

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA HELOÍSA MANO – IMA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**POLÍMEROS**

**MICHELLE RODRIGUES DE LIMA ZANETTI**

**BIOCOMPATIBILIZAÇÃO DE NANOBASTÕES DE OURO COM USO DE**  
**COPOLÍMERO EM BLOCO**

**RIO DE JANEIRO**

**2018**

**MICHELLE RODRIGUES DE LIMA ZANETTI**

**BIOCOMPATIBILIZAÇÃO DE NANOBASTÕES DE OURO COM USO DE  
COPOLÍMERO EM BLOCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Paulo Henrique de Souza Picciani

Coorientadoras: Prof<sup>a</sup> Ana Maria Percebom

Prof<sup>a</sup> Adriana Passos Oliveira

RIO DE JANEIRO

2018

### CIP - Catalogação na Publicação

228b      Zanetti, Michelle Rodrigues de Lima  
            BIOCOMPATIBILIZAÇÃO DE NANOBASTÕES DE OURO COM  
            USO DE COPOLÍMERO EM BLOCO / Michelle Rodrigues de  
            Lima Zanetti. -- Rio de Janeiro, 2018.  
            84 f.

            Orientador: Paulo Henrique de Souza Picciani.  
            Coorientadora: Ana Maria Percebom.  
            Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
            Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas  
            Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em  
            Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2018.

            1. Nanobastões de Ouro. 2. Pluronic F127. 3.  
            Brometo de Cetiltrimetilamônio. 4. Nanotecnologia.  
            5. Citotoxicidade. I. Picciani, Paulo Henrique de  
            Souza, orient. II. Percebom, Ana Maria, coorient.  
            III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MICHELLE RODRIGUES DE LIMA ZANETTI

**BIOCOMPATIBILIZAÇÃO DE NANOBASTÕES DE OURO COM USO DE  
COPOLÍMERO EM BLOCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Aprovador em: 13 de julho de 2018.

**Banca examinadora**



---

Orientador Prof<sup>o</sup> Dr. Paulo Henrique de Souza Picciani  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



---

Coorientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Ana Maria Percebom  
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro



---

Coorientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Adriana Passos Oliveira  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



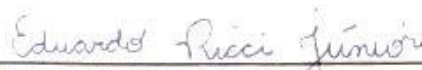
---

Caio Márcio Paranhos da Silva  
Universidade Federal de São Carlos



---

Claudia Regina Elias Mansur  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



---

Eduardo Ricci Junior  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

*Aos meus pais, pelo apoio e confiança,  
Ao meu esposo Rodrigo, por seu carinho e compreensão,  
Aos meus orientadores e todos os professores, pela dedicação.*

## RESUMO

Nanobastões de ouro (AuNBs) são geralmente sintetizados usando o surfactante de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), por funcionar como agente direcionador de estrutura para o crescimento dos cristais de ouro. No entanto, o CTAB forma uma bicamada catiônica fortemente ligada à superfície de AuNBs com o grupo catiônico de trimetilamônio exposto ao meio aquoso. Embora isso aumente a estabilidade dos AuNBs em meio aquoso, torna este complexo altamente citotóxico em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Neste trabalho, foram investigadas a citotoxicidade, a estabilidade coloidal e as propriedades ópticas de AuNBs antes e depois de serem funcionalizados com moléculas de copolímero em bloco de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno), de nome comercial PF127® (PF127) com uma terminação de grupo tiol. Para isso, foi realizada a funcionalização química do PF127 com ácido mercaptopropiônico, formando o PF127-SH, que foi então utilizado como estabilizador para os AuNBs, por meio da substituição de moléculas de CTAB. O PF127 não modificado foi também testado para revestir os AuNBs e utilizado como controle. A morfologia e estabilidade dos AuNBs funcionalizados foram caracterizadas por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta, microscopia eletrônica de transmissão, potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz. Os resultados obtidos indicaram que o revestimento de AuNBs com moléculas de PF127-SH garantiram a estabilidade e a biocompatibilidade da nanoformulação por algumas semanas. Além disso, foi mostrado que os AuNBs revestidos com PF127-SH melhoram consideravelmente a viabilidade celular quando comparados com os AuNBs revestidos com PF127 apenas, mesmo após 72 horas de tratamento. Estes resultados oferecem uma solução relevante para o desenvolvimento futuro de nanoplataformas multifuncionais para aplicações clínicas, como administração de drogas, hipertermia, terapia fotodinâmica e diagnóstico por imagem de células e tecidos.

Palavras-chave: CTAB. Citotoxicidade. Nanobastões de ouro. Nanotecnologia. PF127.

## ABSTRACT

Gold nanorods (AuNRs) are usually synthesized using cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) surfactant, which function as structure-directing agent for the growth of the gold crystals. However, CTAB forms a tightly bound cationic bilayer on AuNRs surface with the cationic trimethylammonium group exposed to the aqueous media. Although it enhances the stability of AuNRs in aqueous medium, it makes this complex highly toxic *in vitro* and *in vivo* experiments. In this work, we investigated the cytotoxicity, colloidal stability and optical properties of AuNRs before and after being functionalized with PF127 (PF127) molecules terminated with a thiol group. For that, the chemical functionalization of PF127 was performed with mercaptopropionic acid, forming PF127-SH, which was further used as stabilizer for AuNRs by replacing CTAB molecules. Unmodified PF127 was also tested to coat AuNRs and, used as a control. The morphology and stability of functionalized AuNRs were characterized by visible absorption spectroscopy, transmission electron microscopy, zeta potential and dynamic light scattering. The obtained results indicate that coating AuNRs with PF127-SH molecules guarantees the stability and biocompatibility of the nanoformulation for some weeks. Furthermore, PF127-SH coated AuNRs were shown to greatly improve cell viability when compared to PF127 coated AuNRs, even after 72 h treatment. These results offer a relevant solution for the future development of multifunctional nanoplateforms in clinical applications such as drug delivery, hyperthermia, photodynamic therapy and diagnostic imaging of cells and tissues.

Keywords: CTAB. Cytotoxicity. Gold nanorods. Nanotechnology. PF127.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Informações que os espectros na região do visível e TEM fornecem sobre os AuNBs.	20
Figura 2 - Preparação das NPs de AuNBs / SiO <sub>2</sub> / PUA.	34
Figura 3 - AuNBs com ligantes de folato para tratamento direcionado de osteossarcoma por terapia combinada (hipertermia e quimioterapia) e imagiologia por TPL	35
Figura 4 - Estrutura química do PF127	36
Figura 5 - Funcionalização do P127 a) Sistema reacional, b) Rotaevaporação, c) precipitação do polímero	40
Figura 6 - Placas de 24h de tratamento com as respectivas amostras após a solubilização do formazam com DMSO	43
Figura 7 - Reação de esterificação entre PF127, copolímero tribloco composto por PEO-PPO-PEO e MPA, dando origem ao PF127-SH	46
Figura 8 - Espectro <sup>1</sup> HNMR do PF127-SH	47
Figura 9 - Espectro FT-IR do PF127 e PF127-SH, mostrando a banda de transmitância do PF127-SH, que está relacionado com o ester formado no PF127-SH, depois da funcionalização com MPA	48
Figura 10 - Espectro de absorção no VIS dos AuNBs-CTAB imediatamente pós a síntese e após 1, 2 e 3 lavagens	50
Figura 11 - a) CTAB como agente indutor de estrutura durante a formação dos AuNRs. b) O bloco PPO do PF127 se liga com a cauda hidrofóbica do CTAB por interações hidrofóbicas, encapsulando os AuNRs	51
Figura 12 - a) AuNBs recobertos por CTAB obtido por crescimento mediado por sementes, b) AuNBs recobertos por PF127, onde os blocos de PEO terminados com tiol de PF127 ligam-se a ouro, encapsulando AuNBs, favorecendo a saída do CTAB.	52
Figura 13 - Micrografias obtidas por TEM. a) AuNRs-CTAB, b) AuNRs-PF127 e c) AuNRs-PF127-SH	53
Figura 14 - Espectro de varredura na região do VIS dos AuNBs-CTAB, AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH nas diferentes concentrações (0,8; 1,6; 2,4Mm) das misturas reacionais	54



Figura 15 - usensões de a) AuNBs-CTAB; b) AuNBs-PF127; c) AuNBs-PF127-SH	55
Figura 16 - Espectro na região do Vis ao longo do tempo para monitoramento da estabilidade coloidal dos AuNBs-PF127-SH	55
Figura 17 - Distribuição de tamanho por intensidade obtida pelo “Distribution Fit” no DLS	57
Figura 18 - Carga da superfície (expressa como potencial zeta) dos AuNBs-CTAB, AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH	58
Figura 19 - Testes de citotoxicidade e viabilidade celular	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diâmetro hidrodinâmico aparente ( $D_h$ ,  $\mu\text{m}$ ) das duas populações de diferentes amostras de AuNBs.

58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AICIPc - Ftalocianina de cloro alumínio

AgNO<sub>3</sub> – Nitrato de prata

AuNBs – Nanobastões de ouro

AuNPs - Nanopartículas de ouro

AuNBs – CTAB – AuNBs revestidas com CTAB

AuNBs-PF127 – AuNBs revestidas com PF127

AuNBs-PF127-SH – AuNBs revestidas com PF127-SH

CTAB - Brometo de hexadeciltrimetilamônio

DLS - Espalhamento de luz dinâmico

DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO - Dimetilsulfóxido

DO - Densidade óptica

DOX – Doxorrubicina

DTX – Docetaxel

FBS - Soro Fetal Bovino

FT-IR - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Visível – VIS

HAuCl<sub>4</sub> - Tetracloreto de ouro trihidratado

HBSS - Solução Salina Balanceada de Hanks

LPR - Ressonância plasmônica de superfície longitudinal

NaBH<sub>4</sub> - Boro hidreto de sódio

NIR – Infravermelho próximo

NPs – Nanopartículas

NSCLC - Câncer de pulmão de células grande

OCT - Tomografia de coerência óptica

PAT - Tomografia fotoacústica

PCR – Proteína C reativa

PF127 - PF127

PF127-SH - PF127 tiolado

RA – Razão de aspecto

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RX CT - Tomografia computadorizada de raios X

TPR - Ressonância plasmônica de superfície transversal

TEM - Microscopia eletrônica de transmissão

TPL - Luminescência de dois fótons

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>14</b>
2.1	NANOPARTÍCULAS	15
2.2	NANOPARTÍCULAS DE OURO	17
2.3	NANOBASTÕES DE OURO	18
<b>2.3.1</b>	<b>Síntese dos nanobastões de ouro</b>	<b>19</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Toxicidade</b>	<b>21</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Conjugação com biomoléculas e polímeros</b>	<b>23</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Aplicações biomédicas</b>	<b>25</b>
2.3.4.1	Diagnóstico	25
2.3.4.2	Tratamento de câncer	28
2.3.4.2.1	<i>Hipertermia</i>	28
2.3.4.2.2	<i>Terapia fotodinâmica - TDF</i>	30
2.3.4.2.3	<i>Transporte de fármacos e genes</i>	32
2.4	PF127	36
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA</b>	<b>39</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
3.3	JUSTIFICATIVA	39
<b>4</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>40</b>
4.1	FUNCIONALIZAÇÃO DO PF127®	40
4.2	SÍNTESE DOS NANOBASTÕES DE OURO	41
<b>4.2.1</b>	<b>Preparo das nanopartículas sementes</b>	<b>41</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Crescimento dos nanobastões de ouro</b>	<b>41</b>
4.3	RECOBRIMENTO DOS NANOBASTÕES DE OURO COM PF127® E PF127-SH	42
4.4	CULTURA DE CÉLULAS E CITOTOXICIDADE	42
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	44
<b>4.5.1</b>	<b>Ressonância magnética nuclear</b>	<b>44</b>

<b>4.5.2</b>	<b>Espectroscopia de infravermelhos com transformadas de Fourier</b>	<b>45</b>
<b>4.5.3</b>	<b>Espectroscopia de absorção molecular no Visível</b>	<b>45</b>
<b>4.5.4</b>	<b>Espalhamento de luz dinâmico</b>	<b>45</b>
<b>4.5.5</b>	<b>Potencial zeta</b>	<b>45</b>
<b>4.5.6</b>	<b>Microscopia eletrônica de transmissão</b>	<b>45</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>46</b>
<b>5.1</b>	<b>FUNCIONALIZAÇÃO DO PLURONIC® F127</b>	<b>46</b>
5.1	FUNCIONALIZAÇÃO DO PLURONIC® F127	46
5.2	PREPARO DOS NANOBASTÕES DE OURO	48
5.3	RECOBRIMENTO DOS NANOBASTÕES DE OURO REVESTIDOS COM O PF127 E CARACTERIZAÇÃO	50
5.4	VIABILIDADE CELULAR E CITOTOXICIDADE	59
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>63</b>
	<b>APÊNDICA A - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os nanobastões de ouro (AuNBs) tem mostrado grande potencial para a ciência e tecnologia, especialmente na área da biomedicina (DICKERSON *et al.*, 2008a; JIAN *et al.*, 2003; VONNEMANN *et al.*, 2014; ZIJLSTRA; CHON; GU, 2009) devido a suas propriedades plasmônicas únicas, originadas do formato de bastão destas nanoestruturas (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009). A interação da luz com nanopartículas de ouro (AuNPs) atrai muito interesse no campo da medicina, principalmente para tratamento de câncer, e tem sido proposto como uma promissora ferramenta para aplicações biomédicas, como por exemplo, diagnóstico por imagem (LIPPOK *et al.*, 2017), tratamento por hipertermia (BARONZIO; HAGER, 2006), terapia gênica (ZHANG *et al.*, 2016), terapia fotodinâmica (ZHANG *et al.*, 2013) e também no transporte e liberação de fármacos (MUDDINETI; GHOSH; BISWAS, 2015). Os AuNBs podem ser sintetizados com diferentes razões de aspecto (RA) fornecendo a capacidade de absorver a luz preferencialmente na região do infra vermelho próximo (NIR). Esta região é considerada uma das melhores regiões do espectro eletromagnético para as aplicações de terapias e diagnóstico (MUDDINETI; GHOSH; BISWAS, 2015). A radiação no NIR combinada à presença dos AuNBs tem um potencial exclusivo para aplicação *in vivo*, pois combina a capacidade de levar a efeitos mínimos de dano em tecidos saudáveis e de penetração tecidual mais profunda (HELMCHEN; DENK, 2005; WEISSLEDER, 2001).

Os AuNBs são considerados interessantes principalmente por suas propriedades ópticas, fortemente dependentes tanto de seu tamanho quanto do formato das partículas (ALKILANY *et al.*, 2012). Devido à ressonância plasmônica de superfície do ouro e à sua forte interação com a luz visível em nanoescala, os espectros de AuNBs são caracterizados por apresentarem duas bandas de ressonância específicas (EUSTIS; EL-SAYED, 2006). A primeira banda de menor energia, chamada de ressonância plasmônica longitudinal (LPR), surge do plásmon excitado ao longo do eixo do bastão. A LPR produz uma banda intensa e pode ser ajustada nas regiões do visível e do NIR (650 - 950 nm), de acordo com suas respectivas razões de aspecto (ALKILANY *et al.*, 2012; EUSTIS; EL-SAYED, 2006). Uma segunda banda de ressonância, correspondente à ressonância plasmônica transversal (TPR), ocorre devido ao plásmon excitado ao longo do eixo mais curto do AuNBs e é encontrada em torno de 520 nm (EUSTIS; EL-SAYED, 2006).

Diversas abordagens, incluindo o método de crescimento mediado por sementes (NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003), síntese eletroquímica (PÉREZ-JUSTE *et al.*, 2004), síntese usando modelos de alumínio poroso (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009), métodos fotoquímicos (FRANKLIN KIM; JAE HEE SONG; YANG, 2002) e métodos de fabricação por litografia (PÉREZ-JUSTE *et al.*, 2005) têm sido utilizados para sintetizar os AuNBs. No entanto, a síntese mediada por sementes tem sido a mais utilizada para a preparação de AuNBs, representando um método de fabricação simples que permite o controle de várias razões de aspecto, juntamente com um rendimento relativamente alto (MURPHY *et al.*, 2011). Este método de síntese fornece aos AuNBs um revestimento com uma camada dupla de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), um surfactante catiônico que carrega positivamente a superfície de AuNBs, impedindo que as partículas se agreguem em meios aquosos, graças à repulsão eletrostática entre os bastões individuais. O componente ouro dos AuNBs é geralmente considerado não-tóxico, no entanto, os AuNBs revestidos com CTAB apresentam citotoxicidade consideravelmente alta na maioria das células e instabilidade no soro, o que não é adequado para aplicação clínica direta nos seres vivos (ALKILANY *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2013b). Um requisito crucial para a aplicação clínica dos AuNBs é que sua biocompatibilidade seja assegurada, e portanto é necessário realizar a remoção, a substituição ou a modificação do revestimento CTAB.

Recentemente foram propostas diversas abordagens na tentativa de reduzir a citotoxicidade associada ao CTAB. Uma das estratégias consiste no revestimento dos AuNBs, recobertos previamente com CTAB, por camadas de polímeros, tais como o poli(cloreto de dialildimetilamônio) (PDADMAC) (QIU *et al.*, 2010), poli(ácido 4-estirenosulfônico) (PSS) (RAYAVARAPU *et al.*, 2010), poli(ácido acrílico) (PAA) (ALKILANY *et al.*, 2009), copolímero em bloco de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno) (PF127), (GOH *et al.*, 2012) ou poli(alilamina hidroclorada) (ALKILANY *et al.*, 2009), que impedem a interação direta entre as células e o CTAB. Isso está então associado a uma redução da morte celular quando aplicado a linhagens celulares específicas. Outra abordagem é a troca de CTAB por polímeros funcionalizados com grupos tiol, como por exemplo, o poli(etileno glicol) terminado com grupo tiol (PEG-SH) (BURROWS *et al.*, 2016b; VON MALTZAHN *et al.*, 2009). Esta estratégia é uma das formas mais comuns de substituir as moléculas do revestimento original, uma vez que a ligação ouro-enxofre é conhecida por ser a



mais forte ligação dentre outros grupos funcionais, o que facilita a substituição de CTAB nos AuNBs (QIN *et al.*, 2016).

Neste trabalho, a estratégia de troca do CTAB por polímeros funcionalizados com tiol foi utilizada para reduzir a citotoxicidade de AuNBs revestidos com CTAB, com o objetivo de melhorar a biocompatibilidade dos AuNBs. O PF127 (PF127, nome genérico: poloxamer 407, nome químico: Poli(etileno glicol)-b-poli(propileno glicol)-b-poli(etileno glicol) (EO<sub>100</sub>-PO<sub>65</sub>-EO<sub>100</sub>)) é um copolímero tribloco anfifílico que tem sido amplamente utilizado para aplicações biomédicas. Apresenta alta biossegurança, comportamento termoreversível, tem seu uso em sistemas biológicos aprovado pelo FDA (DINIZ *et al.*, 2015) e é considerado de grande utilidade no transporte de substâncias hidrofóbicas (GUO *et al.*, 2016). Neste trabalho, os grupos terminais das moléculas de PF127 foram primeiramente funcionalizados com grupos tiol, através de uma reação de esterificação com ácido mercaptopropiônico, formando o PF127-SH. Posteriormente, este polímero foi utilizado como estabilizador para os AuNBs, substituindo as moléculas de CTAB. Os AuNBs revestidos com PF127-SH então foram caracterizados por microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia de absorção no UV-Vis, espalhamento de luz dinâmico e potencial zeta e testados *in vitro* em uma linhagem de células humanas de câncer de pulmão, visando demonstrar a redução de citotoxicidade destas partículas para células humanas, quando comparadas com AuNBs revestidos com CTAB ou PF127 sem modificação. Os resultados mostraram que o PF127-SH propicia sua ligação covalente, aos AuNBs, Au-S, garantindo uma substituição eficiente do CTAB.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 NANOPARTÍCULAS**

Nanopartículas (NPs), por definição, são aquelas partículas com tamanhos na faixa de 1-100nm. Seu tamanho diminuto faz com que estejam fisicamente próximas ao regime de mecânica quântica e biologicamente próximo ao tamanho dos componentes celulares (OBER; GUPTA, 2011). As NPs têm características únicas, como por exemplo, o efeito do tamanho nas propriedades quânticas dos sistemas físicos (por exemplo, propriedades ópticas e magnéticas), propriedades dependentes do tamanho, grande relação superfície/volume, biocompatibilidade e uma possibilidade de funcionalização da superfície com biomoléculas direcionadas, como anticorpos específicos para determinados tipos de tecidos. Diante disto, as

NPs têm sido amplamente investigadas em diversos tipos de aplicações nas áreas biológicas e biomédicas, sendo frequentemente utilizadas na obtenção de imagens para diagnóstico de doenças (ERATHODIYIL; YING, 2011), na liberação de fármacos (AJNAI *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2013), em diagnósticos e terapias localizadas contra o câncer mediadas por nanomateriais, como a hipertermia e a terapia fotodinâmica (NAM *et al.*, 2009; VON MALTZAHN *et al.*, 2009; XIA *et al.*, 2011; YEN; PADMANABHAN; SELVAN, 2013).

O tamanho reduzido das NPs oferece uma série de vantagens em processos de liberação de fármacos. Ao diminuir o tamanho das partículas até a nanoescala, aumenta-se significativamente a área superficial para uma mesma quantidade de material. Além de uma maior área superficial, a quantidade de moléculas na superfície também aumenta. Como exemplo, o aumento na área superficial causado pelas NPs pode aumentar significativamente a dissolução de fármacos pouco solúveis em água (OBER; GUPTA, 2011). Mais ainda, modificações superficiais podem ser realizadas nas NPs de modo a direcionar o comportamento farmacológico de uma droga veiculada. Além disso, os ligantes das superfícies dos veículos de administração de fármacos podem ser controlados e até mesmo possuir seletividade para locais mais específicos de ação a fim de atingir a penetração desejada no tecido e a captação celular mais adequada (FAROKHZAD; LANGER, 2009).

As NPs podem também ser utilizadas no desenvolvimento de sistemas de liberação melhorados, podendo proporcionar a localização espaço temporal do tratamento. Estas NPs podem ser ativadas por via exógenas (infravermelho próximo (NIR), radiofrequência ou radiação eletromagnética) (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2015; GE *et al.*, 2012) ou por vias endógenas (pH, enzimas, temperatura, luz, redox) (NAM *et al.*, 2009) no local alvo, resultando em plataformas melhoradas para terapias contra neoplasias.

As NPs podem ser divididas em orgânicas e inorgânicas, podendo também ser associadas (orgânicas e inorgânicas), dependendo de sua utilização. Partículas em nanoescala geradas a partir de moléculas orgânicas têm sido amplamente investigadas para liberação controlada de medicamentos de medicamentos e terapias locais (terapia fotodinâmica e hipertermia) contra o câncer (HUANG *et al.*, 2011). As NPs orgânicas são blocos de construção atraentes para veículos multifuncionais devido à sua versátil superfície e química do núcleo, alto grau de

biodegradabilidade e por poder realizar endocitose efetivada pela célula alvo (JIA *et al.*, 2013). Os nanomateriais orgânicos mais utilizados incluem polímeros (JAIMES-AGUIRRE *et al.*, 2017; SUSA *et al.*, 2009; VAN VLERKEN *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2006), NPs contendo polímeros associados a lipossomas (NGUYEN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2010) e lipossomas (AGRAWAL; PAUL; MUKHOPADHYAY, 2005; SONG *et al.*, 2015; WONG; CHIU, 2010).

Por outro lado, as NPs inorgânicas exibem propriedades físicas e químicas únicas dependentes do tamanho, forma e composição, como as propriedades ópticas e magnéticas, que não existem em NPs orgânicas, como as formadas por lipídeos ou polímeros. As NPs metálicas (p.ex. ouro e prata) e de óxidos metálicos são os principais representantes deste grupo. Estas NPs têm razões de superfície por volume elevadas, e seu comportamento em sistemas biológicos é fortemente afetado pela sua funcionalização de superfície. As modificações das superfícies de NPs metálicas também permitem carregamento facilitado de materiais orgânicos, biomoléculas e polímeros (MATTOUSSI; ROTELLO, 2013). As propriedades ópticas e magnéticas, além da estabilidade e facilidade de funcionalização, tornam as NPs inorgânicas alternativas atraentes às NPs orgânicas para a destruição de tecidos malignos. Em conjunto, a diversidade de estruturas e propriedades disponíveis das NPs inorgânicas fornecem opções favoráveis ao seu uso como agente terapêutico, principalmente no tratamento de neoplasias, liberação controlada de fármacos e genes, bem como em terapias locais, como a hipertermia e terapia fotodinâmica (HUANG *et al.*, 2011; MATTOUSSI; ROTELLO, 2013).

## 2.2 NANOPARTÍCULAS DE OURO

O primeiro trabalho científico sobre AuNPs foi relato por Faraday, que atribuiu a cor vermelha destas NPs à sua natureza coloidal (FARADAY, 1857). Já em 1908, Mie racionalizou a absorção visível das AuNPs usando as equações eletromagnéticas de Maxwell (MIE, 1908). As AuNPs de ouro estão disponíveis em tamanhos de 1 a mais de 120 nm e sua absorção no visível pode ser encontrada acima de 3 nm por infravermelho (BOISSELIER; ASTRUC, 2009), tendo aplicações consideráveis em óptica, catálise, ciência de materiais e nanotecnologia, além de biologia e nanomedicina.

Tendo em vista que as propriedades óptico-eletrônicas e físico-químicas das AuNPs dependem não apenas do seu tamanho, mas também da sua forma, controlar a morfologia das NPs de ouro torna-se muito importante (XIA; HALAS, 2005). Além do formato esférico, também podem ser sintetizadas nanopartículas (NPs) com formatos variados a partir de diferentes técnicas, como os AuNBs (GOLE; MURPHY, 2004), que serão detalhadamente descritos neste trabalho, nanogaiolas de ouro (SKRABALAK *et al.*, 2008), nanoesferas ocas de ouro (MELANCON *et al.*, 2008) e nanoconchas de ouro (MA *et al.*, 2013).

As AuNPs são primariamente interessantes do ponto de vista das suas propriedades ópticas. As propriedades ópticas das AuNPs estão fortemente relacionadas com a interação entre os elétrons de condução metálica e a componente de campo elétrico da radiação eletromagnética incidente, que, no caso de alguns metais, como ouro e prata, leva a bandas de absorção fortes e características na parte visível do espectro e, por sua vez, a cores vivas não usuais, não observadas no material a granel (PÉREZ-JUSTE *et al.*, 2005). Por exemplo, ouro a granel parece amarelado na luz refletida, mas os filmes de ouro finos parecem azulados. Esta característica cor azul muda para laranja, e para vários tons de roxo e vermelho, quando o tamanho das partículas é reduzido para alguns nanômetros. Estes efeitos são o resultado do fenômeno de ressonância de plásmons de superfície localizada (LSPRs), onde a frequência dos elétrons de condução oscilam em resposta ao campo elétrico alternado da radiação eletromagnética incidente. No entanto, apenas metais com elétrons livres (essencialmente Au, Ag, Cu e metais alcalinos) possuem ressonâncias plasmônicas no espectro visível, que dão origem a cores tão intensas. NPs alongadas (elipsoides e nanobastões) apresentam duas bandas distintas de plasmons relacionadas a oscilações eletrônicas transversais e longitudinais. A oscilação longitudinal é muito sensível à relação de aspecto das partículas, de modo que pequenos desvios da geometria esférica podem levar a mudanças de cor impressionantes (LIZ-MARZÁN, 2004).

### 2.3 NANOBASTÕES DE OURO

Os AuNBs apresentam propriedades ópticas exclusivas, sendo adequados para uma variedade de estudos científicos e aplicações tecnológicas. Suas aplicações incluem imagens (HUANG *et al.*, 2011), sensores biomoleculares

(MAYER *et al.*, 2008), terapias térmicas (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2015) e entrega de moléculas em sistemas biológicos (MIN *et al.*, 2010), tais como fármacos e genes. O interesse para área biomédica advém de suas vantagens, como a síntese eficiente em larga escala, coeficientes de absorção óptica elevados na região NIR e precisamente ajustável faixa de absorção de luz, ajustando sua razão de aspecto (ALKILANY *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2013a; HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009; LIU *et al.*, 2014). Algumas das aplicações não biológicas dos AuNBs incluem catálise (LI *et al.*, 2015) e sensores (HAN; LIU; YIN, 2014), bem como componentes em dispositivos, como LEDs (WU *et al.*, 2015).

As propriedades ópticas dos AuNBs são governadas pelo fenômeno LSPRs, que consiste em oscilações coerentes de elétrons de banda de condução nas NPs em ressonância com radiação eletromagnética. Para NPs de metais nobres, como ouro e prata, este fenômeno ocorre na região visível do espectro levando as suspensões a exibirem cores variadas e marcantes (S. LINK; M. B. MOHAMED; EL-SAYED, 1999). Além das propriedades do material das NPs, o LSPR também é dependente da constante dielétrica efetiva do meio em torno das NPs, do tamanho e do formato das NPs. A característica anisotrópica dos AuNBs permite que o efeito ocorra no eixos transversais e longitudinais do nanobastão, conforme ilustrado na Figura 1. A ressonância de plásmons longitudinal (LPR) é particularmente sensível à razão de aspecto do nanobastão e pode ser ajustada na faixa do visível até o infravermelho próximo (S. LINK; M. B. MOHAMED; EL-SAYED, 1999). Uma consequência importante da LSPR é que os campos eletromagnéticos próximos à superfície das NPs são bastante intensificados em relação à radiação incidente. Este efeito tem sido usado para intensificar os processos ópticos moleculares, como fluorescência (ABADEER *et al.*, 2014), espalhamento Raman (SIVAPALAN *et al.*, 2013), e absorção não-linear (SIVAPALAN *et al.*, 2012).

A evidência de partículas em forma de bastão é geralmente obtida por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), mas, especificamente para o ouro, os espectros na região do visível já fornecem informações importantes sobre o formato das nanopartículas (Fig. 1). Nanoesferas de ouro, com valores de diâmetros entre 5 e 50 nm, apresentam uma banda de ressonância de plásmon em torno de 520 nm. Já os AuNBs, apresentam duas bandas de ressonância, sendo uma referente ao efeito ocorrendo ao longo do comprimento do bastão (LPR) e outra referente ao efeito de ressonância de plásmons transversal (TPR) que ocorre no eixo menor

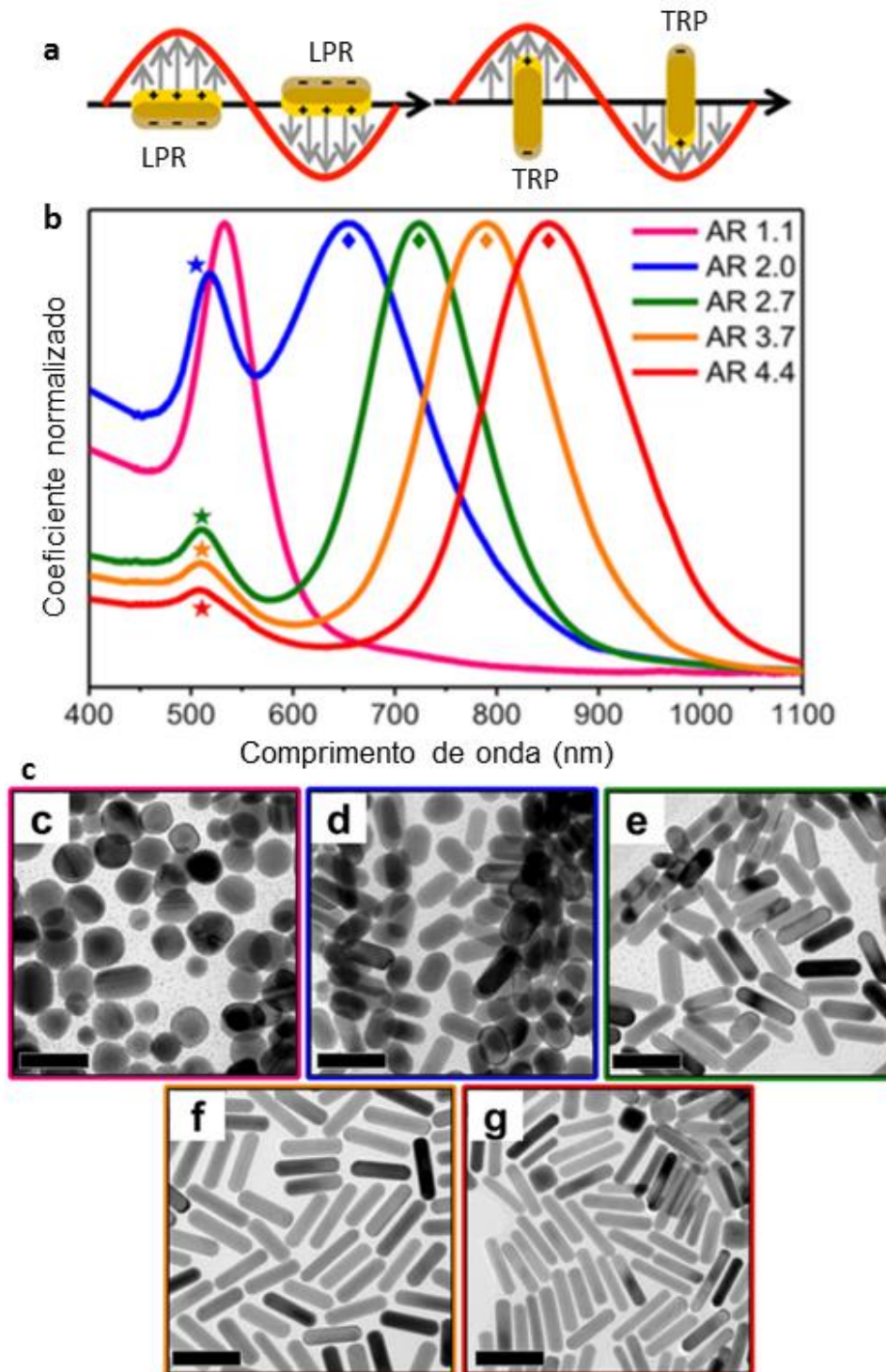
(NIKHIL R. JANA; LATHA GEARHEART; MURPHY, 2001). À medida que a razão de aspecto aumenta, a posição da banda LPR é deslocada para a região do vermelho enquanto a posição da banda TPR permanece relativamente constante em torno de 520 nm (JANA; GEARHEART; MURPHY, 2001; MURPHY *et al.*, 2005).

### 2.3.1 Síntese dos nanobastões de ouro

Uma série de técnicas vem sendo proposta para a síntese de AuNBs com diferentes razões de aspecto. Em geral, os três métodos mais utilizados no preparo de AuNBs são: eletroquímico (DICKERSON *et al.*, 2008a), por fotorredução com irradiação ultravioleta (ESUMI; MATSUHISA; TORIGOE, 1995) e os métodos de crescimento mediado por sementes (GOLE; MURPHY, 2004; NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003; YE *et al.*, 2016). Nesse sentido, o crescimento mediado por sementes emergiu como a abordagem mais popular para a síntese de AuNBs e tem sido amplamente utilizado por muitos grupos de pesquisa devido à simplicidade do procedimento, à facilidade de ajustar a razão de aspecto das partículas, à alta monodispersão do produto e à flexibilidade para modificações superficiais subsequentes (JANA; GEARHEART; MURPHY, 2001). O método escolhido para síntese de AuNBs adotado neste trabalho foi o crescimento mediado por sementes e será abordado com detalhes a seguir.

Murphy e colaboradores (2011) definem um nanobastão como uma partícula em nanoescala com razão de aspecto (comprimento / largura) entre 3 e ~ 20-25 (MURPHY *et al.*, 2011). A síntese de partículas anisotrópicas como dos NBs surgiu a partir de diferenças sutis na química da superfície em faces cristalinas específicas durante o crescimento mediado por sementes, cujos detalhes ainda são objeto de investigação científica (BURROWS *et al.*, 2016a).

**Figura 1.** Informações que os espectros na região do visível e TEM fornecem sobre os AuNBs. a) Diagrama representando a oscilação de elétrons da banda de condução (setas cinza) das TPR e LPR dos AuNBs. b) Espectros de absorção no visível / infravermelho próximo de AuNBs com diferentes RA, mostrando picos de extinção transversais (★) e longitudinais (◆). c) Imagens de TEM de AuNBs (c) RA 1.1, (d) RA 2.0, (e) RA 2.7, (f) RA 3.7, e (g) RA 4.4. Barras de escala: 50 nm.



Fonte: (ABADEER *et al.*, 2014)

Uma das abordagens mediadas por sementes utiliza pequenas partículas como sementes (entre 1,5 e 4 nm diâmetro) que são sintetizadas a partir de uma solução aquosa de  $10^{-4}$  M de sal de ouro ( $\text{HAuCl}_4$ ) e agentes redutores fortes, como o borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), em excesso, para promover o crescimento isotrópico. Estas sementes são então adicionadas a uma solução de crescimento que contém sal de ouro adicional, um agente redutor fraco e um "agente direcionador de estrutura" que controla a forma final da partícula (JANA; GEARHEART; MURPHY, 2001; NIKHIL R. JANA; LATHA GEARHEART; MURPHY, 2001). O ácido ascórbico é utilizado nesta síntese como agente redutor secundário, pois é útil ao reduzir o sal adicional de ouro na fase de crescimento dos AuNBs de  $\text{Au}^{3+}$  para  $\text{Au}^0$ , permitindo que o crescimento ocorra durante um longo período de tempo (minutos a horas), o que ajuda no crescimento anisotrópico. O agente direcionador de estrutura utilizado é o CTAB, um tensoativo catiônico, conhecido por formar micelas em forma de bastão em meio aquoso (NIKHIL R. JANA; LATHA GEARHEART; MURPHY, 2001). Desta forma, os AuNBs resultantes possuem uma camada dupla de CTAB em suas superfícies (NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2001), sendo que função primária do CTAB é adsorver em determinadas faces do cristal das nanopartículas sementes, bloqueando o crescimento nestas faces e favorecendo nas outras direções (MURPHY *et al.*, 2005).

Na estratégia de síntese mediada por sementes, pode adicionar-se nitrato de prata durante a síntese dos AuNBs, que permite alterar a razão de aspecto de acordo com a concentração utilizada. É importante comentar que este mecanismo ainda se encontra sob investigação. (NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003).

### **2.3.2 Toxicidade**

Devido às suas propriedades excepcionais, os AuNBs surgiram como um novo tipo de nanoestrutura com uma gama de aplicações biológicas e biomédicas, como transporte, liberação e direcionamento de fármacos, hipertermia e terapia fotodinâmica. As oscilações dos elétrons nos AuNBs resultam na geração de calor após a exposição à luz do infravermelho próximo (NIR) (650-900 nm). A luz NIR penetra no tecido humano de meio milímetro a alguns centímetros, devido à absorção mínima pela água e pelo sangue nessa região do espectro. Os AuNBs absorvem a luz na região NIR, resultando na dissipação do calor para o tecido



circundante, sendo esta característica explorada para diagnóstico por imagens, destruição térmica de tumores (hipertermia) e liberação de fármacos. Entretanto, para a realização de ensaios clínicos e sua ampla utilização no ser humano, é necessário entender os riscos potenciais dos AuNBs à saúde humana e ao meio ambiente, e, para isso, ensaios *in vivo* e *in vitro* tem sido realizados (KHLEBTSOV; DYKMAN, 2011).

Apesar das vantagens oferecidas pela utilização destas nanoestruturas, o método de semente, o mais utilizado para síntese de AuNBs, utiliza o surfactante CTAB para induzir o crescimento anisotrópico dos AuNBs, sendo este muito tóxico para as células e instável na corrente sanguínea. O CTAB é um surfactante carregado positivamente e é altamente atraído por membranas celulares carregadas negativamente. Isso faz com que seu uso não seja adequado em aplicações clínicas diretas (VON MALTZAHN *et al.*, 2009). Esta interação com bicamadas fosfolipídicas celulares desestabiliza a membrana celular, podendo resultar em danos à integridade da membrana celular e, conseqüentemente, levando à morte celular. Mais ainda, a ação catalítica de um dos produtos de dissociação do CTAB, o cátion  $CTA^+$ , é considerado letal para as células (TAYLOR *et al.*, 2016). Além disso, também foi relatado que os AuNBs estabilizados com CTAB são removidos da corrente sanguínea 30 min após injeção intravenosa, devido ao processo de opsonização e rápida absorção pelo sistema mononuclear fagocítico (NIIDOME *et al.*, 2006).

Estudos realizados em algumas linhagens celulares indicaram que repetidos ciclos de centrifugação e redispersão em água retiraram o excesso de CTAB não ligado e tornou as dispersões de AuNBs relativamente menos tóxicas (LIU *et al.*, 2014; NIIDOME *et al.*, 2006). No entanto, quando o processo de centrifugação foi realizado até retirar as moléculas de CTAB diretamente ligadas aos AuNBs, ocorre uma desestabilização e a conseqüente agregação das partículas. Por conseguinte, é necessário que um revestimento de moléculas biocompatíveis possa substituir ou recobrir a bicamada de CTAB ligada aos AuNBs antes de seu uso clínico (LIU *et al.*, 2014). A seguir serão abordadas as diferentes estratégias adotadas para possibilitar o uso clínico dos AuNBs.

### 2.3.3 Conjugação com biomoléculas e polímeros

Muitas das aplicações dos AuNBs são possíveis graças à manipulação da sua superfície química. As modificações químicas do AuNBs envolvem principalmente alguns métodos, como o recobrimento com polieletrólitos, com sílica e com ligantes que possuem grupos tiol, sendo esta última a forma mais comum, uma vez que a ligação Au-S é conhecida por ser a ligação mais forte em comparação com outros grupos funcionais gerais (aminas, ácidos carboxílicos, álcoois e fósforos). Para isso, polímeros e biomoléculas, tais como poli(etileno glicol), PEG (LIU *et al.*, 2014), quitosana (ALMADA *et al.*, 2017), policaprolactona, PCL (KO *et al.*, 2016), DNA (ZHANG *et al.*, 2016) e lipídios (NAKASHIMA *et al.*, 2008) são inicialmente funcionalizadas com um grupo tiol e, a partir deste ponto, podem ser ligadas aos AuNBs através de ligações Au-S. O uso de um estabilizante polimérico para AuNBs também fornece o benefício adicional de que os grupos pendentes ativos do polímero estão disponíveis para posterior conjugação com fármacos, genes ou moléculas alvo. Para que ocorra uma troca efetiva do CTAB por um ligante com grupo tiol, processos de sonicação, agitação acompanhados ou não de aquecimento podem ser necessários para remover o CTAB para evitar que as NPs se agregem (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009).

Em particular, o recobrimento de AuNBs com PEG terminado em tiol, PEG-SH, é a forma mais utilizada, pois faz com que os AuNBs obtenham boa estabilidade, biocompatibilidade, longo tempo de circulação sanguínea, acumulação efetiva nos locais de ação e permite a multifuncionalização para o transporte de fármacos de fármacos (DICKERSON *et al.*, 2008a; HUFF *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2014; VON MALTZAHN *et al.*, 2009). Recentemente, alternativas ao PEG-SH estão sendo alvo de pesquisas.

Khunsuk e colaboradores (KHUNSUK *et al.*, 2018) desenvolveram um copolímero zwitteriônico, composto por fosforilcolina metacriloxietilada (MPC) e ácido metacrílico (MA), o MAMPC, que apresentou-se como um potencial estabilizante polimérico versátil para AuNBs. As unidades MA no copolímero atuaram em um processo de múltipla funcionalização: introdução de grupos tiol adicionais para ligação com os AuNBs e conjugação com doxorrubicina (DOX), um fármaco anticancerígeno muito tóxico. Por outro lado, as unidades de MCP forneceram as características de biocompatibilidade para o sistema. O MAMPC quimicamente modificado atuou como um estabilizante eficaz para AuNBs e resultou

em MAMPC-DOX-AuNBs com um tamanho e forma razoavelmente uniformes com boa estabilidade coloidal. Além disso, a citotoxicidade *in vitro* sugeriu que o MAMPC melhorou a biocompatibilidade do AuNB e diminuiu a toxicidade da DOX, evidenciando que o complexo MAMPC-DOX-AuNBs tem potencial para ser aplicado na liberação de fármacos e para terapia sinérgica de câncer.

ALMADA e colaboradores (2017) substituíram as moléculas de CTAB dos AuNBs por quitosana funcionalizada com grupos tiol. Após a obtenção dos AuNBs recobertos por quitosana, que é um polímero catiônico, foi realizada a deposição de uma camada de alginato (aniônico) ou poli(álcool vinílico) (neutro), por complexação eletrostática. O efeito da citotoxicidade dos AuNBs foram avaliados na linhagem de células de câncer de mama MDA-MB-231 e os resultados mostraram que os AuNBs revestidos tiveram sua toxicidade diminuída significativamente em comparação com aqueles AuNBs estabilizados com CTAB.

Outra abordagem que visa a utilização dos AuNBs em sistemas biológicos consiste em revestir as nanopartículas com revestimentos de polieletrólitos através de adsorção eletrostática, permitindo a manipulação das propriedades de superfície. Poli(cloreto de dialildimetilamônio) (PDADMAC), poli(ácido 4-estirenosulfônico) (PSS), poli(ácido acrílico) (PAA) e de poli(cloridrato de alilamina) (PAH) são os mais utilizados e atuam na redução da toxicidade por meio do impedimento das interações diretas entre as células e o CTAB (ALKILANY *et al.*, 2009; GOLE; MURPHY, 2005; HAUCK; GHAZANI; CHAN, 2008; REUM *et al.*, 2010). Em comparação com o método de troca de ligante, este método é mais fácil, porém, a estabilidade da interação eletrostática é questionável para armazenamento a longo prazo ou para aplicação *in vivo* (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009).

Com o objetivo da redução da toxicidade dos AuNBs-CTAB, através do uso de revestimento com polieletrólitos, pelo método conhecido como *Layer-by-Layer*, Bao e colaboradores (BAO *et al.*, 2016) depositaram PSS e PDADMAC na superfície dos AuNBs previamente recobertos por CTAB. Os resultados obtidos nos testes de citotoxicidade indicaram que estes AuNBs se tornaram adequados para aplicações terapêuticas após o revestimento.

### 2.3.4 Aplicações biomédicas

Os AuNBs possuem uma banda de ressonância intensa no infravermelho próximo (NIR) e têm grande potencial para a aplicação biomédica. Estas aplicações incluem a TFD, tratamento por hipertermia, diagnóstico por imagem, biossensibilização, transporte de genes e fármacos, entre outros. Em especial, os AuNBs são muito promissores no tratamento de tecidos e órgãos doentes, como no câncer.

Estas aplicações biomédicas dos AuNBs se devem às suas várias propriedades fototérmicas, à eficiência das rotas sintéticas em larga escala, à fácil funcionalização e à estabilidade coloidal. As oscilações dos elétrons nos AuNBs resultam na geração de calor após a exposição à luz do infravermelho próximo (NIR) (650-900 nm), pois os AuNBs absorvem a luz na região NIR, resultando na dissipação do calor para o tecido circundante. Além disso, os AuNBs não se decompõem quando se encontram em sistemas biológicos, apresentam possibilidade de variar o comprimento de onda da banda de ressonância, além de espalhamento intensificado, o que permite que sejam usados como agente de contraste. Portanto, os AuNBs também são considerados promissores agentes teranósticos, combinando o diagnóstico e o tratamento de doenças, como o câncer.

#### 2.3.4.1 Diagnóstico

Tecnologias de imagem multimodal estão sendo desenvolvidas para prever e diagnosticar doenças, como o câncer, com mais precisão. Os resultados de imagem podem ser ainda mais aprimorados se nanomateriais funcionais ou moléculas marcadores e de alto contraste forem desenvolvidos para imagens celulares específicas para determinada doença. Até agora, moléculas orgânicas fluoróforas já foram aplicados para este objetivo. No entanto, seu uso foi dificultado devido a limitações específicas, como por exemplo a instabilidade causada pela luz intensa e efeitos intrínsecos de supressão da fluorescência (PISSUWAN; VALENZUELA; CORTIE, 2008). Por outro lado, pontos quânticos têm foto-estabilidade aprimorada, mas ainda podem resultar em toxicidade a longo prazo, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, embora alguns artigos relatem que a citotoxicidade poderia ser prevenida (PRASAD *et al.*, 2010).

Para aplicações de imagem na faixa do NIR – em contraste com os corantes orgânicos convencionais, pontos quânticos e fluoróforos – os AuNBs têm várias vantagens, que incluem densidade óptica e espalhamento muito mais intensos que as moléculas que apresentam absorção, graças a sua maior seção transversal de espalhamento, além de estabilidades químicas e fotofísicas mais robustas (CHOI *et al.*, 2012). Estas nanoestruturas se mostram como uma grande promessa para o avanço da área de diagnósticos de câncer (LIU *et al.*, 2014). As aplicações de AuNBs em várias técnicas de imagem foram intensamente investigadas e, atualmente, o foco da pesquisa se concentra principalmente nas seguintes técnicas: TPL (luminescência de dois fótons), PAT (tomografia fotoacústica), OCT (tomografia de coerência óptica) e RX CT (tomografia computadorizada de raios X).

Recentemente, a técnica de imagens obtidas por TPL ganhou popularidade devido ao aumento da profundidade da penetração da luz, da resolução espacial submicrométrica, da baixa fluorescência de fundo e do dano fotodinâmico reduzido em tecidos vivos. Os AuNBs possuem grande seção transversal de espalhamento de fótons na região NIR. Após a irradiação ultrarrápida do laser, os AuNBs emitem um TPL forte que pode ser detectado em condições confocais (CHOI *et al.*, 2012; LI VOLSI *et al.*, 2017). Em um estudo, foi utilizada a imagiologia TPL para demonstrar a ligação eficaz de AuNBs ao receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (anti-EGFR-AuNRs) em linhagem celular de carcinoma epitelial humano (A431) *in vitro* e em tumores A431 *in vivo* (PUVANAKRISHNAN *et al.*, 2012). Os anti-EGFR-AuNBs foram observados em profundidades de até 100  $\mu\text{m}$  nos tumores. Além disso, o direcionamento seletivo e o acúmulo de AuNBs modificados com oligossacarídeos de quitosana também foram observados *in vitro* via estudos de imagem por TPL na linhagem de carcinoma adenoescamoso oral humano (CAL 27) (CHARAN *et al.*, 2012). Estes resultados são consistentes com estudos de direcionamento *in vivo* realizados via irradiação com laser NIR em tumores de xenoenxertos CAL 27.

A PAT é uma técnica de imagem emergente análoga à ultrassonografia, que pode oferecer imagens ópticas não invasivas em profundidade ainda maior no tecido do que a imagem da TPL. Os AuNBs também podem apresentar propriedades óptico acústicas que dependem da absorção de laser pulsado para criar uma onda de choque acústica devido a superaquecimento transitório e expansão termo elástica. O sinal acústico é medido e convertido em uma imagem por um transdutor

de varredura. Yang e colaboradores obtiveram imagens de AuNBs intracelulares usando microscopia fotoacústica. A captação e distribuição dependentes do tempo dos AuNBs em células de adenocarcinoma de mama humano foram monitorados com sucesso (YANG; YE; XING, 2012). Jokerst e colaboradores relataram imagens obtidas por PAT de células-tronco mesenquimais em camundongos vivos usando nanopartículas de ouro recobertas por sílica, Au@SiO<sub>2</sub> (JOKERST *et al.*, 2012). Os autores descobriram que a camada de sílica aumentou tanto o sinal fotoacústico de AuNBs, quanto a captação dos AuNBs nas células. Este método de imagem de PAT mediado por Au@SiO<sub>2</sub> tem baixa toxicidade e elevadas resoluções espaciais e temporais, ambas vantagens significativas sobre as técnicas tradicionais de imagem celular, como tomografia por emissão de pósitrons e ressonância magnética nuclear.

A OCT é uma modalidade de imagem relativamente recente que pode capturar a morfologia tridimensional de tecido celular e subcelular com resolução micrométrica, a partir da detecção coerente da radiação NIR espalhada. Os AuNBs acumulados no tecido biológico de interesse podem aumentar significativamente o contraste devido à absorção ou dispersão óptica intensa (HUANG *et al.*, 2011). Jung e colaboradores relataram captação de AuNBs em linfonodo sentinela (SLN) de camundongos *in situ* por meio uso da imagem de OCT (JUNG *et al.*, 2011). Comparado ao OCT de espalhamento convencional, o sistema de OCT mediado por AuNBs obteve imagens 3D com maior resolução, com base no qual, diferentes acumulações dependentes do tempo de AuNBs dentro de várias estruturas do SLN foram demonstradas.

Como uma das ferramentas diagnósticas mais utilizadas atualmente nos hospitais, a RX CT é uma técnica de imagem baseada na diferença de absorção de raios X (contraste de absorção) das composições corporais. Devido ao seu elevado peso atômico e coeficiente de absorção de raios X, pequenas moléculas iodadas geralmente são utilizadas como agentes de contraste para melhorar a visibilidade das estruturas internas do corpo em procedimentos de RX CT. No entanto, estes agentes de contraste permitem apenas imagens de tempo muito curto devido à rápida excreção renal, além de causar toxicidade renal (HUANG *et al.*, 2011). Recentemente, os AuNBs têm atraído muita atenção para o desenvolvimento de novos agentes de imagem por tomografia computadorizada, pois o ouro tem peso atômico e coeficiente de absorção de raios X mais altos que o iodo (ZHANG; WANG; CHEN, 2013). Foi demonstrado que os AuNBs revestidos com PEG têm um tempo

de circulação muito mais longo do que um agente de contraste molecular típico baseado em iodo. Mais ainda, os AuNBs conjugados com ligantes de direcionamento, como peptídeos ou anticorpos, podem permitir a visualização de biomarcadores específicos de doença em níveis moleculares por meio do procedimento de RX CT. Luo e colaboradores relataram que Au@SiO<sub>2</sub> carregada de verde de impregnanina (ICG) tem dupla capacidade de tomografia de raios X e imagem de fluorescência (LUO *et al.*, 2011). Foi demonstrado que Au@SiO<sub>2</sub> pode aumentar significativamente o contraste do TC e imagens multiplexadas puderam ser facilmente obtidas usando este agente de imagem de modo dual.

#### 2.3.4.2 Tratamento de câncer

Em geral, os tratamentos de câncer disponíveis, como radioterapia, quimioterapia e remoção cirúrgica, resultam na morte dos tecidos saudáveis circundantes por causa de seus efeitos tóxicos significativos. A fim de aumentar a seletividade no tratamento do câncer, tratamentos baseados em nanotecnologia tem sido desenvolvidos. A combinação de NPs de metais nobres, como os AuNBs e fontes de luz atraiu especialmente a atenção como uma estratégia promissora para tratamentos eficazes, como o tratamento por hipertermia e TFD (ALKILANY *et al.*, 2012). Além disso, fármacos podem ser associados aos AuNBs com o objetivo de tratamento quimioterápico e hipertérmico simultâneos. As nanopátículas de ouro atraem grande interesse nesta área, pois apresentam o efeito de LSPR na faixa do NIR, onde a penetração da radiação é ótima devido à absorção mínima pela água e hemoglobina no tecido (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009).

##### 2.3.4.2.1 Hipertermia

O significado etimológico da palavra "hipertermia" é geração de calor e, com relação à terapia de câncer, o termo é usado para implicar tratamento baseado na transferência de calor no local do tumor (BARONZIO; HAGER, 2006). A abordagem envolve elevar a temperatura do ambiente local do tumor ocasionando mudanças da fisiologia das células doentes e, em alguns casos, levando-as a apoptose (VAN LOO *et al.*, 2002). Esta modalidade de tratamento complementa os tratamentos atualmente disponíveis incluindo quimioterapia, radioterapia, cirurgia, terapia genética e imunoterapia para câncer. No final da década de 1980, a hipertermia

atraiu o interesse no campo da ciência de materiais (BLEEHEN, 1982) e na última década despertou grande interesse no campo da nanotecnologia (CHERUKURI; GLAZER; CURLEY, 2009).

A hipertermia local ( $> 43$  °C) envolve a aplicação de calor intracelular apenas a uma pequena área de interesse específica (KUMAR; MOHAMMAD, 2011), e tem ganhado cada vez mais atenção. Neste contexto, o grande desafio encontrado é aquecer apenas as células tumorais, sem danificar os tecidos saudáveis e, para isso, as NPs estão sendo empregadas.

As terapias de destruição térmica de tumores baseadas em nanotecnologia são minimamente invasivas e de rápida administração, sendo desenvolvidas com uma variedade de nanomateriais, incluindo nanotubos de carbono de parede única (ZHANG *et al.*, 2015), nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MARANGON *et al.*, 2017), NPs magnéticas (BOEHM; CHEN, 2009) e AuNPs (ORNDORFF *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2017a, 2017b).

A aplicação da hipertermia para destruir células específicas é uma estratégia bem conhecida para o tratamento do câncer, pois é um método não invasivo e um tratamento relativamente indolor para os pacientes. A hipertermia por meio da utilização de AuNBs é possível devido a absorção de NIR pelos AuNBs e sequente dissipação de calor. Quando uma radiação é incidida em nanopartículas com banda de ressonância de plásmons de mesmo comprimento de onda, há uma conversão da energia da radiação em calor, conhecida como transdução fototérmica. A transferência de calor da superfície de AuNBs para o ambiente celular circundante é altamente localizada, decaindo exponencialmente dentro de alguns nanômetros e, portanto, minimiza os efeitos adversos nas células normais (KUO *et al.*, 2010). Os AuNBs demonstram uma resposta fototérmica à luz NIR como uma função da razão de aspecto das NPs, sendo um dos agentes exógenos mais eficazes para a terapia do câncer por hipertermia, mostrando uma elevada eficácia na ablação de células cancerosas *in vitro* (HUANG *et al.*, 2006; HUFF *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2018) ou tumores *in vivo* (CHOI *et al.*, 2011; DICKERSON *et al.*, 2008a; LIU *et al.*, 2018, 2014).

A terapia hipertérmica utilizando AuNBs recobertos com PEG injetados intratumoralmente e laser NIR resultou numa diminuição de 96% no crescimento de tumor de xenoenxertos de carcinoma em ratos nus. A combinação de injeção



intravenosa e irradiação com laser NIR resultaram, segundo os autores, em diminuição de 74% no crescimento tumoral médio (DICKERSON *et al.*, 2008b).

LIU e colaboradores (2014) sintetizaram AuNBs revestidos com PEG multidentados de baixa citotoxicidade e com alta eficácia para a ablação de células cancerígenas *in vitro*. Além disso, este complexo mostrou boa estabilidade no serum, com longo tempo de circulação no sangue, levando a um alto acúmulo nos tumores após a injeção intravenosa. A terapia fototérmica *in vivo* mostrou que os tumores foram completamente curados e sem recorrência pela irradiação do laser NIR após uma única injeção desses AuNBs modificados com PEG multidentados.

#### 2.3.4.2.2 *Terapia fotodinâmica - TDF*

A TFD é um procedimento terapêutico clinicamente aprovado e minimamente invasivo que pode exercer uma atividade citotóxica seletiva em relação às células malignas. Ela tem potencial para atender a muitas necessidades médicas atualmente não satisfeitas. A TFD define-se como um tipo de terapia tumoral que envolve destruição celular causada por oxigênio singlete tóxico ( $^1O_2$ ) bem como de outros radicais livres que são produzidos a partir de uma sequência de processos fotoquímicos e fotobiológicos. Embora ainda emergente, já é uma modalidade terapêutica bem-sucedida e clinicamente aprovada, utilizada para o controle de doenças neoplásicas malignas e não malignas (AGOSTINIS *et al.*, 2011).

A TFD consiste em três componentes essenciais: fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003). Nenhum destes é individualmente tóxico, mas juntos eles iniciam uma reação fotoquímica que resulta na geração de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), produto altamente reativo, que pode rapidamente causar toxicidade significativa e induzir morte celular via apoptose ou necrose. Estes processos são iniciados pela reação do FS com oxigênio tecidual quando exposto a um comprimento de onda específico de luz na região do visível ou infravermelho. Os efeitos antitumorais da TFD derivam de 3 mecanismos inter-relacionados: efeitos citotóxicos diretos sobre as células tumorais, danos à vasculatura tumoral e indução de uma reação inflamatória robusta que pode levar ao desenvolvimento de imunidade sistêmica (AGOSTINIS *et al.*, 2011). Os FS mais utilizados atualmente são aqueles com absorvância na região NIR, tais como porfirinas modificadas

(ZHAO *et al.*, 2010), clorinas (PEREIRA *et al.*, 2017), ftalocianinas (FREITAS *et al.*, 2017), indocianinas (LIU *et al.*, 2018) e naftalocianinas (BHANA *et al.*, 2016).

Em geral, as NPs tem papel importante para a realização da TFD: para a entrega do FS ao local de ação, como FSs por si só e como transdutores de energia (DUBOWSKI; TANEV, 2006). A vantagem potencial de NPs associadas à TFD consiste em possibilitar que uma "carga útil", ou seja o próprio FS, possa ser fornecido ao tecido alvo. Além disso as NPs podem ser funcionalizadas com múltiplas porções de direcionamento, como anticorpos e ligantes específicos, tais como anticorpos ou peptídeos, para liberar o FS de modo direcionado. Outras abordagens utilizando NPs em TFD incluem o uso de polímeros biodegradáveis e cerâmicos (sílica), NPs metálicas (ouro, óxido de ferro) (CHATTERJEE; FONG; ZHANG, 2008) e NPs magnéticas, em que um campo magnético aplicado melhora a localização ao tumor, além de NPs híbridas que permitem TFD junto com qualquer outra estratégia terapêutica, tal como a hipertermia (VANKAYALA *et al.*, 2014). NPs de silício e pontos quânticos são materiais que geram  $^1\text{O}_2$  por si só após fotoexcitação. Os pontos quânticos também podem ser ligados a fotossensibilizadores orgânicos, para absorver a energia eletromagnética com alta eficiência e transferi-la para o FS. A eficiência da TFD pode ser atribuída à produção de  $^1\text{O}_2$ , sendo que há duas estratégias diferentes possíveis com o uso de NPs. Em uma, utilizam-se NPs biodegradáveis, das quais os fotossensibilizadores são liberados após irradiação para produzir  $^1\text{O}_2$ . Na outra alternativa, utilizam-se NPs que não são biodegradáveis em casos em que não é necessário liberar os fotossensibilizadores, mas é essencial que o oxigênio possa difundir-se livremente de dentro para fora das NPs (BECHET *et al.*, 2008).

No caso de utilização de AuNBs na TFD, a banda de LPR dos AuNBs pode ocorrer na região do NIR e possibilitam a conjugação de FSs, o que torna os AuNBs atrativos e muito úteis. Além disso, a conjugação com o ouro facilita a penetração intracelular, devido à sua tendência de se ligar a grupos tióis, dissulfatos e aminas (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

Estudos recentes demonstram que os FS conjugados a AuNBs são candidatos atrativos para aplicações simultâneas de TFD, hipertermia e diagnóstico (JANG *et al.*, 2011; KUO *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2018). Neste sentido, AuNBs conjugados a FS (Alumínio Ftalocianina Tetrasulfonada – AIPcS<sub>4</sub>) foram desenvolvidos para obtenção de imagens por fluorescência no NIR e tratamento de

câncer. Foi observado que a captação intracelular foi 4 vezes maior e com melhor fototoxicidade *in vitro*. Foram também observadas em células tratadas com o complexo AuNBs-AIPcS4 comparando com células tratadas com AIPcS4 livre, após a injeção intravenosa do complexo AuNBs-AIPcS4. Os locais dos tumores foram claramente identificados nas imagens de fluorescência no NIR 1 h após a injeção e o volume o tumor reduziu em 79% com TFD isolada e em 95% com terapia hipertérmica e TFD proporcionada pelo complexo AuNBs-AIPcS4 (JANG *et al.*, 2011).

Liu e colaboradores (2018) construíram uma nanoplataforma multifuncional para tratamento de câncer baseada em AuNBs revestidos de sílica mesoporosa (AuNBs@MSN) com objetivo de superar barreiras biológicas associadas a nanocarreadores para TFD e hipertérmica. O verde de indocianina (ICG) foi carregado em AuNBs@MSN e estes foram funcionalizados com  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD). Em seguida, um peptídeo com permeabilidade na membrana plasmática e capacidade de direcionamento de mitocôndrias foi ancorado aos AuNBs@MSN. Posteriormente, o copolímero quitosana-b-PEG foi introduzido para dar a propriedade furtiva ao meio, por apresentar reversibilidade de carga com mudanças de pH. Quando a nanoplataforma se extravasa para o tecido tumoral, a leve acidez no microambiente tumoral induz a dissociação do polímero reversível e a reexposição do peptídeo RLA. Tal transição mediada por pH facilita o acúmulo direcionado da nanoplataforma nas mitocôndrias. Após a irradiação com laser com comprimento de onda de 808 nm, a nanoplataforma exibiu efeito fotodinâmico aumentado através da geração de espécies reativas de oxigênio mediadas pelo campo elétrico local das AuNBs, efeito fototérmico plasmônico e vazamento de ROS endógeno por TFD direcionada pela mitocôndria. Enquanto isso, a hipertermia local foi gerada por ICG e AuNBs. Segundo os autores os experimentos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a nanoplataforma apresentou excelente efeito antitumoral, com efeito colateral mínimo (LIU *et al.*, 2018).

#### 2.3.4.2.3 Transporte de fármacos e genes

Os AuNBs são candidatos promissores para realizar o transporte de genes e medicamentos para o tratamento de doenças, devido à possibilidade de se controlar suas dimensões e monodispersão, baixa toxicidade, internalização celular e

facilidade de funcionalização com ligantes diversos. Além disso, os AuNBs podem ser utilizados para dar origem a veículos multifuncionais, que além de carrear genes, associados ou não a fármacos, possibilitam a realização de diagnóstico e tratamento por hipertermia simultaneamente (RAMESH *et al.*, 2015; WEBB; BARDHAN, 2014).

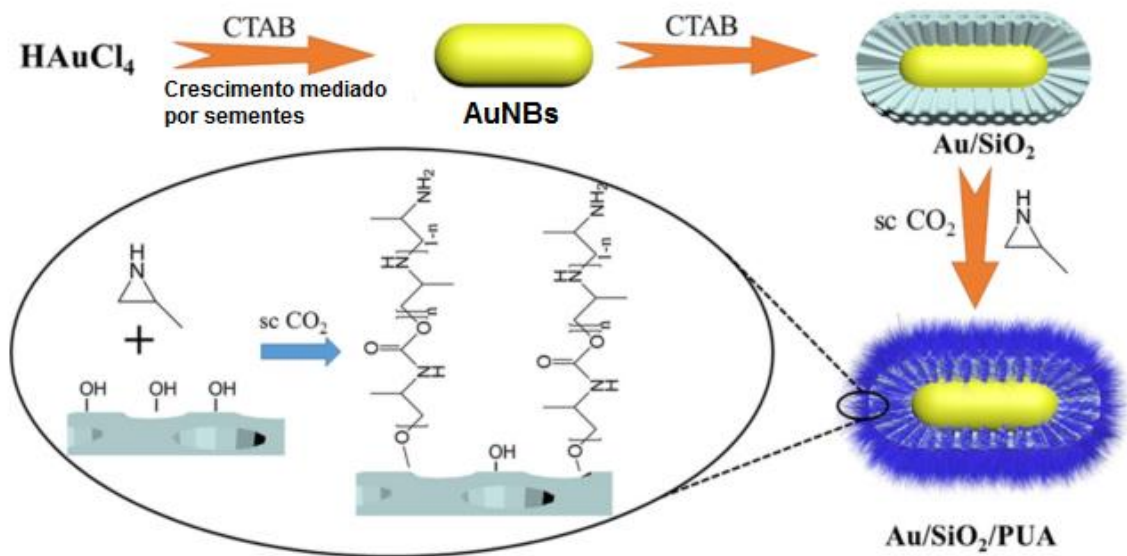
Devido ao risco de citotoxicidade e respostas imunológicas do método convencional de transporte de genes mediado por vírus, a busca por vetores de genes não virais é indispensável. No contexto de nanocarreadores sintéticos, AuNBs chamam bastante atenção (CHEN *et al.*, 2006; HORIGUCHI *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2017; MIN *et al.*, 2017). Especialmente devido à sua grande relação superfície-volume, os AuNBs são considerados nanocarreadores muito adequados por fornecerem área de superfície suficiente para o acoplamento de receptores para se acoplar a genes.

O transporte e liberação controlada de fármacos para o tratamento de câncer é um grande desafio enfrentado na atualidade, principalmente devido à toxicidade e a hidrofobicidade dos fármacos anticancerígenos disponíveis. Como alternativa aos métodos convencionais, os AuNBs estão sendo utilizados para o transporte e liberação controlada de fármacos por meio de diferentes mecanismos, como sistemas de carreadores responsivos ao NIR (SONG *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2018), bem como carreadores sensíveis ao pH (RAMESH *et al.*, 2015; SONG *et al.*, 2018), capazes de liberar fármacos mediante estímulos externos (pH?).

Recentemente, AuNBs recobertos por sílica mesoporosa (SiO<sub>2</sub>) e com polímero termicamente sensível foram fabricadas com o objetivo de acoplar a propriedade fototérmica de AuNRs à resposta térmica ou pH do polímero em um nanoveículo (Figura 2). O Poli(uretano-amina) alifático (PUA) foi empregado como polímero responsivo para cobrir as NPs de AuNBs/SiO<sub>2</sub> via polimerização *in situ* em CO<sub>2</sub> supercrítico. O PUA, polímero responsivo à temperatura e pH, agiu como o responsável pelo liga-desliga, controlando a liberação de DOX das NPs devido ao estiramento e encolhimento das cadeias de polímero PUA a diferentes temperaturas. O laser no infravermelho próximo foi usado para ativar a fase mudança de conformação das cadeias e liberação subsequente da droga. Os estudos *in vitro* de liberação de fármaco indicaram que as NPs de AuNBs/SiO<sub>2</sub>/PUA exibiram propriedades distintas de liberação dependendo do pH, temperatura e laser. Um curto período de tempo exposto à irradiação NIR pôde aumentar nitidamente a

temperatura local das NPs e, também, a liberação da DOX pôde ser controlada simplesmente ajustando a intensidade do laser NIR (SONG *et al.*, 2018).

**Figura 2.** Preparação das NPs de AuNBs / SiO<sub>2</sub> / PUA.



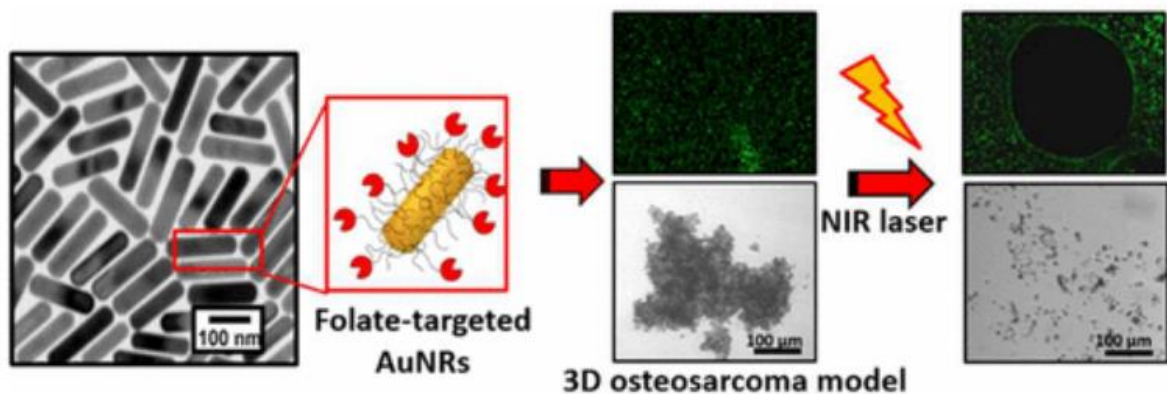
Fonte: (SONG *et al.*, 2018)

Para o sucesso do tratamento de câncer, a terapia combinada é um método potencial emergente que combina dois ou mais medicamentos terapêuticos ou tratamentos diferentes, trabalhando de maneira sinérgica ou aditiva. Os veículos multifuncionais para tratamentos combinados (por exemplo, hipertermia e quimioterapia) com geração de imagens simultâneos (conhecidos como agentes teranósticos) têm grande potencial para o tratamento de câncer. Embora o tratamento com uma única técnica ainda seja amplamente utilizado, o método convencional permanece menos eficaz que a terapia combinada (AL-LAZIKANI; BANERJI; WORKMAN, 2012). Além disso, esta terapia de combinação requer uma dose terapêutica mais baixa de cada fármaco e pode prevenir os efeitos tóxicos em células normais enquanto produz simultaneamente efeitos citotóxicos em células cancerosas, uma vez que a terapia de combinação visa diferentes vias para aumentar a citotoxicidade para células cancerosas (WOODCOCK; GRIFFIN; BEHRMAN, 2011).

Os AuNBs foram propostos por LI VOLSI e colaboradores em 2017 como agentes teranósticos seletivos para o tratamento de osteossarcoma. Um copolímero

enxertado de polissacarídeo anfifílico e um derivado amino foram funcionalizados com os ligantes de folato, sendo este copolímero sintetizado para atuar como agente de revestimento para os AuNBs. Os ligantes de folato são seletivos para os tumores, pois os receptores de folato estão sobreexpressos nestes tumores. O copolímero revestiu com sucesso os AuNBs e protegeu o medicamento anticancerígeno nutlin-3, sendo este sistema capaz de entregar o medicamento eficientemente a diferentes meios fisiológicos. A capacidade do sistema para matar seletivamente células tumorais foi testada em células de câncer U2OS, expressando altos níveis de receptores de folato e comparadas com células epiteliais brônquicas humanas (16HBE) e fibroblastos dérmicos humanos (HDFa). A capacidade antitumoral do sistema proposto foi testada (Figura 3), bem como a de controlar eficientemente a liberação do fármaco na irradiação com laser NIR, atuar como um excelente agente de hipertermia, bem como agentes de contraste para imagiologia por TPL, além da sua eficácia quimioterápica.

**Figura 3.** AuNBs com ligantes de folato para tratamento direcionado de osteossarcoma por terapia combinada (hipertermia e quimioterapia) e imagiologia por TPL



Fonte:(LI VOLSI *et al.*, 2017).

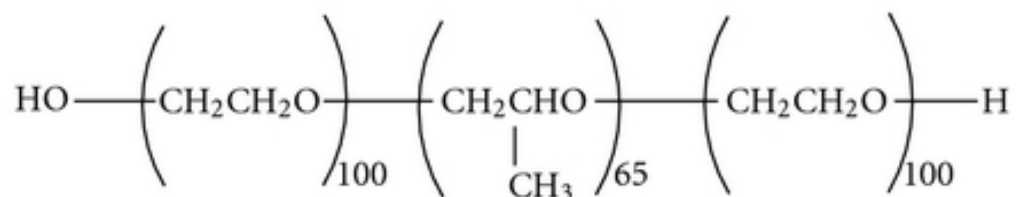
Para alcançar um efeito anticancerígeno notável, recentemente Min e colaboradores (2017) prepararam uma nanoformulação teranostática que permite imagens fotoacústicas, bem como terapia combinada de genes e hipertermia. AuNBs foram revestidos com dipicolilamina (DPA) complexada a íons  $Zn^{2+}$ . As NPs resultantes,  $Zn(II) / DPA-AuNBs$ , reconhecem moléculas contendo fosfato, incluindo siRNA, devido à interação específica entre o  $Zn^{2+}$  e os ânions fosfatos. O RNAsi antipolo quinase 1 (siPLK) foi utilizado como silenciador de genes. A forte

complexação entre o Zn (II) / DPA-AuNBs e a siPLK proporcionou alta estabilidade aos nano complexos, que entregaram eficientemente siRNA nas células-alvo cancerígenas *in vitro* e *in vivo*. A partícula serviu como agente teranóstico, pois as AuNBs dos nano-complexos permitiram a terapia hipertérmica efetiva, bem como a imagem fotoacústica na irradiação a laser NIR (MIN *et al.*, 2017).

#### 2.4 PF127

O PF127 é o nome comercial do copolímero em bloco de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno), que é conhecido por ser biocompatível e biodegradável e tem grande aplicabilidade para sistemas biológicos, como no transporte de fármacos e modificador de respostas biológicas (BATRAKOVA; KABANOV, 2008). Ele é um copolímero anfifílico com estrutura polimérica do tipo “ABA” (PEO-PPO-PEO) composto por segmentos hidrofílicos de poli(óxido de etileno) (PEO) e segmentos hidrofóbicos de poli(óxido de propileno) (PPO) como representando na Figura 4. As propriedades físicas e químicas dos copolímeros de PF127 podem ser refinadas modificando a razão de massa entre os blocos de PEO e PPO, o que modifica diretamente as propriedades e interação *in vivo* e com células e membranas celulares, e propicia design inovador de novos nanomedicamentos e biomateriais (PITTO-BARRY; BARRY, 2014).

**Figura 4.** Estrutura química do PF127.



Fonte: Elaborado pelo autor

O PF127 é um polímero tribloco não iônico formado por um núcleo hidrofóbico de PPO com uma cadeia hidrofílica de PEO em cada extremidade. A vantagem da utilização do PF127 é que ele apresenta alta biossegurança, comportamento responsivo à temperatura e pode ser muito útil para o carregamento de substâncias mais hidrofóbicas, como moléculas para TFD, genes e fármacos (ZHANG *et al.*, 2010).

Os copolímeros em bloco da família dos Pluronic polióis são materiais polimórficos que cobrem uma gama de estados de gelificação de líquido a pasta e sólido, dependendo das proporções de massa entre os blocos de PEO e PPO. Esta versatilidade estrutural os torna particularmente atraentes para ingredientes emulsionantes, estabilizantes, solubilizantes e dispersantes para formulação farmacêutica. Os copolímeros Pluronic estão listados em várias farmacopéias, como a americana e inglesa, e são amplamente utilizados em uma variedade de aplicações clínicas (BATRAKOVA *et al.*, 2010).

O PF127 tem sido considerado um sistema de transporte biológico muito promissor devido a sua capacidade de automontagem em fase aquosa dependente da sua concentração micelar crítica (0,26-0,8% (p/p)) e da temperatura do meio. Como nanocarreador para entrega de medicamentos, genes ou corantes, os Pluronic são considerados interessantes, pois quando em solução aquosa acima da concentração micelar crítica, suas moléculas podem se auto-organizar em micelas do tipo núcleo-casca, onde os blocos hidrofóbicos de PPO formam o núcleo e blocos de PEO hidratados a casca. Por isso, fármacos pouco solúveis em água podem ser incorporados no núcleo hidrofóbico do PPO e protegidos da inativação em meio biológico (BROWN *et al.*, 1991).

Drogas anticancerígenas utilizadas clinicamente como a DOX (BATRAKOVA *et al.*, 2001) e o docetaxel (DTX) foram encapsuladas em micelas de Pluronic 105 e F127. O DTX é um análogo semissintético do paclitaxel que exibe potência contra uma variedade de tumores sólidos. Porém, sua ação é prejudicada devido à fraca solubilidade aquosa, atividade fagocitária rápida, depuração renal e distribuição não seletiva. FANG e colaboradores (2013) demonstraram que o DTX encapsulado em micelas mistas de Pluronic P105 e F127 exibiu uma maior citotoxicidade em relação às células cancerosas A549 resistentes ao DTX do que as injeções de Taxotere® (medicamento já aprovado pelo FDA). Além disso, um maior tempo de circulação sanguínea e melhora terapêutica *in vivo* foram observadas com micelas mistas P105 / F127 carregadas com DTX em comparação com Taxotere®.

Os sistemas de transporte e liberação de fármacos mediados por Pluronic são capazes não só de encapsular drogas e modificar suas propriedades farmacocinéticas, como também são potentes modificadores de resposta biológica. Uma vez que são capazes de sensibilizar células de câncer multi resistentes e



aumentar o transporte de moléculas através das barreiras biológicas (BATRAKOVA; KABANOV, 2008).

O PF127 foi utilizado em estudos recentes no recobrimento de AuNBs-CTAB com o objetivo de mascarar a citotoxicidade do brometo de hexadeciltrimetilamônio que recobre os AuNBs. A remoção completa de moléculas de CTAB da superfície dos nanobastões tornou o sistema instável, causando a agregação de partículas. O revestimento com PF127 garantiu a estabilidade e biocompatibilidade da nanoformulação, devido à interação com a cadeia hidrofóbica do CTAB. Em geral houve melhora na viabilidade celular *in vitro*. No entanto, o CTAB permaneceu na formulação e os efeitos desta permanência não foram explorados ao longo do tempo (GOH *et al.*, 2012; GONG *et al.*, 2014).

Micelas de PF127 incorporadas com ftalocianina de cloro alumínio (PF127 / AICIPc), foram produzidas em condições otimizadas para obtenção de sistemas coloidais eficientes e biocompatíveis para realização de TFD. As moléculas de AICIPc foram encapsuladas no núcleo hidrofóbico das micelas de PF127, podendo ser prontamente solubilizadas em meio fisiológico. Segundo os autores, a eficiência de encapsulação foi de aproximadamente 90 % e a produção de oxigênio singlete pelas formulações F127 / AICIPc irradiadas indicaram boa aplicabilidade para TFD. Os testes *in vitro* mostraram dano celular de até 90 % para doses bastante baixas de AICIPc. Além disso, não ocorreu citotoxicidade em células não irradiadas (PY-DANIEL *et al.*, 2016).

A versatilidade estrutural dos poloxâmeros e a estrutura química relativamente simples desses copolímeros os tornam particularmente adequados para a transformação e funcionalização química. A funcionalização de Pluronic com diferentes grupos tem apresentado um aumento na estabilidade de micelas desse tipo de polímero. Neste sentido, NPs de ouro foram utilizadas para um revestimento com micelas reticuladas de PF127, que exibem um comportamento termo reversível de intumescimento e encolhimento. Os dois terminais de grupos hidroxila do PF127 foram modificados com o grupo tiol (SH) por BAE e colaboradores (2006) para se autoorganizarem em solução aquosa, com exposição dos grupos tiol para fora da casca. Os grupos tiol presentes na casca exterior foram reticuladas por NPs de ouro sintetizados através de redução do precursor de ouro por NaBH<sub>4</sub>. As micelas de Pluronic reticuladas com AuNPs resultaram em uma estrutura similar a de um escudo, exibindo comportamento dependente da temperatura. Segundo os autores,

essas novas micelas híbridas orgânicas / inorgânicas auto organizadas têm grande potencial para aplicações diagnósticas e terapêuticas (BAE *et al.*, 2006).

### **3 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver um sistema à base de AuNBs através de sua síntese pelo método de crescimento mediado por sementes, visando a diminuição da toxicidade para futuras aplicações biológicas foi realizada a substituição do CTAB, surfactante utilizado neste método de síntese, pelo copolímero em bloco PEO-PPO, PF127 funcionalizado com o grupo tiol.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Modificação química do PF127, por meio da funcionalização com grupos tiol, através da reação de esterificação dos grupos terminais do PF127 com o ácido 3-mercaptopropiônico (MPA)
- Substituição do ligante e estabilizante CTAB dos AuNBs, pelo polímero PF127-SH e pelo polímero PF127 sem funcionalização.
- Avaliação da citotoxicidade do sistema desenvolvido.

#### **3.3 JUSTIFICATIVA**

A realização deste trabalho se justifica pelo enorme potencial de utilização dos AuNBs para o tratamento e diagnóstico de câncer, problemática com enorme relevância para a sociedade atual, tendo em vista que o câncer é uma doença que ainda não possui tratamento satisfatório e que os tratamentos existentes são muito agressivos, invasivos e com uma série de efeitos colaterais graves. Além disso, deve-se tomar proveito do fato de que os AuNBs podem ser utilizados para o desenvolvimento de nanoplataformas multifuncionais, que possibilitam carreamento de fármacos para realização de quimioterapia ou FSs para realização de TFD, bem como tratamento por hipertermia e, ainda, permitindo um diagnóstico mais específico de câncer. Essas terapias, quando combinadas, mostram-se muito mais eficazes no desenvolvimento de novas opções teranósticas contra câncer.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 FUNCIONALIZAÇÃO DO PF127

O método utilizado para a modificação dos grupos terminais do PF127 (Sigma-Aldrich®) com grupos tióis baseia-se em uma adaptação do método descrito por SANTOS (2015), que utiliza ácido tioglicólico, para a reação de esterificação entre o P127 e o ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) Sigma-Aldrich®.

Em um balão volumétrico de 500 mL, foram adicionados 15 g (1,2 mmol) de PF127, sendo posteriormente solubilizados em 250 mL de tolueno à temperatura ambiente. Foram então adicionados 2 mL de MPA (24 mmol), que se traduziu em um excesso molar de 20 vezes do funcionalizante em relação ao polímero. Um sistema de refluxo foi conectado ao balão, juntamente com o aparato Dean-Stark, que permite remoção da umidade do PF127 do sistema durante a reação, por meio de destilação azeotrópica. O sistema foi aquecido à temperatura de 115 °C em banho de silicone e mantido sob refluxo durante 24 h (Figura 5a). Após este período, a solução foi rotaevaporada (Figura 5b) até a secagem, sendo o produto obtido redissolvido em clorofórmio (25 mL) e precipitado em éter etílico (150 mL) à 4 °C, formando então um precipitado branco (Figura 5c). O sobrenadante foi retirado por meio de filtração à vácuo e o corpo de fundo foi seco em dessecador sob vácuo a temperatura ambiente.

**Figura 5.** Funcionalização do P127 a) Sistema reacional, b) Rotaevaporação, c) precipitação do polímero



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 4.2 SÍNTESE DOS NANOBASTÕES DE OURO

Os AuNBs foram preparados pela metodologia descrita por NIKOOBAKHT e EL-SAYED (2003), com pequenas modificações. Esta metodologia consiste no preparo prévio de nanopartículas esféricas que atuam como sementes no posterior crescimento dos AuNBs. Todas as vidrarias foram previamente limpas com água régia ( $3\text{HCl}/1\text{HNO}_3$ ) e enxaguadas 4 vezes com água Milli Q com o objetivo de remover qualquer tipo de resíduos metálicos nas vidrarias.

### 4.2.1 Preparo das nanopartículas sementes

As soluções de CTAB (Sigma-Aldrich®) 200 mM,  $\text{NaBH}_4$  (Sigma-Aldrich®) 10 mM e  $\text{HAuCl}_4$  (Tetracloroeto de ouro trihidratado, Sigma-Aldrich®) 0,5 mM foram preparadas previamente, utilizando a água como solvente. Adicionou-se 5 mL do surfactante CTAB 200 mM a 5 mL de  $\text{HAuCl}_4$  0,5 mM e agitou-se levemente, obtendo-se uma solução de cor âmbar. Em seguida, foram adicionados à solução 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaBH}_4$  10mM refrigerada a 4 °C, mantendo esta solução sob agitação vigorosa por 1 minuto. O  $\text{NaBH}_4$  é um forte agente redutor que, ao ser adicionado, torna a solução cor marrom clara, indicando o processo de redução do  $\text{Au}^{3+}$  a  $\text{Au}^0$ . Esta solução foi deixada em repouso por 2 h para garantir a formação das sementes.

### 4.2.2 Crescimento dos nanobastões de ouro

As soluções de CTAB 20 mM,  $\text{HAuCl}_4$  1 mM,  $\text{AgNO}_3$  (Sigma-Aldrich®) 4 mM e ácido L-ascórbico (Sigma-Aldrich®) 80 mM foram preparadas previamente, utilizando água como solvente. Foi preparada uma solução adicionando-se 5 mL de  $\text{HAuCl}_4$  1 mM a 5mL de CTAB 200 mM e agitando-se levemente, obtendo-se uma solução de cor âmbar. A esta solução, foram adicionados 350 $\mu\text{L}$  de  $\text{AgNO}_3$  4 mM. O  $\text{AgNO}_3$  é utilizado pois contribui para o controle da razão de aspecto dos AuNBs, devido a sua deposição seletiva nas facetas longitudinais da partícula (MEHTALA *et al.*, 2014). Para reduzir o ouro de  $\text{Au}^{3+}$  a  $\text{Au}^+$ , 90 $\mu\text{L}$  ácido L-ascórbico 80 mM, que é um agente redutor intermediário, foram adicionados à solução. Esta redução pode ser confirmada devido à mudança de cor da solução da cor âmbar para translúcida. Finalmente, 80  $\mu\text{L}$  da solução semente foram adicionados a esta solução, resultando

na segunda redução de ouro de  $Au^+$  para  $Au^0$ , que se posiciona na superfície das sementes. A solução obtida foi deixada em repouso por 4 horas sob temperatura controlada (27 a 30 °C) para o crescimento dos AuNBs. A solução começa a mudar de cor gradativamente após cerca de dez minutos de repouso, passando de translúcida a marrom alaranjado.

#### 4.3 RECOBRIMENTO DOS NANOBASTÕES DE OURO COM PF127® E PF127-SH

As suspensões de AuNBs revestidas com PF127 e PF127-SH foram preparadas após dois processos de lavagem com água dos AuNBs-CTAB, seguidos por centrifugação (Micro Centrífuga Eppendorf 5415 C) a 14 000 rpm, 5 minutos e posterior ressuspensão em água, objetivando a remoção do CTAB em excesso. Após a segunda lavagem e centrifugação, o sobrenadante foi removido e seguiu-se com a adição de soluções de PF127 e PF127-SH em diferentes concentrações (0,8 mM; 1,6mM; 2,4 mM). O volume de solução polimérica adicionado foi o mesmo da solução original de AuNBs-CTAB (Densidade óptica  $(DO)_{790} = 1,0$ ). As suspensões resultantes de AuNBs-PF127 foram deixadas em repouso por 1 h para que o polímero interagisse com o CTAB ligado aos AuNBs, formando uma camada externa, blindando o CTAB (GOH *et al.*, 2012; GONG *et al.*, 2014). Já as suspensões resultantes de AuNBs-PF127-SH ficaram sob agitação vigorosa por 4 h, para, neste caso, favorecer a saída do CTAB ligado aos AuNBs e a sua substituição por PF127-SH. Finalmente, as suspensões de AuNBs foram centrifugadas e ressuspensas em água, objetivando a remoção de Pluronic em excesso.

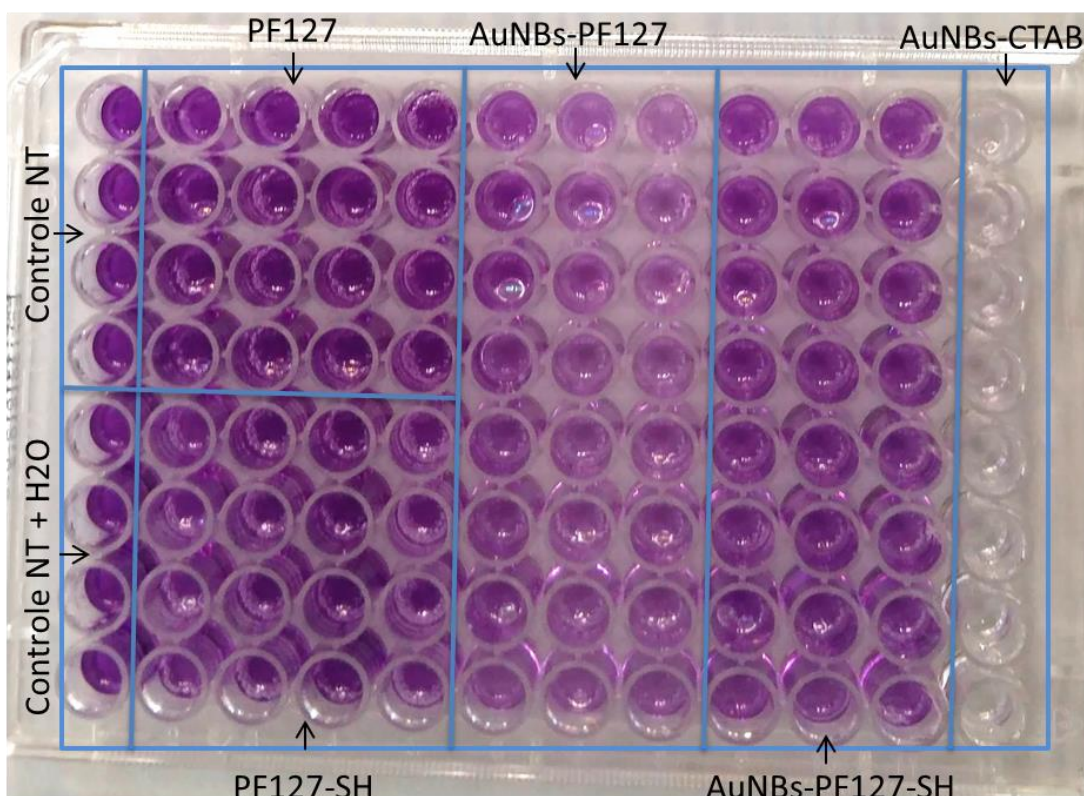
#### 4.4 CULTURA DE CÉLULAS E CITOTOXICIDADE

As diferentes composições de AuNBs (AuNRs-CTAB, AuNRs-F127 e AuNRs-F127-SH e os polímeros PF127 e PF127-SH) foram testadas com a finalidade de comparar a citotoxicidade das amostras na linhagem celular humana NSCLC (câncer de pulmão de células grandes) H460 (BANKS-SCHLEGEL; GAZDAR; HARRIS, 1985). A viabilidade celular foi quantificada por ensaio de conversão de brometo de 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazólio (MTT, Sigma-Aldrich®) (MOSMANN, 1983). O método MTT mede a atividade mitocondrial de células viáveis, sendo sensível para avaliar a citotoxicidade e a atividade celular

(MOSMANN, 1983). O princípio deste método consiste na absorção do sal MTT pelas células, o qual é reduzido no interior da mitocôndria a um produto chamado formazan. Este produto de coloração púrpura é acumulado dentro da célula e após solubilização no solvente dimetilsulfóxido (DMSO) pode ser quantificado em espectrofotômetro do tipo ELISA ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ ). Alterações na atividade mitocondrial celular resultam em mudanças na quantidade de formazan produzido e, conseqüentemente na absorbância, permitindo a quantificação da citotoxicidade do tratamento de maneira indireta (MOSMANN, 1983).

As células foram inicialmente cultivadas em frascos de  $25 \text{ cm}^2$  com 5 mL de DMEM High glucose (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Gibco™) suplementado com 10% de FBS (Soro Fetal Bovino; Gibco™) inativado, 1% de Penicilina-Estreptomicina (10,000 U/mL Gibco™) e encubadas a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  em atmosfera úmida com 5% de  $\text{CO}_2$ . As monocamadas de células lavadas com HBSS (Solução Salina Balanceada de Hanks'; Gibco™) foram tripsinizadas (Tripsina-EDTA 0.5%; Gibco™) e  $5 \times 10^3$  células/poço foram semeadas em placas de 96 poços com 100  $\mu\text{L}$  de DMEM 10% FBS, incubadas por 24 h e o meio foi substituído com meio fresco com as diferentes concentrações dos compostos testados, PF127 e PF127-SH (0,8 mM, 1,6mM e 2,4 mM), AuNBs-CTAB, AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH (10  $\mu\text{L}$  de suspensão por poço, normalizados com  $\text{DO}_{790}=1.0$ ), para os testes de conversão de MTT, depois de 24, 48 e 72 h de tratamento, como indicado. Como controles negativos foram utilizados poços não tratados (NT) e NT somente com água. Depois da incubação, 10  $\mu\text{L}$  da solução de MTT (Sigma-Aldrich®) 5 mg/mL PBS 1X foram adicionados e encubados por 2 horas. A fase líquida foi descartada e o formazan foi solubilizado em 100  $\mu\text{l}$  de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich®) para leitura das placas em SpectraMax® M2 OD<sub>490</sub>(Molecular Devices Corp.). Todos os testes foram feitos em quadruplicata, para cada amostra e controle (Figura 6). Os dados estão presentes como a porcentagem das leituras para os tratamentos de controle. Quando calculada, a diferença significativa na quantificação foi determinada pelo teste t de Student. Conforme recomendado, todas as soluções foram filtradas usando filtros de 0,1  $\mu\text{m}$  e as culturas foram testadas por PCR e confirmadas como livres de Mycoplasma (FRESHNEY, 2005)

**Figura 6.** Placas de 24h de tratamento com as respectivas amostras após a solubilização do formazan com DMSO.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

### 4.5.1 Ressonância magnética nuclear

Os espectros de  $^1\text{H}$  RMN (Ressonância Magnética Nuclear) das amostras de PF127 e PF127-SH foram realizadas no Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano (IMA) - UFRJ, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, em um equipamento *Varian Mercury VX 300* operando a 300 MHz. Os espectros foram obtidos utilizando uma sonda universal de 5 mm. 15 mg do polímero foram solubilizados em 0,6 mL de  $\text{CDCl}_3$  e transferidos para tubo de 5 mm. Utilizou-se TMS como padrão interno ( $\delta=0$  ppm) para os deslocamentos químicos do  $^1\text{H}$ . A largura espectral utilizada foi de 5408 Hz ( $\sim 14$  ppm) e 64 K (resolução digital de 0,1 Hz) para número de pontos de dados de 27082,6 Hz, com tempo de aquisição de 2,5 s. Os espectros foram processados utilizando o programa *MestreNova* (versão 11.02 - *MestreLab-Espanha*) utilizando um exponencial de 0,1 Hz.

#### **4.5.2 Espectroscopia de infravermelhos com transformadas de Fourier**

As medidas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras de PF127 e PF127-SH foram realizadas no Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano (IMA) - UFRJ, Laboratório multiusuário, em um equipamento Série Excalibur Varian Associated FT-IR 3100 no modo transmitância.

#### **4.5.3 Espectroscopia de absorção molecular no Visível**

As amostras de AuNBs foram analisadas por espectroscopia de absorção no visível (Vis) em um equipamento da marca JASCO modelo V-630, na faixa de comprimento de onda de 400 a 1000 nm. As amostras foram colocadas em cubetas de quartzo para a medição e a água Milli - Q foi utilizada como referência.

#### **4.5.4 Espalhamento de luz dinâmico**

O diâmetro hidrodinâmico aparente dos AuNBs foi medido por espalhamento de luz dinâmico (DLS) no equipamento Zetasizer Nano S, Malvern, comprimento de onda do feixe 632,8nm, ângulo de medida 173°, localizado no Laboratório de Desenvolvimento Galênio, Faculdade de Farmácia, UFRJ, utilizando temperatura de 25,0 ° C, água Milli Q como dispersante e cubetas de poliestireno descartáveis. A distribuição por número foi obtida através do algoritmo CONTIN aplicado para realizar o ajuste das funções de autocorrelação.

#### **4.5.5 Potencial zeta**

O potencial zeta dos AuNBs (D.O. = 1,0) foi medido no equipamento Zetasizer Nano ZS90, Malvern, a temperatura de 25,0 °C, e utilizando cubetas com eletrodo descartáveis, localizado no IMA, UFRJ.

#### **4.5.6 Microscopia eletrônica de transmissão**

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foi utilizada para caracterizar as formas dos AuNBs. As amostras para a realização das micrografias obtidas por TEM foram preparadas em grades de cobre revestidas com Formvar, secas ao ar e observadas em um JEOL 2100F operado a 200 kV, localizado no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas.

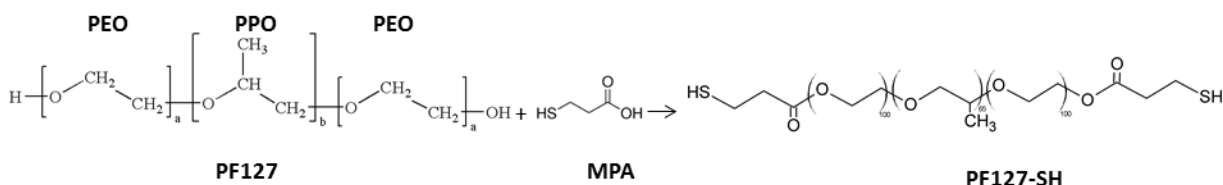


## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 FUNCIONALIZAÇÃO DO PF127

O PF127-SH foi obtido por reação de esterificação entre o ácido carboxílico do ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) e os grupos hidroxila terminais dos blocos PEO do copolímero PF127. A reação química é representada na Figura 7.

**Figura 7.** Reação de esterificação entre PF127, copolímero tribloco composto por PEO-PPO-PEO e MPA, dando origem ao PF127-SH.



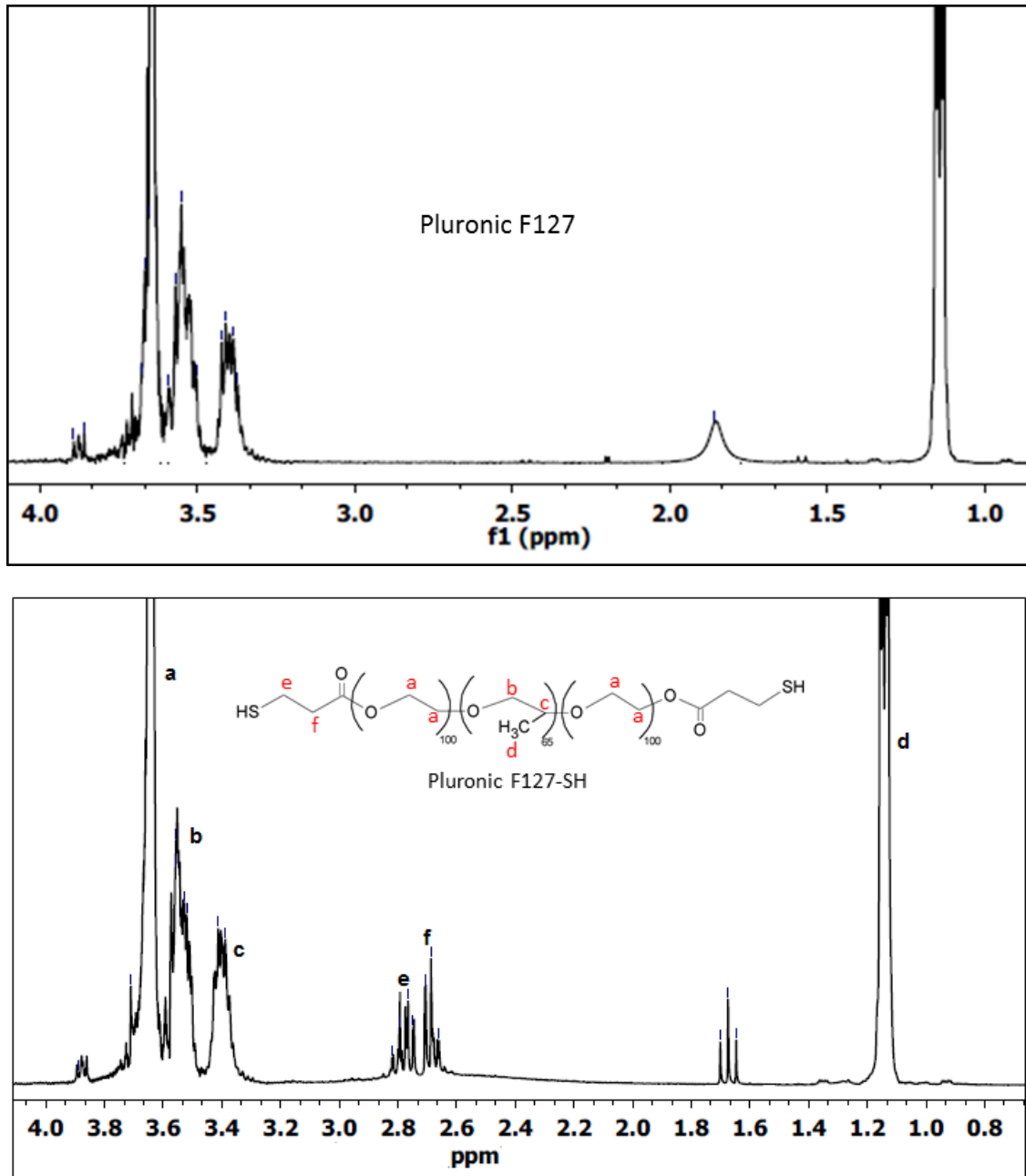
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

A Figura 8 apresenta o espectro de <sup>1</sup>H-NMR da amostra original (PF127) e da amostra funcionalizada (PF127-SH). O espectro <sup>1</sup>H-NMR do PF127-SH apresenta sinais típicos do polímero PF127, incluindo os picos a ( $\delta \sim 3,59 - 3,68$  ppm - CH<sub>2</sub> do PEO), b ( $\delta \sim 3,5 - 3,57$  ppm - CH<sub>2</sub> do PPO), c ( $\delta \sim 3,37-3,48$  ppm - CH do PPO), e d ( $\delta \sim 1,12 - 1,17$  ppm - CH<sub>3</sub> do PPO). Sinais adicionais apareceram no PF127-SH: dois tripletes associados aos grupos metileno adjacentes (e, f) do MPA. Estes pequenos tripletes entre 2,65 e 2,85 ppm pertencem ao MPA ligado ao PF127, estando de acordo com Schuetze e colaboradores (SCHUETZE *et al.*, 2016), com um pequeno deslocamento (0,1 ppm) no nosso espectro como resultado da ligação do MPA a cadeia do polímero.

Os espectros obtidos pela técnica de FT-IR do PF127 e PF127-SH também indicam sucesso na modificação química do polímero PF127 (Figura 9). A análise comparativa dos espectros de PF127-SH e PF127 mostra uma nova banda de absorção em 1732 cm<sup>-1</sup>, correspondente ao modo característico do grupo éster (SILVERSTEIN *et al.*, 2014) do recém-formado no PF127-SH, que não está presente no polímero original, conforme indicado na Figura 9. Esta banda de absorção indica claramente a ocorrência da reação de esterificação. Portanto, os grupos terminais de hidroxila dos blocos de PEO do PF127 foram covalentemente ligadas ao MPA, formando o PF127-SH, cuja estrutura química está apresentada na Figura 7. As bandas de absorção em 2882 cm<sup>-1</sup> e 1100 cm<sup>-1</sup> são atribuídas a vibrações de

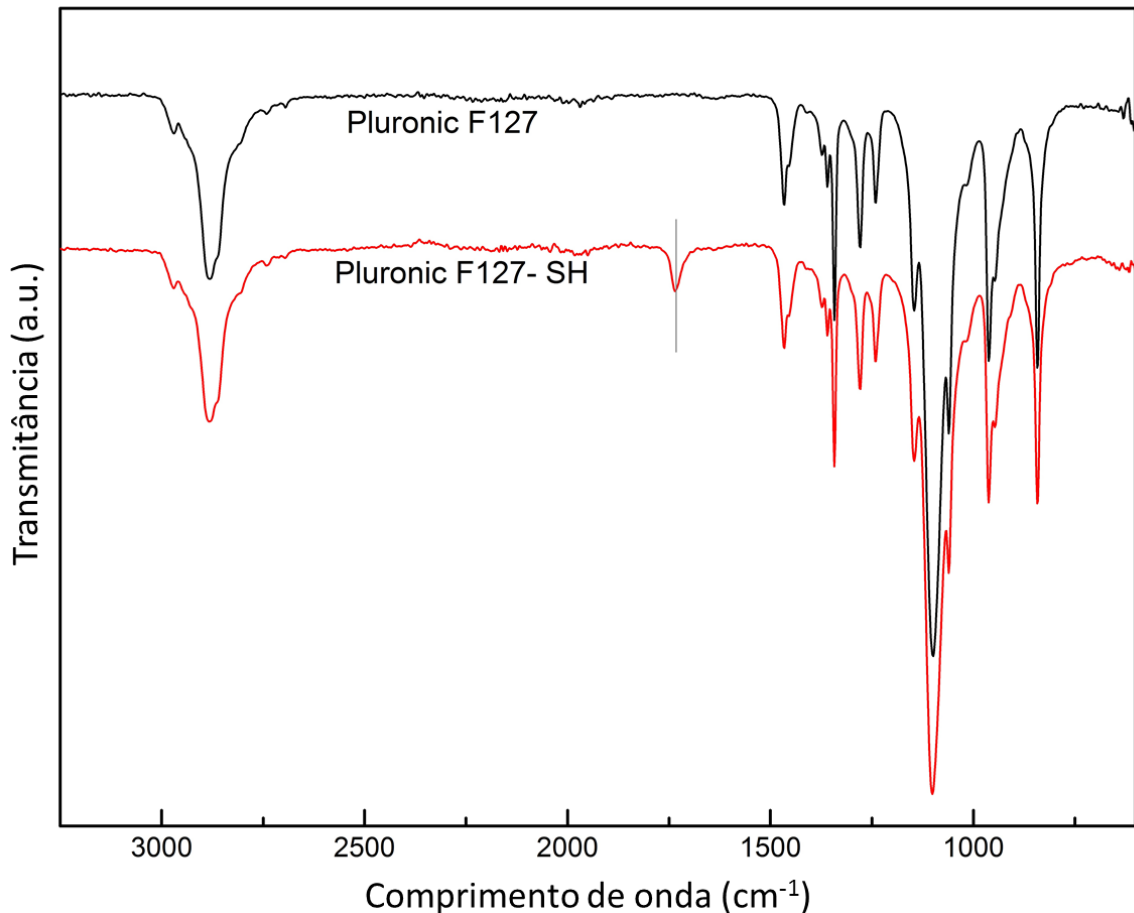
estiramento de CH e CO do PF127, e permanecem intactas no polímero na forma original de modificada. Adicionalmente, os estiramentos S-H são intrinsecamente pouco intensos (SILVERSTEIN *et al.*, 2014) e, conseqüentemente, não foram observados no espectro FT-IR do PF127-SH.

**Figura 8.** Espectros  $^1\text{H}$ NMR do PF127 e PF127-SH.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**Figura 9.** Espectro FT-IR do PF127 e PF127-SH, mostrando a banda de transmitância do PF127-SH, que está relacionado com o ester formado no PF127-SH, depois da funcionalização com MPA.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 5.2 PREPARO DOS NANOBASTÕES DE OURO

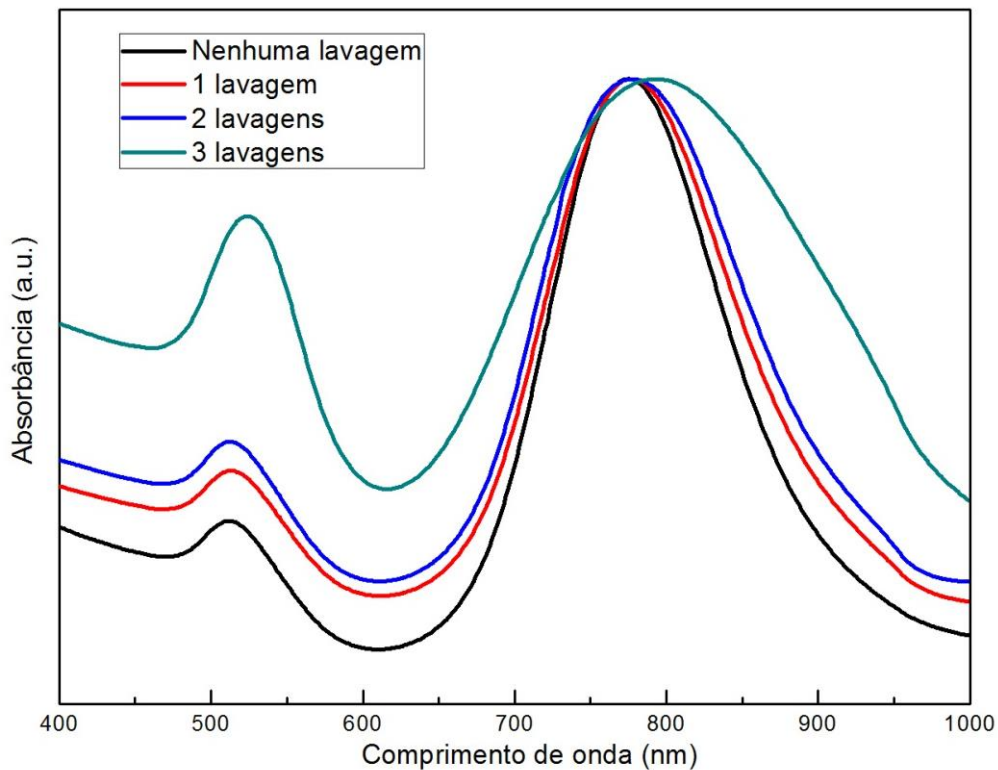
O método de crescimento mediado por sementes foi utilizado para sintetizar AuNBs com banda TPR em 510 nm e banda SPR em 780-790 nm, com razão de aspecto de 3,9. Este método utiliza pequenas "partículas de sementes" que são primeiramente sintetizadas a partir de sal de ouro e de agentes redutores fortes para promover rapidamente a formação de NPs pequenas e isotrópicas (sementes). Posteriormente as sementes são adicionadas a uma solução de crescimento contendo sal adicional, um agente redutor fraco (ácido ascórbico) e um "agente direcionador da estrutura" (CTAB) para controlar o formato final das partículas (MURPHY *et al.*, 2011; NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003).

A função do CTAB é de se adsorver a determinadas faces das partículas de sementes em crescimento, bloqueando o crescimento de cristais ao longo de certas

direções durante a lenta redução (MURPHY *et al.*, 2005), finalmente levando à formação de AuNBs, com uma camada dupla positiva de CTAB cobrindo a superfície (Figura 11a) (MURPHY *et al.*, 2011; NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003).

Uma grande fração de moléculas de CTAB pode ser removida da superfície dos AuNBs por múltiplas etapas de lavagem com água e centrifugação. No entanto, estas etapas de lavagem afetam a estabilidade dos AuNBs e fazem com que estes se agreguem em precipitados na solução. Sabe-se que as moléculas de CTAB atuam como surfactantes para passivar a superfície das partículas e manter a estabilidade sua coloidal. A remoção de CTAB da superfície da partícula de ouro resulta na desatibilização das nanopartículas em meio aquoso e formação de agregados. Para entender melhor este processo, espectros na região do visível foram obtidos para amostras de AuNBs-CTAB antes e depois de diferentes etapas de lavagens. A Figura 10 apresenta os espectros de AuNBs em diferentes estágios dos tratamentos de lavagem. A comparação do espectro dos AuNBs recém-sintetizados e dos AuNBs tratados por lavagem para remoção do CTAB revelou que o terceiro ciclo de lavagem causou alargamento nas bandas de ressonância de plásmon e um ligeiro desvio do pico do LPR para o vermelho. Além disso, um aumento considerável na intensidade do pico do TPR após a terceira rodada de lavagem indica a perda de estabilidade e possível formação de agregados, de acordo com GONG *et al.* (2014). Os resultados obtidos pelos espectros corroboram com os resultados observados no DLS, que sugerem a formação de agregados após a terceira lavagem das amostras de AuNBs-CTAB. Por este motivo, as suspensões de AuNBs-CTAB foram lavadas apenas 2 vezes antes do revestimento com os polímeros.

**Figura 10.** Espectro de absorção no VIS dos AuNBs-CTAB imediatamente pós a síntese e após 1, 2 e 3 lavagens.



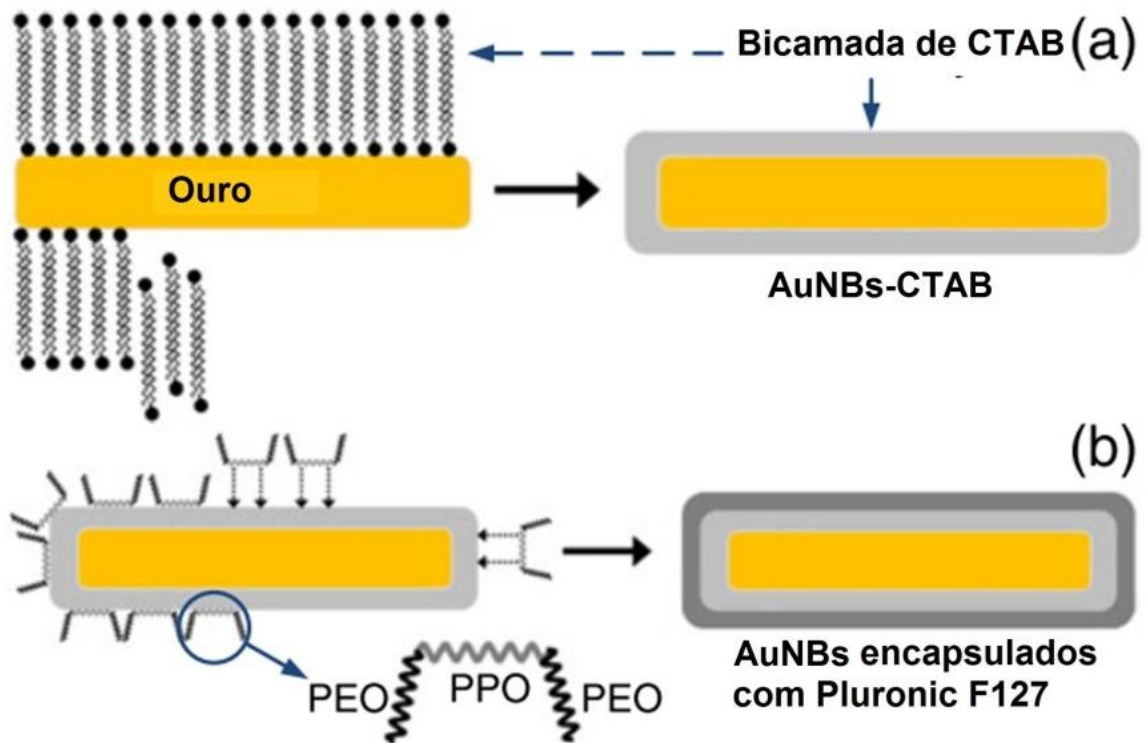
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

### 5.3 RECOBRIMENTO DOS NANOBASTÕES DE OURO COM O PF127 E CARACTERIZAÇÃO

O PF127-SH foi usado para substituir as moléculas de CTAB da superfície dos AuNBs com a finalidade de melhorar a biocompatibilidade de AuNBs para aplicações biológicas.

Já foi relatado anteriormente que o bloco de PPO (hidrofóbico) do PF127 pode interagir com a cauda hidrofóbica do CTAB presente na superfície dos AuNBs, formando um complexo estável (AuNBs-CTAB-polímero) com menor toxicidade do que os AuNBs-CTAB (Figura 11) (GOH *et al.*, 2012; GONG *et al.*, 2014). No entanto, o PF127 se adsorve aos AuNBs por meio de interações intermoleculares entre seu bloco hidrofóbico de PPO e a cadeia hidrofílica do CTAB (GONG *et al.*, 2014), e as moléculas de CTAB podem permear entre os AuNBs e o PF127, acarretando em um processo difusional que pode comprometer o uso deste complexo em organismos vivos, devido à alta toxicidade do CTAB. Esta abordagem utilizando o PF127 recobrindo com o CTAB foi utilizada como controle neste trabalho.

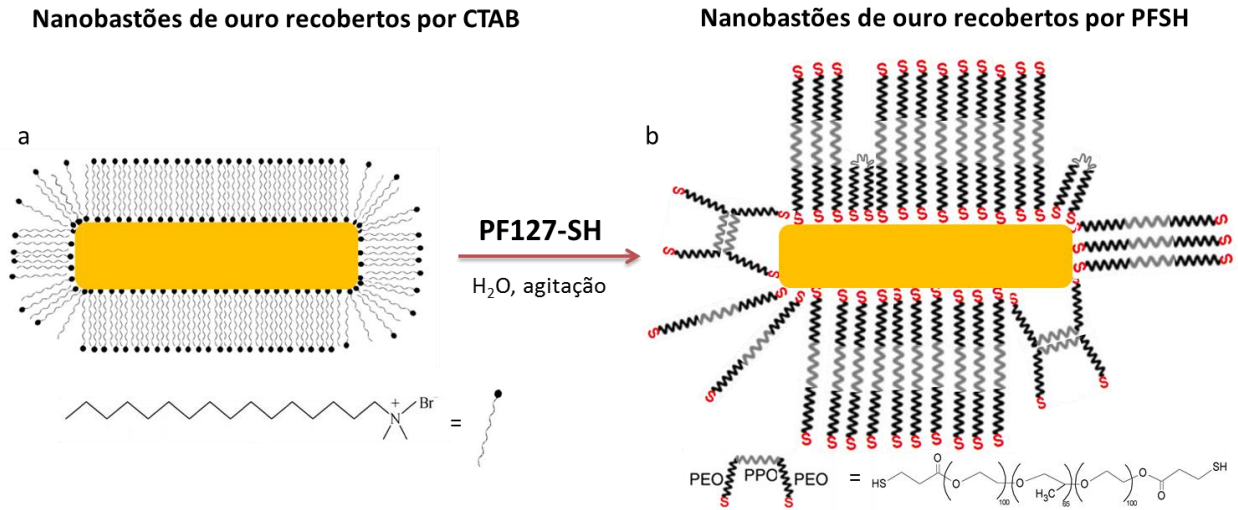
**Figura 11.** a) CTAB como agente indutor de estrutura durante a formação dos AuNRs. b) O bloco PPO do PF127 se liga com a cauda hidrofóbica do CTAB por interações hidrofóbicas, encapsulando os AuNRs.



Fonte: (GOH *et al.*, 2012)

No presente trabalho, visando garantir que a maioria das moléculas de CTAB fossem removidas dos AuNRs, os grupos terminais do PF127 foram funcionalizados com grupos tióis, que possuem forte afinidade por ouro e podem assim se ligar covalentemente aos AuNRs ( ligação S-Au ), substituindo o CTAB com mais eficiência (Figura 12b), fornecendo estabilidade coloidal e óptica, e removendo o CTAB do sistema (PENSA *et al.*, 2012). Estratégias similares já foram utilizadas por outros pesquisadores, empregando polímeros diversos, como o PEG (GONG *et al.*, 2014), policaprolactona (PCL) (KO *et al.*, 2016) e quitosana (ALMADA *et al.*, 2017), também objetivando a troca do CTAB ligado aos AuNRs.

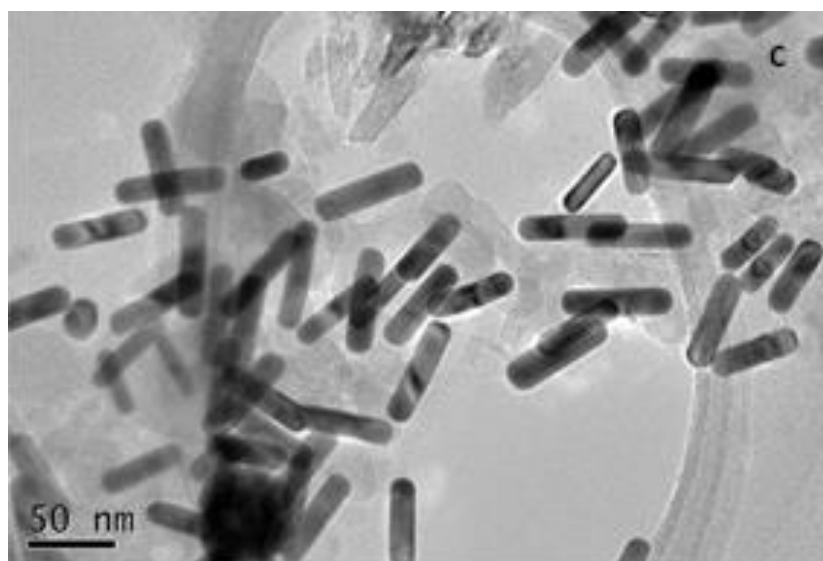
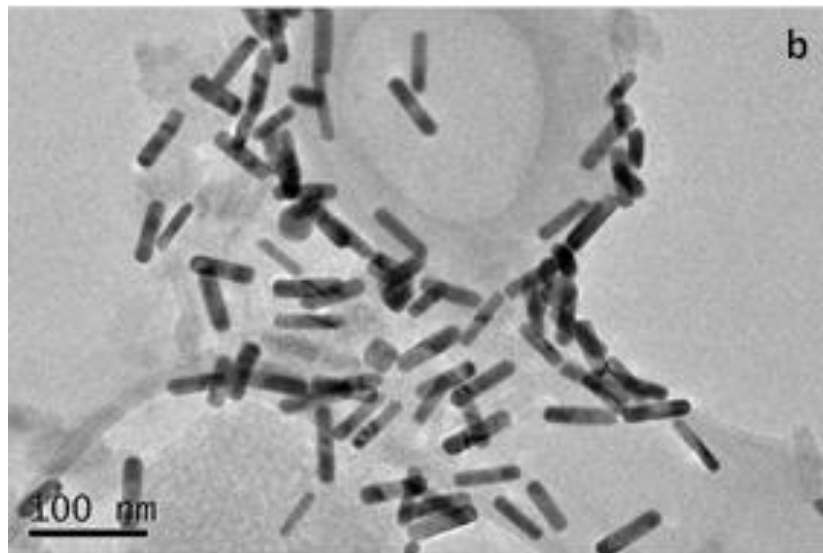
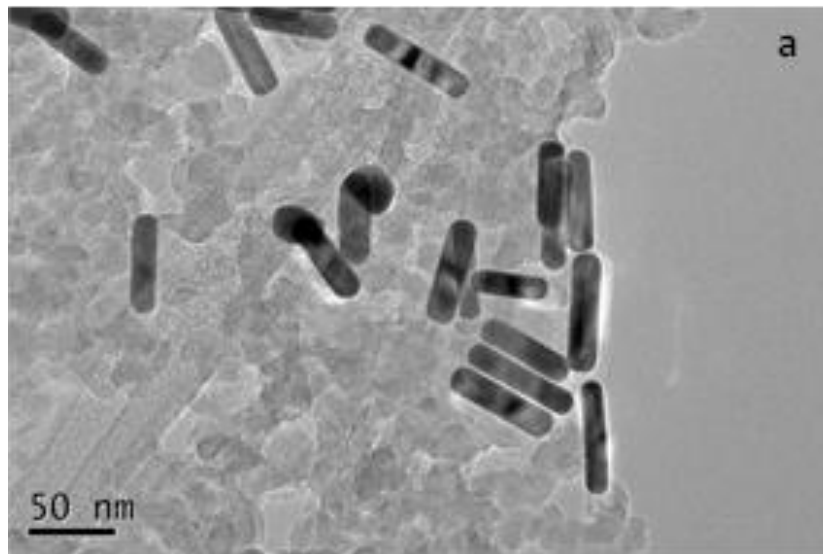
**Figura 12.** a) AuNBs recobertos por CTAB obtido por crescimento mediado por sementes, b) AuNBs recobertos por PF127, onde os blocos de PEO terminados com tiol de PF127 ligam-se a ouro, encapsulando AuNBs, favorecendo a saída do CTAB.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

A Figura 13 apresenta as micrografias obtidas por TEM dos sistemas em estudo. As imagens indicaram que os AuNBs sintetizados revestidos por CTAB, PF127 ou PF127-SH, preservaram o tamanho e forma, permanecendo similares. Além disso, os espectros dos AuNBs na região visível também indicam que os polímeros utilizados no revestimento não afetaram as propriedades dos AuNBs, porque não há alteração nas bandas de ressonância de plásmons das suspensões de AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH (Figura 14). Conforme mostra a Figura 15, a cor da suspensão também permaneceu constante antes (AuNBs-CTAB) e após o revestimento dos AuNBs com os polímeros. Estes resultados corroboram com as imagens obtidas por TEM, indicando que os polímeros não alteram as dimensões dos AuNBs e não causam agregação, mantendo sua estabilidade. Sendo assim, a funcionalização de AuNBs com moléculas PF127 ou PF127-SH se mostrou adequada para utilização na engenharia da superfície de partículas de ouro, considerando o aspecto tamanho/formato obtido nas micrografias, os espectros obtidos por espectroscopia no VIS e a coloração das amostras.

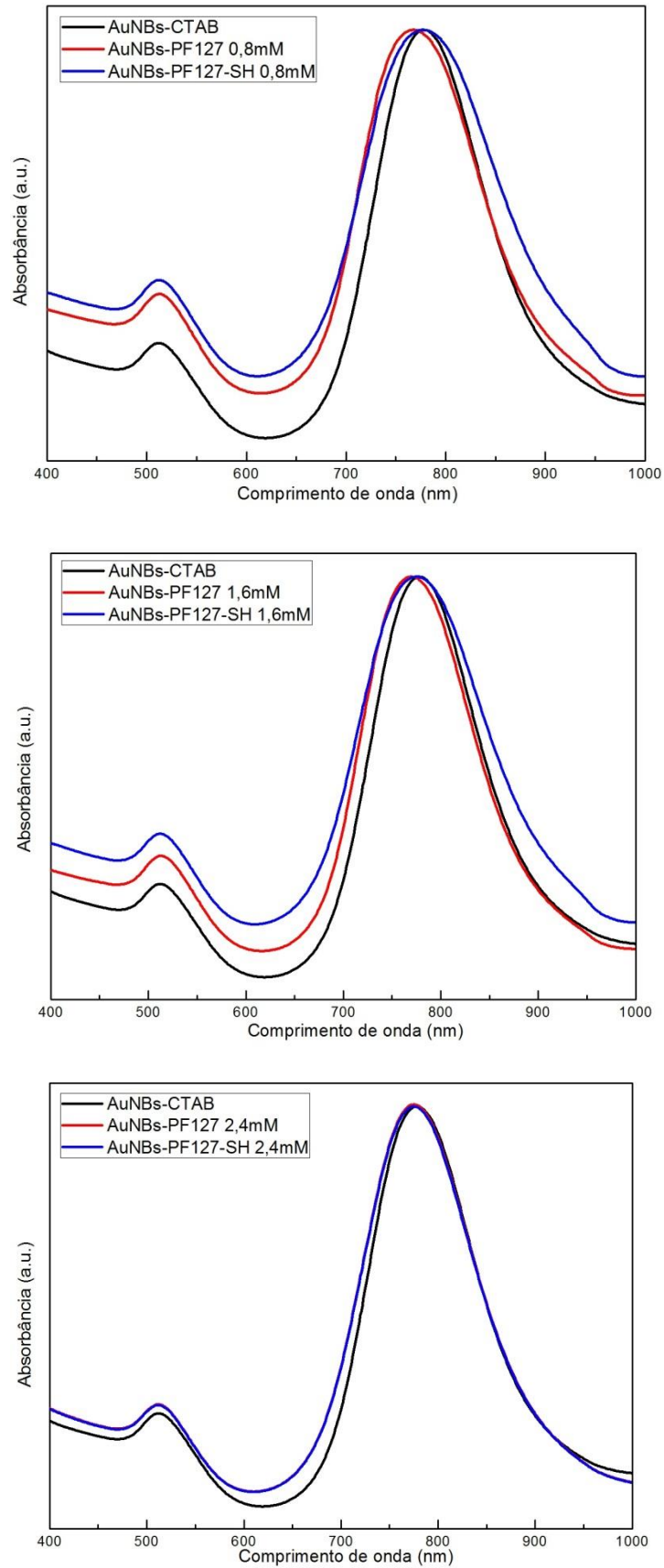
**Figura 13.** Micrografias obtidas por TEM. a) AuNRs-CTAB, b) AuNRs-PF127 e c) AuNRs-PF127-SH



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

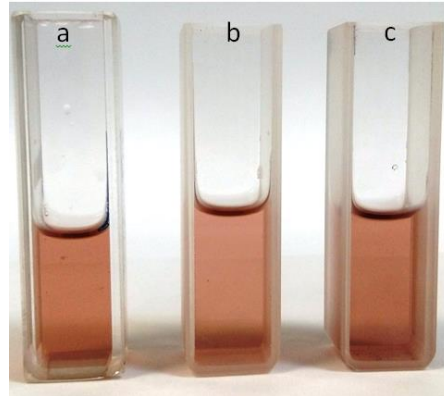


**Figura 14.** Espectro de varredura na região do VIS dos AuNBs-CTAB, AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH nas diferentes concentrações (0,8; 1,6; 2,4mM) das misturas reacionais.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

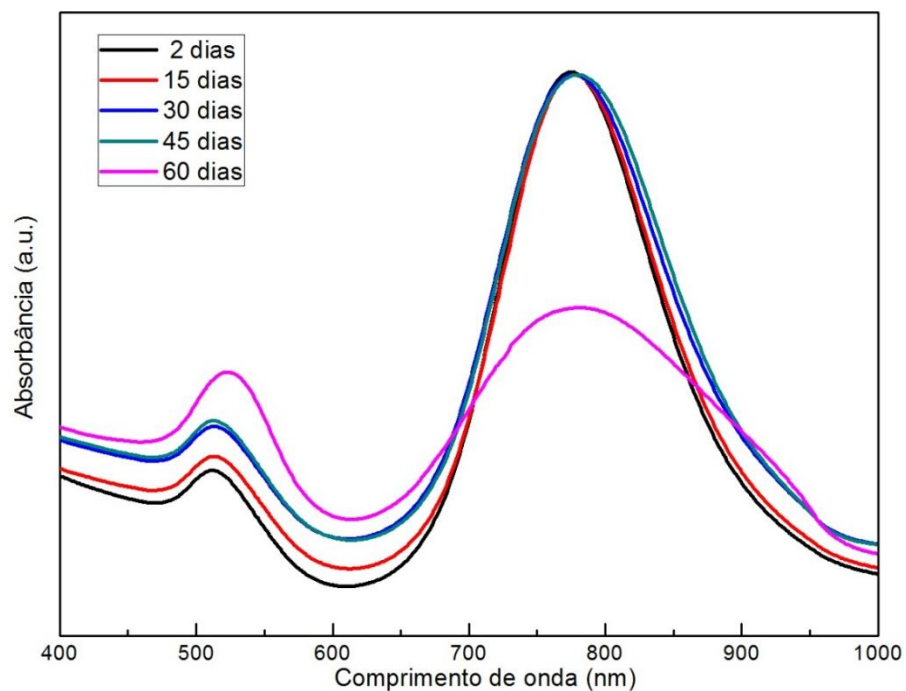
**Figura 15.** Suspensões de a) AuNBs-CTAB; b) AuNBs-PF127; c) AuNBs-PF127-SH



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Buscando avaliar a estabilidade coloidal da suspensão de AuNBs-PF127-SH em temperatura ambiente ao longo do tempo, os espectros eletrônicos foram monitorados a cada 15 dias por 60 dias. Os resultados revelaram que esta suspensão permaneceu estável por pelo menos 45 dias. No entanto, a estabilidade é perdida após 60 dias nas condições avaliadas. Isto pode ser sugerido com base no alargamento das bandas de ressonância de plásmons no espectro, conforme mostrado na Figura 16, e pela precipitação visível de algumas partículas.

**Figura 16.** Espectro na região do Vis ao longo do tempo para monitoramento da estabilidade coloidal dos AuNBs-PF127-SH.



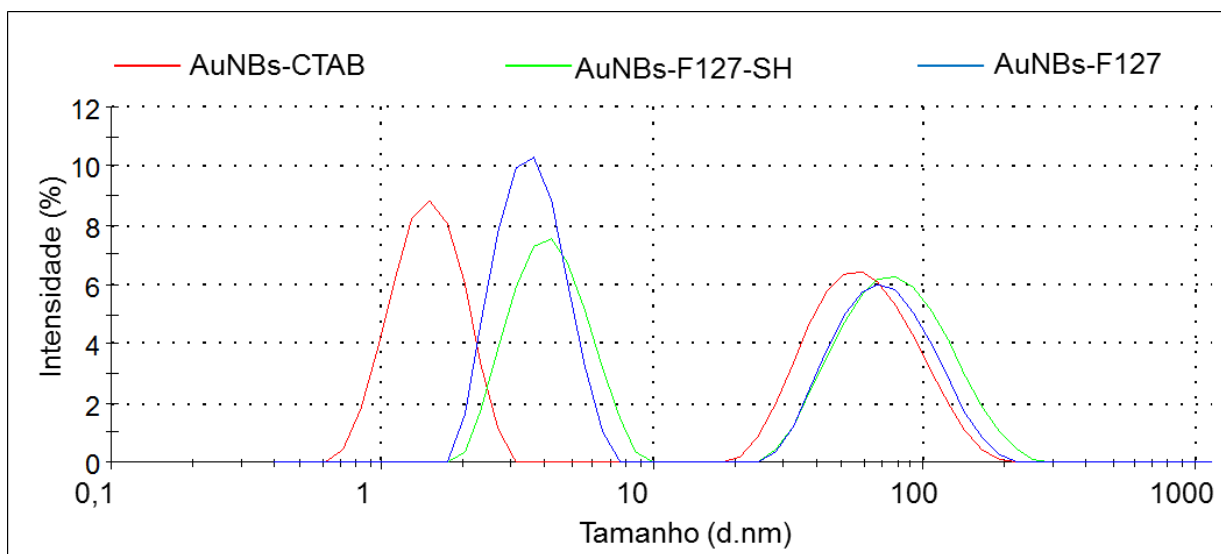
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Embora o revestimento orgânico não seja visível nas micrografias obtidas por TEM, medidas de espalhamento de luz dinâmico das partículas foram realizadas para obtenção do diâmetro hidrodinâmico dos AuNBs antes e após revestimento com os polímeros PF127 e PF127-SH. As funções de autocorrelação obtidas são reprodutíveis e utilizadas para calcular a distribuição de tamanho em função da intensidade da luz difusa (Figura 17), através do algoritmo CONTIN. Para todas as amostras, a distribuição exibe duas populações com diferentes diâmetros hidrodinâmicos. Isto pode ser relacionado ao fato de as nanopartículas serem anisométricas, resultando em dois tempos de decaimento diferentes: um tempo correspondendo ao movimento translacional e outro ao movimento rotacional. Como as aproximações DLS consideram as nanopartículas como esferas rígidas, os tamanhos obtidos no presente estudo são mostrados em termos de diâmetro hidrodinâmico aparente.

A comparação da amostra original de AuNBs-CTAB com amostras de AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH mostra um discreto aumento no tamanho, indicando que os objetos são maiores após o revestimento e que moléculas de polímero formam uma camada externa em AuNBs. O aumento no tamanho não é substancial para ser relacionado à agregação de nanopartículas, como mostrado na Tabela 1. A diferença observada entre AuNBs-PF127 e AuNBs-PF127-SH pode estar relacionada ao mecanismo de revestimento de cada polímero. Para AuNBs-PF127, os grupos PPO hidrofóbicos interagem com as cadeias hidrofóbicas CTAB, de modo que o bloco PPO envolve as nanopartículas e somente as cadeias de PEO serão estendidas para o meio aquoso, levando a um aumento discreto no tamanho das partículas 23. Por outro lado, para AuNBs-PF127-SH, pode-se considerar que as moléculas HS- (PEO-PPO-PEO)-SH podem assumir pelo menos duas configurações possíveis. Na primeira hipótese, ambos os grupos -SH estão ligados ao mesmo AuNB, expondo os blocos de PPO para interagir com outro bloco de PPO de outra nanopartícula, o que provavelmente levaria à agregação. Na segunda hipótese, apenas um grupo -SH é ligado a um AuNB permitindo que a cadeia polimérica se estique e levando a uma boa estabilização em meio aquoso, enquanto o outro grupo -SH provavelmente seria oxidado. De fato, considerando o pequeno aumento no diâmetro hidrodinâmico, pode-se supor que a maioria das moléculas HS-(PEO-PPO-PEO)-SH se organizam de acordo com a segunda possibilidade. O esquema 1

mostra as estruturas sugeridas para AuNBs-CTAB e AuNBs-PF127-SH, desconsiderando alguns resíduos de CTAB nas partículas funcionalizadas. Adicionalmente, tal como apresentado na Tabela 1, o diâmetro hidrodinâmico médio de AuNBs não aumenta consideravelmente quando a concentração de PF127 e PF127-SH na mistura reaccional é aumentada (de 0,8 mM para 2,4 mM). Portanto, a quantidade de polímero utilizado não afeta o tamanho hidrodinâmico das partículas.

**Figura 17.** Distribuição de tamanho por intensidade obtida pelo “Distribution Fit” no DLS



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

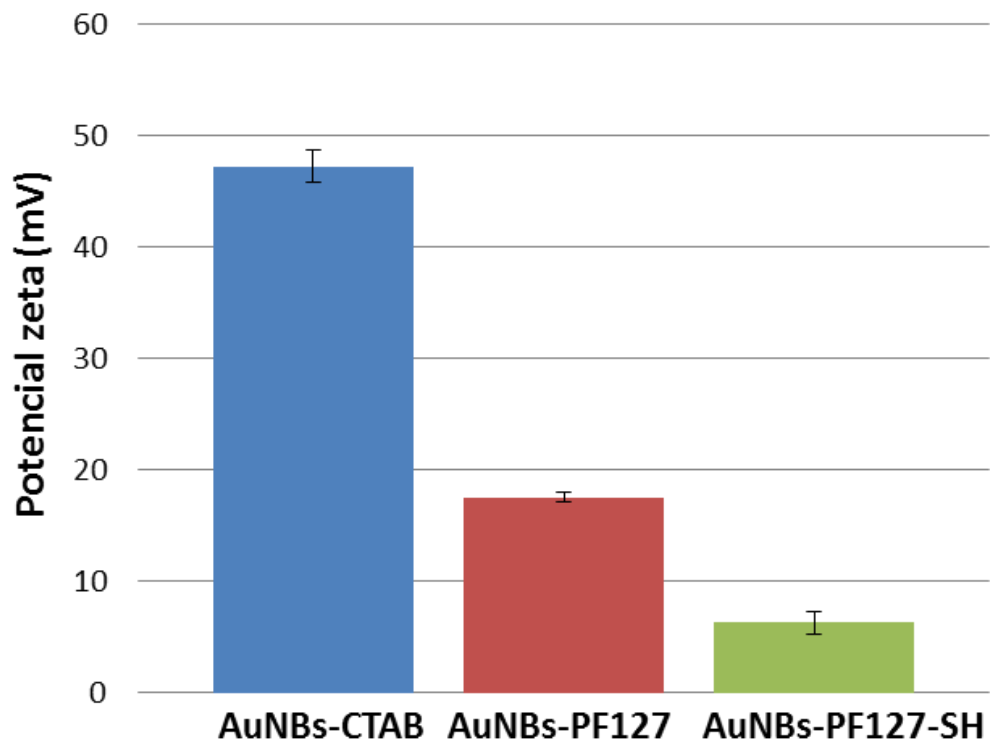
A encapsulação dos AuNBs-CTAB com o polímero PF127, e a troca de CTAB por PF127-SH, foram prontamente discerníveis por medidas eletrocinéticas. O valor do potencial zeta foi de  $47 \pm 1$  mV para AuNBs-CTAB,  $17,6 \pm 0,4$  mV para AuNBs-PF127 e  $6,3 \pm 0,7$  mV para AuNBs-PF127-SH, indicando que os AuNBs se tornaram menos positivos (Figura 18) após o recobrimento com polímeros. O PF127 é um polímero não iônico e, portanto, a redução da carga positiva pode ser associada à remoção do CTAB. Este efeito, que é ainda maior quando revestido com PF-127-SH, confirmando a maior eficiência dos grupos tióis na substituição do CTAB.

**Tabela 1.** Diâmetro hidrodinâmico aparente ( $D_{h,ap}$ ) das duas populações de diferentes amostras de AuNBs.

	$D_{h,ap}$ 1 <sup>a</sup>		$D_{h,ap}$ 2 <sup>a</sup>	
	população (nm)	DP	população (nm)	DP
AuNBs-CTAB	1,53	0,02	64	1
AuNBs-PF127 0,8 mM	3,34	0,02	73,9	0,8
AuNBs-PF127 1,6 mM	3,55	0,03	77,0	0,9
AuNBs-PF127 2,4 mM	3,71	0,08	78	2
AuNBs-PF127-SH 0,8 mM	3,61	0,04	87	4
AuNBs-PF127-SH 1,6 mM	4,10	0,06	88	2
AuNBs-PF127-SH 2,4 mM	4,31	0,04	86	1

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**Figura 18.** Carga da superfície (expressa como potencial zeta) dos AuNBs-CTAB, AuNBs-PF127 (2,4mM) e AuNBs-PF127-SH (2,4mM).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 5.4 VIABILIDADE CELULAR E CITOTOXICIDADE

Para a realização dos testes de viabilidade celular e citotoxicidade, as concentrações de todas as amostras de AuNBs foram padronizadas para atingir um valor de  $OD_{790} = 1,0$ . Para a realização dos testes de viabilidade celular e citotoxicidade todas as amostras de AuNBs foram normalizadas para um valor de  $OD_{790} = 1,0$ . Uma análise comparativa da citotoxicidade de cada formulação de AuNBs mostrou que o complexo AuNBs-F127-SH reduziu significativamente o efeito citotóxico das NPs nas células humanas (Figura 19), reforçando seu potencial para aplicações biomédicas.

Soluções com diferentes concentrações de PF127 e PF127-SH (0,8 mM; 1,6 mM; 2,4 mM) foram incubadas com AuNBs estabilizados com CTAB, produzindo assim formulações de AuNBs com diferentes coberturas superficiais de PF127 ou PF127-SH. Todas as amostras de AuNBs foram utilizadas após dois ciclos de lavagem e centrifugação para maior remoção do excesso de CTAB não ligado, no entanto, este procedimento de lavagem não remove todas as moléculas de CTAB da suspensão de AuNBs, pois mais lavagens fazem com que estabilidade da partícula seja perdida.

A alta citotoxicidade dos AuNBs-CTAB nas células H460 evidencia que o CTAB permanece nos AuNBs (viabilidade de 24,3% após 24h; viabilidade de 7,3% após 48h; viabilidade de 4,9% após 72h de tratamento; Figura 19a). Uma vez que as partículas se tornam instáveis na ausência de surfactante de CTAB, nenhuma lavagem adicional seria recomendada como uma tentativa de reduzir a toxicidade de AuNBs-CTAB. A viabilidade celular de AuNBs funcionalizada com diferentes concentrações de PF127 ou PF127-SH mostra que a funcionalização da superfície de AuNBs com estes polímeros reduz dramaticamente a citotoxicidade da formulação. A viabilidade celular foi preservada em aproximadamente 45 % quando tratada com AuNBs-PF127 e em 60% quando tratada com AuNRs-PF127-SH 24 h. Após períodos de incubação mais longos, 48h e 72h, a viabilidade celular reduziu consideravelmente para as amostras de AuNBs-PF127, especialmente para as amostras preparadas com 1,6 mM e 2,4 mM de PF127. A redução na citotoxicidade de AuNBs-PF127 foi anteriormente relatada por Goh *et al.* e Gong *et al.* em testes utilizando células de carcinoma de boca em tratamentos de 24 h (GOH *et al.*, 2012; GONG *et al.*, 2014). Neste trabalho, mostramos que os AuNBs-PF127-SH melhoram muito a viabilidade celular: em até cerca de 7 vezes mais, quando comparados aos

tratamentos AuNRs-PF127; e em até cerca de 10 vezes mais que os AuNRs-CTAB, para tratamentos de 72 h usando formulações de AuNBs-PF127-SH nas concentrações 1,6 mM ou 2,4 mM. A melhoria da compatibilidade celular com AuNBs-PF127-SH é justificada pela melhora na substituição da maioria dos CTAB ligados aos AuNBs, favorecendo sua saída, impulsionada pela maior afinidade entre o grupo tiol e o ouro. Contrariamente, nos AuNBs-PF127, o CTAB residual permanece entre os AuNBs e o PF127, sendo mais tóxico para a célula. Além disso, como o potencial zeta dos AuNBs-PF127-SH é muito menos positivo do que os dos AuNBs-PF127 e AuNBs-CTAB (Figura 18), espera-se que o sistema com grupos tióis cause menos danos à membrana celular. Embora formulações com diferentes coberturas superficiais de moléculas de PF127-SH tenham impacto similar sobre a viabilidade celular (~ 60%) após tratamentos de 24 h, é evidente que o uso de maior concentração de PF127-SH (2,4 mM) minimiza a toxicidade após exposição contínua (72 h). Isto sugere que o aumento da concentração dos polímeros é significativamente relevante, possivelmente permitindo arranjos específicos entre o polímero na superfície das partículas e melhorando a compatibilidade com células humanas vivas. Alguns estudos relatam que a substituição de CTAB por polímeros funcionalizados com tiol de fato melhora a biocompatibilidade das formulações de AuNBs (ALMADA *et al.*, 2017; GONG *et al.*, 2014; KHUNSUK *et al.*, 2018; RAYAVARAPU *et al.*, 2010; VONNEMANN *et al.*, 2014). Rayavarapu *et al.* (2010) também relatam que os AuNBs recobertos por PEG têm maior biocompatibilidade em comparação com AuNBs revestidos com PSS e AuNBs revestidos com CTAB, que mostraram citotoxicidade substancial. Recentemente, Khunsuk *et al.* (2018) utilizaram um copolímero zwitteriônico de metacrilóioxietil fosforilcolina (MPC) e ácido metacrílico (MA) com grupos tiol adicionais como um potencial estabilizante polimérico versátil para AuNBs. Neste trabalho, o MPC-MA foi conjugado com os AuNBs e doxorubicina, uma droga anticâncer com alta toxicidade, e os testes *in vitro* sugeriram que, o uso do MPC com terminações de tiol não apenas melhora a biocompatibilidade do AuNBs, mas também diminui a toxicidade da doxorubicina.

Testes controle de citotoxicidade aplicando diretamente os polímeros modificado (PF127-SH) e não modificado (PF127) em diferentes concentrações mostraram que esses polímeros isoladamente não são tóxicos para as células, mesmo 72 h após o tratamento (Figura 19b). Assim, o efeito citotóxico observado para os AuNBs-PF127 e AuNRs-PF127-SH não pode ser atribuído aos polímeros.

Finalmente, sugerimos que a citotoxicidade remanescente das amostras de AuNBs-PF127-SH se deve aos resíduos de CTAB na suspensão ou ainda ligados a AuNBs, e os esforços para eliminar a maioria dos efeitos citotóxicos ainda estão sendo feitos. Talvez em crescimento lento sem células tumorais os efeitos da citotoxicidade possam ser menores, e devem ser testados no futuro.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Tendo em vista o grande potencial de utilização dos AuNBs na área biomédica, principalmente para o desenvolvimento novas opções de tratamento de câncer, neste trabalho, os AuNBs foram sintetizados pelo método de crescimento mediado por sementes e um copolímero em bloco foi utilizado para melhorar sua biocompatibilidade. A metodologia de crescimento por sementes dá origem a AuNBs com uma dupla camada do surfactante CTAB, que é conhecido por ser extremamente tóxico aos seres vivos.

O polímero PF127 foi funcionalizado com grupos tiol em seus grupos terminais a partir da reação de esterificação com MPA. Esta modificação química foi comprovada a partir de análises de NMR e FT-IR. O objetivo da funcionalização do PF127 com tiol foi a substituição do CTAB ligado aos AuNBs, devido à maior afinidade da ligação S-Au.

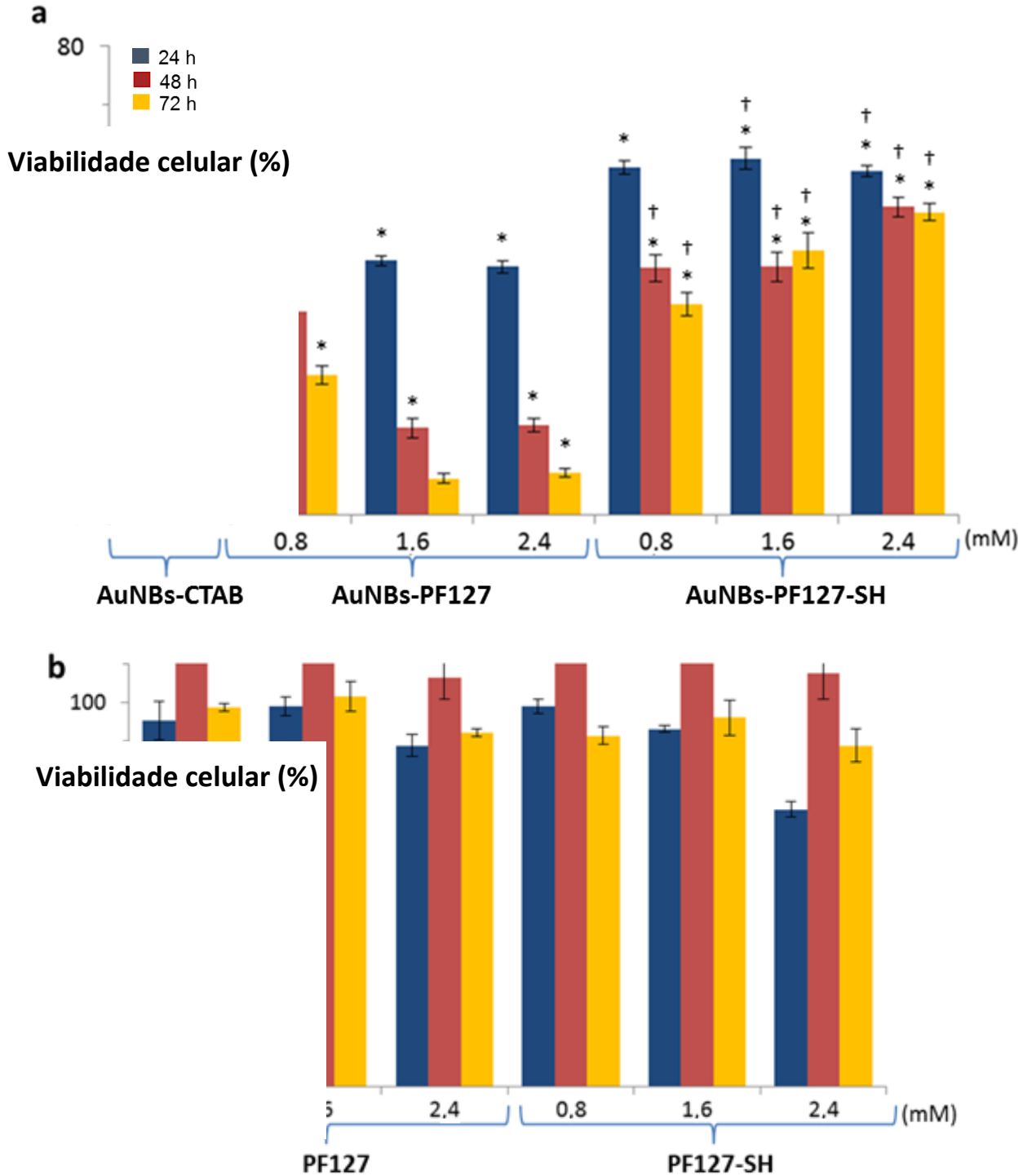
Foram preparados AuNBs revestidos com PF127-SH, cuja citotoxicidade *in vitro* foi significativamente menor em comparação aos controles com AuNBs revestidos com CTAB e AuNBs revestidos PF127 não modificado. Os resultados de potencial zeta mostram diminuição da carga das partículas após o recobrimento com PF127-SH, estando diretamente relacionado com a redução da citotoxicidade destas partículas para as células testadas. A estabilidade coloidal e óptica dos AuNBs revestidos com PF127-SH foi mantida, sendo estas características comprovadas por análises de TEM, DLS e espectroscopia no VIS.

Logo, os AuNBs revestidos com PF127-SH preparados neste trabalho promove novas oportunidades para o desenvolvimento de nanoplataformas multifuncionais composta por AuNBs, visando os tratamentos *in vivo* de câncer que possibilita o emprego de terapias simultâneas para administração de drogas/genes, hipertermia, TFD e diagnóstico.



**Figura 19.** Testes de citotoxicidade e viabilidade celular

a) Efeito na viabilidade celular dos AuNBs-CTAB e AuNBs com diferentes concentrações (0,8 mM; 1,6 mM; 2,4 mM) de moléculas de PF127 e PF-127-SH 24, 48 e 72h após tratamento. b) Efeito na percentual em função das células controle não tratadas. Significância considerada significativa  $p \leq 0,01$ . \* = diferença significativa em relação aos AuNBs-CTAB para os tratamentos de mesmo tempo. † = diferença significativa em relação aos AuNBs-PF127 para os tratamentos de mesmo tempo.



## REFERÊNCIAS

ABADEER, N. S.; BRENNAN, M.R.; WILSON, W. L.; MURPHY, C. J. Distance and Plasmon Wavelength Dependent Fluorescence of Molecules Bound to Silica-Coated Gold Nanorods. **ACS Nano**, Illinois, v. 8, n. 8, p. 8392–8406, 26 ago. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn502887j>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K.; FOSTER, T. H.; GIROTTI, A. W.; GOLLNICK, S. O.; HAHN, M.; HAMBLIN, M. R.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B. C.; GOLAB, J. Photodynamic therapy of cancer: An update. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.l.], v. 61, n. 4, p. 250–281, jul. 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.3322/caac.20114>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

AGRAWAL, V.; PAUL, M. K.; MUKHOPADHYAY, A. K. 6-Mercaptopurine and Daunorubicin Double Drug Liposomes—Preparation, Drug-Drug Interaction and Characterization. **Journal of Liposome Research**, [S.l.], v. 15, n. 3-4, p. 141–155, 9 jan. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16393906>>. Acesso em: 28 abr. 2017

AJNAI, G.; CHIU, A.; KAN, T.; CHENG, C.; TSAI, T.; CHANG, J. Trends of Gold Nanoparticle-based Drug Delivery System in Cancer Therapy. **Journal of Experimental and Clinical Medicine**, Taiwan, v. 6, n. 6, p. 172–178, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878331714001430>>. Acesso em: 28 abr. 2017

ALKILANY, A. M.; ALKILANY, A. M.; NAGARIA, P. K.; HEXEL, C. R.; SHAW, T. J.; MURPHY, C. J.; WYATT, M. D. Cellular Uptake and Cytotoxicity of Gold Nanorods: Molecular Origin of Cytotoxicity and Surface Effects. **Small**, [S.l.], v. 5, n. 6, p. 701–708, 20 mar. 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/smll.200801546>>. Acesso em: 25 out. 2017

ALKILANY, A. M.; ALKILANY, A. M.; THOMPSON, L. B.; BOULOS, S. P.; SISCO, P.N.; MURPHY, C.J. Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Illinois, v. 64, n. 2, p. 190–199, fev. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X11000500>>. Acesso em: 10 fev. 2017

AL-LAZIKANI, B.; BANERJI, U.; WORKMAN, P. Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. **Nature Biotechnology**, [S.l.], v. 30, n. 7, p. 679–692, 10 jul. 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nbt.2284>>. Acesso em: 09 maio 2018

ALMADA, M. ALMADA, M.; LEAL-MARTÍNEZ, B.H.; HASSAN, N.; KOGAN, M.J. Photothermal conversion efficiency and cytotoxic effect of gold nanorods stabilized with chitosan, alginate and poly(vinyl alcohol). **Materials Science and Engineering: C**, [S.l.], v. 77, p. 583–593, ago. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493116321993>>. Acesso em: 25 jul. 2017.

BAE, K. H. ; CHOI, S. H.; PARK, S.Y.; LEE, Y.; PARK, T. G. Thermosensitive Pluronic Micelles Stabilized by Shell Cross-Linking with Gold Nanoparticles. **Langmuir**, [S.l.], v. 22, n. 14, p. 6380–6384, jul. 2006. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la0606704>>. Acesso em: 29 set. 2017.

BALASUBRAMANIAN, S. BALASUBRAMANIAN, S.; RAVINDRAN G.; NAGAOKA, Y.; FUKUDA, T. An “all in one” approach for simultaneous chemotherapeutic, photothermal and magnetic hyperthermia mediated by hybrid magnetic nanoparticles. **RSC Advances**, [S.l.], v. 5, n. 32, p. 25066–25078, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA00168D> >. Acesso em: 24 jan., 2017.

BANKS-SCHLEGEL, S. P.; GAZDAR, A. F.; HARRIS, C. C. Intermediate filament and cross-linked envelope expression in human lung tumor cell lines. **Cancer research**, [S.l.], v. 45, n. 3, p. 1187–97, mar. 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2578876> >. Acesso em: 04 maio 2017.

BAO, Z. ; LIU, X.; LIU, Y.; LIU, H.; ZHAO, K. Near-infrared light-responsive inorganic nanomaterials for photothermal therapy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], p. 349–364, 2016. Disponível em: <<http://ac.els-cdn.com/S1818087616000039> >. Acesso em: 09 abr., 2017.

BARONZIO, G. F.; HAGER, E. D. **Hyperthermia in cancer treatment : a primer**. Boston: Springer, 2006.

BATRAKOVA, E. V. LI, S.; BRYNSKIKH, A. M.; SHARMA, A. K.; LI, Y. Effects of pluronic and doxorubicin on drug uptake, cellular metabolism, apoptosis and tumor inhibition in animal models of MDR cancers. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 143, n. 3, p. 290–301. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365910000131?via%3Dihub>. Acesso em: 10 maio 2018.

BATRAKOVA, E. V.; KABANOV, A. V. Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 130, n. 2, p. 98–106, 10 set. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365908002216?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 maio 2018.

BATRAKOVA, E. V.; LI, S.; MILLER, D. W. Mechanism of sensitization of MDR cancer cells by Pluronic block copolymers: Selective energy depletion. **British Journal of Cancer**, Laval, v. 85, n. 12, p. 1987–1997, 11 dez. 2001. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1054/bjoc.2001.2165>>. Acesso em: 10 maio 2018.

BECHET, D.; COULEAUD, P.; FROCHOT, C.; VIRIOT, M.; GUILLEMIN, F.; BARBERI-HEYOB, M. Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents. **Trends in Biotechnology**, [S.l.], v. 26, n. 11, p. 612–621, nov. 2008. Disponível em: <<http://elsevier.com/retrieve/pii/S0167779908002175>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

BHANA, S.; O'CONNOR, R.; JOHNSON, J.; ZIEBARTH, J. D. Henderson, Luke. Photosensitizer-loaded gold nanorods for near infrared photodynamic and photothermal cancer therapy. **Journal of Colloid and Interface Science**, Xiamen, v. 469, p. 8–16, maio 2016. Disponível em: <<http://elsevier.com/retrieve/pii/S0021979716300911>>. Acesso em: 10 maio 2018.

BLEEHEN, N. M. Hyperthermia in the treatment of cancer. **The British journal of cancer**, v. 5, p. 96–100, mar. 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6950783>>. Acesso em: 28 abr., 2017.

BOEHM, F.; CHEN, A. Medical Applications of Hyperthermia Based on Magnetic Nanoparticles. **Bentham Science Publishers**, [S.l.], v. 2, n. 2, p. 110–120, 1 jun. 2009. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1874-7647&volume=2&issue=2&spage=110>>. Acesso em: 07 abr., 2018.

BOISSELIER, E.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. **Chemical Society Reviews**, [S.l.], v. 38, n. 6, p. 1759, 2009. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b806051g>>. Acesso em: 10 fev., 2018.

BROWN, W.; Schillen, K.; Almgren, M.; Hvidt, S. Micelle and gel formation in a poly(ethylene oxide)/poly(propylene oxide)/poly(ethylene oxide) triblock copolymer in water solution: dynamic and static light scattering and oscillatory shear measurements. **The Journal of Physical Chemistry**, [S.l.], v. 95, n. 4, p. 1850–1858, fev. 1991. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100157a064>>. Acesso em: 10 maio 2018.

BURROWS, N. D.; VARTANIAN, A. M.; ABADEER, N. S.; GRZINCIC, E. M.; JACOB, L. M.; LIN, W. Anisotropic Nanoparticles and Anisotropic Surface Chemistry. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 632–641, 18 fev. 2016a. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcllett.5b02205>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

BURROWS, N. D.; LIN, W.; HINMAN, J. G.; DENNISON, J. M.; VARTANIAN, ARIANE M.; ABADEER, N. S.; GRZINCIC, E. M. Surface Chemistry of Gold Nanorods. **Langmuir**, Illinois, v. 32, n. 39, p. 9905–9921, 4 out. 2016b. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.langmuir.6b02706>>. Acesso em: 03 maio 2018.

CHARAN, S.; SANJIV, K.; SINGH, N.; CHIEN, F.; CHEN, Y. Development of Chitosan Oligosaccharide-Modified Gold Nanorods for in Vivo Targeted Delivery and Noninvasive Imaging by NIR Irradiation. **Bioconjugate Chemistry**, [S.l.], v. 23, n. 11, p. 2173–2182, 21 nov. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/bc3001276>>. Acesso em: 08 maio 2018.

CHATTERJEE, D. K.; FONG, L. S.; ZHANG, Y. Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Taiwan, v. 60, n. 15, p. 1627–1637, 14 dez. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930086>>. Acesso em: 10 abr., 2018.

CHEN, C.-C.; CHEN, LIN, Y.; WANG, C.; TZENG, H.; WU, C. DNA–Gold Nanorod Conjugates for Remote Control of Localized Gene Expression by near Infrared Irradiation. **Journal of the American Chemical Society**, [S.l.], v. 128, n. 11, p. 3709–3715, 22 mar. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16536544>>. Acesso em: 09 maio 2018.

CHEN, H.; SHAO, L.; LI, Q.; WANG, J. Gold nanorods and their plasmonic properties. **Chem. Soc. Rev.**, [S.l.], v. 42, n. 7, p. 2679–2724, 2013a. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C2CS35367A>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

CHEN, R.; ZHENG, X.; QIAN, H.; WANG, X.; WANG, J.; JIANG, X. Combined near-IR photothermal therapy and chemotherapy using gold-nanorod/chitosan hybrid nanospheres to enhance the antitumor effect. **Biomater. Sci.**, [S.l.], v. 1, n. 3, p. 285–293, 2013b. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C2BM00138A>>. Acesso em: 8 ago., 2017.

CHERUKURI, P.; GLAZER, E. S.; CURLEY, S. A. Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], v. 62, n. 3, p. 339–345, 2009. Disponível em: <<http://ac.els-cdn.com/S0169409X09003445>>. Acesso em: 6 abr., 2017.

CHOI, W. IL.; KIM, J.; KANG, C.; BYEON, C. Tumor Regression In Vivo by Photothermal Therapy Based on Gold-Nanorod-Loaded, Functional Nanocarriers. **ACS Nano**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. 1995–2003, 22 mar. 2011. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn103047r>>. Acesso em: 1 fev., 2017.

CHOI, W. IL.; SAHU, A.; KIM, Y.; TAE, G. Photothermal Cancer Therapy and Imaging Based on Gold Nanorods. **Annals of Biomedical Engineering**, [S.l.], v. 40, n. 2, p. 534–546, 2 fev. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10439-011-0388-0>>. Acesso em: 29 set., 2017.

DICKERSON, E. B.; DREADEN, E.C.; HUANG, X.; EL-SAYED, I.; CHU, H. Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice. **Cancer Letters**, [S.l.], v. 269, n. 1, p. 57–66, set. 2008a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18541363>>. Acesso em: 9 abr., 2017.

DINIZ, I. M. A.; CHEN, C.; XU, X.; ANSARI, S.; ZADEH, H. Pluronic F-127 hydrogel as a promising scaffold for encapsulation of dental-derived mesenchymal stem cells. **Journal of materials science. Materials in medicine**, [S.l.], v. 26, n. 3, p. 153, mar. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25773231>>. Acesso em: 28 fev., 2017.

DOLMANS, D. E. J. G. J.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. K. Photodynamic therapy for cancer. **Nature Reviews Cancer**, [S.l.], v. 3, n. 5, p. 380–387, maio 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12724736>>. Acesso em: 10 abr., 2017

DUBOWSKI, J. J.; TANEV, S. (EDS.). **Photon-based Nanoscience and Nanobiotechnology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2006.

ELAHI, N.; KAMALI, M.; BAGHERSAD, M. H. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. **Talanta**, [S.l.], v. 184, p. 537–556, 1 jul. 2018. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914018302054>>. Acesso em: 10 maio 2017.

ERATHODIYIL, N.; YING, J. Y. Functionalization of inorganic nanoparticles for bioimaging applications. **Accounts of Chemical Research**, [S.l.], v. 44, n. 10, p. 925–935, 18 out. 2011. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar2000327>>. Acesso em: 01 fev., 2017.

ESUMI, K.; MATSUHISA, K.; TORIGOE, K. Preparation of Rodlike Gold Particles by UV Irradiation Using Cationic Micelles as a Template. **Langmuir**, [S.l.], v. 11, n. 9, p. 3285–3287, set. 1995. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la00009a002>>. Acesso em: 10 mar., 2017.

EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem. Soc. Rev.**, [S.l.], v. 35, n. 3, p. 209–217, 2006. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=B514191E>>. Acesso em: 28 fev., 2018.

FANG, X.; Sha, X.; Jiang, Y. Pluronic P105/F127 mixed micelles for the delivery of docetaxel against Taxol-resistant non-small cell lung cancer: optimization and in vitro, in vivo evaluation. **International Journal of Nanomedicine**, [S.l.], v. 8, p. 73, jan. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23319859>>. Acesso em: 10 maio 2018.

FARADAY, M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [S.l.], v. 147, n. 0, p. 145–181, 1 jan. 1857. Disponível em: <<http://rstl.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rstl.1857.0011>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. Impact of nanotechnology on drug delivery. **ACS Nano**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 16–20, 27 jan. 2009. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn900002m>>. Acesso em: 06 abr., 2017.

FRANKLIN KIM; JAE HEE SONG, A.; YANG, P. Photochemical Synthesis of Gold Nanorods. **Journal of American Chemical Society**, [S.l.], v. 124, n. 48, p. 14316–14317, 2002. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja028110o>>. Acesso em: 28 fev. 2018.

FREITAS, L. F.; ANZENGRUBER, F.; PERUSSI, J.; RIBEIRO, A. Zinc phthalocyanines attached to gold nanorods for simultaneous hyperthermic and photodynamic therapies against melanoma in vitro. **Journal of Photochemistry & Photobiology**, [S.l.], v. 173, p. 181–186, 2017. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S101113441730283X/1-s2.0-S101113441730283X-main.pdf?\\_tid=0e84096c-c7ab-11e7-af85-00000aab0f6c&acdn](https://ac.els-cdn.com/S101113441730283X/1-s2.0-S101113441730283X-main.pdf?_tid=0e84096c-c7ab-11e7-af85-00000aab0f6c&acdn)>. Acesso em: 12 nov. 2017.

FRESHNEY, R. I. **Basic Principles of Cell Culture**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

GE, J.; CAHILL, T.; BEYGUI, R. E.; ZARE, R. N. Drug Release from Electric-Field-Responsive Nanoparticles. **ACS Nano**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 227–233, 24 jan. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn203430m>>. Acesso em: 06 abr. 2017.

GOH, D.; GONG, T.; DINISH, U. S.; MAITI, K.; FU, C. Pluronic Triblock Copolymer Encapsulated Gold Nanorods as Biocompatible Localized Plasmon Resonance-Enhanced Scattering Probes for Dark-Field Imaging of Cancer Cells. **Plasmonics**, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 595–601, 2012. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez29.capes.proxy.ufrj.br/content/pdf/10.1007/s1146>>. Acesso em: 29 set. 2017.

GOLE, A.; MURPHY, C. J. Seed-Mediated Synthesis of Gold Nanorods: Role of the Size and Nature of the Seed. **Chemistry of Materials**, [S.l.], v. 16, n. 19, p. 3633–3640, set. 2004. Disponível em: <Seed-Mediated Synthesis of Gold Nanorods: Role of the Size and Nature of the Seed>. Acesso em: 07 abr. 2017.

GOLE, A.; MURPHY, C. J. Polyelectrolyte-Coated Gold Nanorods: Synthesis, Characterization and Immobilization. **Chemistry of Materials**, Carolina do Sul, v. 17, n. 6, p. 1325–1330, mar. 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.10>>. Acesso em: 03 maio 2017.

GONG, T.; GOH, D.; OLIVO, M.; YONG, K. In vitro toxicity and bioimaging studies of gold nanorods formulations coated with biofunctional thiol-PEG molecules and Pluronic block copolymers. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, [S.l.], v. 5, p. 546–553, 30 abr. 2014. Disponível em: <<http://www.beilstein-journals.org/bjnano/content/5/1/64>>. Acesso em: 29 set., 2017.

GUO, X.; Wang, L.; Wei, X.; Zhou, S. Polymer-based drug delivery systems for cancer treatment. **Journal of Polymer Science**, [S.l.], v. 54, n. 22, p. 3525–3550, 15 nov. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pola.28252>>. Acesso em: 16 mai., 2017.



HAN, X.; LIU, Y.; YIN, Y. Colorimetric Stress Memory Sensor Based on Disassembly of Gold Nanoparticle Chains. **Nano Letters**, [S.l.], v. 14, n. 5, p. 2466–2470, 14 maio 2014. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nl500144k>>. Acesso em: 15 mai., 2018.

HAUCK, T. S.; GHAZANI, A. A.; CHAN, W. C. W. Assessing the Effect of Surface Chemistry on Gold Nanorod Uptake, Toxicity, and Gene Expression in Mammalian Cells. **Small**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 153–159, 18 jan. 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nl500144k>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

HELMCHEN, F.; DENK, W. Deep tissue two-photon microscopy. **Nature Methods**, [S.l.], v. 2, n. 12, p. 932–940, dez. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16299478>>. Acesso em: 28 fev., 2018.

HORIGUCHI, Y. Expression of Plasmid DNA Released from DNA Conjugates of Gold Nanorods. **Chemistry Letters**, Taiwan, v. 36, n. 7, p. 952–953, 5 jul. 2007. Disponível em: < <http://www.journal.csj.jp/doi/10.1246/cl.2007.952>>. Acesso em: 14 abr., 2018.

HUANG, H.-C.; BARUA, S.; SHARMA, G.; DEY, S.; REGE, K. Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 155, n. 3, p. 344–357, nov. 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365911003920>>. Acesso em: 10 fev., 2017.

HUANG, X.; EL-SAYED, I.; EL-SAYED, M. A. Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods. **Journal of the American Chemical Society**, [S.l.], v. 128, n. 6, p. 2115–2120, fev. 2006. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja057254a>>. Acesso em: 10 fev., 2017.

HUANG, X.; NERETINA, S.; EL-SAYED, M. A. Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. **Advanced Materials**, [S.l.], v. 21, n. 48, p. 4880–4910, 28 dez. 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200802789>>. Acesso em: 10 fev., 2017.

HUFF, T. B.; TONG, L.; ZHAO, Y. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. **Nanomedicine**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 125–132, fev. 2007. Disponível em: <<http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/17435889.2.1.125>>. Acesso em: 10 fev., 2017.

JAIMES-AGUIRRE, L. Biodegradable poly(D,L-lactide-co-glycolide)/poly(L- $\gamma$ -glutamic acid) nanoparticles conjugated to folic acid for targeted delivery of doxorubicin.

**Materials Science and Engineering: C**, [S.I.], v. 76, p. 743–751, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116312942>>. Acesso em: 28 abr., 2017.

JANA, N. R.; GEARHEART, L.; MURPHY, C. J. Seed-Mediated Growth Approach for Shape-Controlled Synthesis of Spheroidal and Rod-like Gold Nanoparticles Using a Surfactant Template. **Advanced Materials**, v. 13, n. 18, p. 1389–1393, set. 2001.

Disponível em: <[http://doi.wiley.com/10.1002/1521-4095\(200109\)](http://doi.wiley.com/10.1002/1521-4095(200109))>. Acesso em: 25 maio 2018.

JANG, B. Gold Nanorod–Photosensitizer Complex for Near-Infrared Fluorescence Imaging and Photodynamic/Photothermal Therapy In Vivo. **ACS Nano**, [S.I.], v. 5, n. 2, p. 1086–1094, 22 fev. 2011. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn102722z>>. Acesso em: 10 maio 2018.

JIA, F.; LIU, X.; LI, L.; MALLAPRAGADA, S. Multifunctional nanoparticles for targeted delivery of immune activating and cancer therapeutic agents. **Journal of Controlled Release**, [S.I.], v. 172, n. 3, p. 1020–1034, 28 dez. 2013. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24140748>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

JIAN, Z. Electrochemical synthesis and absorption properties of gold nanorods.

**Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.**, [S.I.], v. 18, n. 4, p. 6–9, dez. 2003. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF02838378>>.

Acesso em: 18 maio 2018.

JOKERST, J. V.; THANGARAJ, M.; KEMPEN, P.; SINCLAIR, R. Photoacoustic Imaging of Mesenchymal Stem Cells in Living Mice *via* Silica-Coated Gold Nanorods.

**ACS Nano**, [S.I.], v. 6, n. 7, p. 5920–5930, 24 jul. 2012. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn302042y>>. Acesso em: 08 maio 2018.

JUNG, Y.; REIF, R.; ZENG, Y.; WANG, R. K. Three-Dimensional High-Resolution Imaging of Gold Nanorods Uptake in Sentinel Lymph Nodes. **Nano Letters**, Seattle], v. 11, n. 7, p. 2938–2943, 13 jul. 2011. Disponível em: <

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nl2014394>>. Acesso em: 08 maio 2018.

KHLEBTSOV, N.; DYKMAN, L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies. **Chem. Soc. Rev**, [S.I.], v. 40, p. 1647–1671, 2011. Disponível em: < <http://pubs-rsc-org.ez29.capes.proxy.ufrj.br/en/content/articlepdf/2011/cs/c0cs00018c>>.

Acesso em: 20 mar., 2018.

KHUNSUK, P.; CHAWALITPONG, S.; SAWUTDEECHAIKUL, P.; PALAGA, T. HOVEN, V. Gold Nanorods Stabilized by Biocompatible and Multifunctional Zwitterionic Copolymer for Synergistic Cancer Therapy. **Molecular Pharmaceutics**, Bangkok, v. 15, n. 1, p. 164–174, 2 jan. 2018. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00780>>. Acesso em: 29 mar., 2018.

KIM, C. S.; TONGA, G.; SOLFIELL, D.; ROTELLO, V. M. Inorganic nanosystems for therapeutic delivery: Status and prospects. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Boston, v. 65, n. 1, p. 93–99, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X12002554>>. Acesso em: 5 abr., 2018.

KO, H.; BAE, S.; KIM, J.; YI, G.; PARK, J. Near-infrared light-triggered thermochemotherapy of cancer using a polymer–gold nanorod conjugate. **Nanotechnology**, [S.l.], v. 27, n. 17, p. 175102, 29 abr. 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26987360>>. Acesso em: 15 abr., 2017.

KUMAR, C. S. S. R.; MOHAMMAD, F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 9, p. 789–808, ago. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26987360>>. Acesso em: 1 fev., 2017.

KUO, W.-S. Gold Nanorods in Photodynamic Therapy, as Hyperthermia Agents, and in Near-Infrared Optical Imaging. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.l.], v. 49, n. 15, p. 2711–2715, 1 abr. 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200906927>>. Acesso em: 10 maio 2018.

LI VOLSI, A. Near-Infrared Light Responsive Folate Targeted Gold Nanorods for Combined Photothermal-Chemotherapy of Osteosarcoma. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Palermo, v. 9, n. 16, p. 14453–14469, 26 abr. 2017. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.7b03711>>. Acesso em: 12 fev., 2018.

LI, A.; SCIALABBA, C.; VETRI, V.; CAVALLARO, G.; LICCIARDI, M.; GIAMMONA, G. Gold Nanorod@TiO<sub>2</sub> Yolk-Shell Nanostructures for Visible-Light-Driven Photocatalytic Oxidation of Benzyl Alcohol. **Small**, [S.l.], v. 11, n. 16, p. 1892–1899, 1 abr. 2015. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.7b03711>>. Acesso em: 25 set., 2018.

LI, C.; XIA, F.; WANG, K.; WANG, XU, P. Dendrimer-Modified Gold Nanorods as High Efficient Controlled Gene Delivery Release System under Near-Infrared Light Irradiation - 2017-2018 - Nano Biomedicine and Engineering. **Nano Biomedicine and Engineering**, [S.l.], v. 9, n. 1, p. 82–95, 2017. Disponível em: <<http://nanobe.org/Data/View/420?type=100>>. Acesso em: 09 maio 2018.

LIPPOK, N.; VILLIGER, M.; ALBANESE, A.; MEIJER, J.; CHUNG, K.; PADERA, T. P. Depolarization signatures map gold nanorods within biological tissue. **Nature Photonics**, [S.l.], v. 11, n. 9, p. 583–588, 31 jul. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/nphoton.2017.128>>. Acesso em: 15 dez., 2017.

LIU, J.; LIANG, H.; LI, M.; LUO, Z.; ZHANG, J. Tumor acidity activating multifunctional nanoplatforam for NIR-mediated multiple enhanced photodynamic and photothermal tumor therapy. **Biomaterials**, [S.l.], v. 157, p. 107–124, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://www-sciencedirect-com.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S0142961217307810?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 maio 2018.

LIU, X.; HUANG, N.; LI, H.; WANG, H.; JIN, Q. Multidentate Polyethylene Glycol Modified Gold Nanorods for in Vivo Near-Infrared Photothermal Cancer Therapy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [S.l.], v. 6, n. 8, p. 5657–5668, 23 abr. 2014. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/am5001823>>. Acesso em: 1 fev., 2017.

LIZ-MARZÁN, L. M. Nanometals: Formation and color. **Materials Today**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 26–31, 1 fev. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970210400080X?via%3Dihub>>. Acesso em: 1 fev., 2018.

LUO, T.; HUANG, P.; GAO, G.; SHEN, G.; FU, S.; CUI, D.; ZHOU, C.; REN, Q. Mesoporous silica-coated gold nanorods with embedded indocyanine green for dual mode X-ray CT and NIR fluorescence imaging. **Optics express**, [S.l.], v. 19, n. 18, p. 17030–9, 29 ago. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21935063>>. Acesso em: 08 maio 2018.

MA, Y.; Liang, X.; Tong, S.; Bao, G.; Ren, Q. Gold Nanoshell Nanomicelles for Potential Magnetic Resonance Imaging, Light-Triggered Drug Release, and Photothermal Therapy. **Advanced Functional Materials**, [S.l.], v. 23, n. 7, p. 815–822, 18 fev. 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.201201663>>. Acesso em: 3 maio 2018.

MARANGON, I.; SILVA, A.; GUILBERT, T.; KOLOSNAJ-TABI, J.; MARCHIOL, C. Tumor Stiffening, a Key Determinant of Tumor Progression, is Reversed by Nanomaterial-Induced Photothermal Therapy. **Theranostics**, Paris, v. 7, n. 2, p. 329–343, 2017. Disponível em: <<http://www.thno.org/v07p0329.htm>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

MATTOUSSI, H.; ROTELLO, V. M. Inorganic nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Boston, v. 65, n. 5, p. 605–606, maio 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X13000975>>. Acesso em: 04 maio 2018.

MAYER, K. M. A Label-Free Immunoassay Based Upon Localized Surface Plasmon Resonance of Gold Nanorods. **ACS Nano**, Houston, v. 2, n. 4, p. 687–692, 22 abr. 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn7003734>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

MEHTALA, J. G.; ZEMLYANOV, D. Y.; MAX, J.; KADASALA, N.; ZHAO, S. Citrate-Stabilized Gold Nanorods. **Langmuir**, [S.l.], v. 30, n. 46, p. 13727–13730, 25 nov. 2014. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/la5029542>>. Acesso em: 14 fev., 2018.

MELANCON, M. P.; Lu, W.; Yang, Z.; Zhang, R.; Cheng, Z. In vitro and in vivo targeting of hollow gold nanoshells directed at epidermal growth factor receptor for photothermal ablation therapy. **Molecular Cancer Therapeutics**, [S.l.], v. 7, n. 6, p. 1730–1739, 4 jun. 2008. Disponível em: <<http://mct.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1535-7163.MCT-08-0016>>. Acesso em: 10 fev., 2018.

MIE, G. Contributions to the optics of turbid media, especially colloidal metal solutions. **Ann Phys** 1, [S.l.], v. 25, p. 377, 1908. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/234269335\\_Contributions\\_to\\_the\\_Optics\\_of\\_Turbid\\_Media\\_Particularly\\_of\\_Colloida](https://www.researchgate.net/publication/234269335_Contributions_to_the_Optics_of_Turbid_Media_Particularly_of_Colloida)>. Acesso em: 14 mar., 2018.

MIN, K. H.; KIM, Y.; WANG, Z.; KIM, J.; KIM, J.; KIM, S. Engineered Zn(II)-Dipicolylamine-Gold Nanorod Provides Effective Prostate Cancer Treatment by Combining siRNA Delivery and Photothermal Therapy. **Theranostics**, [S.l.], v. 7, n. 17, p. 4240–4254, 2017. Disponível em: <<http://www.thno.org/v07p4240.htm>>. Acesso em: 9 mai., 2018.

MIN, Y.; MAO, C.; XU, D.; WANG, J.; LIU, Y. Gold nanorods for platinum based prodrug delivery. **Chemical Communications**, [S.l.], v. 46, n. 44, p. 8424, 1 nov. 2010. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cc03108a>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, [S.l.], v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 16 dez. 1983. Disponível em: <Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay>. Acesso em: 4 maio 2018.

MUDDINETI, O. S.; GHOSH, B.; BISWAS, S. Current trends in using polymer coated gold nanoparticles for cancer therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v. 484, n. 1-2, p. 252–267, 2015. Disponível em: <10.1016/j.ijpharm.2015.02.038 >. Acesso em: 10 jan., 2018.

MURPHY, C. J.; SAU, T. K.; GOLE, A. M.; ORENDORFF, C. J.; GAO, J. Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly, and Optical Applications. **The Journal of Physical Chemistry B**, Carolina do Sul, v. 109, n. 29, p. 13857–13870, jul. 2005. Disponível em: <Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly, and Optical Applications >. Acesso em: 2 fev., 2018.

MURPHY, C. J.; THOMPSON, L.; CHERNAK, D. J.; YANG, J.; SIVAPALAN, S. T. Gold nanorod crystal growth: From seed-mediated synthesis to nanoscale sculpting. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 128–134, 2011. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S13-aa0b-498b-b904-fd2b711fc05c&acdnat=1519732521\\_c21cecba8425be](https://ac.els-cdn.com/S13-aa0b-498b-b904-fd2b711fc05c&acdnat=1519732521_c21cecba8425be) >. Acesso em: 27 fev., 2018.

NAKASHIMA, H. Self-Assembly of Gold Nanorods Induced by Intermolecular Interactions of Surface-Anchored Lipids. **Langmuir**, [S.l.], v. 24, n. 11, p. 5654–5658, 3 jun. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18442278>>. Acesso em: 05 abr., 2018.

NAM, J.; WON, N.; JIN, H.; CHUNG, H.; KIM, S. pH-Induced Aggregation of Gold Nanoparticles for Photothermal Cancer Therapy. **Journal of the American Chemical Society**, [S.l.], v. 131, n. 38, p. 13639–13645, 30 set. 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja902062j> >. Acesso em: 6 abr., 2017.

NGUYEN, V. D.; ZHENG, S.; HAN, J.; LE, V.; PARK, J. Nanohybrid magnetic liposome functionalized with hyaluronic acid for enhanced cellular uptake and near-infrared-triggered drug release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], v. 154, p. 104–114, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S3>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

NIIDOME, T. PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo applications. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 114, n. 3, p. 343–347, set. 2006. Disponível em: <<http://elsevier.com/retrieve/pii/S> >. Acesso em: 10 fev., 2017.

NIKHIL, R. J., ; LATHA, G.; MURPHY, C. J. Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods. **Journal of Phys. Chem.**, Carolina do Sul, v. 105, n.19, abr. 2001. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp0107964>>. Acesso em: 25 maio 2018.

NIKOOBAKHT, B.; EL-SAYED, M. A. Evidence for Bilayer Assembly of Cationic Surfactants on the Surface of Gold Nanorods. **Langmuir**, [S.l.], v. 17, n. 20, p. 6368–5374, 2001. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la010530o>>. Acesso em: 27 fev., 2018.

NIKOOBAKHT, B.; EL-SAYED, M. A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. **Chemistry of Materials**, [S.l.], v. 15, n. 10, p. 1957–1962, maio 2003. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cm020732l>>. Acesso em: 10 fev., 2017.

OBBER, C. A.; GUPTA, R. B. Nanoparticle Technology for Drug Delivery. **Ideas Concyteg**, [S.l.], v. 6, n. 72, p. 714–726, 2011. Disponível em: <[http://concyteg.gob.mx/ideasconcyteg/archivos/72072011\\_nanoparticle\\_technology\\_drug\\_delivery.pdf](http://concyteg.gob.mx/ideasconcyteg/archivos/72072011_nanoparticle_technology_drug_delivery.pdf)>. Acesso em: 28 mar., 2018.

ORNDORFF, C.; PONOMAREV, S.; DAI, W.; BEJAN, A. Thermal analysis in a triple-layered skin structure with embedded vasculature, tumor, and gold nanoshells. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, [S.l.], v. 111, p. 677–695, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0017931016341783>>. Acesso em: 25 maio 2018.

PENSA, E.; CORTÉS, E.; CORTHEY, G.; CARRO, P. The Chemistry of the Sulfur–Gold Interface: In Search of a Unified Model. **Accounts of Chemical Research**, [S.l.], v. 45, n. 8, p. 1183–1192, 21 ago. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar200260p>>. Acesso em: 25 fev., 2018.

PEREIRA, N. A. M. Platinum(II) Ring-Fused Chlorins as Near-Infrared Emitting Oxygen Sensors and Photodynamic Agents. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 310–315, 9 mar. 2017. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar200260p>>. Acesso em: 27 fev., 2018.

PÉREZ-JUSTE, J.; LIZ-MARZÁN, L. M.; CARNIE, S.; CHAN, D. Y. C.; MULVANEY, P. Electric-Field-Directed Growth of Gold Nanorods in Aqueous Surfactant Solutions. **Advanced Functional Materials**, [S.l.], v. 14, n. 6, p. 571–579, jun. 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.200305068>>. Acesso em: 28 fev., 2018.

PÉREZ-JUSTE, J.; PASTORIZA SANTOS, I.; LIZ MARZAN, L.; MULVANEY, P. Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.l.], v. 249, n. 17-18, p. 1870–1901, set. 2005. Disponível em: <<http://elsevier.com/retrieve/pii/S0010854505000287>>. Acesso em: 07 abr., 2018.

PISSUWAN, D.; VALENZUELA, S.; CORTIE, M. B. Prospects for gold nanorod particles in diagnostic and therapeutic applications. **Biotechnology & Genetic Engineering reviews**, [S.l.], v. 25, p. 93–112, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21412351> >. Acesso em: 08 maio 2018.

PITTO-BARRY, A.; BARRY, N. P. E. Pluronic block-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalisation and clinical advances. **Polym. Chem.**, [S.l.], v. 5, n. 10, p. 3291–3297, 24 mar. 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4PY00039K> >. Acesso em: 10 mai., 2018.

PRASAD, B. R. Long-term exposure of CdTe quantum dots on PC12 cellular activity and the determination of optimum non-toxic concentrations for biological use. **Journal of nanobiotechnology**, [S.l.], v. 8, p. 7, 25 mar. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2033805>>. Acesso em: 08 mai., 2017.

PUVANAKRISHNAN, P.; DIAGARADJANE, P.; KAZMI, S.M.; DUNN, A.; KRISHNAN, S. Narrow band imaging of squamous cell carcinoma tumors using topically delivered anti-EGFR antibody conjugated gold nanorods. **Lasers in Surgery and Medicine**, [S.l.], v. 44, n. 4, p. 310–317, abr. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22415634>>. Acesso em: 08 mai., 2018.

PY-DANIEL, K. R. Highly efficient photodynamic therapy colloidal system based on chloroaluminum phthalocyanine/pluronic micelles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S.l.], v. 103, p. 23–31, 2016. Disponível em: <<https://ac.els-cdn.com/S0e97690>>. Acesso em: 27 abr., 2018.

QIN, Z.; WANG, Y.; RANDRIANALISOA, J.; RAEESI, V.; CHAN, W. Quantitative Comparison of Photothermal Heat Generation between Gold Nanospheres and Nanorods. **Scientific Reports**, [S.l.], 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/srep29836.pdf> >. Acesso em: 15 dez., 2018.

QIU, Y.; LIU, Y.; WANG, L.; XU, L.; BAI, R. Surface chemistry and aspect ratio mediated cellular uptake of Au nanorods. **Biomaterials**, [S.l.], v. 31, n. 30, p. 7606–19, out. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20656344>>. Acesso em: 28 fev., 2018.



RAMESH, R. Tumor-targeted and pH-controlled delivery of doxorubicin using gold nanorods for lung cancer therapy. **International Journal of Nanomedicine**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 6773, 29 out. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20656344>>. Acesso em: 28 fev., 2018.

RAYAVARAPU, R. G. *In vitro* toxicity studies of polymer-coated gold nanorods. **Nanotechnology**, [S.l.], v. 21, n. 14, p. 145101, 9 abr. 2010. Disponível em: <<http://stacks.iop.org/0957-4484/21/i=14/a=145101?key=crossref.7bb9d6>>. Acesso em: 25 mai., 2018.

REUM, N.; FINK-STRAUBE, C.; KLEIN, T.; HARTMANN, R.; LEHR, C. Multilayer Coating of Gold Nanoparticles with Drug-Polymer Coadsorbates. **Langmuir**, [S.l.], v. 26, n. 22, p. 16901–16908, 16 nov. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20964349>>. Acesso em: 03 abr., 2018.

S. LINK; M. B. MOHAMED, AND; EL-SAYED, M. A. Simulation of the Optical Absorption Spectra of Gold Nanorods as a Function of Their Aspect Ratio and the Effect of the Medium Dielectric Constant. 1999. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp990183f>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

SANTOS, D. C. **Investigação de parâmetros de síntese e de potencialidades dos sistemas de nanopartículas de ouro empregando PF127 e PF127 tiolado como redutor/estabilizador**. Universidade Federal de Sergipe, 2015.

SCHUETZE, B.; MAYER, C.; LOZA, K. Conjugation of thiol-terminated molecules to ultrasmall 2 nm-gold nanoparticles leads to remarkably complex <sup>1</sup>H-NMR spectra. **Journal of Materials Chemistry B**, [S.l.], v. 4, n. 12, p. 2179–2189, 16 mar. 2016. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5TB02443A>>. Acesso em: 28 mar., 2018.

SILVERSTEIN, R. M. **Spectrometric identification of organic compounds**. NJ: John Wiley & Sons, 2014.

SIVAPALAN, S. T. VELLA, J.; YANG, T.; DALTON, M.; SWIGER, R. Plasmonic Enhancement of the Two Photon Absorption Cross Section of an Organic Chromophore Using Polyelectrolyte-Coated Gold Nanorods. **Langmuir**, [S.l.], v. 28, n. 24, p. 9147–9154, 19 jun. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/la300762k>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

SIVAPALAN, S. T. Off-Resonance Surface-Enhanced Raman Spectroscopy from Gold Nanorod Suspensions as a Function of Aspect Ratio: Not What We Thought. **ACS Nano**, [S.I.], v. 7, n. 3, p. 2099–2105, 26 mar. 2013. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn305710k>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

KRABALAK, S. E.; DEVETTER, B.; YANG, T.; DIJK, T. Gold Nanocages: Synthesis, Properties, and Applications. **Accounts of Chemical Research**, [S.I.], v. 41, n. 12, p. 1587–1595, 16 dez. 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn305710k>>. Acesso em: 23 mar., 2018.

SONG, X.; REN, Y.; ZHANG, J.; WANG, G.; HAN, X. Targeted delivery of doxorubicin to breast cancer cells by aptamer functionalized DOTAP/DOPE liposomes. **Oncology Reports**, [S.I.], v. 34, n. 4, p. 1953–1960, 17 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26238192>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

SONG, Z.; SHI, J.; ZHANG, Z.; QI, Z.; HAN, S. Mesoporous silica-coated gold nanorods with a thermally responsive polymeric cap for near-infrared-activated drug delivery. **Journal of Materials Science**, [S.I.], v. 53, n. 10, p. 7165–7179, 13 maio 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007>>. Acesso em: 09 maio 2018.

SUN, H.; SU, J.; MENG, Q.; YIN, Q.; CHEN, L.; GU, W.; ZHANG, Z.; YU, H.; ZHANG, P.; WANG, S. Cancer Cell Membrane-Coated Gold Nanocages with Hyperthermia-Triggered Drug Release and Homotypic Target Inhibit Growth and Metastasis of Breast Cancer. **Advanced Functional Materials**, [S.I.], v. 27, n. 3, p. 1604300, jan. 2017a. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adfm.201604300>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

SUN, Q.; You, Q.; Pang, X.; Tan, X.; Wang, J. A photoresponsive and rod-shape nanocarrier: Single wavelength of light triggered photothermal and photodynamic therapy based on AuNRs-capped & Ce6-doped mesoporous silica nanorods nanorods. **Biomaterials**, [S.I.], v. 122, p. 188–200, 2017b. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014>>. Acesso em: 13 mar., 2018.

SUSA, M.; IYER, A.; RYU, K.; HORNICEK, F.; MANKIN, H.; AMIJI, M. Doxorubicin loaded Polymeric Nanoparticulate Delivery System to overcome drug resistance in osteosarcoma. **BMC Cancer**, [S.I.], v. 9, n. 1, p. 399, 16 dez. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/199171>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

TAYLOR, J.; HUEFNER, A.; LI, L.; WINGFIELD, J. MAHAJAN, S. Nanoparticles and intracellular applications of surface-enhanced Raman spectroscopy. **The Analyst**, [S.I.], v. 141, n. 17, p. 5037–5055, 15 ago. 2016. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C6AN01003B>>. Acesso em: 17 abr., 2018

VAN LOO, G.; SAELENS, X.; MACFARLANE, M.; MARTIN, S. J. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. **Cell Death and Differentiation**, [S.I.], v. 9, n. 10, p. 1031–1042, 16 set. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12232790>>. Acesso em: 07 abr., 2018.

VAN VLERKEN, L. E.; DUAN, Z.; LITTLE, S.; SEIDEN, M. Augmentation of therapeutic efficacy in drug-resistant tumor models using ceramide coadministration in temporal-controlled polymer-blend nanoparticle delivery systems. **The AAPS journal**, [S.I.], v. 12, n. 2, p. 171–180, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20143195>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

VANKAYALA, R.; LIN, C.; KALLURU, P.; CHIANG, C.; HWANG, K. Gold nanoshells-mediated bimodal photodynamic and photothermal cancer treatment using ultra-low doses of near infra-red light. **Biomaterials**, [S.I.], v. 35, n. 21, p. 5527–5538, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961214003251>>. Acesso em: 24 abr., 2018.

VON MALTZAHN, G. Computationally Guided Photothermal Tumor Therapy Using Long-Circulating Gold Nanorod Antennas. **Cancer Research**, [S.I.], v. 69, n. 9, p. 3892–3900, 1 maio 2009. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-08-4242>>. Acesso em: 24 mai., 2017.

VONNEMANN, J.; AGRAWAL, A.; BANDARU, N. K. Polyglycerolsulfate Functionalized Gold Nanorods as Optoacoustic Signal Nanoamplifiers for In Vivo Bioimaging of Rheumatoid Arthritis. **Theranostics**, [S.I.], v. 4, n. 6, p. 629–641, 2014. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-08-4242>>. Acesso em: 10 dez., 2017.

WANG, T.; BEDI, D.; FAGBOHUN, O.; POTTURI, L. Enhanced binding and killing of target tumor cells by drug-loaded liposomes modified with tumor-specific phage fusion coat protein. **Nanomedicine**, [S.I.], v. 5, n. 4, p. 563–574, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20528452>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

WANG, Y.; GAO, S.; YE, W.; YOON, H.; YANG, Y. Co-delivery of drugs and DNA from cationic core–shell nanoparticles self-assembled from a biodegradable copolymer. **Nature Materials**, [S.I.], v. 5, n. 10, p. 791–796, 24 out. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16998471>>. Acesso em: 28 abr., 2018.

WEBB, J. A.; BARDHAN, R. Emerging advances in nanomedicine with engineered gold nanostructures. **Nanoscale**, [S.l.], v. 6, n. 5, p. 2502, 13 fev. 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3nr05112a>>. Acesso em: 5 mai., 2018.

WEISSLEDER, R. A clearer vision for in vivo imaging. **Nature Biotechnology**, [S.l.], v. 19, n. 4, p. 316–317, 1 abr. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11283581>>. Acesso em: 15 MAI., 2017.

WONG, M.-Y.; CHIU, G. N. C. Simultaneous liposomal delivery of quercetin and vincristine for enhanced estrogen-receptor-negative breast cancer treatment. **Anti-Cancer Drugs**, San Diego, v. 21, n. 4, p. 401–410, abr. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20110806>>. Acesso em: 15 mai., 2018.

WOODCOCK, J.; GRIFFIN, J. P.; BEHRMAN, R. E. Development of Novel Combination Therapies. **New England Journal of Medicine**, [S.l.], v. 364, n. 11, p. 985–987, 17 mar. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11283581>>. Acesso em: 28 fev., 2018.

WU, X.; DENG, Z.; NIAN, L.; ZHANG, W. Efficiency Improvement in Polymer Light-Emitting Diodes by “Far-Field” Effect of Gold Nanoparticles. **Particle & Particle Systems Characterization**, [S.l.], v. 32, n. 6, p. 686–692, 1 jun. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ppsc.201400241>>. Acesso em: 2 fev., 2018.

XIA, Y.; LI, W.; COBLEY, C.; CHEN, J.; XIA, X. Gold Nanocages: From Synthesis to Theranostic Applications. **Acc chemical research**, [S.l.], v. 18, n. 4410, p. 914–924, 2011. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021>>. Acesso em: 20 mai., 2018.

XIA, Y.; HALAS, N. J. Shape-Controlled Synthesis and Surface Plasmonic Properties of Metallic Nanostructures. **MRS Bulletin**, Cambridge, v. 30, n. 05, p. 338–348, 31 maio 2005. Disponível em: <[http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0883769](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0883769)>. Acesso em: 10 mar., 2018.

YANG, S.; PALANIKUMAR, L.; JEONG, S.; KIM, K.; LEE, J. Synergistic Effect of Photothermal Therapy and Chemotherapy Using Camptothecin-Conjugated Gold Nanorods. **Particle & Particle Systems Characterization**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 307, 1 fev. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.100>>. Acesso em: 9 mai., 2018.

YANG, S.; YE, F.; XING, D. Intracellular label-free gold nanorods imaging with photoacoustic microscopy. **Optics express**, [S.l.], v. 20, n. 9, p. 10370–5, 23 abr. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 8 mai., 2018.

YE, T.; DAI, Z.; MEI, F.; ZHANG, X.; ZHOU, Y. Synthesis and optical properties of gold nanorods with controllable morphology. **Journal of Physics: Condensed Matter**, [S.l.], v. 28, n. 43, p. 434002, 2 nov. 2016. Disponível em: <<http://stacks.iop.org/0953-8984/28/i=43/a=434002?key=crossref.2>>. Acesso em: 10 mar., 2018.

YEN, S. K.; PADMANABHAN, P.; SELVAN, S. T. Multifunctional iron oxide nanoparticles for diagnostics, therapy and macromolecule delivery. **Theranostics**, [S.l.], v. 3, n. 12, p. 986–1003, 7 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24396508>>. Acesso em: 24 jan., 2018.

ZHANG, N.; LI, S.; HUA, H.; LIU, D.; SONG, L. Low density lipoprotein receptor targeted doxorubicin/DNA-Gold Nanorods as a chemo- and thermo-dual therapy for prostate cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v. 513, n. 1-2, p. 376–386, 20 nov. 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27613256>>. Acesso em: 30 out., 2017.

ZHANG, P. *et al.* Noncovalent Ruthenium(II) Complexes–Single-Walled Carbon Nanotube Composites for Bimodal Photothermal and Photodynamic Therapy with Near-Infrared Irradiation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [S.l.], v. 7, n. 41, p. 23278–23290, 21 out. 2015. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn101617n>>. Acesso em: 20 maio 2017.

ZHANG, W.; GILSTRAP, K.; WU, L. Synthesis and Characterization of Thermally Responsive PF127–Chitosan Nanocapsules for Controlled Release and Intracellular Delivery of Small Molecules. **ACS Nano**, [S.l.], v. 4, n. 11, p. 6747–6759, 23 nov. 2010. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn101617n>>. Acesso em: 20 mai., 2017.

ZHANG, Y.; QIAN, J.; WANG, D.; WANG, Y.; HE, S. Multifunctional Gold Nanorods with Ultrahigh Stability and Tunability for In Vivo Fluorescence Imaging, SERS Detection, and Photodynamic Therapy. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.l.], v. 52, n. 4, p. 1148–1151, 21 jan. 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201207909>>. Acesso em: 10 maio 2018.

ZHANG, Z.; WANG, J.; CHEN, C. Gold Nanorods Based Platforms for Light-Mediated Theranostics. **Theranostics**, v. 3, n. 3, p. 223–238, 2013. Disponível em: <<http://www.thno.org/v03p0223.htm>>. Acesso em: 10 maio 2018.

ZHAO, T. WU, H.; YAO, S. Q.; XU, Q.; XU, G. Nanocomposites Containing Gold Nanorods and Porphyrin-Doped Mesoporous Silica with Dual Capability of Two-Photon Imaging and Photosensitization. **Langmuir**, Singapore, v. 26, n. 18, p. 14937–14942, 21 set. 2010. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la102556u>>. Acesso em: 10 maio 2018.

ZIJLSTRA, P.; CHON, J. W. M.; GU, M. Five-dimensional optical recording mediated by surface plasmons in gold nanorods. **Nature**, [S.l.], v. 459, n. 7245, p. 410–413, 21 maio 2009. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/abs/10.1038/nature08053>>. Acesso em: 15 dez., 2017.

## APÊNDICA A - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

ZANETTI, M.R.L.; PICCIANI, P.H.S.; PERCEBOM, A. M.; SABINO, B. Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais (2017). Functionalized Gold nanorods with conductive PEDOT:PSS. Gramado: SBPMat, 2017.

ZANETTI, M.R.L.; PICCIANI, P.H.S.; PERCEBOM, A. M. I Workshop de Aplicações de Polímeros e Surfactantes em Solução (2017). Encapsulação de nanocilindros de ouro com PVA e PF127. Rio de Janeiro: WAPS, 2017.

ZANETTI, M.R.L.; PICCIANI, P.H.S.; PERCEBOM, A. M, DIAS, M. 5th French Brazilian Meeting on Polymers (2018). Thiolated Copolymer Encapsulated Gold Nanorods. Florianópolis: FBPol, 2018.