

Daniela Vassalo Pereira

Nanoplataformas de prata e ouro e sílica mesoporosa aplicáveis em inativação fotodinâmica.

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

Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro

Coorientador: Dr. Rafael Miguel Sábio

Coorientador: Dr. Robson Rosa da Silva

Araraquara

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

P436n Pereira, Daniela Vassalo
Nanoplateformas de prata e ouro e sílica mesoporosa
aplicáveis em inativação fotodinâmica / Daniela Vassalo Pereira.
– Araraquara : [s.n.], 2021
74 f. : il.

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

Orientador: Sidney José Lima Ribeiro

Coorientador: Rafael Miguel Sábio

Coorientador: Robson Rosa da Silva

1. Nanopartículas. 2. Materiais nanoestruturados. 3. Materiais mesoporosos. 4. Prata. 5. Ouro. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: " Nanoplatasformas de prata e ouro e sílica mesoporosa aplicaveis em inativação fotodinamica"

AUTORA: DANIELA VASSALO PEREIRA

ORIENTADOR: SIDNEY JOSE LIMA RIBEIRO

COORDENADOR: RAFAEL MIGUEL SÁBIO

COORDENADOR: ROBSON ROSA DA SILVA

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



Prof. Dr. SIDNEY JOSE LIMA RIBEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Virtual)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. HERNANE DA SILVA BARUD (Participação Virtual)
Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais / Universidade de Araraquara - UNIARA - Araraquara

Araraquara, 25 de junho de 2021

DADOS CURRICULARES

Identificação

Nome: Daniela Vassalo Pereira

Nome em citações bibliográficas: PEREIRA, D. V.

Endereço profissional

Avenida Prof. Francisco Degni, 55.

Bairro: Jardim Quitandinha

CEP: 14800-900 – Araraquara, SP

E-mail: d.vassalopereira@gmail.com

Formação acadêmica

2013-2017: Graduação em Licenciatura em Química na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Araraquara.

Bolsas

- Outubro/2018 a novembro/2020 – Bolsa de mestrado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

- Janeiro/2016 a Dezembro/2017 - Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência na Escola Técnica Estadual Prof^a Anna de Oliveira Ferraz.

- Janeiro/2016 a Janeiro/2017 – Laboratório de Materiais Fotônicos – Iniciação Científica como voluntária no Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química - UNESP Araraquara.

- Dezembro/2014 a Dezembro/2015 - Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência na Escola Estadual Victor Lacorte Prof.

- Abril/2013 a Dezembro/2014 - Projeto de Extensão Universitária Ciência Viva no Centro de Ciência de Araraquara.

Apresentação de trabalhos

- Participação no II Workshop INFO – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fotônica. Apresentação de trabalho em forma de pôster intitulado “Silver and mesoporous silica nanohybrid applicable in photodynamic inactivation” de 12 a 15 de fevereiro de 2020.

- Participação no 8th International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications. Apresentação de trabalho em forma de pôster intitulado “Synthesis of gold nanoparticles to obtain multifunctional nanomaterials” de 26 a 31 de agosto de 2018.

- Participação no XXVIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp – CIC. Apresentação de trabalho em forma de pôster intitulado “Síntese de nanopartículas de ouro e de sílica mesoporosas para obtenção de nanomateriais multifuncionais” de 08 a 09 de setembro de 2016.

- Participação no Evento de Educação em Química – EVEQ XIV. Apresentação de trabalho em forma de pôster intitulado “Atividades experimentais como fator de influência na aprendizagem de Química” de 11 a 13 de maio de 2016.

Artigos

CARVALHO, Gabriela Corrêa et al. Highlights in Mesoporous Silica Nanoparticles as a Multifunctional Controlled Drug Delivery Nanoplatfom for Infectious Diseases Treatment. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 10, p. 1-30, 2020.

Formação Complementar

- Participação na 47ª Semana da Química do Instituto de Química da Unesp Araraquara. Minicurso “Química Forense” de 18 e 22 de setembro de 2017 com carga horária de 8 horas.

- Participação da Comissão do XV Evento de Educação em Química – EVEQ 2017, com tema “Arte e Ciência: diálogos possíveis para a Educação em Ciências” de 17 a 19 de maio de 2017.

- Participação na 45ª Semana da Química do Instituto de Química da Unesp Araraquara. Minicurso “Noções Cosméticas em Produtos Capilares” de 19 e 23 de outubro de 2015 com Carga horária de 12 horas.

- Participação no Evento de Educação em Química – EVEQ XIII, com tema “Interação escola-universidade: desafios para a construção conjunta de espaços formativos”. Oficina “Atividades investigativas: a reflexão na construção e avaliação de sequências didáticas e seu impacto no desenvolvimento de habilidades cognitivas e capacidades de argumentação em alunos e professores em formação” de 17 a 19 de junho de 2015 com carga horária de 8 horas.

- Participação no Evento de Educação em Química – EVEQ XI, com tema “Educação inclusiva: uma nova maneira de ensinar Química”. Minicurso “História e filosofia da ciência catalisando ações transdisciplinares” de 28 a 30 de agosto de 2013 com carga horária de 4 horas. Oficina “Ensino de Química para alunos com deficiência visual” de 28 a 30 de agosto de 2013 com carga horária de 4 horas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar mais um sonho, por ter me sustentado e guiado nessa jornada. A minha família, minha mãe Elizabete Aparecida Vassalo Pereira, meu pai Sebastião Martins Pereira, minha irmã Laís Vassalo Pereira, meu cunhado Rafael José Bombarda Passerini, minha sobrinha Beatriz Amaral Bombarda e aos membros da família de quatro patas, Laika e Bernardo. Obrigada família por terem sido tão pacientes e amorosos comigo, por me reconfortar e ajudar a me levantar novamente nos dias difíceis e também por celebrar comigo cada pequena conquista.

Aos amigos Aline Maria Demambro, Camila Juliane Lima, Maybi Roberta Daminhani, Tatiana Rossafa Pauletti, Luana Alves Galvão de Souza, Natalia Mendes Sanches, Maicon Douglas de Oliveira Souza, Rafaela Pereira e Matheus da Silva Salgado dos Santos. Obrigada pelo companheirismo, pelas risadas, carinho, amizade, pelo apoio nessa e em outras jornadas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro, aos co-orientadores Dr. Rafael Miguel Sábio e Dr. Robson Rosa da Silva por todo conhecimento compartilhado comigo, levando ao meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada por toda paciência e dedicação que se iniciou ainda durante minha graduação em Química na iniciação científica. Vocês foram e são inspiração para que eu tivesse ainda mais vontade de aprender Química e me envolver no mundo da pesquisa.

Ao grupo Fotônicos por ter me acolhido desde o início e terem me ajudado no uso de equipamentos, dicas para meu trabalho de pesquisa e risadas compartilhadas durante reuniões, eventos e confraternizações do grupo.

Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP por toda receptividade ao disponibilizar seu laboratório e equipamentos, auxiliando na construção desse trabalho. Também agradeço a sua aluna Tais de Cassia Ribeiro por toda gentileza e auxílio no uso do laboratório e equipamentos durante esse processo.

A Prof^a Dra. Denise Bevilaqua do Instituto de Química – UNESP por ter disponibilizado seu laboratório para o uso da centrífuga. A Prof^a Dra. Alessandra

Nara de Souza Rastelli e Dra. Natalia Mayumi Inada por todas as dicas e conhecimentos compartilhados para os possíveis testes microbiológicos dos materiais a serem desenvolvidos durante este trabalho.

Ao Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Protocolos em Nanotecnologia do Instituto de Química – UNESP, Campus de Araraquara.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo para elaboração deste trabalho, processo nº 168016/2018-4.

Ao Instituto de Química – Unesp, campus de Araraquara e a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para me tornar uma profissional melhor.

Muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Atualmente, os microrganismos multirresistentes aos antibióticos convencionais representam um sério problema de saúde pública global. Com isso, houve a necessidade de desenvolver novas estratégias antimicrobianas, como a Inativação Fotodinâmica (PDI). Baseado no fato de que muitos fotossensibilizadores (FS) utilizados em PDI apresentam baixa disponibilidade em meio aquoso e necessidade de aumentar sua eficiência quântica, foram propostas nanoplateformas baseadas em sílica mesoporosa (SiO_2M) e nanopartículas metálicas, prata e ouro, que podem ser utilizadas para aprimorar a aplicação dos FS, superando os problemas apresentados. Nesse sentido, esse trabalho descreve as sínteses e caracterizações da nanoplateforma de nanoesferas de SiO_2M com nanopartículas de prata sintetizadas com citrato de sódio como agente estabilizante (NPsAg-1) e da nanoplateforma núcleo/casca de SiO_2M com nanopartículas de prata sintetizadas com polivinilpirrolidona como agente estabilizante (NPsAg-2), $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-1}$ e $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$, respectivamente. Ambas plataformas poderiam ter curcumina incorporada nos mesoporos da sílica, uma vez que a faixa de absorção da curcumina e das nanopartículas de prata são na mesma região. Além disso, foram feitas as sínteses e caracterizações de nanoesferas de ouro (NPsAu) e nanobastões de ouro (NBsAu) como proposta para serem associadas com estruturas de SiO_2M . As caracterizações dos nanomateriais foram feitas por meio de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), potencial zeta e medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As NPsAg-1 apresentaram formato esférico, tamanho de 10 nm, raio hidrodinâmico de 22 nm, banda de absorção máxima em 398 nm e potencial zeta de -36,8 mV com excelente estabilidade coloidal. As NPsAg-2 mostraram tamanho de 10 a 90 nm e forma quase esférica, raio hidrodinâmico de 155 nm, potencial zeta de -23,9 mV, boa estabilidade coloidal, com banda de absorção máxima em 414 nm e depois de serem recobertas com casca de SiO_2M com espessura de 10 nm, $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$, a máxima absorção passou a ser em 428 nm. As nanoesferas de SiO_2M

mostraram diâmetro médio de 50 nm e indícios de mesoporos, raio hidrodinâmico médio de 268 nm, potencial zeta médio de -19,4 mV e o espectro FTIR revelou presença de grupos Si–O–Si e Si–OH. As NPsAu apresentaram formato esférico regular, diâmetro médio de 9,9 nm, boa monodispersividade, absorção máxima em 520 nm, raio hidrodinâmico de 23 nm, com potencial zeta igual a 41,2 mV, indicando boa estabilidade coloidal. Os NBsAu mostraram diâmetros entre 13,9 nm e 16,2 nm e comprimentos entre 151 nm e 250 nm, raio hidrodinâmico predominante em 43 nm e potencial zeta médio igual a 59,1 mV, evidenciando que a suspensão coloidal é estável. Assim, a exploração do uso LSPR das nanopartículas metálicas associadas a estruturas de SiO₂M podem melhorar a atividade antimicrobiana de diversos fármacos devido ao efeito chamado Aumento da Geração de Oxigênio Singleto via Metal (MEO), que ocorre ao combinar nanopartículas metálicas com FS que possuem faixa de absorção coincidentes, aprimorando protocolos PDI.

PALAVRAS-CHAVE: nanopartículas metálicas; nanopartículas de prata; nanopartículas de ouro; sílica mesoporosa; fotossensibilizadores; inativação fotodinâmica; bactérias resistentes a medicamentos; nanoplataformas; entrega de medicamentos baseados em nanotecnologia.

ABSTRACT

Currently, microorganisms that are multiresistant to conventional antibiotics represent a serious global public health problem. Thus, there was a need to develop new antimicrobial strategies, such as Photodynamic Inactivation (PDI). Based on the fact that many photosensitizers (FS) used in PDI have low availability in aqueous media and the need to increase their quantum efficiency, nanoplatforms based on mesoporous silica (SiO_2M) and metallic, silver and gold nanoparticles were proposed, which can be used for improve the application of FS, overcoming the problems presented. In this sense, this work describes the syntheses and characterizations of the nanoplatform of SiO_2M nanospheres with silver nanoparticles synthesized with sodium citrate as stabilizing agent (NPsAg-1) and of the SiO_2M core/shell nanoplatform with silver nanoparticles synthesized with polyvinylpyrrolidone as agent stabilizer (NPsAg-2), $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-1}$ and $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$, respectively. Both platforms could have curcumin incorporated in the silica mesopores, since the absorption range of curcumin and silver nanoparticles are in the same region. Furthermore, syntheses and characterizations of gold nanospheres (NPsAu) and gold nanorods (NBsAu) were carried out as proposed to be associated with SiO_2M structures. The characterizations of the nanomaterials were performed by means of ultraviolet and visible absorption spectroscopy (UV-Vis), zeta potential and dynamic light scattering (DLS) measurements, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), electron microscopy transmission (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). The NPsAg-1 had a spherical shape, size of 10 nm, hydrodynamic radius of 22 nm, maximum absorption band at 398 nm and zeta potential of -36.8 mV with excellent colloidal stability. The NPsAg-2 showed a size of 10 to 90 nm and almost spherical shape, hydrodynamic radius of 155 nm, zeta potential of -23.9 mV, good colloidal stability, with maximum absorption band at 414 nm and after being covered with shell of SiO_2M with a thickness of 10 nm, $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$, the maximum absorption was at 428 nm. The SiO_2M nanospheres showed an average diameter of 50 nm and evidence of mesopores, an average hydrodynamic radius of 268 nm, an average zeta potential of -19.4 mV and the FTIR spectrum revealed the presence of Si–O–Si and Si–OH groups. The NPsAu showed regular spherical shape, mean diameter of 9.9 nm, good monodispersity,

maximum absorption at 520 nm, hydrodynamic radius of 23 nm, with zeta potential equal to 41.2 mV, indicating good colloidal stability. The NBsAu showed diameters between 13.9 nm and 16.2 nm and lengths between 151 nm and 250 nm, predominant hydrodynamic radius at 43 nm and mean zeta potential equal to 59.1 mV, showing that the colloidal suspension is stable. Thus, the exploration of the LSPR use of metallic nanoparticles associated with SiO₂M structures can improve the antimicrobial activity of several drugs due to the effect called Increased Singlet Oxygen Generation via Metal (MEO), which occurs when combining metallic nanoparticles with FS that have a range of coincident absorption, enhancing PDI protocols.

KEY WORDS: metallic nanoparticles; silver nanoparticles; gold nanoparticles; mesoporous silica; photosensitizers; photodynamic inactivation; drug-resistant bacteria; nanoplatforms; nanotechnology-based drug delivery.

LISTA DE ABREVIATÖES

aPDI – Inativação Fotodinâmica Antimicrobiana

Cur – Curcumina

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ERO – Espécies reativas de oxigênio

FS – Fotossensibilizador

ISC – Cruzamento intersistema

ISO – Organização Internacional para Padronização

LSPR – Ressonância de plasmon de superfície localizado

MEO – Aumento da Geração de Oxigênio Singleto via Metal

NBsAu – Nanobastões de ouro

NPsAg – Nanopartículas de prata

NPsAu – Nanoesferas de ouro

OMS – Organização Mundial da Saúde

PACT – Quimioterapia Fotodinâmica Antimicrobiana

PDI – Inativação Fotodinâmica

PDT – Terapia Fotodinâmica

RNA – Ácido Ribonucleico

S₀ – Estado Singleto Fundamental

S₁ – Estado Singleto Excitado

T₁ – Estado Tripleto

SiO₂M – Sílica mesoporosa

UV – Ultravioleta

UV-Vis – Ultravioleta e visível

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura celular de bactérias gram-positiva e gram-negativa.
- Figura 2.** Diagrama de Jablonski. Ilustração gráfica dos mecanismos fotofísicos e fotoquímicos do método PDI.
- Figura 3.** Estruturas química dos curcuminóides presentes no açafrão.
- Figura 4.** Estrutura química da curcumina em conformação ceto e enol.
- Figura 5.** Representação da síntese de NPsAg com utilização de agentes redutores e estabilizantes.
- Figura 6.** Representação dos nanohíbridos produzidos a partir de SiO₂M, NPsAg e Cur.
- Figura 7.** Balão contendo a suspensão resultante de NPsAg-1.
- Figura 8.** Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAg-1.
- Figura 9.** Micrografias TEM da suspensão de NPsAg-1.
- Figura 10.** Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAg-1.
- Figura 11.** Medidas referentes ao potencial zeta das NPsAg-1.
- Figura 12.** Eppendorfs contendo as partículas resultantes de SiO₂M.
- Figura 13.** Micrografias TEM das nanoesferas de SiO₂M.
- Figura 14.** Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das nanoesferas de SiO₂M.
- Figura 15.** Medidas referentes ao potencial zeta das nanoesferas de SiO₂M.
- Figura 16.** Espectro FTIR referente as nanoesferas de SiO₂M.
- Figura 17.** Frasco contendo a suspensão resultante de NPsAg-2.
- Figura 18.** Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAg-2.
- Figura 19.** Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAg-2.
- Figura 20.** Medidas referentes ao potencial zeta referente às NPsAg-2.
- Figura 21.** Micrografias TEM da suspensão de NPsAg-2.

Figura 22. Eppendorf contendo $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$ em pó.

Figura 23. Espectroscopia na região do UV-Vis das $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$.

Figura 24. Micrografias TEM das $\text{SiO}_2\text{M@NPsAg-2}$.

Figura 25. A) Frasco contendo complexo $\text{CTA}[\text{AuBr}_4]$ à esquerda e B) frasco contendo sementes de ouro à direita.

Figura 26. Eppendorfs contendo a suspensão de NPsAu .

Figura 27. Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAu .

Figura 28. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAu .

Figura 29. Medidas referentes ao potencial zeta das NPsAu .

Figura 30. Micrografias de TEM referente às NPsAu .

Figura 31. Frascos contendo a suspensão de NBsAu .

Figura 32. Espectroscopia na região do UV-Vis das NBsAu .

Figura 33. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NBsAu .

Figura 34. Medidas de potencial zeta das NBsAu .

Figura 35. Imagens MEV da suspensão de NBsAu .

Figura 36. Imagens MEV da suspensão de NBsAu com tamanhos de largura e diâmetro mensurados.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
1.1.	Infecções bacterianas	17
1.2.	Inativação Fotodinâmica	19
1.2.1.	Aspectos históricos	20
1.2.2.	Aspectos gerais	20
1.2.3.	Fotossensibilizador	23
1.3.	Nanomateriais em PDI	29
1.4.	Nanopartículas de prata	30
1.4.1.	Propriedades	30
1.4.2.	Ação da prata	31
1.4.3.	Método de obtenção das NPsAg	32
1.5.	Sílica Mesoporosa	34
1.5.1.	Propriedades	34
1.5.2.	Método de obtenção das nanopartículas de SiO ₂ M	35
2.	OBJETIVOS	37
3.	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	38
3.1.	Síntese da nanoplateforma SiO₂M@NPsAg-1	38
3.1.1.	Síntese de nanoesferas de prata via nucleação e crescimento.	38
3.1.2.	Síntese de nanoesferas de SiO ₂ M via sol-gel.	38
3.2.	Síntese da nanoplateforma SiO₂M@NPsAg-2	39
3.2.1.	Síntese de nanoesferas de prata via nucleação e crescimento.	39
3.2.2.	Revestimento do núcleo de prata com sílica mesoporosa via sol-gel.	39
3.2.	Síntese de nanopartículas de ouro (NPsAu)	40
3.3.	Síntese de nanobastões de ouro (NBsAu)	41
4.	METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO	42
4.1.	Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis:	42
4.2.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR):	42
4.3.	Potencial zeta e medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS):	42
4.4.	Microscópio eletrônico de transmissão (MET):	42
4.5.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):	43
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43

5.1.	Síntese da nanoplateforma SiO₂M@NPsAg-1	43
5.1.1.	Síntese das NPsAg-1.	43
5.1.2.	Síntese de nanoesferas de SiO ₂ M.	46
5.2.	Síntese da nanoplateforma SiO₂M@NPsAg-2	49
5.2.1.	Síntese das NPsAg-2.	49
5.2.2.	Síntese das SiO ₂ M@NPsAg-2.	52
5.3.	Síntese de NPsAu	53
5.4.	Síntese de NBsAu	57
6.	CONCLUSÃO	60
7.	PERSPECTIVAS	62
	REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

1.1. Infecções bacterianas

Infecções bacterianas causam uma ampla gama de doenças que podem ser infecções supurativas locais ou até sistêmicas^{1,2}. A resistência aos fármacos antimicrobianos é um desafio, já que o ritmo de descoberta de novos medicamentos é bem inferior a demanda de seu uso^{3,4,5}. Com a descoberta de agentes antimicrobianos houve uma mudança na evolução dos processos de resistências naturais, uma vez que a alta utilização indiscriminada desses fármacos proporcionou um ambiente específico para estimular elementos de resistência nas populações microbianas, deixando de ser um processo de resistência intrínseca para um processo de resistência extrínseca^{3,5,6}.

O Relatório Global de Resistência Antimicrobiana Sobre Vigilância produzido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2014 afirma que a resistência antimicrobiana dentro de um cenário com vasta possibilidade de microrganismos infecciosos é motivo de preocupação, uma vez que ameaça a saúde pública⁶. Também menciona a era pós-antibiótica como uma possibilidade real para o século XXI, em que ferimentos leves e infecções corriqueiras poderão ser fatais⁶. Além disso, é previsto que haja resistência bacteriana a um novo antibiótico dentro de 50 anos depois de dar início ao seu uso^{3,4}. O relatório produzido pela OMS também destaca que bactérias como a gram-negativa *Escherichia coli* e gram positiva *Staphylococcus aureus* estão causando infecções corriqueiras em diversos contextos, como em hospitais e comunidade⁶.

A *E.coli* é encontrada de forma natural no intestino de humanos e animais, porém é uma das principais causadoras de infecções através de alimentos, seja por auto-infecção ou por animais pela cadeia alimentar^{6,7}. Além de ser a causa principal de infecções hospitalares nos rins, trato urinário e sistema circulatório, é responsável por meningite em recém-nascidos^{1,6,7}. Já a *S. aureus* compõe naturalmente a flora do nariz e da pele, mas também é um patógeno para os humanos, uma vez que pode causar infecções na corrente sanguínea, pele, tecidos moles, endocardite, pneumonia, celulites e abscessos, também responsável por feridas em pós-operatórios e intoxicação alimentar^{1,6,7}.

O grande problema é que essas bactérias desenvolveram mutações que levaram a resistência de alguns antibióticos. De acordo com a OMS a *E. coli* tornou-se resistente a 3ª geração de cefalosporinas e fluoroquinolonas e a *S. aureus* resistente a meticilina “MRSA”. Além disso, a *E. coli* também apresenta resistência a penicilinas além de já ter sido constatado que a *E. coli* portadora do gene *mcr-1* tem se tornado resistente a colistina (polimixina E), que é um dos últimos antibióticos utilizados em bactérias resistentes^{1,8}. Também é crescente bactérias *S. aureus* resistentes a outros antibióticos como a oxacilina, penilina e outros antibióticos β -lactâmicos^{1,2}.

A resistência bacteriana à 3ª geração de cefalosporina faz necessário o uso de carbapenêmicos, ambos antibióticos usados em último caso contra organismos multirresistentes, que por sua vez são mais caros, podem não ser acessíveis quando se tem recursos limitados e, além disso, podem contribuir ainda mais com o aumento da resistência bacteriana^{6,9}. A MRSA, também são resistentes aos carbapenêmicos e outros fármacos alternativos, o que traz limitações a profilaxia padrão com remédios de primeira linha. Isso torna essencial o uso de medicamentos de segunda linha, que são mais caros, podem causar efeitos colaterais graves e requer acompanhamento médico do paciente durante o tratamento, gerando mais gastos^{6,10}.

Ao pensar em uma linha do tempo sobre o desenvolvimento de medicamentos antibacterianos, a descoberta da penicilina em 1929 e da estreptomicina em 1943 impulsionaram a Era Dourada, período em que se utilizava produtos naturais¹¹. A seleção de corantes naturais foram os primeiros antimicrobianos, mas logo depois foram substituídos pela observação de que fungos e bactérias produzem metabólitos que permitiam tratar infecções bacterianas^{3,11}. Porém não foi suficiente para lidar com o desenvolvimento da resistência microbiana, além de inconvenientes toxicológicos^{3,5,11}.

Em torno de 1960, as dificuldades encontradas na Era Dourada levaram ao próximo período de inovação conhecida como a Era da Química Medicinal, em que foram desenvolvidas versões sintéticas dos antimicrobianos naturais já existentes³. Esses novos medicamentos trouxeram muitas melhorias, entre elas a administração de doses mais baixas e amplo espectro para diversos patógenos bacterianos¹¹. Mesmo com todas melhorias, o mimetismo sintético dos produtos

naturais não impediu que surgisse a resistência bacteriana³. Em ambas as eras mencionadas, o desenvolvimento de resistência bacteriana foi inevitável, pois tinham como alvo o ribossomo, DNA, parede celular ou, em raros casos, uma combinação desses componentes³. Quando o antimicrobiano atinge uma combinação de componentes celulares diminui as chances de resistência bacteriana, que surge pela mutação no gene alvo, mas isso era difícil de conseguir¹¹.

Na década de 90, uma nova onda de resistência bacteriana surgiu e, coincidentemente, na mesma época novas abordagens terapêuticas antimicrobianas foram desenvolvidas¹¹. As novas abordagens foram possíveis devido aos avanços na tecnologia, como a melhoria na determinação de estruturas proteicas para planejamento racional de medicamentos, manuseio robótico para alto rendimento de ensaios bioquímicos, conhecimento de dados genômicos e possibilidade de manipular maiores conjuntos de dados¹¹. Contudo, há mais de duas décadas nenhum novo medicamento antibacteriano foi criado por essa abordagem e um avanço dramático de bactérias patogênicas para humanos em todo o mundo vem tornando-se resistente a um ou mais antibióticos^{5,11}.

Dessa forma, entrou-se na Era da Resistência, uma vez que se buscou alternativas para descobertas de antibióticos contra amplo espectro de patógenos³. O método utilizado nesta era foi falho, já que o ideal seria desenvolver agentes antimicrobianos seletivos de espectro estreito para diminuir os mecanismos de resistência e proteger os tecidos saudáveis³. Em virtude da necessidade de desenvolver novos métodos antibacterianos, a Inativação Fotodinâmica (PDI) foi desenvolvida como forma de potencializar o uso de antibacterianos em auxílio aos antibióticos convencionais^{3,12}.

1.2. Inativação Fotodinâmica

As reações fotofísicas e fotoquímicas usadas para benefícios terapêuticos para inativar microrganismos é chamado de Inativação Fotodinâmica antimicrobiana (aPDI, do inglês *antimicrobial Photodynamic Inactivation*), Inativação Fotodinâmica (PDI, do inglês *Photodynamic Inactivation*), ou Quimioterapia Fotodinâmica Antimicrobiana (PACT, do inglês *Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy*) ou ainda Terapia Fotodinâmica antimicrobiana

(aPDT, do inglês *antimicrobial Photodynamic Therapy*)^{3,12,13,14,15}. No presente trabalho será utilizado a segunda nomenclatura.

1.2.1. Aspectos históricos

Em 1900, o aluno de medicina de Herman von Tappeiner, Oscar Raab, descobriu por acaso o efeito letal de vermelho de acridina (hidroclorato de acridina) no microrganismo unicelular *Paramecium caudatum*^{12,14}. Raab relacionou a morte dos paramécios com a luz que entrava da janela e percebeu que os corantes que possuíam esse efeito eram fluorescentes. Um tempo depois, von Tappeiner e Jodlbauer descobriram que o oxigênio tinha enorme importância nas reações de fotossensibilização. Com essas descobertas, em 1904 a PDI foi estabelecida com a introdução do termo “ação fotodinâmica” para descrição desse fenômeno^{12,16}. Porém, com a era dourada dos antibióticos, a PDI foi esquecida por um tempo. Mas com o crescimento de bactérias multirresistentes aos antibióticos convencionais, os estudos sobre PDI foram retomados¹⁷. Também vale ressaltar que somente durante a Segunda Guerra Mundial essa terapia ficou mais conhecida pelo mundo e, finalmente, em 1990 passou a ser empregada clinicamente^{13,16}.

1.2.2. Aspectos gerais

A PDI é definida como a aplicação de um corante não tóxico chamado de fotossensibilizador (FS), que ao receber luz de comprimento de onda adequado na presença de oxigênio é fotoativado e produz espécies reativas de oxigênio (ERO), oxigênio singleto e/ou radicais livres¹². A PDI possui vasta aplicação, como no combate de bactérias causadoras de cáries dentárias, fungos que causam infecções nas unhas, pele e cabelo, bactérias responsáveis por infecções hospitalares, contaminação na indústria alimentícia, vírus presentes em contaminação sanguínea e, mais recentemente, também utilizada como uma potencial ferramenta para diminuir infecções do trato respiratório causadas pelo vírus SARS-CoV-2 e desenvolvimento de têxteis fotoativos contra COVID-19^{14,16,18,19,20,21,22,23,24}.

A PDI apresenta diversas vantagens em comparação aos antimicrobianos convencionais, tais como ação localizada, invasividade mínima, morte microbiana rápida, ausência de resistência microbiana, efeitos colaterais mínimos às células saudáveis e, conseqüentemente, permite várias aplicações

sem gerar danos aos pacientes^{12,25}. Além disso, a PDI é acessível para o sistema público de saúde, uma vez que pode-se combinar fonte de luz e fotossensibilizadores de baixo custo²⁵.

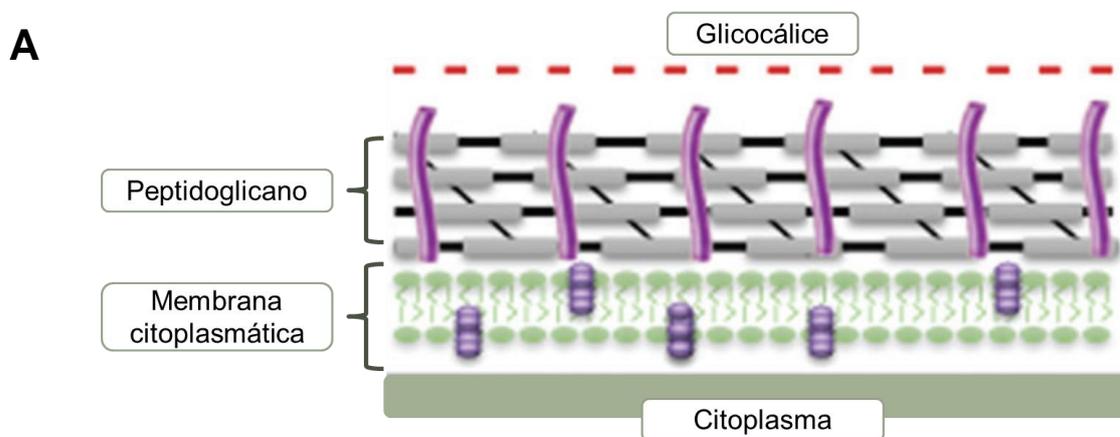
A PDI tem uma natureza multialvo, uma vez que as ERO reagem com boa parte dos componentes celulares, excluindo o desenvolvimento de resistência bacteriana^{17,25}. Os principais alvos são proteínas e lipídios das estruturas externas dos microrganismos, como membrana citoplasmática e parede celular. As espécies ERO e o oxigênio causam oxidação de aminoácidos da membrana em proteínas, danos oxidativos aos ácidos nucleicos, reticulação de proteínas e oxidação de lipídios¹². Também é possível atribuir-lhe como vantagem sua dupla seletividade, visto que pode-se ter o controle do tempo que FS se liga preferencialmente as células patogênicas e a direção da luz ao local de interesse^{2,3,14}.

Assim, a morte microbiana acontece por três mecanismos principais: danos à membrana celular, inativação de proteínas e enzimas essenciais e danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*). A PDI pode causar danos morfológicos e funcionais nas células microbianas. As alterações morfológicas incluem as alterações na estrutura do mesossomo, dano a membrana celular, o que leva ao vazamento do conteúdo celular e conseqüentemente, a inativação do sistema de transporte da membrana. As alterações funcionais levam a inibição de processos metabólicos como síntese de DNA e transporte de glicose, além disso, causa oxidação de proteínas, perda de atividade enzimática e formação de ligações cruzadas proteína-proteína¹². Para os vírus, ocorre danos nos ácidos nucleicos como DNA e ácido ribonucleico (RNA, do inglês *ribonucleic acid*), proteínas do núcleo e, caso presente, lipídios virais²².

Outros fatores determinantes para a eficácia PDI são potencia de luz irradiada, intensidade, tempo e modo de irradiação^{16,26}. Além disso, é necessário que a luz utilizada tenha comprimento de onda o mais próximo possível ao máximo de absorção do FS para produção eficiente de ERO^{12,17}. Para produzir protocolos eficazes na PDI, parâmetros como dosagem de luz incidente e tempo de irradiação devem ser levadas em consideração. Para o mesmo FS e microrganismo, a eficácia fotodinâmica depende da fonte de luz utilizada. Além

disso, utilizar baixas doses de luz aliado a tempos mais longos de aplicação são mais eficazes como forma de tratamento¹⁷.

A eficácia PDI pode ser diferente de acordo com o tipo de bactéria patogênica, gram-positiva e gram-negativa, pois há uma enorme variação na estrutura e organização celular desses microrganismos¹², como apresentado na figura 1. Bactérias gram-positivas possuem uma camada de peptidoglicano espesso e poroso que circunda uma membrana citoplasmática, já as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que envolve uma camada peptidoglicano mais fina, onde está a membrana citoplasmática. Para aplicação da PDI, o FS deve penetrar ou se ligar a parede celular bacteriana e chegar no citoplasma ou membrana plasmática. Contudo, a difusão simples do FS no citosol bacteriano é limitada pelas barreiras da membrana celular da bactéria. Por conseguinte, as bactérias gram-positivas são mais fáceis de serem eliminadas via PDI do que as bactérias gram-negativas¹².



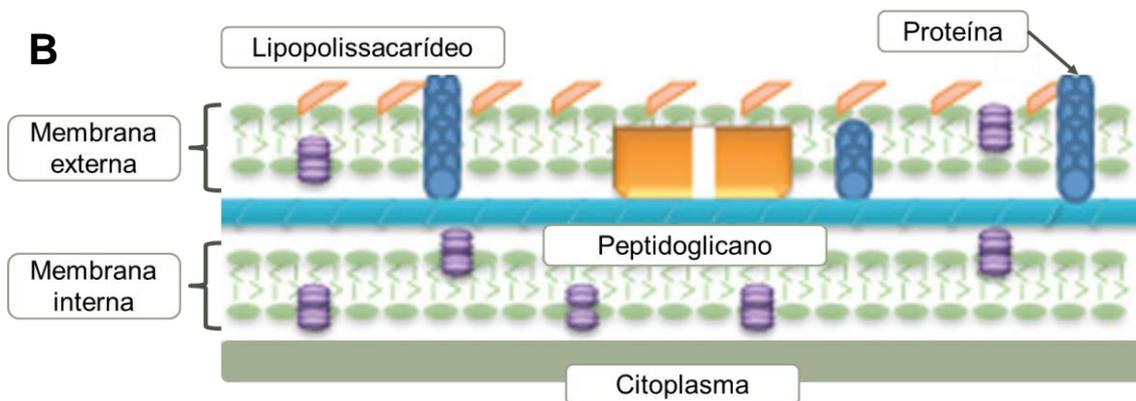


Figura 1. Estrutura celular de bactérias gram-positiva e gram-negativa. (A) Bactéria gram-positiva apresenta uma bicamada lipídica circundada por uma camada espessa e porosa de peptidoglicano com lipoteicóico e ácidos teicurônico conferindo-lhe carga negativa. (B) Bactéria gram-negativa tem dupla bicamada lipídica, membrana interna e externa, sendo a externa com lipoproteínas e porinas e decorada com cadeias de lipopolissacarídeos, o que lhe confere carga negativa. As duas membranas são separadas por peptidoglicano e periplasma. Fonte: KASHEF, N.; HUANG, Y.; HAMBLIN, M. R. (2017) – Adaptado¹².

Em geral, os protocolos para PDI consistem na administração intravenosa ou tópica do FS dos pacientes ou animais em experimento. Depois de ser distribuído nos organismos avaliados, o local alvo é irradiado com luz de comprimento de onda adequado até que o FS absorva energia para atingir seu estado tripleto e produza ERO, que são nocivas as células alvo^{15,27,28}.

1.2.3. Fotossensibilizador

Fotossensibilizadores são moléculas orgânicas capazes de absorver radiação do ultravioleta (UV, 200-400 nm) até o começo do infravermelho próximo (~1000 nm). Quando estão no estado excitado, podem promover processos fotoredox ou transferência de energia. Ao absorver energia adequada, essas moléculas transferem fótons através de processos fotofísicos e fotoquímicos, o que produz ERO^{16,29,30,31}. Corantes sintéticos e pigmentos naturais podem ser usados como FS. Os corantes sintéticos oferecem maior estabilidade e os naturais podem ser menos propensos a interações medicamentosas adversas e efeitos colaterais²⁸.

O FS ideal deve ser facilmente sintetizado, possuir alta pureza química, ser altamente solúvel no meio de interesse e foestável, preservando sua função

e disponibilidade para se ligar aos microrganismos e também apresentar alto rendimento quântico para a geração de oxigênio singlete ou outro produto proveniente de reações fotoquímicas^{12,17}. Além disso, o tempo de vida do estado tripleto do FS deve ser longo o suficiente para alcançar alta eficiência na formação de ERO^{12,15,17}.

Os fotossensibilizadores mais potentes para morte microbiana são moléculas relativamente pequenas com carga catiônica porque a membrana das células microbianas, em sua maioria, possui carga negativa mais pronunciada do que membranas de células de mamíferos^{2,3,13}. Assim, o FS catiônico se liga e se acumula as células microbianas mais rápido do que nas células mamíferas. Nas células mamíferas, compostos catiônicos entram lentamente via endocitose, enquanto sua absorção na bactéria é relativamente rápida, o que proporciona maior seletividade^{2,3}.

Na figura 2 é ilustrado os processos fotofísicos e fotoquímicos que ocorrem com o FS ao interagir com luz de comprimento de onda adequado. A molécula do FS antes de ser sensibilizada está no estado singlete fundamental, S_0 , em que os elétrons estão no orbital energeticamente mais baixo. Depois de absorver um fóton de luz com energia adequada, um desses elétrons é transferido para um orbital de energia mais alta que estava desocupado anteriormente. Todo estado excitado é energeticamente menos favorável do que o estado fundamental, assim a molécula do FS no estado singlete excitado (S_1), volta ao S_0 em um curto período de tempo, 10^{-9} a 10^{-6} s. Essa desativação do estado excitado para o estado fundamental pode acontecer por diversos mecanismos, um deles é devido à perda de energia por decaimento radioativo (fluorescência) e outro por decaimento não-radioativo (conversão interna), ou seja, emissão de luz e calor respectivamente^{12,13,15,16,17}.

Assim, mais detalhadamente, quando um elétron em um nível vibracional alto de um estado excitado decai rapidamente para o nível energeticamente mais baixo desse estado, tem-se o processo chamado relaxamento vibracional (RV) e a energia é dissipada como calor. O relaxamento molecular para o S_0 ocorrerá por emissão de um fóton secundário, ou seja, emissão de fluorescência, ou ainda ocorrerá por dissipação de calor¹⁵.

Mas também, pode acontecer que uma certa fração das moléculas do FS passe pelo processo de cruzamento intersistemas isoenergético do estado tripleto, T_1 , chamado também de cruzamento intersistema (ISC, do inglês *Intersystem Crossing*), sendo um processo não radioativo. Isso é possível em consequência do acoplamento spin-órbita, já que essas transições ocorrem com certa probabilidade. Depois de um rápido RV dentro do nível energético T_1 , pode acontecer um relaxamento radiativo para S_0 , chamado fosforescência, um processo que emite um fóton^{12,13,16,17}.

Os estados tripletos são caracterizados por uma vida útil relativamente longa, 10^{-3} a 10 s. O FS no estado tripleto pode reagir com várias biomoléculas e por ter vida útil mais longa pode sobreviver as reações físicas ou químicas. Dessa forma, como alternativa à fosforescência, reações fotoquímicas podem ser energizadas a partir de moléculas no estado tripleto, podendo ocorrer dois tipos de reações fotoquímicas, tipo I e tipo II, representadas no diagrama de Jablonski^{12,13,16,17}.

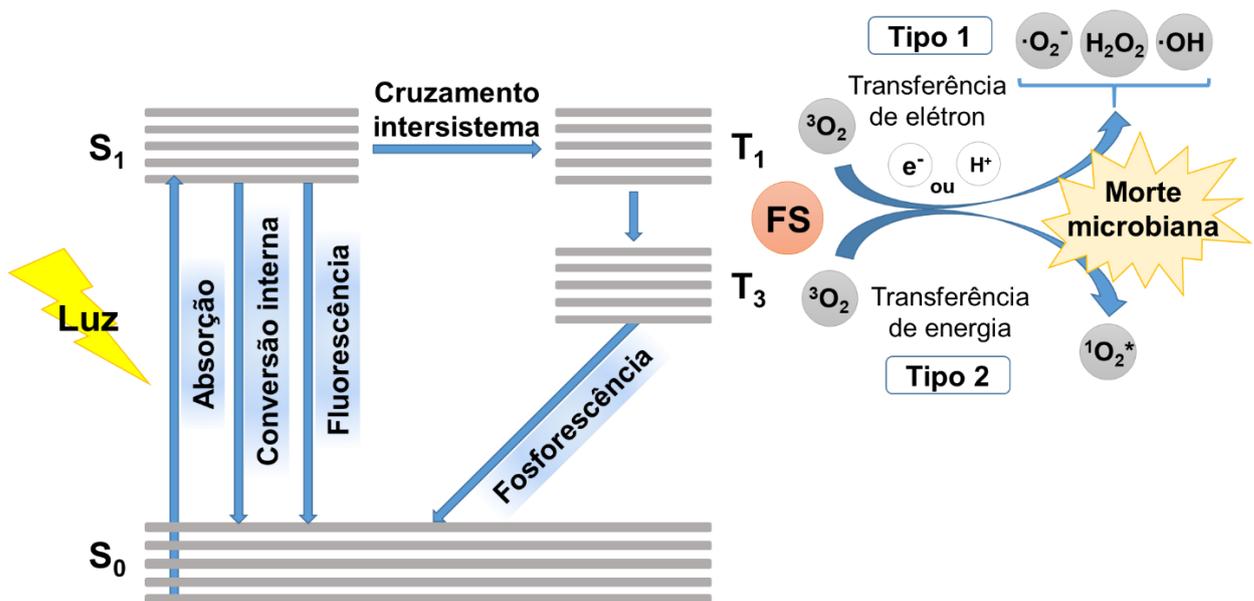


Figura 2. Diagrama de Jablonski. Ilustração gráfica dos mecanismos fotofísicos e fotoquímicos do método PDI. Fonte: produzida pela autora (2020).

Na reação tipo I, o FS passa por processos de transferência de elétrons, que envolve a transferência de elétrons para oxigênio presente no meio biológico em questão, formando espécies radiculares. O FS transfere elétrons para o

oxigênio no estado fundamental a fim de produzir o ânion radical superóxido $\bullet\text{O}_2^-$. Logo em seguida, pode seguir para uma segunda redução de 1 elétron do $\bullet\text{O}_2^-$ para gerar peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e uma terceira redução de 1 elétron do H_2O_2 para produzir o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$)^{13,15,16,17,25}.

Em altas concentrações, o H_2O_2 também pode reagir com os ânions superóxido e produzir radical hidroxila altamente reativo através da reação Haber Weiss. Essa reação é possível, uma vez que a energia de ativação para essas reações é muito baixa e o potencial redox é $E_0 = 1,35 \text{ V}$. Além do mais, a química de Fenton que envolve espécies de Fe (II) também pode ampliar a quantidade produzida de $\bullet\text{OH}$. As três ERO ($\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\bullet\text{OH}$) são provenientes da reação tipo I^{13,15,16,17,25}.

Na reação tipo II ocorre processo físico de transferência de energia, o FS transfere o excesso de energia para o oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$), retorna ao estado fundamental e produz apenas moléculas de oxigênio no estado singleto ($^1\text{O}_2$). As espécies radicais como $^1\text{O}_2$ são muito eletrofílicas e interagem com diversas biomoléculas, que inativam diferentes micróbios. O oxigênio singleto é considerado uma ERO muito desejável pela sua alta reatividade e eficácia de danos oxidativos as células procariotas. Porém, a vida útil do oxigênio singleto é curta, ($\sim 10 - 320 \text{ ns}$), o que limita a difusão nas células, alcançando uma profundidade de $10 - 55 \text{ nm}$, isso permite matar patógenos que estejam próximos onde são produzidos^{13,16,17,25}.

Como dito anteriormente, as duas reações fotoquímicas geram ERO ($^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\text{HO}\bullet$) e podem acontecer separado ou simultaneamente na célula, contudo suas proporções relativas dependem do FS utilizado e concentração de oxigênio molecular. As ERO são extremamente tóxicas e danificam as células microbianas ao encontrar proteínas, lipídeos, bases de ácidos nucleicos (guanina e timina) e resíduos de aminoácidos (cisteína, histidina e triptofano), o que resulta em necrose ou apoptose das bactérias. Fatores como localização subcelular do FS, concentração do FS, intensidade e tempo de aplicação de luz estão relacionados ao tipo de morte celular^{16,17,25}.

Em PDI, os primeiros FS utilizados clinicamente foram os derivados de tetrapirrol (tetraarilporfirinas, ftalocianinas, porficanos, texafirinas e safirinas),

mais conhecidos como porfirinas, mas alguns derivados não-tetrapírol também foram estudados, como a curcumina (Cur)¹⁷. A curcumina chama atenção pelas suas propriedades biológicas, fotossensibilidade, baixa toxicidade, além de poder ser de origem natural e barata^{28,32,33}. A Cur juntamente com a Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês Photodynamic Therapy) e PDI tem sido utilizada em aplicações anticâncer e antimicrobiana, respectivamente^{33,34,35,36,37,38,39,40,41,42}.

Dependendo das condições geográficas, a quantidade de curcuminóides presente no açafrão pode variar de 2 a 9%, sendo 50 a 60% Cur^{43,44}. Curcuminóides são um grupo de compostos como a Cur, desmetoxicurcumina, bis-desmetoxicurcumina e ciclocurcumina, sendo a Cur o componente mais abundante²⁹ – figura 3.

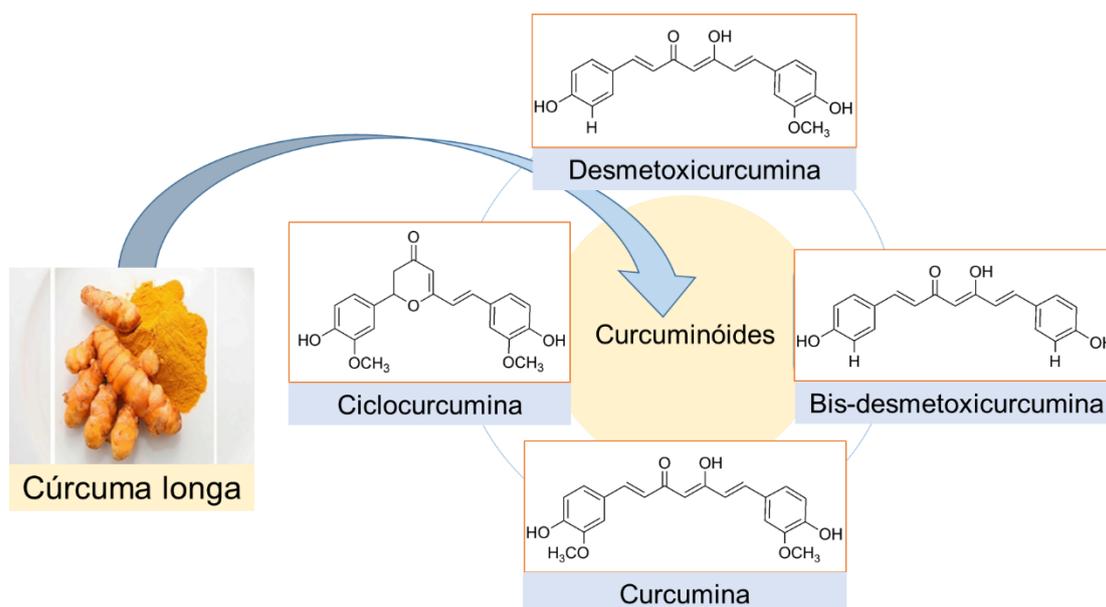


Figura 3. Estruturas químicas dos curcuminóides presentes no açafrão. Fonte: YANG, Q. et al. (2020)²⁸ e ESATBEYOGLU, T. et al. (2012)⁴³ – Adaptado.

O equilíbrio tautomérico da Cur depende da polaridade e pH do solvente. Em solventes não polares, a Cur existe na forma enol por causa da formação de ligações intramoleculares de hidrogênio, já nos solventes polares existe na forma ceto. Em pH ácido ou neutro a Cur predomina na forma ceto e age como doador de prótons, mas em pH acima de 8 a forma enol prevalece e age como doador de elétrons. Na estrutura da Cur há dois cromóforos, C=O–C=C e a ligação dupla conjugada, que fornecem sua cor amarela⁴³.

A molécula de Cur é simétrica e seu nome pela IUPAC é (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hidroxi-3 metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, fórmula química C₂₁H₂₀O₆ e peso molecular de 368,38 g. mol⁻¹. A Cur possui em sua estrutura dois sistemas de anéis aromáticos com grupos metoxifenólicos, conectados por um ligante de sete carbonos que consiste em uma porção de α-β-insaturada β-dicetona⁴³. A estrutura química da Cur considerando as duas possíveis conformações, está representada na figura 4.



Figura 4. Estrutura química da curcumina em conformação ceto e enol. Fonte: PRIYADARSINI, K. I. (2014) – Adaptado⁴⁴.

Em solução, a molécula Cur pode apresentar isômeros *cis* ou *trans*. Na forma *trans* os dois grupos fenólico-metoxi estão nos lados opostos da cadeia principal, o que lhe confere maior estabilidade quando comparada a forma *cis* que apresenta os dois grupos fenólico-metoxi do mesmo lado da cadeia principal. A Cur é quase insolúvel em água, apresentando fácil solubilidade em solventes polares como etanol, acetato de etila, acetonitrila, metanol, clorofórmio e dimetilsulfóxido^{44,45}.

O espectro de absorção da Cur possui uma banda na região visível de 410 a 430 nm do espectro eletromagnético, e outra no UV em 265 nm^{44,45}. A Cur é considerada um composto bioativo por apresentar propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas, também pode ser utilizada como pigmento nas indústrias têxtil e de alimentos, além de enorme potencial como FS com atividades antimicrobianas promissoras^{20,28,43,46,47,48,49}.

Contudo, a Cur tem aplicação limitada devido à baixa biodisponibilidade, como pouca absorção gastrointestinal, eliminação rápida, baixa solubilidade aquosa com cerca de 11 ng / mL, pode ser degradada em longa exposição a luz e apresenta instabilidade em soluções alcalinas^{28,43,46,50}. Em ensaios *in vitro*, sob condições fisiológicas de pH (solução tampão de fosfato a 0,1 M, 37°C, pH 7,2) a Cur se torna instável e é 90% degradada²⁸. Cerca de 40-80% da quantidade

de Cur ingerida no trato gastrointestinal e seus metabólitos têm pouca permeabilidade celular e meia vida curta, quase não entrando na corrente sanguínea^{28,51}. Considerando todos os obstáculos anteriormente apresentados, a incorporação da Cur em nanocarreadores compreende uma metodologia atual e eficaz no aumento da estabilidade, solubilidade e disponibilidade da Cur nos organismos tratados^{28,45}.

1.3. Nanomateriais em PDI

Alguns dos problemas a serem superados na PDI são: baixa solubilidade aquosa de muitos FS, otimização da administração dos fármacos e o aumento da taxa de produção de ERO⁵². A Organização Internacional para Padronização (ISO, do inglês *International Organization for Standardization*) define nanomateriais como materiais que apresentam ao menos uma de suas dimensões na faixa de 1 a 100 nm⁵³. Os nanomateriais têm vantagens sobre materiais comumente utilizados em escala macroscópica, uma vez que possuem propriedades físico-químicas facilmente ajustáveis, como tamanho, forma, alta área superficial em relação ao seu volume e funcionalização da superfície⁵⁴.

Além disso, nanocarreadores permitem administração controlada de fármacos e proporcionam proteção contra luz, temperatura e degradação pelo pH do meio inserido⁵⁴. Também podem melhorar a solubilidade de fármacos tanto hidrofóbicos como hidrofílicos e, conseqüentemente, aumentar sua biodisponibilidade, além de minimizar efeitos colaterais indesejáveis^{52,53}. Logo, o uso de nanomateriais em PDI pode minimizar os obstáculos citados anteriormente, aumentando a eficácia dos FS no tratamento de doenças e infecções⁵².

Há duas maneiras de utilizar nanopartículas para liberação de FS, por conjugação covalente, processo pelo qual o FS liga-se a nanoestrutura ou via encapsulamento/incorporação dos FS em nanossistemas como (micelas, nanoesferas, lipossomas, entre outros)⁵². De qualquer forma, os nanossistemas são utilizados para proteger e intensificar a ação dos FS em PDI, seja pela absorção de FS pelas células microbianas ou também pelo aumento da produção de ERO⁵². Assim, o uso de nanopartículas de prata (NPsAg) associada ao FS como a Cur podem aumentar a produção de oxigênio singlete, ERO e,

consequentemente, a ação antimicrobiana local e o uso da sílica mesoporosa (SiO_2M) é uma ótima opção como nanocarreador desses materiais^{18,52,55,56,57}.

1.4. Nanopartículas de prata

1.4.1. Propriedades

As NPsAg são versáteis em termos de aplicação, podendo ser utilizadas na área médica, em materiais para curativos, embalagens de alimentos, área têxtil, cosméticos e tintas^{53,54,58,59,60,61,62,63,64,65,66}. O aperfeiçoamento na área da nanotecnologia possibilitou novos horizontes para tratamento de doenças e desenvolvimento da nanomedicina através de síntese de nanoestruturas multifuncionais e eficientes. Diversos estudos têm sido realizados em direção ao desenvolvimento e aplicação de nanoestruturas como métodos alternativos ao tratamento de microrganismos resistentes⁶⁷. Neste sentido, compostos de prata têm sido utilizados ao longo dos séculos no tratamento de doenças infecciosas, seja como antisséptico ou antimicrobiano contra bactérias gram-positivas e gram-negativas^{67,68,69,70,71,72}.

Contudo, o uso de íons de prata apresenta problemas a serem superados, como a dificuldade para alcançar uma liberação controlada, concentração adequada, além de importuno de manchas na pele^{72,73}. Já as NPsAg apresentam vantagens sobre os íons de prata, pois há um aumento de suas propriedades, visto que é possível ajustar suas dimensões e morfologia, que permitem a otimização de suas propriedades físico-químicas e, consequentemente favorece o desenvolvimento de nanoestruturas com alta área superficial, alta condutividade térmica e elétrica, atividade catalítica e ressonância de plasmon de superfície localizado (LSPR, do inglês *Localized Surface Plasmon Resonance*), além de possuir atividade antibacteriana maior que seus íons livres^{53,54,67,70,74,75}.

A LSPR é produzida pelo forte acoplamento da luz incidente e pela oscilação dos elétrons da banda de condução em nanopartículas metálicas, por exemplo, nanopartículas de ouro e prata^{7,76,77}. Tal fenômeno leva a uma forte dispersão e absorção da luz, assim como um aumento significativo do campo elétrico ao redor das nanopartículas na frequência LSPR. A frequência LSPR pode ser ajustada de acordo com forma, tamanho, índice de refração do meio

circundante, acoplamento plasmônico entre partículas e direção da polarização da luz incidente^{76,77}. Esse fenômeno está associado às flutuações dos campos locais que podem ser aprimoradas devido aos efeitos dielétricos e/ou quânticos de confinamento das nanopartículas⁷⁸.

A banda de ressonância plasmônica de superfície das NPsAg aparece próximo a região do azul do espectro eletromagnético, região típica para as partículas de prata em formato esférico⁷⁵. Vale ressaltar que a fonte de luz utilizada para ativar as NPsAg deve possuir comprimento de onda na faixa da banda de absorção da partícula para que os efeitos antimicrobianos sejam ampliados⁷⁹.

1.4.2. Ação da prata

NPsAg e íons Ag^+ produzem ERO, que por sua vez causam estresse oxidativo *in vivo*, como nas bactérias patogênicas por exemplo^{70,71}. Assim as partículas de prata atuam através de vias inibidoras da enzima respiratória e alteração da parede celular e do DNA microbiano das bactérias, além de terem vários mecanismos de atuação em diferentes alvos, o que diminui o risco de resistência à prata e permite uma capacidade antibacteriana de amplo espectro^{54,67}.

As NPsAg também podem interagir fisicamente com a superfície celular de diversas bactérias, sendo capazes de danificar as membranas celulares, levando a alterações estruturais, que tornam as bactérias mais permeáveis. Tal efeito depende do tamanho, forma e concentração das nanopartículas. O acúmulo das NPsAg na membrana cria lacunas na integridade da bicamada, o que a predispõe ao aumento da permeabilidade e, com isso, morte celular bacteriana⁶⁷. As NPsAg exibem atividades antimicrobiana por duas vias diferentes: ação inibitória e ação bactericida⁵⁴.

Materiais de prata, como NPsAg, são ácidos moles que interagem com a célula bacteriana, que possui bases moles como enxofre e fósforo^{52,54}. Os íons de Ag^+ se ligam aos grupos tiol das proteínas e interferem no processo biológico das células bacterianas⁴². Reações de oxidação podem ocorrer entre os íons Ag^+ e os átomos de oxigênio e hidrogênio dos grupos tiol, gerando ligações dissulfeto, que por sua vez interferem na replicação do DNA e inibem o

crescimento de bactérias, levando à apoptose e caracterizando o efeito bacteriostático^{52,54,67}. Em contrapartida, o efeito bactericida ocorre, pois, a prata é capaz de gerar radicais livres, que causam danos à parede celular da bactéria, com liberação de lipopolissacarídeos e proteínas da membrana, que resultam na morte celular. Além disso, o efeito bactericida pode ocorrer também devida a capacidade das NPsAg de inibir a fosforilação do substrato proteico e afetar o sinal de transdução⁵⁴.

1.4.3. Método de obtenção das NPsAg

A síntese de NPsAg pode ser feita pelo método *bottom-up*, onde o procedimento requer partida de moléculas, átomos ou íons para obter as nanopartículas, sendo a redução química do sal nitrato de prata o mais utilizado devido ao custo menor e estabilidade química^{53,54}. O método *bottom-up* emprega o uso de semente e nucleação, possibilitando o controle do tamanho e forma das NPsAg. As moléculas ou ligantes conectados a superfície da partícula diminui a energia superficial, o que torna o sistema coloidal termodinamicamente estável⁵³.

As principais interações entre moléculas e/ou ligantes com a superfície das NPsAg podem ocorrer por meio de quimisorção, interações hidrofóbicas ou interações eletrostáticas. Alguns grupos funcionais como -SH, -NH, -COOH, -C=O possuem fortes interações com a superfície da partícula de prata, o que lhe confere funcionalização, maior estabilidade, além de evitar agregação e oxidação das NPsAg^{53,54}. Surfactantes com ligantes, polímeros com grupos funcionais de polivinilpirrolidona, polietilenoglicol e polimetilmetacrilato são exemplos de agentes estabilizantes utilizados para síntese de NPsAg⁵⁴.

A figura 5 mostra a representação da síntese de NPsAg com o uso de agentes redutores e estabilizantes, que reduzem o íon Ag^+ a Ag^0 e estabilizam as partículas de prata formadas, respectivamente.

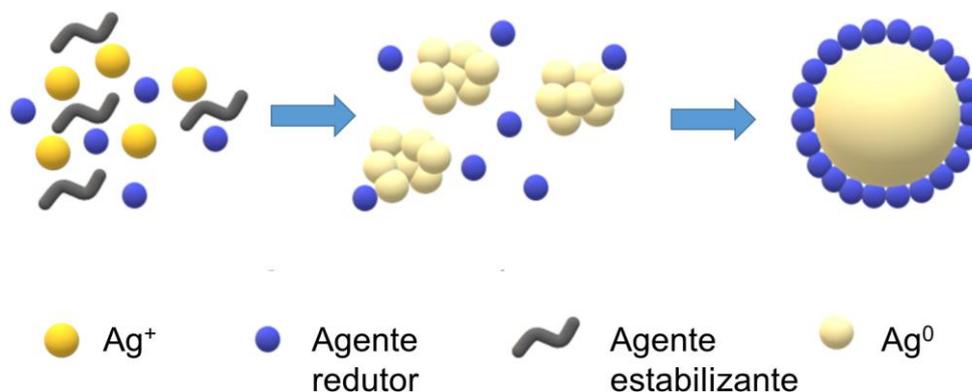


Figura 5. Representação da síntese de NPsAg com utilização de agentes redutores e estabilizantes. Fonte: CHOUDHURY, H. et al. (2020) – Adaptado⁵³.

Contudo, fatores como estabilidade, proteção em meios específicos podem alterar a ação antibacteriana das NPsAg, assim como outras propriedades únicas anteriormente relatadas. Os resíduos pós-síntese e procedimentos incorretos de purificação como altas concentrações de precursores remanescentes e/ou agentes redutores na fase líquida podem provocar a transformação de NPsAg em novas formas, como nanocubos, nanobastões e nanotriângulos. Isso ocorre porque processos de aglomeração, sedimentação e agregação das NPsAg ocasiona a redução de sua entropia⁵³.

Vale lembrar que não somente as NPsAg podem desestabilizar em meio aquoso, mas também FS como a Cur. A Cur possui rendimento quântico de oxigênio singlete baixa (0,01 em água). Para aumentar o rendimento quântico pode-se combinar o FS com nanopartículas metálicas. Nesse caso, a curcumina pode ser combinada com NPsAg, uma vez que ambas absorvem na região azul do espectro eletromagnético. Esse efeito é chamado de Aumento da Geração de Oxigênio Singlete via Metal, também conhecido como efeito MEO (do inglês, *Metal-Enhanced Singlet Oxygen Generation*), que resulta da distância e da sobreposição espectral entre o FS e as nanopartículas metálicas. O efeito MEO aumenta a possibilidade de geração do FS no estado tripleto ao acoplar seu momento dipolar ao campo elétrico próximo à superfície das nanopartículas metálicas, que por sua vez, aumenta a geração de oxigênio singlete⁵¹. A fim de

melhorar a disponibilidade da Cur e NPsAg, ambas podem ser associadas a uma matriz de SiO₂M^{18,56,57}.

1.5. Sílica Mesoporosa

1.5.1. Propriedades

A SiO₂M têm sido frequentemente aplicadas como um excelente nanocarreador de fármacos^{80,81,82,83,84,85,86,87,88,89}. Um bom nanocarreador deve ter capacidade de direcionamento específico, liberação controlada do fármaco e poder ser eliminado por meio de vias não tóxicas (degradação biológica ou dissolução), assim a SiO₂M é uma boa opção neste caso, visto que cumpre todos esses requisitos^{89,90,91,92,93}.

Os materiais mesoporosos, de acordo com a IUPAC, são definidos como aqueles que possuem um tamanho de poro na faixa de 2-50 nm e um arranjo ordenado de poros dando a ele uma estrutura ordenada, sendo nanomateriais de SiO₂M um exemplo de material mesoporoso^{89,94}. Nanopartículas de SiO₂M possuem propriedades interessantes, como alta área superficial, estabilidade mecânica e térmica, baixa toxicidade, boa biodistribuição e eliminação, superfície adaptável através de fácil funcionalização superficial, além de possuir grupos hidroxila disponíveis em sua superfície/poros com cargas superficiais e poros ajustáveis que as tornam boas portadoras de biocompatibilidade e biodegradabilidade e com capacidade de carregar fármacos em seus poros, protegendo-os contra degradação e liberação imediata^{80,89,91,92,95,96}.

Outras vantagens importantes que nanopartículas de SiO₂M oferecem é o fato de ser um material inerte que não altera as propriedades dos materiais que a ele são associados, fornece versatilidade para aplicação, uma vez que pode carregar fármacos tanto hidrofóbicos quanto hidrofílicos, permitindo anexar covalentemente várias biomoléculas através dos grupos de silanol de sua superfície, possuem alta capacidade de carga e, também aplicabilidade terapêuticas e diagnósticas (teranósticas)^{89,93,97,98}.

Os grupos silanol (Si-OH) presentes em alta densidade na superfície das nanopartículas de SiO₂M permite sua modificação com grupos funcionais, tais como ácido carboxílico, carboxilato, polietilenoglicol, fosfonato, octadecil, amina e tiol. Geralmente, utiliza-se grupos de silano orgânico via ligação covalente

direta pelo enxerto após ser feita a síntese ou por co-condensação⁹⁹. As nanopartículas de SiO₂M permitem carregar moléculas em seus poros através de interações hidrofóbicas, eletrostática e ligação de hidrogênio¹⁰⁰.

1.5.2. Método de obtenção das nanopartículas de SiO₂M

Nanopartículas de SiO₂M são formadas por redes amorfas de ligações de siloxano obtidas pelo método sol-gel. O gel é formado por hidrólise e posterior condensação de um precursor de sílica, geralmente o ortossilicato de tetraetil (TEOS) em solução. Durante a reação de hidrólise, o grupo alcóxido (OR) do precursor da sílica é substituído pelo grupo silanol (Si-OH), formando um álcool em paralelo, devido ao ataque nucleofílico do átomo de oxigênio do grupo hidroxila da água: $\text{Si}(\text{OEt})_4 + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SiO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{EtOH}$. Na reação de condensação são formadas espécies cíclicas, trímeros lineares, dímeros e espécies poliméricas com ligações siloxano (Si-O-Si)^{89,93,100}.

Enquanto o processo de condensação ocorre, moléculas maiores são formadas a partir das menores, sendo um processo conhecido como amadurecimento de Ostwald que leva a transformação de sol para gel^{93,101}. Após a policondensação de monômeros, ocorre crescimento e agregação das partículas formando uma rede de gel e, finalmente, o amadurecimento do gel¹⁰⁰. Na síntese de nanopartículas de SiO₂M são utilizados copolímeros ou surfactantes que se auto agrega em uma concentração superior à concentração micelar crítica e formam mesofases líquido-cristalinas. Através de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, a interface polar da mesofase irá interagir com o precursor de sílica, servindo como modelo para que haja a condensação do silicato^{103,110}. A remoção do surfactante pode ocorrer via tratamento térmico (calcinação) ou por extração com solvente^{89,93,100,102}.

É importante destacar que nanopartículas de SiO₂M sofrem degradação em meio biológico. As ligações de Si-O são hidrolisadas e forma-se como produto final o ácido ortossilícico (Si(OH)₄), que não é tóxico e é solúvel em água em concentrações baixas (<2 x 10⁻³ M), sendo excretado pela urina. Além disso, o ácido silícico também contribui para manutenção da saúde óssea^{89,94}.

A partícula de SiO₂M sofre dissolução em três etapas, primeiro ocorre o processo de hidratação em que a água é adsorvida na estrutura do siloxano. Na

sequência ocorre o segundo processo, a hidrólise, em que o siloxano é hidrolisado em silanóis, seguida do terceiro processo de troca iônica, em que ocorre o ataque nucleofílico de OH^- que leva a lixiviação do ácido silícico^{89,93,100}. Em torno de pH 3 tem-se o ponto isoelétrico da sílica amorfa, logo, em pH 7–10 as partículas de sílica são carregadas negativamente e permanecem estabilizadas em meio aquoso por repulsão eletrostática⁹³. A sílica produz os mesmos produtos que as suas nanopartículas, pois hidrolisa em meio aquoso e forma produtos não tóxicos excretados via eliminação renal^{89,93,100}.

Fármacos em nanopartículas de SiO_2M oferecem muitas vantagens em comparação aos fármacos isolados. Uma das vantagens são efeitos colaterais minimizados, maior eficácia terapêutica, melhor biodisponibilidade, liberação controlada, possibilidade de incorporar outras funções, distribuição direcionada e carregamento de mais de um fármaco, o que possibilita combinar terapias^{89,91,99}.

Como já informado anteriormente, a curcumina tem baixa solubilidade em valores de pH entre 1,2 e 7,4, que são valores de pH fisiológico do trato gastrointestinal. E como um adicional problemático, a curcumina possui baixa biodisponibilidade oral e meia-vida curta, uma vez que ocorre rápido catabolismo pré-sistêmico na parede intestinal. Para superar os problemas apresentados, as nanopartículas de SiO_2M é uma boa alternativa para melhorar a biodisponibilidade da Cur¹⁰³. A Cur foi um dos fármacos já associados com sucesso em sílica mesoporosa através de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e de van der Waals, além de ligações de hidrogênios^{57,91,98,103,104,105,106,107,108,109}.

A casca ou nanopartículas de SiO_2M também são uma excelente combinação com NPsAg. O motivo de existir um grande número de pesquisas dedicadas ao desenvolvimento desses nanohíbridos com SiO_2M e NPsAg é pelo fato de que as nanopartículas metálicas puras terem grande limitações de aplicação, uma vez que dependendo do meio podem agregar, sofrer oxidação ou outros efeitos indesejáveis e a SiO_2M mantém as NPsAg estáveis, previne contra mudanças morfológicas, mantendo tamanho e forma, além de conferir biocompatibilidade e manter as propriedades plasmônicas^{56,102,110,111,112,113,114,115,116,117}.

Como já explicado anteriormente, a ação antibacteriana dos materiais híbridos pode ser ativada por meio de um mecanismo sinérgico de transferência de energia a partir da luz absorvida das NPsAg para a curcumina^{118,119,120}. A partir disso, é possível concluir que nanopartículas de SiO₂M é uma boa opção para associar a curcumina e as NPsAg em um mesmo material. Assim, os nanohíbridos orgânico-inorgânicos produzidos a partir de SiO₂M, NPsAg e Cur, figura 6, permite não somente a junção das propriedades antibacterianas dos componentes, mas também um sinergismo para sua funcionalidade^{121,122,123}.

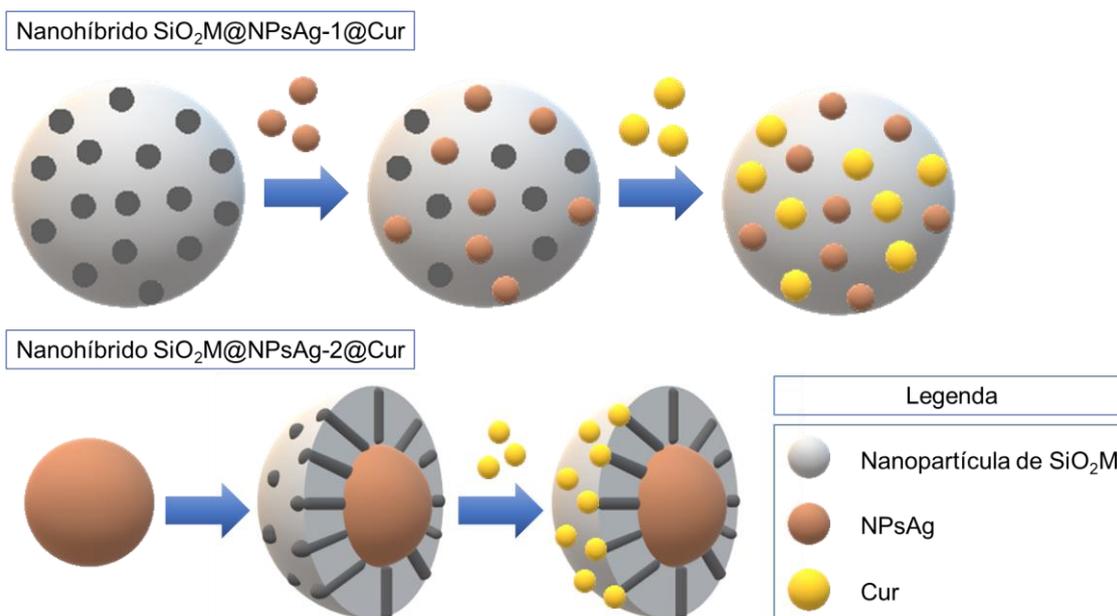


Figura 6. Representação dos nanohíbridos produzidos a partir de SiO₂M, NPsAg e Cur. O nanohíbrido SiO₂M@NPsAg-1@Cur é composto por uma esfera de SiO₂M com NPsAg e Cur nos mesoporos. O nanohíbrido SiO₂M@NPsAg-2@Cur é composto por um núcleo de NPsAg revestido com SiO₂M com Cur nos mesoporos. Fonte: produzida pela autora (2021).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral é desenvolver nanoplataformas com potencial uso em inativação fotodinâmica com foco em nanopartículas de prata associadas com sílica mesoporosa, além disso explorar o uso LSPR de nanopartículas de ouro. Para isso, os objetivos intermediários são:

- Sintetizar e caracterizar as nanoplataformas SiO₂M@NPsAg-1 e SiO₂M@NPsAg-2;
- Avaliar nanoestruturas de ouro com forma e tamanho controlados.

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1. Síntese da nanoplateforma SiO₂M@NPsAg-1.

3.1.1. Síntese de nanoesferas de prata via nucleação e crescimento.

Reagentes: Ácido tânico (Synth), citrato de sódio (Synth) e nitrato de prata (Qhemis).

As NPsAg-1 foram sintetizadas de acordo com o protocolo de síntese descrito por Bastús et al. (2014)¹²⁴. Foram utilizadas soluções de ácido tânico 0,025 mM e citrato de sódio 5 mM. Ambas soluções foram preparadas com água miliQ, misturadas, resultando em 100 mL de volume total. A mistura foi mantida sob agitação e aquecimento de 118°C, após atingir início da ebulição, adicionou-se 1 mL de solução de nitrato de prata 25 mM, mantendo as condições de agitação e aquecimento por 15 minutos após adição do precursor de prata. Em seguida, o balão foi transferido para um banho de gelo e a suspensão resultante de NPsAg-1 foi guardada em um frasco de vidro escuro e mantida em refrigeração para uso posterior.

3.1.2. Síntese de nanoesferas de SiO₂M via sol-gel.

Reagentes: Brometo de cetil trimetilamonio, CTAB ≥99% (Sigma Aldrich), octano ≥99% (Sigma Aldrich), monômero de estireno (Neon), lisina ≥98% (Sigma Aldrich), tetraetoxisilano, TEOS 98% (Sigma Aldrich), dicloridrato de 2,20-Azobis (2-metilpropionamidina), AIBA ≥97% (Sigma Aldrich) e hidróxido de sódio NaOH ≥98% (Sigma Aldrich).

As nanoesferas de SiO₂M foram sintetizadas conforme adaptação do protocolo descrito por Nandiyanto et al. (2009)¹²⁵. Foram dissolvidos 0,202 g de CTAB em 60 mL de água miliQ, mantendo a 60°C durante 30 minutos em atmosfera de N₂ sob agitação. Em seguida, foram adicionados subsequencialmente 18,6 mL de octano, 35 µL de monômero de estireno previamente lavado com solução de NaOH 2,5 M (1 mL, três vezes), 0,04605 g de lisina, 2,14 mL de TEOS e 0,06725 g de AIBA. A reação prosseguiu a 60°C durante 3 horas sob atmosfera de N₂. Após, o aquecimento foi interrompido e a suspensão foi arrefecida até atingir a temperatura ambiente. A suspensão foi mantida em decantação por uma noite, cerca de 12 h, as partículas foram separadas por centrifugação a 15000 rpm e lavadas com etanol cinco vezes sob

mesma condição de centrifugação. Por fim, as nanopartículas de SiO₂M obtidas foram submetidas a tratamento térmico a 500°C em condições atmosféricas.

3.2. Síntese da nanoplataforma SiO₂M@NPsAg-2.

3.2.1. Síntese de nanoesferas de prata via nucleação e crescimento.

Reagentes: Acetona 99,5% (Synth), álcool etílico puro ≥99,5% (Sigma Aldrich), etilenoglicol ≥99% (Sigma Aldrich), nitrato de prata ≥99,0% (Sigma Aldrich) e polivinilpirrolidona, PVP (Sigma Aldrich).

As NPsAg-2 foram feitas de acordo com adaptação do protocolo de síntese descrito por Zhao et al. (2010)¹²⁶. Misturou-se 1,7 g de PVP e 10 mL de etilenoglicol. A solução foi deixada sob agitação e aquecimento a 160° por 30 minutos. Na sequência, uma solução com 0,2040 g de AgNO₃ e 12 mL de etilenoglicol foram misturadas, sendo 10 mL dessa solução gotejada durante 5 minutos na solução anterior. A reação prosseguiu nessas condições por 4 horas, depois foi arrefecida até a temperatura ambiente.

Em seguida, adicionou-se 3 volumes de acetona para 1 volume de suspensão resultante, ou seja, 60 mL de acetona. Depois, a suspensão foi centrifugada a 8000 rpm durante 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado duas vezes com água Mili-Q sob as mesmas condições e, finalmente, disperso em água Mili-Q.

3.2.2. Revestimento do núcleo de prata com sílica mesoporosa via sol-gel.

Reagentes: APTS 99% (Sigma Aldrich), solução de silicato de sódio 40° - 42° Bé (Fisher Chemical), TEOS ≥99,0% (Sigma Aldrich), NaOH ≥98,0% (Sigma Aldrich), CTAB ≥99% (Sigma Aldrich) e ácido clorídrico, HCL 37% (Synth).

O recobrimento com sílica mesoporosa foi realizado de acordo com adaptação do protocolo de síntese descrito por Ung, Liz-Marzán e Mulvaney (1998) e Zhou et al. (2012) em três etapas^{127,128}.

Etapa 1: As NPsAg-2, cerca de 4 mL de suspensão, tiveram pH ajustado para 5 com solução de HCl 0,1 M. 150 µL de solução de APTS 0,54 mM em etanol foi preparada a fresco e adicionada a suspensão de NPsAg-2 sob agitação vigorosa durante 30 minutos e sem aquecimento. Após, 471 µL de solução de silicato de sódio com pH = 10-11 foi adicionado a mistura sob agitação vigorosa

para produzir uma fina camada de sílica amorfa nas NPsAg-2. A dispersão resultante, com pH 8 – 9, foi agitada durante 48 horas para polimerização de sílica sobre a superfície das NPsAg-2. A dispersão foi então centrifugada a 5000 rpm (força de 3024 g) por 20 min e o sobrenadante foi descartado para remover os íons de silicato que não reagiram. As nanopartículas foram re-dispersas em 10 mL de mistura de etanol / água a 4: 1 v/v.

Etapa 2: As nanopartículas foram submetidas a agitação e adicionado 160 µL da solução de 10% de TEOS em etanol. Em seguida, 100 µL de NaOH 0,1 M foram adicionados e seguidos de agitação vigorosa por 24 h à temperatura ambiente para permitir o crescimento da casca de sílica. As nanopartículas foram coletadas por centrifugação a 5000 rpm durante 20 min, o sobrenadante foi removido e as partículas re-dispersas em 12 mL 1:11 v/v de mistura de etanol/água.

Etapa 3: Para tornar as nanopartículas da etapa 2 em partículas com casca mesoporosa foi adicionado 70 µL de NaOH 0,1 M e 140 µL de CTAB 0,1 M à temperatura ambiente sob agitação durante 15 minutos. Em seguida, a suspensão foi deixada durante 2 horas em banho de óleo a 90°C sob agitação. As nanopartículas finais foram recuperadas por centrifugação a 5000 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante foi descartado, sendo adicionado no precipitado álcool etílico puro para lavagem. Após centrifugação a 5000 rpm durante 20 minutos, as nanopartículas foram recuperadas e aquecidas em um forno ao ar a 100°C por 2 horas e depois a 500°C por 1 hora para remover os componentes orgânicos da casca mesoporosa.

3.2. Síntese de nanopartículas de ouro (NPsAu).

Reagentes: CTAB $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich), cloreto de ouro III, HAuCl_4 99,99% (Sigma Aldrich), borohidreto de sódio, NaBH_4 97,0% (Nuclear), cloreto de n-hexadeciltrimetilamônio, CTAC 98% (TCI America) e ácido L-ascórbico, AA 99% (Synth).

As NPsAu foram feitas de acordo com o protocolo de síntese descrito por Zheng et al. (2013)¹²⁹. Misturou-se sequencialmente 5 mL da solução aquosa de CTAB 200 mM e 5,0 mL de HAuCl_4 0,5 mM. Em seguida, foi acrescentado 0,6 mL de solução aquosa de NaBH_4 100 mM preparada previamente e mantida em

água com gelo. Deixou-se a mistura sob aquecimento a 27°C durante 3 horas para dar origem as sementes de ouro.

Após, em outro recipiente, adicionou-se 2 mL de CTAC 200 mM, em seguida 1,5 mL de AA 100 mM, 2 mL de H_{AuCl}₄ 0,5 mM e 100 µL de sementes preparadas anteriormente. A mistura foi deixada sob aquecimento a 27°C durante 10 minutos para formação das partículas de ouro. O precipitado contendo as NPsAu foi obtido por centrifugação a 14500 rpm durante 30 minutos e lavado uma vez com água MiliQ nas mesmas condições, sendo dispersado em água MiliQ.

3.3. Síntese de nanobastões de ouro (NBsAu).

Reagentes: CTAB ≥99% (Sigma Aldrich), H_{AuCl}₄ 99,99% (Sigma Aldrich), NaBH₄ 97,0% (Nuclear) e AA 99% (Synth).

Os NBsAu foram feitos de acordo com adaptação do protocolo de síntese descrito por Zhou et al. (2012)¹²⁸. Em um frasco colocou-se 5 mL de solução aquosa CTAB 200 mM e adicionou-se 5,0 mL de solução aquosa H_{AuCl}₄ 0,5 mM. Em seguida, foi acrescentado 0,6 mL de solução NaBH₄ 100 mM previamente preparada e mantida em água com gelo, resultando em uma suspensão marrom. Depois, deixou-se a mistura sob aquecimento de 27°C durante 3 horas, tendo como resultado as sementes de ouro.

Na etapa seguinte, foram utilizados três balões de vidro (A, B e C) em banho de água a 30°C e sob suave agitação. Dessa forma, foram adicionados os seguintes reagentes em cada balão:

- Balão A: 3 mL de solução de H_{AuCl}₄ 2,5.10⁻⁴ M, 3 mL de AA 5,6.10⁻⁴ M e 3 mL de CTAB 0,1 M.

- Balão B: 6 mL de solução de H_{AuCl}₄ 2,5.10⁻⁴ M, 6 mL de AA 5,6.10⁻⁴ M e 6 mL de CTAB 0,1 M.

- Balão C: 60 mL de solução de H_{AuCl}₄ 2,5.10⁻⁴ M, 60 mL de CTAB 0,1 M e 60 mL de AA 5,6.10⁻⁴ M.

No balão A foi adicionado 1 mL das sementes de ouro. Após 15 segundos, 2 mL da suspensão do balão A foi adicionado ao balão B. Depois de 30 segundos toda a suspensão do balão B foi adicionada ao balão C. Após 5 segundos, a

suspensão resultante do balão C foi deixada imóvel a 30°C por uma noite, cerca de 12 horas.

Toda suspensão resultante, 200 mL, foi submetida a separação e lavagem do precipitado. A obtenção do precipitado foi feita por centrifugação a 7500 rpm durante 6 minutos, sendo feita a lavagem com água MiliQ nas mesmas condições, assim, o precipitado resultante foi dispersado em água MiliQ para uso posterior.

4. METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO

4.1. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis:

Os espectros de absorção dos nanomateriais foram medidos usando espectrofotômetro Agilent Technologies Cary 60 UVVis na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm do Laboratório Fotônicos do Instituto de Química – UNESP, Campus de Araraquara.

4.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR):

O espectro FTIR foi obtido via espectrômetro FT-IR ALPHA BRUKER em modo Reflectância Total Atenuada (ATR), 64 varreduras com porcentagem de transmitância (%T) e faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} no Laboratório de Bioprocessos e Biotecnologia na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Campus de Araraquara.

4.3. Potencial zeta e medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS):

O potencial zeta e a distribuição de tamanho das partículas foram medidos em triplicata à temperatura ambiente usando o equipamento Zetasizer Nano Series ZS90 do Laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica da Faculdade Ciências Farmacêuticas – UNESP, Campus de Araraquara.

4.4. Microscópio eletrônico de transmissão (MET):

A morfologia dos nanomateriais foram estudadas usando microscopia eletrônica de transmissão (MET) no Microscópio Eletrônico de Transmissão (PHILIPS; modelo CM 200 SUPER TWIN) operando em 120 KV do CCDPN-SisNano do Instituto de Química – UNESP, Campus de Araraquara e também no equipamento FEI Tecnai T20 operando em 200 kV.

4.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):

A morfologia dos nanomateriais também foram obtidas via medidas de imagem MEV no equipamento Marca JEOL, modelo JSM-7500F e análise química (energy dispersive spectroscopy - EDS) Thermo Scientific, modelo Ultra Dry, com software de operação NSS 2.3., que se encontra no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (MEV-FEG) no Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Protocolos em Nanotecnologia do Instituto de Química – UNESP, Campus de Araraquara.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese da nanoplataforma SiO₂M@NPsAg-1.

5.1.1. Síntese das NPsAg-1.

A suspensão resultante da síntese descrita no item 3.1.1. apresentou coloração amarela amarronzada, figura 7, sendo um indicativo de que o nitrato de prata, precursor de prata, foi reduzido pelo citrato de sódio com possível formação de NPsAg-1^{54,124}.



Figura 7. Balão contendo a suspensão resultante de NPsAg-1.

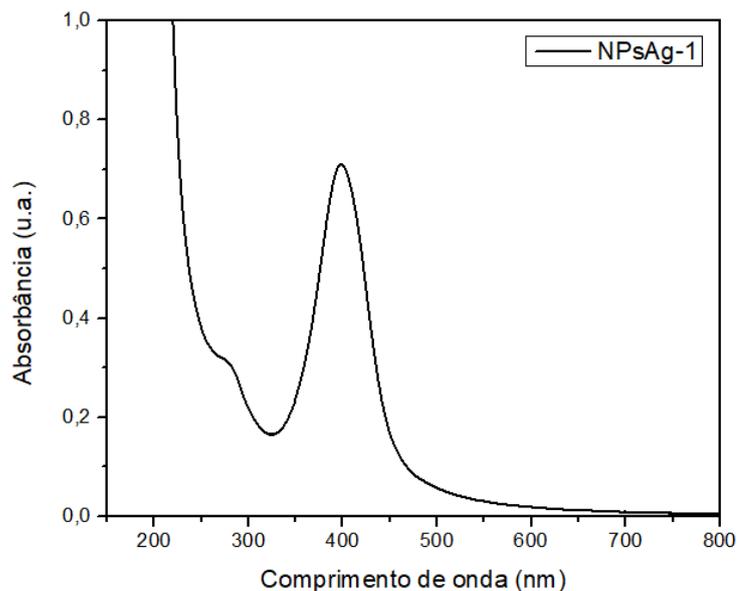


Figura 8. Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAg-1. A diluição foi realizada com 400 μ L da suspensão de AgNPs-1 e 1,8 mL de água miliQ.

A espectrometria de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis), figura 8, mostra uma única banda de absorção da amostra de NPsAg-1, que apresentou um pico máximo de absorção em 398 nm, característico de nanoesferas de prata, o que novamente sugere sua formação¹²⁴.

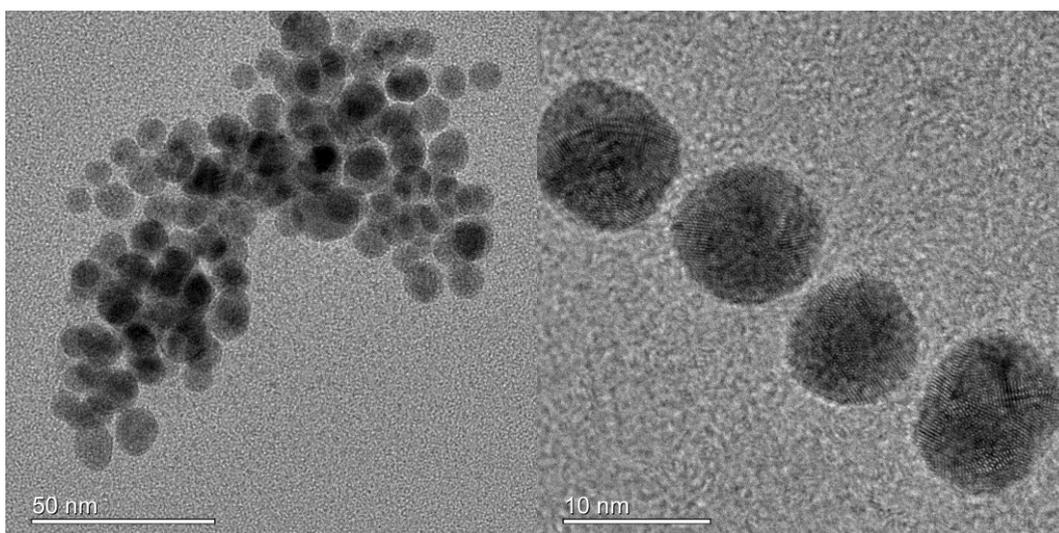


Figura 9. Micrografias MET da suspensão de NPsAg-1.

Com as micrografias MET, figura 9, foi possível verificar que houve formação de partículas esféricas de prata, resultado que corrobora com o

espectro de absorção da figura 8. Além da morfologia, a figura 9 também revela que o tamanho médio das NPsAg-1 é de 10 nm.

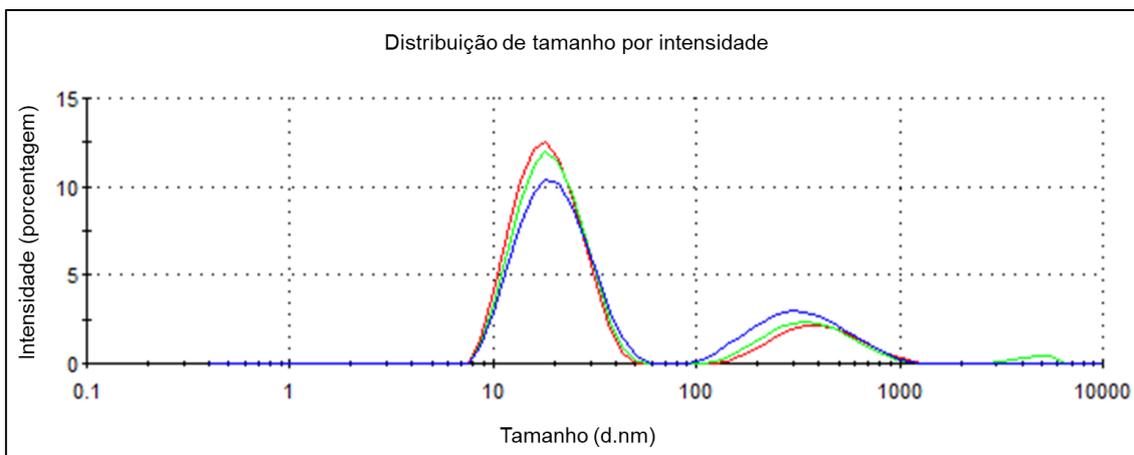


Figura 10. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAg-1.

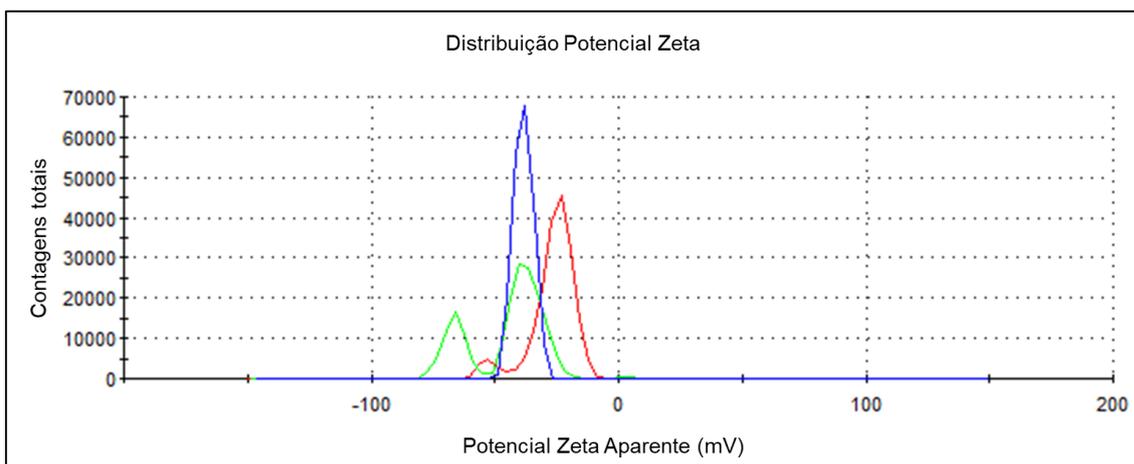


Figura 11. Medidas referentes ao potencial zeta das NPsAg-1.

As medidas de DLS, figura 10, revelaram raio hidrodinâmico médio para as NPsAg-1 de 22 nm e índice de polidispersividade (Pdl) médio de 0,4. Na figura 11, as medidas de potencial zeta médio é de -36,8 mV. O potencial zeta das NPsAg-1 com alta carga negativa indica que os íons citratos não só atuam como agente redutor durante a síntese, mas também são responsáveis pelo revestimento das partículas, o que impede a agregação⁵⁵.

A partir das análises feitas referentes as NPsAg-1, o tamanho médio de 10 nm e a forma esférica levaram a uma banda de absorção em 398 nm, sendo uma faixa interessante de absorção, uma vez que coincide com a faixa de absorção da Cur em torno de 410 a 430 nm^{44,45}. Esses dados são importantes, pois

mostram a possibilidade de que ao combinar as NPsAg-1 com curcumina poderá haver o efeito MEO, um aumento do rendimento quântico do fármaco e maior produção de ERO⁵¹.

5.1.2. Síntese de nanoesferas de SiO₂M.

As partículas de SiO₂M foram sintetizadas ao utilizar TEOS como precursor de sílica, octano como fase hidrofóbica, monômero de estireno como molde, AIBA como o iniciador da polimerização do estireno, CTAB como surfactante e molde, além de lisina como catalisador. Assim, as nanopartículas de SiO₂M resultante da síntese descrita no item 3.1.2. foram submetidas a algumas caracterizações, apresentando coloração branca como mostra a figura 12.



Figura 12. Eppendorfs contendo as partículas resultantes de SiO₂M.

Uma das caracterizações realizadas foi a MET a fim de verificar morfologia e tamanho das partículas. A figura 13 mostra a micrografia MET das partículas, o que confirmou a obtenção de nanoesferas de SiO₂M com diâmetro médio de 50 nm e indícios de mesoporos.

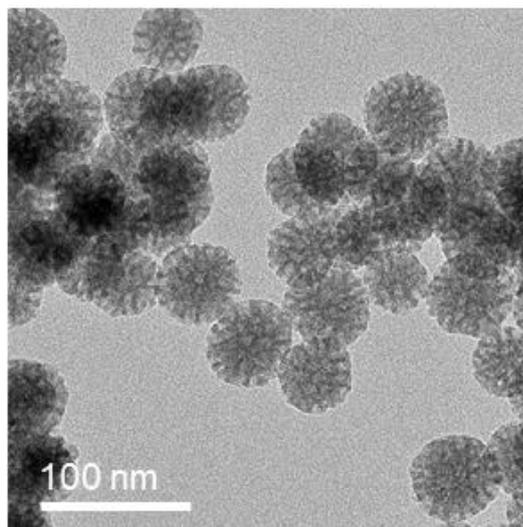


Figura 13. Micrografias MET das nanoesferas de SiO₂M.

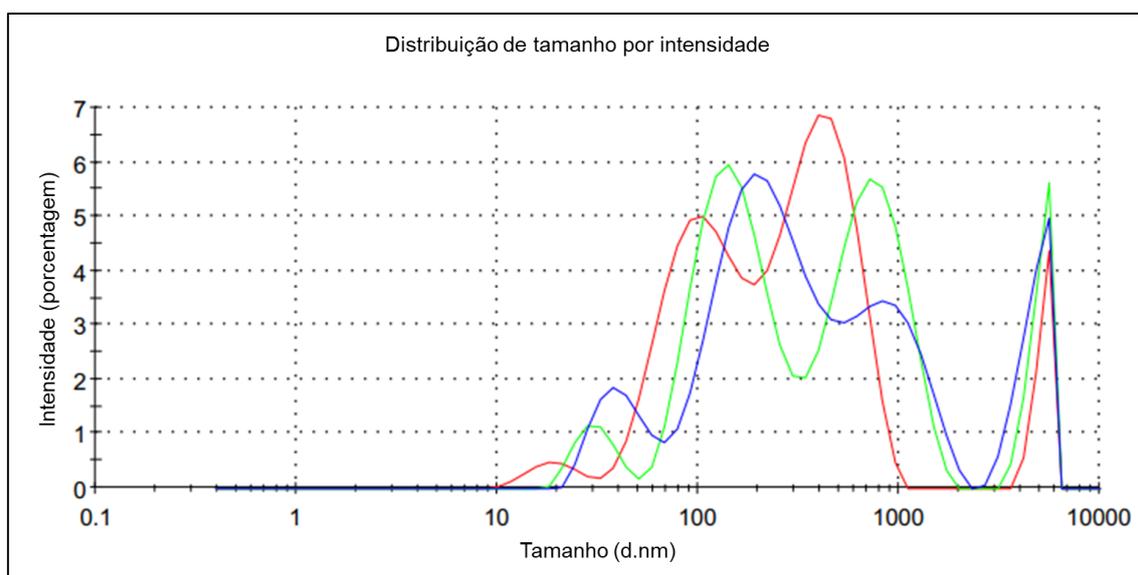


Figura 14. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das nanoesferas de SiO₂M.

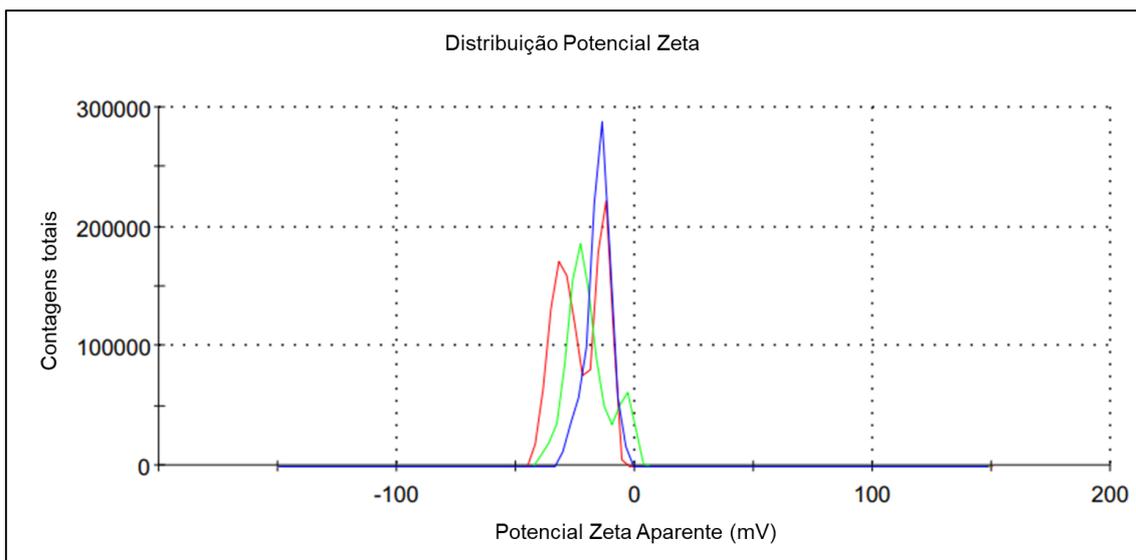


Figura 15. Medidas referentes ao potencial zeta das nanoesferas de SiO_2M .

As medidas exibidas na figura 14 revelam que as nanoesferas de SiO_2M possuem raio hidrodinâmico médio de 268 nm e Pdl 0,6. A partir da figura 15 é possível obter informação da carga superficial da partícula, com potencial zeta médio de -19,4 mV.

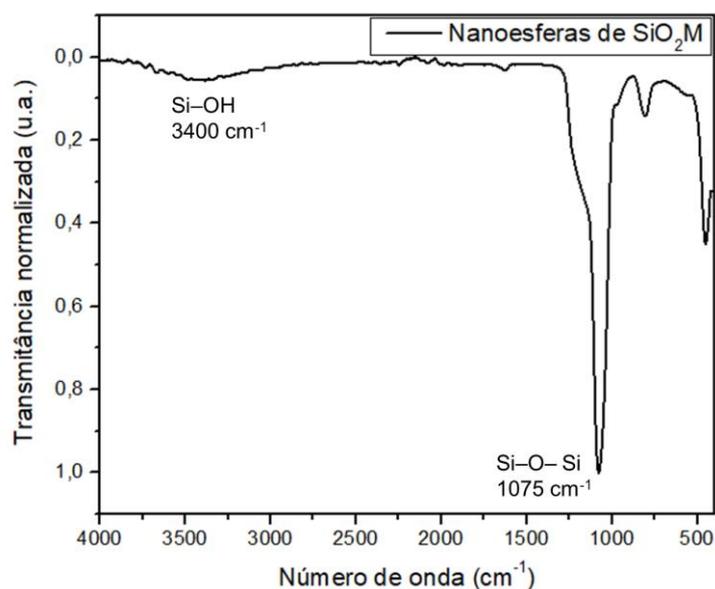


Figura 16. Espectro FTIR referente as nanoesferas de SiO_2M .

Também foi realizada análise via FTIR, figura 16. Pelo espectro FTIR foi possível verificar a presença de grupos Si-O-Si em 1075 cm^{-1} e Si-OH em 3400 cm^{-1} , visto que na literatura esses grupos se encontram próximos as faixas de $1200\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ e $3200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$, respectivamente¹³⁵. Além disso, também

verificou-se que o tratamento térmico foi efetivo na remoção do molde poliestireno, uma vez que não consta picos característicos (grupos alquil C_nH_{2n+1} na faixa de 2800–2900 e 2900–3000 cm^{-1}) no espectro e também não há picos característicos de CTAB (ligações C–H na faixa de 2700–2900 cm^{-1}), indicando que os poros estão livres para receber a Cur e as NPsAg-1 após funcionalização da superfície^{93,125}.

5.2. Síntese da nanoplataforma $SiO_2M@NPsAg-2$.

5.2.1. Síntese das NPsAg-2.

A coloração marrom da suspensão das NPsAg-2 na figura 17 revela possível formação de nanoesferas de prata^{54,126}. De acordo com Zhao, T et al. (2010), o etilenoglicol decompõe, liberando água e formando acetaldeído. Assim, a Ag^+ é reduzida pelo acetaldeído a Ag^0 ¹²⁶.

Reações envolvidas na síntese:

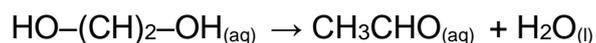


Figura 17. Frasco contendo a suspensão resultante de NPsAg-2.

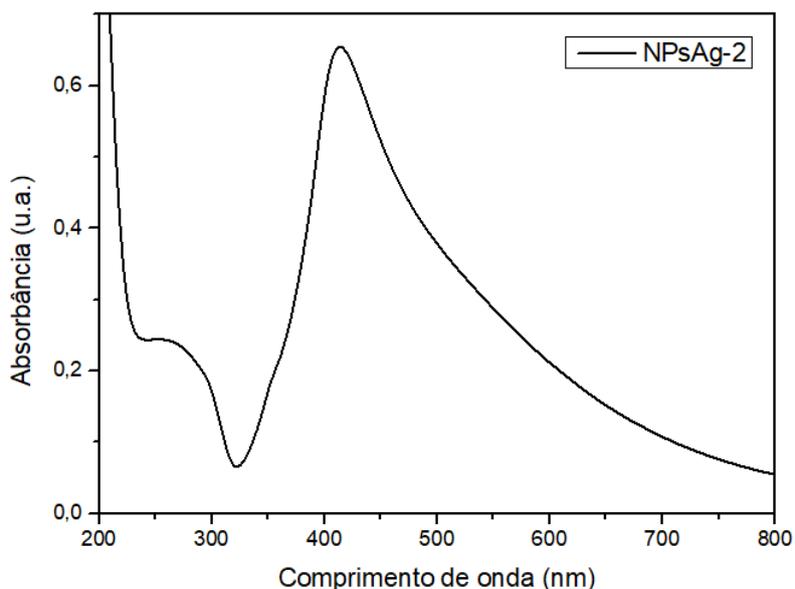


Figura 18. Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAg-2. A diluição foi realizada com 5 μ L da suspensão de AgNPs-2 e 3 mL de água miliQ.

Apesar de ser obtido uma suspensão marrom, algumas caracterizações foram necessárias para confirmar a formação de nanoesferas de prata. A espectrometria de absorção na região do UV/Vis foi a primeira caracterização realizada, figura 18. O fato do espectro mostrar apenas uma banda de absorção revela a possível formação de nanoesferas de prata com um pico máximo de absorção em 414 nm.

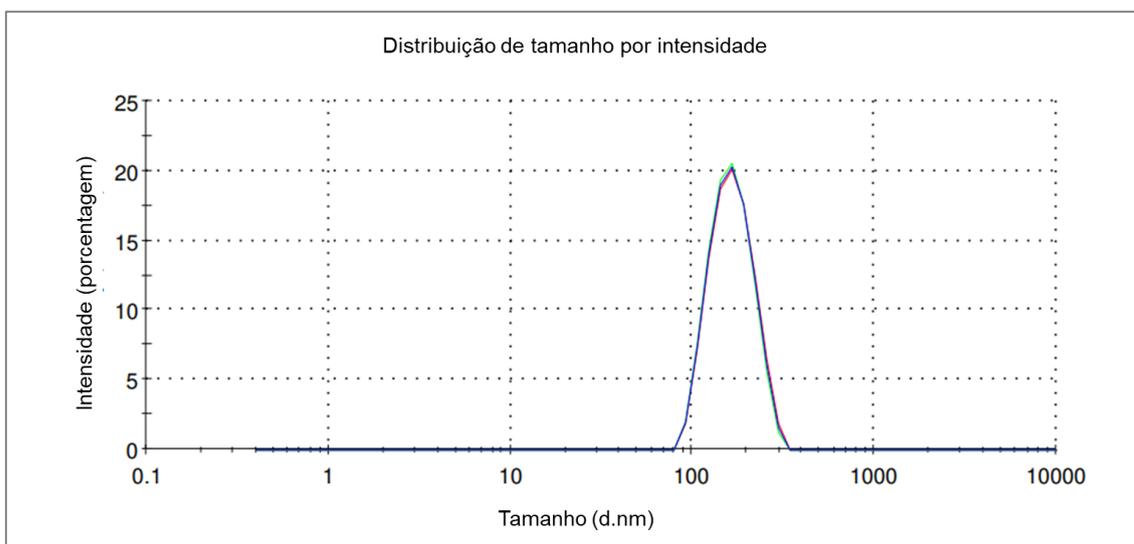


Figura 19. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAg-2.

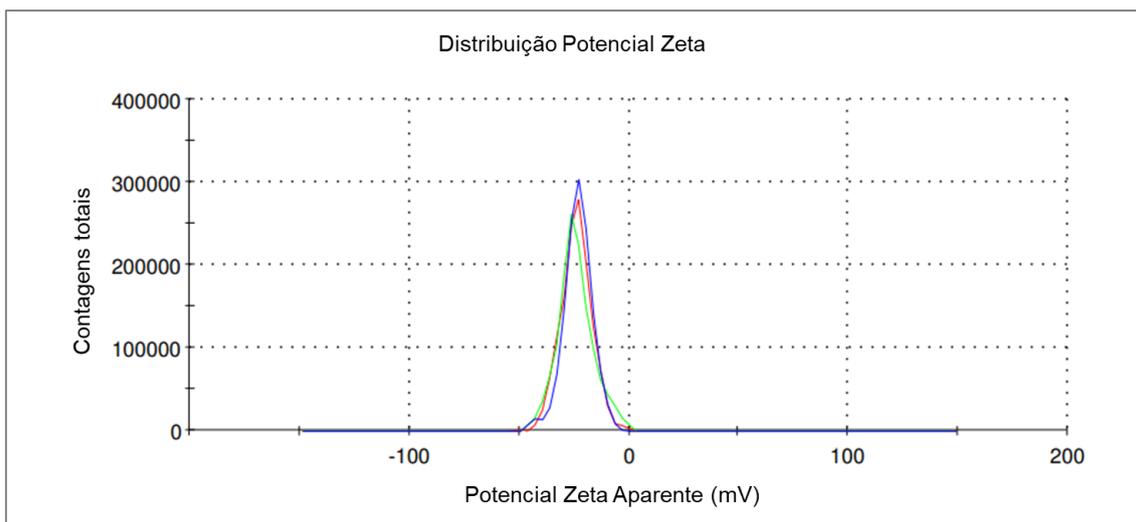


Figura 20. Medidas referentes ao potencial zeta referente às NPsAg-2.

As medidas de DLS, figura 19, revelaram raio hidrodinâmico médio para as NPsAg-2 de 155 nm e índice de polidispersividade (PDI) médio de 0,068 com potencial zeta médio de -23,9 mV, figura 20. Os valores de potencial zeta das NPsAg-2 sugerem que a carga negativa proporciona repulsão entre as nanopartículas, o que lhe confere uma estabilidade coloidal razoável¹³⁰.

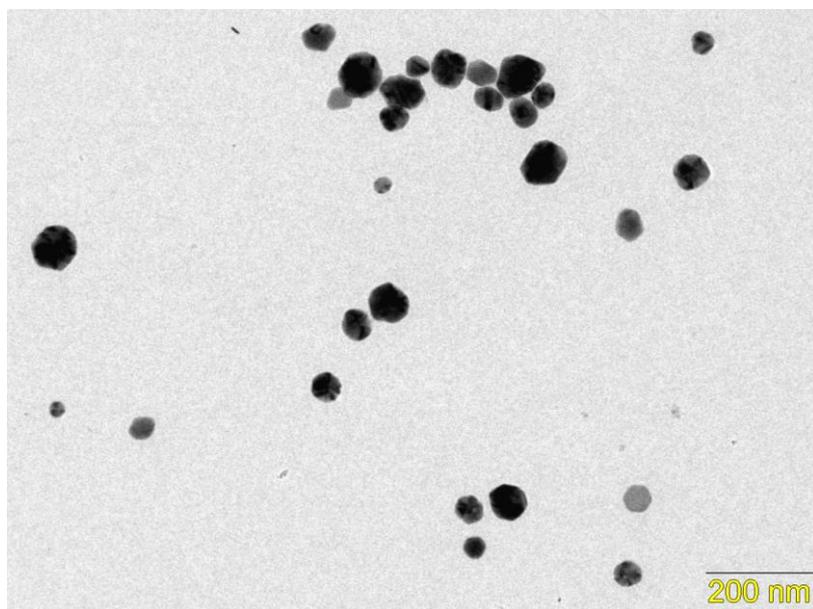


Figura 21. Micrografias MET da suspensão de NPsAg-2.

Na figura 21 é possível verificar que há partículas com tamanhos variados entre 10 e 90 nm e formatos quase esféricos.

A partir das análises feitas referentes as NPsAg-2, o tamanho e a forma esférica levaram a uma banda de absorção em 414 nm, sendo uma faixa de absorção que coincide com a da curcumina em torno de 410 a 430 nm^{44,45}.

5.2.2. Síntese das SiO₂M@NPsAg-2.

As partículas de SiO₂M@NPsAg-2 da figura 22 apresentaram coloração marrom, sendo um indicativo da presença de NPsAg-2 com coloração também marrom como mostra a figura 17.



Figura 22. Eppendorf contendo SiO₂M@NPsAg-2 em pó.

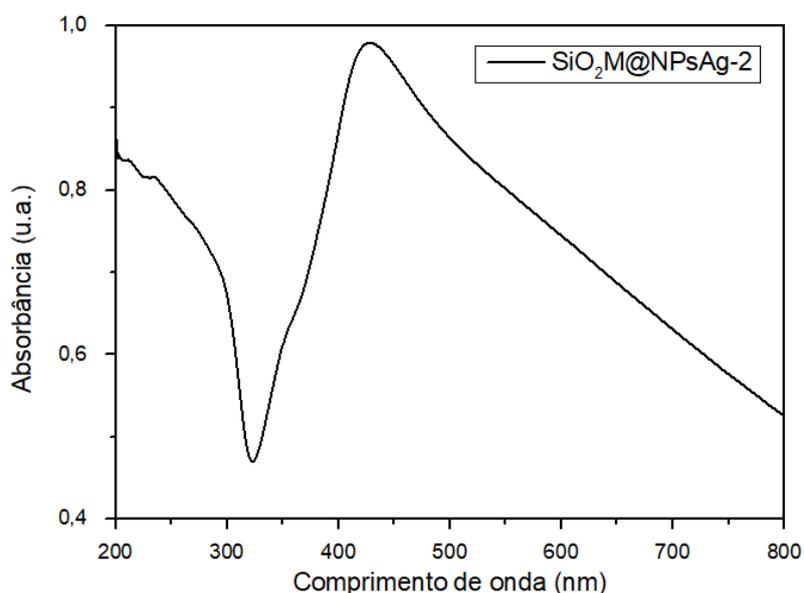


Figura 23. Espectroscopia na região do UV-Vis das SiO₂M@NPsAg-2. A diluição foi realizada com 20 μ L da suspensão de SiO₂M@AgNPs e 3 mL de água miliQ.

As NPsAg-2 isoladas mostraram um pico máximo de absorção em 414 nm e depois de serem recobertas com SiO₂M a máxima absorção passou a ser em 428 nm, figura 23. Ao revestir as NPsAg-2 com uma casca de SiO₂M ocorre uma mudança para o vermelho na LSPR, isso pode ser explicado pelo aumento do

índice de refração local, além de uma redistribuição do campo elétrico próximo que é mais concentrado próxima a camada de sílica⁵⁶.

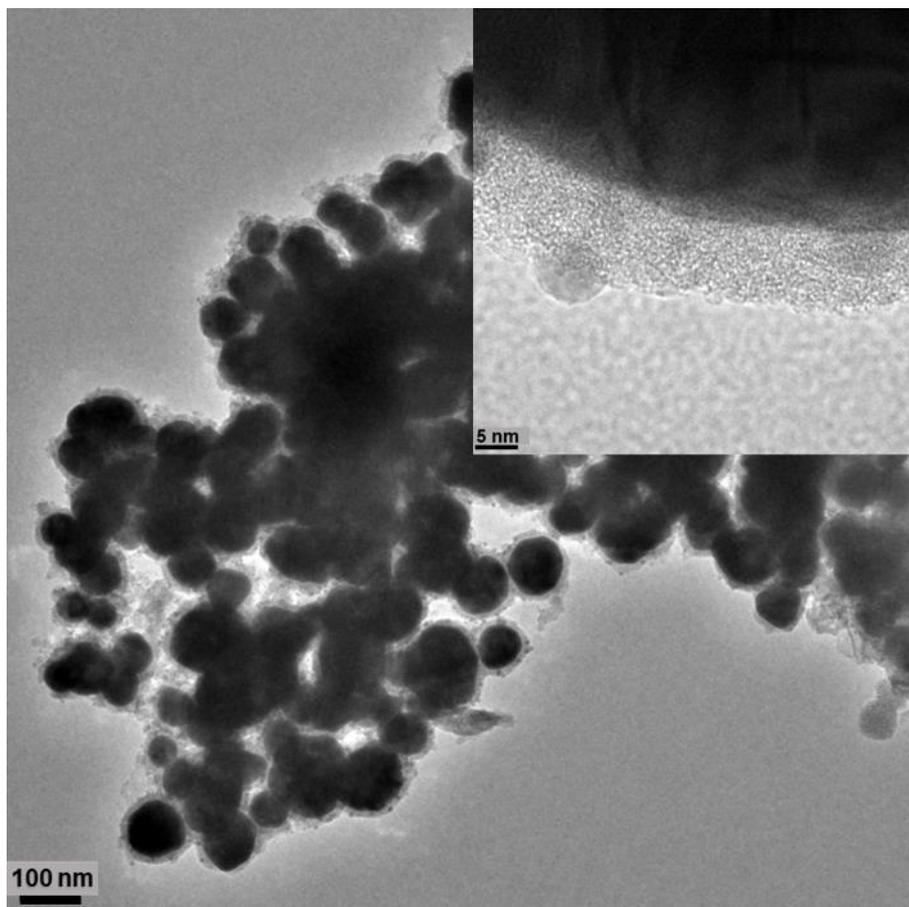


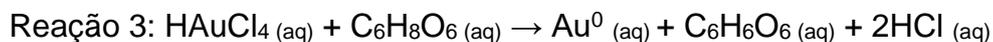
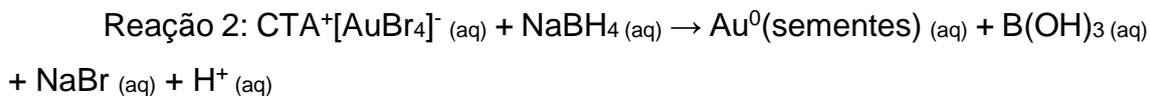
Figura 24. Micrografias MET das SiO₂M@NPsAg-2.

A figura 24 revela que as partículas NPsAg-2 foram revestidas com SiO₂M e que a espessura da camada de SiO₂M que cresceu ao redor das partículas de prata possuem cerca de 10 nm.

Esses dados são importantes, pois mostram que as partículas de prata foram de fato revestidas com uma casca de sílica e mesmo após revestimento a absorção máxima em 428 nm ainda se manteve na faixa de absorção que coincide com a da Cur em torno de 410 a 430 nm^{44,45}. Dessa forma, os dados indicam a possibilidade de ocorrer o efeito MEO, um aumento do rendimento quântico do fármaco e maior produção de ERO ao combinar o nanomaterial SiO₂M@NPsAg-2 com a Cur na superfície e poros da casca da sílica⁵¹.

5.3. Síntese de NPsAu.

As reações envolvidas na síntese incluem as reações 1, 2, 3 e 4 a seguir:



As reações 1 e 2 ocorreram em recipiente separado das reações 3 e 4. Na reação 1 foi utilizado HAuCl_4 como precursor de ouro e CTAB como surfactante para formar um complexo de coloração amarela, $\text{CTA}^+[\text{AuBr}_4]^-$, figura 25. A).

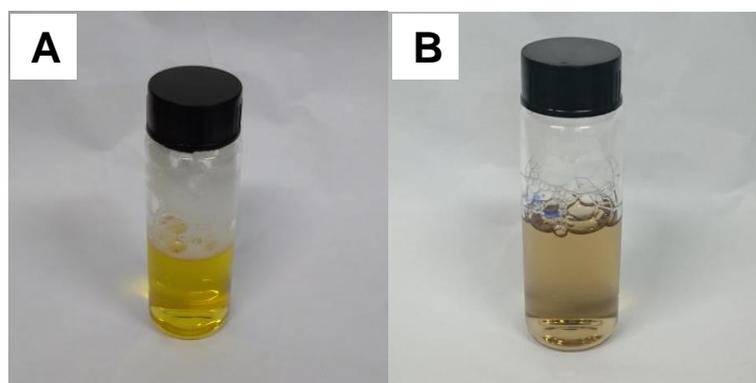


Figura 25. A) Frasco contendo complexo $\text{CTA}^+[\text{AuBr}_4]^-$ à esquerda e B) frasco contendo sementes de ouro à direita.

Em seguida, na reação 2 ocorreu a nucleação das partículas, o complexo de ouro foi reduzido a Au^0 pelo agente redutor NaBH_4 , sendo a etapa que produziu as sementes de ouro em suspensão de coloração marrom, figura 25.B). A reação 3 incluiu a redução do precursor de ouro a Au^0 pelo agente redutor AA. Logo depois, na reação 4, a adição das sementes de ouro promoveu o crescimento das partículas para formarem uma suspensão vermelha contendo as NPsAu, figura 26.



Figura 26. Eppendorfs contendo a suspensão de NPsAu.

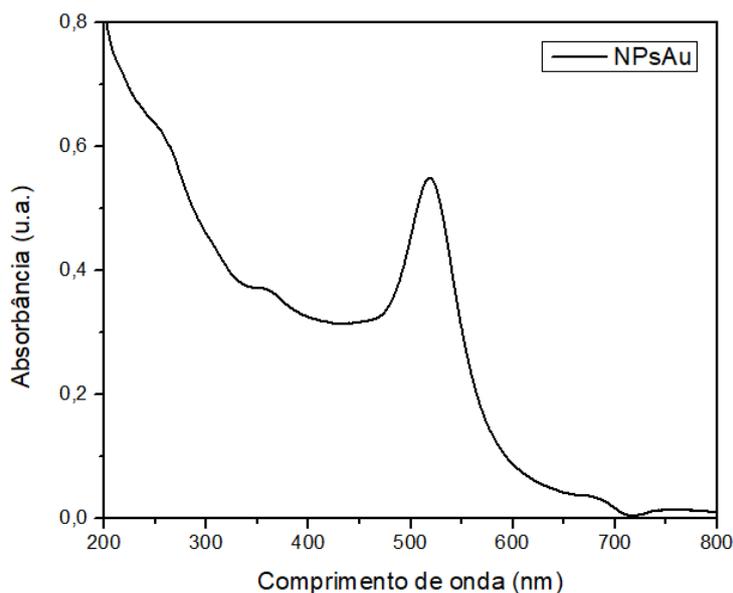


Figura 27. Espectroscopia na região do UV-Vis das NPsAu.

A banda de absorção da amostra NPsAu apresentou um pico máximo de absorção em aproximadamente 520 nm, figura 27, característico das NPsAu, o que indica sua formação. Além disso, a presença de uma única banda de absorção nessa região do espectro sugere um formato esférico de nanopartícula¹²⁹.

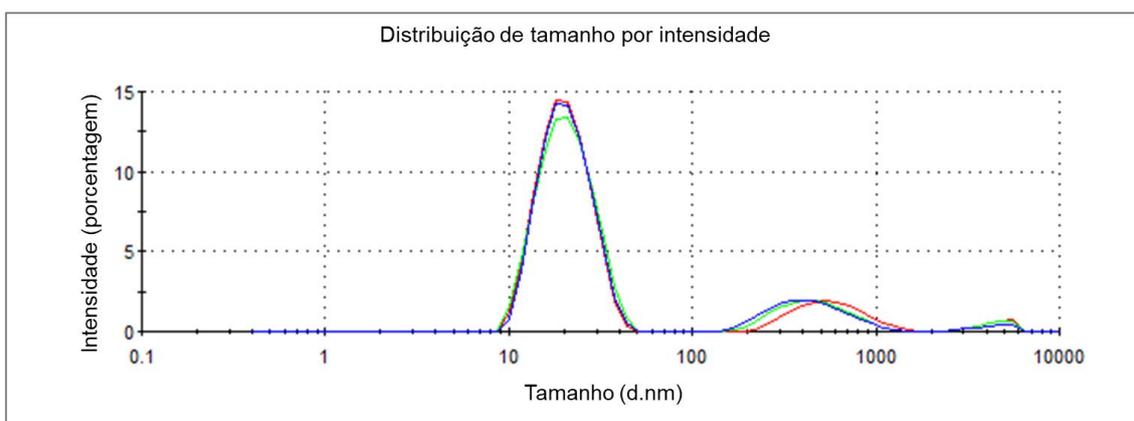


Figura 28. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NPsAu.

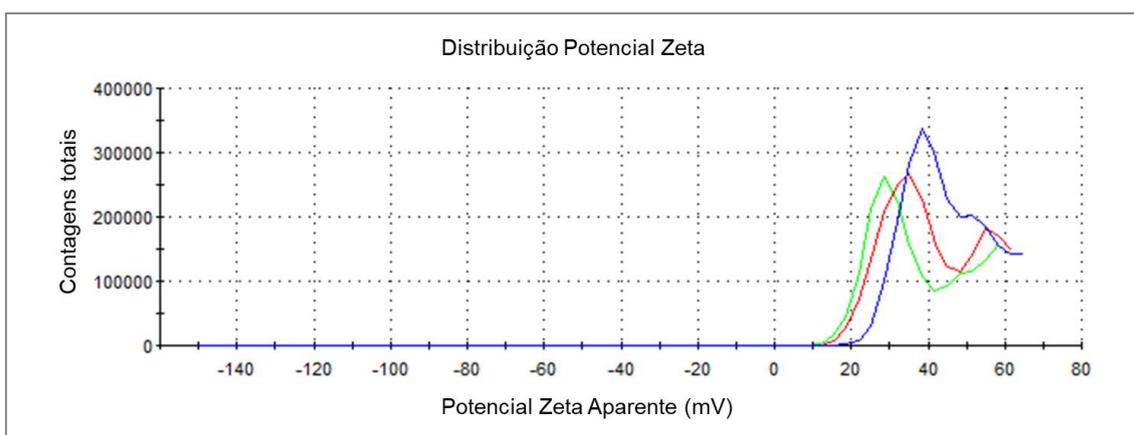


Figura 29. Medidas referentes ao potencial zeta das NPsAu.

Para melhor compreender a distribuição de tamanho das NPsAu foram feitas medidas por DLS, figura 28, com raio hidrodinâmico médio de 23 nm e Pdl médio de 0,32. Na figura 29 há três medidas com potencial zeta médio igual a 41,2 mV, sendo que o sinal positivo é devido as moléculas de CTA na superfície das partículas¹²⁹.

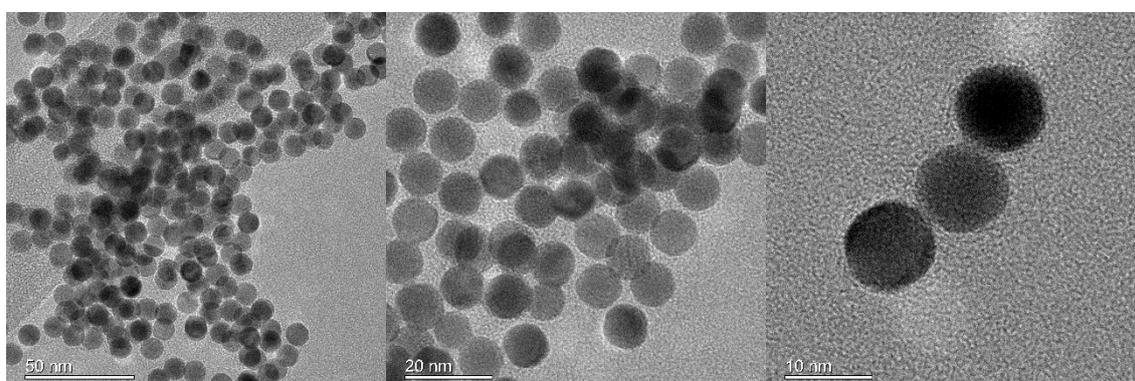


Figura 30. Micrografias de MET referente às NPsAu.

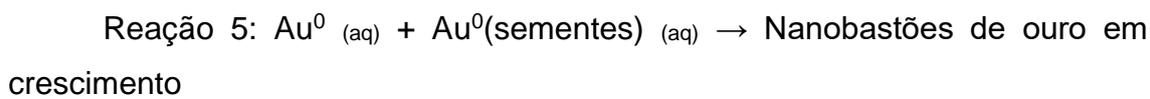
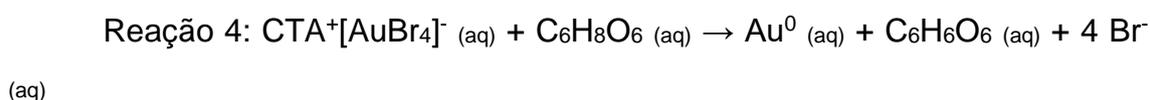
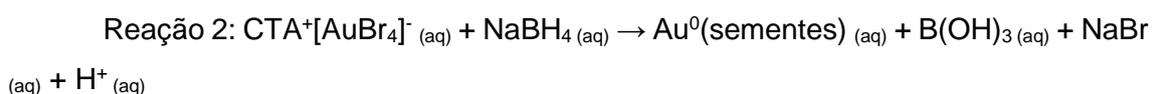
As imagens MET observadas na figura 30 confirmaram a obtenção de nanoesferas de ouro monodispersas com diâmetro médio de 9,9 nm, corroborando com a análise de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.

As NPsAu mostraram uniformidade em relação ao tamanho e forma e com a funcionalização da superfície das nanoesferas de SiO₂M descritas no item 3.1.2., as NPsAu são uma excelente opção para serem inseridas em seus poros e superfície, podendo ser combinadas com fármacos com faixa de absorção

próxima as das NPsAu com possível aplicação em PDI, visto que existem estudos que mostram que o uso de NPsAu aumentam a eficácia dos fármacos a elas associadas^{132,133,134,135,136,137}.

5.4. Síntese de NBsAu.

As reações envolvidas na síntese de NBsAu são:



As reações 1 e 2 são referentes a mesma etapa de síntese utilizada para obtenção das sementes de ouro descritas no item 5.3. A reação 3 incluiu a formação do complexo $\text{CTA}^+[\text{AuBr}_4]^-$, depois ocorrendo redução do precursor de ouro a Au^0 pelo agente redutor AA, reação 4. Logo depois, na reação 5, a adição das sementes de ouro promoveu o crescimento das partículas para formarem uma suspensão roxa contendo as NBsAu, figura 31.



Figura 31. Frascos contendo a suspensão de NBsAu.

Foi realizada medida de espectrofotometria na região do UV-Vis das amostras com coloração roxa referentes a figura 31, obtendo-se uma banda de absorção em aproximadamente 527 nm, figura 32. Porém, a banda de absorção característica de nanobastões de ouro possui dois picos em aproximadamente 520 nm e 863 nm¹³¹.

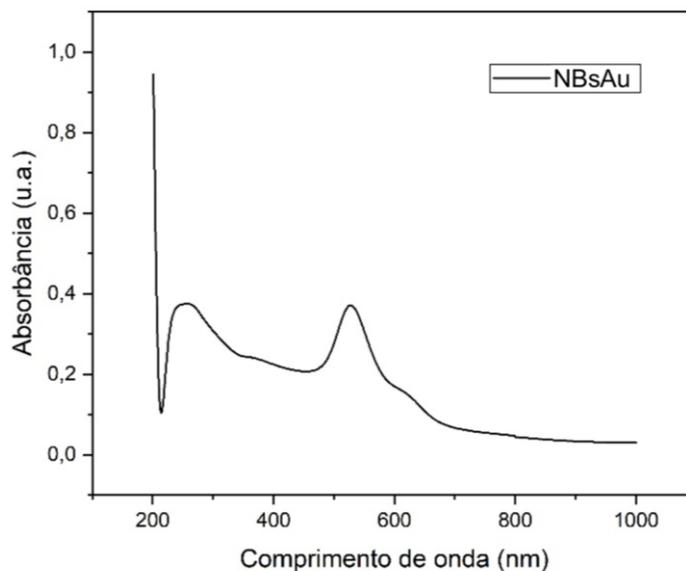


Figura 32. Espectroscopia na região do UV-Vis das NBsAu.

Para melhor compreender a distribuição de tamanho dos NBsAu foram feitas medidas por DLS, com raio hidrodinâmico médio predominante em 43 nm, figura 33, e Pdl médio 0,61.

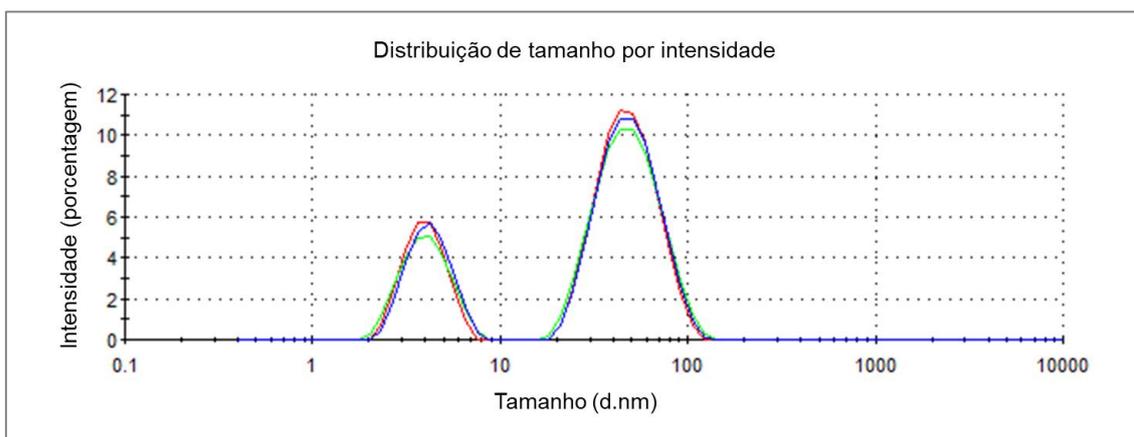


Figura 33. Medidas referentes ao raio hidrodinâmico das NBsAu.

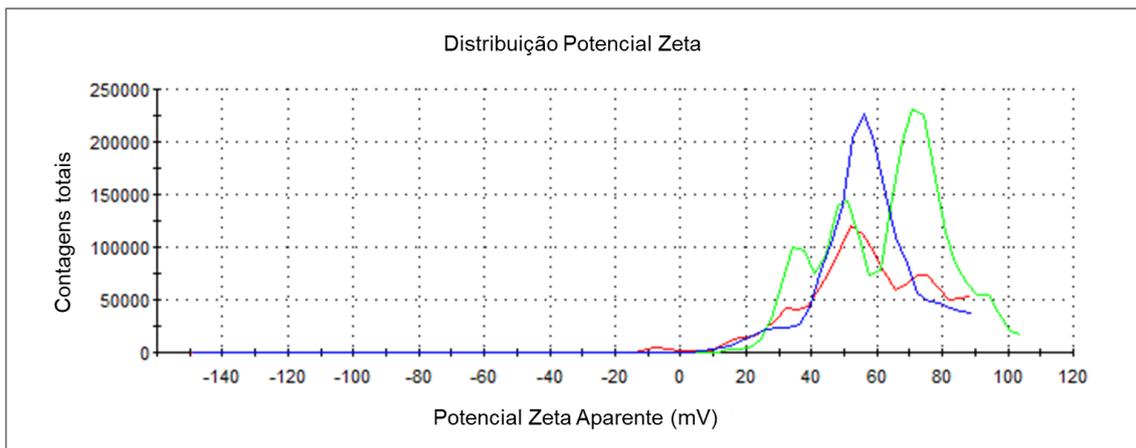


Figura 34. Medidas de potencial zeta das NBsAu.

As medidas de potencial zeta para os nanobastões de ouro, figura 34, permitiram obter potencial zeta médio igual a 59,1 mV, sendo que o sinal positivo é devido, provavelmente, as moléculas de CTA na superfície das partículas, indicando boa estabilidade coloidal¹²⁸.

Como a medida de espectroscopia na região do UV-Vis mostrou apenas um pico em 527 nm que seria característico de NBsAu e não mostrou o outro pico característico em 863 nm, realizou-se imagens de MEV observadas nas figuras 35 e 36.

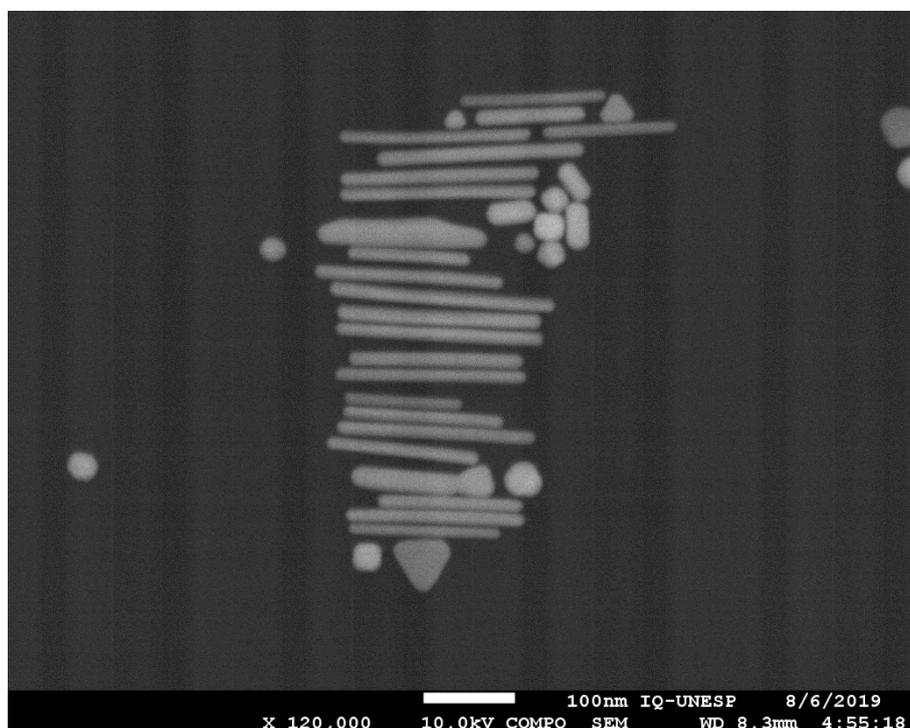


Figura 35. Imagens MEV da suspensão de NBsAu.

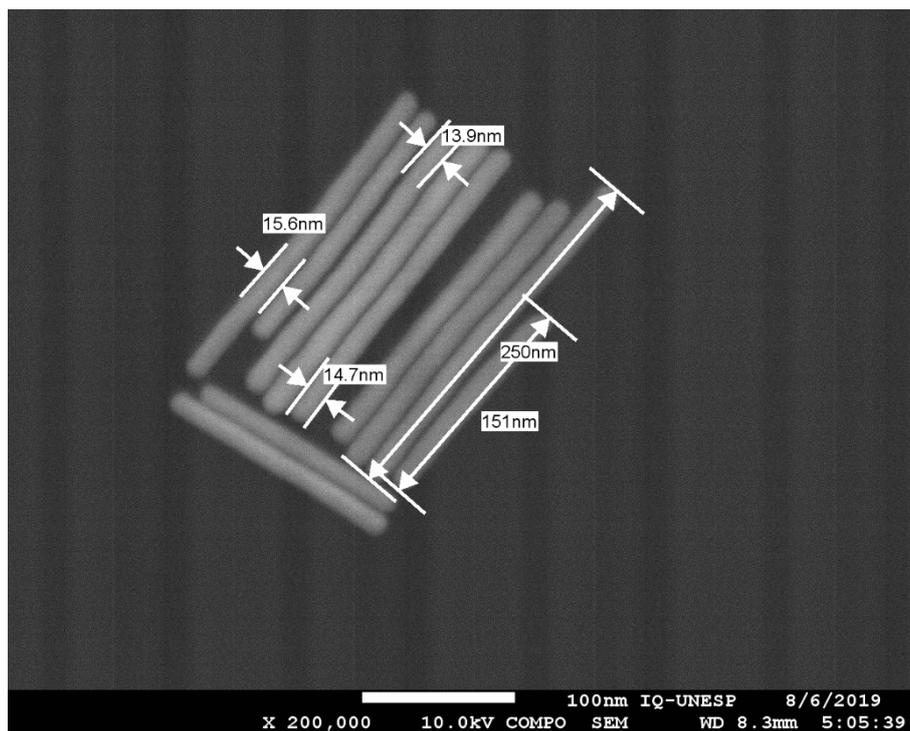


Figura 36. Imagens MEV da suspensão de NBsAu com tamanhos de largura e diâmetro mensurados.

As imagens MEV da figura 35 confirmaram a obtenção de nanoesferas, nanocubos, nanotriângulos e majoritariamente NBsAu. A figura 31 complementa a figura 34 e o espectro de absorção na região do UV-Vis dos NBsAu, uma vez que evidencia de fato a formação de nanobastões com diâmetros entre 13,9 nm e 16,2 nm e comprimentos entre 151 nm e 250 nm, figuras 36.

Os NBsAu obtidos podem ser também uma alternativa de partículas metálicas que podem ser revestidas com casca de SiO_2M a partir da adaptação da síntese descrita no item 3.2.2, permitindo inserir em seus poros fármacos com faixa de absorção próxima as dos NBsAu com possível aplicação em PDI, uma vez que há estudos que mostram que NBsAu melhoram a eficácia do fármaco a eles associados^{138,139,140,141,142,143}.

6. CONCLUSÃO

Diante do cenário atual, em que há um crescente aumento de bactérias resistentes aos antimicrobianos convencionais, a PDI tornou-se uma estratégia alternativa para superar tal problema, uma vez que se trata de uma terapia antimicrobiana com baixa probabilidade de desenvolver resistência nas bactérias

alvo. Contudo, muito dos FS utilizados em PDI, como a Cur, possuem baixa disponibilidade em meio aquoso e biológico, além de efeito quântico reduzido, diminuindo a eficácia da terapia. A fim de melhorar a disponibilidade da Cur foram utilizadas estruturas de SiO₂M e NPsAg para aumentar a taxa de excitação do FS para o estado tripleto e com isso, maior produção de oxigênio singleto e ERO tóxicas para as bactérias.

Os resultados fornecem conhecimentos para explorar o uso do LSPR promovido por nanopartículas metálicas, com foco em nanoesferas de prata, NPsAg-1 e NPsAg-2, utilizando SiO₂M como nanocarreador a fim de melhorar a eficácia antibacteriana da Cur, com opção de incorporação nas esferas de SiO₂M (SiO₂M@NPsAg-1) ou estrutura núcleo/casca (SiO₂M@NPsAg-2).

As NPsAg-1 apresentaram tamanho médio de 10 nm e forma esférica com banda de absorção máxima em 398 nm. As análises feitas referentes as NPsAg-2 mostraram tamanho de 10 a 90 nm e forma esférica que levaram a uma banda de absorção máxima em 414 nm e depois de serem recobertas com casca de SiO₂M com espessura de 10 nm, SiO₂M@NPsAg-2, a máxima absorção passou a ser em 428 nm. Ambas partículas, NPsAg-1 e NPsAg-2 possuem uma faixa de absorção que coincide com a da Cur em torno de 410 a 430 nm, inclusive o nanomaterial SiO₂M@NPsAg-2. Esses dados são importantes por mostrarem a possibilidade de que ao combinar as NPsAg-1 e SiO₂M@NPsAg-2 com a Cur poderá haver o efeito MEO, um aumento do rendimento quântico do fármaco e maior produção de oxigênio singleto e ERO.

O raio hidrodinâmico médio para as NPsAg-1 foi de 22 nm e Pdl médio de 0,4, com potencial zeta médio de -36,8 mV, o que revela alta estabilidade coloidal. Para as NPsAg-2, o raio hidrodinâmico foi de 155 nm e Pdl médio de 0,068 com potencial zeta médio de -23,9 mV. As partículas NPsAg-2 apresentaram maior variação de tamanho do que as NPsAg-1, mas apesar disso os valores de potencial zeta das NPsAg-2 sugerem uma estabilidade coloidal razoável.

As nanoesferas de SiO₂M mostraram diâmetro médio de 50 nm, raio hidrodinâmico médio de 268 nm e Pdl 0,6 com potencial zeta médio de -19,4 mV. Pelo espectro FTIR foi possível verificar a presença de grupos Si–O–Si e Si–OH e verificou-se que o tratamento térmico foi efetivo na remoção do molde, uma

vez que não houve picos característicos de poliestireno e CTAB no espectro, indicando que os poros estão livres para receber a Cur e as NPsAg-1 após funcionalização da superfície.

Além disso, foi proposto a exploração do uso LSPR provenientes de partículas de ouro, NPsAu e NBsAu, associadas a estruturas de SiO₂M para melhoria da eficácia de outros fármacos. As NPsAu apresentaram tamanho esférico regulares, diâmetro médio de 9,9 nm, boa monodispersividade, espectro com máxima absorção em 520 nm, raio hidrodinâmico médio de 23 nm e Pdl médio de 0,32, com potencial zeta médio igual a 41,2 mV, indicando boa estabilidade coloidal. Os NBsAu obtidos possuem diâmetros entre 13,9 nm e 16,2 nm e comprimentos entre 151 nm e 250 nm, raio hidrodinâmico médio predominante em 43 nm, Pdl médio de 0,61 e potencial zeta médio igual a 59,1 mV, evidenciando que a suspensão coloidal é estável.

A exploração do uso LSPR de nanopartículas metálicas, NPsAg-1, NPsAg-2, NPsAu e NBsAu associadas a estruturas de SiO₂M como nanocarreador de fármacos é uma nanoplataforma promissora para ampliar o efeito antimicrobiano do fármaco e sua disponibilidade em meio biológico. Dessa forma, espera-se que todo o estudo desenvolvido neste trabalho possa vir a ser útil para otimizar protocolos PDI.

7. PERSPECTIVAS

As perspectivas incluem fazer caracterizações que complemente as informações das nanoplataformas de SiO₂M@NPsAg-1 e SiO₂M@NPsAg-2. Além disso, ampliar os estudos sobre nanoplataformas baseadas em SiO₂M e nanopartículas de ouro, NPsAu e NBsAu, para expandir as possibilidades de sinergismo para diferentes fármacos.

REFERÊNCIAS

- [1] SOBOTTA, L. et al. Porphyrinoid photosensitizers mediated photodynamic inactivation against bacteria. **European journal of medicinal chemistry**, 2019.
- [2] VARA, J. et al. Evaluation of physicochemical properties and bacterial photoinactivation of phenothiazine photosensitizers. **Photochemical & Photobiological Sciences**, 2019.
- [3] REGIEL-FUTYRA, A. et al. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 351, p. 76-117, 2017.
- [4] BROOKS, B. D.; BROOKS, Amanda E. Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance. **Advanced drug delivery reviews**, v. 78, p. 14-27, 2014.
- [5] FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. **Journal of infection and public health**, v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017.
- [6] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance**. Geneva, 2014. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=46D82D6C3060B52D4C5D628FF23240E1?sequence=1>. Acesso em: 21 mar. 2020.
- [7] MÉNDEZ-PFEIFFER, P. A. et al. Damage on Escherichia coli and Staphylococcus aureus using white light photoactivation of Au and Ag nanoparticles. **Journal of Applied Physics**, v. 125, n. 21, p. 213102, 2019.
- [8] FERNANDES, M. R. et al. Silent dissemination of colistin-resistant Escherichia coli in South America could contribute to the global spread of the mcr-1 gene. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 17, 2016.
- [9] ANVISA. **Antimicrobianos – Bases Teóricas e Uso Clínico**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosauade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/carbapenens3.htm>. Acesso em: 19 abr. 2020.
- [10] ANVISA. **Resistência microbiana – Mecanismos e Impacto Clínico**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosauade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_staphylo4.htm>. Acesso em 19 abr. 2020.
- [11] BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. **Nature**, v. 529, n. 7586, p. 336-343, 2016.
- [12] KASHEF, N.; HUANG, Y.; HAMBLIN, M. R. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale. **Nanophotonics**, v. 6, n. 5, p. 853-879, 2017.

- [13] HAMBLIN, M. R.; ABRAHAMSE, H. Oxygen-Independent Antimicrobial Photoinactivation: Type III Photochemical Mechanism?. **Antibiotics**, v. 9, n. 2, p. 53, 2020.
- [14] PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 988-994, 2007.
- [15] PLAETZER, Kristjan et al. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers in medical science**, v. 24, n. 2, p. 259-268, 2009.
- [16] REIS, A. C. M.; REGIS, W. F. M.; RODRIGUES, L. K. A. Scientific evidence in antimicrobial photodynamic therapy: an alternative approach for reducing cariogenic bacteria. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, 2019.
- [17] CABRAL, J.; AG, R. Blue light disinfection in hospital infection control: advantages, drawbacks, and pitfalls. **Antibiotics**, v. 8, n. 2, p. 58, 2019.
- [18] WIJESIRI, N. et al. Antifungal photodynamic inactivation against dermatophyte *Trichophyton rubrum* using nanoparticle-based hybrid photosensitizers. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 23, p. 202-208, 2018.
- [19] AMARO, F. et al. Self-sterilizing photoactivated catheters to prevent nosocomial infections. In: **17th International Photodynamic Association World Congress**. International Society for Optics and Photonics, 2019. p. 110708C.
- [20] CHEN, B. et al. Eradication of planktonic *Vibrio parahaemolyticus* and its sessile biofilm by curcumin-mediated photodynamic inactivation. **Food Control**, v. 113, p. 107181, 2020.
- [21] WIEHE, A.; O'BRIEN, J. M.; SENGE, M. O. Trends and targets in antiviral phototherapy. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2565-2612, 2019.
- [22] DIAS, L. D.; BLANCO, K. C.; BAGNATO, V. S. COVID-19: Beyond the virus. The use of Photodynamic Therapy for the Treatment of Infections in the Respiratory Tract. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, 2020.
- [23] DIAS, L. D.; BAGNATO, V. S. An update on clinical photodynamic therapy for fighting respiratory tract infections: a promising tool against COVID-19 and its co-infections. **Laser Physics Letters**, v. 17, n. 8, p. 083001, 2020.
- [24] ALMEIDA, A.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G.P.M.S. Antimicrobial Photodynamic Therapy in the Control of COVID-19. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 320, 2020.
- [25] BACELLAR, I. O. et al. Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 9, p. 20523-20559, 2015.

- [26] SAMPAIO, L. S. et al. Influence of light intensity and irradiation mode on methylene blue, chlorin-e6 and curcumin-mediated photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101925, 2020.
- [27] OLEINICK, N. L. et al. Topical delivery of a preformed photosensitizer for photodynamic therapy of cutaneous lesions. In: **Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy XXI**. International Society for Optics and Photonics, 2012. p. 821003.
- [28] YANG, Qiong-Qiong et al. Antimicrobial and anticancer applications and related mechanisms of curcumin-mediated photodynamic treatments. **Trends in Food Science & Technology**, 2020.
- [29] VÁZQUEZ-ORTEGA, F.; LAGUNES, I.; TRIGOS, Á. Cosmetic dyes as potential photosensitizers of singlet oxygen generation. **Dyes and Pigments**, v. 176, p. 108248, 2020.
- [30] BAPTISTA, M. S. et al. Type I and type II photosensitized oxidation reactions: Guidelines and mechanistic pathways. **Photochemistry and photobiology**, v. 93, n. 4, p. 912-919, 2017.
- [31] ULIANA, M. P. et al. Fotossensibilizadores. In: BAGNATO, V. S.; INADA, N. M.; BLANCO, K. C. **Controle microbiológico com ação fotodinâmica**. São Carlos: Compacta Gráfica e Editora, 2017. p. 45-63.
- [32] DIAS, L. D. et al. Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, p. 100384, 2020.
- [33] AILIOAIE, L. M.; LITSCHER, G. Curcumin and Photobiomodulation in Chronic Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7150, 2020.
- [34] SZLASA, W. et al. Effects of curcumin based PDT on the viability and the organization of actin in melanotic (A375) and amelanotic melanoma (C32)–in vitro studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 132, p. 110883, 2020.
- [35] LIN, Y. H.; CHEN, C. Folate-Targeted Curcumin-Encapsulated Micellar Nanosystem for Chemotherapy and Curcumin-Mediated Photodynamic Therapy. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 2280, 2020.
- [36] RASCHPICHLER, M. et al. Photodynamic inactivation of circulating tumor cells: An innovative approach against metastatic cancer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 157, p. 38-46, 2020.
- [37] AMBREEN, G. et al. Sensitivity of Papilloma Virus-Associated Cell Lines to Photodynamic Therapy with Curcumin-Loaded Liposomes. **Cancers**, v. 12, n. 11, p. 3278, 2020.

- [38] DE SANTANA, W. M. OS et al. Conjugation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles and curcumin photosensitizer to assist in photodynamic therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p. 111297, 2020.
- [39] SILVESTRE, A. L. P. et al. Current applications of drug delivery nanosystems associated with antimicrobial photodynamic therapy for oral infections. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 120078, 2020.
- [40] SONG, L. et al. Antifungal effect and possible mechanism of curcumin mediated photodynamic technology against *Penicillium expansum*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 167, p. 111234, 2020.
- [41] ZANGIROLAMI, A. C. et al. Avoiding ventilator-associated pneumonia: Curcumin-functionalized endotracheal tube and photodynamic action. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 37, p. 22967-22973, 2020.
- [42] DE SOUZA, L. M. et al. Photolarvicidal effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 151-158, 2019.
- [43] ESATBEYOGLU, T. et al. Curcumin—from molecule to biological function. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 22, p. 5308-5332, 2012.
- [44] PRIYADARSINI, K. I. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 20091-20112, 2014.
- [45] MONDAL, S.; GHOSH, S.; MOULIK, S. P. Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV–visible and steady-state fluorescence spectral study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 212-218, 2016.
- [46] PATEL, S. S. et al. Cellular and molecular mechanisms of curcumin in prevention and treatment of disease. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 6, p. 887-939, 2020.
- [47] LIU, L. et al. Curcumin loaded polymeric micelles inhibit breast tumor growth and spontaneous pulmonary metastasis. **International journal of pharmaceutics**, v. 443, n. 1-2, p. 175-182, 2013.
- [48] GAO, J.; MATTHEWS, K. R. Effects of the photosensitizer curcumin in inactivating foodborne pathogens on chicken skin. **Food Control**, v. 109, p. 106959, 2020.
- [49] GARGOUBI, S. et al. Enhancing the functionality of cotton fabric by physical and chemical pre-treatments: A comparative study. **Carbohydrate polymers**, v. 147, p. 28-36, 2016.
- [50] FALLAHI, F. et al. Curcumin and inflammatory bowel diseases: From in vitro studies to clinical trials. **Molecular Immunology**, v. 130, p. 20-30, 2021.

- [51] IMRAN, M. et al. Cucurmin, anticancer, & antitumor perspectives: A comprehensive review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 8, p. 1271-1293, 2018.
- [52] YIN, R. et al. Antimicrobial photodynamic inactivation in nanomedicine: small light strides against bad bugs. **Nanomedicine**, v. 10, n. 15, p. 2379-2404, 2015.
- [53] CALDERÓN-JIMÉNEZ, B. et al. Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. **Frontiers in chemistry**, v. 5, p. 6, 2017.
- [54] CHOUDHURY, H. et al. Silver nanoparticles: Advanced and promising technology in diabetic wound therapy. **Materials Science and Engineering: C**, p. 110925, 2020.
- [55] DE FREITAS, C. F. et al. Curcumin and silver nanoparticles carried out from polysaccharide-based hydrogels improved the photodynamic properties of curcumin through metal-enhanced singlet oxygen effect. **Materials Science and Engineering: C**, p. 110853, 2020.
- [56] HANSKE, Christoph; SANZ-ORTIZ, Marta N.; LIZ-MARZÁN, Luis M. Silica-Coated Plasmonic Metal Nanoparticles in Action. **Advanced Materials**, v. 30, n. 27, p. 1707003, 2018.
- [57] HAMAM, F.; AL-REMAWI, M. Novel delivery system of curcumin through transdermal route using sub-micronized particles composed of mesoporous silica and oleic acid. **journal of functional foods**, v. 8, p. 87-99, 2014.
- [58] WANG, Zhe et al. Ageing alters the physicochemical properties of silver nanoparticles and consequently compromises their acute toxicity in mammals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 196, p. 110487, 2020.
- [59] VANCE, M. E. et al. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1769-1780, 2015.
- [60] DZIEDZIC, A. et al. Structure and antibacterial properties of Ag and N doped titanium dioxide coatings containing Ti₂ 85O₄N phase, prepared by magnetron sputtering and annealing. **Surface and Coatings Technology**, p. 125844, 2020.
- [61] MAGADLA, A. et al. Physicochemical and antimicrobial photodynamic chemotherapy (against E. coli) by indium phthalocyanines in the presence of silver-iron bimetallic nanoparticles. **Polyhedron**, v. 162, p. 30-38, 2019.
- [62] ZHAN, F. et al. Facile in situ synthesis of silver nanoparticles on tannic acid/zein electrospun membranes and their antibacterial, catalytic and antioxidant activities. **Food Chemistry**, p. 127172, 2020.

- [63] WU, M. et al. Silver-nanoparticle-colored cotton fabrics with tunable colors and durable antibacterial and self-healing superhydrophobic properties. **Advanced Functional Materials**, v. 26, n. 4, p. 569-576, 2016.
- [64] ARROYO, G. V. et al. Green synthesis of silver nanoparticles for application in cosmetics. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, p. 1-17, 2020.
- [65] KARHAN, Ö. et al. Response surface methodology based desirability function approach to investigate optimal mixture ratio of silver nanoparticles synthesis process. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 28, p. 8180-8189, 2017.
- [66] HEMDAN, B. A.; AZAB EL-LIETHY, M.; EL-TAWHEEL, G. E. The destruction of Escherichia coli adhered to pipe surfaces in a model drinking water distribution system via various antibiofilm agents. **Water Environment Research**, 2020.
- [67] FRANCI, G. et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8856-8874, 2015.
- [68] KOVAČEVIĆ, V. M.; DAKOVIĆ, D. R.; BOKONJIĆ, Dubravko R. Adjunctive effect of the colloidal silver ions solution in the treatment of chronic periodontal disease: a preliminary clinical study. **Vojnosanitetski pregled**, v. 75, n. 12, p. 1216-1221, 2018.
- [69] SCHATKOSKI, V. M. et al. Current advances concerning the most cited metal ions doped bioceramics and silicate-based bioactive glasses for bone tissue engineering. **Ceramics International**, 2020.
- [70] SAIDIN, S. et al. Organic and inorganic antibacterial approaches in combating bacterial infection for biomedical application. **Materials Science and Engineering: C**, p. 111382, 2020.
- [71] BALNE, P. K. et al. Surface characteristics and antimicrobial properties of modified catheter surfaces by polypyrogallol and metal ions. **Materials Science and Engineering: C**, v. 90, p. 673-684, 2018.
- [72] HUBNER, P. et al. Gelatin-based films containing clinoptilolite-Ag for application as wound dressing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 107, p. 110215, 2020.
- [73] MARX, D. E.; BARILLO, D. J. Silver in medicine: the basic science. **Burns**, v. 40, p. S9-S18, 2014.
- [74] SHABANGU, S. M. et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy of asymmetric porphyrin-silver conjugates towards photoinactivation of Staphylococcus aureus. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 73, n. 4, p. 593-608, 2020.
- [75] CHOI, O.; HU, Z.. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. **Environmental science & technology**, v. 42, n. 12, p. 4583-4588, 2008.

- [76] SHABANINEZHAD, M.; RAMAKRISHNA, G. Theoretical Investigation of Plasmonic Properties of Quantum-Sized Silver Nanoparticles. **Plasmonics**, p. 1-13, 2019.
- [77] GÓMEZ, L. A. et al. Solvent effects on the linear and nonlinear optical response of silver nanoparticles. **Applied Physics B**, v. 92, n. 1, p. 61, 2008.
- [78] FALCÃO-FILHO, E. L.; DE ARAÚJO, C. B.; RODRIGUES JR, J. J. High-order nonlinearities of aqueous colloids containing silver nanoparticles. **JOSA B**, v. 24, n. 12, p. 2948-2956, 2007.
- [79] AL-SHARQI, A. et al. Enhancement of the antibacterial efficiency of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria using blue laser light. **International Journal of Photoenergy**, v. 2019, 2019.
- [80] XU, X. et al. Self-fluorescent and stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles using a double-role curcumin gatekeeper for drug delivery. **Chemical Engineering Journal**, v. 300, p. 185-192, 2016.
- [81] MATURI, F. E. et al. Luminescent mesoporous silica nanohybrid based on drug derivative terbium complex. **Materials**, v. 12, n. 6, p. 933, 2019.
- [82] SUBRAMANIAM, S. et al. Rifampicin-loaded mesoporous silica nanoparticles for the treatment of intracellular infections. **Antibiotics**, v. 8, n. 2, p. 39, 2019.
- [83] ZHOU, X. et al. Mesoporous silica nanoparticles/gelatin porous composite scaffolds with localized and sustained release of vancomycin for treatment of infected bone defects. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 5, p. 740-752, 2018.
- [84] DEACONU, M. et al. Norfloxacin delivery systems based on MCM-type silica carriers designed for the treatment of severe infections. **Materials Chemistry and Physics**, v. 238, p. 121886, 2019.
- [85] MARTÍNEZ-CARMONA, M. et al. Concanavalin A-targeted mesoporous silica nanoparticles for infection treatment. **Acta biomaterialia**, v. 96, p. 547-556, 2019.
- [86] LEE, E. C. et al. Structure–activity relationships of GAG mimetic-functionalized mesoporous silica nanoparticles and evaluation of acyclovir-loaded antiviral nanoparticles with dual mechanisms of action. **ACS omega**, v. 3, n. 2, p. 1689-1699, 2018.
- [87] JIANG, Y. et al. Targeting Delivery Nanocarriers for (+)-Terrein to Enhance Its Anticancer Effects. **ACS omega**, v. 5, n. 44, p. 28889-28896, 2020.
- [88] GUO, W. et al. Preparation and antimicrobial effect of a cinnamaldehyde-based sustained release fumigant tablet for grain storage. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 6, p. 14122-14130, 2020.
- [89] CARVALHO, G. C. et al. Highlights in Mesoporous Silica Nanoparticles as a Multifunctional Controlled Drug Delivery Nanoplatform for Infectious Diseases Treatment. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 10, p. 1-30, 2020.

- [90] BINDINI, E. et al. Following in Situ the Degradation of Mesoporous Silica in Biorelevant Conditions: At Last, a Good Comprehension of the Structure Influence. **ACS applied materials & interfaces**, v. 12, n. 12, p. 13598-13612, 2020.
- [91] LIU, Yun et al. Development of High-Drug-Loading Nanoparticles. **ChemPlusChem**, v. 85, n. 9, p. 2143-2157, 2020.
- [92] ABEER, M. M. et al. Silica nanoparticles: A promising platform for enhanced oral delivery of macromolecules. **Journal of Controlled Release**, 2020.
- [93] CROISSANT, J. G. et al. Synthetic amorphous silica nanoparticles: Toxicity, biomedical and environmental implications. **Nature Reviews Materials**, p. 1-24, 2020.
- [94] TIEU, T. et al. Advances in porous silicon-based nanomaterials for diagnostic and therapeutic applications. **Advanced Therapeutics**, v. 2, n. 1, p. 1800095, 2019.
- [95] PYRZYNSKA, K. Nanomaterials in speciation analysis of metals and metalloids. **Talanta**, v. 212, p. 120784, 2020.
- [96] GAO, M. et al. Interfacial Assembly of Mesoporous Silica-Based Optical Heterostructures for Sensing Applications. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 9, p. 1906950, 2020.
- [97] GESSNER, Isabel et al. Hollow silica capsules for amphiphilic transport and sustained delivery of antibiotic and anticancer drugs. **RSC advances**, v. 8, n. 44, p. 24883-24892, 2018.
- [98] XU, X. et al. Curcumin polymer coated, self-fluorescent and stimuli-responsive multifunctional mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 271, p. 234-242, 2018.
- [99] ABOUITAH, K.; LOJKOWSKI, W. Delivery of natural agents by means of mesoporous silica nanospheres as a promising anticancer strategy. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 143, 2021.
- [100] LEI, Q. et al. Sol-Gel-Based Advanced Porous Silica Materials for Biomedical Applications. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 41, p. 1909539, 2020.
- [101] INNOCENZI, P. Understanding sol-gel transition through a picture. A short tutorial. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 94, n. 3, p. 544-550, 2020.
- [102] FATHIMA, H. et al. Mesoporous Silica-Capped Silver Nanoparticles for Sieving and Surface-Enhanced Raman Scattering based Sensing. **ACS Applied Nano Materials**, 2020.

- [103] KIM, S. et al. Core–shell microcapsules of solid lipid nanoparticles and mesoporous silica for enhanced oral delivery of curcumin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 140, p. 161-168, 2016.
- [104] GAO, Y. et al. Development and evaluation of hollow mesoporous silica microspheres bearing on enhanced oral delivery of curcumin. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 45, n. 2, p. 273-281, 2019.
- [105] MIRZAHOSSEINIPOUR, M. et al. Antimicrobial photodynamic and wound healing activity of curcumin encapsulated in silica nanoparticles. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 29, p. 101639, 2020.
- [106] MOHEBIAN, Z. et al. Anticancer efficiency of curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles/nanofiber composites for potential postsurgical breast cancer treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102170, 2021.
- [107] LO, T. et al. Curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles with dual-imaging and temperature control inhibits the infection of Zika virus. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 314, p. 110886, 2021.
- [108] GHOSH, S. et al. Targeted delivery of curcumin in breast cancer cells via hyaluronic acid modified mesoporous silica nanoparticle to enhance anticancer efficiency. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 197, p. 111404, 2021.
- [109] KUANG, G. et al. Curcumin-loaded PEGylated mesoporous silica nanoparticles for effective photodynamic therapy. **RSC Advances**, v. 10, n. 41, p. 24624-24630, 2020.
- [110] JIANG, T. et al. Synthesis and improved SERS performance of silver nanoparticles-decorated surface mesoporous silica microspheres. **Applied Surface Science**, v. 378, p. 181-190, 2016.
- [111] YU, Z.; SANG, L.; CHEN, Y. A novel route to visualize the hot electron transfer process in Ag@ SiO₂-TiO₂ for solar-hydrogen conversion. **Applied Surface Science**, p. 146772, 2020.
- [112] LI, M. et al. Electrophoretic deposition of core-shell Ag@ MSN incorporated-chitosan coatings with biocompatible and antibacterial activities. **Materials Letters**, v. 239, p. 29-32, 2019.
- [113] SELVAN, D. S. A. et al. Evaluation of Antimicrobial and Antidiabetic Activities of Ag@ SiO₂ Core–Shell Nanoparticles Synthesized with Diverse Shell Thicknesses. **Journal of Cluster Science**, v. 31, n. 4, p. 739-749, 2020.
- [114] AHMAD, M. J.; YU, Yeon-Tae. Investigating the mechanism of uniform Ag@ SiO₂ core-shell nanostructures synthesis by a one-pot sol–gel method. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, p. 1-11, 2020.

- [115] ZHANG, Y. et al. Mesoporous Silica-Coated Silver Nanoframes as Drug-Delivery Vehicles for Chemo/Starvation/Metal ions Multimodality Therapy. **Langmuir**, 2020.
- [116] MOHAMED, N. Preparation and characterization of silver mesoporous silica nanoshells with promising antibacterial activity. **Journal of Porous Materials**, v. 27, p. 1277-1285, 2020.
- [117] YANG, Q. et al. Spherical Polyelectrolyte Brushes as Templates to Prepare Hollow Silica Spheres Encapsulating Metal Nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 799, 2020.
- [118] HUANG, F. et al. Silver-decorated polymeric micelles combined with curcumin for enhanced antibacterial activity. **ACS applied materials & interfaces**, v. 9, n. 20, p. 16880-16889, 2017.
- [119] PRAKASH, B. et al. Nano Silver decorated Chitosan based Polyelectrolyte Microcapsules induced generation of excited Oxygen in Curcumin. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 2, p. 4366-4371, 2017.
- [120] KUMMARA, M. R.; KUMAR, Anuj; SOO, Han Sung. Development of antibacterial paper coated with sodium hyaluronate stabilized curcumin-Ag nanohybrid and chitosan via polyelectrolyte complexation for medical applications. **Materials Research Express**, v. 4, n. 11, p. 115401, 2017.
- [121] SONG, Y. et al. Phytochemical curcumin-coformulated, silver-decorated melanin-like polydopamine/mesoporous silica composites with improved antibacterial and chemotherapeutic effects against drug-resistant cancer cells. **ACS omega**, v. 5, n. 25, p. 15083-15094, 2020.
- [122] KUTHATI, Y. et al. Phototherapeutic spectrum expansion through synergistic effect of mesoporous silica trio-nanohybrids against antibiotic-resistant gram-negative bacterium. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 169, p. 124-133, 2017.
- [123] FAUSTINI, M. et al. History of organic–inorganic hybrid materials: prehistory, art, science, and advanced applications. **Advanced Functional Materials**, v. 28, n. 27, p. 1704158, 2018.
- [124] BASTÚS, N. G. et al. Synthesis of highly monodisperse citrate-stabilized silver nanoparticles of up to 200 nm: kinetic control and catalytic properties. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 9, p. 2836-2846, 2014.
- [125] NANDIYANTO, A. B. D. et al. Synthesis of spherical mesoporous silica nanoparticles with nanometer-size controllable pores and outer diameters. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 120, n. 3, p. 447-453, 2009.
- [126] ZHAO, T. et al. Size-controlled preparation of silver nanoparticles by a modified polyol method. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 366, n. 1-3, p. 197-202, 2010.

- [127] UNG, T.; LIZ-MARZÁN, L. M.; MULVANEY, P. Controlled method for silica coating of silver colloids. Influence of coating on the rate of chemical reactions. **Langmuir**, v. 14, n. 14, p. 3740-3748, 1998.
- [128] ZHOU, X. et al. Quantitative super-resolution imaging uncovers reactivity patterns on single nanocatalysts. **Nature nanotechnology**, v. 7, n. 4, p. 237, 2012.
- [129] ZHENG, Y. et al. Seed-mediated synthesis of single-crystal gold Nanospheres with controlled diameters in the range 5–30 nm and their self-assembly upon dilution. **Chemistry–An Asian Journal**, v. 8, n. 4, p. 792-799, 2013.
- [130] JABŁOŃSKA, J. et al. Preparation of silver nanoparticles in a high voltage AC arc in water. **SN Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 1-10, 2021.
- [131] FERREIRA, C. S. et al. Uso de nanobastões de ouro para o desenvolvimento de aulas práticas de nanotecnologia. **Química Nova**, v. 40, n. 5, p. 594-601, 2017.
- [132] DARABPOUR, E. et al. Fast and effective photodynamic inactivation of 4-day-old biofilm of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using methylene blueconjugated gold nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 37, p. 134-140, 2017.
- [133] Q MESQUITA, M. et al. Revisiting current photoactive materials for antimicrobial photodynamic therapy. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2424, 2018.
- [134] MALISZEWSKA, I. et al. Biogenic Gold Nanoparticles Decrease Methylene Blue Photobleaching and Enhance Antimicrobial Photodynamic Therapy. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 623, 2021.
- [135] MONTEIRO, J. S. C. et al. Enhancement of photodynamic inactivation of planktonic cultures of *Staphylococcus aureus* by DMMB-AuNPs. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101930, 2020.
- [136] AIELLO, M. B. R. et al. Riboflavin-Mediated Photooxidation of Gold Nanoparticles and Its Effect on the Inactivation of Bacteria. **Langmuir**, v. 36, n. 28, p. 8272-8281, 2020.
- [137] MALISZEWSKA, I. et al. Synergistic effect of methylene blue and biogenic gold nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 27, p. 218-226, 2019.
- [138] JIJIE, R. et al. Particle-based photodynamic therapy based on indocyanine green modified plasmonic nanostructures for inactivation of a Crohn's disease-associated *Escherichia coli* strain. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 15, p. 2598-2605, 2016.
- [139] KHLEBTSOV, B. N. et al. Enhanced photoinactivation of *Staphylococcus aureus* with nanocomposites containing plasmonic particles and hematoporphyrin. **Journal of Biophotonics**, v. 6, n. 4, p. 338-351, 2013.

[140] FAN, H. et al. Enhanced type I photoreaction of indocyanine green via electrostatic-force-driven aggregation. **Nanoscale**, v. 12, n. 17, p. 9517-9523, 2020.

[141] TURCHENIUK, K. et al. Highly effective photodynamic inactivation of E. coli using gold nanorods/SiO₂ core-shell nanostructures with embedded verteporfin. **Chemical Communications**, v. 51, n. 91, p. 16365-16368, 2015.

[142] YE, Q. et al. Mesoporous silica-coated gold nanorods loaded with tetrazolyl phthalocyanine as NIR light-activated nano-switches for synergistic photothermal and photodynamic inactivation of antibiotic-resistant Escherichia coli. **Materials Advances**, v. 2, n. 5, p. 1695-1705, 2021.

[143] MTHETHWA, T.; NYOKONG, T. Photoinactivation of Candida albicans and Escherichia coli using aluminium phthalocyanine on gold nanoparticles. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, n. 7, p. 1346-1356, 2015.