

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA  
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrósio

**Associação de microesferas de hidroxiapatita com hidrogel polimérico para aplicação  
em Terapia Fotodinâmica**

**Association of hydroxyapatite microspheres with polymeric hydrogel for application in  
Photodynamic Therapy**

São José dos Campos

2026

Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio

**ASSOCIAÇÃO DE MICROESFERAS DE HIDROXIAPATITA COM HIDROGEL  
POLIMÉRICO PARA APLICAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, da Universidade do Vale do Paraíba como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Doutora em Engenharia Biomédica

Orientadora: Profa. Dra. Andreza Ribeiro Simioni  
Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Ferreira Strixino

São José dos Campos

2026

## TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

### Ficha catalográfica

Ambrósio, Jéssica Aparecida Ribeiro  
Associação de microesferas de hidroxiapatita com hidrogel polimérico para aplicação em Terapia Fotodinâmica / Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrósio; orientadora, Andreza Ribeiro Simioni; co-orientadora Juliana Ferreira Strixino. - São José dos Campos, SP, 2026.  
132 p.

Tese (Doutorado) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

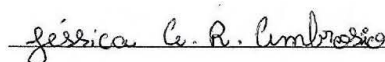
1. Engenharia Biomédica. 2. Hidrogéis. 3. Hidroxiapatita. 4. Fotoquimioterapia. 5. Biopolímeros. I. Simioni, Andreza Ribeiro, orient. II. Ferreira Strixino, Juliana, co-orient. III. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. IV. Título.

Eu, Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrósio, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 23 de Abril de 2026.



Autor(a) da Obra

Data da defesa: 24/02/2026

JÉSSICA APARECIDA RIBEIRO AMBRÓSIO

**“ASSOCIAÇÃO DE MICROESFERAS DE HIDROXIAPATITA COM HIDROGEL  
POLIMÉRICO PARA APLICAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA.”**

Tese aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba – Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Andreza Ribeiro Simioni	<i>Andreza Ribeiro Simioni</i>
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Juliana Ferreira Strixino	<i>Juliana Ferreira Strixino</i>
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Cristina Pacheco Soares	<i>Cristina Pacheco Soares</i>
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Maiara Lima Castilho	<i>Maiara Lima Castilho</i>
Prof. Dr. Marigilson Pontes de Siqueira Moura – Univasf	<i>Marigilson P. Siqueira Moura</i>
Prof. Dr. Fernando Lucas Primo - Unesp	<i>Fernando Lucas Primo</i>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 24 de fevereiro de 2026.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela minha vida, saúde e pela oportunidade de realizar tantos sonhos na minha vida, acadêmicos ou não. Obrigada por me sustentar até aqui, pela minha saúde e pela minha família. A Nossa Senhora Aparecida por sua intercessão em tantos momentos da minha vida, e por ser a minha companhia em todos os dias da minha vida.

Aos meus pais, Antônio e Sueli, por todo o amor, carinho e suporte em todos os momentos da minha vida. Muito obrigada por sonharem os meus sonhos comigo e por me darem todas as oportunidades possíveis e todo o apoio durante toda essa e todas as outras jornadas que eu escolho trilhar ao longo da vida. Embora eu nem sempre diga em palavras, eu amo vocês e sou muito grata por tudo.

Ao meu namorado Vitor, que foi um pilar durante todo meu período de doutorado. O meu mais sincero agradecimento por todo o apoio e suporte, principalmente emocional em grande parte deste processo, muito obrigada por me fazer enxergar um lado tão bonito da vida, por me devolver a crença no amor, por me incentivar a crescer, me tornar independente dentro e fora do laboratório, por todo o carinho e cuidado que você tem comigo diariamente, eu te amo muito e sou muito grata por dividir a vida e a jornada acadêmica com você.

A minha orientadora Andreza, que em 2016, ainda na faculdade permitiu que eu fosse conhecer o laboratório e desde então transformou minha vida: me possibilitou a oportunidade do mestrado e agora do doutorado. Obrigada por me mostrar a ciência em seu dia a dia e por revelar tantos segredos acadêmicos, me ajudando na escrita e na apresentação desde sempre. Obrigada por cuidar de nós no laboratório como uma família, por nos trazer um ambiente leve, de confiança, apoio e conforto. Serei eternamente grata por ter você na minha vida e por toda a parceria que construímos desde então.

Aos meus demais familiares, tios e primos, em especial as minhas tias Lúcia e Sônia, por sempre me apoiarem e estarem tão presentes na minha vida, proporcionando momentos de descanso, risadas, cuidado e aprendizado. Obrigada pela presença, carinho e pelo entendimento minha da ausência em muitas ocasiões.

A Beatriz, minha melhor amiga desde o ensino fundamental, que me acompanha mesmo com todas as mudanças que as nossas vidas foram sofrendo desde então, obrigada pela presença, pelas risadas, pelos filmes, pelos conselhos e acima de tudo pela estabilidade da nossa amizade e a certeza de que estaremos sempre uma pela outra, não importa a distância ou a situação.

A minha prima Amanda, que apesar da distância se faz presente na minha vida todos os dias, obrigada pela segurança, pelos conselhos e pelo nosso espaço livre de julgamentos, mas pronto para o conselho quando necessário. Sempre nós.

A todos os meus amigos, e em especial as minhas fiéis companheiras de laboratório: Janicy, Julia e Letícia. A presença de cada um de vocês moldou um espaço no meu coração que será sempre dedicado a memória dos melhores momentos (e piores, que serviram de aprendizado). Muito obrigada pelo colo, pelos momentos de descontração e por toda a troca que tivemos ao longo de toda a nossa jornada juntos.

A UNIVAP e a todas as pessoas envolvidas no seu funcionamento, meu mais sincero agradecimento. Entrei na instituição com 4 anos, aqui obtive todos os títulos acadêmicos que possuo e aqui formei quase todos os meus laços pessoais que não são de sangue. Sou e serei eternamente grata em pertencer.

De maneira específica gostaria de agradecer a minha coorientadora, Prof Juliana Strixino por todo o auxílio durante o desenvolvimento do trabalho e o suporte com a parte biológica. A prof Juliana Guerra por todo o auxílio com os ensaios biológicos e a sua discussão. Aos profs Leandro, Luís e Ivone por cederem espaços em seus laboratórios para a realização de alguns dos ensaios de caracterização. A Priscila e a Ângela por todo o auxílio necessário e o suporte que todos os alunos recebem da central de Laboratórios Multiusuários.

A CAPES pela oportunidade da bolsa de estudos, essencial para a continuidade do meu curso. A UNIVAP, FVE, Finep e FAPESP pelo financiamento de projetos e equipamentos dentro do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento.

A todos vocês que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização de mais um sonho pessoal e profissional, o meu sincero agradecimento. Cada um leva um lugar especial no meu coração. Não sei quais as próximas aventuras que a vida me reserva, espero contar com o apoio e a amizade de vocês em todos estes novos caminhos. Aprendi com meu filme favorito que o final e um novo ciclo nem sempre precisa ser de tristeza, e sim de peito aberto para uma nova jornada, encerro aqui com a frase que me marcou tanto desde então: *“estamos mesmo todos juntos nessa”*.

*“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que a fez tão importante”*

Antoine de Saint-Exupér

## DECLARAÇÃO

Declaro que estou ciente de todas as informações contidas neste projeto de pesquisa, o texto foi revisado por mim, Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio e pela minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Ribeiro Simioni. O conteúdo está segundo as normas do programa, o português foi revisado adequadamente

São José dos Campos, 9 de fevereiro de 2026.

Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio

Jéssica A. R. Ambrosio

\_\_\_\_\_  
Andreza Ribeiro Simioni

## IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa desenvolvida neste trabalho engloba os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), com foco na ODS 3 (Boa Saúde e Bem-estar). O impacto potencial desta pesquisa tange diferentes áreas, a saber: **1) Científica e Técnica:** O desenvolvimento de um novo sistema de liberação a partir de uma blenda polimérica pode auxiliar na melhoria ou na otimização de protocolos de tratamento não só de neoplasias, como de outras doenças não oncológicas podendo contribuir para inovação tecnológica na área de nanotecnologia e engenharia biomédica. **2) Social:** O trabalho contribui com o fortalecimento de tratamentos já disponíveis, e no desenvolvimento de formulações para serem utilizados antes e após procedimentos cirúrgicos buscando qualidade de vida aos pacientes. **3) Inovadora e Econômica:** O sistema desenvolvido é proposto para o uso como tratamento alternativo de gliosarcoma, ou para uso combinado com a cirurgia. Acarretando as diminuições de custos com medicamentos e outros procedimentos hospitalares. **4) Educacional e Cultural:** O surgimento de diferentes formas de tratamento para neoplasias, como o gliosarcoma, pode abrir novos campos de estudo e incentivar a produção de outros trabalhos derivados nesta temática, bem como impactar nos tratamentos já existentes e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes, principalmente com o aumento na eficácia do tratamento, melhoria na adesão do paciente e redução de efeitos colaterais indesejados. **5) Internacionalização e Inserção Local:** A divulgação do trabalho em revistas acadêmicas-científicas internacionais promove a difusão do conhecimento enquanto fornece material de estudo e de melhoria tanto para o setor industrial/produtivo quanto para o setor hospitalar podendo gerar alianças estratégicas em saúde para estes setores. **6) Desenvolvimento Sustentável:** A ODS 3 (Boa Saúde e Bem-estar) visa a promoção de uma vida saudável e do bem-estar para toda a população, independentemente de sua idade. Assegurar a saúde e o bem-estar é crucial para o desenvolvimento sustentável, uma vez que afeta diretamente a capacidade humana, a economia e a diminuição da pobreza, sendo indispensável para que todos possam ter uma vida plena e produtiva.

## POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The research developed in this work encompasses the Sustainable Development Goals (SDGs), focusing on SDG 3 (Good Health and Well-being). The potential impact of this research touches on different areas, namely: **1) Scientific and Technical:** The development of a new delivery system from a polymer blend can help improve or optimize treatment protocols not only for neoplasms, but also for other non-oncological diseases, potentially contributing to technological innovation in the area of nanotechnology and biomedical engineering. **2) Social:** The work contributes to strengthening already available treatments and developing formulations to be used before and after surgical procedures, seeking to improve the quality of life for patients. **3) Innovative and Economic:** The developed system is proposed for use as an alternative treatment for gliosarcoma, or for combined use with surgery, resulting in reduced costs for medications and other hospital procedures. **4) Educational and Cultural:** The emergence of different forms of treatment for neoplasms, such as gliosarcoma, can open new fields of study and encourage the production of other derivative works on this theme, as well as impact existing treatments and improve the quality of life of patients, mainly with increased treatment efficacy, improved patient adherence, and reduction of unwanted side effects. **5) Internationalization and Local Insertion:** The dissemination of work in international academic-scientific journals promotes the diffusion of knowledge while providing study and improvement material for both the industrial/productive sector and the hospital sector, potentially generating strategic health alliances for these sectors. **6) Sustainable Development:** SDG 3 (Good Health and Well-being) aims to promote healthy lives and well-being for the entire population, regardless of age. Ensuring health and well-being is crucial for sustainable development, as it directly affects human capacity, the economy, and poverty reduction, being indispensable for everyone to have a full and productive life.

## RESUMO

A hidroxiapatita (HAp) é uma cerâmica que apresenta semelhanças com a estrutura óssea humana, biocompatibilidade e bioatividade, além de capacidade de remodelação (em nanoescala). Os hidrogéis apresentam a propriedade de intumescimento, resultante de ligações cruzadas estruturais do polímero (ou biopolímero). A combinação destes dois sistemas configura uma alternativa de sistema de liberação controlada (*Drug Delivery Systems* – DDS), promissor para o uso em tratamentos envolvendo a terapia fotodinâmica (TFD). O objetivo do trabalho foi a síntese de microesferas de hidroxiapatita (meHAp), o encapsulamento com Cloro Alumínio Ftalocianina (ClAlPc), a síntese de um sistema hidrogel de álcool polivinílico (PVA)/Gelatina e o encapsulamento com a ClAlPc e os derivados da meHAp. As caracterizações realizadas foram: microscopia eletrônica de Varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia RAMAN, difratometria de raios-X (DRX), espectroscopia no Uv-Visível, Termogravimetria (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), grau de intumescimento (%GI) e estudos *in vitro* em culturas de gliosarcoma e melanoma (apenas para o hidrogel). As formulações de meHAp apresentaram formato esférico, bandas características do sistema nas análises de FTIR e RAMAN. A técnica de DRX permitiu a comparação com fichas de HAp correspondentes. As meHAp apresentaram comportamento térmico condizente com a literatura. Os estudos espectroscópicos não apontaram alteração no perfil espectral da ClAlPc quando encapsulada. As meHApClAlPc foram internalizadas pelas células de gliosarcoma 9L/lacZ e apresentaram redução da viabilidade em mais de 98%. Os hidrogéis sintetizados apresentaram morfologia em rede tridimensional, comportamento térmico condizente com a literatura, picos condizentes com os componentes base no FTIR e grau de intumescimento médio de 5- 613%. Os resultados do UV-Visível confirmaram que não houve alteração no perfil da ClAlPc quando encapsulada e permitiram a avaliação do perfil de liberação dos sistemas (45% - hidrogel meHApClAlPc e de 94% hidrogel ClAlPc). Nas células 9L/lacZ o hidrogel apresentou redução média de 97% na viabilidade. Já para a cultura de melanoma a redução média de 96%. Os resultados reiteram a eficácia do sistema desenvolvido, destacando que a incorporação de microesferas de hidroxiapatita no hidrogel permitiu uma redução de 20 vezes na concentração mínima necessária do fotossensibilizador para alcançar o efeito fotodinâmico desejado. Essa potencialização da atividade antitumoral posiciona a formulação como uma alternativa altamente eficiente e menos invasiva para o tratamento de linhagens neoplásicas. Com base nos resultados obtidos espera-se que os sistemas sintetizados possam ser utilizados como modelo para novos DDS e contribuam para o tratamento de diversas neoplasias, destacando o potencial terapêutico, redução de toxicidade e inovação estrutural do sistema proposto.

**Palavras-chave:** Cloro alumínio Ftalocianina, Hidrogel, Hidroxiapatita, Microesferas, e Terapia Fotodinâmica.

## ABSTRACT

Hydroxyapatite (HAp) is a ceramic that exhibits similarities to human bone structure, biocompatibility, and bioactivity, as well as remodeling capacity (at the nanoscale). Hydrogels exhibit swelling properties resulting from structural cross-links of the polymer (or biopolymer). The combination of these two systems constitutes a promising alternative controlled drug delivery system (DDS) for use in treatments involving photodynamic therapy (PDT). The objective of this work was the synthesis of hydroxyapatite microspheres (meHAp), encapsulation with Chloroaluminum Phthalocyanine (ClAlPc), the synthesis of a polyvinyl alcohol (PVA)/gelatin hydrogel system, and encapsulation with ClAlPc and meHAp derivatives. The characterizations performed were: Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Raman Spectroscopy, X-ray Diffraction (XRD), UV-Visible Spectroscopy, Thermogravimetry (TGA), and Differential Scanning Calorimetry (DSC), degree of swelling (%GI), and in vitro studies in gliosarcoma and melanoma cultures (only for the hydrogel). The meHAp formulations presented a spherical shape and characteristic bands of the system in the FTIR and Raman analyses. The XRD technique allowed comparison with corresponding HAp data sheets. The meHAp formulations showed thermal behavior consistent with the literature. Spectroscopic studies did not indicate any alteration in the spectral profile of ClAlPc when encapsulated. The meHApClAlPc formulations were internalized by 9L/lacZ gliosarcoma cells and showed a reduction in viability of more than 98%. The synthesized hydrogels presented a three-dimensional network morphology, thermal behavior consistent with the literature, peaks consistent with the base components in FTIR, and an average swelling degree of 5-613%. UV-Vis results confirmed that there was no alteration in the ClAlPc profile when encapsulated and allowed the evaluation of the release profile of the systems (45% - meHApClAlPc hydrogel and 94% ClAlPc hydrogel). In 9L/lacZ cells, the hydrogel showed an average reduction of 97% in viability. For melanoma culture, the average reduction was 96%. The results reiterate the efficacy of the developed system, highlighting that the incorporation of hydroxyapatite microspheres into the hydrogel allowed a 20-fold reduction in the minimum concentration of photosensitizer required to achieve the desired photodynamic effect. This potentiation of antitumor activity positions the formulation as a highly efficient and less invasive alternative for the treatment of neoplastic cell lines. Based on the results obtained, it is expected that the synthesized systems can be used as a basis for new DDS and contribute to the treatment of various neoplasms, highlighting the therapeutic potential, reduced toxicity, and structural innovation of the proposed system.

**Keywords:** Chloroaluminum Phthalocyanine, Hydrogel, Hydroxyapatite, Microspheres, and Photodynamic Therapy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do fotossensibilizador Photofrin®.....	23
Figura 2: Estrutura química do ALA.....	24
Figura 3: Protocolo de aplicação TFD.....	24
Figura 4: Diagrama de Jablonski.....	25
Figura 5: Estrutura molecular da ClAlPc.....	27
Figura 6: Representação de um sistema hidrogel.....	30
Figura 7: Estrutura molecular da gelatina.....	31
Figura 8: Estrutura molecular do álcool polivinílico.....	31
Figura 9: Esquema representativo das modalidades de tratamento disponíveis e a proposta para o tratamento de gliosarcoma.....	33
Figura 10: Esquema representativo das modalidades de tratamento disponíveis e a proposta para o tratamento de melanoma.....	35
Figura 11: Metodologia de síntese das microesferas de vaterita.....	38
Figura 12: Metodologia de síntese das meHAp.....	39
Figura 13: Metodologia de síntese meHApClAlPc.....	39
Figura 14: Metodologia de síntese do hidrogel PVA/Gelatina.....	40
Figura 15: Metodologia de síntese do hidrogel encapsulado.....	41
Figura 16: Metodologia de cultivo das linhagens 9L/LacZ.....	45
Figura 17: Metodologia de preparo das células para o ensaio de internalização celular.....	47
Figura 18: Metodologia do protocolo de aplicação da TFD em células 9L//LacZ.....	48
Figura 19: Metodologia de análise de viabilidade celular (9L/LacZ).....	49
Figura 20: Metodologia de cultivo da linhagem (SK-MEL 28).....	50
Figura 21: Metodologia de preparo das células para o ensaio de internalização celular (SK-MEL 28).....	50
Figura 22: Metodologia do protocolo de aplicação da TFD em células SK-MEL 28.....	51
Figura 23: Metodologia de análise de viabilidade celular (SK-MEL 28).....	52
Figura 24: Micrografia obtida por MEV das microesferas de vaterita.....	53
Figura 25: Gráfico de diâmetro hidrodinâmico das microesferas de vaterita.....	55
Figura 26: Micrografia obtida por MEV das microesferas de hidroxiapatita.....	56
Figura 27: Gráfico de diâmetro hidrodinâmico das microesferas de hidroxiapatita.....	57
Figura 28: Espectro de FTIR das sínteses de vaterita e meHAp.....	58
Figura 29: Espectro de FTIR das amostras de meHAp, meHApClAlPc e ClAlPcEspectro de FTIR das amostras de meHAp, meHApClAlPc e ClAlPc.....	59
Figura 30: Termograma de TGA das amostras de vaterita e meHAp.....	61

Figura 31: DSC das amostras de vaterita e meHAp .....	62
Figura 32: DRX da amostra de vaterita .....	63
Figura 33: DRX meHAp .....	63
Figura 34: Espectro Raman de vaterita .....	64
Figura 35: Espectro RAMAN das meHAp.....	65
Figura 36: Gráfico de EDX da amostra de vaterita .....	67
Figura 37: Gráfico de EDX da amostra de meHAp.....	68
Figura 38: EDX da amostra de meHApClAlPc.....	69
Figura 39: Curva normalizada da ClAlPc livre e encapsulada.....	70
Figura 40: a) Curva de calibração da ClAlPc, b) Linear Fit da concentração x absorvância...	71
Figura 41: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o FS no interior da célula de gliosarcoma, após uma hora de incubação das meHApClAlPc nas concentrações de 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ e 125 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .....	72
Figura 42: Impacto dos tratamentos na viabilidade de gliosarcoma 9l/lacZ após os tratamentos no escuro e irradiados utilizando as meHApClAlPc.....	73
Figura 43: Micrografia obtida por MEV do hidrogel de PVA/Gelatina.....	74
Figura 44: Micrografia obtida por MEV do hidrogel ClAlPc .....	75
Figura 45: Micrografia obtida por MEV do hidrogel meHAp .....	76
Figura 46: Micrografia obtida por MEV do hidrogel meHApClAlPc.....	76
Figura 47: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da gelatina e do PVA .....	77
Figura 48: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da ClAlPc e do hidrogel ClAlPc .....	79
A figura 49 evidencia o encapsulamento das meHAp no hidrogel, também via adsorção física, evidenciado pelo surgimento de bandas referentes ao Estiramento C-O ( $872\text{cm}^{-1}$ ) estiramento P-O ( $1029\text{cm}^{-1}$ ) e a flexão P-O ( $511\text{cm}^{-1}$ ).Figura 49: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da meHAp e do hidrogel meHAp .....	79
Figura 50: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, das meHAp ClAlPc e do Hidrogel meHApClAlPc .....	81
Figura 51: Termograma do hidrogel de PVA/Gelatina, da gelatina e do PVA.....	83
Figura 52: DSC do hidrogel de PVA/ Gelatina, da Gelatina e do PVA .....	84
Figura 53: Gráfico de intumescimento da amostra de hidrogel liofilizado .....	85
Figura 54: Gráfico de intumescimento da amostra de hidrogel hidratado .....	86
Figura 55: Espectro de Uv-Vis das amostras de hidrogel contendo ClAlPc.....	88
Figura 56: Gráfico de acompanhamento da liberação de ClAlPc das amostras de hidrogel....	90
Figura 57: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o sistema hidrogel no interior da célula de gliosarcoma, após uma hora de incubação para as duas amostras de hidrogel contendo ClAlPc .....	91

- Figura 58: Análise da viabilidade de gliossarcoma 24 horas após a TFD. É apresentado o gráfico do grupo escuro e irradiado tanto com o FS – hidrogel, quanto do hidrogel vazio. As diferenças estáticas foram obtidas pela análise de variância (ANOVA =  $p \leq 0$  e estão assinaladas com símbolos: (\*# •) para comparação dos grupos. .... 93
- Figura 59: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o sistema hidrogel no interior da célula de melanoma, após uma hora de incubação para as duas amostras de hidrogel contendo CIAIPc..... 95
- Figura 60: Viabilidade de células SK-MEL-28 após tratamento com os compostos, avaliados nas condições escuro e irradiado. Os resultados são expressos como porcentagem de viabilidade celular em relação ao grupo controle. As diferenças estáticas foram obtidas pela análise de variância (ANOVA =  $p \leq 0,05$ ) e estão assinaladas com símbolos: (\*) para comparação dos grupos..... 96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de internalização celular (gliosarcoma) .....	46
Tabela 2: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de TFD .....	48
Tabela 3: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de internalização celular (melanoma) .....	51
Tabela 4: Atribuição de bandas do FTIR para vaterita.....	58
Tabela 5: Atribuição de bandas do FTIR para meHAp.....	58
Tabela 6: Atribuição de bandas do FTIR para meHApCIAIPc e CIAIPc.....	60
Tabela 7: Atribuição das bandas do RAMAN vaterita.....	65
Tabela 8: Espectro RAMAN das meHAp .....	66
Tabela 9: EDX da amostra de vaterita.....	66
Tabela 10: EDX da amostra de meHAp .....	67
Tabela 11: EDX da amostra de meHApCIAIPc .....	68
Tabela 12: Atribuição de bandas de FTIR para as amostras de gelatina, PVA e hidrogel de PVA e gelatina .....	78
Tabela 13: Atribuições de bandas de FTIR para as amostras de hidrogel encapsuladas.....	82
Tabela 14:% GI médio do Hidrogel PVA/Gelatina.....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1\text{O}_2$ - oxigênio singlete

$^3\text{O}_2$ - estado triplete

ALA - Ácido 5-aminolevulínico

ANOVA - Análise de variância (fórmula estatística)

ATR - Tecnologia de refletância total atenuada

ClAlPc – Cloro Alumínio Ftalocianina

DAPI – 4,6-diamidino-2-fenilindol, dicloridrato

DDS – Sistemas de liberação modificada (*Drug Delivery Systems*)

DLS- Espalhamento Dinâmico da Luz

DMEM - *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (meio de cultura celular)

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

EE – Eficiência de Encapsulamento

EEmeHApClAlPc- Eficiência de Encapsulamento das meHApClAlPc

EEh- Eficiência de Encapsulamento das amostras de hidrogel

FBS - Soro bovino fetal certificado

FS - Fotossensibilizadores

FTIR - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

GI – Grau de Intumescimento

HAp – Hidroxiapatita

meHAP – Microesferas de hidroxiapatita

meHAPClAlPc – Microesferas de hidroxiapatita encapsuladas com a Cloro Alumínio Ftalocianina

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

PBS - Tampão fosfato-salino

PSS - Poli (4-estireno sulfonato de sódio)

PVA – Álcool Polivinílico

PVAc- poli acetato de vinila

ROS - Espécies reativas de oxigênio

TFD - Terapia Fotodinâmica

TGA – Termogravimetria

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	23
2.1	TERAPIA FOTODINÂMICA: LINHA DO TEMPO E MECANISMOS DE AÇÃO .....	23
2.2	FOTOSENSIBILIZADORES .....	26
2.3	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA .....	28
2.4	MATERIAIS CERÂMICOS: VATERITA E HIDROXIAPATITA .....	29
2.5	MATERIAIS POLIMÉRICOS: HIDROGEL.....	30
2.6	CÂNCER.....	32
2.6.1	Gliossarcoma.....	32
2.6.2	Melanoma.....	34
3	OBJETIVOS .....	35
3.1	OBJETIVO GERAL .....	35
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1	MATERIAIS.....	37
4.2	MÉTODOS.....	37
4.2.1	Síntese das microesferas de vaterita .....	37
4.2.2	Síntese das microesferas de hidroxiapatita (meHAp) .....	38
4.2.3	Síntese do hidrogel.....	39
4.2.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	41
4.2.5	Espalhamento dinâmico da luz (DLS).....	41
4.2.6	Espectroscopia Raman.....	42
4.2.7	Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDX).....	42
4.2.8	Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-VÍS).....	42
4.2.9	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	42
4.2.10	Difratometria de Raios-X (DRX) .....	43
4.2.11	Termogravimetria (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	43
4.2.12	Avaliação do grau de intumescimento (GI) .....	43
4.2.13	Eficiência de encapsulamento (% EE) .....	43
4.2.14	Estudo de liberação de FS .....	44
4.2.15	Estudos <i>in vitro</i> utilizando linhagem de gliossarcoma .....	45
4.2.15.1	<i>cultura de linhagem de gliossarcoma 9L/lacZ</i> .....	45

4.2.15.2	<i>Diluição das formulações</i> .....	45
4.2.15.3	<i>Internalização celular</i> .....	46
4.2.15.4	<i>Terapia fotodinâmica</i> .....	47
4.2.15.5	<i>Análise de viabilidade celular pelo método de exclusão do azul de Tripan</i> .....	48
4.2.16	<i>Estudos in vitro utilizando linhagens de melanoma</i> .....	49
4.2.16.1	<i>Cultura de linhagem de melanoma</i> .....	49
4.2.16.2	<i>Internalização celular</i> .....	50
4.2.16.3	<i>Terapia Fotodinâmica</i> .....	51
4.2.16.4	<i>Análise de viabilidade celular pelo método de exclusão do azul de Tripan</i> .....	52
4.2.17	<i>Análise estatística</i> .....	52
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	53
5.1	<b>VATERITA E HIDROXIAPATITA</b> .....	53
5.1.1	<b>Caracterização morfológica e de tamanho</b> .....	53
5.1.2	<b>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	57
5.1.3	<b>Termogravimetria (TGA)</b> .....	60
5.1.4	<b>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	61
5.1.5	<b>Difração de raios X (DRX)</b> .....	62
5.1.6	<b>Espectroscopia Raman</b> .....	64
5.1.7	<b>Espectroscopia por energia dispersiva (EDX)</b> .....	66
5.1.8	<b>Estudos espectroscópicos no ultravioleta visível</b> .....	69
5.1.9	<b>Internalização do FS</b> .....	71
5.1.10	<b>Análise da viabilidade celular pelo método de exclusão com azul de tripan</b> .....	72
5.2	<b>HIDROGEL PVA/ GELATINA</b> .....	74
5.2.1	<b>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</b> .....	74
5.2.2	<b>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	77
5.2.3	<b>Termogravimetria (TGA)</b> .....	83
5.2.4	<b>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	84
5.2.5	<b>Grau de intumescimento (%GI)</b> .....	85
5.2.6	<b>Estudos espectroscópicos no ultravioleta visível (UV-VÍS)</b> .....	88
5.2.7	<b>Estudo de liberação do hidrogel</b> .....	89
5.2.8	<b>Estudos in vitro em cepas de gliosarcoma</b> .....	91
5.2.8.1	<i>Internalização celular</i> .....	91
5.2.8.2	<i>Análise da viabilidade celular com teste de exclusão com azul de tripan</i> .....	92
5.2.9	<b>Estudos in vitro em cepas de melanoma</b> .....	94
5.2.9.1	<i>Internalização celular</i> .....	94

5.2.9.2	<i>Análise da viabilidade celular com teste de exclusão com azul de tripan</i> .....	96
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	99
7	<b>PRODUÇÃO ACADÊMICA</b> .....	100
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	101
	<b>ANEXO A: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO III CDNB</b> .....	126
	<b>ANEXO B: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO IV CDNB</b> .....	126
	<b>ANEXO C: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO V CDNB</b> .....	127
	<b>ANEXO D: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO VI CDNB</b> .....	127
	<b>ANEXO E: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO I SEBVAP</b> .....	128
	<b>ANEXO F: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO II SEBVAP</b> .....	128
	<b>ANEXO G: CERTIFICADO DE TRABALHO PREMIADO II SEBVAP</b> .....	129
	<b>ANEXO H: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO III SEBVAP</b> .....	129
	<b>ANEXO I: CERTIFICADO DE TRABALHO PREMIADO III SEBVAP</b> .....	130
	<b>ANEXO J: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO IV SEBVAP</b> .....	130
	<b>ANEXO K: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO 2º CONGRESSO CIENTÍFICO TECNOLÓGICO, REALIZADO DURANTE O 3º SCIENCE &amp; BUSINESS CONNECTION</b> .....	131
	<b>ANEXO L: PUBLICAÇÃO DO PRIMEIRO ARTIGO ACADÊMICO REFERENTE A TESE</b> .....	131
	<b>ANEXO M: PUBLICAÇÃO DE ARTIGO TÉCNICO REFERENTE A TESE ...</b> .....	132
	<b>ANEXO N: PRODUÇÃO ACADÊMICA</b> .....	133

# 1 INTRODUÇÃO

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é aplicada no tratamento de diversas neoplasias e doenças não oncológicas, apresentando características favoráveis quando comparada com tratamentos convencionais destacando a seletividade e a minimização de efeitos colaterais. A técnica tem como base a combinação de três pilares: luz em comprimento de onda adequado, a presença de um fotossensibilizador (FS) e a presença do oxigênio molecular (Huang *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2019; Pham *et al.*, 2021).

Os FS são moléculas capazes de absorver fótons e transitarem de seu estado fundamental para o estado excitado, culminando em um evento de liberação de energia que leva a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), de acordo com o mecanismo de ação da TFD. A literatura relata uma ampla gama de moléculas usadas como FS, como o azul de metileno e as inúmeras variações de ftalocianinas (Escudero *et al.*, 2021; Lan *et al.*, 2019).

As ftalocianinas constituem uma classe de FS's que apresentam máxima absorção de luz entre 600 e 800nm sendo aplicadas em protocolos de TFD. A Cloro Alumínio Ftalocianina (ClAlPc) é conhecida na literatura por não apresentar perdas em suas propriedades fotoquímicas e fotofísicas quando associada a um sistema de liberação modificada, possui ação antimicrobiana e antineoplásica, além de apresentar absorção de luz na região de 600nm, onde a penetração de luz no tecido é maximizada sem a interferência de cromóforos endógenos (CANGUSSU, L. M. B *et al.*, 2022; Santos, *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2020).

Na tentativa de possibilitar a entrega direta de FS's no local do tumor e a entrega de ativos em locais incompatíveis com a natureza da molécula surgiram os sistemas de liberação modificada (*Drug Delivery Systems* - DDS), como por exemplo: nanopartículas, lipossomas, micropartículas, sistemas hidrogel etc. (Edis *et al.*, 2021; Lengyel *et al.*, 2019).

A finalidade do DDS é direcionar a entrega do FS, mantendo a taxa de liberação, proporcionando a entrega localizada do ativo mesmo em locais adversos ao mesmo e reduzir os efeitos colaterais causados pelo tratamento (Pushpamalar *et al.*, 2021).

A organização dos polímeros em rede tridimensional formando um sistema hidrogel permite que a capacidade de intumescimento destes sistemas seja explorada, beneficiando o seu uso como DDS. No entanto, a aplicação destes sistemas também abrange a produção de curativos, produtos de higiene, lentes de contato e enxertos (Cascone; Lamberti, 2020; Dreiss, 2020; Nele *et al.*, 2020).

As características mecânicas dos hidrogéis são dependentes da composição dos mesmos e dos processos de reticulação, que pode ser física (proveniente de ligações iônicas, resultando

em composições de baixa resistência mecânica) ou química (proveniente de ligações covalentes, resultando em composições de alta resistência) (Cao *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2020; Nele *et al.*, 2020).

O avanço científico e acadêmico na área de nanotecnologia contribui para melhorias em diversas áreas como a medicina, possibilitando a ascensão e a implementação de novos tratamentos para diversas doenças como o câncer. Muitos materiais tanto poliméricos quanto cerâmicos vêm sendo utilizados como veículo para entrega de FS em protocolos de TFD (Kwiatkowski *et al.*, 2018; Sahu *et al.*, 2021).

A hidroxiapatita (HAp) é uma cerâmica similar a estrutura óssea humana, o que confere ao material a propriedade de biocompatibilidade. A HAp é atóxica e inerte quando em contato com tecido. Formulações a base de hidroxiapatita vem sendo utilizadas como DDS devida a sua capacidade de adsorção e permeabilidade, alguns estudos trabalham com a formulação de sistemas pH responsivos (Lima *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021).

A junção da HAp e de um sistema hidrogel pode evitar a degradação do sistema cerâmico durante o transporte do DDS no organismo, e possibilitar melhoras na resistência mecânica do sistema hidrogel, bem como fornecer ao mesmo a capacidade de resposta a estímulos externos, potencializando as propriedades de cada um dos sistemas (Nunes *et al.*, 2022).

O desenvolvimento de novas formulações biomédicas e novas alternativas de tratamento para neoplasias visa contribuir para a ODS 3 (Boa Saúde e Bem-estar), que visa promover a saúde para todos, refletindo também em outros setores como econômico, industrial e educacional.

Com base no exposto acima, o objetivo do trabalho foi desenvolver microesferas de hidroxiapatita (meHAp) encapsuladas com ClAlPc e um sistema hidrogel, para futura aplicação combinada como DDS em TFD, unindo as características favoráveis do contato da HAp com o organismo e o potencial de tratamento da ClAlPc em uma nova alternativa de tratamentos, contribuindo para o avanço da nanotecnologia nesta área.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

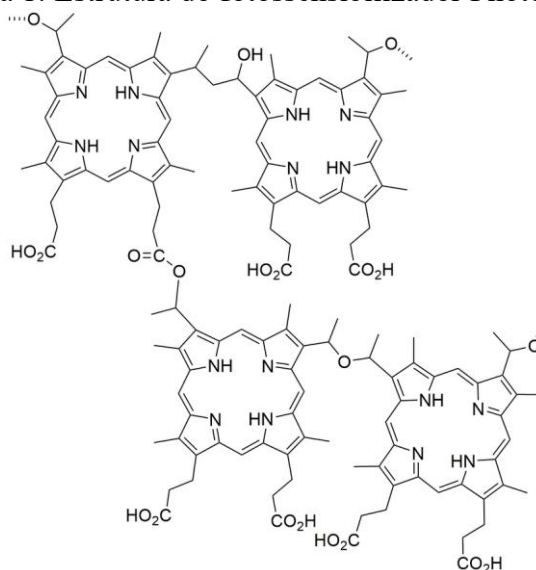
### 2.1 TERAPIA FOTODINÂMICA: LINHA DO TEMPO E MECANISMOS DE AÇÃO

Desde a antiguidade os povos egípcios e chineses utilizavam a exposição ao sol como forma de tratar doenças de pele como o vitiligo. O médico grego Heródoto também se utilizava do recurso solar para o restabelecimento de pacientes. Já em 1903, Niels Finsen foi agraciado com um prêmio Nobel de fisiologia por suas descobertas envolvendo a luz como forma de tratamento para *lúpus vulgaris* (Correia *et al.*, 2021).

Em 1900, Oscar Raab e H. Von Tappeiner obtiveram a morte celular de protozoários utilizando a combinação de luz com o corante vermelho de acridina. Em 1904, H. Von Tappeiner e A. Jodlbauer concluíram que o oxigênio, juntamente com a luz e um corante eram fundamentais para o evento de morte celular e o fenômeno conhecido como “Efeito fotodinâmico” (Correia *et al.*, 2021).

O primeiro FS comercializado e utilizado inicialmente para testes *in vivo* com animais e posteriormente empregado para tratamento de câncer de pulmão foi o Photofrin® (Figura 1), um derivado da Hematoporfirina que marcou uma classe de materiais conhecidos como FS de primeira geração. Tais compostos, no entanto, apresentaram algumas limitações, como fotossensibilidade prolongada e absorção de luz em curto comprimento de onda (Dobson; Queiroz; Golding, 2018).

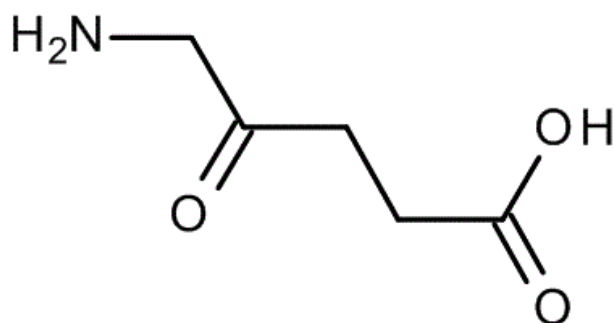
Figura 1: Estrutura do fotossensibilizador Photofrin®.



Fonte: Gomes, Neves e Caval (2018).

A segunda geração de FS foi desenvolvida com o objetivo de potencializar as formas de tratamento já existentes e preencher as lacunas de atuação deixadas pelos FS de primeira geração. Um exemplo dessa classe de moléculas é o ácido 5 - aminolevulínico (ALA, Figura 2) (Dobson, Queiroz; Golding., 2018).

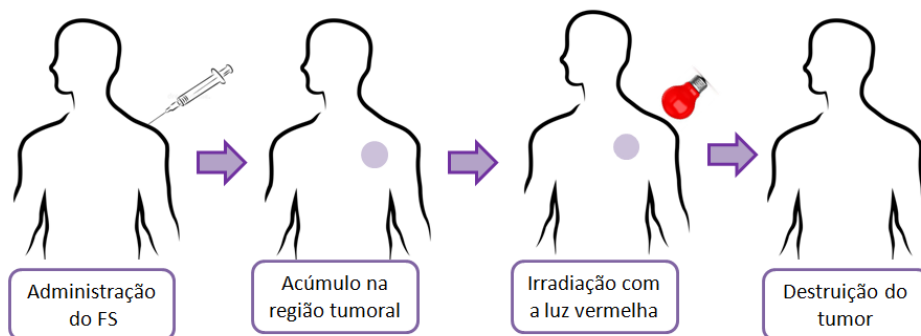
Figura 2: Estrutura química do ALA



Fonte: Dobson, Queiroz e Golding (2018)

O protocolo de aplicação da TFD (Figura 3) tem início com a administração do FS, seguido por um tempo de espera (tempo de *delay*) para que o FS se acumule ao redor do tumor a ser tratado. Em seguida, a região é irradiada com uma fonte de luz em comprimento de onda adequado, iniciando as reações necessárias para a formação das espécies reativas de oxigênio que ocasionam a morte celular do tecido lesionado. A fonte de luz deve ser escolhida com base no FS aplicado no tratamento e da localização do tumor (Chen *et al.*, 2020; Mazzilli *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2019).

Figura 3: Protocolo de aplicação TFD.

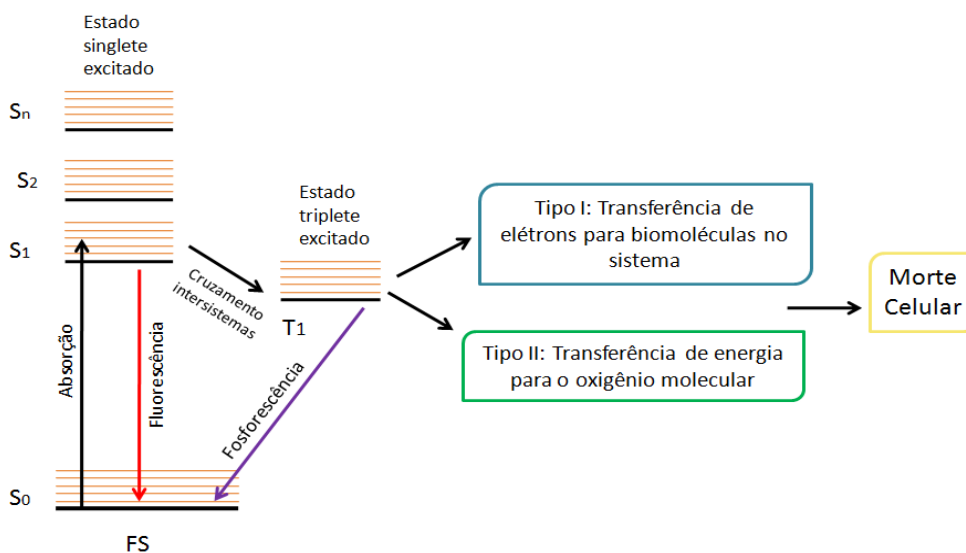


Fonte: Elaborado pela autora.

A dosimetria da TFD em cada caso deve ser planejada de acordo com os seguintes critérios: FS a ser utilizado, localização do tumor, fonte de luz disponível, tempo de *delay*, geração de ROS, dificuldade de informações acerca do funcionamento do FS *in vivo* etc. A oxigenação do tecido onde ocorre a TFD é fundamental para a ocorrência das reações que levam a morte celular do tumor alvo e caso seja necessária pode ser realizada a oxigenação do tecido de forma direta (uso de transportadores de O<sub>2</sub>) e indireta (uso da enzima catalase) (Algorri *et al.*, 2021; Correia *et al.*, 2021).

Após a irradiação, os fótons presentes no FS (inicialmente em seu estado fundamental) passam para o estado singlete excitado, de onde podem emitir energia por fluorescência e retornarem ao seu estado fundamental ou sofrerem um cruzamento intersistema (inversão de spin) e passarem para o estado triplete excitado. A partir deste estado podem acontecer dois tipos de reações, conhecidas como reações do tipo I e reações do tipo II (Chen *et al.*, 2020; Kwiatkowski *et al.*, 2018). O diagrama de Jablonski (Figura 4) ilustra os estados energéticos de um FS e as transições energéticas entre os mesmos.

Figura 4: Diagrama de Jablonski



Fonte: Adaptado de Wu e colaboradores (2022).

No mecanismo do tipo I o retorno do elétron do seu estado singlete excitado (caracterizado por apresentar um curto tempo de meia vida, da ordem de  $\mu$ segundos) para o estado fundamental, ocorre por transferência de elétrons para as biomoléculas presentes no organismo, levando a formação de radicais e de uma pequena quantidade de espécies reativas de oxigênio (Chen *et al.*, 2020; Kwiatkowski *et al.*, 2018).

Já no mecanismo de ação do tipo II, os elétrons no estado singleto excitado sofrem um cruzamento intersistema e vão para o estado tripleto excitado (onde apresentam maior período de meia vida, da ordem de nanosegundos), podendo retornar ao seu estado fundamental por fosforescência ou liberação de energia, que será transferida ao oxigênio molecular, levando a formação de ROS como o oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ), principal responsável pela morte celular no protocolo da TFD (Chen *et al.*, 2020).

A transferência de energia para produzir  $^1\text{O}_2$  (tipo II) compete com a transferência de elétrons (tipo I), e acredita-se que a maioria dos FS's geram  $^1\text{O}_2$  e radicais. Como a transferência de energia para estado tripleto ( $^3\text{O}_2$ ) ocorre em uma taxa mais alta do que a transferência de elétrons,  $^1\text{O}_2$  é mais reativo do que as espécies radicalares, sendo o oxigênio singleto considerado a principal espécie prejudicial na TFD (Benov, 2015; Edge; Truscott, 2021).

A aplicação clínica da TFD teve início em 1970 para tratamentos de câncer de bexiga, no entanto, com o avanço dos estudos e das tecnologias hoje já se estende para uma infinidade de outros tumores malignos, aplicações envolvendo infecções bacterianas na área da odontologia e auxiliando em tratamentos de cicatrização de feridas (Niculescu; Grumezescu, 2021).

Quando comparada as outras abordagens de tratamento a TFD apresenta vantagens como: possibilidade de repetição da aplicação (ao contrário da radioterapia, por exemplo), seletividade de acúmulo do FS apenas na região alvo e ausência de efeitos colaterais (ao contrário dos protocolos de quimioterapia e radioterapia). No entanto a TFD pode ser limitada pela oxigenação do tecido a ser tratado e no caso de tumores com altos níveis de metástase se mostra ineficiente uma vez que a reação de formação de ROS ocorre apenas no alvo do tratamento (Correia *et al.*, 2021; Niculescu; Grumezescu,, 2021).

## 2.2 FOTOSSENSIBILIZADORES

A presença de um FS é vital para a ocorrência das reações fotoquímicas necessárias a TFD. No entanto, existem algumas características desejáveis para que um composto seja considerado um FS ideal, como por exemplo: estabilidade, máxima absorção de luz entre 600 e 800nm, baixa citotoxicidade na ausência de luz, seletividade, etc (Mokwena *et al.*, 2018; Kwiatkowski *et al.*, 2018).

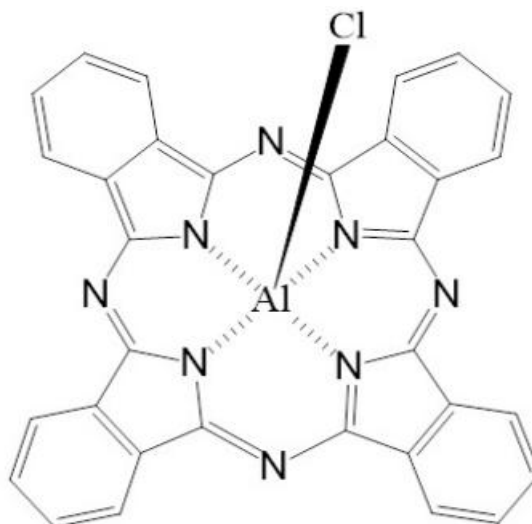
Os FS podem ser classificados de acordo com a sua obtenção como sintéticos ou naturais, sendo o azul de metileno um dos representantes da classe dos FS sintéticos e a curcumina uma representante da classe dos FS naturais (Ghorbani *et al.*, 2018).

A primeira geração de FS ficou conhecida pelo uso e aprovação do Photofrin®, no entanto o medicamento apresentou baixos níveis tanto de penetração na pele quanto de absorção de luz. A tentativa de melhorar as características dos FS de primeira geração deu origem à segunda geração, constituída de clorinas e porfirinas (Mokwena *et al.*, 2018).

As ftalocianinas são componentes da segunda geração de FS, classe que é caracterizada por propriedades como: maior formação de oxigênio singlete e absorção de luz na faixa entre 600 e 800nm, região que também possibilita maior penetração de luz no tecido, no entanto são moléculas com tendência de se aglomerarem em meio aquoso (Kwiatkowski *et al.*, 2018).

A Cloro Alumínio Ftalocianina (ClAlPc – Figura 5) é um composto pertencente a segunda geração de FS, muito utilizada em tratamentos envolvendo a TFD por apresentar características como: alta capacidade de geração de oxigênio singlete, penetração seletiva no tecido, absorção de luz na região do vermelho do espectro e baixa toxicidade no escuro (Jayme *et al.*, 2018).

Figura 5: Estrutura molecular da ClAlPc



Fonte: Carvalho e colaboradores (2018).

A terceira geração de FS é marcada pela associação de um FS com um direcionador, que pode ser um aminoácido ou até mesmo um sistema de encapsulamento, como um lipossoma ou nanopartícula. A associação de um FS com uma nanoestrutura auxilia no direcionamento do

tratamento, taxa de entrega constante, diminuição da toxicidade e melhor solubilidade dos FS escolhidos (Mfouo-Tynga *et al.*, 2021; Niculescu; Grumezescu, 2021).

### 2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA

Os sistemas de liberação modificada (DDS) atuam como carreadores de princípio ativo, possibilitando a entrega de ativos em locais onde a entrega via tradicional é insuficiente, além de possibilitarem dosagem e frequência de liberação (Saghazadeh *et al.*, 2018).

A forma com que um DDS entrega o FS no alvo do tratamento se divide em dois grupos: ativa e passiva. Na liberação ativa o processo ocorre em resposta a estímulos do ambiente, como por exemplo, uma alteração no pH e na liberação passiva a entrega do FS ocorre naturalmente pelo processo de difusão do FS através da matriz do DDS (Saghazadeh *et al.*, 2018).

A variedade de DDS é grande e o uso depende do local, tipo de tratamento escolhido e do FS utilizado, dentre as classes podem - se citar: nanopartículas poliméricas, lipossomas, micelas e nanopartículas inorgânicas (Patra *et al.*, 2018).

Os nanomateriais usados como DDS se dividem em três grandes grupos, sendo o primeiro deles composto de materiais com superfícies quimicamente simples como por exemplo, nanopartículas poliméricas ou metálicas, o segundo com superfície química mais complexa, tal como nanopartículas modificadas com adição de um polieletrólito, apresentando também maior estabilidade e a terceira composta por materiais responsivos, também chamados de materiais inteligentes, como nanopartículas funcionalizadas com marcadores específicos para o tumor a ser tratado (Mondal; Dorozhkin; Pal, 2018).

O tamanho reduzido das formulações e a capacidade de transporte de ativos biológicos são pontos favoráveis oferecidos pela nanotecnologia, no que diz respeito à introdução de novas formas de tratamento, ou a potencialização do efeito causado por técnicas já existentes (Dong *et al.*, 2021).

O emprego de materiais inorgânicos esbarra na biocompatibilidade dos mesmos, na dificuldade de síntese de estruturas ocas (que possibilitem o encapsulamento) e o tamanho, no entanto, estruturas com menos de 200nm vem sendo estudadas e utilizadas para inúmeras aplicações. No que diz respeito à morfologia, partículas esféricas apresentam bom fluxo na corrente sanguínea, enquanto bastonetes permanecem mais tempo na corrente sanguínea (Mondal; Dorozhkin; Pal, 2019).

No caso de polímeros como hidrogel, a liberação ocorre a partir do processo de intumescimento, onde a presença de água leva ao processo de expansão da cadeia e consequente

ruptura das mesmas. O grau de intumescimento de um polímero é relacionado com a hidrofiliçidade do mesmo e densidade das ligações cruzadas (Kashkooli; Soltani; Sourì, 2020).

#### 2.4 MATERIAIS CERÂMICOS: VATERITA E HIDROXIAPATITA

O carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) é um mineral que apresenta três formas cristalinas: aragonita, calcita e vaterita, além de duas formas cristalinas hidratadas: ikaíta e monohidrocalcita. O  $\text{CaCO}_3$  apresenta inúmeras propriedades como: biodegradabilidade, biocompatibilidade, síntese de baixo custo e alta área superficial das partículas formadas. Assim como seus polimorfos, o  $\text{CaCO}_3$  pode ser empregado em diversas áreas como odontologia, engenharia biomédica, etc (Zafar *et al.*, 2022; Ferreira; Vikulina; Volodkin, 2020).

A vaterita é o polimorfo menos estável do carbonato de cálcio (em comparação com aragonita e calcita), apresenta morfologia esférica e porosa, biodegradabilidade, biocompatibilidade, área superficial elevada e capacidade de carregamento (Ferreira *et al.*, 2023; Gusliakova *et al.*, 2021).

Devido ao fato de ser o polimorfo menos estável a vaterita deve ter a síntese realizada em condições específicas de co-precipitação, com controle de pH, controle da quantidade de íons  $\text{Ca}^{2+}$  em solução, temperatura e tempo de reação (Carballo-Meilan *et al.*, 2022).

A hidroxiapatita (HAp) apresenta semelhança com a estrutura óssea humana, além de propriedades como: biocompatibilidade, atoxicidade e osteointegração, aspectos que permitem o emprego do material como constituinte de um DDS. A HAp também apresenta compatibilidade com materiais poliméricos, o que proporciona o seu emprego na fabricação de um material compósito, por exemplo. De acordo com Dong e colaboradores (2021) nanopartículas de HAp apresentam potencial de inibição para células cancerígenas, configurando uma alternativa de tratamento (Dong *et al.*, 2021; Jariya *et al.*, 2021; Zaffarin *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2021; Mohd Pu'ad *et al.*, 2020).

O tipo de síntese da HAp determina o tamanho das partículas e a morfologia das mesmas, o que impacta diretamente no tipo de aplicação desejada para o material, que é variável entre: preenchimento ósseo, revestimento de implantes e o uso como DDS. A síntese da HAp pode ser feita em três vias: alta temperatura, úmida e seca (Mohd Pu'ad *et al.*, 2020; Sathiyavimal *et al.*, 2020)

A via de síntese seca tem como princípio a mistura dos íons cálcio e fosfato para a produção da HAp, a via úmida trata do uso de uma solução durante a síntese, já a via de alta

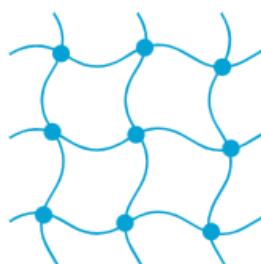
temperatura utiliza o calor para a decomposição dos materiais componentes do sistema (Mohd Pu'ad *et al.*, 2020; Sathiyavimal *et al.*, 2020).

O método hidrotérmico tem como bases a alta temperatura e a pressão para a formação dos cristais a partir das soluções de fosfato e de cálcio. O ambiente formado dentro de uma autoclave, favorece a reatividade e a formação dos cristais de HAp (Biedrzycka *et al.*, 2021; Mohd Pu'ad *et al.*, 2020).

## 2.5 MATERIAIS POLIMÉRICOS: HIDROGEL

Um sistema hidrogel é caracterizado por sua morfologia em rede tridimensional (Figura 6) e a sua capacidade de absorver e reter solventes, propriedade conhecida como intumescimento. A classificação destes materiais quanto ao tamanho dos poros pode ser feita em três categorias: géis macroscópicos (poros com tamanho na escala de centímetros), géis microscópicos (tamanho de poro entre 0,5 e 10 $\mu$ m) e nanogéis (tamanho de poro menor que 200nm) (Cascone; Lamberti, 2020; Sun *et al.*, 2020).

Figura 6: Representação de um sistema hidrogel



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

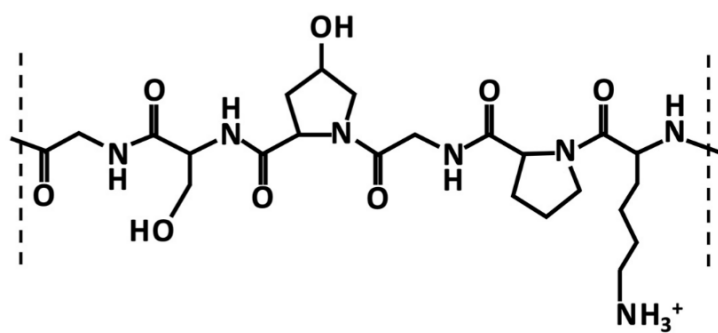
Com os avanços da ciência e com as necessidades que foram surgindo ao longo do tempo, os grupos de hidrogel sintetizados desde 1950 podem ser divididos em três: a primeira geração é representada pelos sistemas reticulados, a segunda geração é representada pelos sistemas responsivos ao ambiente e a terceira geração é formada de materiais estéreo-complexados (Cascone; Lamberti, 2020).

A composição de um sistema hidrogel determina as suas características e impacta diretamente em sua aplicação. A versatilidade e a ampla gama de materiais poliméricos permite que estes sistemas sejam empregados nas mais diversas áreas, como por exemplo: curativos,

DDS, engenharia de tecidos, lentes de contato, etc (Cascone; Lamberti, 2020; Daly *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2021).

A gelatina (Figura 7) é um polímero natural, derivada do colágeno, solúvel e facilmente reticulada pelo glutaraldeído. Apresenta boas propriedades para uso em um DDS como a biocompatibilidade e a biodegradabilidade, além de ser um material de baixo custo. Sua aplicação na área biomédica já é aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) (Kang; Park, 2021; Piao *et al.*, 2021).

Figura 7: Estrutura molecular da gelatina

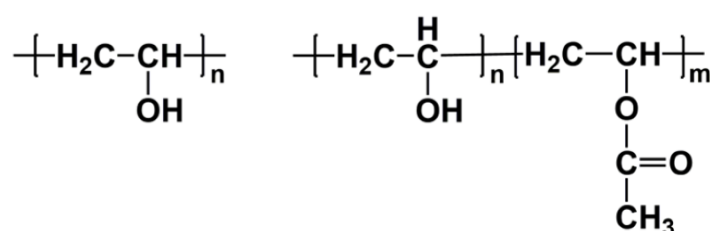


Fonte: Adaptado de Milano e colaboradores (2023).

O processo industrial de obtenção da gelatina pode ser feito de duas maneiras: por tratamento ácido, produzindo a gelatina do tipo A e hidrólise alcalina, produzindo a gelatina do tipo B. De modo geral a obtenção da gelatina apresenta as etapas de: desengorduramento, pré-tratamento, extração, evaporação e moagem (Alipal *et al.*, 2021)

O álcool polivinílico (PVA – figura 8) é um polímero sintético muito utilizado no desenvolvimento de sistemas hidrogel. O material apresenta características como biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de boa capacidade na formação de filmes. Um sistema com base em PVA apresenta propriedades como baixa toxicidade e boa resistência mecânica (Khoramabadi *et al.*, 2020; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2020).

Figura 8: Estrutura molecular do álcool polivinílico



Fonte: Adaptado de Chen e colaboradores (2021).

A produção do PVA é feita a partir da polimerização do acetato de polivinila, que se transforma em poli acetato de vinila (PVAc) e posteriormente sofre hidrólise produzindo o álcool polivinílico. Pode ser utilizada também outra via a partir da polimerização do álcool vinílico (Khoramabadi *et al.*, 2020; Adelnia *et al.*, 2022).

## 2.6 CÂNCER

Apesar dos avanços que a medicina vem apresentando ao longo dos anos, o câncer continua sendo uma problemática mundial. De acordo com Afify e Seno (2019) a ocorrência de três a sete mutações pode levar a formação do câncer em uma célula. O processo de metástase (espalhamento da doença para locais inicialmente saudáveis) ainda é o principal agravante em muitos casos (Afify; Seno, 2019; Fares *et al.*, 2020; Santos, *et al.*, 2019).

No século 19 a cirurgia radical era a única via de tratamento utilizada, um exemplo deste tratamento era a mastectomia total. Já no século 20 percebeu-se que a cirurgia local e o tratamento combinado (quimioterapia e radioterapia) já eram capazes de tratar a doença. No entanto, alguns medicamentos usados na quimioterapia causam efeitos colaterais nos pacientes, como, por exemplo, enjoo e vômito (Schirrmacher, 2019).

### 2.6.1 Gliossarcoma

Nos anos 2000 a Organização mundial de saúde (OMS) classificou o gliossarcoma como uma variante do glioblastoma. A ocorrência do gliossarcoma é predominante em homens, adultos em idade próxima aos 60 anos (Torre *et al.*, 2024). A sobrevida pós diagnóstico depende de outros fatores, como: idade do paciente, extensão e localização do tumor, extensão da ressecção cirúrgica, função neurológica e pontuação de Karnofsky (usada para avaliar a eficácia de diferentes terapias a partir do prognóstico dos pacientes) (Wang *et al.*, 2021; Frappaz *et al.*, 2021).

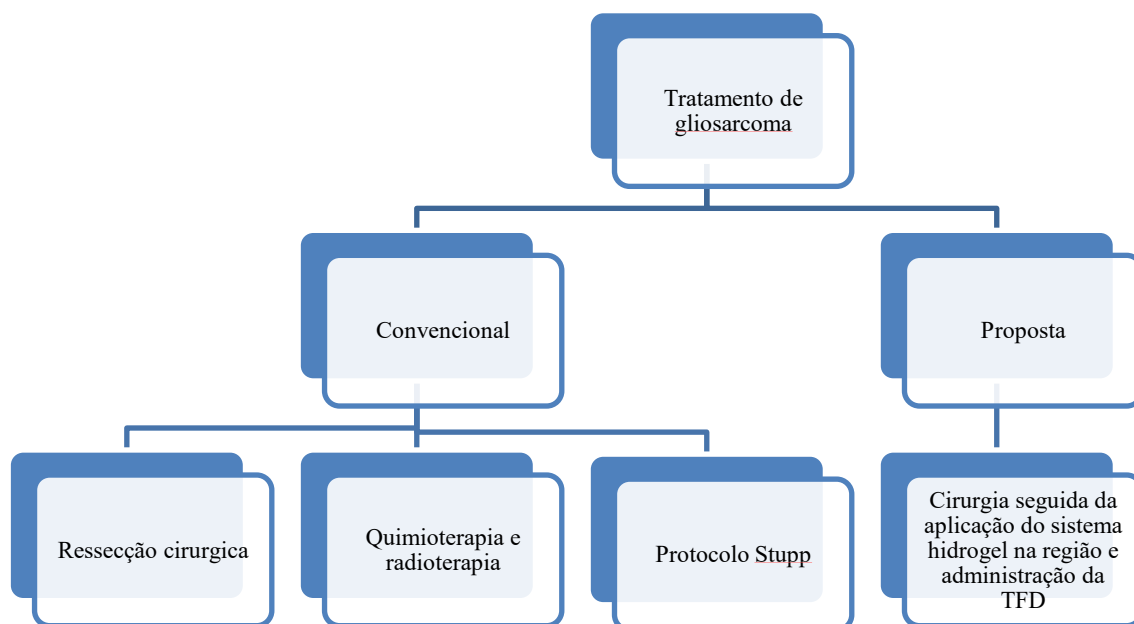
Uma das metodologias de tratamento utilizadas neste caso é o protocolo *Stupp*, que consiste na remoção cirúrgica do tumor, seguida pela administração de radioterapia e administração do medicamento temozolomida. A sobrevida pós-diagnóstico de gliossarcoma é de 4 meses sem nenhum tipo de tratamento e de aproximadamente 15 meses quando iniciado o tratamento (Lee, 2016; Mei *et al.*; 2017; Torre *et al.*, 2024; Warren *et al.*, 2019).

Outro ponto a ser levantado é a limitação da efetividade do tratamento convencional, uma vez que a barreira hematoencefálica atua como um importante obstáculo à penetração de fármacos no sistema nervoso central. Essa barreira restringe a passagem de muitas moléculas, fazendo com que a maioria dos medicamentos alcance o tecido tumoral predominantemente por difusão passiva, um mecanismo menos eficiente quando comparado a estratégias de entrega direta (Almeida *et al.*, 2020; Wang; Zhou, 2021).

Além desta problemática, alguns pacientes apresentam ainda à resistência as medicações do tratamento, causadas pelo próprio organismo (deficiências de origem genética) ou pelo tumor (resistência a difusão do medicamento) (Assaraf *et al.*, 2019).

Uma outra alternativa de tratamento que pode ser utilizada após a ressecção cirúrgica é a aplicação de um implante/enxerto polimérico na região, que pode ser carregado com fotossensibilizadores e outros agentes, que tratam a região (a partir da aplicação da TFD) impedindo o crescimento do tumor (Wanjale *et al.*, 2022). Nos casos de tratamento pós cirúrgicos, é recomendado um intervalo de pelo menos três semanas entre a cirurgia e o tratamento escolhido (período onde ainda não houve o reparo completo da região), no caso do tratamento local envolvendo DDS, existe a vantagem da entrega direta na região pós cirúrgica, sem que haja a perda de ativos durante o transporte do sistema no organismo (Bastiancich *et al.*, 2021). A figura 9 apresenta um resumo das opções de tratamento para o gliosarcoma

Figura 9: Esquema representativo das modalidades de tratamento disponíveis e a proposta para o tratamento de gliosarcoma.



Fonte: Elaborado pela autora

## 2.6.2 Melanoma

O melanoma é causado pela proliferação em grande escala dos melanócitos (estruturas responsáveis pela produção e armazenamento de melanina), devido a alta exposição à radiação UV. De acordo com Lopes e colaboradores (2022) a projeção para novos casos é de aumentos superiores a 70% tanto nas taxas de mortalidade quanto nas taxas de incidência (Lopes *et al.*, 2022; Caraviello *et al.*, 2025).

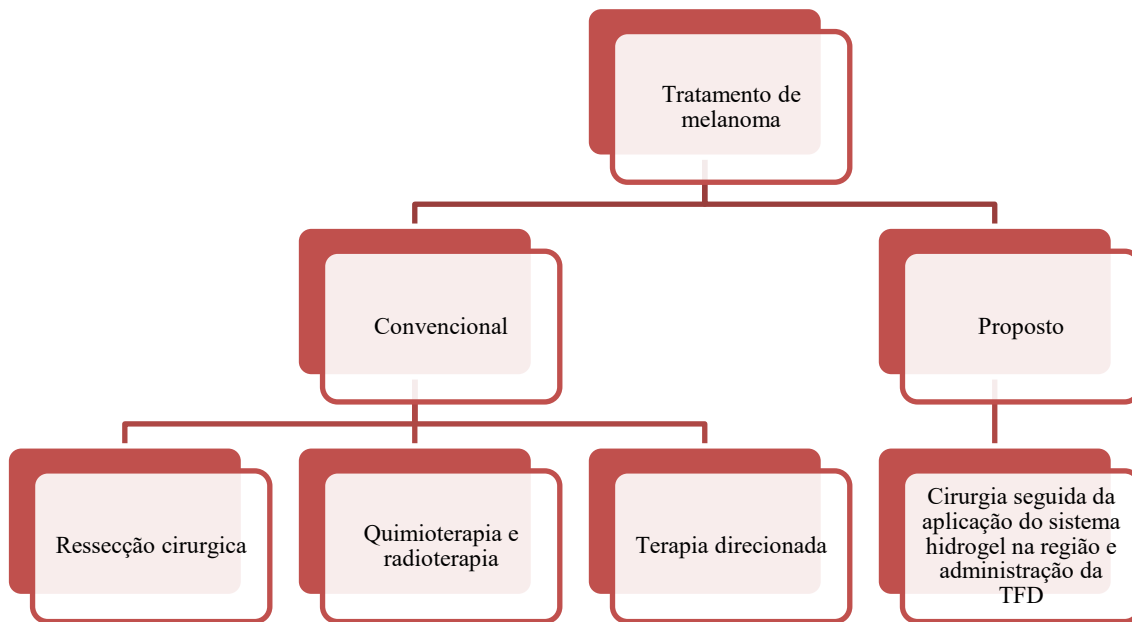
Os casos de câncer de pele são divididos entre: melanoma e não melanoma (originados de alterações nos melanócitos ou queratinócitos). O melanoma apresenta dois estágios: crescimento radial (tumor se expande na horizontal e pode ser facilmente removido via cirurgia) e crescimento vertical (ocorre a infiltração do tumor profundamente na derme, o tratamento necessita ser mais agressivo e complexo) (Lopes *et al.*, 2022).

Diferente do gliosarcoma, o melanoma apresenta grandes chances de ser evitado, uma vez que apresenta sua maior incidência de casos derivadas da exposição incorreta a radiação UV, aliada a fatores de pré-disposição. Sendo assim, grande parte da campanha de prevenção é feita por meio da conscientização sobre riscos e cuidados com a exposição solar, especialmente em casos em que o risco é maior por fatores como cor da pele, idade e exposição a outras fontes de radiação (Lopes *et al.*, 2022).

As formas de tratamento do melanoma inicialmente eram: ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia. Com o passar dos anos começou também a ser considerada a terapia direcionada (com o uso de medicamentos para a inibição da proteína quinase). Se tratando de um tumor tópico, o uso de sistemas hidrogel pode ser empregado, inclusive como complemento e facilitador da terapia imunogênica direcionada (Kharouf *et al.*, 2023; Lopes *et al.*, 2022). Yin e colaboradores (2021) desenvolveram um hidrogel transformável de óxido de grafeno (GO) e polietilenimina (PEI), para liberação de vacina de RNA e outros ativos, o material se mostrou estável por 30 dias e levou a diminuição do tumor (HE, W, 2024; Yin *et al.*, 2021)

Para casos em que a ressecção cirúrgica é dificultada ou em casos de recorrência do tumor, uma das alternativas é a aplicação de protocolos de TFD, que podem ser realizados logo após o procedimento cirúrgico, ou de maneira menos invasiva, com a introdução de fibras óticas na região tumoral (Leroy *et al.*, 2021). A figura 10 apresenta um resumo das opções de tratamento para o melanoma.

Figura 10: Esquema representativo das modalidades de tratamento disponíveis e a proposta para o tratamento de melanoma.



Fonte: Elaborado pela autora.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema hidrogel contendo microesferas de hidroxiapatita e o fotossensibilizador cloro alumínio ftalocianina para uso como sistema de liberação modificada de FS para aplicação em TFD.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar as microesferas de carbonato de cálcio na fase de vaterita (esféricas);
- Sintetizar as microesferas de hidroxiapatita pelo método hidrotérmico, a partir do *template* de vaterita;
- Incorporar a ClAlPc como FS ativo em TFD nas microesferas;
- Sintetizar o hidrogel de PVA/Gelatina;

- Avaliar a morfologia de todos os sistemas com a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Avaliar o Grau de Intumescimento (% GI) dos sistemas de hidrogel sintetizados;
- Caracterizar os sistemas por meio das técnicas de espectroscopia no UV-Vis (todos os sistemas), RAMAN (microesferas) e FTIR (todos os sistemas);
- Quantificar a liberação de ClAlPc dos sistemas de hidrogel encapsulados;
- Avaliar as composições dos sistemas microparticulados por meio da técnica de difração de raios – X;
- Avaliar o comportamento térmico e calorimétrico de todos os sistemas sintetizados;
- Calcular da eficiência de encapsulamento (%EE) da ClAlPc nas microesferas de hidroxiapatita e nos sistemas de hidrogel;
- Avaliar a citotoxicidade e fototoxicidade *in vitro* dos sistemas sintetizados;
- Analisar a localização intracelular *in vitro* dos sistemas sintetizados.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

- Ácido Clorídrico (HCl): Dinâmica, Química contemporânea Ltda
- Água deionizada
- Álcool Polivinílico (PVA): Vetec Química fina Ltda
- Azul de Tripán: Sigma - Aldrich
- Carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ): Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda
- Cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ): QEEL - Química Especializada Erich Ltda
- Cloro Alumínio Ftalocianina: ACROS Organics
- DAPI: Sigma - Aldrich
- Dimetilsulfóxido: Dinâmica, Química contemporânea Ltda
- Etanol: Dinâmica, Química contemporânea Ltda
- Fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ): Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda
- Gelatina: Sigma - Aldrich
- Meio RPMI: gibco®
- Poli (4-estireno sulfonato de sódio) (PSS): Sigma - Aldrich

### 4.2 MÉTODOS

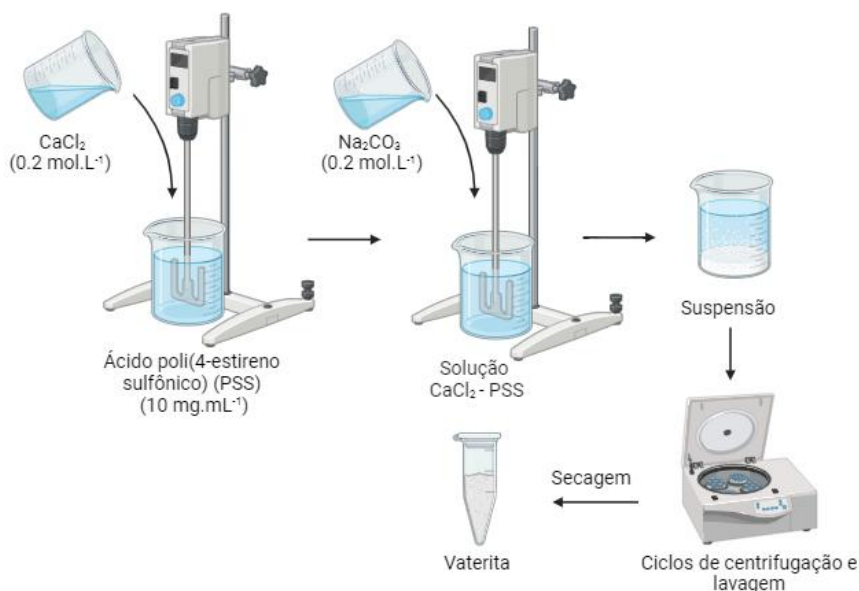
Toda a atividade experimental descrita nos procedimentos abaixo foi realizada nas dependências do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), localizado na Universidade do Vale do Paraíba, em São José dos Campos, SP. Foram utilizados equipamentos e estruturas dos seguintes laboratórios: Central de Laboratórios Multiusuários (CLM), Laboratório de Nanossensores (LNS), Laboratório de Sistemas Micro e Nanoparticulados, Laboratório de Fotobiologia Aplicada à Saúde (PhotoBios), Laboratório de Desenvolvimento de Materiais avançados e Laboratório de Odontologia e Materiais Aplicados (LOMA).

#### 4.2.1 Síntese das microesferas de vaterita

As microesferas de vaterita (Figura 11) foram sintetizadas pelo processo de coprecipitação descrito por Souza e colaboradores (2020). Inicialmente, uma solução de cloreto

de cálcio ( $\text{CaCl}_2 - 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ ) foi adicionada a uma solução poli (4- estireno sulfonato de sódio) (PSS) ( $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) sob forte agitação, em seguida foram adicionados gota a gota 10 mL de uma solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 - 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ ). Após este processo, a suspensão branca foi mantida por 60 min em temperatura ambiente, seguida de três ciclos de centrifugação (8000 rpm, 10 min) utilizando o equipamento (CF16RN, High-speed Micro Centrifuge, HITACHI) e lavagem com água purificada e etanol, seguida do processo de secagem a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  por 24h.

Figura 11: Metodologia de síntese das microesferas de vaterita

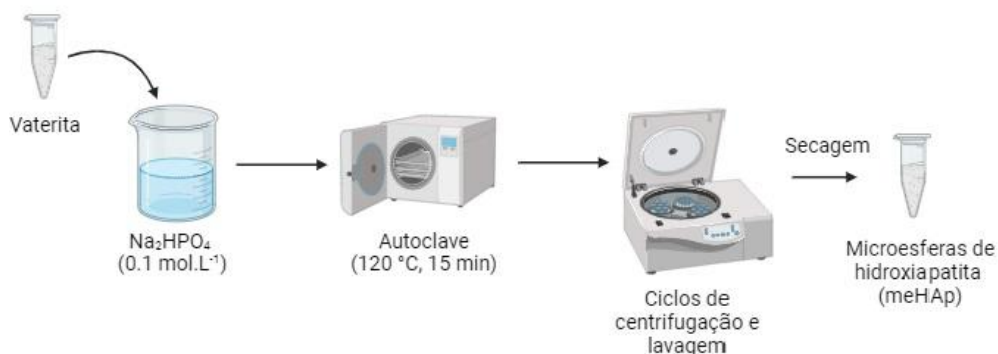


Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.2 Síntese das microesferas de hidroxiapatita (meHAp)

A síntese das microesferas de hidroxiapatita (meHAp) foi feita a partir de *templates* de vaterita, com base no processo hidrotérmico descrito por Gao e colaboradores (2019) (Figura 12). As partículas de vaterita foram dispersas em 100 mL de uma solução de fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ). O pH da solução foi ajustado para 11, seguido de aquecimento a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  por 15 min. Após o resfriamento, o precipitado branco foi separado por centrifugação (8000 rpm, 10 min) utilizando o equipamento (CF16RN, High-speed Micro Centrifuge, HITACHI), seguido de lavagem com água purificada e etanol três vezes e secagem a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  por 24h.

Figura 12: Metodologia de síntese das meHAp



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

Para o encapsulamento da CIAIPc nas amostras de meHAp (Figura 13) foi preparada uma solução de 5mL de CIAIPc ( $50\text{mg.mL}^{-1}$ ), etanol e dimetilsulfóxido (DMSO). As microesferas foram colocadas em contato com a solução do FS em um sistema fechado por 24h. Posteriormente as amostras foram centrifugadas (8000 rpm, 10 min) utilizando o equipamento (CF16RN, High-speed Micro Centrifuge, HITACHI) e secas, para a remoção de impurezas e do excesso de solventes.

Figura 13: Metodologia de síntese meHApCIAIPc



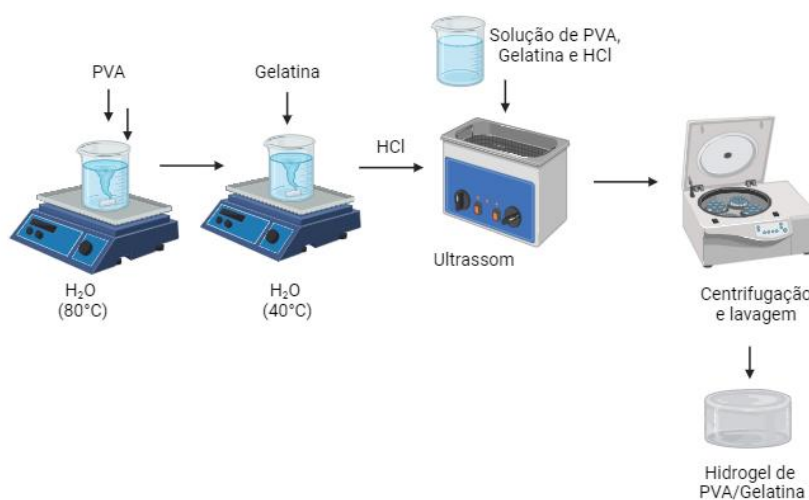
Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.3 Síntese do hidrogel

Os hidrogéis de PVA/Gelatina foram preparados de acordo com o método descrito por Intiaz e colaboradores (2019) com poucas modificações (Figura 14). Resumidamente, 10g de

PVA foram adicionados em 100 mL de Água Di a 80 °C por 1h sob agitação mecânica constante para obter a dissolução. A solução aquosa transparente e homogênea resultante foi misturada com 2,5g de gelatina e 0,05mL de HCl (35%). A solução foi agitada a 70 °C para realização da esterificação entre PVA e gelatina. Posteriormente, a dispersão foi colocada no ultrassom por 1h para homogeneização e remoção de bolhas. Então, a solução foi gelificada a temperatura ambiente. Em seguida a amostra foi lavada em três ciclos de centrifugação (20 min, 4000 rpm) utilizando o equipamento (CF16RN, High-speed Micro Centrifuge, HITACHI) com água Di para remoção de impurezas e posteriormente o processo de secagem foi realizado em temperatura de aproximadamente 40 °C.

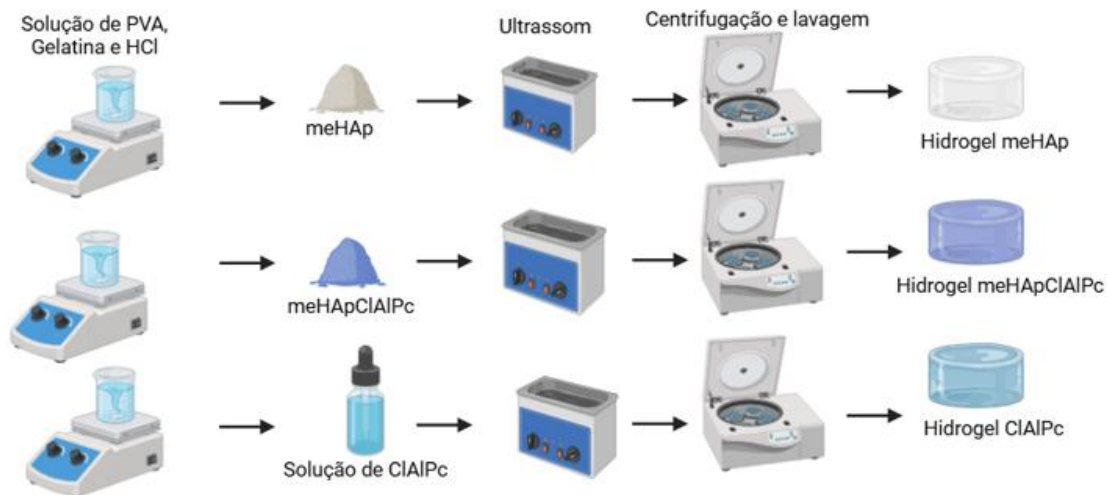
Figura 14: Metodologia de síntese do hidrogel PVA/Gelatina



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

Para o encapsulamento do hidrogel (Figura 15), antes do processo de gelificação, o hidrogel foi colocado em contato com a meHAp, MeHApClAlPc e solução de ClAlPc (solução preparada utilizando etanol e 10% de DMSO), sob agitação mecânica e temperatura ambiente, por 30 min. Posteriormente todo o processo seguiu conforme o descrito acima.

Figura 15: Metodologia de síntese do hidrogel encapsulado



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

Para a realização das caracterizações do hidrogel parte do resultado da síntese passou por um processo de liofilização adaptado. As amostras foram porcionadas, congeladas com nitrogênio ( $N_2$ ) e secas a vácuo por 4h utilizando o equipamento eppendorf Concentrator 5301.

#### 4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para a análise da morfologia externa das microesferas e do sistema hidrogel, utilizando equipamento EVO-MA10 (Zeiss). Os parâmetros utilizados no equipamento para a leitura das amostras foram: EHT: 20.00 Kv, WD: de 9 a 13mm, Singal A= SE1, 1 probe: 30-150 pA, mag: 26, 07 Kx (vaterita), 18,69 k = Kx (meHAp) e k = 1,48 Kx (hidrogel).

#### 4.2.5 Espalhamento dinâmico da luz (DLS)

A análise de distribuição do tamanho das micresferas de vaterita e das meHAp sintetizadas foram realizadas por espalhamento de luz, usando o equipamento Zetasizer (ZetaSizer nano ZS90, Malvern). Para a realização das leituras a temperatura utilizada foi de 23 °C, com ângulo de espalhamento de 90°C. As amostras de vaterita e de meHAp foram ajustadas para uma concentração de 0,01% (m/v) em água destilada. Todas as análises foram feitas em triplicata.

#### **4.2.6 Espectroscopia Raman**

A espectroscopia Raman foi realizada utilizando o equipamento RFS 100/S, (BRUKER). As leituras foram feitas utilizando as amostras de vaterita e de meHAp, as medidas foram feitas utilizando porta amostra em um range de 50-1500  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando um laser de  $\lambda = 1064 \text{ nm}$ .

#### **4.2.7 Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDX)**

A espectroscopia por energia dispersiva foi realizada como equipamento  $\mu$ -EDXRF (modelo  $\mu$ -EDX 1300, Shimadzu), foram realizados ensaios com as amostras de vaterita, meHAp e meHApClAlPc. Os parâmetros utilizados no equipamento foram: medidas: semi-quantitativas (ponto de calibração com HAP sintética SIGMA), pontual, 100s por ponto, tensão da corrente 15 kv e configurações específicas para medidas de Ca, P e OH.

#### **4.2.8 Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-VÍS)**

Os estudos no UV-Vis foram realizados utilizando o equipamento CARY 50 (Bio, VARIAN). As leituras foram realizadas na faixa de 400-900 nm, no modo de leitura *scan*, as amostras cerâmicas utilizadas foram diluídas em solução de etanol/DMSO 10%. Para a realização das análises das amostras de hidrogel as mesmas foram imersas em solução de etanol/DMSO 10%, sendo o sobrenadante utilizado para a leitura no espectrômetro.

#### **4.2.9 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos na região de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , no modo transmissão, com 32 varreduras com temperatura controlada em 20°C. O espectrofotômetro utilizado foi o 400 com Transformada de Fourier (FTIR), tecnologia de refletância total atenuada (ATR) da fabricante PerkinElmer. Foram realizadas leituras com as amostras de vaterita, meHAp e meHApClAlPc, gelatina e PVA (em pó), já as amostras de hidrogel PVA/Gelatina, hidrogel ClAlPc, hidrogel meHAp e hidrogel meHApClAlPc foram utilizadas na forma liofilizada.

#### **4.2.10 Difratometria de Raios-X (DRX)**

A técnica de difração de raios – X (DRX) foi realizada utilizando o equipamento XRD-6000 (Shimadzu), o comprimento de onda utilizado foi de  $\lambda=1,54$  nm, voltagem de 40,0 kV e corrente de 30,0 mA. Para o ensaio foram utilizadas as amostras de vaterita e meHAp.

#### **4.2.11 Termogravimetria (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Ambas as análises foram realizadas utilizando o equipamento STA 449 F3 Jupiter®(NETZSCH). Para a Análise de TGA foram utilizados os seguintes parâmetros: temperatura de 25-800 °C, 10 °C/min em atmosfera N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>. Para a análise de DSC foram utilizados os mesmos parâmetros com exceção da temperatura, que foi de 23-800 °C. Foram realizadas medidas utilizando as amostras de vaterita, meHAp, gelatina, PVA e hidrogel PVA/gelatina.

#### **4.2.12 Avaliação do grau de intumescimento (GI)**

Devido a suas redes tridimensionais os sistemas hidrogel tem a capacidade de absorver e reter solventes sem perder as suas propriedades químicas e estruturais. O tratamento das amostras para o ensaio foi feito com base na metodologia descrita por Saidi e colaboradores (2020). Inicialmente as amostras de hidrogel, tanto hidratadas (amostras obtidas após o processo de síntese) quanto liofilizadas, foram pesadas e imersas em água deionizada por períodos determinados, sendo: 5 min, 15 min, 25 min, 35 min, 45 min, 55 min e 60 min. Após o intervalo determinado as amostras foram secas a partir de prensagem em papel absorvente e pesadas novamente. Todos os testes foram feitos em triplicata (equação 1).

$$GI = (\text{Massa do sistema intumescido} - \text{Massa inicial}) / (\text{Massa inicial}) \times 100 \quad (1)$$

#### **4.2.13 Eficiência de encapsulamento (% EE)**

Para essa determinação, as meHApClAlPc foram diluídas em solução alcoólica de DMSO (10% etanol) e após 12h, o sobrenadante foi avaliado por espectroscopia no ultravioleta visível utilizando equipamento CARY 50 (Bio, VARIAN). A eficiência de encapsulamento das

meHApCIAIPc (EEmeHAp) foi calculada (equação 2) seguindo a metodologia descrita por LI, X e colaboradores (2019).

$$EEmeHAp = [\text{Quantidade de CIAIPc adicionada a formulação}] / \text{Quantidade de CIAIPc presente no sobrenadante}] \times 100 \quad (2)$$

Para a realização dos cálculos com as amostras de hidrogel (EEh) foi utilizada a metodologia descrita por Asad e colaboradores (2021). Inicialmente as amostras liofilizadas de hidrogel contendo CIAIPc e meHApCIAIPc foram adicionadas a um tubo falcon contendo solução alcoólica de DMSO (10% etanol), após 12h o sobrenadante foi analisado utilizando o equipamento CARY 50 (Bio, VARIAN). A eficiência de encapsulamento foi calculada de acordo com a equação 3:

$$EEh = \frac{\text{CIAIPc total adicionada na formulação} - \text{CIAIPc presente no sobrenadante}}{\text{CIAIPc total adicionado na formulação}} \times 100 \quad (3)$$

Para ambas as medidas as configurações usadas no equipamento seguiram os mesmos padrões destacados no item 4.2.8. Para o cálculo da quantidade de CIAIPc presente no sobrenadante analisado em ambas as medidas foi utilizada a lei de Lambert-Beer, que correlaciona absorvância e concentração de FS (equação 4) (Yeh *et al.*, 2023)

$$\text{Abs (absorvância)} = \epsilon \text{ (absortividade molar)} \times C \text{ (concentração do FS)} \times b \text{ (caminho óptico)} \quad (4).$$

#### 4.2.14 Estudo de liberação de FS

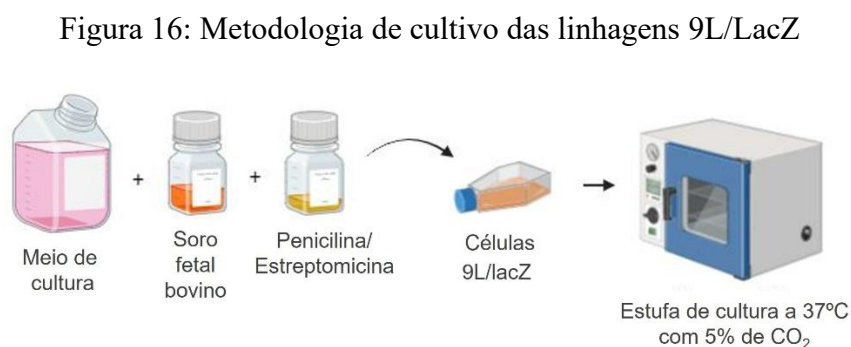
A avaliação da liberação modificada das amostras de hidrogel encapsuladas (hidrogel CIAIPc e hidrogel meHApCIAIPc) foi testada utilizando adaptações nas metodologias descritas por Bakhshi *et al.* (2024) e Fernandes (2025). As três amostras correspondentes a cada um dos hidrogéis foram porcionadas em formato circular (massa aproximada de 0,34g – hidrogel CIAIPc e de 1,00g – hidrogel meHApCIAIPc) e colocadas em 10mL de PBS (pH = 7,01), deixadas em repouso em 37°C em uma incubadora BOD Digital (Cienlab, Brasil) e em intervalos pré-determinados (3h, 6h, 9h, 12h, 24h, 48h, 96h e 144h) foram retiradas e repostas alíquotas de 3mL de PBS. As alíquotas retiradas foram analisadas por espectroscopia no

ultravioleta visível utilizando o equipamento DeNovix DS-11+. Os testes foram realizados em triplicata.

#### 4.2.15 Estudos *in vitro* utilizando linhagem de gliosarcoma

##### 4.2.15.1 cultura de linhagem de gliosarcoma 9L/lacZ

A linhagem de gliosarcoma 9L/lacZ foi mantida em meio RPMI suplementado com 10% Soro Fetal Bovino, 1% de solução de Penicilina/Estreptomicina, acondicionados em estufa de cultura a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>. Para o protocolo do hidrogel as células foram cultivadas em DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Figura 16).



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

##### 4.2.15.2 Diluição das formulações

As meHApCIAIPc foram diluídas inicialmente em solução alcoólica de DMSO (10% etanol) e posteriormente em PBS (Tampão fosfato salino - solução estoque de 10 mg.mL<sup>-1</sup>). Para a realização dos experimentos foi preparada solução fresca na concentração de 2mg.mL<sup>-1</sup>, posteriormente diluída de forma seriada até a concentração de 31,25µg.mL<sup>-1</sup>, para os testes de fototoxicidade. Foram realizados testes também com as formulações vazias, sem a CIAIPc, para verificação da citotoxicidade.

Das amostras de hidrogel foram testadas formulações de hidrogel meHApCIAIPc (concentração de FS no hidrogel: 160 µg.mL<sup>-1</sup>) e hidrogel CIAIPc (concentração de FS no hidrogel: 3400 µg.mL<sup>-1</sup>).

#### 4.2.15.3 Internalização celular

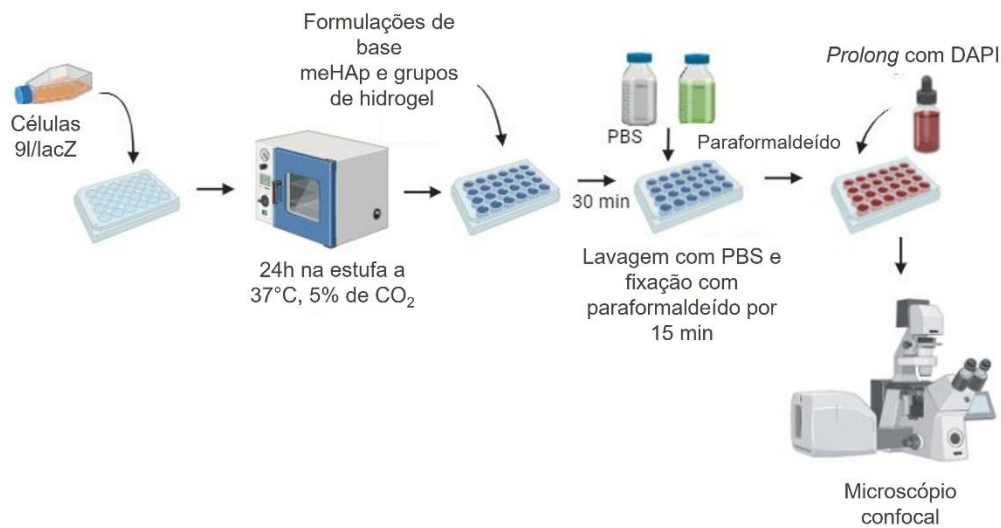
As linhagens de gliosarcoma 9L/lacZ foram aderidas em lamínulas redondas, na concentração de  $1 \times 10^5$  células, em placas de 24 poços, e mantidas em estufa à 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> ambiente, *overnight* em meio RPMI. Após a adesão das células, o meio foi retirado e foi adicionada à formulação (especificações e descrições na tabela 1) e mantida à 37°C, por 1h (Figura 17) Após a retirada da formulação do meio as amostras foram lavadas com PBS por duas vezes e fixadas com Paraformaldeído 4% (diluição feita utilizando como solvente PBS) durante 15 min em temperatura ambiente. As lamínulas foram retiradas da placa e montadas com o meio de montagem *Prolong Gold antifading* com DAPI. Todo o processamento foi realizado no escuro, e as lâminas foram examinadas em microscópio confocal LSM 700 Zeiss®, aumento utilizado: 63x ( $\lambda_{exc}$ . DAPI: 405 nm,  $\lambda_{exc}$ . Formulação: 555 nm).

Tabela 1: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de internalização celular (gliosarcoma)

<b>Formulação</b>	<b>Concentrações (<math>\mu\text{g.mL}^{-1}</math>)</b>
meHAp	-
meHApClAlPc	250 e 125
Hidrogel meHAp	-
Hidrogel meHApClAlPc	160
Hidrogel vazio	-
Hidrogel ClAlPc	3400

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 17: Metodologia de preparo das células para o ensaio de internalização celular



Fonte: A Autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.15.4 Terapia fotodinâmica

Para o protocolo de TFD as células foram transferidas para uma placa de 96 poços a uma densidade de  $1 \times 10^5$  células por poço. Depois de 24 h de adesão celular, a formulação foi adicionada (vazias e encapsuladas - concentrações descritas na tabela 2) e incubada por 30 min na estufa a 37 °C e 5% CO<sub>2</sub>. Após esse período, a formulação foi removida e foi adicionado PBS. Uma placa foi mantida no escuro e a outra foi irradiada. Após a aplicação da TFD, o PBS das duas placas foi retirado e adicionado o meio DMEM. As placas permaneceram na a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 h antes das análises (Figura 18, Tabela 2).

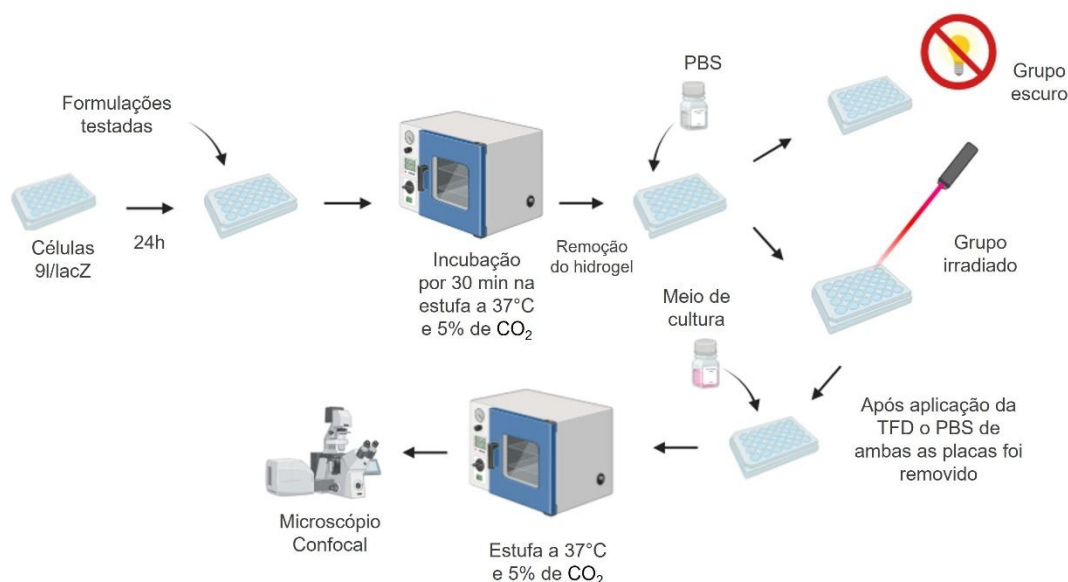
O experimento foi feito em triplicata e os grupos foram protegidos da luz durante o processo. A irradiação foi realizada utilizando a biotable BioPDI IrradLed ( $\lambda = 660$  nm, 46mW/cm<sup>2</sup>) na fluência de 10 J.cm<sup>-2</sup>. As células foram separadas nos seguintes grupos: Controle - Sem tratamento; Escuro - Incubados com FS –formulação e mantidos no escuro; Luz - Células submetidas apenas a irradiação; TFD - Incubadas com FS – formulação e irradiadas.

Tabela 2: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de TFD

Formulação	Concentração ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
meHAp	-
meHAp ClAlPc	2.000, 1.000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,25
Hidrogel meHAp	-
Hidrogel meHApClAlPc	160
Hidrogel vazio	-
Hidrogel ClAlPc	3400

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 18: Metodologia do protocolo de aplicação da TFD em células 9L//LacZ



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.15.5 Análise de viabilidade celular pelo método de exclusão do azul de Tripán

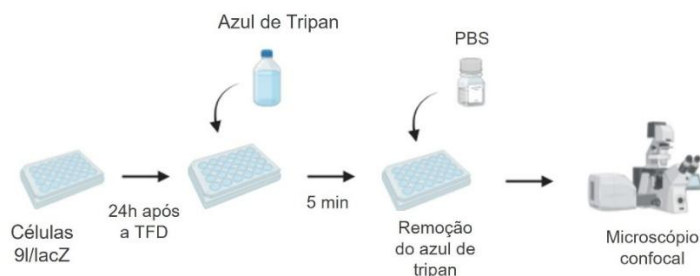
A avaliação da viabilidade (Figura 19) após os testes foi realizada pelo método de exclusão com azul de Tripán, que parte do princípio de que células viáveis não permitem que o corante entre, enquanto células mortas permanecem coradas. Foram realizados testes nas concentrações de 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  das meHApClAlPc, em grupo controle escuro e grupo irradiado. Foi realizada também a incubação com a meHAp vazia para a avaliar a toxicidade, nos mesmos parâmetros de incubação.

Após o processo de adesão das células o meio foi retirado e a formulação encapsulada foi adicionada, o mesmo processo foi realizado com a formulação vazia, ambos foram incubados por 1h à 37°C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>. Após a incubação os compostos foram retirados e substituídos por PBS. A placa do grupo escuro foi mantida ao abrigo da luz e a outra irradiada. Em seguida o meio de ambas as placas foi substituído por meio RPMI completo. Foram realizados dois ensaios independentes em quintuplicata (n=10).

Após um período de 24 h, o meio foi retirado e adicionado o Azul de Tripán na concentração de 0,2%, e incubado por 5 min. Após esse período, o Azul de Tripán foi retirado e foi adicionado PBS, e foram capturadas imagens das células em 10 campos aleatórios. As células vivas e mortas foram contabilizadas utilizando o software ImageJ. Os ensaios foram realizados em quintuplicatas em 2 ensaios separados e a porcentagem de células vivas foi obtida pela equação 4:

$$\% \text{ de células viáveis} = \frac{\text{Total de células vivas}}{\text{Total de células contadas}} \times 100 \quad (4)$$

Figura 19: Metodologia de análise de viabilidade celular (9L/LacZ)



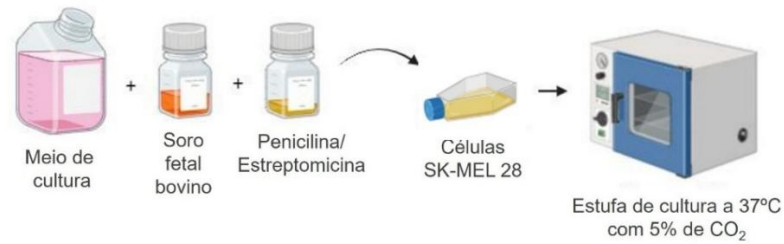
Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.16 Estudos *in vitro* utilizando linhagens de melanoma

##### 4.2.16.1 Cultura de linhagem de melanoma

Células da linhagem SK-MEL 28, foram cultivados em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de Penicilina/Estreptomicina e mantida em estufa a 37 °C com 5 % de CO<sub>2</sub> (Figura 20).

Figura 20: Metodologia de cultivo da linhagem (SK-MEL 28)

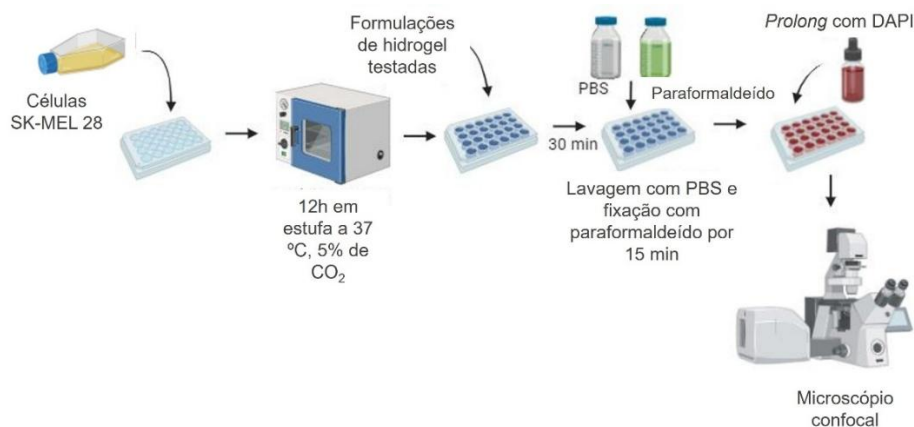


Fonte: A Autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.16.2 Internalização celular

Inicialmente as linhagens foram aderidas em lamínulas de vidro distribuídas em placas de 24 poços, sendo incubados durante 12 h em estufa a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>. Após esse período, o meio de cultura foi retirado e então adicionadas as formulações de hidrogel (vazias e contendo FS - descritas na tabela 3), incubadas por 1 h, seguida de uma lavagem com PBS e fixação com Paraformaldeído 4% (utilizando como solvente o PBS) durante 15 min em temperatura ambiente. As lâminas foram montadas com *ProLong™ Diamond Antifade Mountant with DAPI* (Thermofisher) e analisadas em microscópio confocal Zeiss® - LSM 700, aumento de 63x ( $\lambda$  exc. DAPI = 405 nm,  $\lambda$  exc. Hidrogel = 555 nm) (Figura 21, tabela 3).

Figura 21: Metodologia de preparo das células para o ensaio de internalização celular (SK-MEL 28)



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

Tabela 3: Especificações das formulações utilizadas para o protocolo de internalização celular (melanoma)

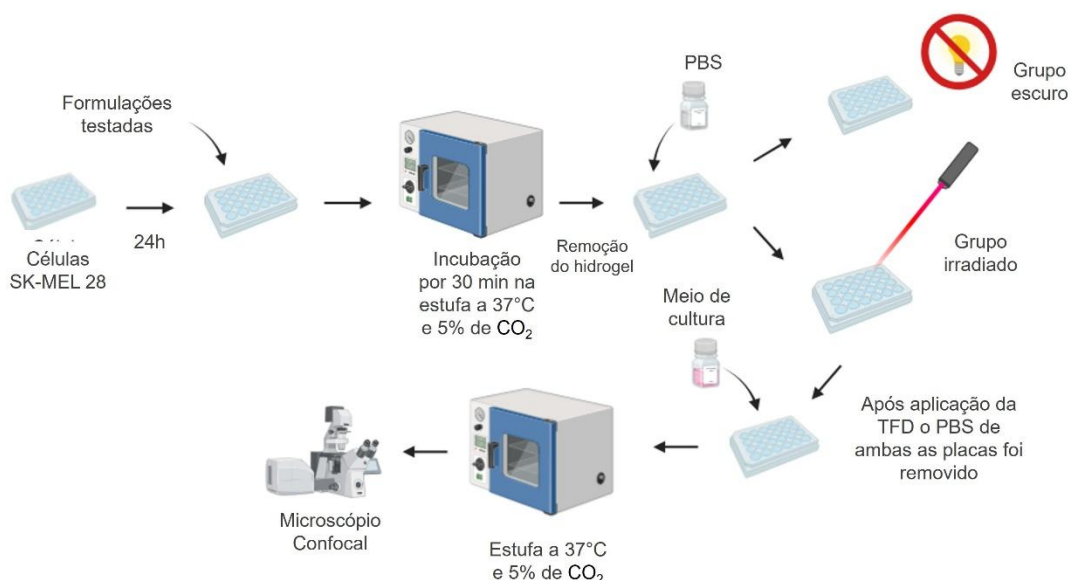
Formulação	Concentração ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Hidrogel meHAp	-
Hidrogel meHApClAlPc	160
Hidrogel vazio	-
Hidrogel ClAlPc	3400

Fonte: Elaborado pela autora

#### 4.2.16.3 Terapia Fotodinâmica

Para este teste, as células foram transferidas para uma placa de 96 poços a uma densidade de  $1 \times 10^5$  células por poço, os grupos testados são descritos na tabela 3. A metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 4.2.15.4 (Figura 22). Para irradiação foi utilizada uma Biotable (Biopdi/Irrad-Led) constituída de 54 LEDs, com irradiância de 36,8 mW de potência,  $\lambda = 660$  nm, na fluência de  $10 \text{ J.cm}^{-2}$ . Após os respectivos tratamentos foram realizados os testes de viabilidade pelo método de exclusão por Azul de Tripán.

Figura 22: Metodologia do protocolo de aplicação da TFD em células SK-MEL 28

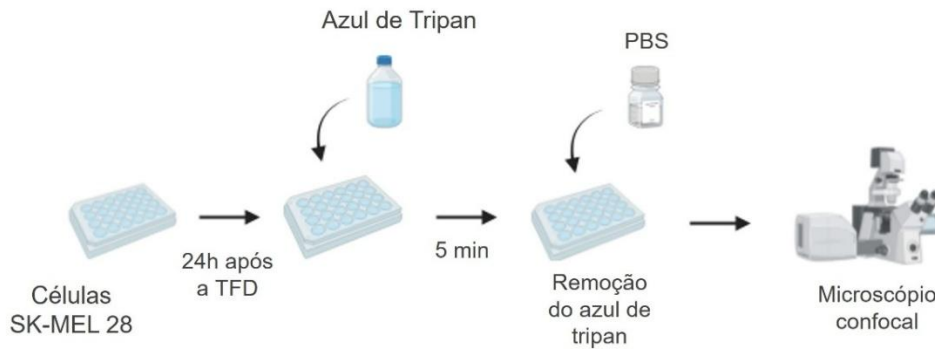


Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.16.4 Análise de viabilidade celular pelo método de exclusão do azul de Tripán

A metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 4.2.15.5 (Figura 23).

Figura 23: Metodologia de análise de viabilidade celular (SK-MEL 28)



Fonte: Elaborado pela autora (ilustração criada com o aplicativo BioRender.com).

#### 4.2.17 Análise estatística

Todos os testes foram realizados em triplicata, e todos os dados foram submetidos à ANOVA seguido pelo teste de Tukey. O Microsoft Excel foi utilizado para gerar os gráficos. Todos os dados foram expressos como a média  $\pm$  desvio padrão de três experimentos independentes. Uma probabilidade valor de  $p < 0,05$  foi considerada significativa neste estudo.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

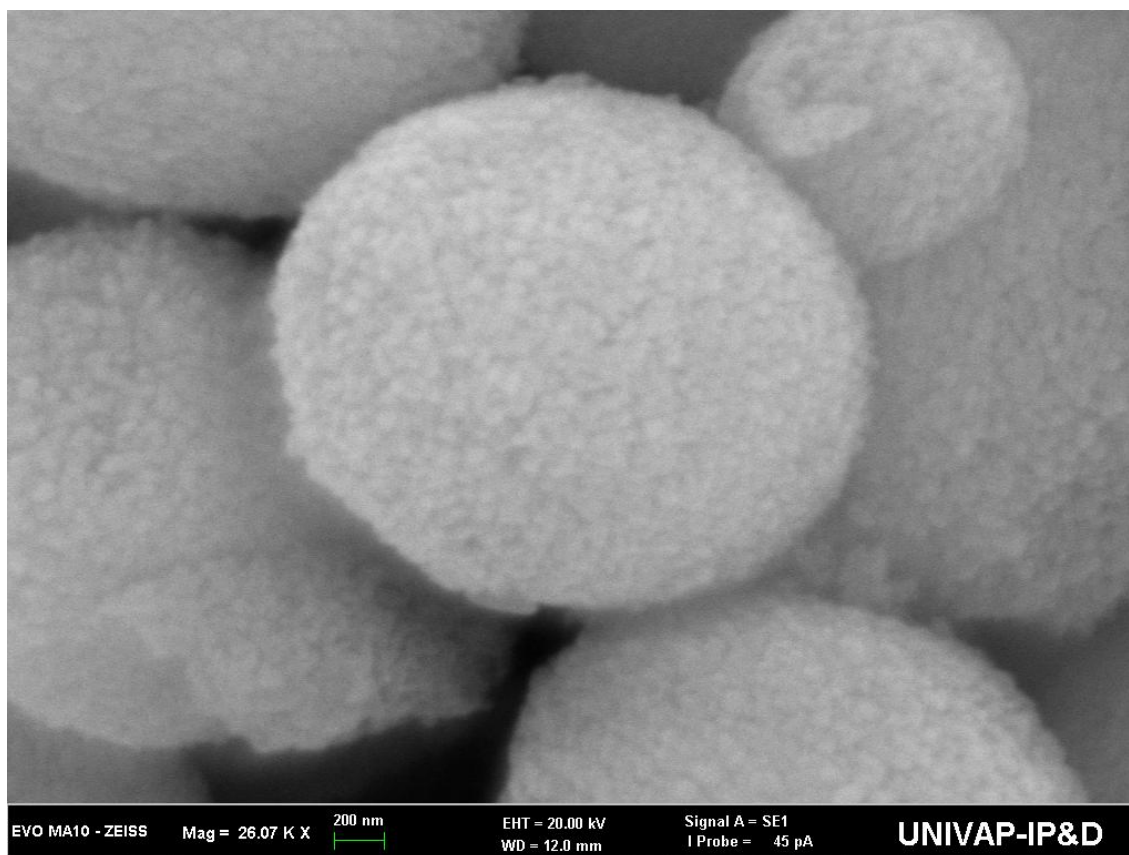
Os resultados obtidos estão apresentados em duas seções: sendo a primeira correspondente aos materiais cerâmicos: vaterita e a hidroxiapatita e a segunda correspondente aos materiais poliméricos: hidrogel de PVA/Gelatina e seus derivados.

### 5.1 VATERITA E HIDROXIAPATITA

#### 5.1.1 Caracterização morfológica e de tamanho

As microesferas obtidas pelo método de co-precipitação apresentaram morfologia esférica quando analisadas por MEV (Figura 24). Observa-se que apesar da semelhança na morfologia em todas as microesferas, a superfície das mesmas é levemente irregular e apresenta pequenas rugosidades (Wei *et al.*, 2021).

Figura 24: Micrografia obtida por MEV das microesferas de vaterita



Fonte: Elaborado pela autora.

Kalenichenko e colaboradores (2021) obtiveram micropartículas esféricas realizando a síntese de vaterita utilizando o método de co-precipitação a partir de soluções precursoras de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) e cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) na presença de glicerol.

A presença do PSS na solução precursora das microesferas tem influência na morfologia das mesmas. Facchinetto e colaboradores (2017) realizaram processos de síntese na ausência e na presença do composto aniônico. Como resultado, as partículas obtidas na ausência de PSS apresentaram morfologia romboédrica enquanto as obtidas na presença deste eletrólito apresentaram morfologia esférica.

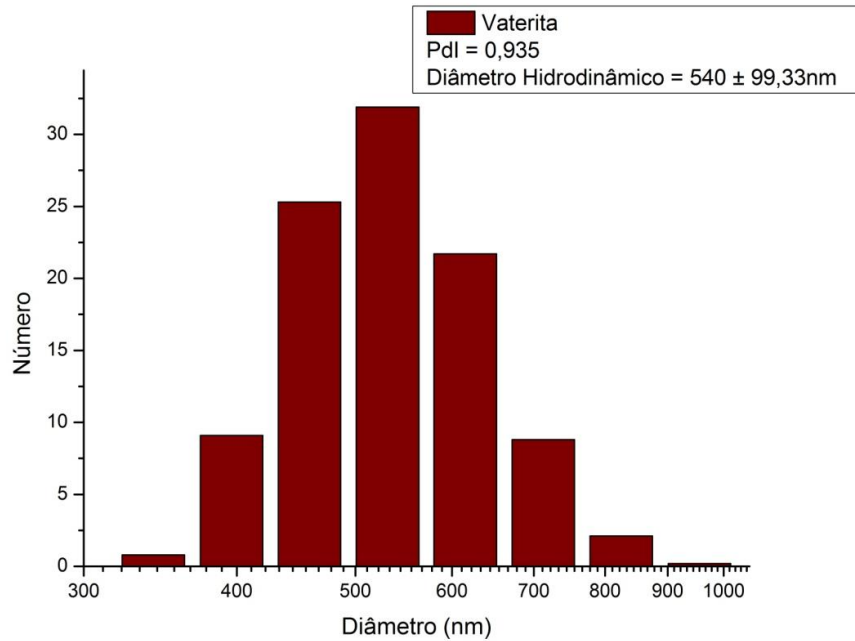
O PSS favorece a estabilização das microesferas formadas em fase de vaterita, em detrimento da fase de calcita. No que diz respeito à morfologia, a literatura descreve a interação entre os íons  $\text{Ca}^{2+}$  e os grupos negativos da cadeia do PSS formando um centro de nucleação (Ferreira *et al.*, 2023).

O tamanho das partículas é um parâmetro que impacta diretamente na aplicação do material desenvolvido, principalmente quando se trata da liberação modificada de medicamentos. A administração via oral, por exemplo, requer sistemas com tamanho de até 100  $\mu\text{m}$  (Lengyel *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2018).

Fatores como: presença de um aditivo, temperatura, velocidade de agitação e tempos de reação são importantes na síntese de polimorfos específicos do carbonato de cálcio, sendo que a alteração em alguns deles pode influenciar na formação de um polimorfo específico (Facchinetto *et al.*, 2017; Febrida *et al.*, 2021).

O diâmetro hidrodinâmico das microesferas de vaterita foi obtido por meio de análises de espalhamento dinâmico da luz (DLS) (Figura 25).

Figura 25: Gráfico de diâmetro hidrodinâmico das microesferas de vaterita

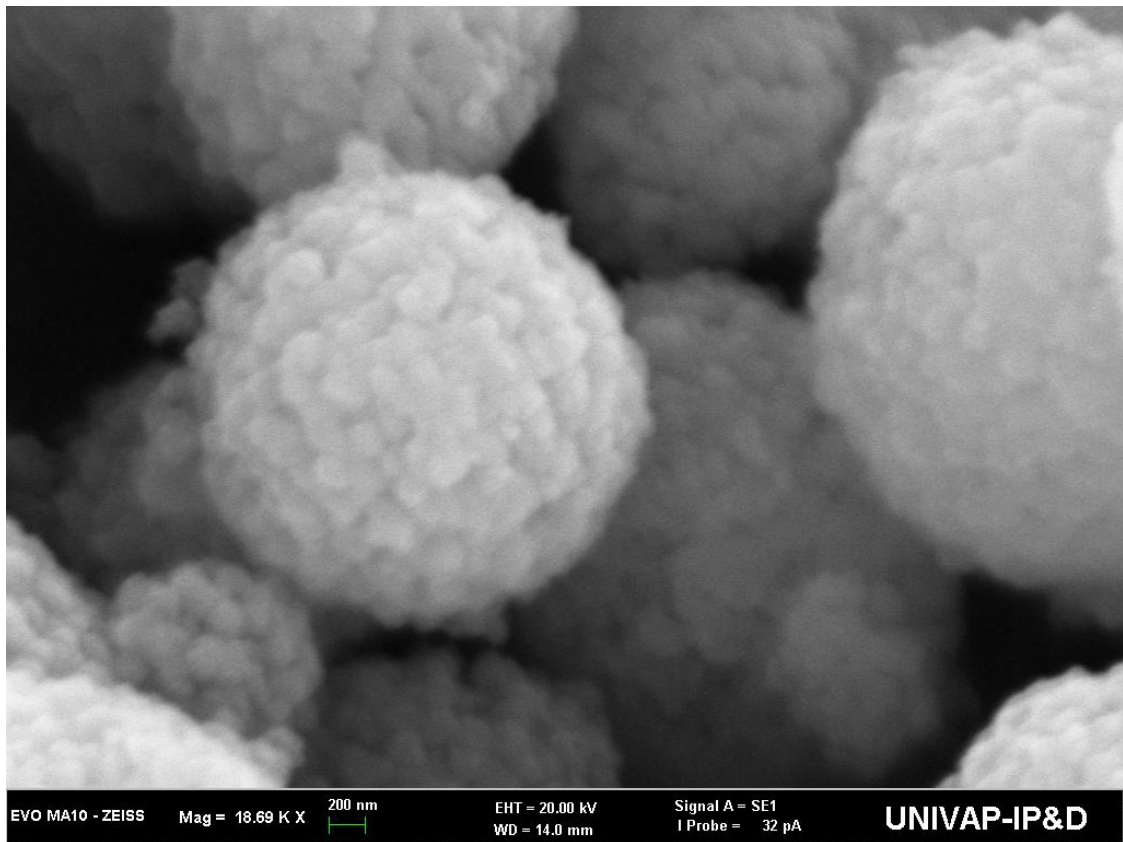


Fonte: Elaborado pela autora.

A partir das medidas de DLS pode-se constatar que as microesferas de vaterita apresentam diâmetro médio de  $540 \pm 99,33\text{nm}$ . ZHAO, D e colaboradores (2013) obtiveram partículas ocas de vaterita com diâmetro médio de  $800 \pm 100\text{ nm}$ . Chesneau e colaboradores (2023) relatam que o tamanho de uma partícula de vaterita deve se encontrar dentro do limite de 200-1200nm, para favorecer a passagem até uma célula tumoral.

As meHAp foram caracterizadas por MEV (Figura 26).

Figura 26: Micrografia obtida por MEV das microesferas de hidroxiapatita



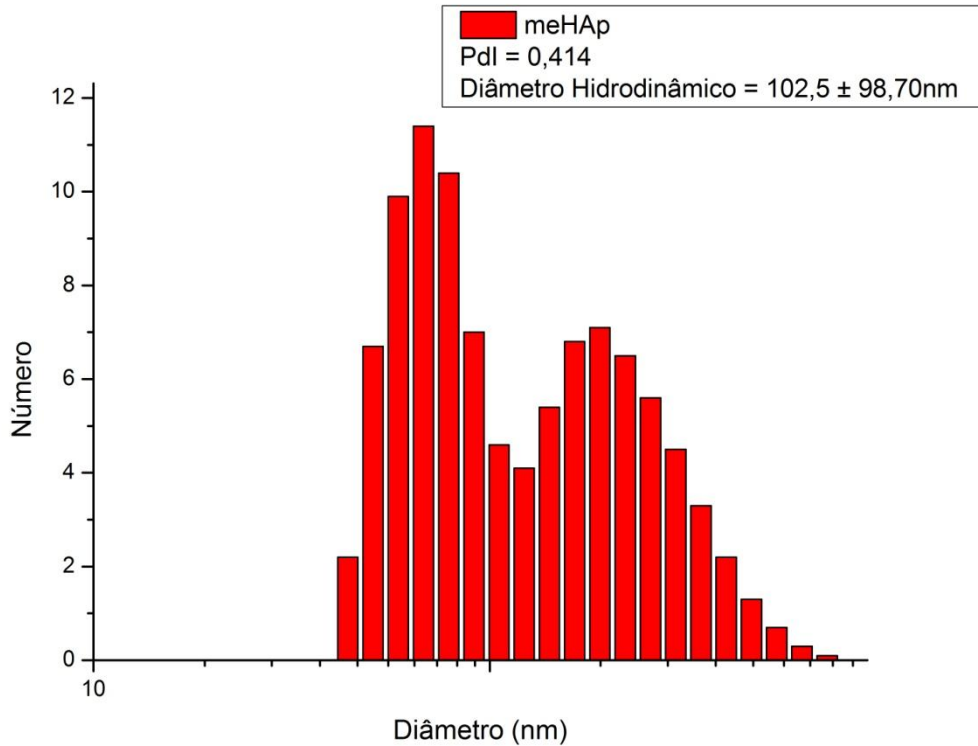
Fonte: Elaborado pela autora.

As microesferas produzidas apresentam textura rugosa. O PSS atua auxiliando o crescimento e o formato da microesfera produzida. Assim como o descrito por Gao e colaboradores (2019) as formulações de HAp mantiveram a morfologia dos *templates* de vaterita utilizados no método hidrotérmico. Faixas de pH básico favorecem a formação de estruturas esféricas, e a medida que o pH diminui é favorecida a formação de outras morfologias (Sans *et.al.*, 2021; Xiao *et.al.*, 2018).

Yang e Park (2019) definem o crescimento de um cristal pelo método hidrotérmico a partir de quatro fases, sendo elas: dissolução dos reagentes, separação dos componentes por diferença de temperatura, adsorção dos grupos de moléculas na interface de crescimento e cristalização.

O diâmetro hidrodinâmico das meHAp foi obtido por meio de análises de espalhamento dinâmico da luz (Figura 27).

Figura 27: Gráfico de diâmetro hidrodinâmico das microesferas de hidroxiapatita



Fonte: Elaborado pela autora.

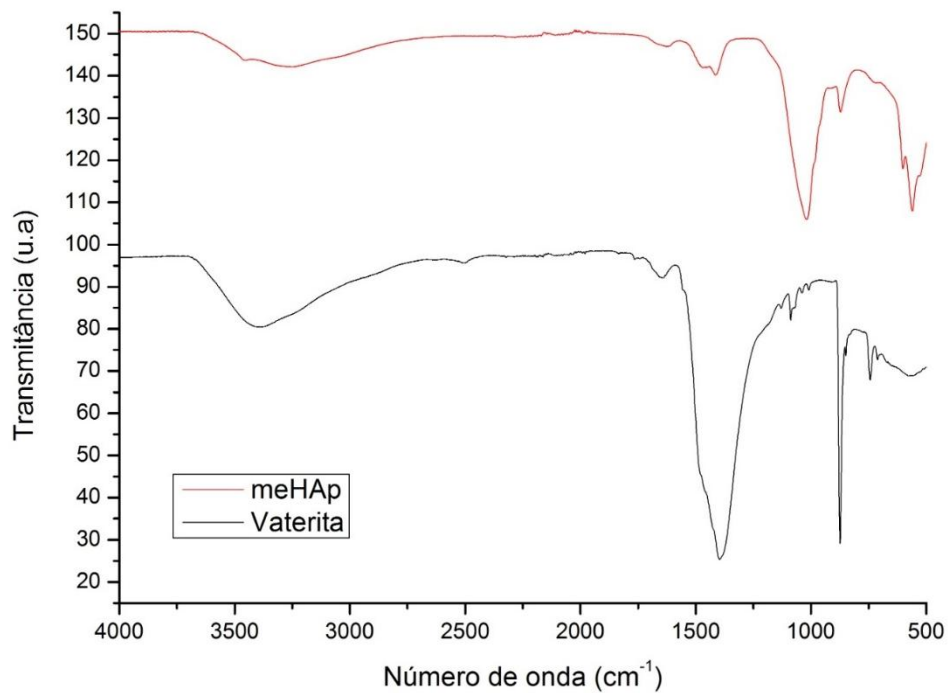
A partir das medidas de DLS pode-se constatar que as microesferas de hidroxiapatita apresentam diâmetro médio de  $102,5 \pm 98,70\text{nm}$ . Silva-Holguín e Reyes-López (2020) sintetizaram microesferas de HAp de diâmetro médio de  $263 \pm 23\text{ nm}$  utilizando nitrato de cálcio tetrahidratado ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , CaN), fosfito de trietila ( $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_3\text{P}$ ) e etanol como precursores. De acordo com Luo e colaboradores (2023) partículas de tamanho médio de  $100\text{nm}$  são facilmente transportadas pela corrente sanguínea devido ao efeito EPR (efeito de permeabilidade e retenção).

O efeito EPR se baseia no fato de que as células afetadas por tumores sofrem constantemente o processo de angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos), o que leva a formação de vasos irregulares e de espaços entre os mesmos, permitindo a entrada de um DDS na célula (Kang *et al.*, 2020; Ikeda-Imafuku *et al.*, 2022).

### 5.1.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de vaterita e de meHAp sintetizadas foram caracterizadas utilizando espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR- Figura 28).

Figura 28: Espectro de FTIR das sínteses de vaterita e meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

As bandas referentes as amostras de vaterita e meHAp estão apresentadas com as atribuições nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4: Atribuição de bandas do FTIR para vaterita

Banda	Atribuição
713	Flexão C-O
744	Deformação O-C-O
873	Flexão CO <sub>3</sub> fora do plano
1392	Estiramento assimétrico C-O
3390	Estiramento O-H

Fonte: Adaptado de Longkaew e colaboradores (2023), Song e colaboradores (2021), Senarathna e colaboradores (2020) e Ye e colaboradores (2023).

Tabela 5: Atribuição de bandas do FTIR para meHAp

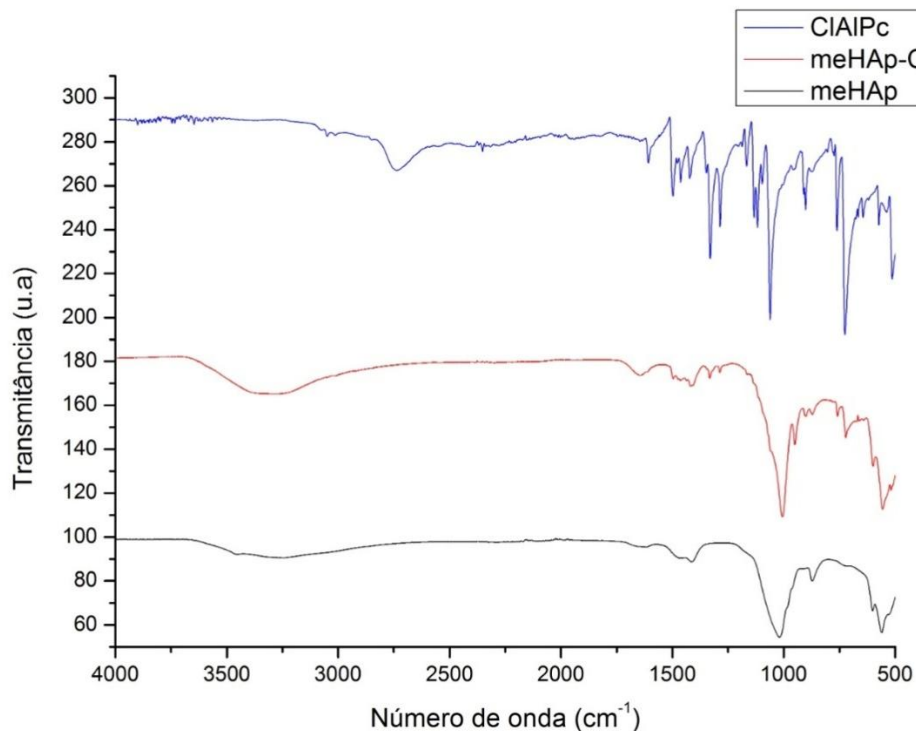
Banda	Atribuição
558	Flexão P-O
869	Vibração C-O
1020	Estiramento P-O
1408	Flexão P-O
3274	Estiramento O-H

Fonte: Adaptado de Wang, Yan e Chen (2021), Yao e colaboradores (2021) e Zubieta-Otero e colaboradores (2021).

Após a observação das bandas referentes a vaterita e a meHAp pode-se observar o surgimento de novas ligações referentes ao grupo fosfato, um dos componentes utilizados na síntese das meHAp.

Além das amostras de vaterita e de meHAp foram analisadas também as amostras de meHAp contendo CIAIPc e a CIAIPc em sua forma isolada (figura 29).

Figura 29: Espectro de FTIR das amostras de meHAp, meHApCIAIPc e CIAIPcEspectro de FTIR das amostras de meHAp, meHApCIAIPc e CIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora

As atribuições referentes ao espectro da ClAlPc e das meHApClAlPc estão presentes na tabela 6.

Tabela 6: Atribuição de bandas do FTIR para meHApClAlPc e ClAlPc

meHApClAlPc	ClAlPc	Atribuição
644	515,574	Flexão C-C
725,760	727,761	Flexão C-H fora do plano
904	903	Vibração balanço núcleo AlPc
1062,1096,1117, 1134,1165,1285	1063,1118,1133, 1167, 1285	Vibração balanço núcleo AlPc
1330,1422, 1462,1494	1330,1421, 1464,1500	Estiramento C-O
1607	1606	Estiramento C-C
2738	2736	Estiramento O-H

Fonte: Adaptado de Aghdam e colaboradores (2020), Wang, Yan e Chen (2021), Yao e colaboradores (2021) e Zubieta-Otero e colaboradores (2021).

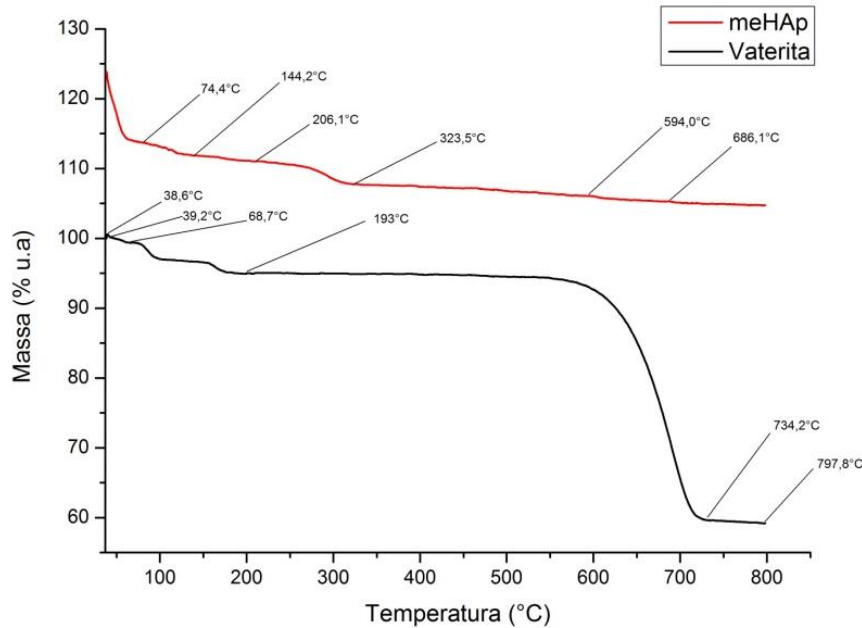
Após a comparação dos picos referentes as formulações meHAp, meHApClAlPc e ClAlpc não é possível observar o surgimento de nenhuma nova atribuição de banda, um indicativo de que o processo de adsorção da ClAlPc no sistema de HAp ocorreu a partir de um processo físico e não químico.

### 5.1.3 Termogravimetria (TGA)

A vaterita e as meHAp passaram por análises de termogravimetria (figura 30)

A partir da análise do termograma da vaterita é possível observar 2 regiões de perda de massa. A primeira região apresenta picos de perda em 38,6 °C; 39,2°C; 68,7°C e 193,0°C, todos associados à perda de umidade da amostra analisada. Já a segunda região observada apresenta picos de perda de massa em 734,2°C e 797,8° C associados à decomposição térmica do grupo carbonato (CO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e sua transformação de fase em óxido de cálcio (CaO) (Nagpal; Kakkar, 2020; Remya; Kim; Kim, 2022; Azarian; Junyusen; Sutapun, 2024; Li *et al.*, 2022).

Figura 30: Termograma de TGA das amostras de vaterita e meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

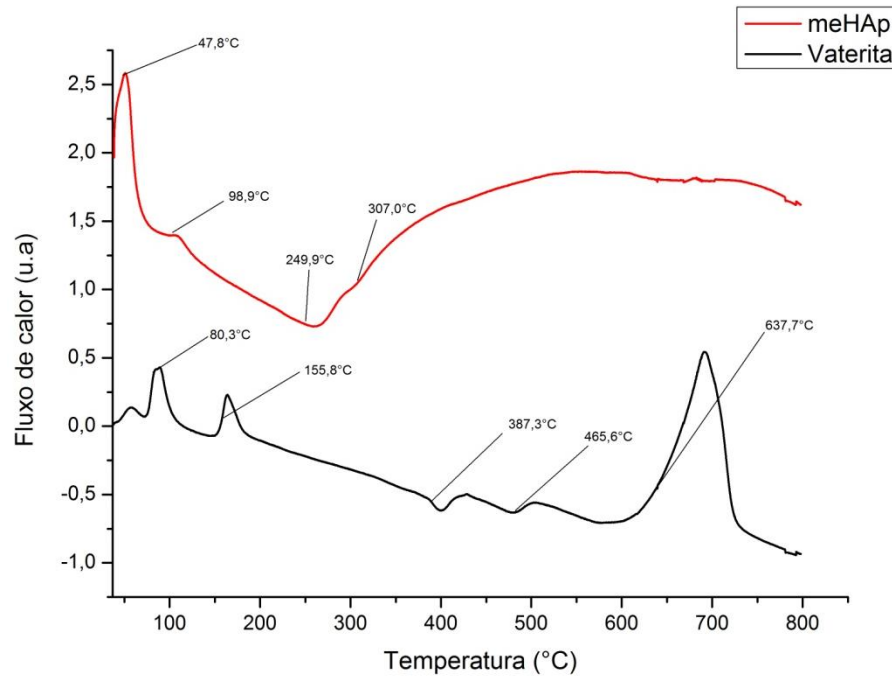
A análise do termograma correspondente as meHAp permite identificar 6 regiões de perda de massa, em 74,4°C; 144,2°C; 206,1°C; 323,5°C; 594°C e 686,1 °C. Os eventos de 74,4°C e 144,2° C são atribuídos a evaporação de água adsorvida na meHAp sintetizada. Os eventos em 206,1°C e 323,5°C são atribuídos a transformação da fase amorfa em fase cristalina nas meHAp sintetizadas, já os dois últimos dois eventos em 594°C e 686,1 °C são devidos a decomposição de impurezas ligadas ao grupo carbonato ( $\text{CO}_3^-$ ) (Maleki *et al.*, 2019; Malla *et al.*, 2020; Kangkan *et al.*, 2020).

#### 5.1.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A vaterita e as meHAp passaram por análises de DSC (figura 31)

Após análises dos termogramas da vaterita foi possível observar a ocorrência de três picos endotérmicos em 80,3°C; 155,8°C e 637,7°C sendo os dois primeiros atribuídos a evaporação da água presente na amostra e o último a decomposição térmica do carbonato de cálcio em óxido de cálcio. Foram observados também dois picos exotérmicos sendo um em 387,3°C referente ao processo de cristalização do carbonato e um pico em 465,6°C referente a transformação da vaterita em calcita, que ocorre em função da alta temperatura (Jensen; Birkedal; Bertinetti, 2019; Zhang *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021; Jin *et al.*, 2020).

Figura 31: DSC das amostras de vaterita e meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

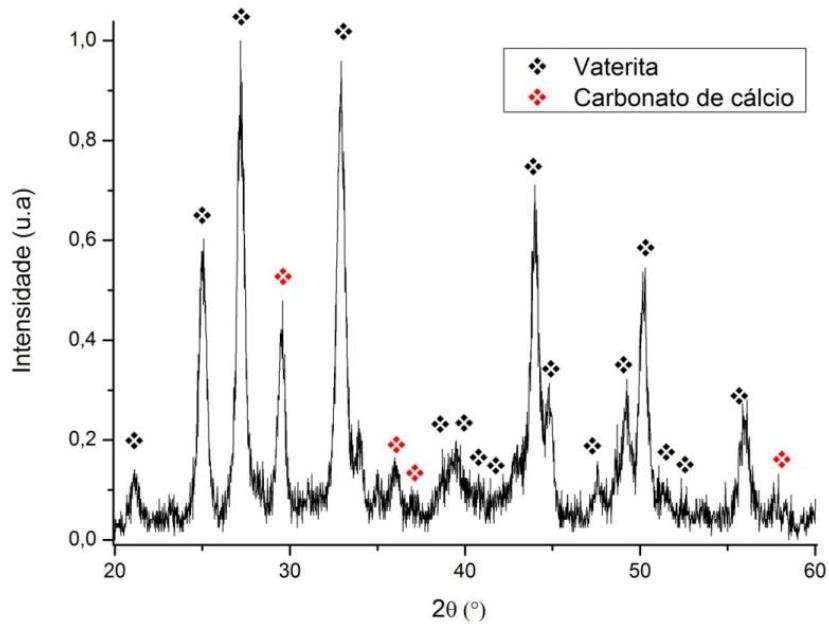
O termograma de DSC da amostra de meHAp apresenta dois principais eventos endotérmicos nas temperaturas de 47,8°C e 98,9°C relacionados a perda de umidade das amostras. A amostra sintetizada apresenta dois eventos exotérmicos nas temperaturas de 249,9°C e 307°C atribuídos aos processos de cristalização da fase amorfa da amostra (Alsharif *et al.*, 2019; Maleki *et al.*, 2019).

### 5.1.5 Difração de raios X (DRX)

A vaterita e as meHAp sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios x (figuras 32 e 33, respectivamente)

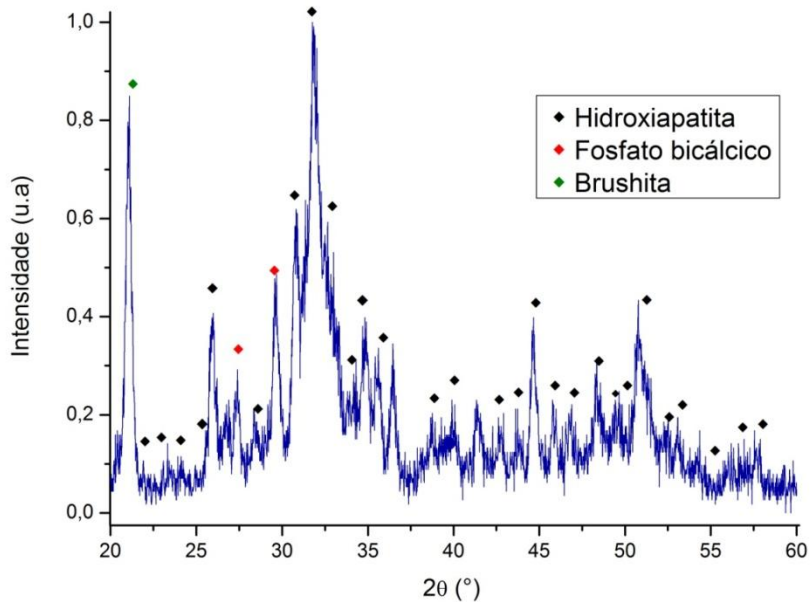
A análise de DRX permitiu a identificação da amostra de vaterita utilizando o padrão (JCPDS-ICDD número 00-033-0268), que apresenta a fórmula:  $\text{CaCO}_3$  e os seguintes parâmetros de rede  $a = 7,1473 \text{ \AA}$ ,  $b = 7,1473 \text{ \AA}$  e  $c = 16,91 \text{ \AA}$ . Foi detectado também um padrão correspondente a uma amostra de carbonato de cálcio, identificado pela ficha (JCPDS- ICDD número 00-001-1032), devido a alguma impureza da amostra sintetizada. Bastrzyk e colaboradores (2018) identificam uma amostra de vaterita pela presença dos seguintes picos no gráfico: 24,9°, 27,2°; 32,9°; 43,1°; 50,2°. A amostra sintetizada apresenta todos os picos correspondentes.

Figura 32: DRX da amostra de vaterita



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 33: DRX meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

A análise de DRX da amostra de meHAp apresentou dois padrões correspondentes à formulação, de acordo com as fichas: (JCPDS-ICDD número 00-003-0747 que apresenta a seguinte fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) e (JCPDS-ICDD número 01-084-1998 que apresenta a

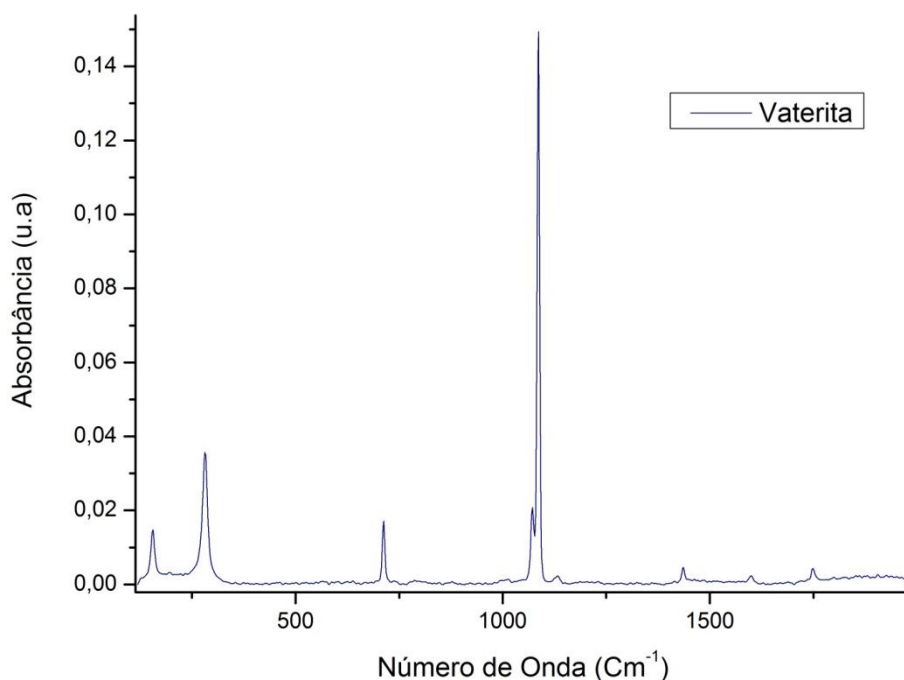
seguinte fórmula  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ). Khalid e colaboradores (2022) identificam uma amostra de HAp pela presença dos seguintes picos no gráfico:  $25,7^\circ$ ;  $31,8^\circ$ ;  $39,8^\circ$ ;  $46,6^\circ$  e  $49,3^\circ$ . A amostra apresenta todos os picos em questão.

A análise também identificou um padrão correspondente a brushita, de acordo com a ficha (JCPDS-ICDD número 00-004-0740 que apresenta a fórmula  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e um padrão correspondente ao fosfato bicálcico de acordo com a ficha (JCPDS-ICDD número 00-011-0184). A brushita é uma forma metaestável formada durante o processo de nucleação da hidroxiapatita. O fosfato bicálcico apresenta estrutura química semelhante à da brushita ( $\text{CaHPO}_4$ ) e é citado na literatura como uma forma cristalina de fosfato de cálcio (Montes-Hernandez; Erenard *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2020).

### 5.1.6 Espectroscopia Raman

A vaterita e as meHAp sintetizadas foram caracterizadas por espectroscopia Raman (Figuras 34 e 35, respectivamente).

Figura 34: Espectro Raman de vaterita.



Fonte: Elaborado pela autora.

A atribuição das bandas referentes à espectroscopia Raman da vaterita (Tabela 7) foram feitas de acordo com o descrito por Matroodi e Tavassoli (2014) e Shah (2021). A análise dos

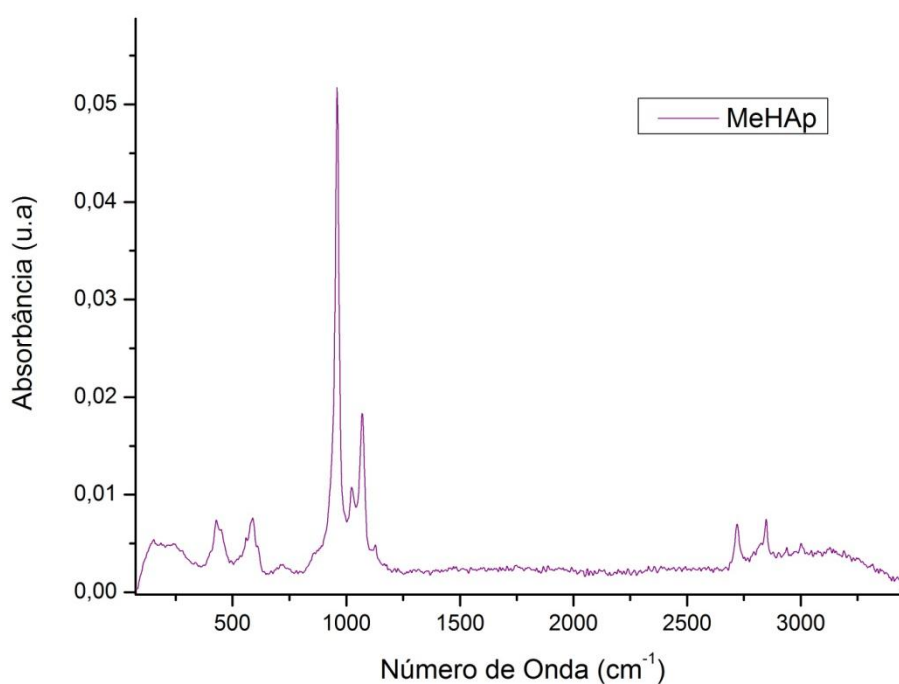
dados obtidos permite a observação do grupo carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) na amostra de vaterita sintetizada.

Tabela 7: Atribuição das bandas do RAMAN vaterita

Banda	Atribuição
712	Deformação simétrica C - O
1069	Estiramento simétrico C - O
1087	Estiramento simétrico C - O
1436	Estiramento assimétrico C - O

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 35: Espectro RAMAN das meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

A atribuição das bandas referentes à espectroscopia Raman das meHAp (Tabela 7) foram feitas de acordo com o descrito por Montes-Hernandez e colaboradores (2020), Shah (2021) e Mohonta e colaboradores (2021). A tabela 8 permite a observação de dois principais picos característicos da hidroxiapatita, na região de  $960\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao grupo fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) e na região de  $1070\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao grupo carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ).

Tabela 8: Espectro RAMAN das meHAp

<b>Banda</b>	<b>Atribuição</b>
429	Estiramento P - O
591	Flexão P - O
959	Estiramento simétrico P - O
1019	Estiramento simétrico P - O
1071	Estiramento simétrico C - O

Fonte: Elaborado pela autora

### 5.1.7 Espectroscopia por energia dispersiva (EDX)

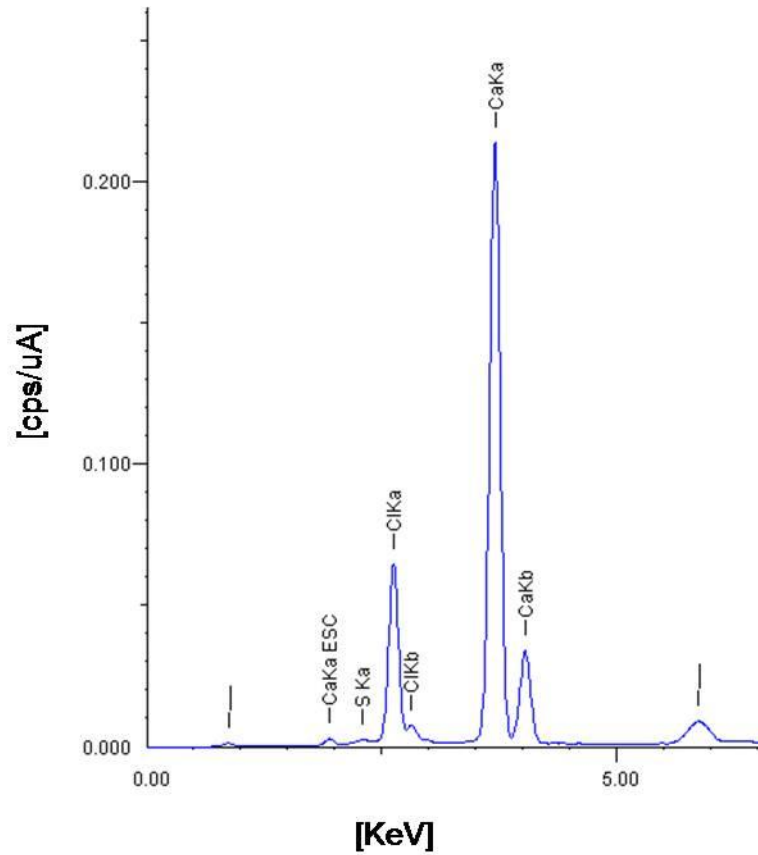
Foram realizadas análises utilizando EDX para as amostras de vaterita (figura 36, tabela 9), meHAp (figura 37, tabela 10) e de meHApClAlPc (figura 38, tabela 11) sintetizadas.

Tabela 9: EDX da amostra de vaterita

<b>Elemento</b>	<b>% na composição da amostra</b>
Ca	61,7
Cl	37,5
S	0,8

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 36: Gráfico de EDX da amostra de vaterita



Fonte: Elaborado pela autora

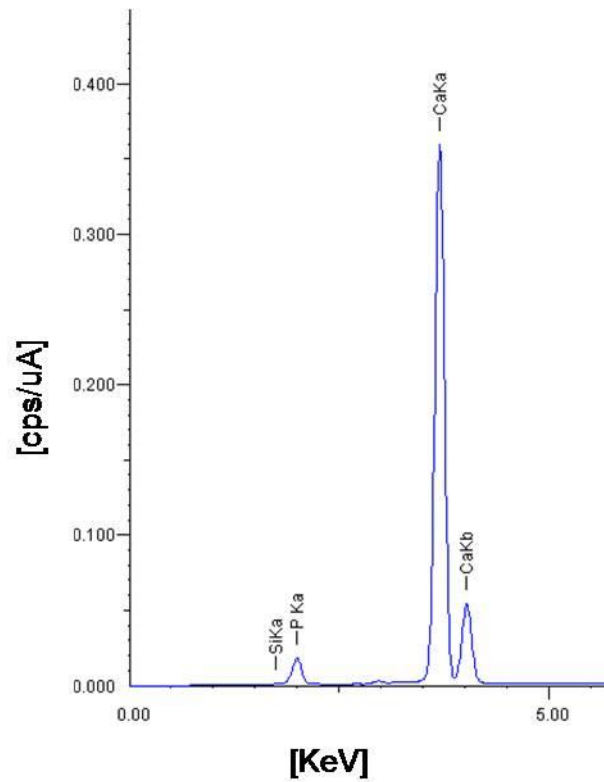
Nas leituras das amostras de vaterita foi possível identificar a presença de cálcio e de resíduos de enxofre e cloro, provenientes respectivamente do poli (4-estireno sulfonato de sódio) (PSS) e cloreto de cálcio utilizados na síntese.

Tabela 10: EDX da amostra de meHAp

Elemento	% na composição da amostra
Ca	18
P	8
OH	76

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 37: Gráfico de EDX da amostra de meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

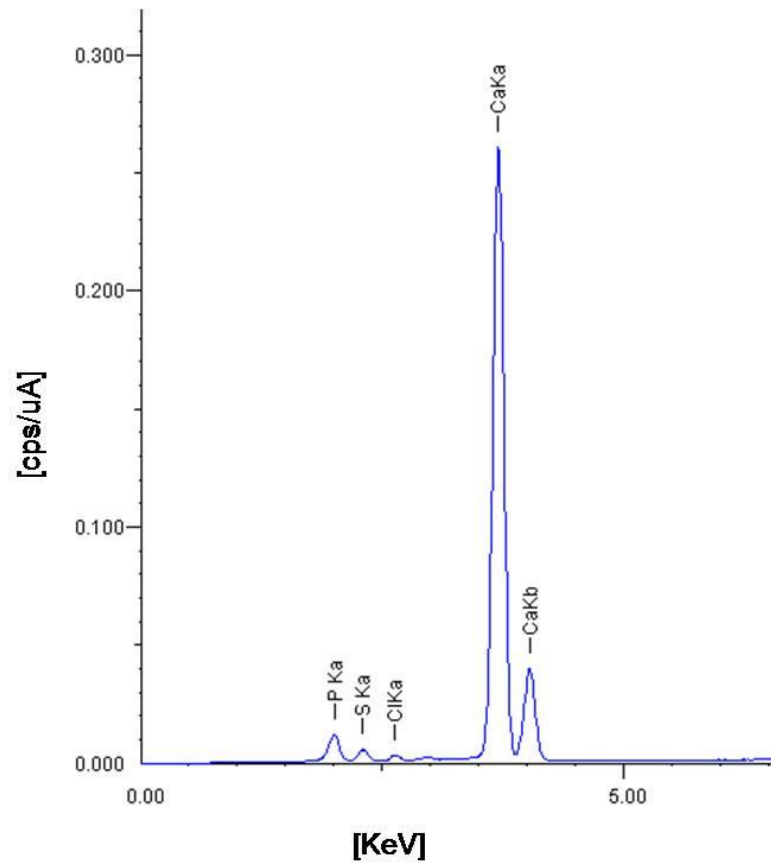
Nas leituras referentes as amostras de meHAp foram encontrados os elementos cálcio, fósforo, oxigênio e hidrogênio, todos presentes na composição da hidroxiapatita.

Tabela 11: EDX da amostra de meHApClAlPc

Elemento	% na composição da amostra
Ca	67,5
P	24,8
S	5,6
Cl	2,1

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 38: EDX da amostra de meHApCIAIPc



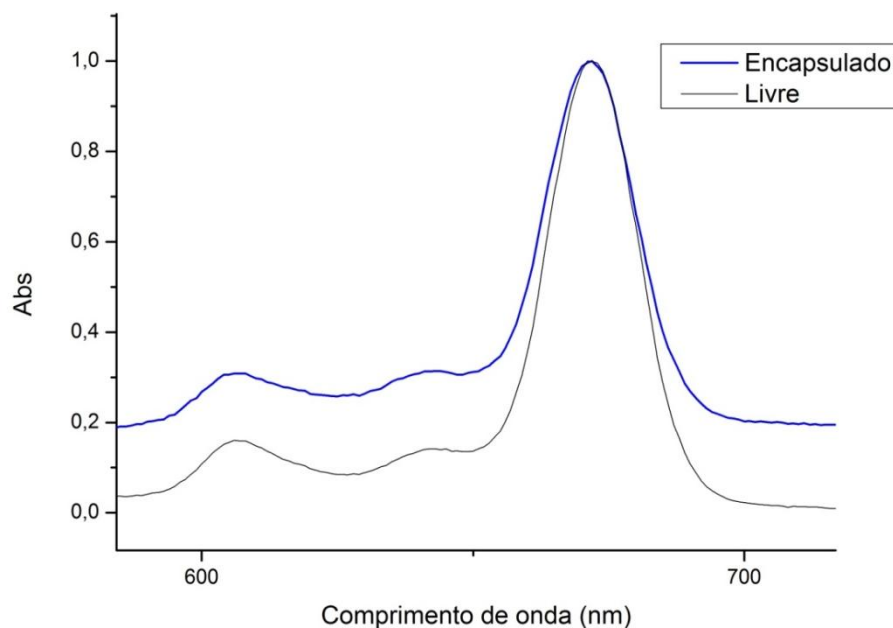
Fonte: Elaborado pela autora.

Nas leituras referentes as amostras de meHApCIAIPc foram encontrados os elementos cálcio, fósforo, cloro (provenientes da meHAp e CIAIPc analisadas) e enxofre (que assim como na amostra de vaterita é um resíduo do poli (4-estireno sulfonato de sódio) (PSS) utilizado no processo de síntese.

### 5.1.8 Estudos espectroscópicos no ultravioleta visível

As amostras de meHAp foram carregadas com CIAIPc e posteriormente analisadas por espectroscopia no UV-Vís, a CIAIPc em sua forma livre (isolada do sistema) também foi analisada (Figura 39)

Figura 39: Curva normalizada da ClAlPc livre e encapsulada



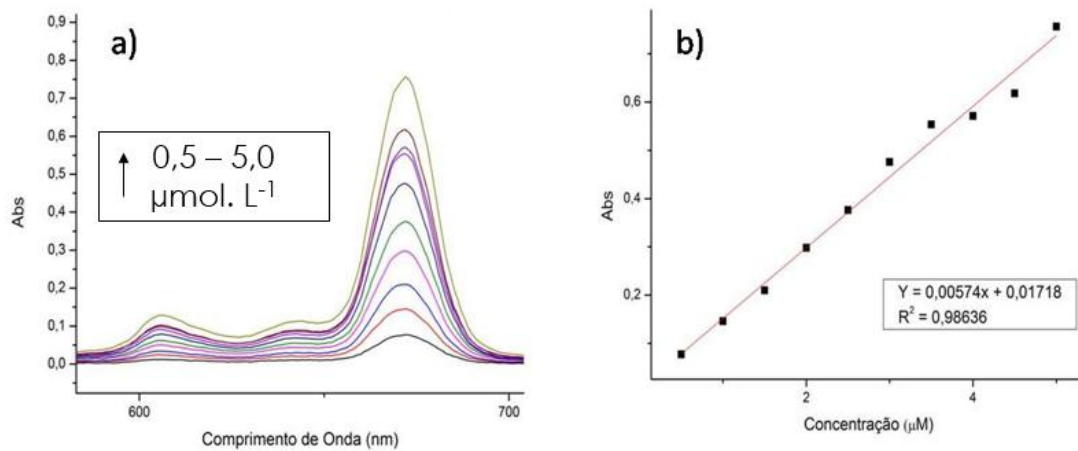
Fonte: Elaborado pela autora.

Ao comparar o espectro correspondente a ClAlPc (livre) e o espectro correspondente as meHApClAlPc (encapsulado) não se observa a formação de nenhum novo pico, um indicativo de que não se formaram agregados na formulação das meHAp, o que levaria a alteração das propriedades espectrais do sistema sintetizado (Antina *et al.*, 2024).

A amostra correspondente a meHApClAlPc apresentou máxima absorção em 672 nm e a ClAlPc em sua forma isolada apresentou valor máximo em 674 nm. Um FS adequado para uso em terapia fotodinâmica deve apresentar absorção dentro da faixa de 600-800nm, região da janela terapêutica. FS's inorgânicos tem mais facilidade em converter energia pelos mecanismos usados na TFD. A amostra correspondente a meHApClAlPc apresentou máxima absorção em 672nm, dentro da região característica da ClAlPc (Mfouo-Tynga *et.al.*, 2021; Zhou *et.al.*, 2021).

Para avaliação do comportamento da ClAlPc em diferentes concentrações foi realizada uma curva de calibração do FS (Figura 40). As diluições para a realização da análise foram feitas com base em uma solução estoque de concentração  $1 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  do FS, diluído em solução alcoólica de DMSO.

Figura 40: a) Curva de calibração da CIAIPc, b) Linear Fit da concentração x absorvância



Fonte: Elaborado pela autora.

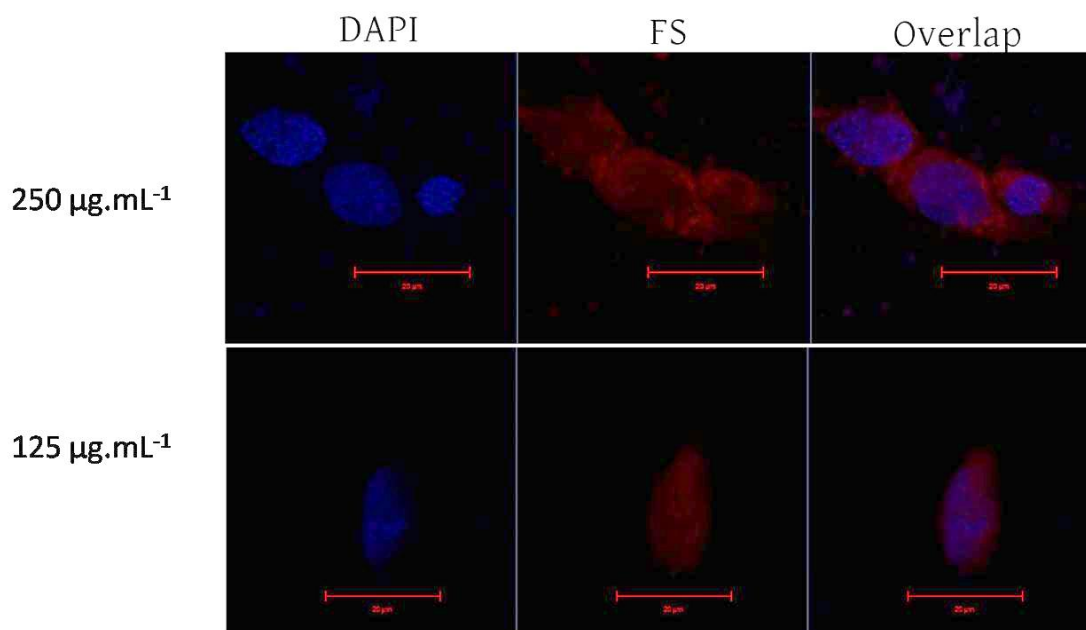
A CIAIPc apresentou comportamento monomérico na faixa de concentração estudada (de 0,5 até 5,0 µmol.L<sup>-1</sup>) figura 40a). A regressão linear realizada a partir dos estudos espectrofotométricos apresentou excelentes coeficiente de correlação ( $r = 0,99316$ ) e de determinação ( $R^2 = 0,98636$ ) e a equação linear obtida foi: absorvância = 0,00574. [Concentração de CIAIPc, µmol. L<sup>-1</sup>] + 0,01718 (figura 40b).

A realização da curva de calibração e das análises espectroscópicas das meHApCIAIPc permitiram a quantificação da eficiência de encapsulamento do sistema, que foi de 57.8%. Li e colaboradores (2021) obtiveram eficiência de 30,20% no encapsulamento de sinvastatina em microesferas de hidroxiapatita produzidas por método hidrotérmico.

### 5.1.9 Internalização do FS

O estudo de internalização (Figura 41) foi realizado a partir do uso do DAPI, um corante específico para DNA, que apresenta aumento de seu coeficiente de excitação quando ligado ao material genético da cultura celular analisada (Šimoliūnas *et al.*, 2021).

Figura 41: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o FS no interior da célula de gliosarcoma, após uma hora de incubação das meHApCIAIPc nas concentrações de  $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$



Fonte: Elaborado pela autora.

A partir da imagem obtida através da microscopia confocal de fluorescência é possível observar o acúmulo do sistema meHApCIAIPc no interior das células testadas, comprovado pela imagem do *overlap* de ambos os materiais (DAPI e CIAIPc).

A absorção de substâncias pelas células pode ocorrer por endocitose. O fenômeno pode prosseguir por duas vias: fagocitose (fenômeno onde ocorre a absorção de partículas grandes) e pinocitose (fenômeno onde ocorre a absorção de fluídos) (Nelemans; Gurevich, 2020).

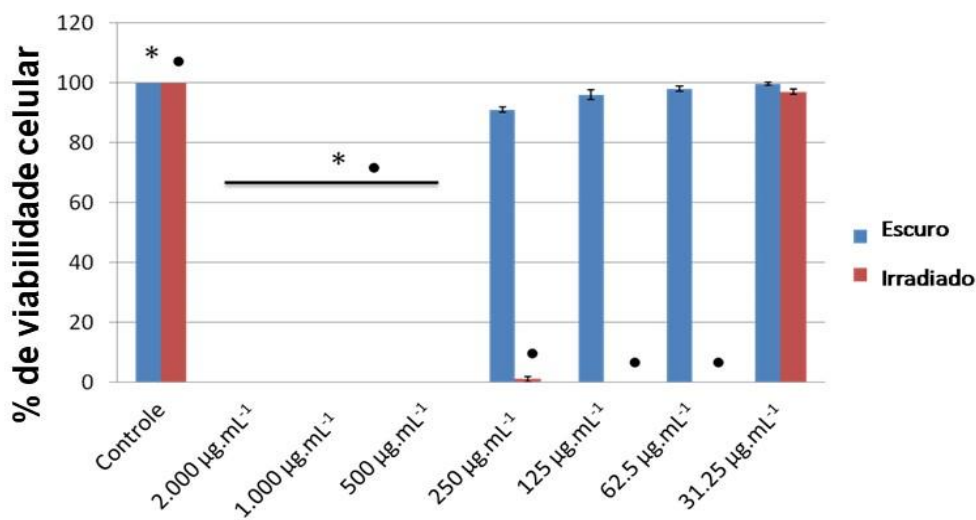
Se tratando de células cancerígenas, o acúmulo de DDS ocorre de duas maneiras: direcionamento ativo e passivo. O direcionamento ativo ocorre a partir do processo de funcionalização do sistema escolhido, onde são empregados ligantes específicos para os componentes presentes nas células. Já no direcionamento passivo, o acúmulo do sistema na célula ocorre mediado pelo efeito EPR. Ambos os fenômenos podem ocorrer simultaneamente (Sanitá *et al.*, 2020).

#### 5.1.10 Análise da viabilidade celular pelo método de exclusão com azul de tripan

O Azul de tripan é um corante que tem a capacidade de permear em células mortas ou em processo de morte celular, conferindo ao citoplasma das mesmas a coloração azul e

permitindo a diferenciação com o grupo de células viáveis após os testes de interesse com o grupo celular escolhido (Babakhanova *et al.*, 2022; Chan; Rice; Qiu, 2020). A figura 42 apresenta a viabilidade celular das células 9l/lacZ após exposição a TFD.

Figura 42: Impacto dos tratamentos na viabilidade de gliosarcoma 9l/lacZ após os tratamentos no escuro e irradiados utilizando as meHApClAlPc



Fonte: Elaborado pela autora.

As meHAp também foram testadas na forma vazia (na ausência da ClAlPc). A formulação não apresentou citotoxicidade para a cultura o gliosarcoma após 1h de incubação, portanto, os dados não estão representados no gráfico.

Foi observada citotoxicidade da ClAlPc nas concentrações de 2.000-500µg.mL<sup>-1</sup>, enquanto as concentrações de 250-62,5 µg.mL<sup>-1</sup> não apresentaram citotoxicidade. No entanto, após irradiação, as concentrações de 250-62,5 µg.mL<sup>-1</sup> reduziram a viabilidade das células de gliosarcoma em mais de 98%.

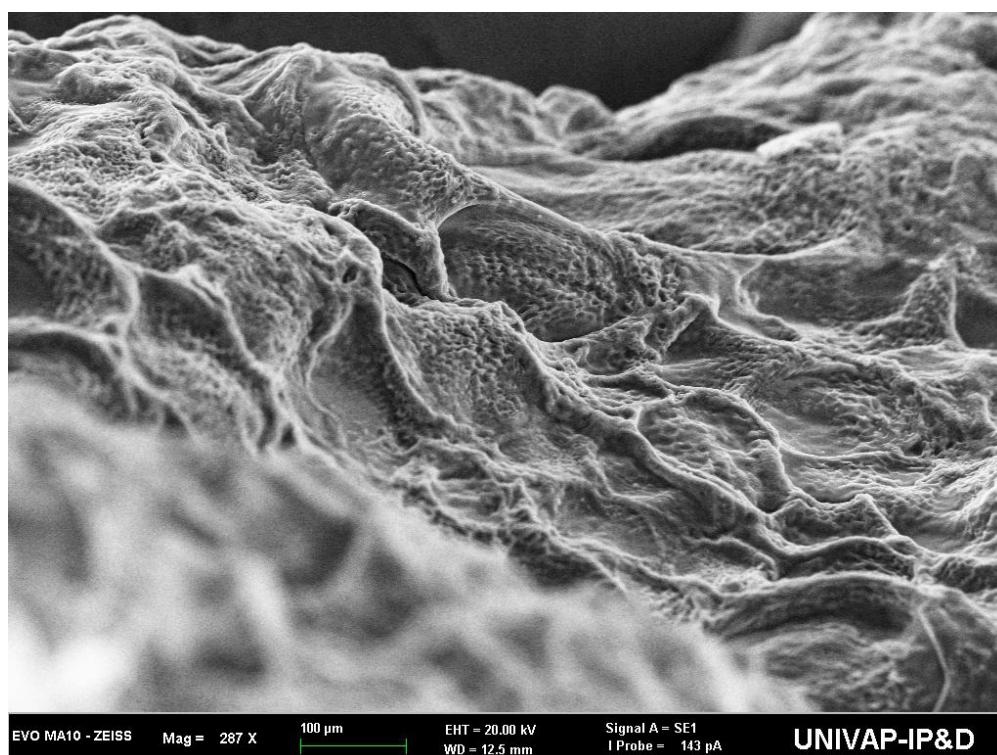
Em comparação, Elfeky e colaboradores (2020) realizaram o tratamento de células de osteossarcoma ósseo humano (Saos-2) utilizando nanopartículas de hidroxiapatita encapsuladas com azul de metileno, obtendo redução de apenas 10% na viabilidade celular utilizando uma concentração de 100 µg.mL<sup>-1</sup>no grupo irradiado.

## 5.2 HIDROGEL PVA/ GELATINA

### 5.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O hidrogel de PVA/Gelatina e seus derivados foram analisados por MEV (Figura 43-46).

Figura 43: Micrografia obtida por MEV do hidrogel de PVA/Gelatina



Fonte: Elaborado pela autora.

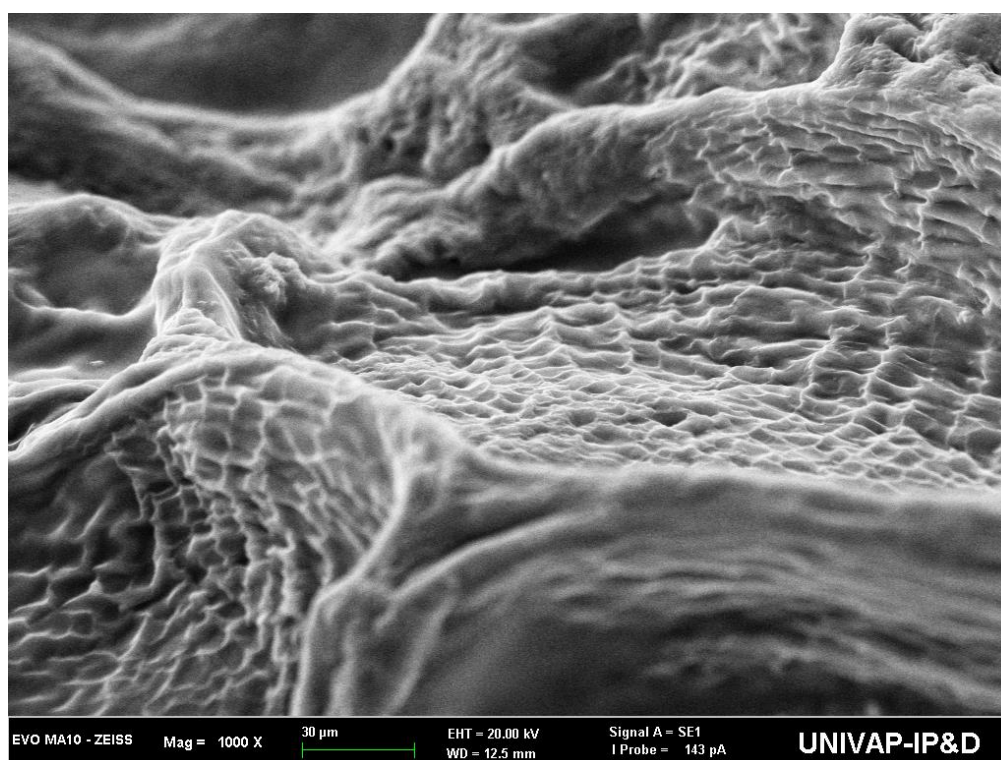
O hidrogel é formado por uma rede polimérica tridimensional e interconectada, o que pode ser observado na microscopia do hidrogel sintetizado. A concentração de gelatina presente na síntese do hidrogel pode influenciar a formação das cadeias presentes no sistema, sendo que em concentrações maiores de 5% a tendência é que se forme uma rede mais compacta (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2019; Yazdia *et al.*, 2020).

A formação da rede tridimensional do hidrogel impacta na sua capacidade de intumescimento e conseqüentemente na sua capacidade de carregamento com substâncias de interesse para a formação de um sistema de liberação modificada. A reticulação é diretamente relacionada com este fenômeno, sendo que a baixa reticulação pode levar a não formação da

rede do hidrogel, e que a reticulação em excesso pode formar redes muito rígidas (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2019; Yu; Ji; Ran, 2021).

A formação das cadeias do hidrogel é derivada da reação de esterificação entre o grupo OH do PVA e o grupo COOH da gelatina, que ocorre na presença do ácido clorídrico que atua como reticulante (Salahuddin *et al.*, 2021; Yu; Ji; Ran, 2021).

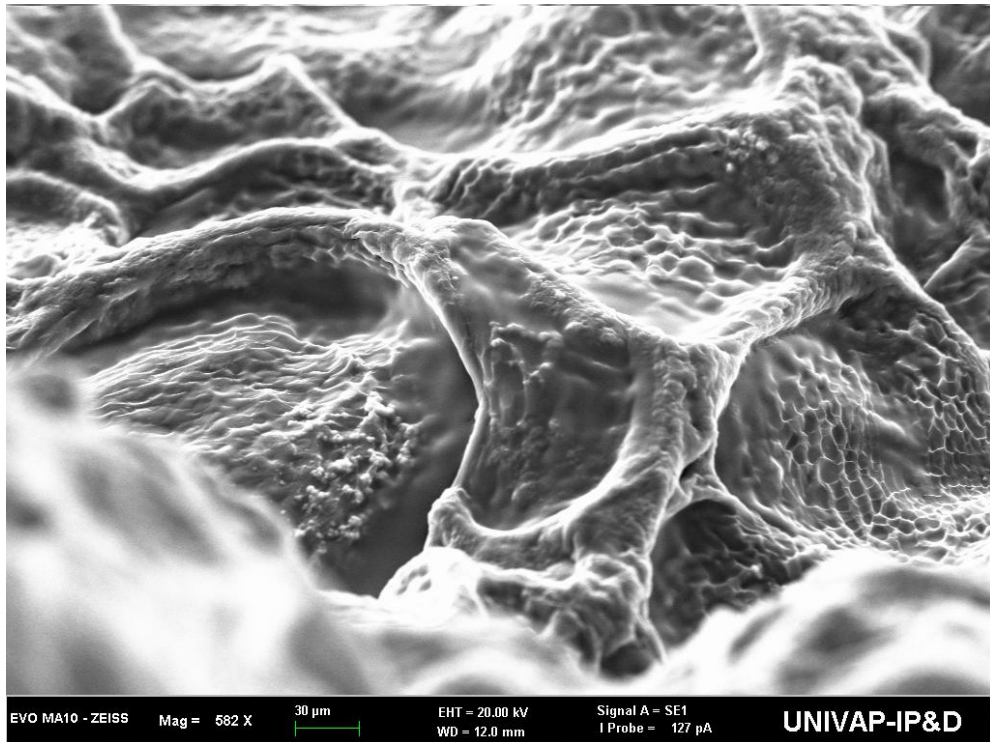
Figura 44: Micrografia obtida por MEV do hidrogel CIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora.

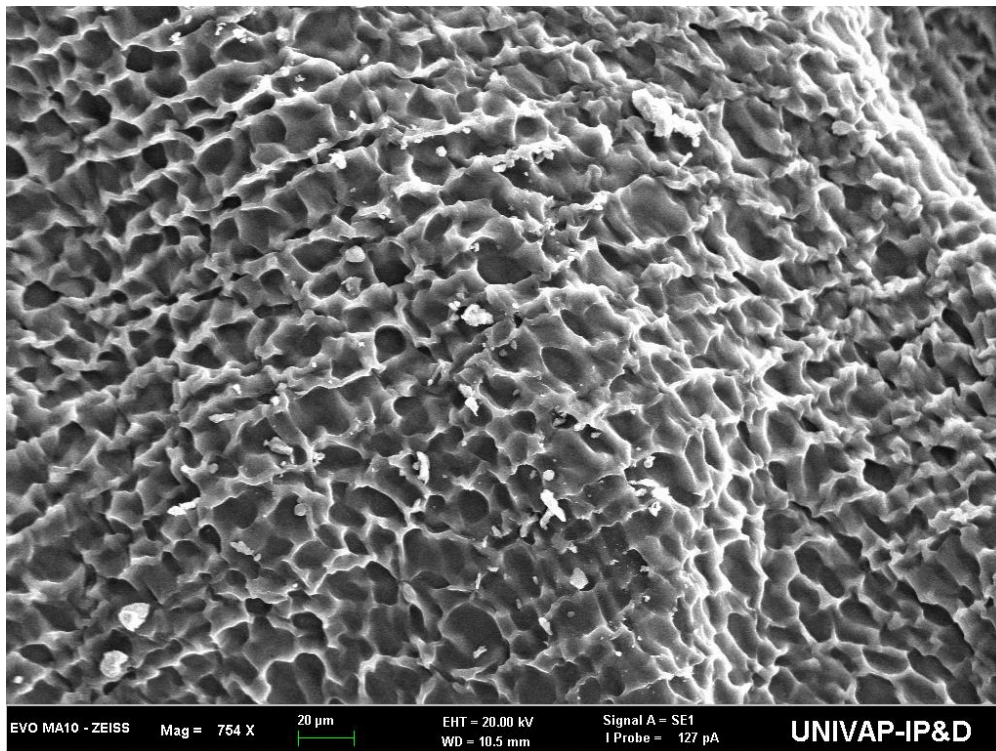
A Figura 44 permite a observação de que o processo de encapsulamento com a CIAIPc não alterou a estrutura tridimensional já conhecida do hidrogel. De acordo com Far e colaboradores (2024), o processo de encapsulamento do hidrogel tem como objetivo manter o medicamento ou o FS de interesse dentro da estrutura do hidrogel e proporcionar a sua liberação de maneira controlada no organismo ou no ambiente de estudo em questão (Far *et al.*, 2024).

Figura 45: Micrografia obtida por MEV do hidrogel meHAp



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 46: Micrografia obtida por MEV do hidrogel meHApClAlPc



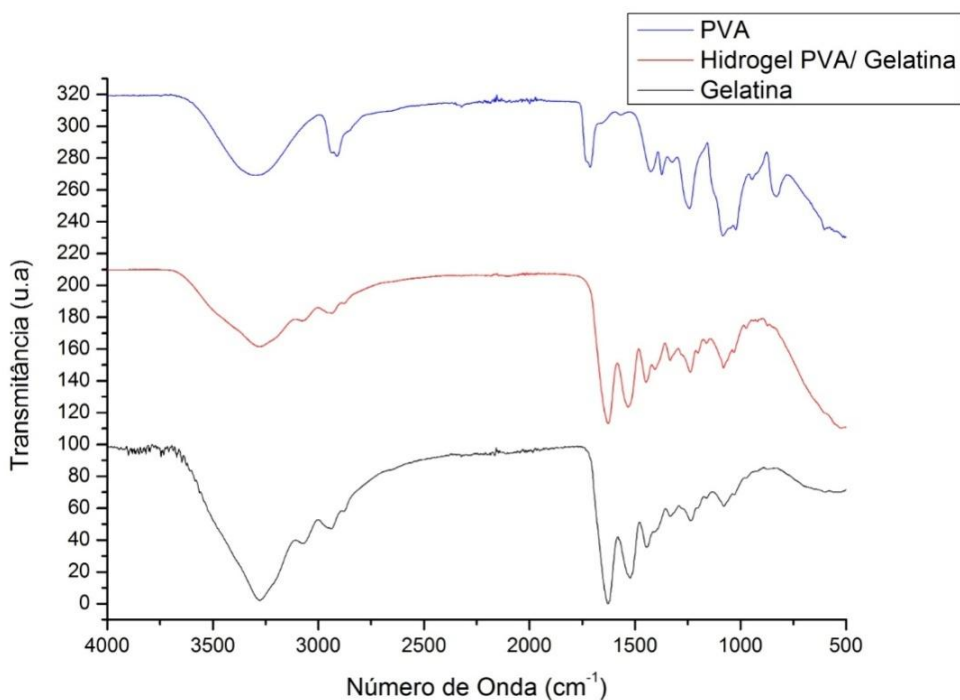
Fonte: Elaborado pela autora.

As Figuras 45 e 46 permitem a observação da cadeia tridimensional característica do hidrogel com a presença de meHAp e meHApClAlPc dispersas em sua superfície. As imagens do hidrogel de quitosana e laponita, enxertado com HAp para a produção de *scaffolds* produzido por Heragh e colaboradores (2021) mostram a superfície do hidrogel dispersa com a HAp e uma pequena alteração de sua rugosidade devido ao processo de encapsulamento.

### 5.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O hidrogel de PVA/Gelatina foi analisado por FTIR juntamente com os seus polímeros base: gelatina e PVA (Figura 47).

Figura 47: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da gelatina e do PVA



Fonte: Elaborado pela autora.

As atribuições de banda dos espectros de FTIR das amostras de gelatina, PVA e do hidrogel de PVA/Gelatina estão apresentadas na Tabela 12

Tabela 12: Atribuição de bandas de FTIR para as amostras de gelatina, PVA e hidrogel de PVA e gelatina

<b>Gelatina</b>		<b>PVA</b>		<b>Hidrogel</b>	
<b>Banda</b>	<b>Atribuição</b>	<b>Banda</b>	<b>Atribuição</b>	<b>Banda</b>	<b>Atribuição</b>
1025	Estiramento C-O	830	Deformação C-H (fora do plano)	1028	Estiramento C-O
1079	-----	943	Estiramento C-H	1081	Estiramento O-C-O
1236	Estiramento C-N e N-H (Amida III)	1020	Estiramento C-O	1234	Estiramento C-C
1329	Oscilação da cadeia lateral de prolina (aminoácido)	1083	Estiramento C-O	1328	Oscilação da cadeia lateral de prolina (aminoácido)
1446	Estiramento C-N	1242	Estiramento C-C	1400	Estiramento C-O-C
1522	Flexão N-H e Estiramento C-H (Amida I)	1326	Estiramento C-H	1447	Estiramento C-N
1636	Flexão C-O (Amida I)	1374	Estiramento C-O-C	1531	Flexão N-H e Estiramento C-H (Amida I)
2936	Estiramento C-H	1424	Flexão O-H	1626	Flexão C-O (Amida I)
3075	Estiramento C-H	1715	Estiramento C-O	2937	Estiramento C-H (assimétrico)
3288	Estiramento O-H	1734	Estiramento C-O	3059	Estiramento C-H
		2908	Estiramento C-H (simétrico)	3284	Estiramento O-H
	-----	2940	Estiramento C-H (assimétrico)	-----	-----
	-----	3299	Estiramento O-H	-----	-----

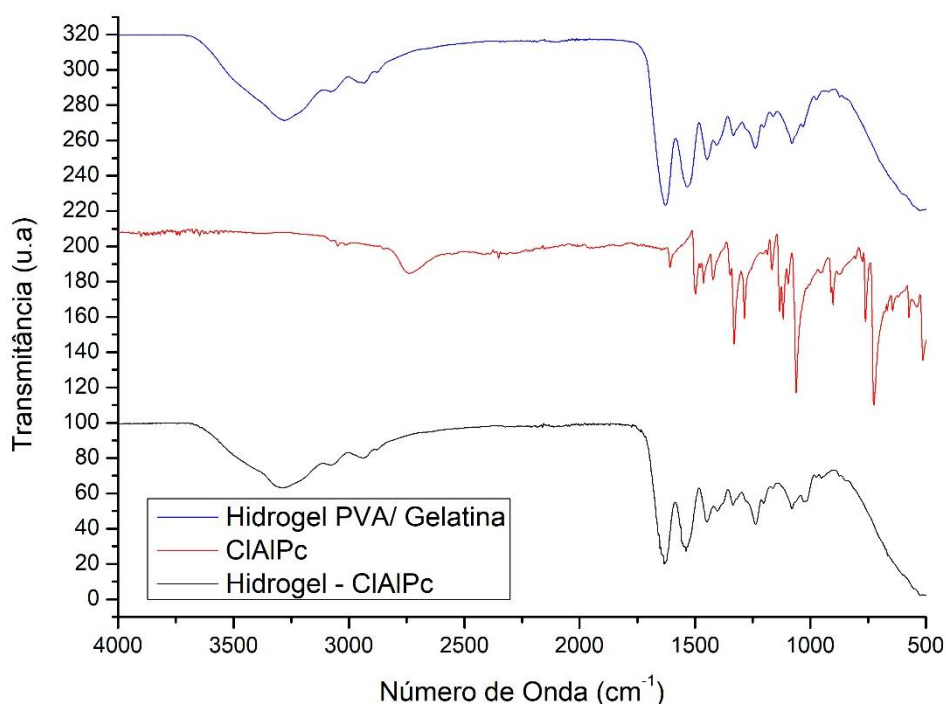
Fonte: Adaptado de Salaheldin e colaboradores (2017), Hassan e colaboradores (2021), Tsiopstias e colaboradores (2023), Kovtun e colaboradores (2024), Mohammed e colaboradores (2025) e Chi e colaboradores (2022).

Após a comparação dos picos referentes à Gelatina, PVA e do hidrogel observa-se que na amostra do sistema formado (hidrogel) não existe nenhuma nova banda, apenas as correspondentes a Gelatina e ao PVA.

Foram realizados também espectros comparativos referentes as amostras de hidrogel encapsuladas (Figuras 48, 49, 50). A partir das atribuições referentes as formulações meHAp, meHApCIAIPc, CIAIPc e do hidrogel (tabelas 4,5 e 12) foi realizada a atribuição referente as amostras de hidrogel encapsuladas (Tabela 13).

A Figura 48 permite a observação do processo de encapsulamento do hidrogel CIAIPc (via adsorção física), evidenciado por um alongamento na banda próxima a região de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , referente as vibrações do núcleo da CIAIPc.

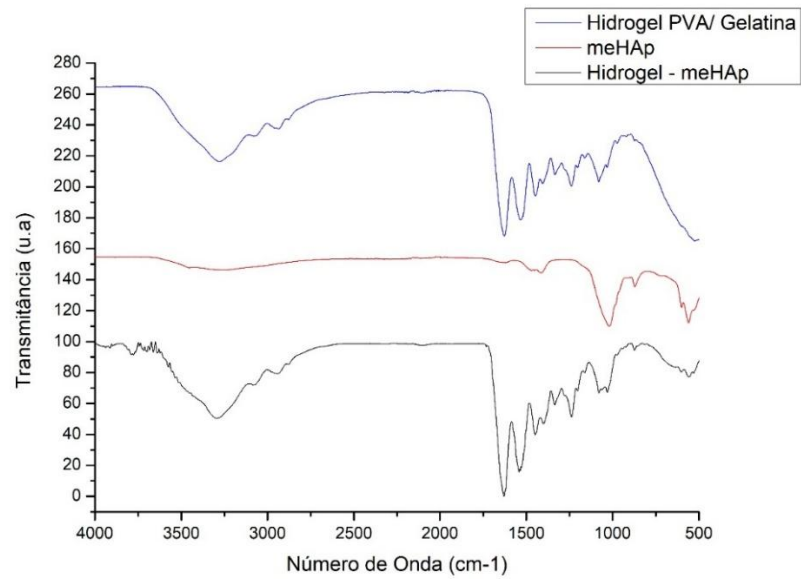
Figura 48: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da CIAIPc e do hidrogel CIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora

A figura 49 evidencia o encapsulamento das meHAp no hidrogel, também via adsorção física, evidenciado pelo surgimento de bandas referentes ao Estiramento C-O ( $872\text{ cm}^{-1}$ ) estiramento P-O ( $1029\text{ cm}^{-1}$ ) e a flexão P-O ( $511\text{ cm}^{-1}$ ).

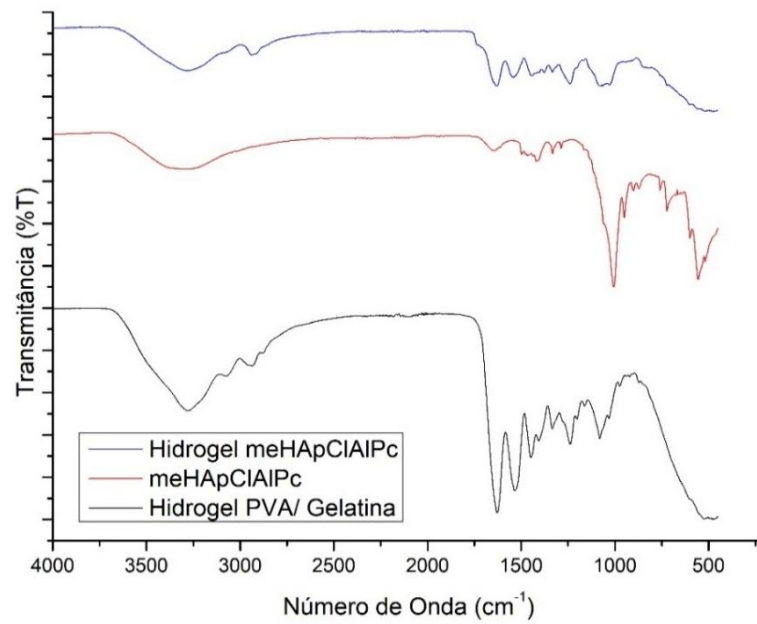
Figura 49: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, da meHAp e do hidrogel meHAp



Fonte: Elaborado pela autora

A figura 50 apresenta o processo de encapsulamento do hidrogel com as meHApClAlPc, realizado via adsorção física e evidenciado pelo alongamento na banda da região de  $1000\text{cm}^{-1}$  e pela presença das bandas referentes ao núcleo da ClAlPc ( $948\text{ cm}^{-1}$ ), e a presença do estiramento P-O ( $554\text{ cm}^{-1}$ ).

Figura 50: Espectro de FTIR das amostras do Hidrogel de PVA/Gelatina, das meHAp CIAIPc e do Hidrogel meHApCIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 13: Atribuições de bandas de FTIR para as amostras de hidrogel encapsuladas

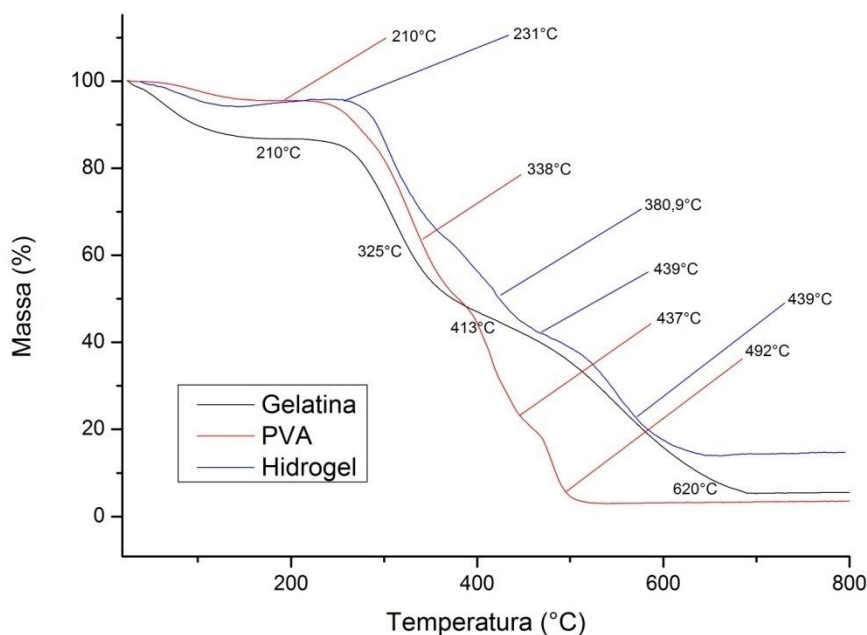
Hidrogel CIAIPc		Hidrogel meHAp		Hidrogel meHApCIAIPc	
Banda	Atribuição	Banda	Atribuição	Banda	Atribuição
874	Balanço núcleo AlPc	511	Flexão P-O	840	Balanço núcleo AlPc
955	Balanço núcleo AlPc	872	Estiramento C-O	1027	Estiramento C-O
973	Balanço núcleo AlPc	1029	Estiramento C-O/P-O	1065	Estiramento O-C-O
1019	Estiramento C-O	1079	Estiramento O-C-O	1080	Estiramento O-C-O
1083	Estiramento O-C-O	1235	Estiramento C-C	1237	Estiramento C-C
1237	Estiramento C-C	1332	Oscilação da cadeia lateral de prolina	1330	Oscilação da cadeia lateral de prolina
1334	Oscilação da cadeia lateral de prolina (aminoácido)	1398	Estiramento C-O-C	1448	Estiramento C-N
1400	Estiramento C-O-C	1448	Estiramento C-N	1543	Flexão N-H e Estiramento C-H (Amida I)
1538	Flexão N-H e Estiramento C-H (Amida I)	1541	Flexão N-H e Estiramento C-H (Amida I)	1632	Flexão C-O
2945	Estiramento C-H (assimétrico)	1624	Flexão C-O	3279	Estiramento O-H
3058	Estiramento O-H	2942	Estiramento C-H (assimétrico)	-----	-----
3277	Estiramento O-H	3071	Estiramento O-H	-----	-----
		3295	Estiramento O-H	-----	-----

Fonte: Adaptado de Salaheldin e colaboradores (2017), Hassan e colaboradores (2021), Tsiopstias e colaboradores (2023), Kovtun e colaboradores (2024), Mohammed e colaboradores (2025), Chi e colaboradores (2022), Longkaew e colaboradores (2023), Song e colaboradores (2021), Senarathna e colaboradores (2020) e Ye e colaboradores (2023), Wang, Yan e Chen (2021), Yao e colaboradores (2021) e Zubieta-Otero e colaboradores (2021)

### 5.2.3 Termogravimetria (TGA)

O hidrogel, juntamente com os seus polímeros formadores, foi analisado por termogravimetria (figura 51).

Figura 51: Termograma do hidrogel de PVA/Gelatina, da gelatina e do PVA



Fonte: Elaborado pela autora.

A análise do termograma permite identificar 5 regiões de perda de massa que podem ser separadas em dois grupos: o primeiro em 231°C, referente a remoção de água adsorvida no hidrogel e o segundo em 380,9°C; 439,0°C; 522,6°C e 797,6°C referente a degradação das cadeias de proteínas na molécula de gelatina e remoção do grupo OH na cadeia do PVA (Skopinska-Wisniewska; Tuszynska; Olewnik-Kruszkowska, 2021; Matar; Andac; Elmas, 2022; Zeeshan *et al.*, 2021; Campa-Siqueiros *et al.*, 2020).

A análise do termograma correspondente ao hidrogel de PVA/Gelatina permite a observação de 5 regiões de perda de massa: 231,0°C (referente a remoção de umidade do material); 380,9°C (referente a quebra aleatória das cadeias do PVA) e 439,0°C; 522,6°C e 797,6°C (correspondentes a degradação térmica completa da estrutura polimérica) (Hajibeygi; Moradi; Vahabi, 2024; Qiao *et al.*, 2024).

Além da análise do hidrogel foram obtidos termogramas referentes aos dois polímeros formadores do sistema: gelatina e PVA. O termograma correspondente a gelatina permite a observação de 4 regiões de perda de massa: 210,0 °C (referente a perda de umidade da amostra);

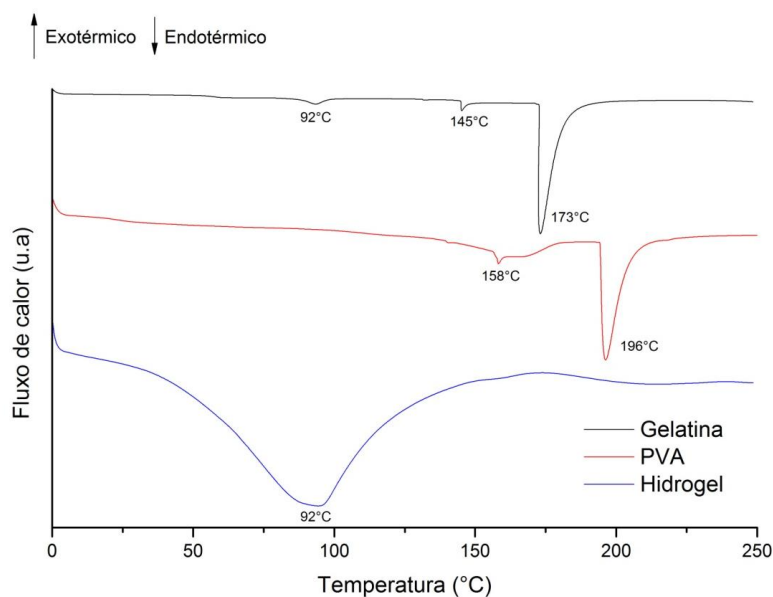
325,0°C (referente a decomposição térmica da gelatina); 413,0°C (correspondente a quebra completa das cadeias de proteínas) e 620,0°C (correspondente a degradação térmica completa da estrutura polimérica (Magli *et al.*, 2021; Choi *et al.*, 2025; Qiao *et al.*, 2024).

O termograma correspondente ao PVA apresenta 4 regiões de perda de massa: 210,0°C (referente a perda de umidade da amostra e a fusão das cadeias de PVA); 338,0°C (referente a degradação da estrutura do polímero); 437,0°C e 492,0°C (referentes aos processos finais da degradação térmica das cadeias) (Abd El-Mohdy; Aly, 2023; Bialik-Was *et al.*, 2021).

#### 5.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O hidrogel foi analisado por DSC (Figura 52).

Figura 52: DSC do hidrogel de PVA/ Gelatina, da Gelatina e do PVA



Fonte: Elaborado pela autora

O termograma correspondente a gelatina apresenta 3 picos endotérmicos em: 92°C (referente a mudança conformacional na cadeia polimérica, correspondente a transição de hélice para espiral); 145°C (referente a mudança de conformação das ligações peptídicas na gelatina) e 173°C (referente ao processo de fusão da cadeia). (Demircan; Mcclements; Velioglu, 2025; Ng; Hadinoto, 2024; Harrazi *et al.*, 2024).

O termograma correspondente ao PVA apresenta 2 picos endotérmicos em 158°C (atribuído ao relaxamento das ligações formadoras da cadeia do PVA) e 196°C (relacionado a

transição de fusão endotérmica, correspondente a temperatura total de degradação do PVA) (Mandal; Dasmahapatra, 2021; Moradinezhad; Hedayati; Ansarifard, 2023).

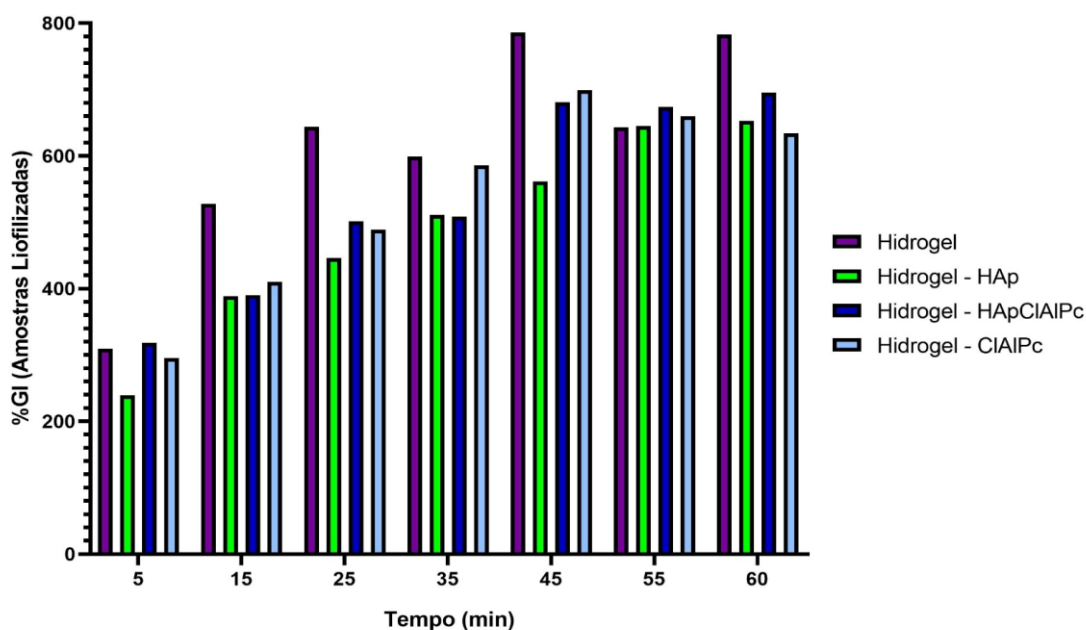
Já o termograma correspondente ao hidrogel apresenta apenas um evento endotérmico localizado em 92°C. O evento se localiza entre as temperaturas de transição vítrea da gelatina e do PVA, 90°C e 140°C, respectivamente. A diferença de região apresentada para os eventos endotérmicos com relação aos seus polímeros formadores se deve ao fato do processo de mistura das duas cadeias poliméricas, resultando em uma cadeia com maior potencial amorfo. (Mandal; Dasmahapatra, 2021; Tabassum; Pervaiz; Shoukat, 2022; Zulkiflee; Fauzi, 2021).

### 5.2.5 Grau de intumescimento (%GI)

Um sistema hidrogel pode apresentar intumescimento de até 1000x a sua massa, a propriedade é uma das mais importantes de um sistema, e é influenciada por alguns parâmetros como: comportamento hidrofílico ou hidrofóbico dos polímeros base, interações intermoleculares entre as cadeias do sistema, tamanho de poro da superfície e estrutura da cadeia (Feng; Wang, 2023; Jiang; Li; Han, 2023; Louf *et al.*, 2021). O equilíbrio atingido no processo de intumescimento de um sistema hidrogel se deve formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias alongadas no sistema (Lei *et al.*, 2021).

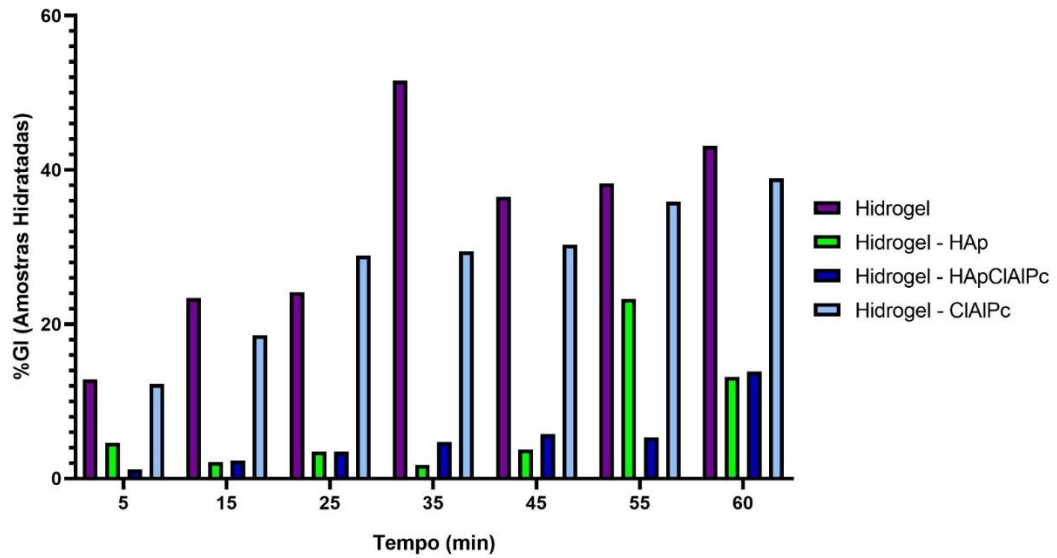
O hidrogel sintetizado foi caracterizado em dois grupos: hidratado e liofilizado (figura 53, 54 e Tabela 14)

Figura 53: Gráfico de intumescimento da amostra de hidrogel liofilizado



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 54: Gráfico de intumescimento da amostra de hidrogel hidratado



Fonte: Elaborado pela autora.

A capacidade de intumescimento da gelatina depende de qual a sua base e qual o tipo de tratamento empregado em sua formulação, que interferem em sua massa molecular e outras propriedades como ponto isoelétrico. Quanto ao PVA, o intumescimento é favorecido pela sua hidrofília do mesmo e por seu aumento na formulação do hidrogel a capacidade de intumescimento é diminuída (MICHELINI *et al.*, 2020; Asy-Syifa *et al.*, 2022).

Tabela 14:% GI médio do Hidrogel PVA/Gelatina

<b>Amostras Hidratadas</b>				
<b>Tempo (min)</b>	<b>Hidrogel PVA/Gelatina</b>	<b>Hidrogel CIAIPc</b>	<b>Hidrogel meHAp</b>	<b>Hidrogel meHApCIAIPc</b>
5	12,83167	12,23649	4,646313	1,146755
15	23,3798	18,57166	2,156542	2,283167
25	24,13202	28,92358	3,485054	3,498299
35	51,56683	29,47164	1,744452	4,751144
45	36,52299	30,29821	3,769819	5,736787
55	38,24996	35,89532	23,26265	5,326067
60	43,15214	38,93713	13,18066	13,89055
<b>Amostras Liofilizadas</b>				
<b>Tempo (min)</b>	<b>Hidrogel PVA/Gelatina</b>	<b>Hidrogel CIAIPc</b>	<b>Hidrogel meHAp</b>	<b>Hidrogel meHApCIAIPc</b>
5	309,2045	295,5129	239,5377	318,1137
15	528,0345	410,4479	388,7497	390,3015
25	644,0845	488,6414	446,0647	501,6864
35	598,9107	585,7137	511,0384	508,7732
45	786,116	699,1674	561,4883	681,058
55	643,4959	660,0494	645,2094	674,0861
60	783,0093	633,9742	652,9872	695,2747

Fonte: Elaborada pela autora

O hidrogel de PVA/Gelatina sintetizado apresentou grau de intumescimento médio de 32,8% em sua forma hidratada e 613,3% em sua forma liofilizada. O processo de intumescimento ocorre devido à diferença de concentrações entre o solvente utilizado e o hidrogel, a pressão osmótica é a força responsável pelo mesmo (Bayat; Baghani, 2021).

No início da ocorrência do fenômeno as moléculas de água atuam se ligando a grupos funcionais polares na superfície do polímero (recebe o nome de água ligada) e em sequência ocorre a ligação com as moléculas de água ligada (água intermediária) (Vigata *et al.*, 2021).

Utilizando PVA e gelatina de pele de peixe na formulação do hidrogel Ren e colaboradores (2020) obtiveram capacidade de intumescimento de aproximadamente 20% na primeira hora de teste.

A formulação de hidrogel encapsulada com CIAIPc apresentou um grau médio de intumescimento de 539,07% na forma liofilizada e 27,76% na forma hidratada. A formulação encapsulada com meHApCIAIPc apresentou um grau médio de intumescimento de 538,47% em sua forma liofilizada e 5,23% em sua forma hidratada. A formulação encapsulada com

apenas com as meHAp apresentou um grau médio de intumescimento de 492,16% em sua forma liofilizada e 7,46% em sua forma hidratada.

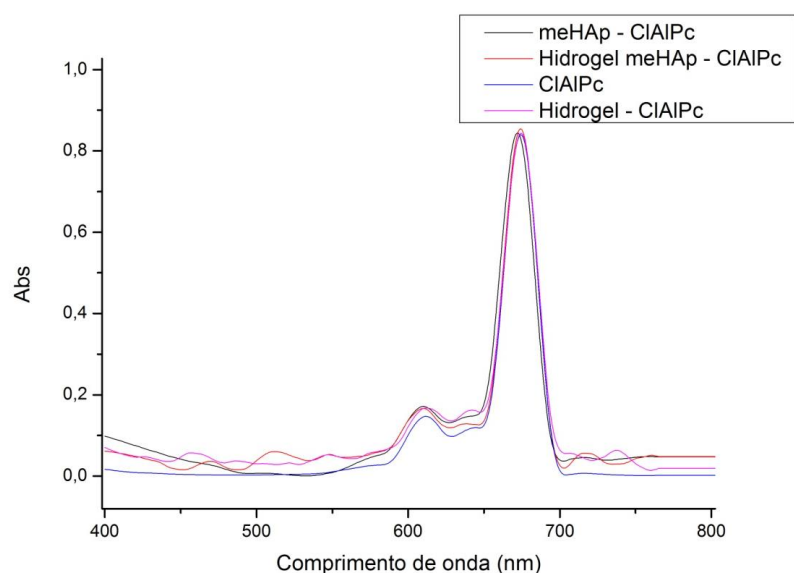
Comparando as amostras na presença e na ausência das meHAp observa-se que as formulações onde o material cerâmico está presente apresentam valores de %GI menores, uma vez que, a meHAp atua como um reforço na estrutura do hidrogel, impedindo a expansão necessária para a ocorrência do processo de intumescimento (Sharika; Mohanan, 2021).

Na comparação entre as duas formulações de hidrogel contendo as meHAp (vazia e encapsulada), nota-se que a formulação encapsulada apresenta menor capacidade de intumescimento, uma vez que o espaço disponível na cadeia é menor com a presença da CIAIPc.

### 5.2.6 Estudos espectroscópicos no ultravioleta visível (UV-VÍS)

Todas as formulações de hidrogel encapsuladas com CIAIPc e a CIAIPc em sua forma isolada foram avaliadas por meio de espectroscopia no UV-Vís (Figura 55).

Figura 55: Espectro de Uv-Vís das amostras de hidrogel contendo CIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora.

Como já descrito anteriormente, a CIAIPc em sua forma isolada apresentou absorbância máxima de 674 nm (característica da banda Q), a meHApCIAIPc apresentou absorbância máxima de 672 nm, o hidrogel CIAIPc apresentou absorbância máxima de 674 nm e o hidrogel meHApCIAIPc apresentou absorbância máxima de 674 nm. Assim como nos resultados

apresentados por Beton-Mysur colaboradores (2025) as amostras contendo CIAIPc apresentam duas absorvâncias correspondentes a banda Q, uma de menor intensidade na região de 610 nm (baixa intensidade) e outra na região de 674 nm (alta intensidade).

De acordo com Mariño-Ocampo e colaboradores (2023), algumas propriedades dos FS podem ser benéficas aos tratamentos utilizando a TFD, são elas: alta geração de ROS, fotoestabilidade e absorção em comprimento de onda elevado (apresentada por todas as formulações sintetizadas) e que favorece a penetração da luz e a efetividade do tratamento.

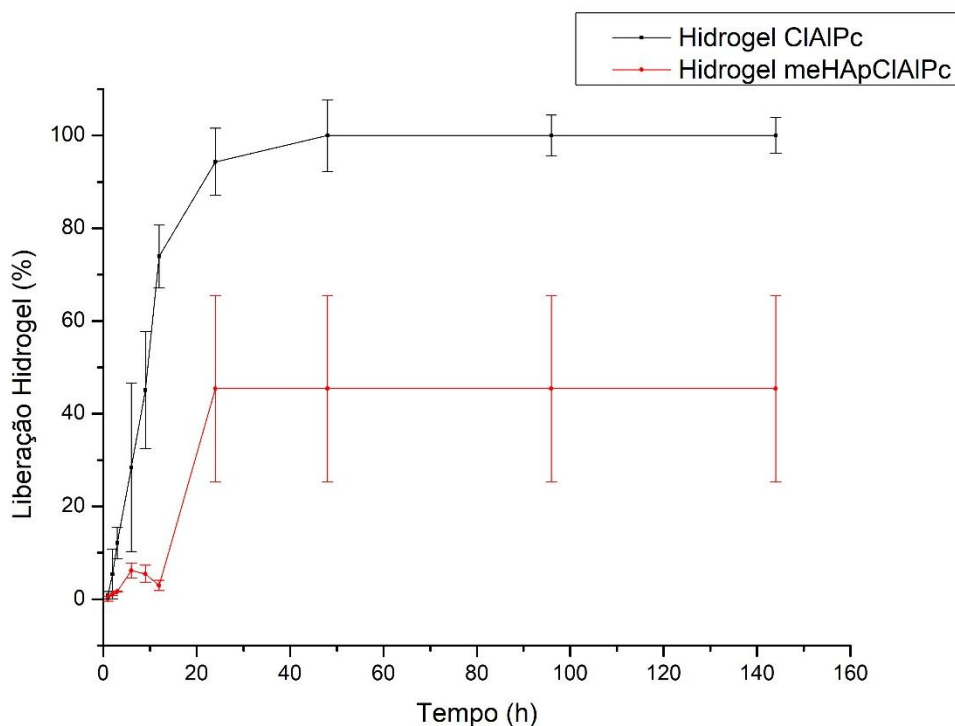
A partir da observação da figura 55 constata-se que nenhum dos processos de encapsulamento (tanto na formulação de hidrogel quanto na formulação das meHAp alterou as propriedades espectrais da CIAIPc). Em sistemas encapsulados por meio da dissolução do PS ou no sistema nanoparticulado, deve-se observar os impactos da cadeia polimérica utilizada nas propriedades físico-químicas do FS, sua eficiência de encapsulamento e liberação (Costa; Figueiro; Ferreira, 2022). A alteração do perfil espectral do PS devida ao processo de encapsulamento é o reflexo de processos de agregação do PS, que leva a redução de absorvância, diminuição do tempo de vida do estado triplete e queda dos rendimentos de fluorescência, ambos processos negativos para a eficiência da TFD.

A espectroscopia no ultravioleta visível também foi utilizada para avaliação da EEh nas duas formulações de hidrogel contendo FS (hidrogel CIAIPc e hidrogel meHApCIAIPc), resultando em EEh de 98,64% (hidrogel de CIAIPc) e 99,99% (hidrogel de meHApCIAIPc). Embora o processo consista apenas em mistura, devido à agitação mecânica, em alguns casos podem permanecer frações não dissolvidas após o processo de gelificação. De acordo com o estudo realizado por Sarmah e colaboradores (2023) a quantidade de FS carregada no sistema pode acarretar perdas na eficiência do processo de encapsulamento, neste estudo obteve-se EE de 86,87% utilizando como base um hidrogel de amido e ágar carregado com cloridrato de ciprofloxacina hidratado.

### **5.2.7 Estudo de liberação do hidrogel**

O estudo de liberação (Figura 56) foi realizado para comparar a liberação mediada pelo hidrogel CIAIPc em comparação com o hidrogel meHApCIAIPc

Figura 56: Gráfico de acompanhamento da liberação de CIAIPc das amostras de hidrogel



Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com os perfis apresentados pelos dois sistemas, observa-se que o sistema hidrogel contendo apenas a CIAIPc apresenta maior taxa de liberação ( $94,32 \pm 7,03$  %) enquanto o sistema contendo meHApCIAIPc apresenta taxa de liberação de  $45,6 \pm 8,59$  %.

Sabe-se que a liberação de um sistema hidrogel pode ser mediada por 3 principais fatores: difusão, intumescimento e erosão, sendo que nestes sistemas é mais provável que tenha ocorrido uma mescla entre o processo de difusão e de erosão, visto que ao final do tempo de estudo a amostra de hidrogel se desfez (Lu, 2024).

A diferença entre os valores de liberação apresentados pelo hidrogel contendo a CIAIPc se devem ao fato de que o sistema apresenta uma dupla camada de encapsulamento, uma vez que a CIAIPc está inicialmente inserida nas meHAp e este sistema se encontra retido na cadeia do hidrogel. Wang e colaboradores (2024) apresentam a discussão de que muitas vezes a cadeia polimérica de um hidrogel não apresenta propriedades mecânicas necessárias para mimetizar os tecidos naturais do corpo humano, sendo necessária a aplicação de um material cerâmico como reforço a esta cadeia (Wang *et al.*, 2024).

Porém, assim como nos resultados de intumescimento apresentados no item 5.2.5 observa-se que a presença das meHAp como reforço na cadeia do hidrogel de PVA/Gelatina

resulta em diminuição da mobilidade necessária para o processo de intumescimento e consequentemente de liberação da CIAIPc.

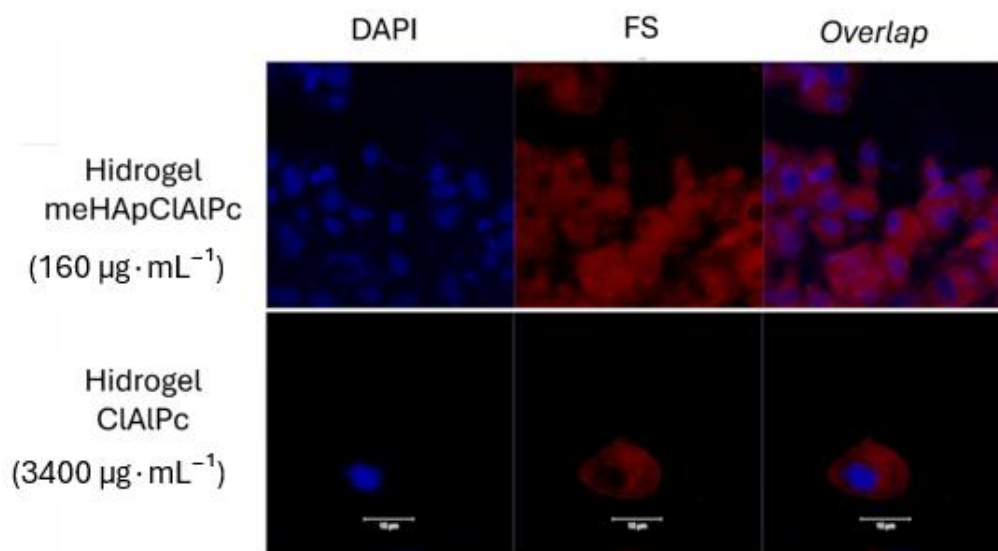
## 5.2.8 Estudos *in vitro* em cepas de gliosarcoma

As amostras de hidrogel foram avaliadas quanto a sua internalização e quanto a viabilidade celular utilizando cepas de gliosarcoma 9L/LacZ

### 5.2.8.1 Internalização celular

A figura 57 apresenta a internalização do composto observada após 30 min de incubação com as células de gliosarcoma, em ambas as concentrações testadas.

Figura 57: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o sistema hidrogel no interior da célula de gliosarcoma, após uma hora de incubação para as duas amostras de hidrogel contendo CIAIPc



Fonte: Elaborado pela autora

A formulação de hidrogel meHApCIAIPc apresentou níveis de internalização inferiores quando comparada à formulação de hidrogel CIAIPc, devido à sua composição e à disposição das microesferas de hidroxiapatita na superfície do hidrogel. De acordo com Cheng e colaboradores (2022), uma das alternativas para a administração direta de hidrogel, combinada

com TFD, é o uso de hidrogel na forma injetável, que teria de ser realizada antes da completa gelificação do material.

De acordo com Sulaiman e colaboradores (2020) uma das alternativas para a administração de DDS em tratamentos de tumores cerebrais é a injeção *in situ* de hidrogéis contendo sistemas nanoparticulados, facilitada pela estrutura nanométrica dos mesmos, neste estudo foi realizada uma injeção do medicamento lauroil-gemcitabina carregado em nanocápsulas lipídicas associado a um hidrogel, também para tratamento de gliosarcoma.

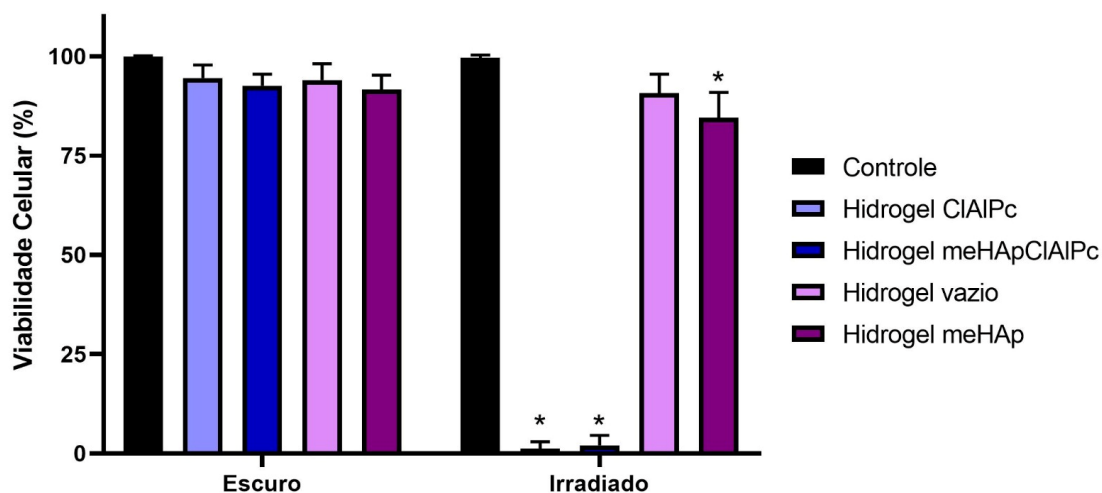
#### **5.2.8.2 *Análise da viabilidade celular com teste de exclusão com azul de tripan***

Por meio dos gráficos (figura 58), é possível observar que nos grupos TFD nas concentrações testadas, houve redução da viabilidade celular de 98,79% para o hidrogel CIAIPc e 97,94% para o hidrogel contendo meHApCIAIPc. Esses dados reforçam que a ação citotóxica observada está diretamente relacionada à ativação do FS pela luz, induzindo a geração de ROS, responsáveis por danos oxidativos irreversíveis em estruturas como membranas, mitocôndrias e DNA. Além disso, quando comparadas as concentrações testadas, o hidrogel meHApCIAIPc ( $160 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) apresenta concentração de FS 20x menor que a concentração do hidrogel CIAIPc ( $3400 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), apresentando potencial de redução na viabilidade muito semelhante a apresentada pelo hidrogel contendo apenas o FS, comprovando a maximização do efeito fotodinâmico devida à presença das microesferas com mensurável redução da concentração utilizada.

A expressiva redução na dosagem terapêutica (superior a 95% em comparação a formulação somente com o fotossensibilizador) evidencia o papel sinérgico das microesferas de hidroxiapatita. Além de otimizar a terapia fotodinâmica contra sistemas neoplásicos, essa diminuição drástica na concentração minimiza riscos de toxicidade sistêmica e efeitos colaterais indesejados, superando limitações críticas das terapias convencionais

Já nos grupos escuros (hidrogel vazio e hidrogel meHAp) a redução da viabilidade para as duas concentrações foi menor que 10%, demonstrando que de maneira isolada do FS e dos processos de irradiação os mesmos não oferecem danos significativos as células.

Figura 58: Análise da viabilidade de gliossarcoma 24 horas após a TFD. É apresentado o gráfico do grupo escuro e irradiado tanto com o FS – hidrogel, quanto do hidrogel vazio. As diferenças estáticas foram obtidas pela análise de variância (ANOVA =  $p \leq 0$  e estão assinaladas com símbolos: (\*# •) para comparação dos grupos.



Fonte: Elaborado pela autora.

Em relação à presença de hidroxiapatita (testada tanto no grupo controle vazio quanto no grupo carregado com meHAp), Sarita e colaboradores (2024) demonstraram, por meio de testes com brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), que as formulações de hidrogel de quitosana, hidroxiapatita e ácido hialurônico eram biocompatíveis e não tóxicas para culturas de macrófagos J774. Park e colaboradores (2022) testaram nanopartículas de hidroxiapatita de manganês dopadas com amônia para o tratamento de células MDA-MB-231 (câncer de mama triplo-negativo) e obtiveram uma redução de 10% na viabilidade celular na concentração de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e uma redução de 17% na viabilidade na concentração de  $250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Utilizando um nanogel não polimérico à base de tolueno e carregado com Rosa de Bengala e hipericina, Torres-Martínez e colaboradores (2022) obtiveram uma redução de aproximadamente 80% na viabilidade celular usando células HT-29 (adenocarcinoma colorretal).

A modalidade de tratamento combinado é uma alternativa a ser considerada, uma vez que, de acordo com Pesce e colaboradores (2025) a ressecção cirúrgica do gliossarcoma é dificultada pois o tumor apresenta altas taxas de infiltração e o processo cirúrgico presa por não afetar as funções neurológicas circundantes. Cerca de 80% dos casos cirúrgicos apresentar reincidência por este motivo, que pode ser evitado com a aplicação do protocolo de TFD pós cirurgia.

No contexto do gliossarcoma e do glioma, o uso de hidrogéis injetáveis como reservatórios locais para a terapia fotodinâmica (TFD) encontra-se em estágio pré-clínico, com resultados promissores observados em modelos experimentais, especialmente no cenário pós-ressecção tumoral. Essa estratégia visa o preenchimento da cavidade cirúrgica com um hidrogel capaz de promover a liberação sustentada do fotossensibilizador, isoladamente ou em associação com outros fármacos, aumentando a concentração local do agente terapêutico e reduzindo a toxicidade sistêmica (Cao *et al.*, 2022; Gierlich *et al.*, 2023; Gan *et al.*, 2023).

Em tumores cerebrais, essa abordagem apresenta vantagens relevantes, incluindo elevada retenção local do fármaco, contorno parcial das limitações impostas pela barreira hematoencefálica e a possibilidade de múltiplas sessões de irradiação a partir de uma única aplicação do hidrogel (Li *et al.*, 2023; Xiao *et al.*, 2021; Meng *et al.*, 2019).

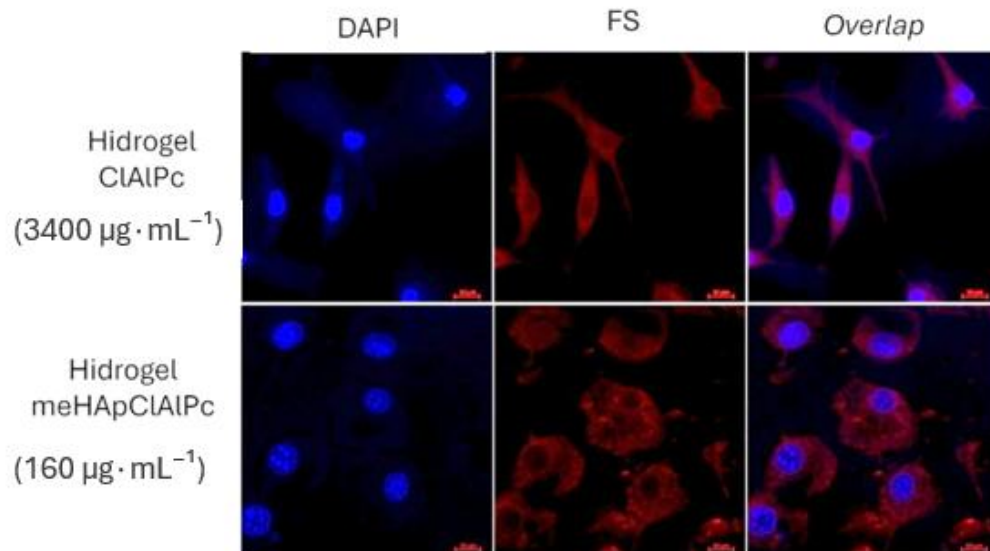
### **5.2.9 Estudos *in vitro* em cepas de melanoma**

As amostras de hidrogel foram avaliadas também em células de melanoma, quanto a sua internalização e viabilidade celular.

#### **5.2.9.1 *Internalização celular***

A figura 59 apresenta a internalização celular apresentada pelas amostras de hidrogel após 1h de incubação.

Figura 59: Imagem capturada com microscópio confocal de varredura mostrando o sistema hidrogel no interior da célula de melanoma, após uma hora de incubação para as duas amostras de hidrogel contendo CIAIPc.



Fonte: Elaborado pela autora

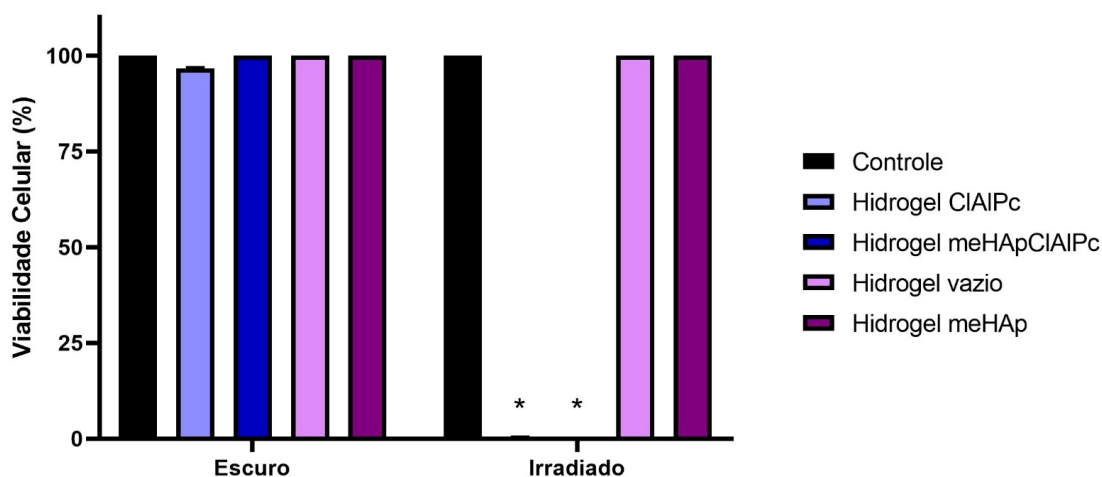
A figura comprova a internalização dos grupos de hidrogel sintetizados em células de melanoma, indicando a potencialidade do sistema também para tratamento tópico. Muitas vezes o uso de sistemas de liberação envolve o transporte de substâncias por longas distancias no organismo, e uma das alternativas aos obstáculos como mudança de pH, flora intestinal etc é o uso de um sistema transdérmico. De acordo com Obalola e colaboradores (2025) podem ser utilizados como sistemas transdérmico: curativos, técnicas envolvendo microagulhamento de hidrogel, géis e pomadas e *spray*.

De acordo com Xu e colaboradores (2022) a taxa de internalização de sistemas nanoparticulados por parte de células altamente malignas como o melanoma cutâneo é maior do que a apresentada por células saudáveis. Os autores destacam também que no caso das formulações contendo hidroxiapatita o processo de internalização ocorre preferencialmente por endocitose.

### 5.2.9.2 Análise da viabilidade celular com teste de exclusão com azul de tripan

A figura 60 apresenta o resultado da viabilidade celular da linhagem SK-MEL-28 após exposição aos diferentes tratamentos experimentais, expressa em porcentagem em relação ao grupo controle.

Figura 60: Viabilidade de células SK-MEL-28 após tratamento com os compostos, avaliados nas condições escuro e irradiado. Os resultados são expressos como porcentagem de viabilidade celular em relação ao grupo controle. As diferenças estáticas foram obtidas pela análise de variância (ANOVA =  $p \leq 0,05$ ) e estão assinaladas com símbolos: (\*) para comparação dos grupos.



Fonte: Elaborado pela autora

O controle negativo manteve viabilidade próxima a 100%, confirmando condições adequadas de cultivo e servindo como referência para comparação entre os grupos. Os tratamentos contendo os quatro grupos de hidrogel apresentaram viabilidade celular próxima a do grupo controle (acima de 95%).

Esses resultados indicam que os grupos analisados não apresentaram efeito citotóxico significativo sobre as células SK-MEL-28 nas condições testadas, indicando boa biocompatibilidade das formulações no escuro.

As formulações de hidrogel vazias (hidrogel vazio e hidrogel meHAp) apresentaram viabilidade próxima de 100% quando expostas a irradiação com LED, demonstrando que apenas a exposição ao sistema ou a exposição a fonte de luz não foi prejudicial as células, demonstrando segurança na ausência da irradiação.

Por outro lado, quando analisadas as formulações contendo FS (hidrogel ClAlPc e hidrogel meHApClAlPc) apresentaram elevada redução na viabilidade celular quando expostos a irradiação, o hidrogel ClAlPc apresentou redução aproximada de 96,96% na viabilidade e o hidrogel meHApClAlPc apresentou redução de 100%, evidenciando efeito citotóxico e ativação fotodinâmica da ClAlPc. Assim como nos resultados apresentados no item 5.2.8.2 foi confirmado a maximização do potencial fotodinâmico com a presença das microesferas no sistema hidrogel, com o emprego de uma formulação de concentração 20x menor que a formulação base, que contém apenas o FS.

No que diz respeito às formulações contendo as meHAp, Tang e colaboradores (2014) relatam que tais formulações apresentam propriedades antitumorais tanto *in vitro* como *in vivo*, e que apresentam capacidade de inibição de diversos tipos de câncer, como: melanoma, glioma, câncer de mama e de cólon.

Importante destacar que os grupos correspondentes aos carreadores vazios irradiados (ClAlPc - livre + LED e meHApClAlPc-vazio + LED) mantiveram viabilidade elevada, semelhante ao controle, indicando ausência de citotoxicidade, confirmando a especificidade e o controle espacial do efeito fotodinâmico, reforçando o potencial das formulações baseadas em sistemas contendo a ClAlPc para aplicações terapêuticas direcionadas.

Araújo e colaboradores (2023) obtiveram redução de até 50% aplicando protocolos de irradiação de um hidrogel de quitosana e poloxâmero 407 contendo clorofila A no tratamento de uma linhagem celular de melanoma murino B16-F10. Tratando o mesmo grupo celular Yang e colaboradores (2023) obtiveram redução de aproximadamente 59% na viabilidade celular utilizando hidrogel bioativo de melitina-RADA<sub>32</sub> (vacina bioativa).

A terapia fotodinâmica (TFD) encontra-se bem estabelecida no tratamento de cânceres de pele não melanoma; entretanto, sua aplicação no melanoma permanece majoritariamente experimental, sendo investigada sobretudo como estratégia adjuvante ou em modelos pré-clínicos. Um dos principais desafios para a eficácia da TFD nesse contexto é a presença da melanina, que compete com o fotossensibilizador pela absorção da luz e exerce ação antioxidante (Udrea *et al.*, 2023; Akasov *et al.*, 2019; Bâldea *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

No melanoma, a melanina reduz a disponibilidade de luz para ativação do fotossensibilizador e neutraliza espécies reativas de oxigênio (EROs), além de o tumor apresentar mecanismos adicionais de defesa oxidativa e alterações nas vias apoptóticas, o que limita a eficácia da TFD convencional (Udrea *et al.*, 2023; Akasov *et al.*, 2019; Bâldea *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

Nesse cenário, o uso de hidrogéis na TFD para melanoma tem sido proposto como estratégia para contornar limitações clássicas, como a baixa solubilidade e estabilidade dos fotossensibilizadores, a hipóxia tumoral e a toxicidade sistêmica. Até o momento, as evidências disponíveis derivam predominantemente de estudos *in vitro* e de modelos murinos (Udrea *et al.*, 2023; Akasov *et al.*, 2019; Bâldea *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

## 6 CONCLUSÃO

A semelhança da hidroxiapatita com o tecido ósseo humano faz com que as formulações apresentem biocompatibilidade, uma característica desejável para sistemas de liberação modificada utilizados para diversas aplicações.

As meHAp sintetizadas a partir de *templates* de vaterita apresentaram morfologia esférica, picos característicos no FTIR e RAMAN e comportamento térmico e calorimétrico de acordo com a literatura. Quando encapsuladas com a CIAIPc o perfil espectral do composto não foi alterado, e a eficiência de encapsulamento obtida foi de 57,8%. A partir dos resultados dos estudos *in vitro* observou-se o acúmulo do sistema meHApCIAIPc no núcleo das células de gliosarcoma 9l/lacZ bem como a redução de sua viabilidade celular em 98%.

A versatilidade dos sistemas hidrogel e a sua capacidade de intumescimento e carregamento potencializam o seu uso como sistema de liberação modificada de fármacos.

O hidrogel de PVA/Gelatina sintetizado apresentou morfologia organizada em rede tridimensional e todos os picos característicos de seus polímeros base no FTIR. O comportamento térmico da amostra de hidrogel segue o modelo de seus polímeros base. As amostras tanto liofilizadas quanto hidratadas apresentaram capacidades de intumescimento de acordo com o descrito pela literatura. Os espectros de FTIR confirmam as mudanças estruturais características dos processos de encapsulamento do hidrogel com todas as formulações com base nas meHAp. Os estudos no UV-Vis apontam que não houve alterações espectrais na CIAIPc e na meHApCIAIPc após o encapsulamento no hidrogel. Os estudos de liberação do hidrogel apontaram capacidade de liberação maior no hidrogel CIAIPc (94,32 %) do que no hidrogel meHApCIAIPc (45,70%). Os estudos *in vitro* em gliosarcoma levaram a redução de 98,97% e 97,94% e em testes utilizando melanoma foram identificadas reduções de 96,96% para o hidrogel CIAIPc e de 100% para o hidrogel meHApCIAIPc.

Conclui-se que o hidrogel composto por microesferas de hidroxiapatita atua como um sistema de entrega de alta performance, viabilizando o efeito fotodinâmico com uma concentração 20 vezes menor do que as formulações padrão. Este desempenho sugere que a matriz híbrida promove uma dispersão mais eficiente ou uma proteção superior do agente fotossensibilizador, sendo uma estratégia promissora para o manejo de tumores e se destacando com um sistema inovador para a área de engenharia biomédica.

## 7 PRODUÇÃO ACADÊMICA

Com os resultados obtidos no doutorado (2022-2026) foram apresentados nove trabalhos, sendo quatro no Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia: “Síntese e caracterização de nanoesferas de hidroxiapatita como base para um sistema de liberação controlada” (III CDNB) (ANEXO A), “Hidrogel de gelatina e PVA como sistema de liberação modificada de fármacos” (IV CDNB) (ANEXO B), “Hidrogel de PVA - gelatina encapsulado com Cloro Alumínio Ftalocianina para uso como sistema de liberação modificada” (V CDNB) (ANEXO C) e “Sistema hidrogel de blenda polimérica contendo microesferas de hidroxiapatita: um estudo de intumescimento” (VI CDNB) (ANEXO D). Quatro trabalhos no Simpósio de Engenharia Biomédica do Vale do Paraíba (SEBVAP): “Microesferas de hidroxiapatita encapsuladas com ftalocianina como sistema de liberação modificada de fármacos” (I SEBVAP) (ANEXO E), “Microesferas de hidroxiapatita incorporadas em hidrogel de blenda polimérica como template para um sistema de liberação modificada” (II SEBVAP – trabalho premiado em primeiro lugar) (ANEXO F-G), “Caracterização de hidrogel fotossensível de blenda polimérica para aplicação na área biomédica” (III SEBVAP - trabalho premiado como um dos melhores do evento) (ANEXO H-I) e “Hidrogel de blenda polimérica contendo fotossensibilizador para uso como sistema de liberação modificada na área de engenharia biomédica” (IV SEBVAP) (ANEXO J). Durante o 2º Congresso Científico Tecnológico, realizado durante o 3º Science & Business Connection foi apresentado o trabalho “Análise termogravimétrica e morfológica de um sistema hidrogel de blenda polimérica para aplicação na área de engenharia biomédica” (ANEXO K). Como parte das exigências do regimento do programa para a obtenção do título de doutora foi publicado um artigo acadêmico *Hydroxyapatite microspheres used as a drug delivery system for gliosarcoma strain 9/Lacz treatment by photodynamic therapy protocols* na revista *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (ANEXO L), o segundo artigo “Hydrogel encapsulated with photosensitive hydroxyapatite microspheres for application in the biomedical engineering area” foi submetido na revista *Biomaterials Advances*. Também foi publicado um artigo técnico intitulado “Uso de *template* de vaterita na síntese de microesferas de hidroxiapatita por método hidrotérmico” na Revista Técnica de Cerâmica e Vidro” (ANEXO M).

## REFERÊNCIAS

ABD EL-MOHDY, H. L.; ALY, H. M. Characterization, Properties and Antimicrobial Activity of Radiation Induced Phosphorus-Containing PVA Hydrogels. **Arabian Journal for Science and Engineering**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 341–351, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13369-022-07031-w>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13369-022-07031-w>.

ADELNIA, H.; ENSANDOOST, R.; SHEBBRIN MOONSHI, S.; GAVGANI, J. N.; VASAFI, E. I.; TA, H. T. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 164, p. 110974, fev. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110974>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305721007084>.

AFIFY, S. M.; SENO, M. Conversion of Stem Cells to Cancer Stem Cells: Undercurrent of Cancer Initiation. **Cancers**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 345, 11 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11030345>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/3/345>.

AGHDAM, A. H.; ARAGHI, M. E. A.; VATANPOUR, V. Tuning the band gap of the graphene oxide-chloro aluminum phthalocyanine nanocomposite by reducing the rate of graphene oxide. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, [S. l.], v. 115, p. 113636, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physe.2019.113636>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386947719306733>.

AKASOV, R. A.; SHOLINA, N. V.; KHOCHENKOV, D. A.; ALOVA, A. V.; GORELKIN, P. V.; EROFEEV, A. S.; GENERALOVA, A. N.; KHAYDUKOV, E. V. Photodynamic therapy of melanoma by blue-light photoactivation of flavin mononucleotide. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 9679, 4 jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46115-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-46115-w>.

ALGORRI, J. F.; OCHOA, M.; ROLDÁN-VARONA, P.; RODRÍGUEZ-COBO, L.; LÓPEZ-HIGUERA, J. M. Photodynamic Therapy: A Compendium of Latest Reviews. **Cancers**, [S. l.], v. 13, n. 17, p. 4447, 3 set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13174447>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/17/4447>.

ALIPAL, J.; MOHD PU'AD, N. A. S.; LEE, T. C.; NAYAN, N. H. M.; SAHARI, N.; BASRI, H.; IDRIS, M. I.; ABDULLAH, H. Z. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. **Materials Today: Proceedings**, [S. l.], v. 42, p. 240–250, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785320406406>.

ALMEIDA, R. M. S.; FONTANA, L. C.; VITORIO, G. S.; PEREIRA, A. H. C.; SOARES, C. P.; PINTO, J. G.; FERREIRA-STRIXINO, J. Analysis of the effect of photodynamic therapy with Fotoenticine on gliosarcoma cells. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 30, p. 101685, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101685>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100020300387>.

ALSHARIF, S. A.; BADRAN, M. I.; MOUSTAFA, M. H.; MESHREF, R. A.; MOHAMED, E. I. Hydrothermal extraction and physicochemical characterization of biogenic hydroxyapatite nanoparticles from buffalo waste bones for in vivo xenograft in experimental rats. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 17490, 15 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43989-9>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-43989-9>.

ANTINA, L. A.; RAVCHEEVA, E. A.; DOGADAEVA, S. A.; KALYAGIN, A. A.; KSENOFONTOV, A. A.; BOCHAROV, P. S.; LODOCHNIKOVA, O. A.; ISLAMOV, D. R.; BEREZIN, M. B.; ANTINA, E. V. A novel bis( $\beta$ -Br-BODIPY) photosensitizer and its nanoscale delivery systems based on polymer micelles and zeolite-like MOFs. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [S. l.], v. 449, p. 115370, abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2023.115370>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603023008353>.

ARAÚJO, J. L.; SILVA, P. B. da; FONSECA-SANTOS, B.; BÁO, S. N.; CHORILLI, M.; SOUZA, P. E. N.; MUEHLMANN, L. A.; AZEVEDO, R. B. Photodynamic Therapy Directed to Melanoma Skin Cancer by Thermosensitive Hydrogel Containing Chlorophyll A. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 16, n. 12, p. 1659-1674, 29 nov. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/ph16121659>.

ASAD, M. I.; KHAN, D.; REHMAN, A. U.; ELAISSARI, A.; AHMED, N. Development and In Vitro/In Vivo Evaluation of pH-Sensitive Polymeric Nanoparticles Loaded Hydrogel for the Management of Psoriasis. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 11, n. 12, p. 3433, 17 dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11123433>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/11/12/3433>.

ASSARAF, Y. G.; BROZOVIC, A.; GONÇALVES, A. C.; JURKOVICOVA, D.; LINĚ, A.; MACHUQUEIRO, M.; SAPONARA, S.; SARMENTO-RIBEIRO, A. B.; XAVIER, C. P. R.; VASCONCELOS, M. H. The multi-factorial nature of clinical multidrug resistance in cancer. **Drug Resistance Updates**, [S. l.], v. 46, p. 100645, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drug.2019.100645>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1368764619300342>.

ASY-SYIFA, N.; KUSJURIANSAH; WARESINDO, W. X.; EDIKRESNHA, D.; SUCIATI, T.; KHAIRURRIJAL, K. The Study of the Swelling Degree of the PVA Hydrogel with varying concentrations of PVA. **Journal of Physics: Conference Series**, [S. l.], v. 2243, n. 1, p. 012053, 1 jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2243/1/012053>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/2243/1/012053>.

AZARIAN, M. H.; JUNYUSEN, T.; SUTAPUN, W. Tailoring microstructure of superabsorbent film for active food packaging using carboxy methyl cellulose and biogenic vaterite CaCO<sub>3</sub>-Ag hybrid microspheres. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 369, p. 111938, maio 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2024.111938>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877424000049>.

BABAKHANOVA, G.; ZIMMERMAN, S. M.; PIERCE, L. T.; SARKAR, S.; SCHAUB, N. J.; SIMON, C. G. Quantitative, traceable determination of cell viability using absorbance microscopy. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. e0262119, 19 jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262119>. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0262119>.

BAKHSI, V.; POURSADEGH, H.; AMINI-FAZL, M. S.; SALARI, D.; JAVANBAKHT, S. Synthesis and characterization of bio-nanocomposite hydrogel beads based on magnetic hydroxyapatite and chitosan: a pH-sensitive drug delivery system for potential implantable anticancer platform. **Polymer Bulletin**, [S. l.], v. 81, n. 8, p. 7499–7518, jun. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-023-05072-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s00289-023-05072-1>.

BALDEA, I.; GIURGIU, L.; TEACOE, I. D.; OLTEANU, D. E.; OLTEANU, F. C.; CLICHICI, S.; FILIP, G. A. Photodynamic Therapy in Melanoma - Where do we Stand? **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 25, n. 40, p. 5540–5563, 21 jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867325666171226115626>. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/158592/article>.

BASTIANCICH, C.; MALFANTI, A.; PRÉAT, V.; RAHMAN, R. Rationally designed drug delivery systems for the local treatment of resected glioblastoma. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 177, p. 113951, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113951>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X21003446>.

BASTRZYK, A.; POLOWCZYK, I.; LEGAWIEC, K.; CHOJNIK, J.; PARASZKIEWICZ, K.; PŁAZA, G. A. Biom mineralization of calcium carbonate controlled by biomolecules produced by *Bacillus* sp. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [S. l.], v. 427, p. 012022, 26 set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/427/1/012022>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/427/1/012022>.

BAYAT, M. R.; BAGHANI, M. A review on swelling theories of pH-sensitive hydrogels. **Journal of Intelligent Material Systems and Structures**, [S. l.], v. 32, n. 18–19, p. 2349–2365, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/1045389X21995880>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1045389X21995880>.

BENOV, L. Photodynamic Therapy: Current Status and Future Directions. **Medical Principles and Practice**, [S. l.], v. 24, n. Suppl. 1, p. 14–28, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1159/000362416>. Disponível em: <https://karger.com/article/doi/10.1159/000362416>.

BETON-MYSUR, K.; JAROTA, A.; WOLSZCZAK, M.; BROZEK-PLUSKA, B. Spectroscopic Insights into the Localization and Photodynamic Efficacy of Aluminum Tetrasulfonated Phthalocyanine for Colorectal Cancer Therapy. **The Journal of Physical Chemistry B**, [S. l.], v. 129, n. 33, p. 8265–8280, 21 ago. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5c01189>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcc.5c01189>.

BIALIK-WĄS, K.; PLUTA, K.; MALINA, D.; BARCZEWSKI, M.; MALARZ, K.; MROZEK-WILCZKIEWICZ, A. Advanced SA/PVA-based hydrogel matrices with prolonged release of Aloe vera as promising wound dressings. **Materials Science and Engineering: C**, [S. l.], v. 120, p. 111667, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111667>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493120335852>.

BIEDRZYCKA, A.; SKWAREK, E.; HANNA, U. M. Hydroxyapatite with magnetic core: Synthesis methods, properties, adsorption and medical applications. **Advances in Colloid**

**and Interface Science**, [S. l.], v. 291, p. 102401, maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102401>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868621000427>.

CAMPA-SIQUEIROS, P.; MADERA-SANTANA, T. J.; AYALA-ZAVALA, J. F.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; CASTILLO-ORTEGA, M. M.; HERRERA-FRANCO, P. J. Nanofibers of gelatin and polivinyl-alcohol-chitosan for wound dressing application: fabrication and characterization. **Polímeros**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. e2020006, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.07919>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282020000100404&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282020000100404&tlng=en).

CANGUSSU, L. M. B.; DE SOUZA, L. R.; DE SOUZA, M. G.; JUNIOR, R. S. M.; MUEHLMANN, L. A.; DE SOUZA, P. N.; FARIAS, L. C.; SANTOS, S. H. S.; DE PAULA, A. M. B.; GUIMARÃES, A. L. S. Photodynamic therapy mediated by nanoparticles Aluminum Chloro Phthalocyanine in oral squamous carcinoma cells. **Lasers in Medical Science**, [S. l.], v. 37, n. 5, p. 2509–2516, jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-022-03517-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s10103-022-03517-z>.

CAO, H.; DUAN, L.; ZHANG, Y.; CAO, J.; ZHANG, K. Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 426, 16 dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00830-x>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00830-x>.

CAO, X.; LI, S.; CHEN, W.; LU, H.; YE, L.; MIN, Z.; SUN, S.; TENG, C.; YIN, H.; ZHANG, Q.; HE, W.; WANG, X.; LV, W.; LV, L.; XIN, H. Multifunctional Hybrid Hydrogel System Enhanced the Therapeutic Efficacy of Treatments for Postoperative Glioma. **ACS Applied Materials & Interfaces**, [S. l.], v. 14, n. 24, p. 27623–27633, 22 jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.2c05147>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.2c05147>.

CARAVIELLO, C.; NAZZARO, G.; TAVOLETTI, G.; BOGGIO, F.; DENARO, N.; MURGIA, G.; PASSONI, E.; BENZECRY MANCIN, V.; MARZANO, A. V. Melanoma Skin Cancer: A Comprehensive Review of Current Knowledge. **Cancers**, [S. l.], v. 17, n. 17, p. 2920, 5 set. 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers17172920>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/17/17/2920>.

CARBALLO-MEILAN, A.; STARNAWSKI, L. M.; MCDONALD, L.; PRAGOT, W.; SALEEMI, A. N.; AFZAL, W. Meta-analysis of vaterite secondary data revealed the synthesis conditions for polymorphic control. **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 188, p. 668–680, dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.10.008>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263876222005731>.

CARVALHO, J. A.; ABREU, A. S.; FERREIRA, V. T. P.; GONÇALVES, E. P.; TEDESCO, A. C.; PINTO, J. G.; FERREIRA-STRIXINO, J.; BELTRAME JUNIOR, M.; SIMIONI, A. R. Preparation of gelatin nanoparticles by two step desolvation method for application in photodynamic therapy. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S. l.], v. 29, n. 11, p. 1287–1301, 24 jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/09205063.2018.1456027>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2018.1456027>.

CASCONE, S.; LAMBERTI, G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 573, p. 118803, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118803>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517319308488>.

CHAN, L. L.-Y.; RICE, W. L.; QIU, J. Observation and quantification of the morphological effect of trypan blue rupturing dead or dying cells. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. e0227950, 24 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227950>. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0227950>.

CHEN, J.; FAN, T.; XIE, Z.; ZENG, Q.; XUE, P.; ZHENG, T.; CHEN, Y.; LUO, X.; ZHANG, H. Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges. **Biomaterials**, [S. l.], v. 237, p. 119827, abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119827>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961220300739>.

CHEN, S.; YANG, H.; HUANG, K.; GE, X.; YAO, H.; TANG, J.; REN, J.; REN, S.; MA, Y. Quantitative Study on Solubility Parameters and Related Thermodynamic Parameters of PVA with Different Alcoholysis Degrees. **Polymers**, [S. l.], v. 13, n. 21, p. 3778, 31 out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13213778>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/21/3778>.

CHENG, L.; CHEN, Y.; YUAN, B.; YU, Q. The underlying role of sodium tripolyphosphate on the cementitious mechanism of calcium carbonate binder. **Composites Part B: Engineering**, [S. l.], v. 247, p. 110362, dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.110362>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359836822007351>.

CHESNEAU, C.; SOW, A. O.; HAMACHI, F.; MICHELY, L.; HAMADI, S.; PIRES, R.; PAWLAK, A.; BELBEKHOUCHE, S. Cyclodextrin-Calcium Carbonate Micro- to Nano-Particles: Targeting Vaterite Form and Hydrophobic Drug Loading/Release. **Pharmaceutics**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 653, 15 fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020653>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/15/2/653>.

CHI, H. Y.; CHANG, N. Y.; LI, C.; CHAN, V.; HSIEH, J. H.; TSAI, Y.-H.; LIN, T. Fabrication of Gelatin Nanofibers by Electrospinning—Mixture of Gelatin and Polyvinyl Alcohol. **Polymers**, [S. l.], v. 14, n. 13, p. 2610, 27 jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14132610>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/13/2610>.

CHOI, S. M.; SHIN, E. J.; ZO, S. M.; KUMMARA, M. R.; KIM, C. M.; KUMAR, A.; BAE, H. J.; SOOD, A.; HAN, S. S. Development of Scalable Elastic Gelatin Hydrogel Films Crosslinked with Waterborne Polyurethane for Enhanced Mechanical Properties and Strain Recovery. **Gels**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 49, 8 jan. 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels11010049>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2310-2861/11/1/49>.

CORREIA, J. H.; RODRIGUES, J. A.; PIMENTA, S.; DONG, T.; YANG, Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics**, [S. l.], v. 13, n. 9, p. 1332, 25 ago. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>.

COSTA, S. M.; FANGUEIRO, R.; FERREIRA, D. P. Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy: The Potentiality and Versatility of Electrospun Nanofibers. **Macromolecular Bioscience**, [S. l.], v. 22, n. 5, p. 2100512, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.202100512>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mabi.202100512>.

DALY, A. C.; RILEY, L.; SEGURA, T.; BURDICK, J. A. Hydrogel microparticles for biomedical applications. **Nature Reviews Materials**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 20–43, 7 nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41578-019-0148-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41578-019-0148-6>.

DEMIRCAN, B.; MCCLEMENTS, D. J.; VELIOGLU, Y. S. Utilization of potassium carbonate-olive oil solutions for wax removal from fruits: Investigation of mode of action using a model gelatin-based film system. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 483, p. 144362, ago. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144362>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814625016139>. Acesso em: 16 abr. 2026.

DOBSON, J.; DE QUEIROZ, G. F.; GOLDING, J. P. Photodynamic therapy and diagnosis: Principles and comparative aspects. **The Veterinary Journal**, [S. l.], v. 233, p. 8–18, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.012>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023317302319>.

DONG, X.; SUN, Y.; LI, Y.; MA, X.; ZHANG, S.; YUAN, Y.; KOHN, J.; LIU, C.; QIAN, J. Synergistic Combination of Bioactive Hydroxyapatite Nanoparticles and the Chemotherapeutic Doxorubicin to Overcome Tumor Multidrug Resistance. **Small**, [S. l.], v. 17, n. 18, p. 2007672, May 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.202007672>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.202007672>.

DREISS, C. A. Hydrogel design strategies for drug delivery. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [S. l.], v. 48, p. 1–17, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.02.001>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029420300066>.

EDGE, R.; TRUSCOTT, T. G. The Reactive Oxygen Species Singlet Oxygen, Hydroxy Radicals, and the Superoxide Radical Anion—Examples of Their Roles in Biology and Medicine. **Oxygen**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 77–95, 27 out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/oxygen1020009>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-9801/1/2/9>.

EDIS, Z.; WANG, J.; WAQAS, M. K.; IJAZ, M.; IJAZ, M. Nanocarriers-Mediated Drug Delivery Systems for Anticancer Agents: An Overview and Perspectives. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], v. 16, p. 1313–1330, fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S289443>. Disponível em: <https://www.dovepress.com/nanocarriers-mediated-drug-delivery-systems-for-anticancer-agents-an-o-peer-reviewed-article-IJN>.

ELFEKY, S. A.; ELSAYED, A.; MOAWAD, M.; AHMED, W. A. Hydroxyapatite nanocomposite as a potential agent in osteosarcoma PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 32, p. 102056, dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102056>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100020304105>.

ESCUADERO, A.; CARRILLO-CARRIÓN, C.; CASTILLEJOS, M. C.; ROMERO-BEN, E.; ROSALES-BARRIOS, C.; KHIAR, N. Photodynamic therapy: photosensitizers and nanostructures. **Materials Chemistry Frontiers**, [S. l.], v. 5, n. 10, p. 3788–3812, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0QM00922A>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D0QM00922A>.

FACCHINETTO, S. E.; BORTOLOTTI, T.; NEUMANN, G. E.; VIEIRA, J. C. B.; MENEZES, B. B. D.; GIACOMELLI, C.; SCHMIDT, V. Synthesis of Submicrometer Calcium Carbonate Particles from Inorganic Salts Using Linear Polymers as Crystallization Modifiers. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160196>. Disponível em: [https://jbc.sqb.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=4737&nomeArquivo=160172AR.pdf](https://jbc.sqb.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=4737&nomeArquivo=160172AR.pdf).

FAR, B. F.; SAFAEI, M.; NAHAVANDI, R.; GHOLAMI, A.; NAIMI-JAMAL, M. R.; TAMANG, S.; AHN, J. E.; RAMEZANI FARANI, M.; HUH, Y. S. Hydrogel Encapsulation Techniques and Its Clinical Applications in Drug Delivery and Regenerative Medicine: A Systematic Review. **ACS Omega**, [S. l.], v. 9, n. 27, p. 29139–29158, 9 jul. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c10102>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.3c10102>. Acesso em: 9 abr. 2026.

FARES, J.; FARES, M. Y.; KHACHFE, H. H.; SALHAB, H. A.; FARES, Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 28, 12 mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0134-x>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-020-0134-x>. Acesso em: 30 mar. 2026.

FEBRIDA, R.; CAHYANTO, A.; HERDA, E.; MUTHUKANAN, V.; DJUSTIANA, N.; FAIZAL, F.; PANATARANI, C.; JONI, I. M. Synthesis and Characterization of Porous CaCO<sub>3</sub> Vaterite Particles by Simple Solution Method. **Materials**, [S. l.], v. 14, n. 16, p. 4425, 7 ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14164425>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/14/16/4425>. Acesso em: 1 abr. 2026.

FENG, W.; WANG, Z. Tailoring the Swelling-Shrinkable Behavior of Hydrogels for Biomedical Applications. **Advanced Science**, [S. l.], v. 10, n. 28, p. 2303326, out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202303326>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202303326>. Acesso em: 16 abr. 2026.

FERNANDES, M. A. **Desenvolvimento e caracterização de modelo 3d de carcinoma epidermoide oral para aplicação em terapia fotodinâmica utilizando-se nanocápsulas de fenil-tioftalocianina**. 2025. 125 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2025.

FERREIRA, A. M.; VIKULINA, A. S.; VOLODKIN, D. CaCO<sub>3</sub> crystals as versatile carriers for controlled delivery of antimicrobials. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 328, p. 470–489, Dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.061>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365920305022>. Acesso em: 30 mar. 2026.

FERREIRA, A. M.; VIKULINA, A.; CAVE, G. W. V.; LOUGHLIN, M.; PUDDU, V.; VOLODKIN, D. Vaterite-nanosilver hybrids with antibacterial properties and pH-triggered release. **Materials Today Chemistry**, [S. l.], v. 30, p. 101586, jun. 2023. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2023.101586>. Disponível em:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468519423002136>. Acesso em: 30 mar. 2026.

FERREIRA, A. M.; VIKULINA, A.; CAVE, G. W. V.; LOUGHLIN, M.; PUDDU, V.; VOLODKIN, D. Vaterite vectors for the protection, storage and release of silver nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 631, p. 165–180, fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.10.094>. Disponível em:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979722018550>. Acesso em: 30 mar. 2026.

FRACHINI, E.; PETRI, D. Magneto-Responsive Hydrogels: Preparation, Characterization, Biotechnological and Environmental Applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], 2019. DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190074>. Disponível em:  
[http://jbcs.sbq.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=5579&nomeArquivo=2019-0094RV\\_BrazWoman.pdf](http://jbcs.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=5579&nomeArquivo=2019-0094RV_BrazWoman.pdf).

FRAPPAZ, D.; BONNEVILLE-LEVAR, A.; RICARD, D.; CARRIE, S.; SCHIFFLER, C.; XUAN, K. H.; WELLER, M. Assessment of Karnofsky (KPS) and WHO (WHO-PS) performance scores in brain tumour patients: the role of clinician bias. **Supportive Care in Cancer**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 1883–1891, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05663-y>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s00520-020-05663-y>

GAN, S.; WU, Y.; ZHANG, X.; ZHENG, Z.; ZHANG, M.; LONG, L.; LIAO, J.; CHEN, W. Recent Advances in Hydrogel-Based Phototherapy for Tumor Treatment. **Gels**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 286, 1 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels9040286>. Disponível em:  
<https://www.mdpi.com/2310-2861/9/4/286>.

GAO, M.; WANG, W.; YANG, H.; YE, B.-C. Hydrothermal synthesis of hierarchical hollow hydroxyapatite microspheres with excellent fluoride adsorption property. **Microporous and Mesoporous Materials**, [S. l.], v. 289, p. 109620, nov. 2019. DOI:  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109620>. Disponível em:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387181119304779>.

GHORBANI, J.; RAHBAN, D.; AGHAMIRI, S.; TEYMOURI, A.; BAHADOR, A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview. **Laser Therapy**, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 293–302, 28 dez. 2018. DOI: [https://doi.org/10.5978/islsm.27\\_18-RA-01](https://doi.org/10.5978/islsm.27_18-RA-01). Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/islsm/27/4/27\\_18-RA-01/article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/islsm/27/4/27_18-RA-01/article).

GIERLICH, P.; DONOHOE, C.; BEHAN, K.; KELLY, D. J.; SENGE, M. O.; GOMES-DA-SILVA, L. C. Antitumor Immunity Mediated by Photodynamic Therapy Using Injectable Chitosan Hydrogels for Intratumoral and Sustained Drug Delivery. **Biomacromolecules**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 24–42, 8 jan. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.3c00591>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.3c00591>.

GOMES, A. T. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S. Cancer, Photodynamic Therapy and Porphyrin-Type Derivatives. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 90, n. 1 suppl 2, p. 993–1026, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170811>. Disponível em:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-37652018000300993&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652018000300993&lng=en&tlng=en).

GUSLIAKOVA, O.; VERKHOVSKII, R.; ABALYMOV, A.; LENGERT, E.; KOZLOVA, A.; ATKIN, V.; NECHAEVA, O.; MORRISON, A.; TUCHIN, V.; SVENSKAYA, Y. Transdermal platform for the delivery of the antifungal drug naftifine hydrochloride based on porous vaterite particles. **Materials Science and Engineering: C**, [S. l.], v. 119, p. 111428, fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111428>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493120333464>.

HAJIBEYGI, M.; MORADI, H.; VAHABI, H. Enhancing thermal stability, mechanical properties, and flammability of polyvinyl alcohol using amide-functionalized hydrogel and zinc oxide nanoparticles. **Journal of Vinyl and Additive Technology**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 570–584, mar. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/vnl.22070>. Disponível em: <https://4spepublications.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vnl.22070>. Acesso em: 14 abr. 2026.

HAN, Y.; WEI, Q.; CHANG, P.; HU, K.; OKORO, O. V.; SHAVANDI, A.; NIE, L. Three-Dimensional Printing of Hydroxyapatite Composites for Biomedical Application. **Crystals**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 353, 29 mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/cryst11040353>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4352/11/4/353>

HARRAZI, N.; ÖZBEK, H. N.; YANIK, D. K.; ZAGHBIB, I.; GÖĞÜŞ, F. Development and characterization of gelatin-based biodegradable films incorporated with pistachio shell hemicellulose. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 61, n. 10, p. 1919–1929, out. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-024-05968-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13197-024-05968-4>.

HASSAN, N.; AHMAD, T.; ZAIN, N. M.; AWANG, S. R. Identification of bovine, porcine and fish gelatin signatures using chemometrics fuzzy graph method. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 9793, 7 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89358-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-89358-2>.

HE, W.; ZHANG, Y.; QU, Y.; LIU, M.; LI, G.; PAN, L.; XU, X.; SHI, G.; HAO, Q.; LIU, F. Research progress on hydrogel-based drug therapy in melanoma immunotherapy. **Bmb Reports**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 71-78, 3 jan. 2024. Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology - BMB Reports. <http://dx.doi.org/10.5483/bmbrep.2023-0160>.

HERAGH, B. K.; JAVANSHIR, S.; MAHDAVINIA, G. R.; JAMAL, M. R. N. Hydroxyapatite grafted chitosan/laponite RD hydrogel: Evaluation of the encapsulation capacity, pH-responsivity, and controlled release behavior. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 190, p. 351–359, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.220>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813021018973>.

HUANG, L.; ZHAO, S.; WU, J.; YU, L.; SINGH, N.; YANG, K.; LAN, M.; WANG, P.; KIM, J. S. Photodynamic therapy for hypoxic tumors: Advances and perspectives. **Coordination Chemistry Reviews**, [S. l.], v. 438, p. 213888, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.213888>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854521001223>.

IKEDA-IMAFUKU, M.; WANG, L. L.-W.; RODRIGUES, D.; SHAHA, S.; ZHAO, Z.; MITRAGOTRI, S. Strategies to improve the EPR effect: A mechanistic perspective and clinical translation. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 345, p. 512–536, maio 2022.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.03.043>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365922001699>.

IMTIAZ, N.; NIAZI, M. B. K.; FASIM, F.; KHAN, B. A.; BANO, S. A.; SHAH, G. M.; BADSHAH, M.; MENAA, F.; UZAIR, B. Fabrication of an Original Transparent PVA/Gelatin Hydrogel: *In Vitro* Antimicrobial Activity against Skin Pathogens. **International Journal of Polymer Science**, [S. l.], v. 2019, p. 1–11, 14 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/7651810>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ijps/2019/7651810/>.

JARIYA, S. A. I.; PADMANABHAN, V. P.; KULANDAIVELU, R.; PRAKASH, N.; MOHAMMAD, F.; AL-LOHEDAN, H. A.; PAIMAN, S.; SCHIRHAGL, R.; HOSSAIN, M. A. M.; SAGADEVAN, S. Drug delivery and antimicrobial studies of chitosan-alginate based hydroxyapatite bioscaffolds formed by the Casein micelle assisted synthesis. **Materials Chemistry and Physics**, [S. l.], v. 272, p. 125019, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.125019>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254058421008026>.

JAYME, C. C.; CALORI, I. R.; CUNHA, E. M. F.; TEDESCO, A. C. Evaluation of aluminum phthalocyanine chloride and DNA interactions for the design of an advanced drug delivery system in photodynamic therapy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 201, p. 242-248, 2018.

JENSEN, A. C. S.; BIRKEDAL, H.; BERTINETTI, L. Co-incorporation of alkali metal ions during amorphous calcium carbonate precipitation and their stabilizing effect. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [S. l.], v. 21, n. 24, p. 13230–13233, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9CP02437A>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=C9CP02437A>. Acesso em: 8 abr. 2026.

JIANG, X.; LI, C.; HAN, Q. Modulation of swelling of PVA hydrogel by polymer and crosslinking agent concentration. **Polymer Bulletin**, [S. l.], v. 80, n. 2, p. 1303–1320, fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04116-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s00289-022-04116-2>. Acesso em: 23 abr. 2026.

JIANG, Y.; KRISHNAN, N.; HEO, J.; FANG, R. H.; ZHANG, L. Nanoparticle-hydrogel superstructures for biomedical applications. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 324, p. 505–521, 10 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.05.041>.

JIN, T.; TIAN, X.; HONG, H.; ZHU, N.; HAN, L.; SUO, Q. Study on preparation and crystalline transformation of nano- and micro-CaCO<sub>3</sub> by supercritical carbon dioxide. **Powder Technology**, [S. l.], v. 370, p. 29–38, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.021>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591020303843>.

KALENICHENKO, D.; NIFONTOVA, G.; SUKHANOVA, A.; NABIEV, I. Design and characterisation of calcium carbonate microspheres for anticancer drug delivery. **Journal of Physics: Conference Series**, [S. l.], v. 2058, n. 1, p. 012009, 1 out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2058/1/012009>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/2058/1/012009>

KANG, H.; RHO, S.; STILES, W. R.; HU, S.; BAEK, Y.; HWANG, D. W.; KASHIWAGI, S.; KIM, M. S.; CHOI, H. S. Size-Dependent EPR Effect of Polymeric Nanoparticles on Tumor Targeting. **Advanced Healthcare Materials**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1901223, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201901223>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.201901223>. Acesso em: 30 mar. 2026.

KANG, J. I.; PARK, K. M. Advances in gelatin-based hydrogels for wound management. **Journal of Materials Chemistry B**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. 1503–1520, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0TB02582H>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D0TB02582H>.

KANGKAN, K. P.; REGMI, S.; NEPAL, A.; BHATTARAI, S.; YADAV, R. J.; SAKURAI, S.; ADHIKARI, R. Extraction and Characterization of Novel Natural Hydroxyapatite Bioceramic by Thermal Decomposition of Waste Ostrich Bone. **International Journal of Biomaterials**, [S. l.], v. 2020, p. 1–10, 28 ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/1690178>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ijbm/2020/1690178/>.

KANGKAN, S.; ARPORNMAEKLONG, P.; UMMARTYOTIN, S. Synthesis of hydroxyapatite from cuttlebone under various pH conditions: An approach for medical materials. **Journal of Metals, Materials and Minerals**, [S. l.], v. 30, n. 2, 30 jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.55713/jmmm.v30i2.741>. Disponível em: <https://www.jmmm.material.chula.ac.th/index.php/jmmm/article/view/741>.

KASHKOOLY, F.M.; SOLTANI, M.; SOURI, M. Controlled anti-cancer drug release through advanced nano-drug delivery systems: Static and dynamic targeting strategies. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 327, p. 316–349, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.012>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365920304521>. Acesso em: 30 mar. 2026.

KHALID, M.; JIKAN, S.S.B.; ADZILA, S.; MURNI, Z.; BADARULZAMAN, N.A.; ROSLEY, R.; HAMEED, M.U. Synthesis and Characterizations of Hydroxyapatite using Precursor Extracted from Chicken Egg Shell Waste. **Biointerface Research in Applied Chemistry**. v.12, n.4, p.5663 – 5671, 2022. Disponível em: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2021/10/20695837124.56635671.pdf>

KHAROUF, N.; FLANAGAN, T. W.; HASSAN, S.-Y.; SHALABY, H.; KHABAZ, M.; HASSAN, S.-L.; MEGAHED, M.; HAIKEL, Y.; SANTOURLIDIS, S.; HASSAN, M. Tumor Microenvironment as a Therapeutic Target in Melanoma Treatment. **Cancers**, [S. l.], v. 15, n. 12, p. 3147, 11 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers15123147>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/12/3147>. Acesso em: 30 mar. 2026.

KHORAMABADI, H. N.; AREFIAN, M.; HOJJATI, M.; TAJZAD, I.; MOKHTARZADE, A.; MAZHAR, M.; JAMAVARI, A. A review of Polyvinyl alcohol / Carboxy methyl cellulose (PVA/CMC) composites for various applications. **Journal of Composites and Compounds**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 68–75, 1 maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.29252/jcc.2.2.2>. Disponível em: <https://jourcc.com/index.php/jourcc/article/view/jcc222>. Acesso em: 30 mar. 2026.

KOVTUN, G.; CASAS, D.; CUBERES, T. Influence of Glycerol on the Surface Morphology and Crystallinity of Polyvinyl Alcohol Films. **Polymers**, [S. l.], v. 16, n. 17, p. 2421, 27 ago. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym16172421>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/16/17/2421>. Acesso em: 14 abr. 2026.

KWIATKOWSKI, S; KNAP, B; PRZYSTUPSKI, D; SACZKO, J; KĘDZIERSKA, E; KNAP-CZOP, K; KOTLIŃSKA, J; MICHEL, O; KRZYSZTOF KOTOWSKI, K; KULBACKA, J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomed. Pharmacother.** v.106, p.1098-1107, 2018.

LAN, M.; ZHAO, S.; LIU, W.; LEE, C.; ZHANG, W.; WANG, P. Photosensitizers for Photodynamic Therapy. **Advanced Healthcare Materials**, [S. l.], v. 8, n. 13, p. 1900132, jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201900132>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.201900132>. Acesso em: 25 mar. 2026.

LEE, S. Y. Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme. **Genes & Diseases**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 198–210, set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.04.007>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352304216300162>. Acesso em: 30 mar. 2026.

LEI, J.; LI, Z.; XU, S.; LIU, Z. Recent advances of hydrogel network models for studies on mechanical behaviors. **Acta Mechanica Sinica**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 367–386, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10409-021-01058-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s10409-021-01058-2>. Acesso em: 16 abr. 2026.

LENGYEL, M.; KÁLLAI-SZABÓ, N.; ANTAL, V.; LAKI, A. J.; ANTAL, I. Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery. **Scientia Pharmaceutica**, [S. l.], v. 87, n. 3, p. 20, 9 ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/scipharm87030020>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-0532/87/3/20>. Acesso em: 25 mar. 2026.

LEROY, H.-A.; GUÉRIN, L.; LECOMTE, F.; BAERT, G.; VIGNION, A.-S.; MORDON, S.; REYNS, N. Is interstitial photodynamic therapy for brain tumors ready for clinical practice? A systematic review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 36, p. 102492, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102492>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100021003161>. Acesso em: 30 mar. 2026.

LI, G.; HUANG, J.; WEI, J.; LIU, C.; ZUO, Y.; LI, J.; LI, Y. Fabrication of strontium and simvastatin loaded hydroxyapatite microspheres by one-step approach. **Materials Letters**, [S. l.], v. 300, p. 130234, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130234>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X21009319>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LI, W.; HUANG, Y.; WANG, T.; FANG, M.; LI, Y. Preparation of calcium carbonate nanoparticles from waste carbide slag based on CO<sub>2</sub> mineralization. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 363, p. 132463, ago. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132463>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652622020649>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LI, W.; ZHANG, L.; GE, X.; XU, B.; ZHANG, W.; QU, L.; CHOI, C.-H.; XU, J.; ZHANG, A.; LEE, H.; WEITZ, D. A. Microfluidic fabrication of microparticles for biomedical

applications. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 47, n. 15, p. 5646–5683, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7CS00263G>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=C7CS00263G>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LI, X.; XU, X.; XU, M.; GENG, Z.; JI, P.; LIU, Y. Hydrogel systems for targeted cancer therapy. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 11, p. 1140436, 16 fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1140436>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2023.1140436/full>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LI, X.; YANG, X.; DENG, H.; GUO, Y.; XUE, J. Gelatin films incorporated with thymol nanoemulsions: Physical properties and antimicrobial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 150, p. 161–168, maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.066>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813020306048>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LI, X.-Y.; TAN, L.-C.; DONG, L.-W.; ZHANG, W.-Q.; SHEN, X.-X.; LU, X.; ZHENG, H.; LU, Y.-G. Susceptibility and Resistance Mechanisms During Photodynamic Therapy of Melanoma. **Frontiers in Oncology**, [S. l.], v. 10, p. 597, 12 maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00597>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2020.00597/full>. Acesso em: 1 abr. 2026.

LIMA, E. K. A.; FERNANDES, E. F. S; PACHECO, N. I; AGUIAR, E. S; LOPES, D. C; MENDES, L. A. P. P. F. Uma breve revisão sobre a hidroxiapatita: uma biocerâmica promissora. **Research, Society and Development**. v.11, n.1, p. 1-9, 2022.

LONGKAEW, K.; TESSANAN, W.; DANIEL, P.; PHINYOCHEEP, P.; GIBAUD, A. Using sucrose to prepare submicrometric CaCO<sub>3</sub> vaterite particles stable in natural rubber. **Advanced Powder Technology**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 103924, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apt.2022.103924>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921883122005039>. Acesso em: 8 abr. 2026.

LOPES, J.; RODRIGUES, C. M. P.; GASPAR, M. M.; REIS, C. P. Melanoma Management: From Epidemiology to Treatment and Latest Advances. **Cancers**, [S. l.], v. 14, n. 19, p. 4652, 24 set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14194652>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/19/4652>. Acesso em: 30 mar. 2026.

LOUF, J.-F.; LU, N. B.; O'CONNELL, M. G.; CHO, H. J.; DATTA, S. S. Under pressure: Hydrogel swelling in a granular medium. **Science Advances**, [S. l.], v. 7, n. 7, p. eabd2711, 12 fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd2711>. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abd2711>. Acesso em: 16 abr. 2026.

LU, B.-Q.; WILLHAMMAR, T.; SUN, B.-B.; HEDIN, N.; GALE, J. D.; GEBAUER, D. Introducing the crystalline phase of dicalcium phosphate monohydrate. **Nature Communications**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1546, 24 mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15333-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-15333-6>. Acesso em: 9 abr. 2026.

LU, C. Polymer-ceramic hybrid nanoparticles: promising strategies for controlled drug release. **Ceramics - Silikaty**, [S. l.], v. 1, n. 68, p. 42–57, 20 jan. 2024. DOI:

<https://doi.org/10.13168/cs.2024.0004>. Disponível em: [http://www.ceramics-silikaty.cz/index.php?page=cs\\_detail\\_doi&id=1883](http://www.ceramics-silikaty.cz/index.php?page=cs_detail_doi&id=1883). Acesso em: 9 abr. 2026.

LUO, W.; HUA, J.; XIE, X. Polyethylenimine-CO<sub>2</sub> adduct-stabilized vaterite hydrocolloidal particles. **Materials Chemistry and Physics**, [S. l.], v. 294, p. 127025, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.127025>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254058422013311>. Acesso em: 8 abr. 2026.

MAGLI, S.; ROSSI, L.; CONSENTINO, C.; BERTINI, S.; NICOTRA, F.; RUSSO, L. Combined Analytical Approaches to Standardize and Characterize Biomaterials Formulations: Application to Chitosan-Gelatin Cross-Linked Hydrogels. **Biomolecules**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 683, 1 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom11050683>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/11/5/683>. Acesso em: 14 abr. 2026.

MALEKI, B.; CHAHKANDI, M.; TAYEBEE, R.; KAHROBAEI, S.; ALINEZHAD, H.; HEMMATI, S. Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite and its catalytic behavior towards synthesis of 3,4-disubstituted isoxazole-5(4H)-ones in water. **Applied Organometallic Chemistry**, [S. l.], v. 33, n. 10, p. e5118, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/aoc.5118>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/aoc.5118>. Acesso em: 8 abr. 2026.

MANDAL, S.; DASMAHAPATRA, A. K. Effect of aging on the microstructure and physical properties of Poly(vinyl alcohol) hydrogel. **Journal of Polymer Research**, [S. l.], v. 28, n. 7, p. 269, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-021-02624-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s10965-021-02624-9>.

MARIÑO-OCAMPO, N.; DIBONA-VILLANUEVA, L.; ESCOBAR-ÁLVAREZ, E.; GUERRA-DÍAZ, D.; ZUÑIGA-NÚÑEZ, D.; FUENTEALBA, D.; ROBINSON-DUGGON, J. Recent Photosensitizer Developments, Delivery Strategies and Combination-based Approaches for Photodynamic Therapy<sup>†</sup>. **Photochemistry and Photobiology**, [S. l.], v. 99, n. 2, p. 469–497, mar. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.13749>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/php.13749>.

MATAR, G. H.; ANDAC, M.; ELMAS, A. Locust bean gum-polyvinyl alcohol hydrogels: Synthesis, characterization, swelling behaviors, and mathematical models. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 139, n. 3, p. 51498, 15 jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.51498>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.51498>.

MATROODI, F.; TAVASSOLI, S. H. Simultaneous Raman and laser-induced breakdown spectroscopy by a single setup. **Applied Physics B**, [S. l.], v. 117, n. 4, p. 1081–1089, dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00340-014-5929-4>. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00340-014-5929-4>. Acesso em: 9 abr. 2026.

MAZZILLI, M. R. F.; AMBRÓSIO, J. A. R.; DA SILVA GODOY, D.; DA SILVA ABREU, A.; CARVALHO, J. A.; BELTRAME JUNIOR, M.; SIMIONI, A. R. Polyelectrolytic BSA nanoparticles containing silicon dihydroxide phthalocyanine as a promising candidate for drug delivery systems for anticancer photodynamic therapy. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S. l.], v. 31, n. 11, p. 1457–1474, 23 jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/09205063.2020.1760702>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2020.1760702>.

MEI, L.; XIANGQI, S.; JUN, Z.; AIJUN, F.; JIANMIN, L.; TONG, C. The interventional effect of new drugs combined with the Stupp protocol on glioblastoma: A network meta-analysis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, [S. l.], v. 159, p. 6–12, ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.05.015>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303846717301452>.

MENG, Z.; ZHOU, X.; XU, J.; HAN, X.; DONG, Z.; WANG, H.; ZHANG, Y.; SHE, J.; XU, L.; WANG, C.; LIU, Z. Light-Triggered In Situ Gelation to Enable Robust Photodynamic-Immunotherapy by Repeated Stimulations. **Advanced Materials**, [S. l.], v. 31, n. 24, p. 1900927, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.201900927>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.201900927>.

MFOUO-TYNGA, I. S.; DIAS, L. D.; INADA, N. M.; KURACHI, C. Features of third generation photosensitizers used in anticancer photodynamic therapy: review. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy**, [S.L.], v. 34, p. 102091, Jun. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102091>.

MICHELINI, L.; PROBO, L.; FARÈ, S.; CONTESSI NEGRINI, N. Characterization of gelatin hydrogels derived from different animal sources. **Materials Letters**, [S. l.], v. 272, p. 127865, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.127865>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X2030570X>.

MILANO, F.; MASI, A.; MADAGHIELE, M.; SANNINO, A.; SALVATORE, L.; GALLO, N. Current Trends in Gelatin-Based Drug Delivery Systems. **Pharmaceutics**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 1499, 15 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051499>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/15/5/1499>.

MOHAMMED, H. A.; MOHAMMED, P. A.; AZIZ, S. B. Physical characteristics of polymer composites based on PVA doped with Mn<sup>2+</sup> metal complexes synthesized by green approach: insights to linear and optoelectronic optical properties. **Oxford Open Materials Science**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. itaf003, 14 jan. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfmat/itaf003>. Disponível em: <https://academic.oup.com/ooms/article/doi/10.1093/oxfmat/itaf003/8092560>.

MOHD PU'AD, N. A. S.; KOSHY, P.; ABDULLAH, H. Z.; IDRIS, M. I.; LEE, T. C. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. **Heliyon**, [S. l.], v. 5, n. 5, p. e01588, maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01588>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844018368944>.

MOHONTA, S. K.; MARIA, K. H.; RAHMAN, S.; DAS, H.; HOQUE, S. M. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticle and role of its size in hydroxyapatite/chitosan–gelatin biocomposite for bone grafting. **International Nano Letters**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 381–393, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40089-021-00347-9>. Disponível em: <https://oicpress.com/inl/article/view/8873>.

MOKWENA, M. G.; KRUGER, C. A.; IVAN, M.-T.; HEIDI, A. A review of nanoparticle photosensitizer drug delivery uptake systems for photodynamic treatment of lung cancer. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 22, p. 147–154, jun. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.03.006>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100017305471>

MONDAL, S.; DOROZHKIN, S. V.; PAL, U. Recent progress on fabrication and drug delivery applications of nanostructured hydroxyapatite. **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. e1504, jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/wnan.1504>. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wnan.1504>.

MONTES-HERNANDEZ, G.; RENARD, F. Nucleation of Brushite and Hydroxyapatite from Amorphous Calcium Phosphate Phases Revealed by Dynamic *In Situ* Raman Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry C**, [S. l.], v. 124, n. 28, p. 15302–15311, 16 jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c04028>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcc.0c04028>.

MORADINEZHAD, F.; HEDAYATI, S.; ANSARIFAR, E. Assessment of Zataria Multiflora Essential Oil—Incorporated Electrospun Polyvinyl Alcohol Fiber Mat as Active Packaging. **Polymers**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 1048, 20 fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15041048>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/4/1048>.

NAGPAL, M.; KAKKAR, R. Selective adsorption and separation of toxic cationic dyes using hierarchically porous SDBS modified vaterite microspheres (Hr-SMV). **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, [S. l.], v. 146, p. 109598, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2020.109598>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022369720305813>.

NELE, V.; WOJCIECHOWSKI, J. P.; ARMSTRONG, J. P. K.; STEVENS, M. M. Tailoring Gelation Mechanisms for Advanced Hydrogel Applications. **Advanced Functional Materials**, [S. l.], v. 30, n. 42, p. 2002759, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.202002759>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.202002759>.

NELEMANS, L. C.; GUREVICH, L. Drug Delivery with Polymeric Nanocarriers—Cellular Uptake Mechanisms. **Materials**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 366, 13 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma13020366>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/13/2/366>.

NG, L. H.; HADINOTO, K. Buccal delivery system of active pharmaceutical ingredients-ionic liquid (API-IL): Effects of API-IL loading and gelatin film concentration. **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 202, p. 115–125, fev. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2023.12.027>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263876223008225>.

NICULESCU, A.-G.; GRUMEZESCU, A. M. Photodynamic Therapy—An Up-to-Date Review. **Applied Sciences**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 3626, 17 abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/app11083626>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/8/3626>.

NUNES, D.; ANDRADE, S.; RAMALHO, M.J.; LOUREIRO, J.A.; PEREIRA, M.C. Polymeric Nanoparticles-Loaded Hydrogels for Biomedical Applications: A Systematic Review on In Vivo Findings. **Polymers**, v.14, n.5, 2022.

OBALOLA, A.A.; ABRAHAMSE, H.; KUMAR, S. S. D. 3D-printed biopolymer-based microneedle for enhanced photodynamic therapy in melanoma treatment. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 15, n. -, p. 1-22, 17 set. 2025. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2025.1642448>.

PARK, S.; CHOI, J.; DOAN, V. H. M.; O, S. H. Biodegradable manganese-doped hydroxyapatite antitumor adjuvant as a promising photo-therapeutic for cancer treatment. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [S. l.], v. 9, p. 1085458, 23 nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.1085458>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2022.1085458/full>.

PATRA, J. K.; DAS, G.; FRACETO, L. F.; CAMPOS, E. V. R.; RODRIGUEZ-TORRES, M. D. P.; ACOSTA-TORRES, L. S.; DIAZ-TORRES, L. A.; GRILLO, R.; SWAMY, M. K.; SHARMA, S.; HABTEMARIAM, S.; SHIN, H.-S. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 71, dez. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>. Disponível em: <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-018-0392-8>.

PESCE, C.; RODELLA, G.; FRAGASSI, A.; GAROFALO, M.; SALMASO, S.; CALICETI, P.; GALLEZ, B.; MALFANTI, A. Localized treatment of glioblastoma: a review of clinical strategies and advances in drug delivery systems. **Nanomedicine**, [S. l.], v. 20, n. 20, p. 2571–2599, 18 out. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435889.2025.2550239>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17435889.2025.2550239>.

PHAM, T. C.; NGUYEN, V.; CHOI, Y.; LEE, S.; YOON, J. Recent Strategies to Develop Innovative Photosensitizers for Enhanced Photodynamic Therapy. **Chem. Rev.**, v. 121, n. 21, p. 13454–13619, 2021.

PIAO, Y.; YOU, H.; XU, T.; BEI, H.-P.; PIWKO, I. Z.; KWAN, Y. Y.; ZHAO, X. Biomedical applications of gelatin methacryloyl hydrogels. **Engineered Regeneration**, [S. l.], v. 2, p. 47–56, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.03.002>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666138121000025>.

PUSHPAMALAR, J; MEGANATHAN, P; HUI LI TAN, H.L; DAHLAN, N.A; OOI, L; NEEROOA, B. N. H.M; ESSA, R.Z; SHAMELI, K; TEOU, S. Development of a Polysaccharide-Based Hydrogel Drug Delivery System (DDS): An Update. **Gels**. v.7, n.4, 2021.

QIAO, D.; HUANG, Y.; HOU, X.; YE, F.; WU, K.; JIANG, F.; ZHAO, G.; ZHANG, B.; XIE, F. Enhancing thermal stability and mechanical resilience in gelatin/starch composites through polyvinyl alcohol integration. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 344, p. 122528, nov. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122528>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861724007549>.

REMYA, K. P.; KIM, S.; KIM, M.-J. Surfactant-free hydrothermal fabrication of vaterite CaCO<sub>3</sub> with hexagonal bipyramidal morphologies using seawater. **Powder Technology**, [S. l.], v. 410, p. 117865, set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2022.117865>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003259102200746X>.

REN, T.; GAN, J.; ZHOU, L.; CHEN, H. Physically Crosslinked Hydrogels Based on Poly (Vinyl Alcohol) and Fish Gelatin for Wound Dressing Application: Fabrication and

Characterization. **Polymers**, [S. l.], v. 12, n. 8, p. 1729, 2 ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym12081729>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/8/1729>.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, R.; ESPINOSA-ANDREWS, H.; VELASQUILLO-MARTÍNEZ, C.; GARCÍA-CARVAJAL, Z. Y. Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: a review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 1–20, 2 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00914037.2019.1581780>.

SAGHAZADEH, S.; RINOLDI, C.; SCHOT, M.; KASHAF, S. S.; SHARIFI, F.; JALILIAN, E.; NUUTILA, K.; GIATSIDIS, G.; MOSTAFALU, P.; DERAKHSHANDEH, H.; YUE, K.; SWIESZKOWSKI, W.; MEMIC, A.; TAMAYOL, A.; KHADEMHOSEINI, A. Drug delivery systems and materials for wound healing applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 127, p. 138–166, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.008>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X18300607>.

SAHU, T.; RATRE, Y. K.; CHAUHAN, S.; BHASKAR, L. V. K.S.; NAIR, M. P.; VERMA, H. K. Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. **J. Drug Delivery Sci. Technol.** v. 63, n. 102487, p. 1-15, 2021.

SAIDI, M.; DABBAGHI, A.; RAHMANI, S. Swelling and drug delivery kinetics of click-synthesized hydrogels based on various combinations of PEG and star-shaped PCL: influence of network parameters on swelling and release behavior. **Polymer Bulletin**, [S. l.], v. 77, n. 8, p. 3989–4010, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02948-z>. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00289-019-02948-z>.

SALAHELDIN, H. I.; NEGM, A.; OSMAN, G. E. H. Porcine skin gelatin–silver nanocomposites: synthesis, characterisation, cell cytotoxicity, and antibacterial properties. **IET Nanobiotechnology**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 957–964, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0015>. Disponível em: <https://ietresearch.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1049/iet-nbt.2017.0015>.

SALAHUDDIN, B.; WANG, S.; SANGIAN, D.; AZIZ, S.; GU, Q. Hybrid Gelatin Hydrogels in Nanomedicine Applications. **ACS Applied Bio Materials**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 2886–2906, 19 abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01630>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsabm.0c01630>.

SANITÀ, G.; CARRESE, B.; LAMBERTI, A. Nanoparticle Surface Functionalization: How to Improve Biocompatibility and Cellular Internalization. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [S. l.], v. 7, p. 587012, 26 nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.587012>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2020.587012/full>.

SANS, J.; SANZ, V.; PUIGGALÍ, J.; TURON, P.; ALEMÁN, C. Controlled Anisotropic Growth of Hydroxyapatite by Additive-Free Hydrothermal Synthesis. **Cryst. Growth Des.**, v.21, n.2, p.748–756, 2021.

SANTOS, A. F. ALMEIDA, D.R.Q; TERRA, L.F; BAPTISTA, M.S; LABRIOLA, L. Photodynamic therapy in cancer treatment – an update review. **J. Cancer Metastasis Treat.** v.5, n.25, p.1-20, 2019.

SANTOS, K. L. M; BARROS, R. M; LIMA, D. P. S; NUNES, A. M. A; SATO, M. R; FACCIO, R; DAMASCENO, B. P. G. L; OSHIRO-JUNIOR, J. A. Prospective application of phthalocyanines in the photodynamic therapy against microorganisms and tumor cells: a mini-review. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy**, [S.L.], v. 32, p. 102032, dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102032>.

SARITA; DAYARAM, P. M.; RAI, A. K.; TEWARI, R. P.; DUTTA, P. K. Synthesis and characterization of injectable chitosan, hyaluronic acid, and hydroxyapatite blend hydrogel aimed at bone tissue engineering application. **Bulletin of Materials Science**, [S. l.], v. 47, n. 4, p. 246, 5 out. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12034-024-03315-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s12034-024-03315-z>.

SARMAH, D.; BORAH, M.; MANDAL, M.; KARAK, N. Swelling induced mechanically tough starch–agar based hydrogel as a control release drug vehicle for wound dressing applications. **Journal of Materials Chemistry B**, [S. l.], v. 11, n. 13, p. 2927–2936, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2TB02775E>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D2TB02775E>.

SATHIYAVIMAL, S.; VASANTHARAJ, S.; LEWISOSCAR, F.; SELVARAJ, R.; BRINDHADEVI, K.; PUGAZHENDHI, A. Natural organic and inorganic–hydroxyapatite biopolymer composite for biomedical applications. **Progress in Organic Coatings**, [S. l.], v. 147, p. 105858, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.105858>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300944020308717>.

SCHIRRMACHER, V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). **International Journal of Oncology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 407–419, 10 dez. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4661>. Disponível em: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2018.4661>.

SENARATHNA, D. D. T. T. D.; ABEYSOORIYA, K. H. D. N.; DUNUWEERA, S. P.; EKANAYAKE, B. P. K.; WIJENAYAKE, W. M. H. K.; RAJAPAKSE, R. M. G. Removal of Phosphate from Aqueous Solutions Using Chemically Synthesized Vaterite Polymorph of Porous Calcium Carbonate Nanoparticles under Optimized Conditions. **Journal of Nanomaterials**, [S. l.], v. 2020, p. 1–15, 15 set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3931910>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2020/3931910/>.

SHAH, F. A. Characterization of Synthetic Hydroxyapatite Fibers Using High-Resolution, Polarized Raman Spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 475–479, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/0003702820942540>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003702820942540>.

SHARIKA, T.; MOHANAN, A. Synthesis and swelling studies of poly (acrylamide-co-itaconic acid)/hydroxyapatite nanocomposite hydrogels. **Materials Today: Proceedings**, [S. l.], v. 41, p. 744–751, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.421>. Disponível

em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785320362933>. Acesso em: 16 abr. 2026.

SILVA, D.N.A.; SILVA, N.T.; SENA, I.A.A.; AZEVEDO, M.L.S.; JÚNIOR, F.L.S.; SILVA, R.C.M.; VASCONCELOS, R.C.; MORAES, M.; LONGO, J.P.F.; ARAÚJO, A.A.; MARTINS, A.R.L.A. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy with chloro-aluminum phthalocyanine on periodontal clinical parameters and salivary GSH and MDA levels in patients with periodontitis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 31, p. 101843, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101843>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100020301976>.

SILVA-HOLGUÍN, P. N.; REYES-LÓPEZ, S. Y. Synthesis of Hydroxyapatite-Ag Composite as Antimicrobial Agent. **Dose-Response**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 1559325820951342, 1 jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/1559325820951342>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1559325820951342>.

ŠIMOLIŪNAS, E.; KANTAKEVIČIUS, P.; KALVAITYTĖ, M.; BAGDZEVIČIŪTĖ, L.; ALKSNE, M.; BALTRIUKIENĖ, D. DNA-DAPI Interaction-Based Method for Cell Proliferation Rate Evaluation in 3D Structures. **Current Issues in Molecular Biology**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 251–263, 30 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/cimb43010021>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1467-3045/43/1/21>.

SKOPINSKA-WISNIEWSKA, J.; TUSZYNSKA, M.; OLEWNIK-KRUSZKOWSKA, E. Comparative Study of Gelatin Hydrogels Modified by Various Cross-Linking Agents. **Materials**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 396, 14 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14020396>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/14/2/396>.

SONG, J.; ZHANG, Y.; CHAN, S. Y.; DU, Z.; YAN, Y.; WANG, T.; LI, P.; HUANG, W. Hydrogel-based flexible materials for diabetes diagnosis, treatment, and management. **npj Flexible Electronics**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 26, 24 set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41528-021-00122-y>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41528-021-00122-y>.

SONG, X.; WENG, C.; CAO, Y.; KONG, H.; LUO, X. Facile synthesis of pure vaterite using steamed ammonia liquid waste and ammonium carbonate without additives via simple mechanical mixing. **Powder Technology**, [S. l.], v. 386, p. 361–371, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.03.047>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591021002473>.

SOUZA, E. F.; AMBRÓSIO, J. A. R.; PINTO, B. C. S.; BELTRAME, M.; SAKANE, K. K.; PINTO, J. G.; FERREIRA-STRIXINO, J.; GONÇALVES, E. P.; SIMIONI, A. R. Vaterite submicron particles designed for photodynamic therapy in cells. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 31, p. 101913, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101913>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100020302672>.

SRIVASTAV, A.; CHANDANSHIVE, B.; DANDEKAR, P.; KHUSHALANI, D.; JAIN, R. Biomimetic Hydroxyapatite a Potential Universal Nanocarrier for Cellular Internalization & Drug Delivery. **Pharmaceutical Research**. v. 36, n. 60, p.1-12, 2019.

SULAIMAN, N. S.; HAMZAH, N.; ZAKARIA, S. F.; CHE OTHMAN, S. F.; MOHAMED SUFFIAN, I. F. Hydrogel–Nanoparticle Hybrids for Biomedical Applications: Principles and Advantages. **Nanomedicine**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 81–84, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.2217/nnm-2020-0420>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/nnm-2020-0420>.

SUN, Z.; SONG, C.; WANG, C.; HU, Y.; WU, J. Hydrogel-Based Controlled Drug Delivery for Cancer Treatment: A Review. **Molecular Pharmaceutics**, [S. l.], p. acs.molpharmaceut.9b01020, 7 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01020>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01020>.

TABASSUM, M.; PERVAIZ, F.; SHOUKAT, H. Fabrication and evaluation of gelatin-PVA-co-poly(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid)-based hydrogels for extended-release of sitagliptin and metformin by employing response surface methodology. **Chemical Papers**, [S. l.], v. 76, n. 7, p. 4081–4097, jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02155-7>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11696-022-02155-7>.

TANG, W.; YUAN, Y.; LIU, C.; WU, Y.; LU, X.; QIAN, J. Differential Cytotoxicity and Particle Action of Hydroxyapatite Nanoparticles in Human Cancer Cells. **Nanomedicine**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 397-412, mar. 2014. <http://dx.doi.org/10.2217/nnm.12.217>.

TORRE, D. L.; DELLA TORRE, A.; LO TURCO, E.; LONGO, P.; PUGLIESE, D.; LACROCE, P.; RAUDINO, G.; ROMANO, A.; LAVANO, A.; TOMASELLO, F. Primary Intracranial Gliosarcoma: Is It Really a Variant of Glioblastoma? An Update of the Clinical, Radiological, and Biomolecular Characteristics. **Journal of Clinical Medicine**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 83, 22 dez. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm13010083>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/13/1/83>.

TORRES-MARTÍNEZ, A.; BEDRINA, B.; FALOMIR, E.; MARÍN, M. J.; ANGULO-PACHÓN, C. A.; GALINDO, F.; MIRAVET, J. F. Non-Polymeric Nanogels as Versatile Nanocarriers: Intracellular Transport of the Photosensitizers Rose Bengal and Hypericin for Photodynamic Therapy. **ACS Applied Bio Materials**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 3658–3669, 19 abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.1c00139>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsabm.1c00139>.

TSIOPTSIAS, C.; FARDIS, D.; NTAMPOU, X.; TSIVINTZELIS, I.; PANAYIOTOU, C. Thermal Behavior of Poly(vinyl alcohol) in the Form of Physically Crosslinked Film. **Polymers**, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 1843, 11 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15081843>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/8/1843>.

UDREA, A. M.; SMARANDACHE, A.; DINACHE, A.; MARES, C.; NISTORESCU, S.; AVRAM, S.; STAIKU, A. Photosensitizers-Loaded Nanocarriers for Enhancement of Photodynamic Therapy in Melanoma Treatment. **Pharmaceutics**, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 2124, 11 ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082124>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/15/8/2124>.

VIGATA, M.; MEINERT, C.; BOCK, N.; DARGAVILLE, B. L.; HUTMACHER, D. W. Deciphering the Molecular Mechanism of Water Interaction with Gelatin Methacryloyl Hydrogels: Role of Ionic Strength, pH, Drug Loading and Hydrogel Network Characteristics.

**Biomedicines**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 574, 19 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050574>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/9/5/574>.

WANG, H.; YAN, K.; CHEN, J. Preparation of hydroxyapatite microspheres by hydrothermal self-assembly of marine shell for effective adsorption of Congo Red. **Materials Letters**, [S. l.], v. 304, p. 130573, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130573>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X21012702>.

WANG, W.; ZHOU, C. A Journey of Nanomotors for Targeted Cancer Therapy: Principles, Challenges, and a Critical Review of the State-of-the-Art. **Advanced Healthcare Materials**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 2001236, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.202001236>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.202001236>.

WANG, X.; JIANG, J.; LIU, M.; YOU, C. Treatments of gliosarcoma of the brain: a systematic review and meta-analysis. **Acta Neurologica Belgica**, [S. l.], v. 121, n. 6, p. 1789–1797, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13760-020-01533-w>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13760-020-01533-w>.

WANG, X.; WEI, W.; GUO, Z.; LIU, X.; LIU, J.; BING, T.; YU, Y.; YANG, X.; CAI, Q. Organic–inorganic composite hydrogels: compositions, properties, and applications in regenerative medicine. **Biomaterials Science**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 1079–1114, 2024. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d3bm01766d>.

WANJALE, M. V.; SUNIL JAIKUMAR, V.; SIVAKUMAR, K.; ANN PAUL, R.; JAMES, J.; KUMAR, G. V. Supramolecular Hydrogel Based Post-Surgical Implant System for Hydrophobic Drug Delivery Against Glioma Recurrence. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], v. Volume 17, p. 2203–2224, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S348559>. Disponível em: <https://www.dovepress.com/supramolecular-hydrogel-based-post-surgical-implant-system-for-hydroph-peer-reviewed-fulltext-article-IJN>.

WARREN, K. T.; LIU, L.; LIU, Y.; MILANO, M. T.; WALTER, K. A. The Impact of Timing of Concurrent Chemoradiation in Patients With High-Grade Glioma in the Era of the Stupp Protocol. **Frontiers in Oncology**, [S. l.], v. 9, p. 186, 27 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00186>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2019.00186/full..>

WEI, Y.; SUN, R.; SU, H.; XU, H.; ZHANG, L.; HUANG, D.; LIANG, Z.; HU, Y.; ZHAO, L.; LIAN, X. Synthesis and characterization of porous CaCO<sub>3</sub> microspheres templated by yeast cells and the application as pH value-sensitive anticancer drug carrier. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 199, p. 111545, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111545>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776520309024>.

WU, Y.; LI, S.; CHEN, Y.; HE, W.; GUO, Z. Recent Advances of Noble Metal Complex based Photodynamic Therapy. **Chem. Sci.**, v. 2022, n.2444516, p. 1-30, 2022.

XIAO, W.; GAO, H.; QU, M.; LIU, X.; ZHANG, J.; LI, H.; YANG, X.; LI, B.; LIAO, X. Rapid microwave synthesis of hydroxyapatite phosphate microspheres with hierarchical porous structure. **Ceramics International**, v.44, n.6, p. 6144-6151, 2018.

XIAO, Y.; GU, Y.; QIN, L.; CHEN, L.; CHEN, X.; CUI, W.; LI, F.; XIANG, N.; HE, X. Injectable thermosensitive hydrogel-based drug delivery system for local cancer therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 200, p. 111581, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111581>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776521000254>.

XU, K.; WANG, Y.; XIE, Y.; ZHANG, X.; CHEN, W.; LI, Z.; WANG, T.; YANG, X.; GUO, B.; WANG, L. Anti-melanoma effect and action mechanism of a novel chitosan-based composite hydrogel containing hydroxyapatite nanoparticles. **Regenerative Biomaterials**, [S.L.], v. 9, n. -, p. 1-12, 2022. <http://dx.doi.org/10.1093/rb/rbac050>.

YANG, G.; PARK, S.-J. Conventional and Microwave Hydrothermal Synthesis and Application of Functional Materials: A Review. **Materials**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. 1177, 11 abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma12071177>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/12/7/1177>.

YANG, K.; ZHOU, Y.; HUANG, B.; ZHAO, G.; GENG, Y.; WAN, C.; JIANG, F.; JIN, H.; YE, C.; CHEN, J. Sustained release of tumor cell lysate and CpG from an injectable, cytotoxic hydrogel for melanoma immunotherapy. **Nanoscale Advances**, [S. l.], v. 5, n. 7, p. 2071–2084, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2NA00911K>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D2NA00911K>.

YAO, S.; QI, M.; QI, L.; DING, Y.; CHEN, M.; WANG, Y. Investigation of EDTA concentration on the size of carbonated flowerlike hydroxyapatite microspheres. **Royal Society Open Science**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. rsos.202148, 202148, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.202148>. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsos.202148>.

YAZDI, M. K.; VATANPOUR, V.; TAGHIZADEH, A.; TAGHIZADEH, M.; GANJALI, M. R.; MUNIR, M. T.; HABIBZADEH, S.; SAEB, M. R.; GHAEDI, M. Hydrogel membranes: A review. **Materials Science and Engineering: C**, [S. l.], v. 114, p. 111023, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111023>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493120312297>.

YE, P.; XIAO, F.; WEI, S. Biomineralization and Characterization of Calcite and Vaterite Induced by the Fungus *Cladosporium* sp. YPLJS-14. **Minerals**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 1344, 22 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/min13101344>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-163X/13/10/1344>.

YEH, Y.-C.; EBBING, T.; FRICK, K.; SCHMID-STAIGER, U.; HAASDONK, B.; TOVAR, G. E. M. Improving Determination of Pigment Contents in Microalgae Suspension with Absorption Spectroscopy: Light Scattering Effect and Bouguer–Lambert–Beer Law. **Marine Drugs**, [S. l.], v. 21, n. 12, p. 619, 29 nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21120619>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/21/12/619>.

YIN, Y.; LI, X.; MA, H.; ZHANG, J.; YU, D.; ZHAO, R.; YU, S.; NIE, G.; WANG, H. *In Situ* Transforming RNA Nanovaccines from Polyethylenimine Functionalized Graphene

Oxide Hydrogel for Durable Cancer Immunotherapy. **Nano Letters**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 2224–2231, 10 mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c05039>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.nanolett.0c05039>.

YU, M.; JI, X.; RAN, F. Chemically building interpenetrating polymeric networks of Bi-crosslinked hydrogel macromolecules for membrane supercapacitors. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 255, p. 117346, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117346>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861720315198>.

ZAFAR, B.; CAMPBELL, J.; COOKE, J.; SKIRTACH, A. G.; VOLODKIN, D. Modification of Surfaces with Vaterite CaCO<sub>3</sub> Particles. **Micromachines**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 473, 19 mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/mi13030473>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-666X/13/3/473>. Acesso em: 30 mar. 2026.

ZAFFARIN, A. S. M.; NG, S.-F.; NG, M. H.; HASSAN, H.; ALIAS, E. Nano-Hydroxyapatite as a Delivery System for Promoting Bone Regeneration In Vivo: A Systematic Review. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 2569, 29 set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11102569>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/11/10/2569>. Acesso em: 30 mar. 2026.

ZEESHAN, M.; DILSHAD, M. R.; ISLAM, A.; IQBAL, S. S.; AKRAM, M. S.; MEHMOOD, F.; GULL, N.; KHAN, R. U. Synergistic effect of silane cross-linker (APTEOS) on PVA/gelatin blend films for packaging applications. **High Performance Polymers**, [S. l.], v. 33, n. 7, p. 815–824, set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/0954008321994659>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0954008321994659>. Acesso em: 14 abr. 2026.

ZHANG, C; SHAN, S; HU, T; WANG, G; ZHI, Y; SU, H; JIANG, L; NI, Y. Recent progress on biomedical applications of functionalized hollow hydroxyapatite microspheres. **Ceramics International**, [S.L.], v. 47, n. 10, p. 13552-13571, maio 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.01.214>.

ZHANG, Y.; QIAO, L.; YAN, H.; ZIZAK, I.; ZASLANSKY, P.; LI, Y.; QI, L.; MA, Y. Vaterite Microdisc Mesocrystals Exposing the (001) Facet Formed via Transformation from Proto-Vaterite Amorphous Calcium Carbonate. **Crystal Growth & Design**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 3482–3492, 6 maio 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.0c00259>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.cgd.0c00259>.

ZHANG, Y.; ZHANG, L.; GAO, R.; ZHONG, L.; XUE, J. CaCO<sub>3</sub>-coated PVA/BC-based composite for the simultaneous adsorption of Cu(II), Cd(II), Pb(II) in aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 267, p. 118227, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118227>.

ZHENG, B; HE, Q; LI, X; YOON, J; HUANG, J. Phthalocyanines as contrast agents for photothermal therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 426, p. 213548, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213548>.

ZHOU, Z.; ZHANG, L.; ZHANG, Z.; LIU, Z. Advances in photosensitizer-related design for photodynamic therapy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 16, n. 6, p.

668–686, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.12.003>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1818087621000301>

ZUBIETA-OTERO, L. F.; LONDOÑO-RESTREPO, S. M.; LOPEZ-CHAVEZ, G.; HERNANDEZ-BECERRA, E.; RODRIGUEZ-GARCIA, M. E. Comparative study of physicochemical properties of bio-hydroxyapatite with commercial samples. **Materials Chemistry and Physics**, [S. l.], v. 259, p. 124201, fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.124201>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254058420315613>.

ZULKIFLEE, I.; FAUZI, M. B. Gelatin-Polyvinyl Alcohol Film for Tissue Engineering: A Concise Review. **Biomedicines**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. 979, 9 ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9080979>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/9/8/979>.

## ANEXO A: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO III CDNB



## ANEXO B: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO IV CDNB

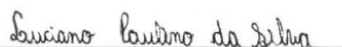


## ANEXO C: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO V CDNB





**V CONGRESSO DIGITAL DE  
NANOBIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA**

Certificamos que **Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio** apresentou o trabalho **Hidrogel de PVA - gelatina encapsulado com Cloro Alúminio Ftalocianina para uso como sistema de liberação modificada** de autoria de **Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrósio, Janicy Arantes Carvalho, Leandro José Raniero, Andreza Ribeiro Simioni** no formato de resumo simples e e-pôster no **V Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (V CDNB)**, realizado de 11 a 14 de junho de 2024 e organizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

  
\_\_\_\_\_

**Dr. Luciano Paulino da Silva**  
Coordenador Geral do V CDNB



## ANEXO D: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO VI CDNB



**VI CONGRESSO DIGITAL DE  
NANOBIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA**

Certificamos que **Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio** apresentou o trabalho **Sistema hidrogel de blenda polimérica contendo microesferas de hidroxiapatita: um estudo de intumescimento** de autoria de **Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrósio, Janicy Arantes Carvalho, Letícia Gabriela Machado Pinto, Julia Maria Fonseca, Andreza Ribeiro Simioni** no formato de resumo simples e e-pôster no **VI Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (VI CDNB)**, realizado de 10 a 13 de junho de 2025 e organizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

  
\_\_\_\_\_

**Dr. Luciano Paulino da Silva**  
Coordenador do VI CDNB



## ANEXO E: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO I SEBVAP



## ANEXO F: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO II SEBVAP



## ANEXO G: CERTIFICADO DE TRABALHO PREMIADO II SEBVAP



## ANEXO H: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO III SEBVAP



## ANEXO I: CERTIFICADO DE TRABALHO PREMIADO III SEBVAP



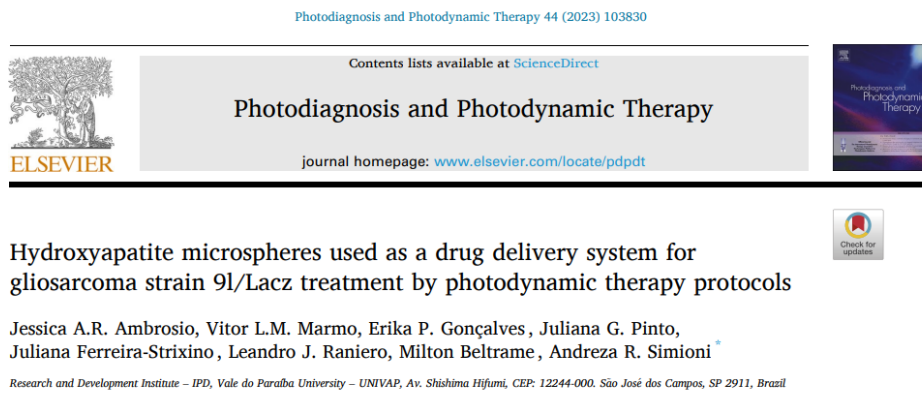
## ANEXO J: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO IV SEBVAP



## ANEXO K: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO 2º CONGRESSO CIENTÍFICO TECNOLÓGICO, REALIZADO DURANTE O 3º SCIENCE & BUSINESS CONNECTION



## ANEXO L: PUBLICAÇÃO DO PRIMEIRO ARTIGO ACADÊMICO REFERENTE A TESE



### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Chloroaluminium phthalocyanine  
Hydroxyapatite  
Photodynamic therapy  
Vaterite

### ABSTRACT

**Background:** Hydroxyapatite (HAp) presents similarities with the human bone structure and presents properties such as biodegradability, biocompatibility, and osteoconductivity, which favors its use in prostheses implants and enables its use as a vehicle for the delivery of photosensitizers (PS) from systems of release (DDS) for photodynamic therapy applications. **Methods:** In this work was synthesized hydroxyapatite microspheres (meHAp), encapsulated with chloroaluminium phthalocyanine (ClAlPc), for DDS. meHAp was synthesized using vaterite as a template. The drug was encapsulated by mixing meHAp and a 50.0 mg.mL<sup>-1</sup> ClAlPc solution. Photochemical, photophysical, and photobiological studies characterized the system. **Results:** The images from the SEM analysis showed the spherical form of the particles. All spectroscopic results showed excellent photophysical parameters of the drug studied when served in the meHAp system. The incorporation efficiency was 57.8%. The trypan blue exclusion test results showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in cell viability for the groups treated with PDT at all concentrations above 250 µg.mL<sup>-1</sup>. In 9 L/lacZ gliosarcoma cells, PDT mediated at concentrations from 250 to 62.5 µg.mL<sup>-1</sup> reduced cell viability by more than 98%. In the cell internalization study, it was possible to observe the internalization of phthalocyanines at 37 °C, with the accumulation of PS in the cytoplasm and inside the nucleus in the two tested concentrations. **Conclusions:** From all the results presented throughout the article, the meHAp system shows promise for use as a modified release system (DSD) in photodynamic therapy.

## ANEXO M: PUBLICAÇÃO DE ARTIGO TÉCNICO REFERENTE A TESE

# Uso de *templates* de vaterita na síntese de microesferas de hidroxiapatita por método hidrotérmico

Jéssica Aparecida Ribeiro Ambrosio<sup>1</sup>, Camilli Albernaz Gonçalves<sup>2</sup>, Erika Peterson Gonçalves<sup>3</sup>, Leandro José Raniero<sup>4</sup>, Milton Beltrame Júnior<sup>5</sup>, Andreza Ribeiro Simioni<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda em Engenharia Biomédica na Universidade do Vale do Paraíba, Brasil; <sup>2</sup> Graduanda em Química na Universidade do Vale do Paraíba, Brasil; <sup>3</sup> Doutora em Engenharia Aeronáutica e Mecânica pelo Instituto Tecnológico de Aeronáutica, Professora da Universidade do Vale do Paraíba, Brasil; <sup>4</sup> Doutor em Engenharia de Materiais pela Universidade Nova de Lisboa, Professor da Universidade do Vale do Paraíba, Brasil; <sup>5</sup> Doutor em Química pela Universidade de São Paulo, Professor da Universidade do Vale do Paraíba, Brasil; <sup>6</sup> Doutora em Química pela Universidade de São Paulo, Professora da Universidade do Vale do Paraíba, Brasil.

### Resumo

Este trabalho analisou a influência de parâmetros para otimizar a síntese de microesferas de hidroxiapatita (meHAp) a partir de templates de carbonato de cálcio na fase de vaterita. Foram testadas diferentes concentrações de solução de fosfato de sódio e tempos na autoclave pelo método hidrotérmico (via húmida) a partir de soluções precursoras de cloreto de cálcio e carbonato de sódio na presença de poli-(4-estireno-sulfonato de sódio (PSS) como estabilizante de fase. As amostras resultantes de todos os protocolos desenvolvidos foram avaliadas a partir de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a síntese selecionada como padrão foi analisada também por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

fonate (PSS)). The resulting samples from all protocols were evaluated using scanning electron microscopy (SEM) and the synthesis chosen as a standard was also analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The synthesized microspheres showed spherical morphology and FTIR bands corresponding to HAp structures in the main regions: 3200 (referring to the O-H bond), 1400 (referring to the C-O bond), 1018 (referring to the PSS) and 565 (referring to the P-O bond). The results obtained indicate that the synthesis protocol allowed obtaining HAp microspheres that can be used in the future as controlled drug delivery systems.

**Keywords:** Hydroxyapatite, hydrothermal method, template and vaterite

## ANEXO N: PRODUÇÃO ACADÊMICA

Nosso grupo de pesquisa concentra-se na área de nanotecnologia, sendo um dos enfoques de nossas pesquisas voltado para o desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação controlada de fármacos “*drug delivery systems*”, aplicados em TFD.

Durante o desenvolvimento da tese, além do seu enfoque, houve também o desenvolvimento de outros trabalhos de colaboração, resultando nas seguintes publicações:

- ✓ SILVA, Aline Cristiane De Oliveira; GOUVEA, Thainara Alves; AMBRÓSIO, Jéssica Aparecida Ribeiro; BELTRAME JUNIOR, Milton; LEITE, Priscila Maria Sarmeyro Correa Marciano; MORAIS, Flavia Villaça; SIMIONI, Andreza Ribeiro; GONÇALVES, Erika Peterson. Development of gelatin nanoparticles for the treatment of pathologies caused by *Paraccocideoides brasiliensis*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 12, p. e165111234460, 10 set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34460>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/34460>.
- ✓ MARMO, Vitor Luca Moura; AMBRÓSIO, Jéssica A. R.; GONÇALVES, Erika Peterson; RANIERO, Leandro José; BELTRAME JUNIOR, Milton; PINTO, Juliana G.; FERREIRA-STRIXINO, Juliana; SIMIONI, Andreza R. Vaterite microparticle-loaded methylene blue for photodynamic activity in macrophages infected with *Leishmania braziliensis*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 8, p. 1977–1989, ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00426-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s43630-023-00426-0>.
- ✓ PINTO, Juliana Guerra; LANERI, Francesca; BRAMBILLA, Isabelle De Paula Ribeiro; BARBOSA SILVA DE AZEVEDO, Maria Clara; AMBRÓSIO, Jéssica A. R.; SIMIONI, Andreza R.; FRAIX, Aurore; SORTINO, Salvatore; FERREIRA-STRIXINO, Juliana. Curcumin-loaded bovine serum albumin (BSA) nanoparticles: photoreactivity and photodynamic action against *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus*. **New Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 48, n. 31, p. 13783–13793, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1039/D4NJ01576B>. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D4NJ01576B>.
- ✓ MORAIS, Eduardo Beraldo De; NASCIMENTO, Marielle Xavier; VASCONCELOS, Leonardo Gomes De; GOLIN, Rossean; LOPES, Paulo Renato Matos; AMBROSIO, Jéssica Aparecida Ribeiro; SIMIONI, Andreza Ribeiro. Exploring the *Dipteryx alata* fruit endocarp as a novel source for the synthesis of silver nanoparticles: antibacterial and photocatalytic insights for water purification. **Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development**, [S. l.], v. 14, n. 7, p. 552–564, 1 jul. 2024. DOI: <https://doi.org/10.2166/washdev.2024.025>. Disponível em: <https://iwaponline.com/washdev/article/14/7/552/102867/Exploring-the-Dipteryx-alata-fruit-endocarp-as-a>.

- ✓ CORRÊA, Cassiano Ricardo Reinehr; DE SIQUEIRA, Adriano Buzutti; MATOS LOPES, Paulo Renato; AMBROSIO, Jéssica Aparecida Ribeiro; SIMIONI, Andreza Ribeiro; DE VASCONCELOS, Leonardo Gomes; DE MORAIS, Eduardo Beraldo. Green synthesis of iron nanoparticles from the baru ( *Dipteryx alata* ) endocarp extract for the efficient removal of rhodamine B and caffeine from water through the heterogeneous Fenton process. **AQUA — Water Infrastructure, Ecosystems and Society**, [S. l.], v. 73, n. 4, p. 771–789, 1 abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.2166/aqua.2024.300>. Disponível em: <https://iwaponline.com/aqua/article/73/4/771/101203/Green-synthesis-of-iron-nanoparticles-from-the>.
  
- ✓ MARCOLINO, Luciana Maria Cortez; AMBROSIO, Jessica Ar; PINTO, Juliana Guerra; FERREIRA, Isabelle; SIMIONI, Andreza R; FERREIRA-STRIXINO, Juliana. Photodynamic therapy of cationic and anionic BSA-curcumin nanoparticles on amastigotes of *Leishmania braziliensis* and *Leishmania major* and *Leishmania amazonensis*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [S. l.], v. 46, p. 104001, abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104001>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100024000401>.
  
- ✓ GOUVEA, Thainara Alves; RIBEIRO AMBRÓSIO, Jessica Aparecida; CARVALHO, Janicy Arantes; MOURA MARMO, Vitor Luca; CORTEZ MARCOLINO, Luciana Maria; PINTO, Juliana Guerra; FERREIRA-STRIXINO, Juliana; SIMIONI, Andreza Ribeiro; GONÇALVES, Erika Peterson. Methylene blue functionalized ZnO nanoparticles: A promising approach for photodynamic therapy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Biomaterials Applications**, [S. l.], v. 40, n. 5, p. 605–617, nov. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1177/08853282251350317>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/08853282251350317>.
  
- ✓ CARVALHO, J. A.; AMBROSIO, J. A. R.; MARCOLINO, L. M. C.; SIMIONI, A. R. Synthesis and Characterization of Chloroaluminium Phthalocyanine Incorporated in PLA/Gelatin Bionanocomposites for Photodynamic Therapy. *In*: SOARES, Alcimar Barbosa; LEONI, Renata Ferranti; CARDOSO, George Cunha (org.). **XXIX Brazilian Congress on Biomedical Engineering - Volume 2: Tissue Engineering, Clinical Engineering and Computational Modeling in Biomedical Engineering**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2025. v. 126, p. 1119–1127. (IFMBE Proceedings). DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-031-94921-0\\_120](https://doi.org/10.1007/978-3-031-94921-0_120). Disponível em: [https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-94921-0\\_120](https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-94921-0_120).