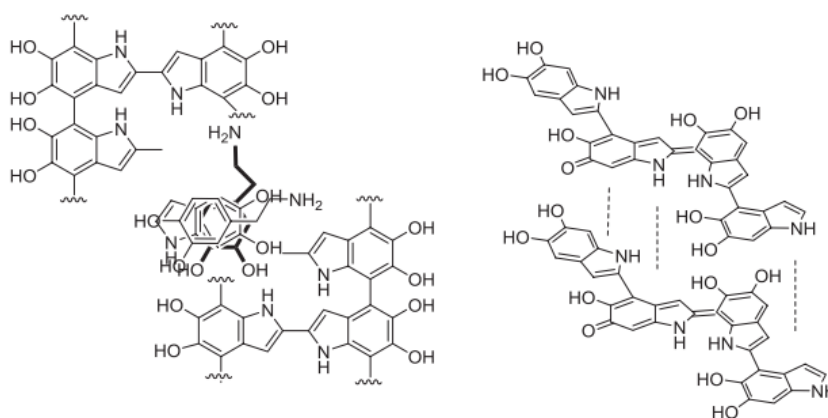
Figura 3.5 – Representação dos possíveis estágios de abertura de cadeia e ciclização.



Fonte: Bende *et al.* (2018).

Outro fator determinante pode ser a concentração inicial de dopamina, a qual pode influenciar na quantidade de oxigênio disponível para oxidação, o que foi evidenciado por Ball e colaboradores (2012)(Ball *et al.*, 2012), ao estudarem a cinética de deposição de polidopamina em substratos de silicone. Em suas conclusões os autores sugerem que em elevadas concentrações, acima de 5 g.L^{-1} , o consumo de oxigênio exigido para a quebra inicial da dopamina em DHI possa exceder a disponibilidade do meio, influenciando na capacidade de formação de polidopamina estável na superfície do substrato. Neste caso, os compostos formados podem ser oligômeros intermediários, com agregação em função de ligações fracas.

Figura 3.6 – Representação das possibilidades de interação entre os monômeros de DHI.



Fonte: Moulay (2014).

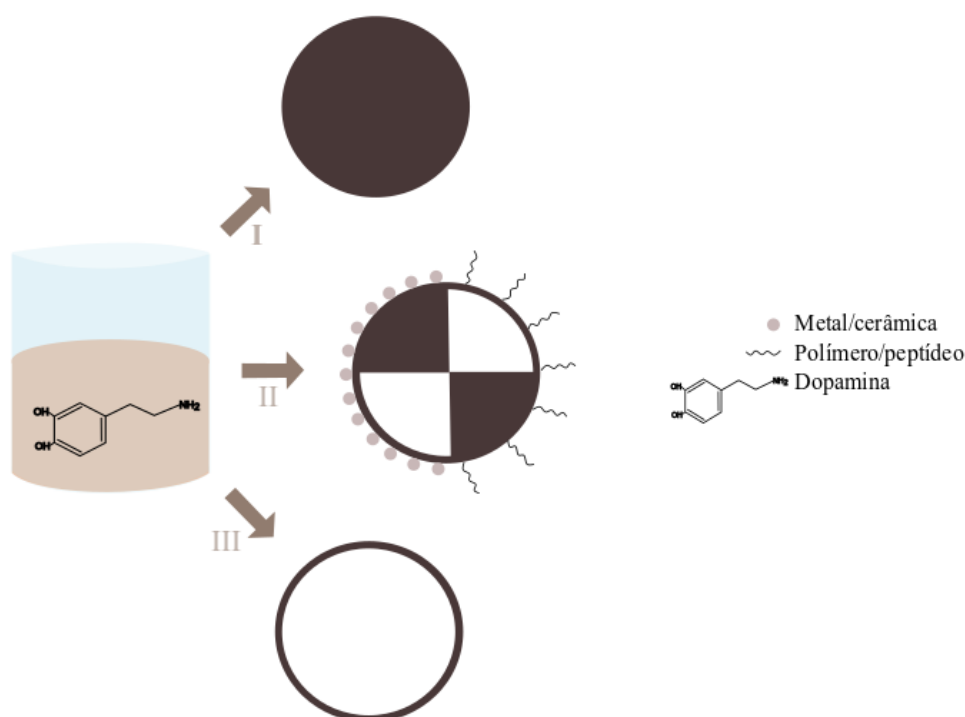
3.5 NANOPARTÍCULAS DE POLIDOPAMINA

Atualmente é de grande interesse a obtenção de polidopamina não somente como revestimentos com propriedades adesivas, mas também na forma de partículas e capsulas, principalmente para uso na medicina, devido as suas propriedades já citadas, o que torna possível sua utilização em ressonância magnética, uso terapêutico, agente anti-inflamatório, compostos bactericidas, agente anti-inflamatório e outros (Zhao, H. *et al.*, 2018).

Seu uso na forma particulada pode ser classificado em 3 tipos, de acordo com a rota de obtenção utilizada, assim como os reagentes empregados, como exemplificado na figura 3.6. No primeiro grupo, ocorre a obtenção de partículas maciças, a partir da reação de oxidação da dopamina na em ambiente alcalino, com pH variando entre 8 e 10, em agitação. Nesta rota ocorre a competição entre nucleação de oligômeros, e crescimento a partir da formação de agregados e união de cadeias (Yu *et al.*, 2014), indo desde alguns nanômetros e podendo chegar a escala micrométrica.

O segundo tipo é composto por partículas ocas, geralmente obtidas a partir de um modelo esférico sacrificial, comumente composto por sílica. Nesta rota o diâmetro é predominantemente controlado pelo modelo, ocorrendo a formação de uma camada manométrica de polidopamina devido a sua auto-polimerização em ambiente alcalino. Em seguida, o núcleo é removido via ataque ácido, permanecendo apenas a capsula de polimérica (Nador *et al.*, 2017).

Figura 3.7 – Representação dos possíveis tipos de nanopartícula de polidopamina.



Fonte: Autoria própria

O terceiro grupo é formado pela interação entre as partículas de PDA e uma segunda fase, dando origem a um material compósito. Nesta classe estão partículas maciças ou capsulas, as quais são utilizadas após incorporação de uma substância com propriedade específica, podendo ser um fármaco, metal, cerâmica ou peptídeo. Sendo este procedimento realizado após a obtenção do PDA, em uma segunda etapa.

Nas partículas maciças, esta segunda fase é incorporada por meio da imersão do polímero em uma solução contendo o composto ou íon de interesse, via interação entre os grupos funcionais presentes na superfície, servindo de núcleo e com liberação do agente terapêutico vinculada à decomposição das cadeias de PDA (Park *et al.*, 2016).

No caso dos compósitos que utilizam capsulas, fase de interesse terapêutico geralmente compõe o núcleo, com polimerização do PDA em uma solução contendo esta biomolécula, formando assim uma película protetora, a qual tem por finalidade controlar a liberação no organismo do fármaco contido em seu interior, mediante degradação controlada da capsula polimérica (Li *et al.*, 2017).

Os compósitos acima mencionados aliam as propriedades de biocompatibilidade, degradabilidade, e capacidade se ligar a compostos presentes na proximidade do PDA, ao efeito terapêutico da segunda fase, ampliando assim as possíveis aplicações deste polímero na medicina, como pode ser visto no Quadro 3.3.

Quadro 3.3 – Relação de nanopartículas produzidas, de acordo com sua finalidade.

Compósito	Finalidade	Referência
Nanocápsulas de PDA com insulina	Liberação controlada de insulina	(Li <i>et al.</i> , 2017)
Nanopartículas de dopamina com íon metálico (Al, Cu e Fe)	Diagnóstico por imagem	(Xiong <i>et al.</i> , 2019)
Nanopartículas de PDA com Ag	Ação bactericida	(Wu <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas de PDA amido hidroxietílico	Quimioterapia	(Wu <i>et al.</i> , 2018)
Nanopartículas de PDA com cloridrato de Ce ³⁺	Terapia foto-termal	(Gao <i>et al.</i> , 2020)
Nanopartículas de PDA com polietileno glicol e íons Fe ³⁺	Ressonância magnética e terapia foto-termal	(Liu <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas de PDA com peptídeos (RGD e PPB)	Terapia foto-termal	(Zhou <i>et al.</i> , 2019)
Nanopartículas de PDA com sílica	hemostasia	(Zhou <i>et al.</i> , 2019)

Fonte: Autoria própria

3.6 AGENTE BACTERICIDA

Os metais são usados para conter a degradação de alimentos e proliferação de microrganismos, sendo utilizados como recipientes de armazenamento, saís de prata tinham uso terapêutico durante a idade média e início da idade moderna (Zamboni, 2017), porém, após a descoberta da penicilina durante a segunda guerra, seu uso foi drasticamente diminuído. Entretanto, com o passar do tempo e com uso indiscriminado de antibióticos, as bactérias antes eliminadas, começaram a sofrer mutações, dando origem a estirpes (cepas) resistentes a esses medicamentos.

Com o aparecimento das chamadas superbactérias, houve a necessidade de se buscar novas alternativas ao tratamento de infecções, com especial enfoque em pesquisas sobre a ação bactericida de amplo espectro de materiais metálicos, seja na forma iônica ou metálica, com ação bacteriostática e bactericida. Atualmente, infecções por cepas de bactérias resistentes são considerados um dos 3 maiores problemas da atualidade, segundo a organização mundial de saúde (OMS)(Cochis *et al.*, 2016), representando 1% das incidência nas cirurgias de implantação de próteses de quadril, e 5% em cirurgias de revisão de prótese (Sjollem *et al.*, 2018).

Atualmente, 80% das infecções decorrentes de procedimentos operatórios é decorrente de contaminações com *staphylococcus*, podendo ser do tipo *aureus* e/ou *epidermidis*, culminando em procedimentos de retirada dos implantes, com consequente permanência do paciente em ambiente hospitalar e perda da qualidade de vida e risco de vida (Oliveira *et al.*, 2018).

Um esquema de um processo infeccioso típico pode ser observado na Figura 3.8, onde se inicia pela interação de bactérias na forma planctônica com a superfície do implante, seguindo então pela secreção de proteínas e facilitação da adesão das demais bactérias na superfície do material. No terceiro estágio, ocorre a maturação do biofilme, com formação de vasos difusores de nutrientes e proliferação de colônias dentro do biofilme. No quarto e último estágio, o biofilme maduro se torna resistente a antibióticos, devido à penetração insuficiente dos fármacos nas camadas mais internas das colônias formadoras, além da rápida adaptação dos organismos sobreviventes aos medicamentos utilizados.(Chouirfa *et al.*, 2018)

Figura 3.8 – Representação dos estágios de contaminação bacteriana.



Fonte: Chourifa *et al.* (2018).

Atualmente, os esforços se encontram sem prevenir as fases 1 e 2 da formação de biofilmes, com a utilização de diversas estratégias utilizando materiais com comportamento bactericida ou bacteriostático intrínseco, aliados a modificações superficiais.

Especificamente, relacionado às estratégias utilizadas para ligas de titânio, dados bibliométricos cruzando referências de trabalhos publicanos dentre 2000 a 2018 disponíveis na base de dados Web of Science (Clarivate Analytics) utilizando os termos de busca titanium alloy, antibacterial e surface, apresentam 399 resultados, com primeira publicação datada de 2005, de Heidenau e colaboradores, os quais avaliaram a incorporação de íons metálicos (Al^{3+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ e Cu^{2+}) na superfície da liga $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$, cujo resultado comprovou a eficácia destes metais como agentes bactericidas, assim como inspirou outros estudos, sendo referenciado por 154 trabalhos nos anos posteriores (Heidenau *et al.*, 2005).

Posteriormente, Necula e colaboradores (2011)(Necula *et al.*, 2011) investigaram a ação bactericida de nanopartículas de prata incorporadas durante o processo de oxidação eletrolítica por plasma da liga $\text{Ti}_6\text{Al}_7\text{Nb}$, obtendo superfície nanoporosa com possível atividade bactericida devido a presença de nanopartículas de prata, evidenciando assim que materiais manométricos podem ser incorporados em regiões porosas de ligas de titânio, tais como nanocavidades ou nanotubos, com significativa eficiência na inibição bacteriana.

Contribuindo para a compreensão da interação entre íons metálicos depositados em superfícies de titânio, Wojcieszak e colaboradores ao investigarem o efeito bactericida do cobre depositado por *sputtering* sobre a superfície de titânio comercialmente puro está diretamente relacionada a sua liberação e interação entre os íons disponíveis em solução e a parede celular das bactérias.(Wojcieszak *et al.*, 2017)

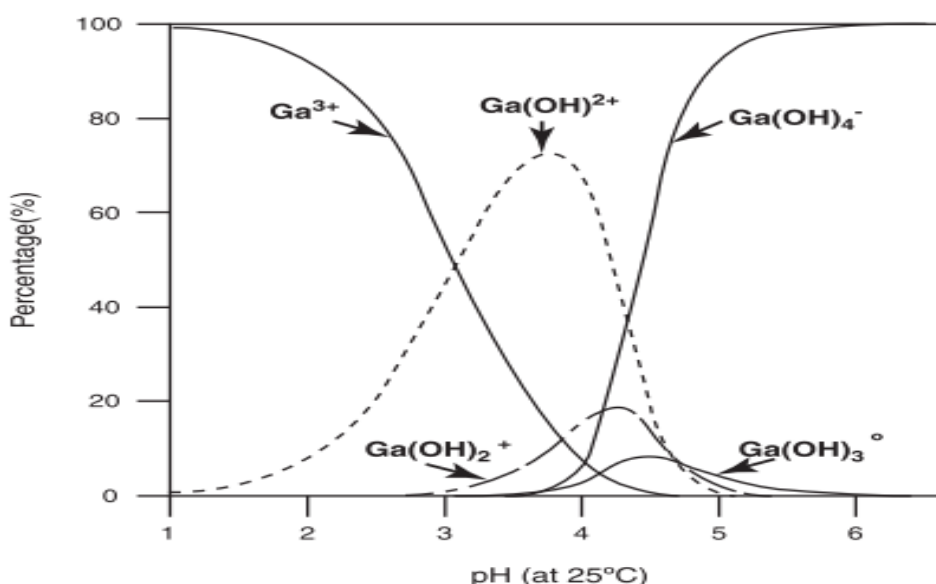
3.7 GÁLIO

O gálio foi descoberto em 1875 pelo químico francês Paul Emile Lecoc de Boisbaudran (Chitambar, 2016; Verron, Bouler e Scimeca, 2012). Este elemento pertence ao grupo 3A da tabela periódica, podendo ser encontrado na crosta terrestre como subproduto da exploração de alumínio a partir da bauxita (Chitambar, 2016; Lu *et al.*, 2017).

No estado sólido, o gálio se organiza atômicamente na forma ortorrômbica e possui peso atômico de 69,723 g/mol (Lu *et al.*, 2017). O estado de oxidação mais abundante é Ga^{3+} , sendo utilizado para produzir compostos GaN e GaAs, os quais são amplamente utilizados em eletrônica como semicondutores (Macías-Macías *et al.*, 2019), podendo também ser utilizado na medicina em tratamentos contra câncer, agente bactericida e tratamento de osteoporose.

Quando disponível meio corpóreo, sais de gálio dissociam-se, com formação de hidróxidos insolúveis, conforme pode ser observado na Figura 3.9. em pH altamente ácido, os íons ficam disponíveis na forma de Ga^{3+} , e ao se elevar o pH, os íons disponíveis tendem a formar $\text{Ga}(\text{OH})_3$, podendo se converter em $\text{GaO}(\text{OH})_4$ em condições de envelhecimento (Verron, Bouler e Scimeca, 2012). Em meio fisiológico, o Ga^{3+} se liga a seis moléculas de água, sendo rapidamente trocado por grupos OH^- presentes, com precipitação de $\text{Ga}(\text{OH})_3$.

Figura 3.9 – Representação das formas apresentadas pelo gálio em função do pH.



Fonte: Verron, Bouler e Scimeca (2012).

Na medicina o uso do gálio data de 1931, quando Constantin Laviditi evidenciou a eficácia do uso terapêutico do tartarato de gálio no tratamento de sífilis (Verron, Bouler e

Scimeca, 2012). Posteriormente, na década de 60 iniciou o uso do citrato de gálio na identificação por imagem de tumores. Além destas aplicações, sais de gálio apresenta potencial de uso em inibição de reabsorção óssea, ação anticancerígena e antimicrobiana (ALESSANDRA FLÁVIA DIAS RAMALHO, 2017), devido as semelhanças do íon Ga^{3+} com o Fe^{3+} , tais como raio iônico octaédrico de 0,620 Å (Ga^{3+}) e 0,645 Å (Fe^{3+}), respectivamente (Chitambar, 2017).

O Ferro é um elemento primordial no metabolismo de vários organismos, sendo adquirido do ambiente na forma de íons Fe^{3+} , podendo ser confundido pelas células com o Ga^{3+} . Entretanto, diferentemente do ferro, o gálio não pode ser reduzido em meio fisiológico para Ga^{2+} , como foi mostrado na figura 2.11, o que ocasiona a desrupção do ciclo biológico das células, com consequente morte celular.

Outra hipótese indica que ao entrar em contato com parede celular, íons Ga^{3+} causam deterioração desta, e consequente morte celular (Minandri *et al.*, 2014). Quando presente no metabolismo de bactérias, os íons Ga^{3+} agem impedindo a expressão de genes dependentes do ferro, impedindo a síntese e reparo do DNA, além de favorecer o aparecimento de espécies reativas de oxigênio (ERO), os quais tendem a deteriorar enzimas as quais entram em contato, evidenciando assim um duplo efeito deletério do gálio sobre estes organismos (Chitambar, 2016; Minandri *et al.*, 2014).

Tal efeito bactericida é de grande interesse atualmente, tendo em vista a crescente preocupação em relação a adaptação de bactérias a antibióticos, e até mesmo a prata e cobre, metais que são amplamente utilizados em função da sua ação sobre estes microrganismos (Argudín, Hofer e Butaye, 2019). Entretanto, ultimamente bactérias tem apresentado mecanismos de defesa à presença desses metais, com secreção de polissacarídeos que protegem a parede celular, impedindo a morte por ruptura desta membrana (Rafińska, Pomastowski e Buszewski, 2019; Xu, Z. *et al.*, 2017).

Nesse sentido, até onde foi possível verificar na literatura, ainda não estão presentes relatos de resistência de bactérias ao gálio durante sua ação sobre seu processo metabólico, indicando assim seu promissor uso em substituição aos agentes bactericidas convencionais, com inibição da adesão e crescimento destes microrganismos sobre a superfície de biomateriais, conforme mostrado no quadro abaixo.

Quadro 3.4 – Relação dos compostos de gálio utilizados na literatura com função bactericida.

Composto utilizado	Superfície	Bactéria	Ação	Ref.
Ga(NO ₃) ₃	Titânio CP	<i>S. Mutans</i>	Inibição da proliferação	(Cochis <i>et al.</i> , 2015)
Ga(NO ₃) ₃	Titânio CP	<i>S. aureus</i>	Inibição da adesão e proliferação	(Wadge <i>et al.</i> , 2018)
GaCis/GaOss	Titânio CP	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Inibição de adesão	(Cochis <i>et al.</i> , 2016)
Ga(NO ₃) ₃ /Paa	Titânio CP	<i>E. Coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	Inibição da adesão e proliferação	(Bonifacio <i>et al.</i> , 2017)
Ga(NO ₃) ₃ /PDLLA	Titânio CP anodizado	<i>S. aureus</i> <i>E. Coli</i>	Inibição de adesão	(Dong <i>et al.</i> , 2019)

Fonte: Autoria própria

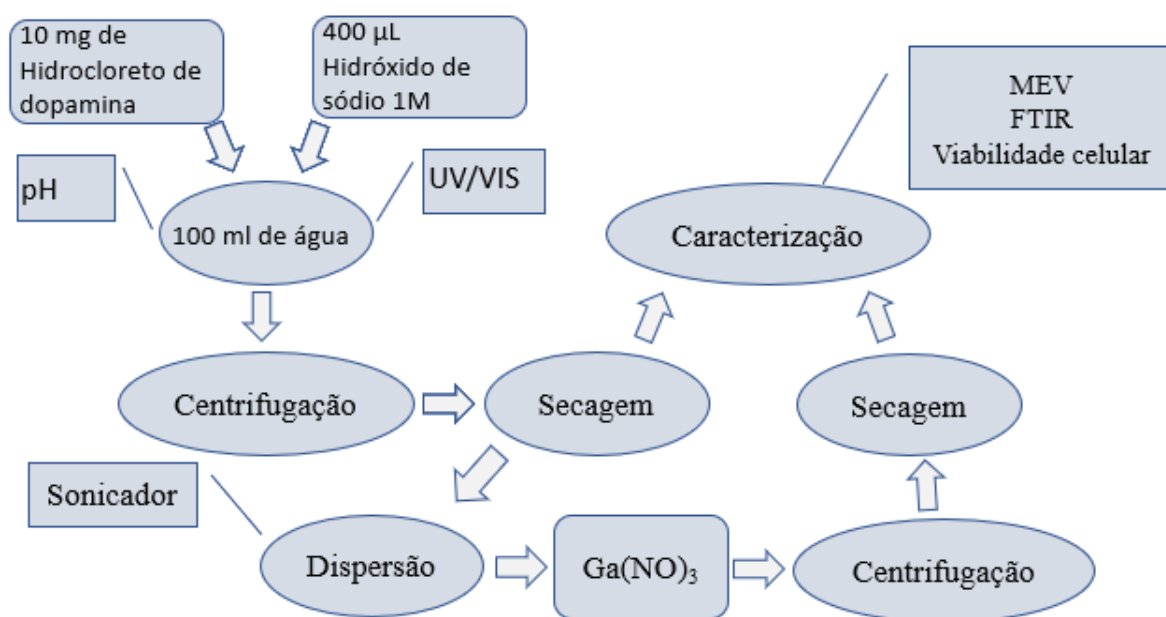
Além das propriedades bactericidas, é amplamente conhecido o efeito do Ga³⁺ na reabsorção óssea (Strazic-Geljic *et al.*, 2016; Strazic Geljic *et al.*, 2018). Durante o processo de formação óssea, os íons Ga³⁺ promovem uma redução da osteoclastogênese, sem afetar significativamente a osteoblastogênese e diferenciação de osteoblastos durante a formação óssea (Gómez-Cerezo *et al.*, 2018; Verron *et al.*, 2012), viabilizando seu uso no tratamento de osteoporose e doenças relacionadas a deterioração óssea.

Em estudo recente, a Pourshahrestani e colaboradores (2016)(Pourshahrestani *et al.*, 2016) indicaram o efeito do óxido de gálio na prevenção de trombos e efeito anti-hemorrágico, quando incorporado em pequenas quantidades em vidros metálicos, ampliando assim as possibilidades de uso do gálio e seus compostos na medicina.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Na realização desta dissertação foram utilizados os seguintes reagentes, hidrocloreto de dopamina (Sigma-Aldrich Brasil Ltda.), hidróxido de sódio (Êxodo científica) e Nitrato de gálio (Sigma-Aldrich Brasil Ltda.), os quais foram utilizados para realizar a síntese das partículas e incorporação do íon metálico na sua superfície. Tais etapas são mostradas na Figura 4.1, a qual mostra o procedimento experimental adotado nesta dissertação

Figura 4.1 – Fluxograma das atividades realizadas.



Fonte: Autoria própria

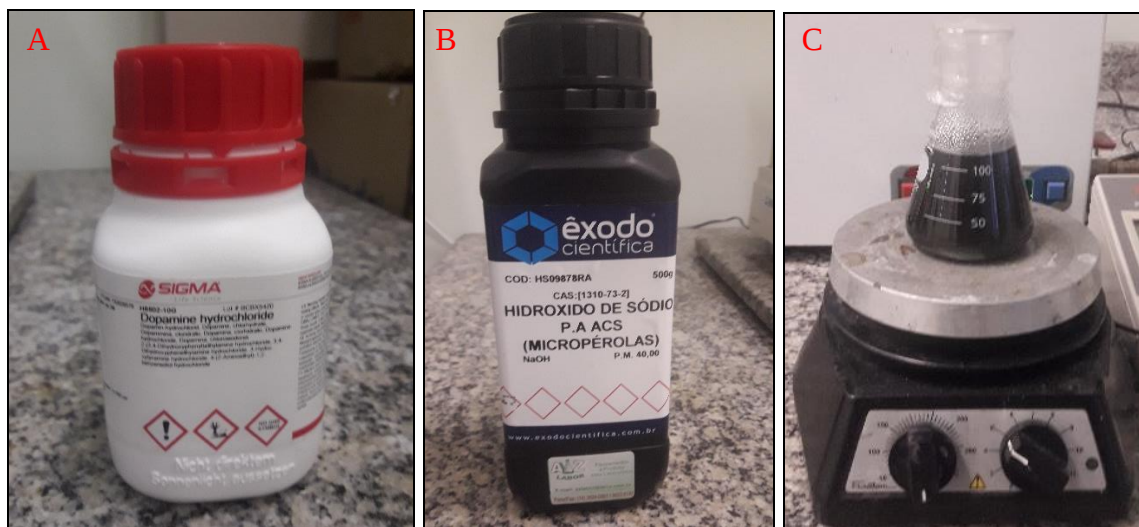
4.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS

Para a obtenção das nanopartículas de polidopamina pelo método da auto-polimerização de dopamina em meio alcalino, foi utilizada a metodologia descrita por Zhao e colaboradores (2018), com algumas modificações. Para tanto, foi utilizado hidrocloreto de dopamina (Sigma-Aldrich Brasil Ltda.), fórmula $(\text{HO})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$, peso molecular 189,64 g/mol e 98% de pureza, hidróxido de sódio (Êxodo científica), com fórmula química NaOH , peso molecular 40g/mol, os quais podem ser observados na Figura 4.2.

A síntese foi realizada em solução com concentração de 2g/L, para tanto, foi solubilizado 0,2 g de hidrocloreto de dopamina (DA) em 100 mL de água Milli-Q. Sendo em

seguida o pH ajustado em 9,0 utilizando uma solução de hidróxido de sódio 1M. Rapidamente a solução mudou de coloração, partindo do incolor para uma tonalidade marrom, a qual é amplamente descrita na literatura, atribuída ao processo de desprotonação da dopamina (Salomäki *et al.*, 2018), a qual foi gradativamente se intensificando pelo período de 4 horas, tempo adotado nesta dissertação.

Figura 4.2 – Reagentes utilizados (A e B) e sistema de síntese de polidopamina (C).



Fonte: Autoria própria

Após decorrido esse tempo, a solução foi então centrifugada durante 15 minutos a 12000 RPM, no equipamento de centrifugação da marca Hermile, modelo Z306 (Figura 4.3), disponível no laboratório de materiais avançados e nanotecnologia da Faculdade de ciências da Unesp Bauru. Posteriormente o material foi disperso em placas de Petri e seco em estufa em 35°C durante 24 horas, com circulação de ar. Ao fim deste período, o material seco foi removido do fundo das placas de Petri com auxílio de espátula metálica e depositado em tubos Eppendorf de 1 ml, sendo em seguida armazenado a temperatura ambiente, em dessecador com sílica.

Para a incorporação de gálio, o material previamente seco foi disperso 50 ml de água MilliQ com ajuda de um sonicador da marca SONICS, modelo VCX-750, em 40% da potência total do equipamento (750 W) (Figura 4.4) por 60 segundos. A solução foi então mantida em agitação com auxílio de agitador magnético por 10 minutos e após esse período foi adicionado 150 ml de solução com concentração molar 1M de nitrato de gálio hidratado (Sigma-Aldrich Brasil Ltda., fórmula $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, peso molecular 255,74 g/mol e 99,9% de pureza), permanecendo por 18 horas.

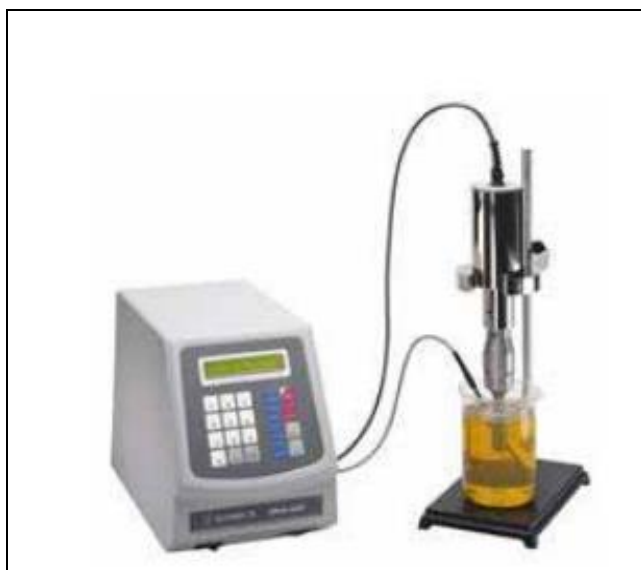
Após esse período o material foi centrifugado em 4000 RPM no equipamento de centrifugação da marca Hermile, modelo Z306 por 20 minutos e seco em estufa por 24 horas a 35°C, com circulação de ar. Após este período, o material seco foi armazenado em Eppendorfs de 1 ml e armazenado em dessecador com sílica.

Figura 4.3 – Equipamento de centrifugação utilizado para separação do material sólido da solução.



Fonte: Autoria própria

Figura 4.4 – Equipamento utilizado para realizar a dispersão das nanopartículas previamente sintetizadas.



Fonte: Carolina Costa (2014).

4.2 ACOMPANHAMENTO DOS PARÂMETROS DE SÍNTESE

Tendo em vista a necessidade de compreender os fenômenos que poderiam ocorrer durante a síntese, assim como ter parâmetros capazes de garantir a reprodutibilidade do processo, foram realizados ensaios espectroscopia ultravioleta e visível (UV-VIS) e acompanhamento da variação do pH durante o tempo de reação do hidrocloreto de dopamina em ambiente alcalino.

Para tanto, alíquotas de 1 ml foram recolhidas logo após o ajuste do pH em 9,0 e a cada 60 minutos, sendo então analisadas no equipamento de espectrofotometria UV-VIS da marca PerkinElmer, modelo 1050 (Figura 4.5) disponível no laboratório de materiais avançados e nanotecnologia da Faculdade de ciências da Unesp Bauru. Foram realizadas medidas na faixa de comprimento de 300 nm a 800 nm, com intervalo de medição de 1 nm em uma velocidade de 141,2 nm/min e com monocromador de 860,8 nm.

Figura 4.5 – Equipamento de espectrofotometria UV-VIS PerkinElmer utilizado.



Fonte: Autoria própria

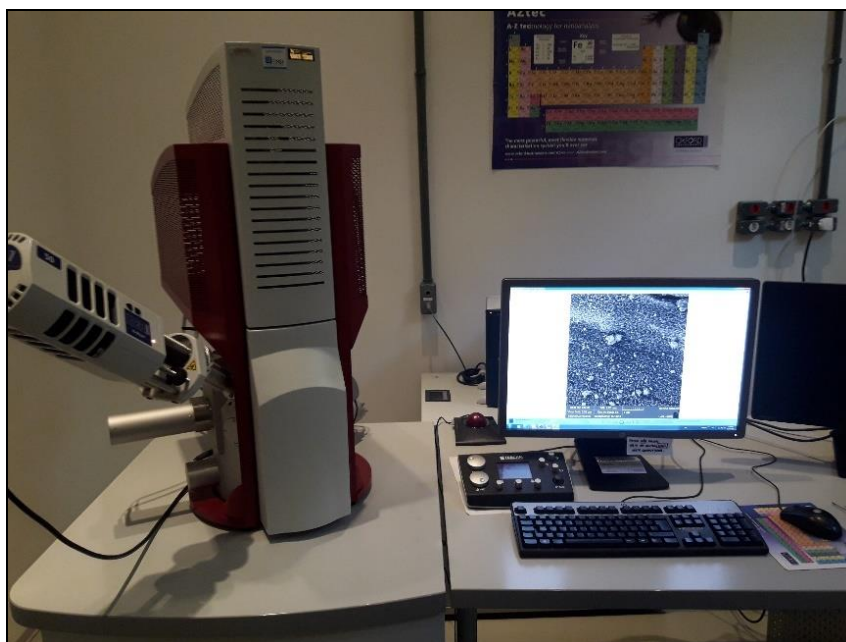
Concomitantemente, foi realizado o acompanhamento da variação do pH durante liberação de hidrogênio devido a desprotonação da dopamina e formação das espécies intermediárias da polimerização. Para este procedimento foi utilizado um pHmetro de bancada da marca ORION, modelo 310, com eletrodo de Ag/AgCl. O procedimento foi realizado pela imersão do eletrodo previamente lavado com água MilliQ na solução em intervalos de 30 minutos, até o fim do tempo estipulado de síntese.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

4.3.1 Microscopia eletrônica de Varredura

Para avaliar a morfologia e distribuição de tamanho das partículas, foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca TESCAN, modelo MIRA 3 (Figura 4.6), com equipamento espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS), disponível no laboratório de microscopia do laboratório associado de sensores e materiais (LABAS) do instituto nacional de pesquisas espaciais (INPE).

Figura 4.6 – Microscópio eletrônico de varredura utilizado.



Fonte: Autoria própria.

Para a realização desta análise, as amostras foram divididas em 2 grupos, sendo o primeiro composto por polidopamina e o segundo por polidopamina com incorporação de gálio. O preparo das amostras foi realizado com a dispersão de 100 μ g de cada amostra em 10 mL de água MiliQ, sendo posteriormente agitado em sonicador com 40% da sua potência total (750 W) durante 30 segundos. A partir desta solução com material disperso foi coletado 1 mL, o qual foi armazenado e levado para análise, sendo utilizado 30 μ L, da solução previamente armazenada, dispersa em placas de silício e secos com auxílio de N₂.

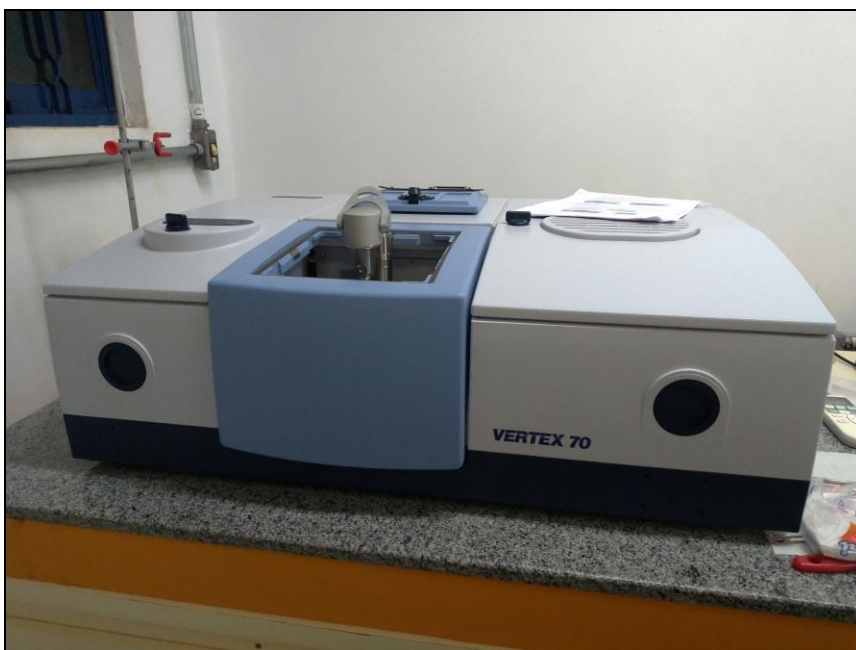
Adicionalmente, material aglomerado foi adicionado nas placas de silício para a obtenção de área com aglomerados, as quais foram utilizadas para a realização da

identificação química do material por meio de espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS).

4.3.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier FTIR

Para obter informações sobre as alterações estruturais decorrentes da reação do hidrocloreto de dopamina, e avaliar a possível formação de polidopamina, foi realizada a determinação das bandas de ligação presentes no material por meio da técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando o equipamento PerkinElmer, modelo Vortex 70, disponível no laboratório de materiais avançados e nanotecnologia da Faculdade de ciências da Unesp Bauru (Figura 4.7). As medidas foram realizadas no modo de refletância total atenuada (ATR), com varredura de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . Para a obtenção dos espectros foi utilizado amostras de dopamina (DA), polidopamina (PDA) e polidopamina com incorporação de gálio (PDA@Ga), todas na forma de pó e previamente secas em estufa a 35°C com circulação de ar.

Figura 4.7 – Equipamento utilizado para medidas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada.



Fonte: Autoria própria.

4.3.3 Viabilidade Celular

A realização do ensaio de viabilidade celular foi realizada no instituto de biomateriais, biodegradáveis e biomiméticos (Minho - Portugal), no laboratório do Doutor Joaquim Miguel Oliveira, o qual tem parceria com a orientadora desta dissertação. Para tanto, foram utilizadas células adiposas derivadas de procedimentos de lipossucção realizada no hospital da Preleda, cidade do Porto. Todo material celular foi utilizado após consentimento dos pacientes e autorização de comitê de ética.

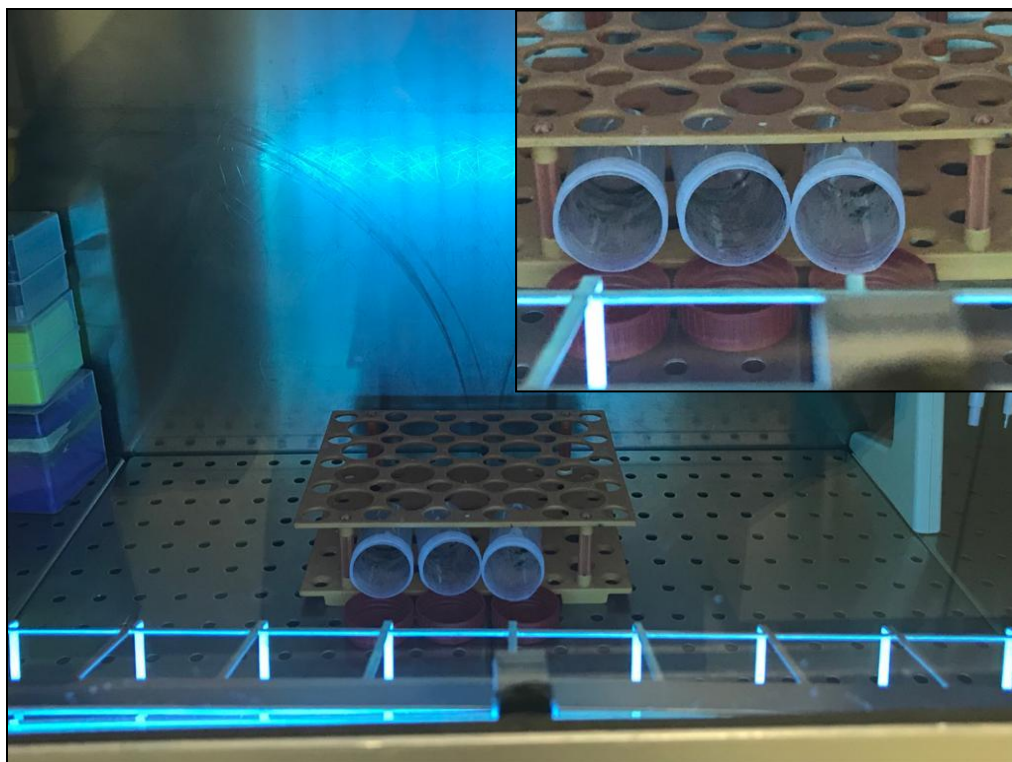
Inicialmente, para a obtenção de células tronco derivadas de tecido adiposo, o material coletado foi misturado com colágeno tipo II (Sigma-Aldrich), sob agitação constante durante 1 hora em temperatura de 37 °C. Em seguida o material foi filtrado e centrifugado a 800 G por 10 minutos, sendo o sobrenadante descartado após essa etapa.

Em seguida o material granulado resultante foi re-disperso em PBS e centrifugado a 350 G por 5 minutos. Após esse processo, o granulado foi novamente suspenso em meio essencial mínimo α (α -MEM, Gibco), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Invitrogen) e 1% de antibiótico/antimicótico (Invitrogen). O meio de cultura foi mantido em 37°C em ambiente com passagem de ar úmido com 5% V/V de CO₂. As células tronco utilizadas foram as que apresentaram 80% de confluência após 3 passagens consecutivas da solução no tubo plástico.

A cultura de células foi realizada conforme estabelecido na ISO 10993-5. Inicialmente, 3 mil células tronco derivadas de tecido adiposo foram depositadas em 48 poços cada, sendo o meio de cultura meio essencial mínimo α (α -MEM, Gibco) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Invitrogen) e 1% de antibiótico/antimicótico (Invitrogen), sendo mantidas em proliferação por 24 horas.

O material utilizado para os ensaios biológicos foi previamente esterilizado por meio de radiação UV, exposto dentro de tubos Falcon posicionados perpendicularmente a fonte de radiação e sistemas de circulação de ar, como pode ser observado na figura 4.8. tal procedimento foi necessário para que o material a ser esterilizado não fosse arrastado pelo sistema de circulação existente na câmara.

Figura 4.8 – Processo de esterilização UV, com detalhamento do posicionamento do material em relação a fonte UV.



Fonte: Autoria própria

O ensaio foi realizado com os grupos de polidopamina (PDA) e polidocpamina com incorporação de gálio (PDA@Ga), sendo utilizado as concentrações de 0,25 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL e 0,01 mg/mL de nanopartículas, em diferentes grupos de poços, sendo utilizado poços apenas com meio essencial mínimo como grupo controle, analisados posteriormente após 24 e 48 horas.

A avaliação da viabilidade e dano celular foi realizada após o tingimento das células em contato com as partículas com reagentes Phalloidin–Tetramethylrhodamina B isothiocianato (Sigma- Aldrich, 1:80) e 4,6- Diamidina-2-fenilindole, em solução (DAPI, 1 mg/mL, Biotium, 1:5000) Após tal processo, os materiais resultantes foram analisados em microscópio de fluorescência confocal Zeiss Axio observer.

Complementarmente foi realizada análise quantitativa de proliferação celular via quantificação dupla de DNA (dsDNA), a qual indicou numericamente a relação entre concentração de partículas e proliferação celular na presença e ausência de gálio nas nanopartículas.

Para tanto, em 24 e 48 horas células de cada poço foram coletadas e mantidas por uma

hora em água ultrapura a 37,0 °C, sendo posteriormente transferidas para tubos de 1,5 mL e mantidas armazenadas a -80 °C. Kits Quant-iT PicoGreen dsDNA (Molecular probes, Invitrogen) foram utilizados de acordo com especificações do fabricante. O material foi analisado por fluorescência usando micro-pratos de leitura com picos de excitação e emissão em 480 nm e 530 nm respectivamente. Os dados obtidos estão expressos em média $\pm$ desvio padrão, com significância estatística para $p > 0,05$.

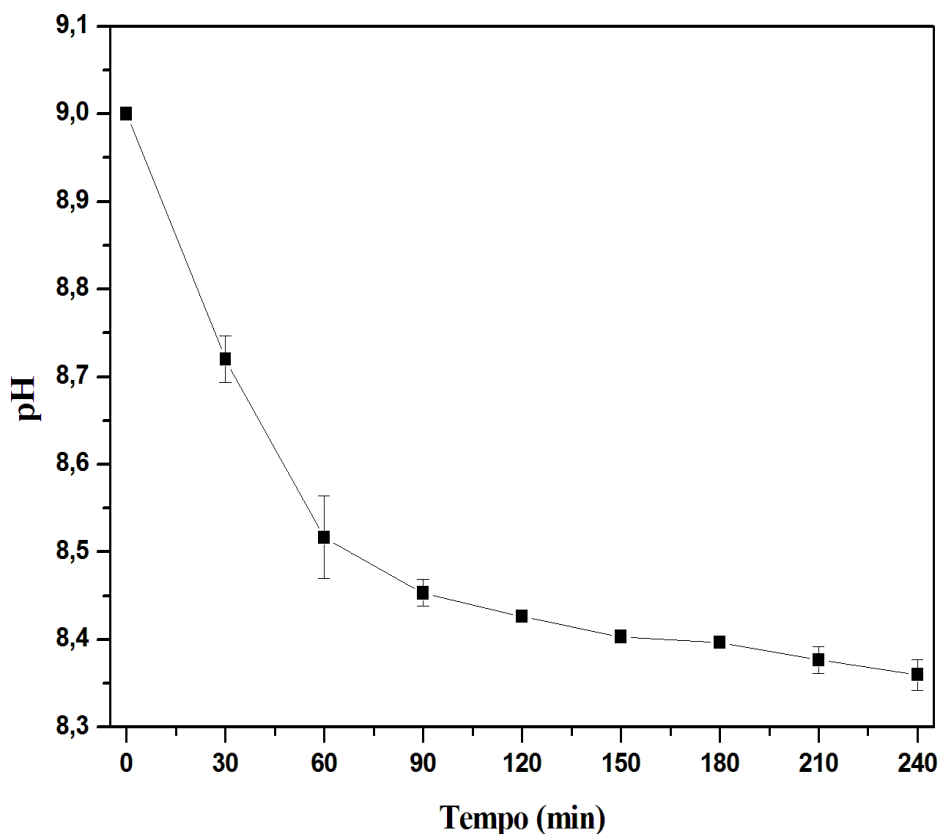
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE POLIDOPAMINA

Durante o processo de conversão do hidrocloreto de dopamina para 5,6 dihidroxilindol, ocorre a oxidação da hidroxila presente na dopamina, com consequente liberação de hidrogênio e diminuição do pH do meio (Qiu, Yang e Xu, 2018). Tais fenômenos podem ser observados indiretamente pelo acompanhamento do pH reacional e mudança na coloração do meio, por meio da técnica de espectrofotometria UV-VIS.

Sendo assim, para obter informações sobre a possível formação de polidopamina a partir da rota adotada nesta pesquisa foram realizados o acompanhamento da variação do pH no decorrer do tempo e espectrofotometria UV-VIS, sendo os resultados obtidos apresentados nas figuras 5.1 e 5.2, respectivamente.

Figura 5.1 – Variação do pH durante a síntese de polidopamina.

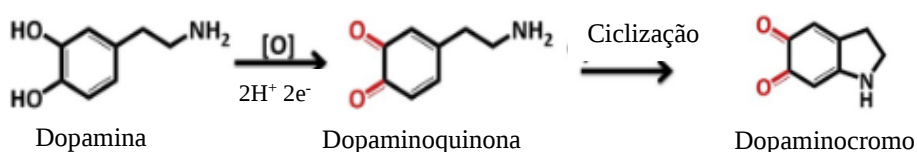


Fonte: Autoria própria

Na Figura 5.1 pode ser observado a rápida diminuição do pH nos primeiros 60 minutos, com leve decréscimo nas medidas seguintes. Esta tendência também foi observada por Ghorbani e colaboradores (2018), os quais obtiveram resultados semelhantes, com maior decréscimo na primeira hora, a qual ele credita a oxidação inicial da dopamina e fechamento do anel formador de 5,6 dihidroxilindol na fase posterior, e também pode ser explicado por Salomäki e colaboradores (2018) em seu estudo sobre o processo de síntese de polidopamina.

Inicialmente, a molécula de DA, quando em contato com meio básico e aerado, reage com o oxigênio disponível, conforme observado na figura 5.2, liberando ions H^+ . Em seguida, estas semiquinonas formadas continuam reagindo, formando dopaminocromo. Tais reações que ocorrem no início do processo de síntese são responsáveis pelo decréscimo do potencial hidrogeônico ocorrido nos primeiros 60 minutos.

Figura 5.2 – Representação das etapas de formação de dopaminocromo.



Fonte: Adaptado de Xu, *et al.* (2017).

Após esse período ocorre a predominância de formação de ligações não covalentes, ligadas a formação de agregados oligoméricos (Lyu, Hsueh e Chai, 2019). Tais processos não interferem de forma significativa no pH reacional, causando principalmente o crescimento desordenado das partículas e formação de aglomerados heterogêneos (Yakhlifi, El e Ball, 2020).

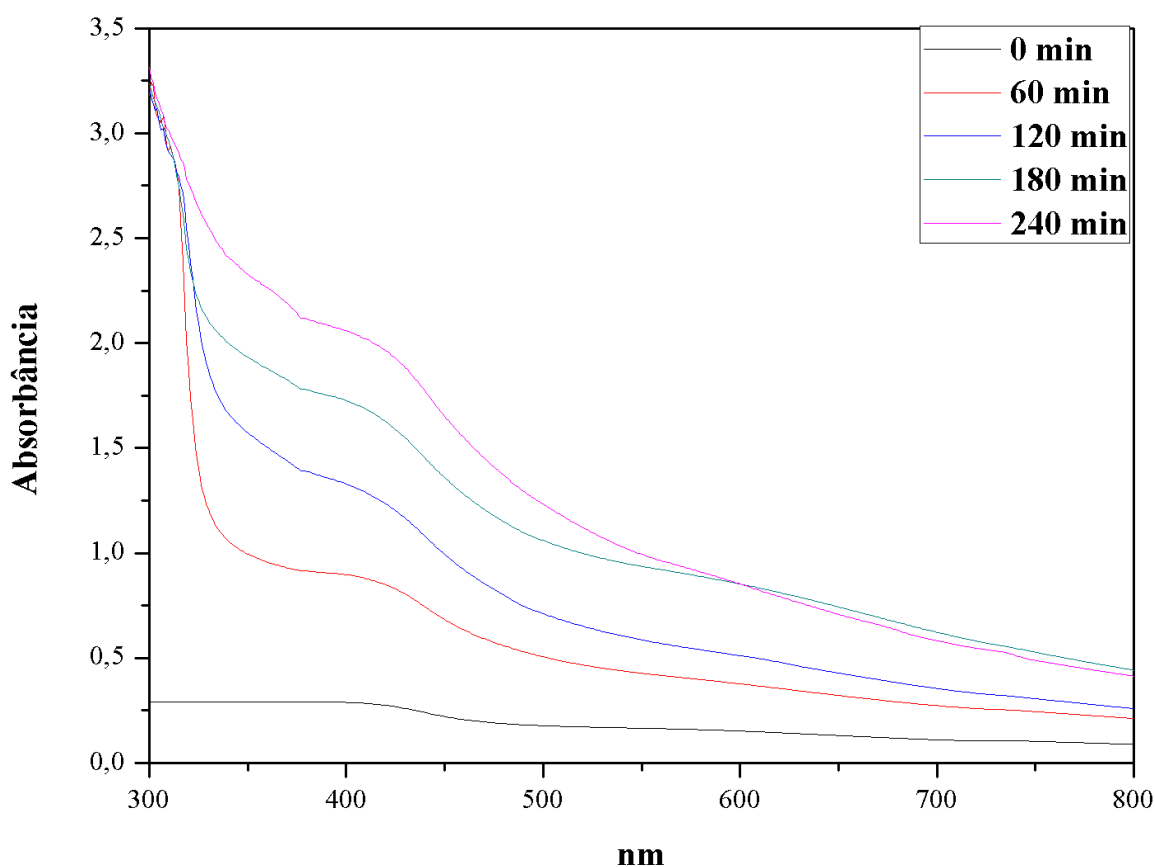
Tais fenômenos também podem ser observados por meio da análise dos espectros de absorção obtidos por meio da espectroscopia UV/Visível apresentado na Figura 5.3. Na qual é possível observar o aumento gradativo da absorbância na faixa compreendida entre 300 e 600 nm, com picos específicos, característicos dos compostos intermediários do processo de síntese de polidopamina.

Pode ser observado que logo após o ajuste do pH em 9,0, já é possível observar um leve pico em 395 nm, o qual é atribuído à presença de dopaminoquinona (Bisaglia, Mammi e Bubacco, 2007), o qual corrobora com os resultados obtidos na análise de variação de pH, evidenciando o processo precoce do primeiros estágio reacional de oxidação.

É importante ressaltar a ausência do pico referente a dopaminoseminquinona em 305 nm, composto intermediário, precursor da dopaminoquinona, em contradição ao observado por Thompson e colaboradores (1985) APUD Salomäki e colaboradores (2018), ao investigar os estágios iniciais de síntese de polidopamina em pH 8,5 e utilizando solução tampão TRIS. Sendo tal variação de espectro provavelmente devido os diferentes protocolos de síntese adotados pelo autor e nesta dissertação, o que favoreceu a conversão completa de dopamina para dopaminoquinona, tendo em vista que potenciais hidrogênios mais elevados favorecem a aceleração do processo de síntese e diminuição de dimensões (Ball, 2018).

Nos espectros posteriores pode ser observado o aumento de picos relacionados a compostos próximos a 300 nm, tais como leucodopacromo, dopa e dopacromo, 300 nm, 297 nm e 300 nm, respectivamente. Sendo elas, formas ciclizadas de eumelaninas (dopamina tipo melanina) (Salomäki *et al.*, 2018), indicando assim a efetiva conversão de dopamina em eumelanina.

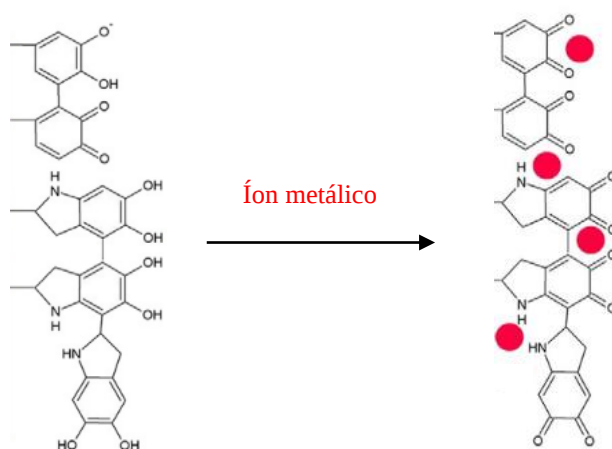
Figura 5.3 – Gráfico da absorbância da solução de polidopamina no decorrer do tempo.



Fonte: Autoria própria

A presença de tais compostos indicam a formação de material insolúvel, de coloração marrom escuro (pigmentação humana), os quais são o objetivo desta dissertação, além disso, tais produtos ainda apresentam grupos amina e hidroxila, parcial ou totalmente disponíveis para interação com íons ou moléculas, o que é de grande importância para a etapa posterior de incorporação do íon metálico, via interações de coordenação e atração eletrostática (Zeng *et al.*, 2020), conforme pode ser observado na Figura 5.4.

Figura 5.4 – Representação das etapas das possíveis posições de interação íon metálico/polidopamina.



Fonte: Adaptado de Xu, *et al.* (2017).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SINTETIZADO

5.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após o período de polimerização da polidopamina, foi obtido um material esférico, com pouca aglomeração, o qual pode ser observado na figura 5.5.A. Com tamanho de aproximadamente 320 nm. Com base na análise química realizada na região da Figura 5.5.C, foi possível notar a que o material é formado apenas por carbono e oxigênio.

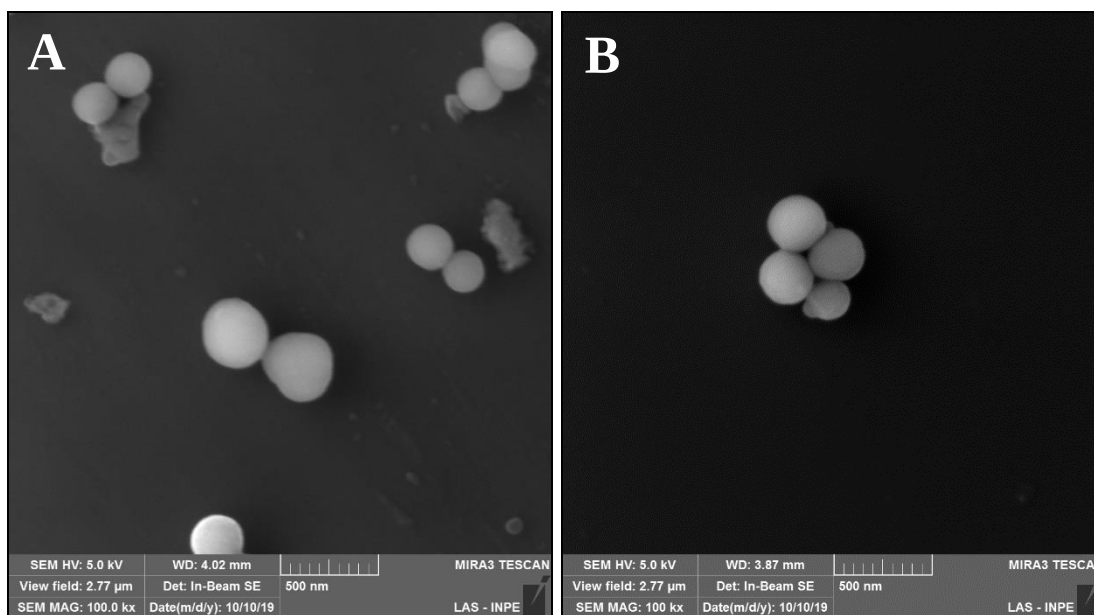
O tamanho obtido nesta pesquisa está acima do obtido em trabalhos semelhantes, onde Vega e colaboradores (2018) obtiveram partículas com diâmetro de 240 nm em reação em meio alcoólico por 24 horas e por Wang e colaboradores (2019), que obteve partículas com 220 nm, utilizando a mesma rota adotada neste trabalho, pelo período de 3 horas. Vale ressaltar que em comparação ao procedimento utilizado por Vega e colaboradores (2018), o procedimento adotado neste trabalho apresenta a vantagem de ser mais rápido, diminuindo

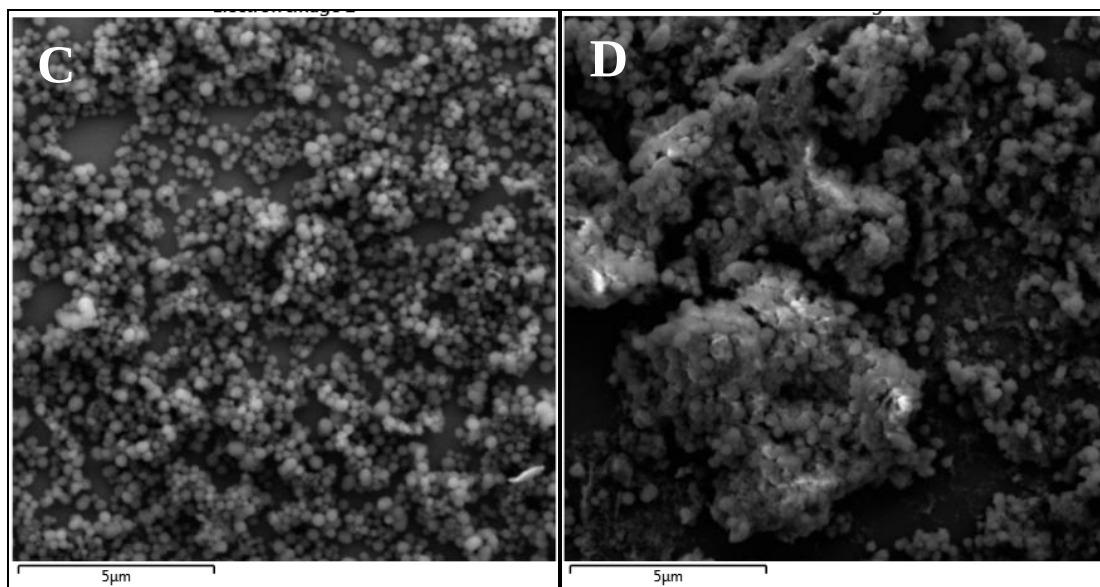
assim o tempo de produção do material.

Entretanto, fatores experimentais, tais como taxa de conversão eumelanina, formação de compostos intermediários e forças atrativas devido a cargas superficiais podem ter favorecido o maior crescimento, o qual é devido a interações não covalentes entre as moléculas, principalmente do tipo π - π (Lyu, Hsueh e Chai, 2019).

Nas partículas obtidas após a incorporação de gálio, não é possível observar nenhuma mudança superficial, indicando a presença do mesmo (Figura 5.5.B). Entretanto, a análise química realizada na área da Figura 5.5.D evidência a presença do elemento, em concentração de 12,6%, além da presença de Nitrogênio em 4,2%, possivelmente proveniente do nitrato utilizado como reagente.

Figura 5.5 – Resultados obtidos a partir da microscopia eletrônica de varredura da polidopamina (A e C) e polidopamina com incorporação de gálio (B e D) e resultados da análise química obtida por EDS (E).





E

AMOSTRA	C	O	G	N
Polidopamina	85,1	14,9	-	-
Polidopamina com gálio	50,8	32,5	12,6	4,2

Fonte: Autoria própria

5.2.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier FTIR

A técnica de Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier FTIR foi utilizada com o objetivo de compreender as alterações moleculares provenientes do processo de oxidação da dopamina e incorporação de íons Ga^{3+} , para tanto, foram analisadas amostras de hidrocloreto de dopamina (DA), polidopamina (PDA) e polidopamina sintetizada na presença de gálio (PDA@Ga), cujos resultados podem ser observados na Figura 5.6.

O espectro na região do infra-vermelho obtido para o hidrocloreto de dopamina (linha preta) é coerente com outros obtidos por estudos anteriores, podendo ser observado os picos em 1287 cm^{-1} referente a vibração do estiramento da ligação C-OH entre o carbono do anel benzênico e a hidroxila, além da vibração referente a ligação dupla entre os carbonos da cadeia benzênica ($\text{C}=\text{C}$) em 1600 cm^{-1} (Ghorbani *et al.*, 2018).

Também podem ser observados picos de baixa intensidade dispersos entre 2390 cm^{-1} e 2755 cm^{-1} , referentes a interação entre C-NH₂, característicos da função amina presente na molécula, além da vibração de estiramento C-NH₂ (Ghorbani *et al.*, 2018), além de picos em

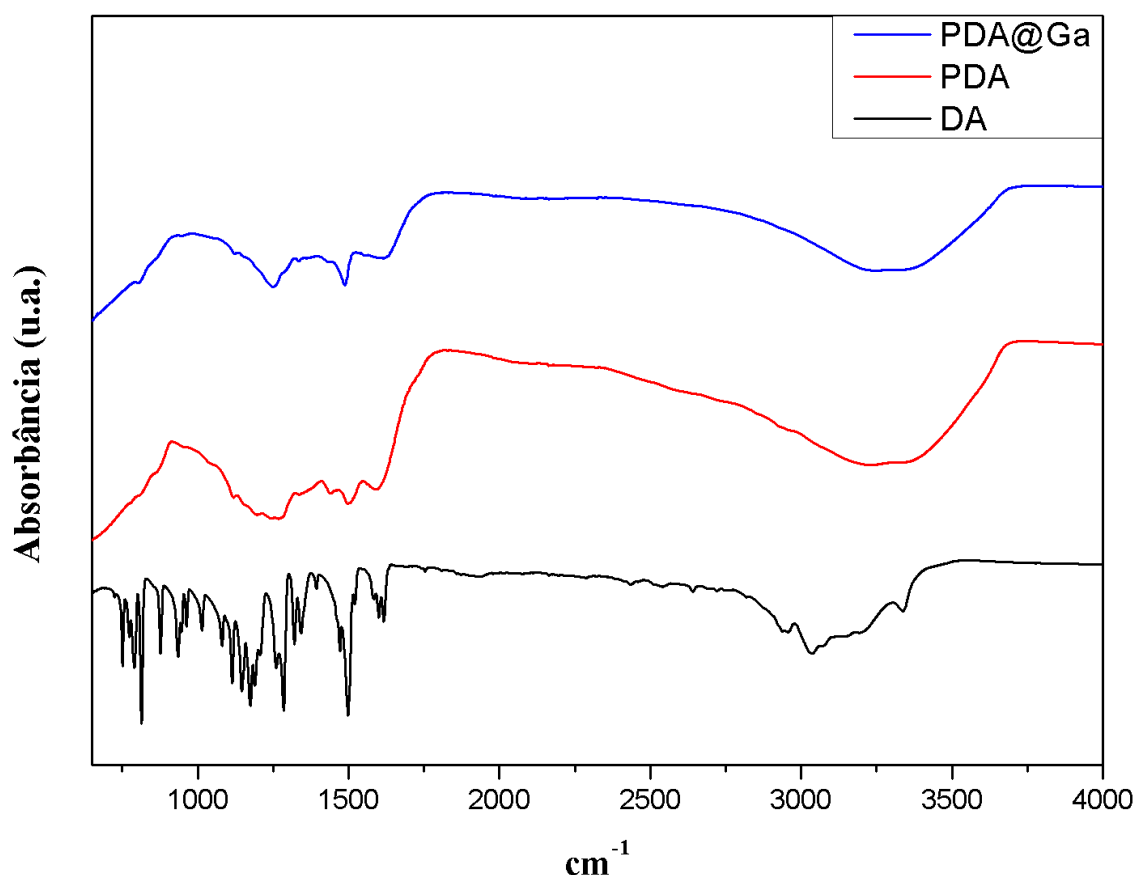
2936 cm^{-1} , 2958 cm^{-1} e 3042 cm^{-1} , referentes as diferentes possibilidades de interação conformacional do grupo amina presente na extremidade da molécula. Tais picos estão em conformidade com dados obtidos por Yadav e Mukherjee (2018)

Referente a ligação entre o carbono e NH_2 , vale ressaltar a presença de um possível pico parcialmente sobreposto em 1604 cm^{-1} , o qual segundo Zhao e colaboradores (2014)(Zhao *et al.*, 2014), pode ser atribuído a deformação no plano entre moléculas de carbono e NH_2 , sendo geralmente sobreposto pela ligação dupla de carbonos pertencentes a anéis aromáticos, o qual está presente em 1600 cm^{-1} .

Após a polimerização, ocorre uma mudança significativa do espectro obtido para polidopamina (linha vermelha), com desaparecimento de vários picos na região compreendida entre 800 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} . Nessa região podem ser identificados picos em 1119 cm^{-1} e 1285 cm^{-1} os quais podem ser atribuídos a vibração no plano da ligação simples entre carbono e nitrogênio(Yadav e Mukherjee, 2018) e ao estiramento da ligação entre o carbono do anel aromático e grupos hidroxila, respectivamente.

Em 1498 cm^{-1} pode ser visto o pico atribuído ao estiramento da ligação entre o carbono e o grupo amina, e em 1600 cm^{-1} o pico referente a dupla ligação do carbono presente no anel aromático, respectivamente o qual permanece inalterado em relação ao hidrocloreto de dopamina, indicando a permanência do anel aromático após polimerização, além do desaparecimento do pico sobreposto em 1604 cm^{-1} , correspondente a ligação entre carbono e nitrogênio do grupo amina.

Figura 5.6 – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das amostras de dopamina (DA), polidopamina (PDA) e polidopamina com gálio (PDA@Ga).



Fonte: Autoria própria

Ao analisarmos a região compreendida entre 2000 cm^{-1} e 2800 cm^{-1} , também podemos perceber o desaparecimento dos picos de baixa intensidade anteriormente compreendidos nesta região, referentes a função amina, podendo indicar a possível diminuição do grupo amina em decorrência do processo de ciclização do DHI durante a polimerização (Ghorbani *et al.*, 2018).

Na região de 2900 cm^{-1} a 3700 cm^{-1} pode ser percebido o desaparecimento dos picos identificados para o hidrocloreto de dopamina, com a formação de um único pico largo de 3000 cm^{-1} a 37000 cm^{-1} , atribuído a vibração de estiramento da ligação -OH, indicando assim a presença característica dos catecóis responsáveis pela capacidade de interação da polidopamina com moléculas ou íons disponíveis na vizinhança (Du *et al.*, 2017)(Lu *et al.*, 2012).

Os resultados obtidos para o polidopamina estão em acordo com os espectros obtidos por LI e colaboradores (2019)(Li *et al.*, 2019) ao sintetizarem nanopartículas de dopamina

sintetizadas em solução de amônia, e por Dongdong Bi (Bi *et al.*, 2018) ao sintetizar nanocompósitos em pH=8,5, indicando que a rota de síntese escolhida não altera significativamente, os grupos funcionais disponíveis.

O espectro da dopamina sintetizada na presença de gálio apresenta comportamento semelhante à polidopamina isolada, com algumas pequenas variações. Na região compreendida entre 800 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} pode ser observado o a diminuição da absorbância das vibrações desta região, com estreitamento do pico referente ao estiramento da ligação entre o carbono do anel aromático e o grupo hidroxila em aproximadamente 1260 cm^{-1} .

O mesmo ocorre para os picos em 1490 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} , os quais se tem menor absorbância em relação a dopamina, podendo indicar a diminuição dos grupos relacionados, possivelmente devido a sua interação com os íons Ga^{2+} disponíveis em solução. O mesmo pode ser percebido para a banda de vibração -OH, a qual apresenta menor absorbância em relação ao polímero na ausência de gálio.

Fenômeno semelhante foi observado por Yegappan e colaboradores (2019)(Yegappan *et al.*, 2019) ao incorporarem cisteamina e ácido hialurônico em nanopartículas de polidopamina, concluindo que a diminuição da absorbância poderia ser devido a interação entre as hidroxilas do polímero com o fármaco incorporado, visando ação angiogênica.

5.2.3 Viabilidade Celular

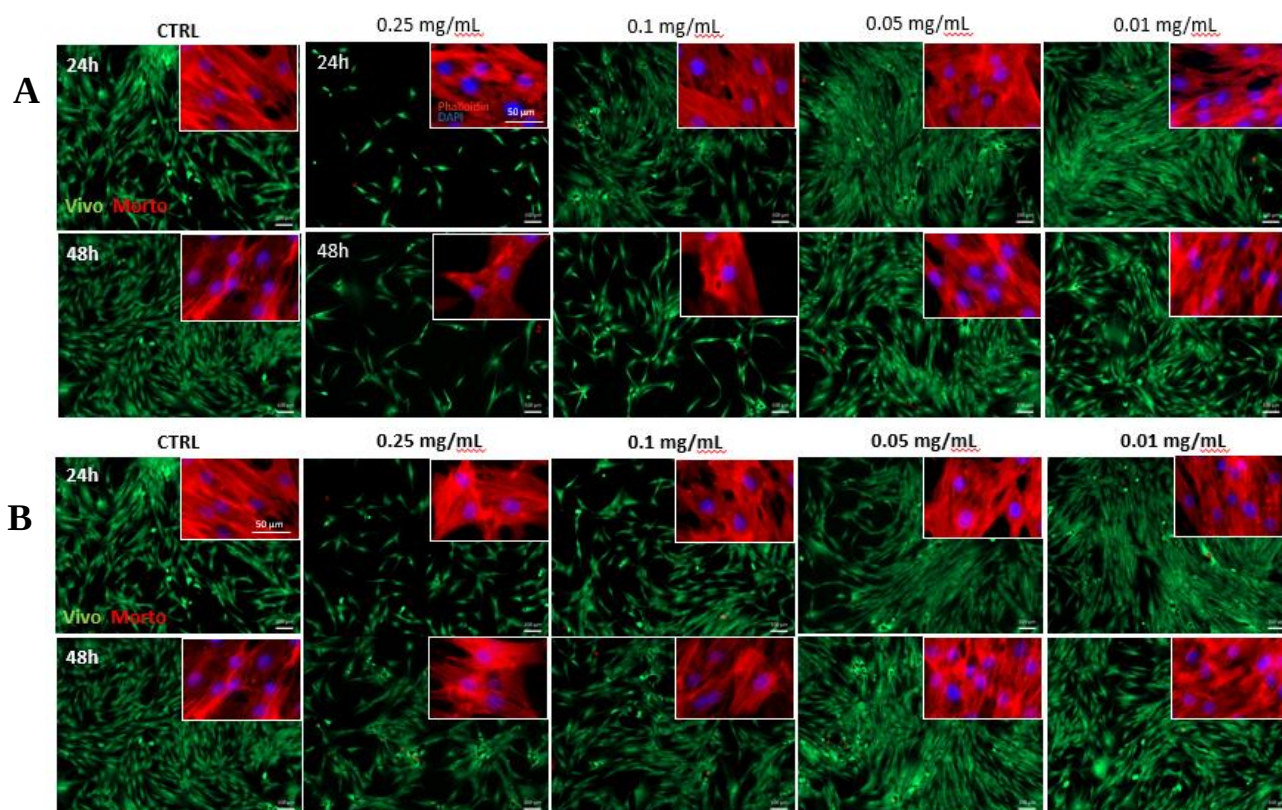
Para garantir a segurança na utilização de materiais em aplicações biomédicas é necessário compreender a sua interação com tecido celular, e em quais concentrações ele pode interferir nos processos biológicos. Para tanto, foi realizado o ensaio de viabilidade celular por meio de fluorescência confocal, o qual possibilitou obter informações qualitativas da interação entre as partículas de polidopamina e polidopamina com incorporação de gálio e células adiposas.

Na Figura 5.7 estão apresentados os resultados obtidos para polidopamina isoladamente (A) e polidopamina com incorporação de gálio (B). Pode ser observado que em comparação ao grupo controle, tanto as amostras apenas de polidopamina quanto com incorporação de gálio apresentaram decréscimo no crescimento celular (indicado pela coloração verde) nas concentrações de 0,25mg/mL.

Adicionalmente, na concentração de 0,1 mg/mL, as partículas de polidopamina apresentam restrição da proliferação celular, com diminuição da viabilidade em 48 horas, o que não é observado nas partículas com presença de gálio. Tal restrição de viabilidade

também foi verificada por Ju e colaboradores (2011) ao analisar nanopartículas de polidopamina expostas a células de carcinoma humano. Em seu estudo, Ju e colaboradores (2011) perceberam que concentrações de até 0,75 mg/mL não afetavam significativamente a viabilidade de células de carcinoma humano, passando a ter aproximadamente 20% de morte celular em concentrações a partir de 100 mg/mL expostas durante 24 horas.

Figura 5.7 – Fluorescência confocal de amostras de partículas de polidopamina (A) e polidopamina com incorporação de gálio (B) expostas a células de tecido adiposo por 24 e 48 horas.



Fonte: Autoria própria

Em relação ao decréscimo de viabilidade celular após exposição a partículas de polidopamina por períodos de 48 horas, fenômeno que é percebido com maior intensidade em concentrações acima de 100 mg/mL, pode ser explicado pelo tempo necessário de interação entre celular e polidopamina para que ocorra efetiva interferência nos processos metabólicos.

Nieto e colaboradores (2019) observaram este fenômeno após expor células de carcinoma humano a nanopartículas de polidopamina com 115 nm de diâmetro em concentração de 0,042 mg/mL por 72 horas. Os pesquisadores constataram que quanto maior

o tempo de exposição, maior a citotoxicidade apresentada. Os pesquisadores atribuíram este fenômeno ao tempo necessário para interação das nanopartículas com as células, e sua consequente penetração na parede celular, o que ocasionaria a formação de espécies reativas de oxigênio e consequente interrupção do processo metabólico. Adicionalmente, os autores também apontaram a reação de ferroptose, que consiste na morte celular devido a interrupção do processo metabólico devido ao sequestro de ferro metabólico.

Levando em consideração a presença de grupos quelantes nas partículas de polidopamina, é possível afirmar que os mesmos podem produzir ferroptoses após permeação da parede celular, se ligando aos elementos disponíveis no interior celular. Tal fenômeno pode explicar o aumento gradativo da citotoxicidade, devido ao: 1º tempo necessário para permeação celular e formação de espécies reativas e 2º tempo para sequestro do ferro metabólico no interior das células.

Entretanto, ao analisarmos as concentrações de 0,05 mg/mL e 0,01 mg/mL tais fenômenos não são observados, o que pode possivelmente indicar que nestas concentrações não há uma quantidade de material significativa para interferir no processo metabólico destas células, ou ainda, necessitando de maior tempo para que sua interação possa causar resultados prejudiciais a proliferação celular. Vale ressaltar que até o tempo máximo de 48 horas não foi possível observar mudanças no comportamento do núcleo celular, o que corrobora para a hipótese de uso seguro em pequenas concentrações.

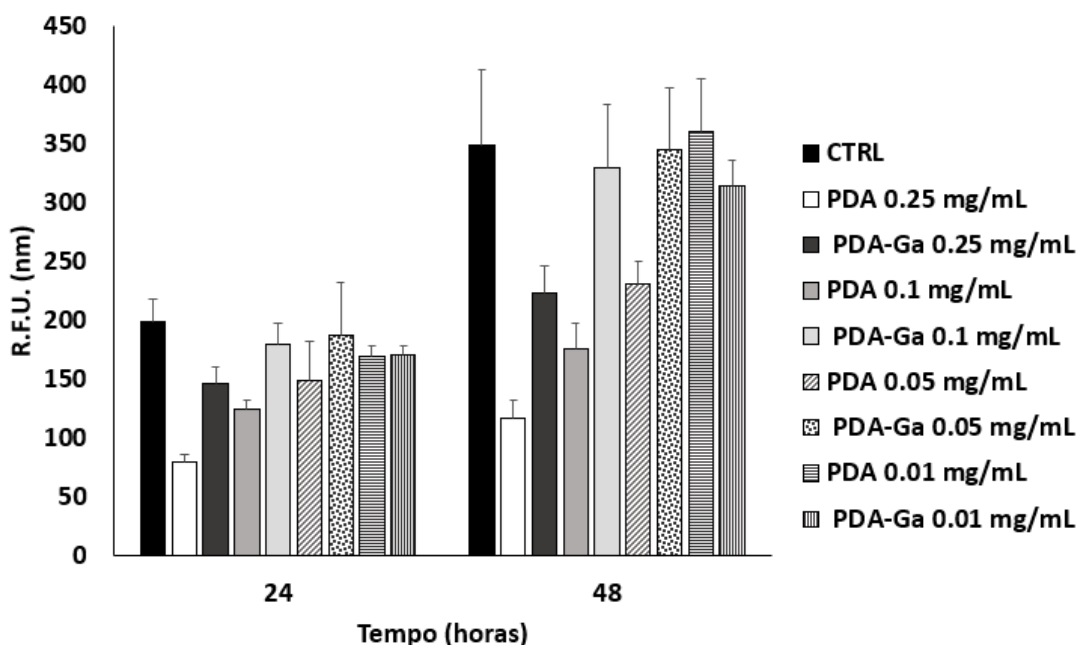
Por outro lado, é possível perceber que para partículas com incorporação de gálio, há pouca ou nenhuma distinção entre o comportamento de concentrações de até 0,1 mg/mL e o grupo controle, com proliferação celular nos períodos entre 24 e 48 horas. Tal resultado indica uma melhoria na citotoxicidade do material com a incorporação do íon metálico em sua superfície, aumentando assim a sua tolerância no organismo humano.

Este resultado é de grande importância, tendo visto que para outros trabalhos na literatura, o PDA apresentou comportamento oposto após incorporação de outros íons metálicos tais como ferro, cobre e prata (Shang *et al.*, 2019; Vega *et al.*, 2018), o que indica possivelmente uma boa interação do gálio com a linhagem celular utilizada. Adicionalmente, este comportamento pode estar ligado a diminuição de grupos funcionais formadores de espécies reativas de oxigênio (Ghorbani *et al.*, 2018), diminuindo seu efeito deletério no metabolismo celular e como consequência, favorecendo a proliferação das células.

Esse comportamento pode ser notado de forma quantitativa por meio da avaliação da atividade metabólica via quantificação de DNA, o qual pode ser observado na Figura 5.8, a qual mostra a atividade metabólica das células na presença de diferentes concentrações de

polidopamina e polidopamina com incorporação de gálio durante 24 e 48 horas.

Figura 5.8 – Atividade metabólica de dsDNA das células tronco derivadas de tecido adiposo expostas as partículas por 24 e 48 horas.



Fonte: Autoria própria

Assim como na fluorescência, é perceptível a diminuição da atividade metabólica para todas as concentrações de polidopamina isolada, com diminuição expressiva na maior concentração analisada, dobrando quando comparada a mesma concentração com incorporação de gálio, mantendo a mesma proporção após 48 horas de exposição.

Também é perceptível o aumento geral da atividade metabólica em todas as concentrações com incorporação de gálio, com exceção para a concentração de 0,01 mg/mL em 24 horas, onde ambos apresentam o mesmo comportamento, e em 48 horas, onde a partícula sem gálio apresenta maior atividade. É importante levar em consideração o elevado desvio para amostras com 48 horas de exposição.

Em comparação ao controle positivo, apenas a concentração de 0,05 mg/mL com incorporação de gálio apresentou atividade semelhante, permanecendo com mesmo comportamento para 48 horas, sendo excedida pela concentração de 0,01 mg/mL de polidopamina pura.

Tais resultados corroboram os resultados qualitativos obtidos por fluorescência, indicando a melhoria geral da interação entre as células e o material sintetizado após

incorporação de gálio, indicando que a possível utilização do presente sistema em aplicações biomédicas, assim como dando base suficiente para investigar um futuro potencial bactericida derivado da interação entre o gálio e bactérias.

É evidente que a incorporação de gálio na superfície das partículas melhora sua interação com as células estudadas, entretanto é importante ressaltar que com base nas análises realizadas ainda é impossível afirmar de forma precisa os fatores responsáveis pela efetiva melhora na citotoxicidade, podendo estar relacionados a boa aceitação por parte das células à presença do gálio.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e análise da literatura, é possível concluir que foi efetivamente sintetizado partículas micrométricas de polidopamina com efetiva incorporação de gálio, utilizando uma metodologia simplificada e de fácil reprodutibilidade de resultados em ambiente laboratorial.

Com base nas técnicas adotadas para acompanhamento do processo de síntese adotado, foi possível inferir que o processo de oxidação dopamina ocorreu de forma satisfatória, com efetiva formação de formas estáveis ciclizadas de dopaminoquinona e dopaminocromo, as quais são estáveis em meios abaixo de pH 12 e semelhantes as eumelaninas encontradas no corpo humano, o que as torna adequadas para utilização como biomaterial.

Adicionalmente, resultados de espectroscopia Infravermelho com transformadas de Fourier indicaram a presença de grupos – OH ligados ao carbono, indicando assim a possibilidade de interação dos mesmos com íons disponíveis, o que foi confirmado pela efetiva incorporação de gálio indicado por espectroscopia por dispersão de elétrons de forma qualitativa.

Em estudo *in vitro* foi possível concluir a melhora efetiva dos resultados de viabilidade celular das partículas micrométricas após incorporação de gálio, indicando assim as melhoras das propriedades da polidopamina particulada em aplicações biomédicas. Com base na comparação visual dos resultados com e sem incorporação de gálio, foi possível concluir que ocorreu efetivo aumento da tolerância de células tronco de 0,05 mg/mL para 0,25 mg/mL após incorporação do metal, o que indica a possibilidade de uso do material investigado nesta pesquisa com segurança dentro das concentrações limites encontradas.

REFERÊNCIAS

- AHMED, W. *et al.* Adaptive antibacterial biomaterial surfaces and their applications. **Materials Today Bio**, Lausanne, v. 2, p. 100017, mar. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590006419300183>. Acesso em: 12 out. 2019.
- RAMALHO, A. F. D. **Óxido de gálio amorfo**: síntese, caracterizações, ensaios in vitro de citotoxicidade e atividade antimicrobiana. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/24261>. Acesso em: 11 fev. 2019.
- CLARO, A. P. R. A. *et al.* Incorporation of silver nanoparticles on Ti7.5Mo alloy surface containing TiO₂ nanotubes arrays for promoting antibacterial coating: in vitro and in vivo study. **Applied Surface Science**, Amsterdã, v. 455, p. 780-788, out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433218315101>. Acesso em: 17 mar. 2018.
- ARGUDÍN, M. A. *et al.* Heavy metal resistance in bacteria from animals. **Research In Veterinary Science**, Londres, v. 122, p. 132-147, fev. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528817312675?via%3Dihub>. Acesso em: 22 dez. 2018.
- BALL, V. *et al.* Kinetics of polydopamine film deposition as a function of pH and dopamine concentration: insights in the polydopamine deposition mechanism. **Journal of Colloid and Interface Science**, Nova York, v. 386, n. 1, p. 366-372, nov. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021979712007874>. Acesso em: 09 mai. 2018.
- BALL, V. *et al.* Polydopamine nanomaterials: recent advances in synthesis methods and applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 6, n. 109, p. 1-12, 17 ago. 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2018.00109/full>. Acesso em: 12 mai. 2018.
- BANSAL, A.; ZHANG, Y. Photocontrolled nanoparticle delivery systems for biomedical applications. **Accounts Of Chemical Research**, Washington, v. 47, n. 10, p. 3052-3060, 19 ago. 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar500217w>. Acesso em: 12 out. 2019.
- BEHZADI, S *et al.* Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. **Chemical Society Reviews**, Londres, v. 46, n. 14, p. 4218-4244, jul. 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/CS/C6CS00636A>. Acesso em: 19 out. 2019.
- PETRAN, A *et al.* Poly[3,4-dihydroxybenzhydrazide]: a polydopamine analogue?. **Macromolecular Chemistry and Physics**, Basel, v. 219, n. 10, p. 1700564, 19 abr. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/macp.201700564>. Acesso em: 12 mai. 2018.

BI, D. *et al.* Surface modification of doxorubicin-loaded nanoparticles based on polydopamine with pH-sensitive property for tumor targeting therapy. **Drug Delivery**, Filadélfia, v. 25, n. 1, p. 564-575, 1 jan. 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10717544.2018.1440447>. Acesso em: 12 out. 2018.

BISAGLIA, M. *et al.* Kinetic and structural analysis of the early oxidation products of dopamine. **Journal Of Biological Chemistry**, Filadélfia, v. 282, n. 21, p. 15597-15605, 29 mar. 2007. Disponível em: <https://www.jbc.org/content/282/21/15597.long>. Acesso em: 11 mai. 2018.

BONIFACIO, M. A. *et al.* Gallium-modified chitosan/poly(acrylic acid) bilayer coatings for improved titanium implant performances. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 348-357, jun. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861717302576>. Acesso em: 15 out. 2019.

CAMPOCCIA, D. *et al.* A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. **Biomaterials**, Oxford, v. 34, n. 34, p. 8533-8554, nov. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961213009174>. Acesso em: 22 out. 2018.

COSTA, B. C. **Processamento sonoquímico de materiais mesoestruturados de óxido de zinco dopados com terras-raras**. 2014. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Faculdade de Ciências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Bauru, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/110885>. Acesso em: 11 nov. 2019.

CHEN, C. *et al.* Polydopamine and eumelanin models in various oxidation states. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Londres, v. 20, n. 44, p. 28135-28143, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/cp/c8cp05037f>. Acesso em: 26 out. 2018.

CHEN, Q. *et al.* Metallic implant biomaterials. **Materials Science and Engineering: R**, Lausanne, v. 87, p. 1-57, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927796X14001077>. Acesso em: 21 mar. 2018.

HITAMBAR, C. R. *et al.* Gallium and its competing roles with iron in biological systems. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba): molecular cell research**, Amisterdã, v. 1863, n. 8, p. 2044-2053, ago. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488916301276>. Acesso em: 02 out. 2018.

CHITAMBAR, C. R. *et al.* The therapeutic potential of iron-targeting gallium compounds in human disease: from basic research to clinical application. **Pharmacological Research**, Londres, v. 115, p. 56-64, jan. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661816308623>. Acesso em: 22 jan. 2019.

CHOUIRFA, H. *et al.* Review of titanium surface modification techniques and coatings for

antibacterial applications. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 83, p. 37-54, jan. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706118306354>. Acesso em: 12 abr. 2019.

COCHIS, A. *et al.* Biofilm formation on titanium implants counteracted by grafting gallium and silver ions. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, Hoboken, v. 103, n. 3, p. 1176-1187, 18 jul. 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.a.35270>. Acesso em: 12 out. 2018.

COCHIS, A. *et al.* The effect of silver or gallium doped titanium against the multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Biomaterials**, Guildford, v. 80, p. 80-95, fev. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961215009527>. Acesso em: 12 out. 2018.

D'ISCHIA, M. *et al.* Polydopamine and eumelanin: from structure property relationships to a unified tailoring strategy. **Accounts Of Chemical Research**, Washington, v. 47, n. 12, p. 3541-3550, 23 out. 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar500273y>. Acesso em: 02 out. 2019.

DONG, J. *et al.* Gallium-doped titania nanotubes elicit anti-bacterial efficacy in vivo against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* biofilm. **Materialia**, Lausanne, v. 5, p. 100209, mar. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589152919300043>. Acesso em: 12 abr. 2018.

DONG, Z. *et al.* Polydopamine nanoparticles as a versatile molecular loading platform to enable imaging-guided cancer combination therapy. **Theranostics**, Sidney, v. 6, n. 7, p. 1031-1042, 2016. Disponível em: <https://www.thno.org/v06p1031.htm>. Acesso em: 12 jan. 2019.

DREYER, D. R. *et al.* Elucidating the structure of poly(dopamine). **Langmuir**, Washington, v. 28, n. 15, p. 6428-6435, 4 abr. 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la204831b>. Acesso em: 12 mai. 2018.

DU, Q. *et al.* Polydopamine as a new modification material to accelerate startup and promote anode performance in microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 343, p. 477-482, mar. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378775317301039>. Acesso em: 12 fev. 2019.

ERAZO, A. *et al.* Synthesis of ZnO nanoparticles with different morphology: study of their antifungal effect on strains of *aspergillus niger* and *botrytis cinerea*. **Materials Chemistry And Physics**, Lausanne, v. 234, p. 172-184, ago. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0254058419304729>. Acesso em: 12 out. 2019.

FAURE, E. *et al.* Catechols as versatile platforms in polymer chemistry. **Progress In Polymer Science**, Elmsford, v. 38, n. 1, p. 236-270, jan. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670012000731>. Acesso em: 12 mai. 2018.

GAO, Y. *et al.* Ce6/Mn²⁺-chelated polydopamine@black-TiO₂ nanoprobe for enhanced synergistic phototherapy and magnetic resonance imaging in 4T1 breast cancer. **Nanoscale**, Londres, v. 12, n. 3, p. 1801-1810, 2020. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/nr/c9nr09236f>. Acesso em: 12 out. 2019.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Key terminology in biomaterials and biocompatibility. **Current Opinion In Biomedical Engineering**, Amsterdã, v. 10, p. 45-50, jun. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468451118300746>. Acesso em: 02 out. 2019.

GHAVAMINEJAD, A. *et al.* Immobilization of silver nanoparticles on electropolymerized polydopamine films for metal implant applications. **Colloids And Interface Science Communications**, Lausanne, v. 6, p. 5-8, maio 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2215038215000102>. Acesso em: 12 out. 2018.

GHORBANI, F. *et al.* A facile method to synthesize mussel-inspired polydopamine nanospheres as an active template for in situ formation of biomimetic hydroxyapatite. **Materials Science And Engineering: C**, Lausanne, v. 94, p. 729-739, jan. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928493118307094>. Acesso em: 15 nov. 2018.

GÓMEZ-CEREZO, N. *et al.* The response of pre-osteoblasts and osteoclasts to gallium containing mesoporous bioactive glasses. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 76, p. 333-343, ago. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706118303829>. Acesso em: 10 out. 2018.

GONG, Y. *et al.* Strategies in biomimetic surface engineering of nanoparticles for biomedical applications. **Nanoscale**, Londres, v. 4, n. 2, p. 360-368, 2012. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/NR/C1NR11297J>. Acesso em: 19 out. 2019.

RAD, M. H. *et al.* A Two-Stage kinetics model for polydopamine layer growth. **Macromolecular Chemistry And Physics**, Basel, v. 219, n. 9, p. 1700505, 15 mar. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/macp.201700505>. Acesso em: 12 nov. 2018.

HAN, L. *et al.* Polydopamine nanoparticles modulating stimuli-responsive PNIPAM Hydrogels with cell/tissue adhesiveness. **Acs Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 8, n. 42, p. 29088-29100, 14 out. 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.6b11043>. Acesso em: 12 out. 2019.

HASAN, J. *et al.* Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. **Trends In Biotechnology**, Amsterdã, v. 31, n. 5, p. 295-304, maio 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779913000309>. Acesso em: 12 out. 2019.

HEIDENAU, F. *et al.* A novel antibacterial titania coating: metal ion toxicity and in vitro surface colonization. **Journal Of Materials Science: Materials in Medicine**, Londres, v. 16, n. 10, p. 883-888, out. 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-005-4422-3>. Acesso em: 12 out. 2019.

HONG, S. *et al.* Non-covalent self-assembly and covalent polymerization co-Contribute to polydopamine formation. **Advanced Functional Materials**, Weinheim, v. 22, n. 22, p. 4711-4717, 5 jul. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adfm.201201156>. Acesso em: 12 set. 2019.

JIANG, J. *et al.* Surface characteristics of a self-polymerized dopamine coating deposited on hydrophobic polymer Films. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 23, p. 14180-14187, 6 dez. 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la202877k>. Acesso em: 12 mai. 2018.

JU, K. *et al.* Bioinspired polymerization of dopamine to generate melanin-like nanoparticles having an excellent free-radical-scavenging property. **Biomacromolecules**, Washington, v. 12, n. 3, p. 625-632, 14 mar. 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm101281b>. Acesso em: 12 out. 2019.

KHEIRI, S. *et al.* Nanoparticles at biointerfaces: antibacterial activity and nanotoxicology. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, Amsterdã, v. 184, p. 110550, dez. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776519306940>. Acesso em: 12 out. 2019.

KIM, D. *et al.* Recent development of inorganic nanoparticles for biomedical imaging. **Acs Central Science**, Washington, v. 4, n. 3, p. 324-336, 23 jan. 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscentsci.7b00574>. Acesso em: 17 out. 2018.

LEI, W. *et al.* Polydopamine nanocoating for effective photothermal killing of bacteria and fungus upon near-infrared irradiation. **Advanced Materials Interfaces**, v. 3, n. 22, p. 1600767, 19 set. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/admi.201600767>. Acesso em: 12 out. 2018.

LI, H. *et al.* Facile fabrication of robust polydopamine microcapsules for insulin delivery. **Journal Of Colloid And Interface Science**, Nova York, v. 487, p. 12-19, fev. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021979716307640>. Acesso em: 12 out. 2019.

LI, J. *et al.* Bioinspired approach to enhance mechanical properties of starch based nacre-mimetic nanocomposite. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 221, p. 113-119, out. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861719306113>. Acesso em: 12 set. 2018.

LIN, Q. *et al.* Adhesion mechanisms of the mussel foot proteins mfp-1 and mfp-3. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, Washington, v. 104, n. 10, p. 3782-3786, 28 fev. 2007. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/104/10/3782>. Acesso em: 23 mai. 2018.

LIU, C. *et al.* Mussel-inspired degradable antibacterial polydopamine/silica nanoparticle for rapid hemostasis. **Biomaterials**, Guildford, v. 179, p. 83-95, out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961218304654>. Acesso em: 14 out. 2018.

LIU, F. *et al.* Controllable synthesis of polydopamine nanoparticles in microemulsions with pH-activatable properties for cancer detection and treatment. **Journal Of Materials Chemistry B**, Londres, v. 3, n. 33, p. 6731-6739, 2015 Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/tb/c5tb01159k#!divAbstract.asp>. Acesso em: 22 nov. 2018.

LIU, H. *et al.* Melanin-Like Nanomaterials for Advanced Biomedical Applications: a versatile platform with extraordinary promise. **Advanced Science**, Weinheim, v. 7, n. 7, p. 1903129, 7 fev. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/advs.201903129.asp>. Acesso em: 12 jan. 2020.

LU, F. *et al.* Resources and extraction of gallium: a review. **Hydrometallurgy**, Amsterdã, v. 174, p. 105-115, dez. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X16306065>. Acesso em: 15 out. 2018.

YAN, J. *et al.* Polydopamine Spheres as Active Templates for Convenient Synthesis of Various Nanostructures. **Small**, Weinheim, v. 9, n. 4, p. 596-603, 1 nov. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.201201064>. Acesso em: 12 out. 2018.

LYU, Q. *et al.* The chemistry of bioinspired catechol(amine)-based coatings. **Acs Biomaterials Science & Engineering**, Washington, v. 5, n. 6, p. 2708-2724, 17 maio 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.9b00281>. Acesso em: 12 out. 2019.

MACÍAS-MACÍAS, K. Y. *et al.* Extraction and recovery of the strategic element gallium from an iron mine tailing. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, Lausanne, v. 7, n. 2, p. 102964, abr. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343719300879>. Acesso em: 12 dez. 2019.

LYNGE, M. *et al.* Recent developments in poly(dopamine)-based coatings for biomedical applications. **Nanomedicine**, Londres, v. 10, n. 17, p. 2725-2742, set. 2015. Disponível em: https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/nnm.15.89?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.asp. Acesso em: 22 out. 2018.

MINANDRI, F. *et al.* Promises and failures of gallium as an antibacterial agent. **Future Microbiology**, Londres, v. 9, n. 3, p. 379-397, mar. 2014. Disponível em: https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/fmb.14.3?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=crpub%20%200pubmed. Acesso em: 12 set. 2018.

MOULAY, S. *et al.* Dopa/catechol-tethered polymers: bioadhesives and biomimetic adhesive materials. **Polymer Reviews**, Londres, v. 54, n. 3, p. 436-513, 5 maio 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15583724.2014.881373>. Acesso em: 12 out.

2018.

NADOR, F. *et al.* Synthesis of polydopamine-like nanocapsules via removal of a sacrificial mesoporous silica template with water. **Chemistry: a European Journal**, Weinheim, v. 23, n. 12, p. 2733-2733, 4 jan. 2017. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/chem.201604631>. Acesso em: 13 out. 2019.

NECULA, B.s. *et al.* An electron microscopical study on the growth of TiO₂–Ag antibacterial coatings on Ti6Al7Nb biomedical alloy. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 2751-2757, jun. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706111001073>. Acesso em: 19 out. 2018

NIETO, C. *et al.* Size matters in the cytotoxicity of polydopamine nanoparticles in different types of tumors. **Cancers**, Washington, v. 11, n. 11, p. 1679, 29 out. 2019 Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/11/1679>. Acesso em: 12 nov. 2019.

Oliveira, W. F. *et al.* Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis infections on implants. **Journal Of Hospital Infection**, Londres, v. 98, n. 2, p. 111-117, fev. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195670117306345>. Acesso em: 02 out. 2018.

PAPPALARDO, D. *et al.* Biocompatibility of resorbable polymers: a historical perspective and framework for the future. **Biomacromolecules**, Washington, v. 20, n. 4, p. 1465-1477, 11 mar. 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.9b00159>. Acesso em: 12 dez. 2018.

PARK, D. *et al.* Polydopamine hollow nanoparticle functionalized with N-diazeniumdiolates as a nitric oxide delivery carrier for antibacterial therapy. **Advanced Healthcare Materials**, Weinheim, v. 5, n. 16, p. 2019-2024, 22 jun. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adhm.201600150>. Acesso em: 18 out. 2018.

PATEL, K. *et al.* Polydopamine films change their physicochemical and antimicrobial properties with a change in reaction conditions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 20, n. 8, p. 5744-5755, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/cp/c7cp08406d>. Acesso em: 12 mar. 2019.

PAVAN, M. E. *et al.* Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives. **Applied Microbiology And Biotechnology**, Berlim, v. 104, n. 4, p. 1357-1370, 7 dez. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-019-10245-y>. Acesso em: 19 set. 2019.

POURSHAHRESTANI, S. *et al.* Gallium-containing mesoporous bioactive glass with potent hemostatic activity and antibacterial efficacy. **Journal Of Materials Chemistry B**, Londres, v. 4, n. 1, p. 71-86, 2016. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/tb/c5tb02062j>. Acesso em: 03 out. 2018.

QIU, W. *et al.* Dopamine-assisted co-deposition: an emerging and promising strategy for surface modification. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdã, v. 256, p. 111-125, jun. 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868617304098>. Acesso em: 12 out. 2018.

RAFIŃSKA, K. *et al.* Study of *Bacillus subtilis* response to different forms of silver. **Science of the Total Environment**, Amsterdã, v. 661, p. 120-129, abr. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718349805>. Acesso em: 12 out. 2019.

ALOMÄKI, M. *et al.* Effects of pH and oxidants on the first steps of polydopamine formation: a thermodynamic approach. **The Journal Of Physical Chemistry B**, Washington, v. 122, n. 24, p. 6314-6327, 22 maio 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcb.8b02304>. Acesso em: 12 set. 2019.

SHANG, B. *et al.* Synthesis of sandwich-structured silver@polydopamine@silver shells with enhanced antibacterial activities. **Journal Of Colloid And Interface Science**, Nova York, v. 558, p. 47-54, jan. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979719311348>. Acesso em: 02 nov. 2019.

SJOLLEMA, J. *et al.* In vitro methods for the evaluation of antimicrobial surface designs. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 70, p. 12-24, abr. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706118300710>. Acesso em: 12 mar. 2019.

STRAZIC-GELJIC, I. *et al.* Gallium, a promising candidate to disrupt the vicious cycle driving osteolytic metastases. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 116, p. 11-21, set. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295216301654>. Acesso em: 12 out. 2018.

GELJIC, I. S. *et al.* Gallium enhances reconstructive properties of a calcium phosphate bone biomaterial. **Journal Of Tissue Engineering And Regenerative Medicine**, Chichester, v. 12, n. 2, p. 854-866, 23 maio 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28079305/>. Acesso em: 07 out. 2018.

SUN, X. *et al.* BFGF-grafted electrospun fibrous scaffolds via poly(dopamine) for skin wound healing. **J. Mater. Chem. B**, Londres, v. 2, n. 23, p. 3636-3645, 2014. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/tb/c3tb21814g>. Acesso em: 22 out. 2019.

TOLEDO, A. V. *et al.* Melanins in fungi: types, localization and putative biological roles. **Physiological And Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 99, p. 2-6, ago. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576517300036>. Acesso em: 12 out. 2018.

VEGA, M. A. *et al.* Cytotoxicity of paramagnetic cations: loaded polydopamine nanoparticles. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdã, v. 167, p. 284-290, jul. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776518302376>. Acesso em: 12 fev. 2019.

VENTOLA, C. L. Progress in Nanomedicine: approved and investigational nanodrugs. **P&T**, Lawrenceville, v. 42, n. 12, p. 742-755, dez. 2017. Disponível em: <https://www.ptcommunity.com/journal/article/full/2017/12/742/progress-nanomedicine-approved-and-investigational-nanodrugs>. Acesso em: 11 mai. 2019.

VERRON, E. *et al.* Molecular effects of gallium on osteoclastic differentiation of mouse and human monocytes. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 83, n. 5, p. 671-679, mar. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295211009099?via%3Dihub>. Acesso em: 19 mai. 2019.

VERRON, E. *et al.* Gallium as a potential candidate for treatment of osteoporosis. **Drug Discovery Today**, Oxford, v. 17, n. 19-20, p. 1127-1132, out. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644612002000>. Acesso em: 12 mai. 2018.

VIJAYAKUMAR, V. *et al.* Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. **International Journal Of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 122, p. 137-148, fev. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813018338923>. Acesso em: 05 out. 2019.

WADGE, M. D. *et al.* Generation and characterisation of gallium titanate surfaces through hydrothermal ion-exchange processes. **Materials & Design**, Surrey, v. 155, p. 264-277, out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127518304453>. Acesso em: 12 set. 2018.

WAITE, J. H. *et al.* Polyphenolic substance of *Mytilus edulis*: novel adhesive containing l-dopa and hydroxyproline. **Science**, Washington, v. 222, n. 1, p. 1038-1040, maio 1981. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/212/4498/1038>. Acesso em: 12 abr. 2018.

WANG, X. *et al.* Polydopamine nanoparticles carrying tumor cell lysate as a potential vaccine for colorectal cancer immunotherapy. **Biomaterials Science**, Londres, v. 7, n. 7, p. 3062-3075, 2019. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/BM/C9BM00010K>. Acesso em: 12 out. 2019.

WILLIAMS, D. F. *et al.* Biocompatibility pathways: biomaterials-induced sterile inflammation, mechanotransduction, and principles of biocompatibility control. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, Washington, v. 3, n. 1, p. 2-35, 8 dez. 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.6b00607>. Acesso em: 12 out. 2019.

WOJCIESZAK, D. *et al.* Influence of Cu, Au and Ag on structural and surface properties of bioactive coatings based on titanium. **Materials Science And Engineering: C**, Lausanne, v. 71, p. 1115-1121, fev. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928493116316599>. Acesso em: 12 mai. 2019.

WU, C. *et al.* Bioinspired synthesis of polydopamine/Ag nanocomposite particles with

antibacterial activities. **Materials Science And Engineering: C**, Lausanne, v. 55, p. 155-165, out. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928493115300849>. Acesso em: 12 out. 2018.

WU, H. *et al.* Hydroxyethyl starch stabilized polydopamine nanoparticles for cancer chemotherapy. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 349, p. 129-145, out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894718308957>. Acesso em: 02 out. 2019.

WU, L. *et al.* Grand challenges in nanomedicine. **Materials Science And Engineering: C**, Lausanne, v. 106, p. 110302, jan. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493118325773>. Acesso em: 12 dez. 2019.

XIONG, H. *et al.* Oxidation-controlled synthesis of fluorescent polydopamine for the detection of metal ions. **Microchemical Journal**, Nova York, v. 147, p. 176-182, jun. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X19300220>. Acesso em: 15 nov. 2019.

XU, J. *et al.* Polydopamine coatings embedded with silver nanoparticles on nanostructured titania for long-lasting antibacterial effect. **Surface And Coatings Technology**, Lausanne, v. 320, p. 608-613, jun. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0257897216310623>. Acesso em: 16 nov. 2018.

XU, Z. *et al.* Antimicrobial effect of gallium nitrate against bacteria encountered in burn wound infections. **Rsc Advances**, Londres, v. 7, n. 82, p. 52266-52273, 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ra/c7ra10265h>. Acesso em: 18 out. 2018.

YADAV, T.; MUKHER, V. Interpretation of IR and Raman spectra of dopamine neurotransmitter and effect of hydrogen bond in HCl. **Journal Of Molecular Structure**, Amsterdã, v. 1160, p. 256-270, maio 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286018301054>. Acesso em: 19 jan. 2019.

YAKHLIFI, S. E. *et al.* Polydopamine as a stable and functional nanomaterial. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdã, v. 186, p. 110719, fev. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092777651930863X>. Acesso em: 19 dez. 2019.

YEGAPPAN, R. *et al.* Nano polydopamine crosslinked thiol-functionalized hyaluronic acid hydrogel for angiogenic drug delivery. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdã, v. 177, p. 41-49, maio 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776519300402>. Acesso em: 18 set. 2019.

YEROSLAVSKY, G. *et al.* Sonochemically-produced metal-containing polydopamine nanoparticles and their antibacterial and antibiofilm Activity. **Langmuir**, Washington, v. 32, n. 20, p. 5201-5212, 11 maio 2016. Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.6b00576>. Acesso em: 17 mar. 2019.

YIN, Y. *et al.* One-step fabrication of Ag@Polydopamine film modified NiTi alloy with strong antibacterial property and enhanced anticorrosion performance. **Surface And Coatings Technology**, Lausanne, v. 380, p. 125013, dez. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0257897219310047>. Acesso em: 22 out. 2019.

YU, X. *et al.* Characterization of Carbonized Polydopamine Nanoparticles Suggests Ordered Supramolecular Structure of Polydopamine. **Langmuir**, Washington, v. 30, n. 19, p. 5497-5505, 6 maio 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la500225v>. Acesso em: 21 out. 2018.

ZAMBONI, T. P. S. **Estudo da ação bactericida em regiões próximas à superfície de titânio e AISI 304 pela incorporação de prata**. 2017. 105 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/xmlui/handle/11338/2820>. Acesso em: 18 out. 2019.

ZENG, Q. *et al.* Efficient decontamination of heavy metals from aqueous solution using pullulan/polydopamine hydrogels. **International Journal Of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 145, p. 1049-1058, fev. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019361367>. Acesso em: 21 dez. 2019.

ZHAO, H. *et al.* Polydopamine nanoparticles for the treatment of acute inflammation-induced injury. **Nanoscale**, Londres, v. 10, n. 15, p. 6981-6991, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/NR/C8NR00838H>. Acesso em: 11 fev. 2019.

ZHAO, L. *et al.* Surface functionalization of titanium substrates with chitosan-lauric acid conjugate to enhance osteoblasts functions and inhibit bacteria adhesion. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdã, v. 119, p. 115-125, jul. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776514002288>. Acesso em: 23 out. 2018.

ZHAO, X. G. *al.* Enhanced mechanical properties of self-polymerized polydopamine-coated recycled PLA filament used in 3D printing. **Applied Surface Science**, Amsterdã, v. 441, p. 381-387, maio 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433218302769>. Acesso em: 12 out. 2018.

ZHOU, Z. *et al.* Melanin-like nanoparticles decorated with an autophagy-inducing peptide for efficient targeted photothermal therapy. **Biomaterials**, Guildford, v. 203, p. 63-72, maio 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961219301206>. Acesso em: 18 set. 2019.

ZHU, B. *et al.* Polydopamine-melanin initiators for Surface-initiated ATRP. **Polymer**, Lausanne, v. 52, n. 10, p. 2141-2149, maio 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032386111002333>. Acesso em: 19 out. 2018.