



Nanodiamantes com pontos quânticos de carbono imobilizados, como novos nanomateriais para teranóstica

Nanodiamonds with immobilized carbon quantum dots as new nanomaterials for theranostics.

Coordenador: Professor Volodymyr ZAITSEV

Departamento de Química Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Instituições participantes: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Instituto Oswaldo Cruz

Georgia Tech Research Institute

Áreas do conhecimento predominantes:

QU – Química

1.06.03.04-2 Química de Interfaces

1.05.07.08-6 Superfícies e Interfaces; Películas e Filamentos

1.06.01.02-3 Síntese Orgânica

2.10.07.00-4 Toxicologia

3.06.03.12-9 Medicamentos

Setembro 2018

SUMÁRIO

1. Equipe.....	3
2. Resumo.....	4
3. Abstract.....	4
4. O objetivo do projeto.....	5
4.1. Objetivo geral	5
4.2. Objetivos específico.....	5
5. Qualificação do problema.....	6
5.1. Entrega de drogas.....	6
5.2. Invasiva terapia de câncer.	7
6. Como o projeto pode resolver dos problemas	8
7. Justificativa para escolha do tema	10
7.1. Partículas nanodiamantes.....	10
7.2. Derivados de grafeno e nanopontos quânticas de carbono	11
8. Etapas de execução do projeto com respectivo cronograma de atividades	12
9. Plano do trabalho	13
10. Metodologia proposta.....	14
11. Os resultados esperados.....	17
12. Potencial de impacto dos resultados do ponto de vista técnico-científico, de inovação, difusão, sócio-econômico e ambiental	17
13. Colaborações ou parcerias já estabelecidas para a execução do projeto	18
14. Perspectivas de colaborações interinstitucionais para a execução do projeto	18
15. Recursos financeiros de outras fontes aprovados para aplicação no projeto.....	18
16. Disponibilidade efetiva de infraestrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto.....	18
17. O orçamento detalhado	19
17.1. Custeio.....	19
17.2. Capital	20
18. Bibliografia relacionada ao projeto	20

1. Equipe

Coordenador		
Dr. Volodymyr Zaitsev, Professor, D.Sc., PhD	Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro	Gestão geral, planejamento da pesquisa, geração da ideia, discussão dos resultados, publicações científicas
Pesquisadores		
Dr. Mykhailo Nazarkovskyy, pós-doutorado	Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro	Tratamento mecânico e químico de nanodiamantes. Preparação de suspensão de nanodiamantes. Otimização da estabilidade da suspensão. Oxidação da superfície, imobilização de grupos funcionais. Partículas e caracterização de superfície (adsorção BET, tamanho de partícula em estado sólido (microscopia) e em solução (espalhamento dinâmico de luz, DLS)
MSc. Albina Mikhraliieva, doutorada		Imobilização dos QDs na superfície do nanodiamantes, investigação das propriedades químicas dos materiais (microscopia, XPS, análise funcional, propriedades luminescentes), área superficial, propriedades de adsorção. Elaboração do relatório e parte experimental para publicações
MSc. Andrew Moskalenko, doutorado		Síntese de pontos quânticos de carbono (CQDs) pela abordagem bottom-up em nanoreatores. Otimização do procedimento de preparação versus rendimento quântico da luminescência do CQD e cor da luminescência. Desenvolvimento do procedimento de imobilização de CQDs em nanodiamantes.
MSc. Olena Artiushenko, doutorada		Preparação de complexos metálicos (M = Eu, Tb) com pontos quânticos de carbono (CQDs) imobilizados sobre nanodiamantes (NDs). Otimização do procedimento versus intensidade e energia luminescente. Investigação de nanopartículas híbridas NDs@CQDs/M complexes
Pesquisadores		
Dr. Luiz Anastacio Alves, PhD	Fundação Oswaldo Cruz	Coordenação da pesquisa relacionada com aplicação biomédica de nanodiamantes
MS. Edith Alejandra Carreno Mendivelso, Dotorada		Implementação na prática das nanopartículas desenvolvidas para estudo dos efeitos antitumorais da terapia fotodinâmica e terapia sonodinâmica em células de câncer de mama usando estudos in vivo
Dr. Kostiantyn Turcheniuk, PhD	Georgia Institute of Technology	Transferência de conhecimento para desagregação de nanodiamantes segundo o pedido de patente dos EUA no. 16MST037. Desenvolvimento da metodologia para preparação de suspensão estável de nanodiamantes em solução fisiológica

2. Resumo

Entre as aplicações mais promissoras de nanopartículas estão a medicina e a biotecnologia. Nessas áreas, os nanomateriais têm sido usados para administração de medicamentos, terapia fotodinâmica e fototérmica, para teranóstica. Até hoje, os nanomateriais mais utilizados para aplicação biomédica são: metais (Au, Ag, Pt), óxidos metálicos (SiO_2 , TiO_2) e materiais à base de carbono (nanotubos de carbono, fulerenos, grafeno). No entanto, a aplicação biomédica de nanomateriais conhecidos é bastante limitada devido à eventual citotoxicidade e baixa estabilidade coloidal. Portanto, a importância do desenvolvimento de novas nanopartículas é geralmente reconhecida.

Entre os novos candidatos, as estruturas baseadas em carbono atraem muita atenção devido à sua biocompatibilidade, alta área de superfície e estabilidade. Entre eles, nanodiamonds (NDs) e quantum pontos de carbono (CQDs) são reconhecidos como uns novos candidatos a aplicações nanobiotecnológicas.

A ideia da pesquisa é combinar propriedades atrativas de NDs para biotecnologia e medicina (baixa citotoxicidade, fácil metabolização, capacidade de penetrar nas células e sair da célula sem danificar a membrana) com propriedades atrativas de CQDs para diagnóstico médico (forte e estável fotoluminescência). A combinação destes dois nanomateriais pode também dar um efeito sinérgico da estabilização dos objetos híbridos em solução fisiológica (devido à forte carboxilação da superfície dos CQDs que carregam negativamente as partículas em meios básicos). A imobilização dos CQDs na superfície de NDs também pode aumentar a área de superfície das partículas e sua capacidade de maior funcionalização química.

Esta pesquisa está focada na elaboração e investigação de novos nanomateriais híbridos baseados em NDs, com CQDs covalentemente imobilizados (NDs@CQDs) e sua aplicação em teranóstica e em terapia fotodinâmica de câncer. Para possibilitar a utilização de partículas em terapia sonodinâmica, o compósito de partículas mistas será preparado com nanopartículas de TiO_2 ($\text{TiO}_2\text{@CQDs}$). Adicionalmente, a imobilização covalente de fotossensibilizador e componentes bioativos na superfície de nanocompósitos via linker foto-clivável é planejada para garantir sua liberação controlada.

3. Abstract

Among the most promising application of nanoparticles are medicine and biotechnology. In these areas nanomaterials have been used for drug delivery, photodynamic and photothermal therapies, for theranostics. Till today nanomaterials that most commonly used for biomedical application are: metals (Au, Ag, Pt), metal oxides (SiO_2 , TiO_2) and carbon-based materials (carbon nanotubes, fullerene, graphene). However, the biomedical application of known nanomaterials is quite limited due to eventual cytotoxicity and low colloidal stability. Therefore, the importance of development of novel nanoparticles is generally recognized. Among the new candidates, carbon-based structures attract a lot of attention because of their biocompatibility, high surface area and stability. Among them nanodiamonds (NDs) and carbon quantum dots (CQDs) are recognized as a new candidate for nanobiotecnological applications.

The idea of the research is to combine attractive properties of NDs in biotechnology and medicine (low cytotoxicity, easy metabolization, ability to penetrate cells and leave the cell without damaging the membrane) with attractive properties for medical diagnosis of CQDs (strong and stable photoluminescence). Combination of these two nanomaterials can also give synergistic effect of stabilization of the hybrid objects in physiological solution (because of strong carboxylation of the CNDs surface that negatively charge the particles in basic media). Immobilization of the CQDs on NDs surface can also increase the surface area of the particles and their ability for further chemical functionalization.

This research is focused on the elaboration and investigation of new hybrid NDs-based nanomaterials with covalently immobilized CQDs (NDs@CQDs) and their application in theranostics and in photodynamic therapy of cancer. To enable the particles utilization in sonodynamic therapy mixed-particle composite will be prepared with TiO₂ nanoparticles (TiO₂@CQDs). Additionally, covalent immobilization of photosensitizer and bioactive components on the surface of nanocomposites via photo-cleavable linker is planned to ensure their controlled release.

Palavras-chave (PR): Nanodiamantes, quantum pontos de carbono, nanocompósitos híbridos, theranostics

Palavras-chave (En): Nanodiamonds, carbon quantum dots, hybrid nanocomposites, theranostics

4. O objetivo do projeto

O princípio do projeto é baseado na hipótese que nanomateriais híbridos com nanodiamantes (NDs) e pontos quânticos de carbono (CQDs) podem melhorar as propriedades dos materiais que são usados como transportadores ativos para entrega de medicamentos e fotossensibilizadores, que poderão liberar componentes ativos do tratamento na terapia fotodinâmica, porque eles superam algumas limitações dos transportadores conhecidos, postuladas aqui como os problemas I-VIII. Objetos propostos também podem demonstrar sinergismo na aplicação teranóstica, porque combinam propriedades importantes tanto para diagnóstico como para terapia. O projeto desenvolve estratégia para melhorar as propriedades de nanomateriais e metodologia que possa garantir essa melhoria.

4.1. Objetivo geral

Elaboração e investigação de novos nanomateriais híbridos com baixa citotoxicidade, que podem penetrar através da membrana celular e ter luminescência estável na região visível, alta área de superfície e grupos funcionais ativos adequados para imobilização de produtos farmacêuticos e, portanto, podem ser utilizados para teranóstica e na terapia fotodinâmica de câncer como transportadores ativos para entrega de medicamentos e fotossensibilizadores. Além disso, as partículas devem ser capazes de liberar os fármacos imobilizados sob tratamento externo e ter alta estabilidade coloidal em líquidos fisiológicos.

4.2. Objetivos específico

Para alcançar os objetivos do projeto, propõe-se usar duas abordagens:

1. Nanocompósitos híbridos à base de nanodiamantes (NDs) com grupos orgânicos funcionais covalentemente imobilizados na superfície.
 - a. Para conferir luminescência estável a possibilidade de imobilização dos pontos quânticos de carbono (CQDs) na superfície de NDs será estudada.
 - b. Para garantir espectros de emissão independentes de excitação dos CQDs, eles serão preparados usando a abordagem de nanorreatores.
 - c. Imobilização covalente de componentes na superfície de nanodiamantes através de linker fotoclivável, pode garantir a liberação de controle dos farmacêuticos.
2. Nanocompósitos porosos híbridos à base de nanocristais de TiO₂ e CQDs imobilizados (TiO₂@CQDs) à superfície serão preparados e estudados como portadores de farmacêuticos, fotossensibilizadores (FSS) e sonossensibilizadores (SSS).
 - a. A área superficial elevada da sílica fornecerá a capacidade necessária para SSS /FSS e estabilizará nanopartículas de TiO₂ em certas formas cristalinas;
 - b. A estrutura porosa do transportador assegurará a proteção de componentes ativos;

- c. Nanopartículas de TiO₂ gerarão componentes ativos sob raios-X e tratamento sonodinâmica, assim terão função de sonossensibilizadores.
- d. Os CQDs melhorarão a estabilidade coloidal dos nanocompósitos híbridos, reduzirão sua citotoxicidade, e podem funcionar como fotosensibilizadores.

Propriedades úteis de novos materiais obtidas por estas duas diferentes abordagens como:

- atividade luminescente,
- capacidades totais para medicamentos de entrega e fotosensibilizadores,
- habilidade de eliminar componentes sob tratamento externo serão comparadas,
- citotoxicidade,
- estabilidade em soluções fisiológicas

5. Qualificação do problema

Nanopartículas e materiais nanoestruturados têm sido usados em aplicações difundidas em diversas áreas que vão desde a catálise de armazenamento de energia até a biotecnologia. A natureza versátil desses materiais está ligada à possibilidade de se adaptar de forma controlada as propriedades físicas e químicas dos materiais. Nanocompósitos à base de óxidos metálicos são os mais utilizados em química analítica, catálise e em aplicações médicas¹. Nos últimos anos, vários estudos sobre a toxicidade de nanomateriais e nanopartículas revelam suas propriedades específicas, tornando esses objetos muito mais reativos do que os maiores.^{2,3} Particularmente demonstrou-se que as partículas à base de silicone e sílica têm alta citotoxicidade e baixa estabilidade coloidal em líquidos fisiológicos e se devem ser protegidas e estabilizadas.⁴ Tal estabilização comumente inclui a preparação de nanocompósitos híbridos contendo diferentes nanoobjetos e superfície modificada⁵. Devido à eventual citotoxicidade de nanopartículas de ouro² e efeito pirogênico da sílica,³ a importância de outras nanopartículas em aplicações biológicas geralmente reconhecidas.⁶ Preparação das novas nanopartículas com menos citotoxicidade é um dos principais no sentido do desenvolvimento de novos sistemas para biotecnologia.⁷ Entre os novos nanocompósitos híbridos, as estruturas à base de carbono atraem muita atenção devido à sua biocompatibilidade, alta área de superfície e propriedades úteis, como a fotoluminescência.⁸⁻¹¹ Entre os materiais de carbono à base de nanodiamantes (NDs) e pontos quânticos de carbono (ou de óxido de grafeno, CQDs) começaram a surgir como novos candidatos para aplicações promissoras no campo da nano-biotecnologia.^{9,12-14} NDs e CQDs não mostram a tão toxicidade quanto nanopartículas de ouro, em especial, tornando-os ideais plataformas de entrega de droga em nano-escala.^{15,16} Além disso, os CQDs e NDs podem apresentar fluorescência intrínseca de defeitos pontuais tornando-os candidatos para aplicações de imagens biomédicas. Devido ao conhecido química de superfície, todas estas partículas podem ser funcionalizadas. Assim, nanopartículas híbridas com nanodiamantes e pontos quânticos de óxido de grafeno podem ser objetos promissores para aplicações nanobiotecnológicas e particularmente para entrega de drogas e terapia fotodinâmica de câncer.^{10,17}

5.1. Entrega de drogas

Sistemas de distribuição de drogas se servem para melhorar a baixa solubilidade, aumentar estabilidade in vivo, e aperfeiçoar o biodistribuição, e farmacocinética dos medicamentos. Existem duas categorias principais de sistemas de distribuição de drogas, que foram desenvolvidos ao longo dos anos. O primeiro grupo consiste de veículos semelhantes às cápsulas, incluindo micelas e lipossomas. Estes sistemas têm a capacidade de encapsular uma quantidade relativamente grande de droga dentro das suas estruturas automontadas.¹⁸ A segunda família de agentes veiculares são aqueles para os quais as drogas são acrescentadas no lado de fora. Entre esta categoria, os materiais à base de carbono, como fulerenos, nanotubos de carbono, NDs e

CQDs foram investigadas como veículos e para tratamento anticâncer e antimicrobico. Parece-se que os fulerenos e os nanotubos de carbono são menos atraentes para a aplicação biomédica do que são os NDs e CQDs.^{8,9,13,19-24}

Partículas de nanodiamantes surgiram como candidatos especialmente promissores na nanobiotecnologia.²⁵ Além disso, foi demonstrado que os NDs não mostram a toxicidade frequentemente observados com outras nanopartículas, e especialmente de Au NPs reforçando ainda mais a sua adequação em entrega de drogas e nanoplataformas de imagem.^{10,12,24,26-29}

O potencial terapêutico dos NDs como transportadores de droga foi mostrado pela primeira vez pelo grupo Ho que conseguiu fabricar NDs adsorvido com doxorrubicina.³⁰ Diabetes e câncer são apenas dois exemplos em que o tratamento com a droga funcionalizada com NDs podem ter um potencial terapêutico real.³¹ A insulina adsorvida sobre NDs foi mostrada para decesser ao longo do tempo. Daqui se conclui que este último sistema pode potencialmente servir como uma terapia de liberação controlada para os diabéticos, negando assim a necessidade de injeções de insulina.^{32,33}

5.2. Invasiva terapia de câncer.

O câncer é um problema de saúde pública relevante no mundo, sendo responsável por cerca de 8,2 milhões de mortes anuais.³⁴ Segundo a estimativa de GLOBOCAN, em 2030 vamos ser alcançados 21,7 milhões de novos casos, e 31 milhões de mortes ao ano por esta doença.³⁴

Já há algum tempo, métodos não invasivos de tratamento contra diversos tipos de cânceres estão sob investigação ativa. Entre as estratégias não-penetrantes, destaca-se terapia fotodinâmica (TFD) e fototérmica (PTT)³⁵⁻³⁷ e tratamento ultrassonográfico (a Terapia Sonodinâmica, TSD)³⁸⁻⁴¹ são considerados os mais fáceis e com maior eficácia. Com um enfoque minimamente invasivo, baseados na administração (sistêmica ou tópica,) de um agente fotossensibilizador (FSS) ou de um sonossensibilizador (SSS), em geral, não tóxico quando utilizado nas concentrações adequadas, que gera moléculas em estado excitado ou ativado, tornando-as mais reativas, Fig. 1.^{14,27,38,42-44}

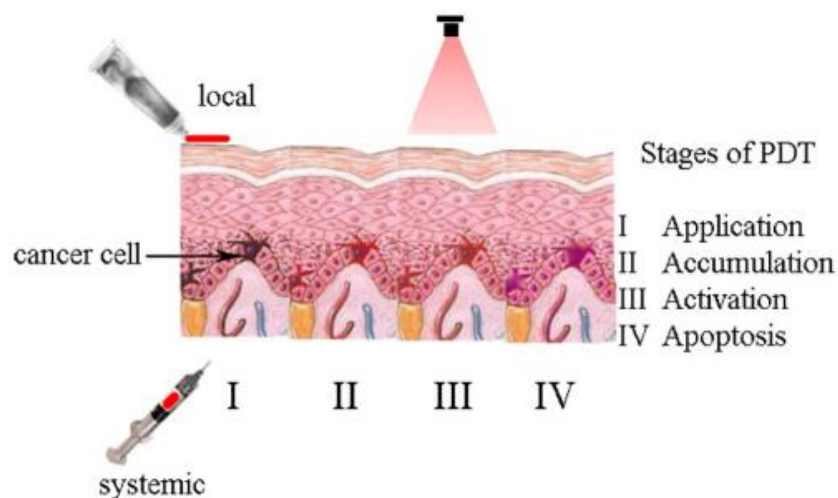


Fig. 1 As etapas principais da terapia fotodinâmica.⁴⁵ O fotossensibilizador (em seringa ou tubo) é aplicado localmente ou sistemicamente (Fase I), acumula-se em tumores (Fase II) e é ativado por iluminação externa (Fase III). Isso provoca os danos e morte celular.

O efeito fotodinâmico na TFD, na maioria dos casos, deve-se à transferência de energia (de comprimento de onda específico, geralmente entre 600 a 750 nm) do FSS excitado para uma molécula, que funciona como um substrato (oxigênio molecular).⁴⁶ Assim, dentro de um sistema

biológico e em condições ideais, pode levar a efeitos citotóxicos de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) pela produção local e controlada. Do mesmo modo, na TSD, o dano tecidual esperado pelos efeitos citotóxicos se deve à geração de ROS; porém, os mecanismos ainda não são esclarecidos. Uma teoria proposta é a possibilidade do acúmulo de energia nas moléculas SSS a uma frequência com potência de Ultrassom (UTS) específica.

Como pode ser visto acima, a terapia fotodinâmica e sonodinâmica no tratamento do câncer e outras doenças são muito promissoras particularmente devido ao mais recente desenvolvimento em nano-química. Para futuros desenvolvimentos, os próximos problemas precisam ser resolvidos:

- I. O problema da entrega de luz ao SSS;
- II. O problema de baixa energia da luz que comumente usado para geração de ROS (600 - 800 nm);
- III. Alta toxicidade e baixa estabilidade do SSS e do FSS;
- IV. Uns transportadores de SSS ou FSS com baixa citotoxicidade têm que ser desenvolvidos;
- V. Os transportadores devem ter alta estabilidade de suspensão em soluções fisiológicas;
- VI. Os transportadores devem libertar o SSS ou o FSS apenas sob determinado tratamento físico;
- VII. O transportador deve desempenhar papel ativo no processo de TFD/TSD;
- VIII. O transportador deve ser metabolizado.

O problema I

A fim de superar essas limitações, vários grupos desenvolveram recentemente uma nova abordagem onde nanopartículas produzem luz sob estimulação por radiação de raios-X.⁴⁷ Os nanocintiladores podem absorver os raios X e gerar luz visível localmente. Os raios X têm grande capacidade de penetração, atingindo regiões inacessíveis a luzes visíveis, como o cérebro ou regiões profundas. Também é muito fácil concentrar-se em tumores.

O problema II

O sucesso da TFD requer condições específicas visando a alta produção de ROS, uma vez que numerosos estudos demonstraram que essa espécie química é a principal responsável pelos efeitos citotóxicos da TFD.⁴⁵

O problema V

Como foi publicado anteriormente, a estabilidade dos portadores na solução fisiológica depende da hidrofiliabilidade e do tamanho das partículas. Por exemplo, as partículas de TiO₂ formam uma suspensão muito instável e, portanto, não podem usar diretamente para sistemático TFD/TSD. como será demonstrado posteriormente a suspensão de nanopartículas de TiO₂ pode ser estabilizada no presente de NDs (**o problema IV**).

O problema VIII

Para melhorar as propriedades metabólicas do veículo, não deve conter metais pesados (Ag, Au, Pt, etc). É demonstrado que os transportadores à base de NDs e CQDs podem ser metabolizados.^{3,48}

6. Como o projeto pode resolver dos problemas

Problema I. Entrega de luz ao SSS

O problema pode ser resolvido se a luz vai ser produzido localmente. Neste caso limite de 600-800 nm não é crítico. Ultrassom e raio-X são usados no projeto como fontes de energia. Para transformar essa energia em luz, nano-sensibilizadores serão utilizados.

a) Nanocristais de TiO₂ será sonosensibilizadores.³⁹

b) Complexos de Eu com CQDs ou outros ligantes serão utilizados como fotosensibilizadores. Como foi demonstrado recentemente, complexos metálicos de CQDs possuem atividade de fotoluminescência, gerando luz vermelha.^{28,49} Devido à estrutura porosa do nanocompósito, esperamos que o FSS/SSS seja adsorvido muito próximo dos componentes ativos anticâncer, portanto espera-se alta eficiência de interação.

Problema II. O problema de baixa energia da luz que comumente usados.

Este problema pode ser resolvido usando o TiO₂ como um componente ativo da portadora. Entre semicondutores cristalinos, titânia (anatase, TiO₂) tem sido provado fotoativa, podendo gerar um singlete de oxigênio mediante tratamento fotoquímico.^{50,51} O singlete de oxigênio pode ser gerado em TiO₂ sob UV (mecanismo de Nosaka), bem como a irradiação NIR.

Problema IV. Transportadores tem que ser com baixa citotoxicidade.

No projeto, para reduzir a toxicidade dos transportadores NDs e TiO₂@CQDs serão utilizadas. Devido à baixa citotoxicidade os CQDs podem reduzir a toxicidade do TiO₂.⁵²

Problema V. Instabilidade coloidal de nano-portadores em soluções fisiológicas

Nanocristais de TiO₂ sozinho não é propício à aplicação biomédica devido a tendência à aglomeração. As duas ideias vão ser verificadas:

- ❖ TiO₂ partículas será coberto com CQDs (TiO₂@CQDs). Por causa da carga altamente negativa de CQDs em solução fisiológica, a imobilização desses objetos na superfície das nanopartículas (TiO₂, NDs) também pode aumentar a estabilidade da suspensão.
- ❖ Descobrimos que NDs podem estabilizar nanopartículas de TiO₂, *Fig. 2*. Esta observação será explorada para a preparação nanocompósito NDs/TiO₂.

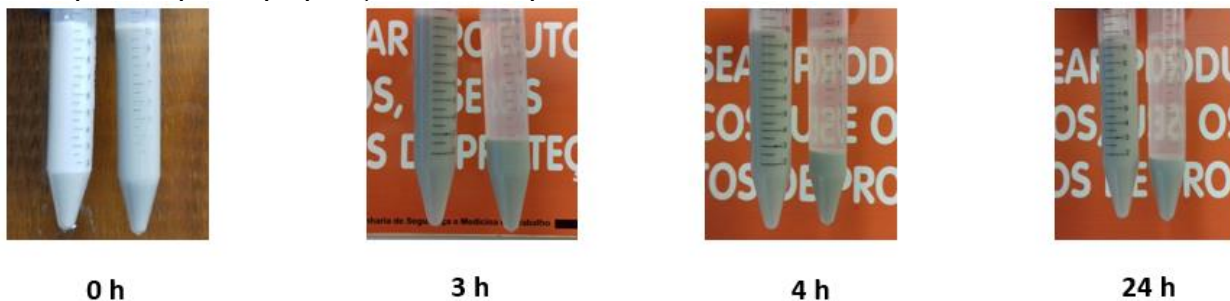


Fig. 2 Solução salina de DN (1 wt.%) + TiO₂ (5 wt.%) (tubo esquerdo) e TiO₂ (5 wt.%) (tubo direito).

Problema VI. Os transportadores devem libertar o SSS ou o FSS apenas sob determinado tratamento.

Libertação do fármaco desencadeada a partir da superfície das partículas pode ser conseguido por imobilização de grupos de ligação (tais como fotoativos) que se ligarão a droga-alvo com a superfície da partícula. Por causa da alta foto-atividade das partículas NDs tais ligantes podem ser ativados no estado imobilizado que vai conduzir à libertação da SSS, FSS ou outros medicamentos.

Problema VII. O transportador deve desempenhar papel ativo no processo de TFD/TSD

Neste caso, as nanopartículas desempenham um papel ativo no processo de TFD e funcionam como materiais cintilantes e mediadores de energia.⁵³

Recentemente, foi demonstrado que o tratamento com ultrassom de materiais compósitos contendo TiO₂ pode gerar ROS em solução⁵⁴. Tendo em conta que a sonicação da solução pode também gerar ¹O₂ em água⁵⁵.

7. Justificativa para escolha do tema

A terapia fotodinâmica emergiu como uma das importantes opções terapêuticas no tratamento do câncer e outras doenças. Por causa 10 anos de experiência em modificação de superfícies e imobilização de moléculas orgânicas em suporte inorgânico, acredito que posso propor algumas melhorias na situação existente. Aqui alguns resultados são apresentados, que demonstram a experiência do meu grupo de pesquisas na aplicação bioanalítica de nanopartículas híbridos com NDs/CQDs.

7.1. Partículas nanodiamantes

O grande problema das nanodiamantes é a pequena área de superfície e dificuldades na modificação da superfície. Nós desenvolvemos uma estratégia simples para a imobilização simultânea de moléculas de direcionamento, drogas e agentes de imagiologia na nanoestrutura NDS para a conveniência de detecção e tratamento alvejado.⁵⁶ Para validar o conceito, um material modelo contendo âncoras de dopamina trietilenoglicol (EG) e azida (N3) modificada (dop-EG e dop-N3) foi fabricada. A presença de funcionalidades de EG presta solubilidade de NDs em água e meios biológicos, enquanto o grupo-N3 permite modificação pós-sintética do NDs usando o "clique" química, Fig. 3. Foi demonstrado que a estabilidade coloidal das partículas EG modificado de ND foi altamente melhorada.

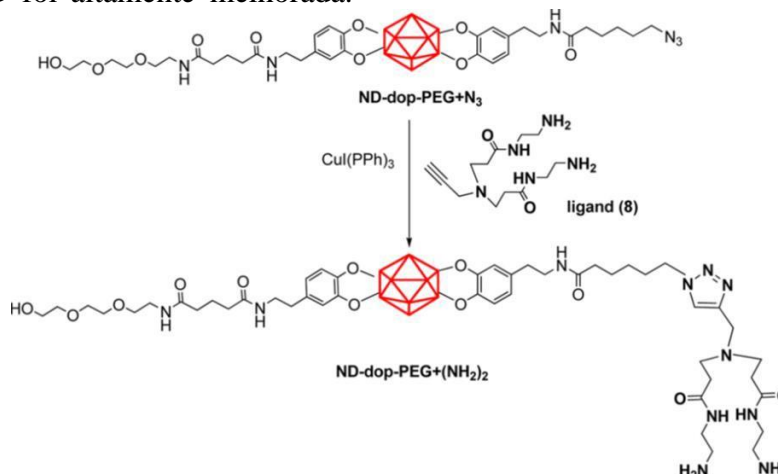


Fig. 3 Imobilização de trietilenoglicol (EG) e azida (N3) na superfície de NDs

O conceito foi utilizado para desenvolver materiais NDs multifuncionais. Por exemplo, foi demonstrado que NDs com carboidratos imobilizados (ND-Man₃) têm uma interação específica com proteínas de membrana bacterianas.^{22,23,57}, Fig. 4

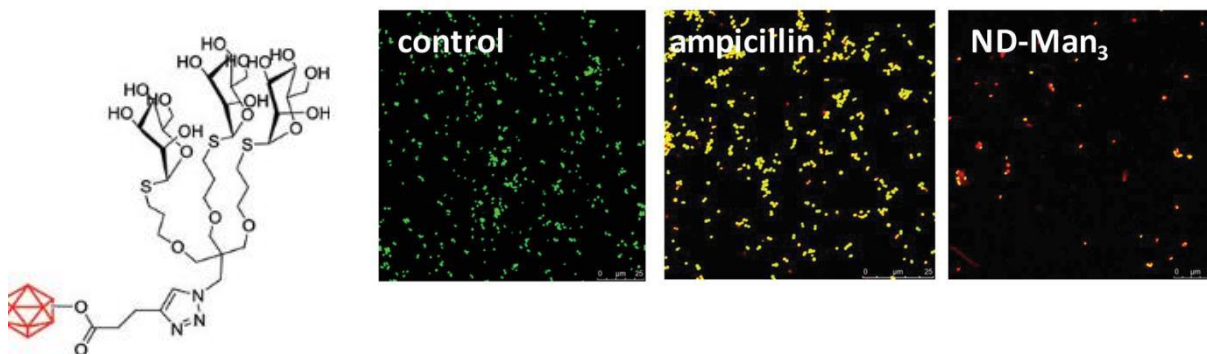


Fig. 4 Imagens da fluorescência do crescimento de *S. aureus* na ausência (controle) e presença de ND-Man₃ ao serem coradas com as colorações VIVO (verde)/ MORTO (vermelho).

7.2. Derivados de grafeno e nanopontos quânticas de carbono

Uma das principais limitações de óxido de grafeno (GO) é a sua baixa estabilidade de suspensões aquosas. Foi demonstrado que a integração de rGO (reduzido óxido de grafeno) com PEG aumenta drasticamente a solubilidade rGO sob condições fisiológicas - observada nenhuma agregação mesmo após 6 meses de armazenamento,¹⁹ Fig. 5.

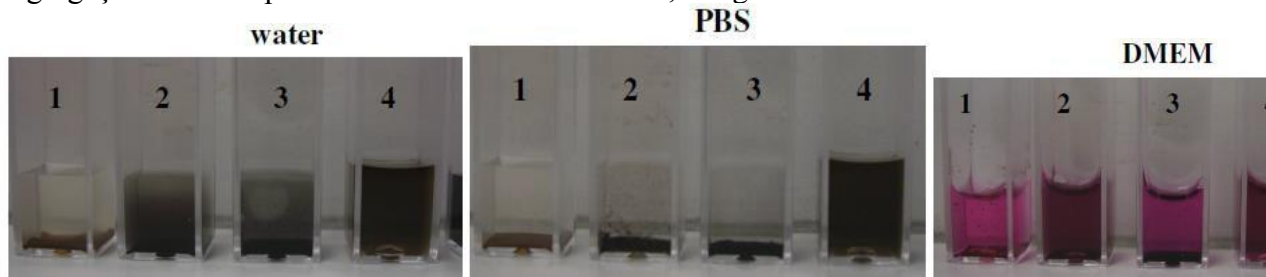


Fig. 5 Estabilidade de GO (1), GO-COOH (2), GO-PEG (3) e rGO-PEG (4) em água, PBS e meio biológico (DMEM).

Esta pesquisa abriu o portão para a aplicação de rGO em nanotecnologia. Por exemplo, as propriedades únicas de rGO foram reveladas em sua aplicação para a detecção de mutagen importante - peroxinitrito.¹⁹ Descobrimos também que rGO estabilizados podem ser decorados com metais (Au, AuPd) nanopartículas que, essencialmente, o aumento da sua eficiência no tratamento de câncer,⁴³ Fig. 6.

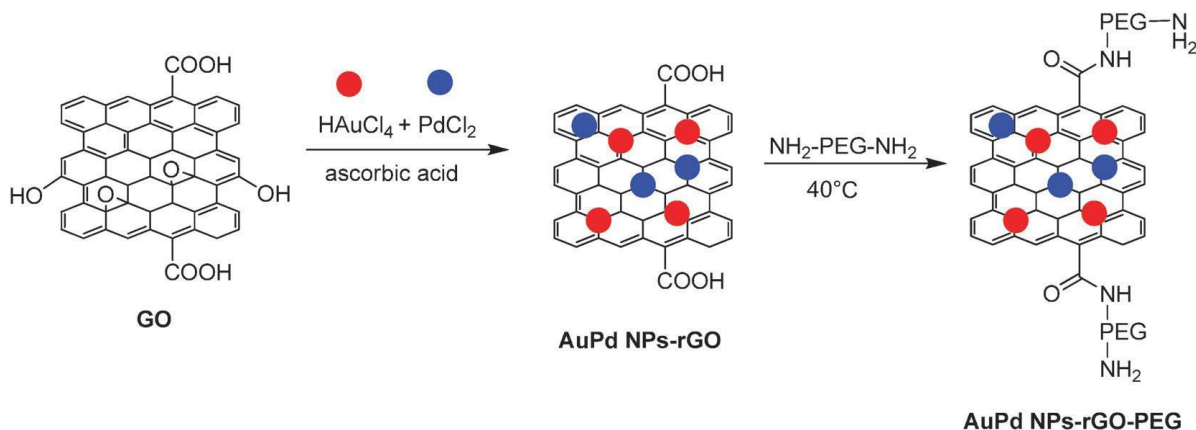


Fig. 6 Representação esquemática da síntese do agente fototérmico dos nanocompósitos AuPd NPs-rGO-PEG

Um dos assuntos em entrega de insulina é o desenvolvimento de formulações de insulina que protegem a insulina nativa de degradação sob pH ácido no estômago. Foi demonstrado, pela primeira vez, que matriz à base de óxido de grafeno pode garantir a estabilidade da insulina em pH baixo. Matrizes de GO e GO modificado com partículas magnéticas revestidas com 2-nitro dopamina (GO-MPdop) foram preparados e carregadas com insulina (Fig. 7) e pH da liberação da insulina foi estudada. As matrizes de GO que contém insulina ficaram estáveis em pH ácido, enquanto a insulina foi lançada sob expostos a soluções básicas (pH = 9,2). Estes resultados sugerem que as matrizes à base de GO são sistemas promissores para o tratamento de pacientes com deficiência de insulina.³³

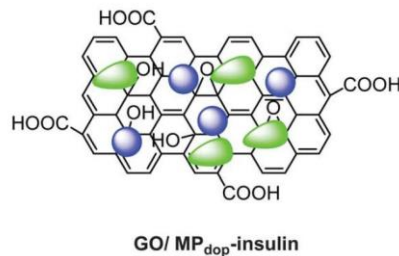


Fig. 7 Carregamento de insulina no GO e GO – MPdop.

Derivado do grafeno, os GQDs são pequenas partículas fluorescente, e têm uma grande gama de possibilidades de uso, como para sensores, bio-imagem, aplicação de drogas e fotocatalise, e já têm sido usados, por exemplo, na marcação de células cancerosas através da utilização de sua fluorescência.⁵⁸ Um passo crucial na fabricação de CQDs está presente na abordagem de síntese a se escolher. Composição, estrutura e propriedades do produto final obtido dependem do material de carbono inicial utilizado, assim como das condições do preparo, havendo uma variedade de métodos que, porém, tem suas desvantagens. Normalmente CQDs representam uma mistura de partículas com tamanhos diferentes e métodos de separação muito complexos, como HPLC por exclusão de tamanho, diálise e eletroforese, que são usados para garantir uma distribuição unimodal de tamanho das partículas. A nossa ideia da utilização dos nanorreatores como um suporte externo para o processo tem como objetivo ajudar a superar esses problemas, Fig.8. A sílica gel nanoporosa é um material adequado para a utilização como nanoreator de CQDs, porque seus poros tem uma distribuição de tamanhos monomodal, além dela ser altamente química e termicamente estável^{59,60}.

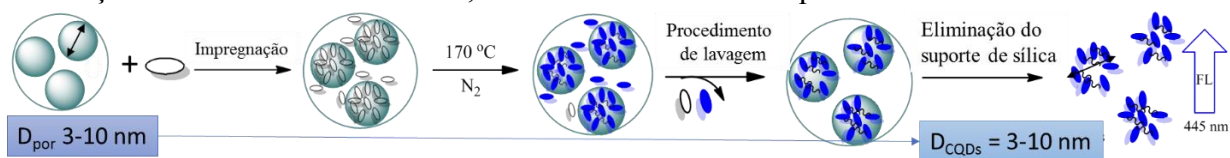


Fig.8. Esquema de preparação dos CQDs sob abordagem “bottom-up” a partir de ácido cítrico. Sílica gel usa como nanoreator. Aumentar o tamanho dos poros da sílica (3 ->10 nm) pode levar ao aumento do tamanho das CQDs (3 ->10 nm)

8. Etapas de execução do projeto com respectivo cronograma de atividades

De acordo com os objetivos do projeto, a atividade de pesquisa será organizada nas próximas etapas de execução do projeto (WP).

WP1. Desenvolvimento de procedimento adequado e preparação de nanopartículas híbridos à base de nanodiamantes com CQDs ligados covalentemente na superfície (NDs@CQDs)

WP1.1. Desenvolvimento do procedimento para preparação de nanopartículas (solução de NDs) com tamanho 3-10 nm

WP1.2. Desenvolvimento do procedimento para preparação de CQDs usando sílica como nanorreatores.

WP1.3. Desenvolvimento do procedimento para imobilização covalente de CQDs na superfície de NDs.

WP2. Desenvolvimento de procedimento adequado e preparação de nanopartículas híbridos à base de nanocristais de TiO₂ com CQDs ligados covalentemente na superfície (TiO₂@CQDs)

WP2.1. Preparação de nanopartículas poros à base de sílica com tamanho 40-80 nm, e com

nanocristais de TiO₂ (5-10 nm) no forme de anatase dentro de poros.

WP2.2. Desenvolvimento do procedimento para imobilização covalente de CQDs na superfície de TiO₂

WP3. Imobilização de linker foto-clivável na superfície de NDs, NDs@CQDs e TiO₂@CQDs.

WP4. Imobilização de componentes bioativos na superfície de NDs@CQDs e TiO₂@CQDs

WP5. Investigação de propriedade das nanocompósitos híbridos.

Composição química, Tamanho de partícula e estrutura porosa, Estabilidade da suspensão da água/ solução fisiológica, Propriedades foto- e sono- luminescentes.

WP6. Investigação de biocompatibilidade de partículas novos.

WP7. Investigação da capacidade das partículas do projeto para teranóstica e liberar os fármacos imobilizados sob tratamento externo.

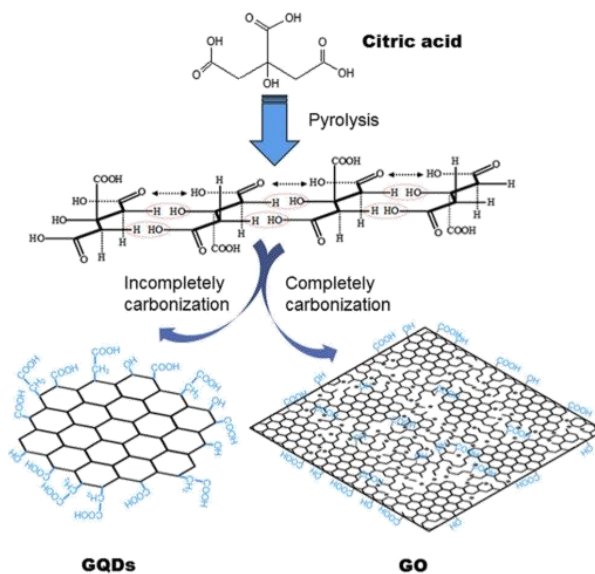
9. Plano do trabalho

WP No.	Tarefa	meses decorrido					
		1-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36
1.	Desenvolvimento de procedimento adequado e preparação de nanopartículas híbridos à base de nanodiamantes com CQDs ligados covalentemente na superfície (NDs@CQDs)						
1.1	Desenvolvimento do procedimento para preparação de nanopartículas (solução de NDs) com tamanho 3-10 nm						
1.2	Desenvolvimento do procedimento para preparação de CQDs usando amino-sílica com nano-reatores						
1.3	Desenvolvimento do procedimento para imobilização covalente de CQDs na superfície de NDs.						
2	Desenvolvimento de procedimento adequado e preparação de nanopartículas híbridos à base de nanocristais de TiO ₂ com CQDs ligados covalentemente na superfície (TiO ₂ @CQDs)						
2.1	Preparação de nanopartículas poros à base de sílica com tamanho 40-80 nm, e com nanocristais de TiO ₂ (5-10 nm) no forme de anatase dentro de poros.						
2.2	Desenvolvimento do procedimento para imobilização covalente de CQDs na superfície de SiO ₂ /TiO ₂						
3	Imobilização de linker foto-clivável na superfície de NDs, NDs@CQDs e TiO ₂ @CQDs.						
4	Imobilização de componentes bioativos na superfície de NDs@CQDs e TiO ₂ @CQDs						
5	Investigação de propriedade das nanocompósitos híbridos.						

	Composição química, Tamanho de partícula e estrutura porosa, Estabilidade da suspensão da água/solução fisiológica, Propriedades foto- e sonoluminescentes						
6	Investigação de biocompatibilidade de partículas novos						
7	Investigação da capacidade das partículas do projeto capazes para teranóstica e liberar os fármacos imobilizados sob tratamento externo						

10. Metodologia proposta

1. NDs. Pó de nanodiamantes de DAICEL Corporation, R&D Headquarters (Tokyo, Japão) vai ser usado. Esses nanodiamantes formam agregados e possuem mistura de diferentes grupos da superfície. Primeiro de tudo eles têm que ser dessegregados e depois quimicamente modificados. Para desagregação de nanodiamante de patente dos EUA no. 16MST037 vai seguir. A patente fornece suspensão estável de nanodiamantes em solução fisiológica. A química da superfície do NDS será ajustada de acordo com as necessidades até dos grupos carboxílicos (oxidação) ou álcoois (redução com LiAlH_4).
2. CQDs. Um passo crucial na fabricação de CQDs está presente na abordagem de síntese a se escolher. Composição, estrutura e propriedades do produto final obtido dependem do composto utilizado, assim como das condições do preparo, havendo uma variedade de métodos que, porém, tem suas desvantagens. De fato, a partir do mesmo composto inicial CQDs e GO podem ser preparados, esquema em baixo:



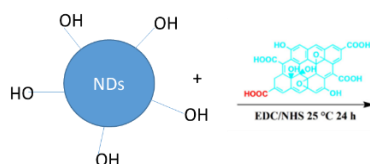
Otimização de procedimento para preparar CQDs por pirólise de ácido cítrico vai ser feito para estuda influência da temperatura (170 e 200 °C) e do tempo (30 min - 24 horas) versus fotoluminescência. Para garantir espectros de emissão independentes de excitação dos CQDs, eles serão preparados usando a abordagem de nanorreator⁶¹, Fig. 8. A abordagem do nanorreator limitará a síntese “bottom-up” pela formação dos CQDs apenas, já que as nanopartículas de GO são maiores que o tamanho dos poros de sílica.

A sílica com grupos aminos imobilizados (para aumentar a atração do ácido cítrico à sílica) com diferentes tamanhos de poros (4, 6, 9, 11 nm) vão ser usados. Estas sílicas misturadas com

solução de ácido cítrico com volume fixo, secas e levadas para banho de óleo à 170°C, ligadas à um balão de N₂. Sendo todas elas seguidas de lavagens com NaHCO₃ e depois com NaOH para retirar CQDs de sílica.

- Preparação dos transportadores ativos baseados em TiO₂ e otimização da síntese versus sua atividade sob irradiação TFD e TSD. No processo de síntese das seguintes maneiras vão usado: Na₂SiO₃, Ti(OBu)₄, Eu(NO₃)₃ mantendo certa quantidade de um solvente polar (pH = 2-3).
- Investigação de imobilização de CQDs em superfície de TiO₂ e NDs.

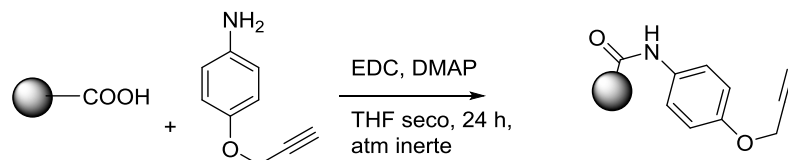
Imobilização CQDs na superfície de NDs com os grupos álcoois vai ser feito sob reação de acetilação (no presente de DCC ou EDC) para formar ligação covalente, esquema em baixo.



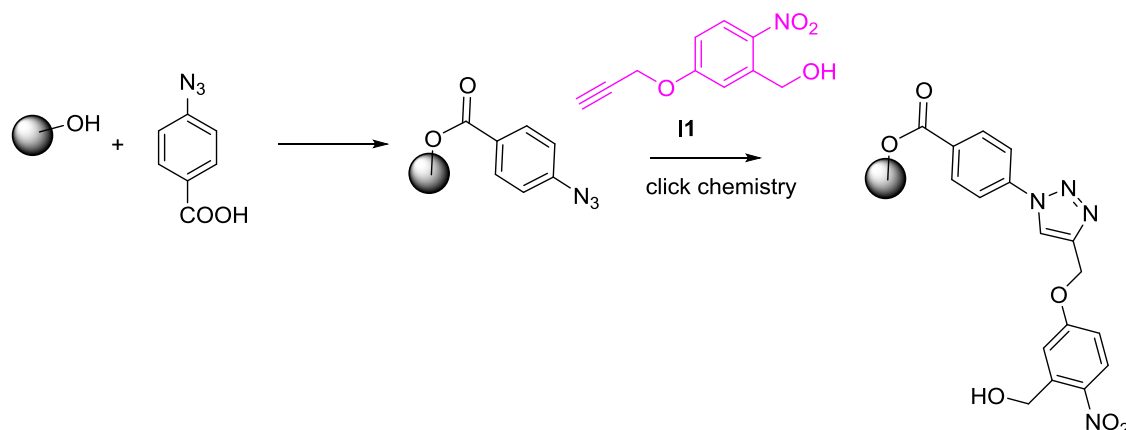
A mesma abordagem será usada para a preparação de TiO₂@CQDs.

- Imobilização covalente de componentes na superfície de NDs e NDs@CQDs através de linker fotoclivável.

Grupos fotoativos serão imobilizados em superfície de NDs ou CQDs usando "clique em química". Duas estratégias serão usadas. O primeiro começou a partir de NDs carboxilados (ND-COOH) e CQDs, esquema em baixo:



no segundo, NDs com grupos álcoois serão usados, esquema em baixo:



- Introdução de grupos superficiais bio-compatíveis para o NDs

Imobilização não-covalente

Por molécula de imobilização não covalente vai ser adsorvido sobre a superfície das partículas tendo carboxílico (CQDs, NDs). A molécula tem fotoclivável (nitrofenólico) fragmento e cadeia -oxialquilo oligoméricas. A molécula utilizada foi também provado ser utilizados para libertação de

drogas a partir de nanopartículas de ouro. Imobilização não-covalente da droga pode permitir a sua libertação controlada, na sua forma nativa sem quaisquer outros compostos tóxicos, que permanece sobre a superfície da partícula após a irradiação de luz. Além disso, o método mais tarde pode dar a capacidade de droga mais elevada devido à menor complexidade de sequência de reações químicas na superfície do transportador.

Covalente imobilização

"Click química" será utilizada para integrar uma molécula ligante foto-lábeis na NDs e CQDs, através do qual drogas / proteínas serão ligados, sem a necessidade da sua modificação química selecionada. Esta última característica representa uma grande vantagem: a maioria dos métodos para a integração das moléculas de fármaco à superfície das nanopartículas relatados até agora requerem a modificação química das drogas, Fig. 8.

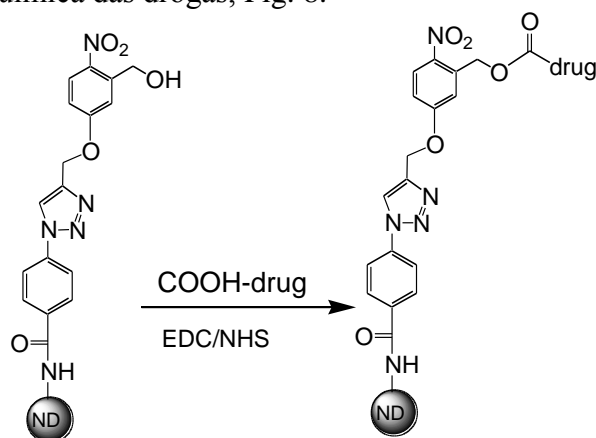


Fig. 8 Ligação de drogas anticâncer como a cefalosporina a NDs foto-lábeis através de um protocolo de esterificação

7. Preparação dos complexos de CQDs com metais terras raras (lantânídios). Preparação vai ser feito direto com tratamento de CQDs com Eu³⁺ no etanol. Supressão de fluorescência na presença de Eu³⁺ na solução de CQDs vai ser feito com espectroscopia de fluorescência.
8. Análise dos dados: descrever métodos, técnicas, testes estatísticos e/ou programas computacionais utilizados para trabalhar os dados obtidos.
 - O tamanho das nanopartículas que formaram a estrutura cristalina pode ser calculado usando a equação de Scherrer,
 - O volume total de poros, V_p , é determinado no ponto de adsorção máximo, isto é, no $p/p_0 = 0,98- 0,99$.
 - A área superficial específica, S_{BET} , é calculada a partir do método BET padrão e parâmetros de porosidade textural. A distribuição incremental de tamanho de poro (IPSD) é estimada a partir de um ramo de dessorção por aplicação da regularização auto-consistente (SCR).
 - Todos os dados serão expressos através da média aritmética \pm DP (desvio padrão). Antes de iniciarmos os testes de inferência estatística, verificaremos se a amostra vem de uma distribuição normal para isso utilizamos o teste de D' Agostino e Pearson. Quando os dados seguirem uma distribuição normal, utilizaremos um teste paramétrico adequado e quando não seguirem, utilizaremos um teste não paramétrico. O nível de significância adotado será alfa de 5 % ($P < 0.05$) e todos os testes serão bicaudais.

11. Os resultados esperados

	Resultados	sucesso, %
1.	Procedimento para preparação de nanopartículas com tamanho 3-10 nm será desenvolvido	10
2.	Metodologia para imobilização de CQDs em superfície de NDs e TiO ₂ será desenvolvida	10
3.	Nanodiamantes com dos pontos quânticos de carbono imobilizados vão mostrar luminescência estável	20
4.	Metodologia para imobilização de fragmentos fotoativos em superfície de NDs e CQDs serão desenvolvidas	10
5.	Metodologia para imobilização das componentes bioativos na superfície de NDs@CQDs e TiO ₂ @CQDs serão desenvolvidas	20
6.	partículas novas vão demonstrar biocompatibilidade	10
6.	Das partículas do projeto vão mostrar capazes para teranóstica e vão liberar os fármacos imobilizados sob tratamento externo	20

12. Potencial de impacto dos resultados do ponto de vista técnico-científico, de inovação, difusão, sócio-econômico e ambiental

O câncer é um problema de saúde pública relevante no mundo, sendo responsável por cerca de 8,2 milhões de mortes anuais⁶². Segundo a GLOBOCAN a estimativa é que em 2030 tenhamos alcançado 21,7 milhões de novos casos, e 31 milhões de mortes ao ano por esta doença⁶³. A Terapia Fotodinâmica (TFD) e a Terapia Sonodinâmica (TSD) surgem como tratamentos alternativos ou coadjuvantes ao tratamento do câncer, com um enfoque minimamente invasivo, baseados na administração (sistêmica ou tópica) de um agente fotossensibilizador (FSS) ou de um sonossensibilizador, que gera moléculas em estado excitado ou ativado, tornando-as mais reativas³⁸. Entre as estratégias não penetrantes do tratamento antineoplásico, as terapias TFD e TSD são consideradas as mais eficazes para o futuro. Mas, até agora, o desenvolvimento de TFD e PTT é muito limitado. Entre vários problemas que precisam ser resolvidos para uma aplicação clínica do TFD, são mais importantes os próximos: 1) O efeito fotodinâmico na TFD, na maioria dos casos, deve-se à transferência de energia (geralmente entre 600 a 750 nm) do FSS. Esta energia é muito baixa para geração de ROS; 2) FSS tem baixa estabilidade para administração sistêmica por isso precisa uns transportadores; 3) nano-transportadores na base de sílica tem alta estabilidade de suspensão em soluções fisiológicas e citotoxicidade; 4) os transportadores devem libertar o SSS ou o FSS apenas sob determinado tratamento físico; 5) o transportador deve ser metabolizado.

O princípio do projeto é baseado na hipótese que nanomateriais híbridos com nanodiamantes e pontos quânticos de óxido de grafeno podem melhorar as propriedades dos materiais que são usados como transportadores ativos para entrega de medicamentos, foto-sensibilizadores e sono-sensibilizadores, que poderão liberar componentes ativos do tratamento na terapia de raio-X ou sonodinâmica, porque superam algumas limitações, postuladas.

Duas abordagens relacionadas serão investigadas. Um enfocará a preparação de nanocompósitos de NDs/TiO₂ com CQDs imobilizados (NDs/TiO₂@GONDS). O outro é nanocompósito poroso à base de sílica com nanocristais de TiO₂ e CQDs imobilizados (SiO₂/TiO₂@CQDs). A ideia do projeto é baseada na capacidade do TiO₂ de produzir espécies bioativas sob tratamento com ultrassom. A integração de TiO₂ em nanocompósitos pode melhorar a estabilidade coloidal (NDs), estrutura cristalina necessária (SiO₂) e biocompatibilidade (CQDs, NDs); garantir alta área de superfície e nanotamanho de partícula (SiO₂, NDS), fornece fotoluminescência das partículas (CQDs). Adicionalmente, a imobilização covalente de foto-sensibilizadores e componentes bioativos na

superfície de nanocompósitos via linker foto-clivável é planejada para garantir sua liberação controlada.

13. Colaborações ou parcerias já estabelecidas para a execução do projeto

O projeto é multidisciplinar e requer colaboração entre químicos, biólogos e médicos. Temos forte colaboração com um grupo de cientistas de FioCruz (Dr. Luiz Anastácio Alves) que implementa na prática das nanopartículas, desenvolvidas para estudo dos efeitos antitumorais da terapia fotodinâmica e terapia sonodinâmica em células de câncer de mama usando estudos in vivo. Nós começamos um projeto comum no âmbito de apoio do Programa Nacional De Apoio À Atenção Oncológica (PRONON).

Colaboração com o Dr. Andre Rossi, do Laboratório de Nanociência e Nanotecnologia O CBPF (LABNANO) iniciou em setembro de 2018 para o desenvolvimento dos aspectos do projeto relacionados à microscopia das partículas.

14. Perspectivas de colaborações interinstitucionais para a execução do projeto

Temos forte colaboração com um grupo de cientistas dos Estados Unidos, Georgia Institute of Technology (Dr. Kostiantyn Turcheniuk) e França, Universidade de Lille (Dr. Sabine Szunerits) para desenvolver química de nanodiamantes. Com a Dra. Sabine Szunerits temos CNPq Projeto (PVE) no. 401383/2014-8 «Fabricação de SiC e nanodiamantes partículas híbridas com fotorreceptores imobilizados e sua aplicação bioanalítica para libertação controlada de fármacos». Também temos apoio da empresa que fornece nanodiamantes (DAICEL Corporation, R&D Headquarters Tokyo, Japão).

15. Recursos financeiros de outras fontes aprovados para aplicação no projeto

Volodymyr Zaitsev - CNPq Projeto (PVE) no. 401383/2014-8, e CNPq bolsa (PQ) 304622/2015-0;
Dr. Mykhailo Nazarkovskyi - bolsa PNPd de CAPES;
Doutorada Albina Mikhralieva – bolsa Nota 10 de Faperj

Doutorada Olena Artiushenko - bolsa Nota 10 de Capes e TEC Faperj

16. Disponibilidade efetiva de infraestrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto

- Espalhamento Dinâmica de Luz (DLS) para estimar a distribuição das nanopartículas em meio coloidal disponível no Central Analítica do Departamento de Química, PUC-Rio.
- Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia Eletrônica de Transmissão para estudo da morfologia superficial e estrutural das nanopartículas disponível no Laboratório de Nanociência e Nanotecnologia o CBPF, LABNANO.
- Estudos de fotoluminescência (espectros de emissão, excitação e decaimento de luminescência) com fluorímetro de alta resolução disponível no departamento de Química, PUC-Rio.
- Difração de raios X para estudar composição de fase, cristalinidade, tamanho de cristal disponível na PUC-Rio.
- Adsorção-dessorção de nitrogênio de baixa temperatura validado por cálculo computacional usando a Teoria do funcional da densidade (DFT, o método Nguyen-Do modificado (MND) e o método modificado de Fowler-Guggenheim para analisar propriedades texturizadas, distribuição de tamanho dos poros, distribuição de energia de adsorção e distribuição de potencial de adsorção relativa à superfície das nanopartículas disponível na PUC-Rio.

- Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para uma estimativa precisa da concentração de lantanídeos em nanopartículas disponível na PUC-Rio.
- Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC) para investigar temperaturas características e obter informações de termoestabilidade e cristalinidade dos materiais preparados disponível na PUC-Rio.
- Espectroscopia de Absorção de Raios X (XANES) em modo de transmissão para estudar a valência, ambiente de coordenação e distorções geométricas dos íons pesados (Ti) disponível do LNLS (Campinas).
- Luminescência óptica excitada por Raios X (XEOL) para obter informações do comportamento óptico do material quando irradiado por raios x, medindo-se o espectro de emissão e/ou a luminescência integrada em função da energia disponível na linha XAFS2 do LNLS.
- Investigação das propriedades dos materiais obtidos (capacidade de gerar ROS, citotoxicidade, liberação de SSS/FSS) sob fotodinâmica e sonodinâmica será realizado em FIOCRUZ
- Avaliação de citotoxicidade e fototoxicidade pelo método de redução do MTT disponível em FIOCRUZ
- Avaliação da fotodinâmica e sonodinâmica in vivo disponível em FIOCRUZ.

17. O orçamento detalhado

17.1. Custeio.

- material de consumo
 - 1) Produtos químicos (reagentes) 7328 R\$
 - 2) Solventes – 5000 R\$
 - 3) Nanodiamantes em pó – 2000 R\$
 - 4) 50 mm Agate Mortar and Pestle – 1352 R\$
 - 5) Botijão de Nitrogênio Líquido, RD2 – 3829 R\$
 - 6) Evacuatable Pellet Die 10mm, Specac – 973 R\$
 - 7) Vidraria – 8218 R\$
 - ACE Manifold with threaded stopcocks – 4260 R\$
 - Aldrich® cold-finger for high-efficiency cold-trap – 1958 R\$
 - Balão Fundo Redondo, condensador de extrator Soxhlet, becker de vidro borossilicato graduado, conexão de vidro etc. – 2000 R\$
 - 8) Gases 1300 R\$ (Analíticos Gases Especiais Ar, N₂)

Justificativa. Todos os consumíveis são necessários para a preparação, separação e purificação dos nanomateriais propostos.

- serviços de terceiros pessoa jurídica – 3000 R\$

Análises químicas (XPS, DTA, X-Ray, CNH, MAS NMR), físicas (DLS, DSC) e microscópicas (SEM, TEM).

Pagar de terceiros pessoa jurídica para análises químicas, físicas e microscópicas de nanopartículas experimentais.

- Passagens e diárias 7000 RS.

Participação em reuniões nacionais e internacionais, e particularmente em:

- 1) a 42^a e 43^a Reuniões Anual da Sociedade Brasileira de Química (2019, 2020),
- 2) XVIII e XIX Encontros Brasileiro da MRS (2019, 2020) e,
- 3) Encontro Nacional da ACS 2020 (EU)

17.2. Capital

- equipamentos e material permanente - 19905 R\$
 1. KNF LABOPORT(R) solid PTFE vacuum pump, 8729 R\$
 2. IKA(R) C-MAG MS magnetic stirrers, 3693 R\$
 3. STUART HEATING MANTLE, 50ML FLASK, 2092 R\$
 4. CENTRÍFUGA DIGITAL 8X15 ML – 1850 R\$
 5. BOMBA DE VÁCUO – 2141 R\$
 6. AGITADOR MAGNÉTICO DIGITAL COM AQUECIMENTO – 1400 R\$

O equipamento será utilizado para precipitação, centrifugação, purificação das nanopartículas. Estabelecer sistema de gás inerte / vácuo para o gerenciamento de reações químicas.

18. Bibliografia relacionada ao projeto

- 1 C. S. S. R. Kumar, Ed., *Nanotechnologies for the Life Sciences: 10 Volume Set*, Wiley-Vch, 2011.
- 2 P. Houdy, M. Lahmani and F. Marano, Eds., *Nanoethics and Nanotoxicology*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011.
- 3 C. S. S. R. Kumar, Ed., *Nanotechnologies for the Life Sciences Vol. 5. Nanomaterials – Toxicity, Health and Environmental Issues*, Wiley-Vch, 2006.
- 4 G. Han, P. Ghosh and V. M. Rotello, *Nanomedicine*, 2007, **2**, 113–123.
- 5 J. Shi, A. R. Votruba, O. C. Farokhzad and R. Langer, *Nano Lett.*, 2010, **10**, 3223–3230.
- 6 B. P. S. Chauhan, Ed., *Hybrid nanomaterials synthesis, characterization, and applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011.
- 7 S. Nazir, T. Hussain, A. Ayub, U. Rashid and A. J. MacRobert, *Nanomedicine*, 2014, **10**, 19–34.
- 8 X. Chen and W. Zhang, *Chem. Soc. Rev.*, 2017, **46**, 734–760.
- 9 K. T. and V. Mochalin, *Nanotechnology*, , DOI:10.1088/1361-6528/aa6ae4.
- 10 K. Tanaka and Y. Chujo, *Adv. Powder Technol.*, 2014, **25**, 101–113.
- 11 P. Namdari, B. Negahdari and A. Eatemadi, *Biomed. Pharmacother.*, 2017, **87**, 209–222.
- 12 S. Y. Lim, W. Shen and Z. Gao, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 362–381.
- 13 S. Szunerits and R. Boukherroub, *J. Mater. Chem. B*, , DOI:10.1039/C6TB01647B.
- 14 E. K.-H. Chow and D. Ho, *Sci. Transl. Med.*, 2013, **5**, 216rv4.
- 15 W. Shang, X. Zhang, M. Zhang, Z. Fan, Y. Sun, M. Han and L. Fan, *Nanoscale*, 2014, **6**, 5799–5806.
- 16 D. Wang, L. Zhu, J.-F. Chen and L. Dai, *Nanoscale*, 2015, **7**, 9894–9901.
- 17 Y. Li, H. Dong, Y. Li and D. Shi, 2015, 2451–2459.
- 18 C. F. van Nostrum, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, **56**, 9–16.
- 19 V. Turcheniuk, V. Raks, R. Issa, I. R. Cooper, P. J. Cragg, R. Jijie, N. Dumitrascu, L. I. Mikhalovska, A. Barras, V. Zaitsev, R. Boukherroub and S. Szunerits, *Diam. Relat. Mater.*, 2015, **57**, 2–8.
- 20 M. Khanal, V. Raks, R. Issa, V. Chernyshenko, A. Barras, J. M. Garcia Fernandez, L. I. Mikhalovska, V. Turcheniuk, V. Zaitsev, R. Boukherroub, A. Siriwardena, I. R. Cooper, P. J. Cragg and S. Szunerits, *Part. Part. Syst. Charact.*, 2015, **32**, 822–830.
- 21 V. Turcheniuk, K. Turcheniuk, J. Boukaert, A. Barras, T. Dumych, R. Bilyy, V. Zaitsev, A. Siriwardena, Q. Wang, R. Boukherroub and S. Szunerits, *ChemNanoMat*, 2016, 1–11.
- 22 M. Khanal, F. Larssonneur, V. Raks, A. Barras, J.-S. Baumann, F. A. Martin, R. Boukherroub, J.-M. Ghigo, C. Ortiz Mellet, V. Zaitsev, J. M. Garcia Fernandez, C. Beloin, A. Siriwardena and S. Szunerits, *Nanoscale*, 2015, **7**, 2325–2335.
- 23 M. Khanal, T. Vausselin, A. Barras, O. Bande, K. Turcheniuk, M. Benazza, V. Zaitsev, C. M. Teodorescu, R. Boukherroub, A. Siriwardena, J. Dubuisson and S. Szunerits, .

- 24 D. Li, X. Chen, H. Wang, J. Liu, M. Zheng, Y. Fu, Y. Yu and J. Zhi, *J. Biophotonics*, 2017, **11**, 1–12.
- 25 V. N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho and Y. Gogotsi, *Nat. Nanotechnol.*, 2012, **7**, 11–23.
- 26 A. Bacteria, C. A. Strassert, M. Otter, R. Q. Albuquerque, A. Höne, Y. Vida, B. Maier and L. De Cola, 2009, 7928–7931.
- 27 P. Rai, S. Mallidi, X. Zheng, R. Rahmanzadeh, Y. Mir, S. Elrington, A. Khurshid and T. Hasan, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2010, **62**, 1094–1124.
- 28 Y. Liu, S. Zhou, L. Fan and H. Fan, *Microchim. Acta*, 2016, **183**, 2605–2613.
- 29 C. a. Strassert, M. Otter, R. Q. Albuquerque, A. Hone, Y. Vida, B. Maier and L. De Cola, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, 2009, **48**, 7928–7931.
- 30 D. Ho, *ACS Nano*, 2009, **3**, 3825–3829.
- 31 H. Huang, E. Pierstorff, E. Osawa and D. Ho, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 3305–3314.
- 32 R. A. Shimkunas, E. Robinson, R. Lam, S. Lu, X. Xu, X.-Q. Zhang, H. Huang, E. Osawa and D. Ho, *Biomaterials*, 2009, **30**, 5720–5728.
- 33 K. Turcheniuk, M. Khanal, A. Motorina, P. Subramanian, A. Barras, V. Zaitsev, V. Kuncser, A. Leca, A. Martoriati, K. Cailliau, J.-F. Bodart, R. Boukherroub and S. Szunerits, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 865–875.
- 34 Cancer today IARC, <http://gco.iarc.fr/today/home>, (accessed 21 June 2018).
- 35 I. Baldea and a G. Filip, *J. Physiol. Pharmacol.*, 2012, **63**, 109–18.
- 36 R. R. Allison and K. Moghissi, *Clin. Endosc.*, 2013, **46**, 24–29.
- 37 P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson and J. Golab, *CA. Cancer J. Clin.*, 2011, **61**, 250–281.
- 38 M. Trendowski, *Cancer Metastasis Rev.*, 2014, **33**, 143–160.
- 39 D. G. You, V. G. Deepagan, W. Um, S. Jeon, S. Son, H. Chang, H. I. Yoon, Y. W. Cho, M. Swierczewska, S. Lee, M. G. Pomper, I. C. Kwon, K. Kim and J. H. Park, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 23200.
- 40 A. Harada, M. Ono, E. Yuba and K. Kono, *Biomater. Sci.*, 2013, **1**, 65.
- 41 D. Costley, C. Mc Ewan, C. Fowley, A. P. McHale, J. Atchison, N. Nomikou and J. F. Callan, *Int. J. Hyperth.*, 2015, **6736**, 1–11.
- 42 N. Miyoshi, S. K. Kundu, T. Tuziuti, K. Yasui, I. Shimada and Y. Ito, *Nanosci. Nanoeng.*, 2016, **4**, 1–11.
- 43 G. Darabdhara, M. R. Das, V. Turcheniuk, K. Turcheniuk, V. Zaitsev, R. Boukherroub and S. Szunerits, *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**, 8366–8374.
- 44 K. Turcheniuk, R. Boukherroub and S. Szunerits, *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**, 4301–4324.
- 45 D. K. Chatterjee, L. S. Fong and Y. Zhang, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, **60**, 1627–1637.
- 46 R. R. Allison and C. H. Sibata, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2010, **7**, 61–75.
- 47 W. Chen and J. Zhang, 2006, **6**, 1159–1166.
- 48 A. P. Sviridov, L. A. Osminkina, A. Y. Kharin, M. B. Gongalsky, J. V Kargina, A. A. Kudryavtsev, Y. I. Bezsudnova, T. S. Perova, A. Geloen, V. Lysenko and V. Y. Timoshenko, *Nanotechnology*, 2017, **28**, 105102.
- 49 Y. Sun, X. Wang, C. Wang, D. Tong, Q. Wu, K. Jiang, Y. Jiang, C. Wang and M. Yang, *Microchim. Acta*, 2018, **185**, 1–8.
- 50 M. Buchalska, P. Labuz, Ł. Bujak, G. Szewczyk, T. Sarna, S. Maćkowski and W. Macyk, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 9468–75.
- 51 Y. Nosaka, T. Daimon, A. Y. Nosaka and Y. Murakami, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2004, **6**, 2917.
- 52 K. Turcheniuk, V. Turcheniuk, C.-H. Hage, T. Dumych, R. Bilyy, J. Bouckaert, L. Héliot, V. Zaitsev, R. Boukherroub and S. Szunerits, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 16365–16368.

- 53 A. Kamkaew, F. Chen, Y. Zhan, R. L. Majewski and W. Cai, *ACS Nano*, 2016, **10**, 3918–3935.
- 54 K. Tachibana, H. Endo, L. B. Feril, S. M. Nejad, H. Takahashi, K. Narihira and T. Kikuta, *J. Med. Ultrason.*, 2015, **42**, 449–455.
- 55 Y. Matsumura, A. Iwasawa, T. Kobayashi, T. Kamachi, T. Ozawa and M. Kohno, *Chem. Lett.*, 2013, **42**, 1291–1293.
- 56 M. Khanal, V. Turcheniuk, A. Barras, E. Rosay, O. Bande, A. Siriwardena, V. Zaitsev, G.-H. Pan, R. Boukherroub and S. Szunerits, *Langmuir*, 2015, **31**, 3926–33.
- 57 V. Turcheniuk, K. Turcheniuk, J. Bouckaert, A. Barras, T. Dumych, R. Bilyy, V. Zaitsev, A. Siriwardena, Q. Wang, R. Boukherroub and S. Szunerits, *ChemNanoMat*, 2016, **2**, 307–314.
- 58 H. Li, Z. Kang, Y. Liu and S.-T. Lee, *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**, 24230.
- 59 A. Mikhraliieva, V. Zaitsev and H. Motta, in *XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química*, Rio de Janeiro, 2017.
- 60 A. Mikhraliieva and V. Zaitsev, in *41^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Foz do Iguaçu, 2018, p. 633.
- 61 A. Mikhraliieva, H. Motta and V. N. Zaitsev, in *41^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Foz do Iguaçu, 2018.
- 62 WHO, *Globocan 2012*, 2012.
- 63 L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent and A. Jemal, *CA. Cancer J. Clin.*, 2015, **65**, 87–108.