

Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Departamento de Física

**Nanopartículas Cintiladoras para o Tratamento Simultâneo com
Radioterapia e Terapia Fotodinâmica**

Natasha Policei Marques

Ribeirão Preto – SP

2023

VERSÃO CORRIGIDA

Natasha Policei Marques

**Nanopartículas Cintiladoras para o Tratamento Simultâneo com
Radioterapia e Terapia Fotodinâmica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador: Prof. Dr. Éder José Guidelli

Ribeirão Preto – SP

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Natasha Policei Marques

Nanopartículas Cintiladoras para o Tratamento Simultâneo com Radioterapia e Terapia Fotodinâmica.

Ribeirão Preto, 2023.

60 p.: il.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador: Éder José Guidelli

1. Nanodispositivos; 2. X-PDT; 3. Radioluminescência; 4. Lantanídeos; 5. Fluoreto de Estrôncio dopado com Európio

Dedicada aos meus pais, Evandro (in memoriam) e Tereza, que sempre me apoiaram em todos os momentos da minha vida. Vocês são exemplos de dedicação, superação e generosidade. Sem vocês eu não seria nada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que fizeram parte do processo de construção desta pesquisa, em especial:

Ao meu orientador, Prof. Dr. Éder José Guidelli pela oportunidade, incentivo, paciência e dedicação ao me orientar ao longo dessa jornada. Sou muito grata pelo conhecimento compartilhado comigo, os quais moldaram a pessoa que sou hoje. Além do seu papel como orientador, quero destacar o ser humano admirável que você é. Sua gentileza e cuidado pelos seus alunos deixaram uma marca indelével em mim.

Aos amigos e colegas do grupo Nanodose, pela convivência, por nossos cafés e momentos de descontração. Em especial, à Mileni, Gabriel e Iara que sempre me ajudaram quando precisei. Vocês foram fundamentais ao longo desses anos.

À minha mãe, Maria Tereza, que é exemplo de força e amor, você me ensinou a nunca desistir dos meus sonhos e a sempre seguir em frente, mesmo diante das adversidades da vida. Obrigada por ser meu exemplo de coragem, perseverança e amor incondicional.

Ao meu pai, Evandro (*in memoriam*), minha maior saudade. Obrigada por todo amor, apoio e por ter sido meu grande protetor. Sua memória estará sempre viva em meu coração e em cada conquista que alcançar.

Ao meu irmão, Yuri Policei, por ser meu companheiro e um exemplo inspirador em minha vida. Seu amor e seu humor me deram forças para seguir em frente, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao meu namorado e amigo, Caio Cesar, por todo amor, carinho e incentivo nesses anos. Tem sido um privilégio fazer parte da sua vida, compartilhando risos, lágrimas, sonhos e desafios.

Aos meus sogros, Jonas e Cleuza, por todo apoio e carinho. Vocês são exemplos de generosidade, compaixão e amor familiar.

Aos meus amigos, em especial, à Kareen Patrícia e Bruna, pelos anos de amizade, conforto e confiança.

Ao Laboratório de Biofísica Molecular – LBM e ao Prof. Dr. Antônio José da Costa Filho pela disponibilização dos equipamentos.

Ao Laboratório de Físico-Química de Superfícies e Colóides e a Prof^a. Dr^a. Ana Paula Ramos pela contribuição e disponibilização dos equipamentos.

Ao Laboratório de Materiais Luminescentes Micro e Nanoestruturados – Mater Lumen e a Prof^a. Dr^a. Rogéria Rocha Golçalves pela parceria e disponibilização dos equipamentos. Em especial, à Hayra pela parceria e colaboração.

A todos os funcionários, professores e colaboradores da FFCLRP, em especial, Eldereis de Paula, Lourenço Rocha e Nilza Marina Leone Marino por toda a disponibilidade e dedicação.

À CAPES, pelo imprescindível suporte financeiro nesta pesquisa.

Muito Obrigada!

Nanopartículas Cintiladoras para o Tratamento Simultâneo com Radioterapia e Terapia Fotodinâmica

RESUMO

Nanopartículas (NPs) baseadas em lantanídeos têm despertado considerável interesse em pesquisas devido à sua capacidade de combinar as propriedades de diversos materiais, a fim de atender necessidades específicas em uma ampla gama de aplicações. O processo de dopagem das partículas através de diferentes lantanídeos permite o ajuste da emissão luminescente. Como resultado, é possível desenvolver NP com propriedades ópticas apropriadas para cada aplicação em particular. Uma das aplicações possíveis para essas nanopartículas é através de novas técnicas de tratamento de câncer, como a combinação da Terapia Fotodinâmica (PDT) e a Radioterapia (RT), a chamada X-PDT. Na X-PDT, as NPs atuam como transdutoras de energia, sendo excitadas pela radiação ionizante (raios X) e emitindo radioluminescência (RL) que, por sua vez, ativa o material fotossensibilizador. Considerando que a maioria dos fotossensibilizadores absorve luz na região do espectro azul, é notável que poucos nanocintiladores de alta eficiência emitem nessa mesma região espectral. Dessa forma, fica evidente a necessidade do desenvolvimento de NPs cintiladoras com emissão de luz na região do azul. Neste trabalho, nanopartículas de fluoreto de estrôncio dopadas com Európio ($\text{SrF}_2:\text{Eu}$) foram sintetizadas pelo método de coprecipitação. As propriedades radioluminescente (RL) e morfológicas foram exploradas. As NPs $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ apresentaram morfologia cúbica e emissão RL com uma banda larga entre o violeta e o azul, centralizada na região de interesse, em aproximadamente 416 nm. Aplicações em X-PDT também foram exploradas. As nanopartículas foram conjugadas a porfirina TMPyP em uma estrutura *core-shell* obtida por LbL ($\text{SrF}@PAA/\text{TMPyP}$), resultando na produção de $^1\text{O}_2$ sob irradiação de raios X, com máximo de $^1\text{O}_2$ para NPs com 6 camadas de TMPyP. A toxicidade do conjugado $\text{SrF}@PAA/\text{TMPyP}$ também foi avaliada em bactérias *E. coli. Rosetta*. O conjugado irradiado com raios X foi o que apresentou maior dano as bactérias. Portanto, $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ produzido neste trabalho apresenta propriedades potenciais para aplicações em tratamentos tumorais unindo RT e PDT.

Palavras-chave: Nanodispositivos; X-PDT; Radioluminescência; Lantanídeos; Fluoreto de Estrôncio dopado com Európio.

Scintillating Nanoparticles for Simultaneous Treatment with Radiotherapy and Photodynamic Therapy

ABSTRACT

Nanoparticles (NPs) based on lanthanides have attracted considerable interest in research due to their ability to combine the properties of various materials to meet specific needs in a wide range of applications. The doping process of particles through different lanthanides allows for adjustment of luminescent emission. As a result, it is possible to develop NPs with optical properties suitable for each particular application. One possible application for these nanoparticles is through new cancer treatment techniques, such as the combination of Photodynamic Therapy (PDT) and Radiation Therapy (RT), the so-called X-PDT. In X-PDT, the NPs act as energy transducers, being excited by ionizing radiation (X-rays) and emitting radioluminescence (RL), which in turn activates the photosensitizer material. Considering that most photosensitizers absorb light in the blue spectrum region, it is noteworthy that few high-efficiency nanoscintillators emit in the same spectral region. Thus, the need for the development of scintillating NPs with light emission in the blue region is evident. In this work, europium-doped strontium fluoride nanoparticles ($\text{SrF}_2:\text{Eu}$) were synthesized by coprecipitation method. Radioluminescent (RL) and morphological properties were explored. The $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ NPs presented a cubic morphology and RL emission with a broad band between violet and blue, centered in the region of interest, at approximately 416 nm. X-PDT applications were also explored. The nanoparticles were conjugated with TMPyP porphyrin in a core-shell structure obtained by LbL ($\text{SrF}@\text{PAA}/\text{TMPyP}$) and resulted in the production of $^1\text{O}_2$ under X-ray irradiation, with a maximum of $^1\text{O}_2$ for NPs with 6 layers of TMPyP. The toxicity of the $\text{SrF}@\text{PAA}/\text{TMPyP}$ conjugate was also evaluated in *E. coli*. Rosetta bacteria. The X-ray irradiated $\text{SrF}@\text{PAA}/\text{TMPyP}$ NPs provided reduced bacterial growth compared to the controls. Therefore, the $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ produced in this work presents potential properties for applications in tumor treatments combining RT and PDT.

Keywords: Nanodevices; X-PDT; Radioluminescence; Lanthanides; Europium-doped Strontium Fluoride.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais transições luminescentes dos lantanídeos na região visível do espectro eletromagnético.....	3
Figura 2 - Diagrama dos níveis de energia dos íons Eu^{2+} e Eu^{3+}	6
Figura 3 - Mecanismos fotofísicos e fotoquímicos da PDT.....	10
Figura 4 - (a) Estrutura molecular básica da porfirina. (b) Espectro de absorção do derivado tetrakis(4-metoxifenil) porfirina (TMPP). (c) Estrutura da porfirina meso-Tetra(n-metil-4-piridil) (TMPyP) utilizada neste estudo.....	11
Figura 5 – Caracterização de $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes proporções EG/ H_2O . Imagens MET de $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com proporções EG/ H_2O de 0%:100% (a) e 50%:50% (c), e seus respectivos histogramas (b) e (d). (e) Espectro RL para amostras de $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ sintetizadas com diferentes proporções EG/ H_2O	20
Figura 6 - (a) Espectro de radioluminescência para amostras de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopante. (b) Área total, área Eu^{2+} e área Eu^{3+} em função da concentração de dopante.....	21
Figura 7 – (a) Difratoograma para SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopante. (b) Tamanho dos cristalitos em função da concentração de Európio.....	23
Figura 8 - Ilustração da mudança da densidade de carga superficial causada pela substituição do Sr^{2+} na rede hospedeira por um íon de Eu^{3+} . O sombreamento vermelho ao redor do íon Eu^{3+} indica o aumento das cargas negativas na troca iônica.....	24
Figura 9 – (a) Espalhamento dinâmico da luz para amostra de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopantes. (b) Raio hidrodinâmico em função da concentração de Európio.....	25
Figura 10 - Imagens MET das NPs $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações do dopante e seus histogramas de distribuição de tamanho, respectivamente: (a) (b) (c) Síntese com 1% de Európio. (d) (e) (f) Síntese com 5% de Európio – Barra de escala: (a) (b) (d) 200 nm. (e) 100 nm.....	26
Figura 11 - Espectros normalizados relacionados à absorção da porfirina (espectro laranja) e emissão de radioluminescência $\text{SrF}_2:\text{Eu}^{2+}$ (espectro azul).....	27
Figura 12 – Ilustração do mecanismo de crescimento das camadas de PAA e TMPyP nas NPs ($\text{SrF}@PAA/\text{TMPyP}$).....	28
Figura 13 – (a) Espectro UV-Vis da TMPyP e $\text{SrF}@PAA/\text{TMPyP}$. (b) Valores absolutos da absorvância em função do número de bicamadas.....	29

Figura 14 - Espectro de radioluminescência de NPs e SrF@PAA/TMPyP com diferentes bicamadas em suspensão.....	30
Figura 15 - Espalhamento dinâmico da luz para amostras SrF2:Eu e SrF@PAA/TMPyP com diferentes bicamadas.....	31
Figura 16 - Imagens MET das partículas SrF@PAA/TMPyP e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanho: (a) (b) NPs com 1 bicamada. Barra de escala: 200 nm. (c) (d) NPs com 6 bicamadas. Barra de escala: 500 nm.....	32
Figura 17 - (a) Espectros ESR de SrF2:Eu puro em PBS irradiadas e não irradiadas com marcador TPC. (b) Espectros ESR de SrF@6PAA/TMPyP em PBS irradiadas e não irradiadas com marcador TPC.....	33
Figura 18 - Intensidade relativa ESR para NPs com 0, 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas PAA/TMPyP.....	34
Figura 19 – Perfis de crescimento de E. coli Rosetta (DE3) em meio LB não irradiadas e irradiadas (50 Gy – 160KVp). As barras de erro são os desvios padrão obtidos medindo quatro amostras diferentes para cada condição.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Razão da intensidade entre $\text{Eu}^{3+}/\text{Eu}^{2+}$ em função das concentrações de Európio..	22
Tabela 2 - Potencial zeta para amostras de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopante.	25

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DLS	Dynamic Light Scattering
EG	Etilenoglicol
EPR	Enhanced Permeability and Retention
ESR	Electron Spin Resonance
LbL	Layer by Layer
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
NP	Nanopartícula
PAA	Polyacrylic acid
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDI	Index Polidispersity
PDT	Photodynamic Therapy
PS	Photosensitizer
RL	Radioluminescência
ROS	Reactive Oxygen Species
RT	Radioterapia
ScNP	Scintillating Nanoparticles
SrF₂:Eu	Fluoreto de Estrôncio dopado com Európio
SrF₂@PAA/TMPyP	Fluoreto de Estrôncio com camadas de ácido poliacrílico e porfirina
TMPyP	Porfirina meso-Tetra(n-metil-4-piridil)
X-PDT	X-ray activated photodynamic therapy

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	3
2.1. NANOPARTÍCULAS	3
2.1.1. Lantanídeos	3
2.1.2. Európio	4
2.1.3. Matriz Hospedeira	6
2.2. COMBINANDO RADIOTERAPIA E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT): X-PDT	7
2.2.1. Fotossensibilizador (PS)	9
2.2.1.1. Porfirina	10
2.2.2. Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)	11
2.3. OBJETIVO	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 MATERIAL	13
3.2. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS	14
3.2.1 Síntese de nanopartículas de Fluoreto de Estrôncio dopadas com Európio (SrF ₂ :Eu) em diferentes proporções de Etilenoglicol e Água	14
3.2.2 Síntese de nanopartículas de Fluoreto de Estrôncio dopadas com diferentes concentrações de Európio (SrF ₂ :Eu)	14
3.3. CARACTERIZAÇÃO	14
3.3.1. Radioluminescência (RL)	14
3.3.2. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS) e Potencial Zeta	15
3.3.3. Difração de Raios X	15
3.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	15
3.4. COMBINANDO RADIOTERAPIA (RT) E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)	16
3.4.1. Síntese de NPs de SrF ₂ :Eu conjugadas a Porfirina (TMPyP)	16
3.4.2. Espectroscopia UV-Visível	16
3.4.3. Radioluminescência (RL)	16
3.4.4. Medidas da Produção de Oxigênio Singlete	17
3.4.5. Citotoxicidade	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	18

4.1. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE FLUORETO DE ESTRÔNCIO DOPADAS COM EURÓPIO (SrF₂:EU) EM DIFERENTES PROPORÇÕES DE ETILENOGLICOL E ÁGUA.....	18
4.2. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE FLUORETO DE ESTRÔNCIO DOPADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EURÓPIO (SRF₂:EU).....	20
4.2.1. Radioluminescência (RL).....	21
4.2.2. Difração de Raios X (DRX).....	22
4.2.3. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS).....	24
4.2.4. Potencial Zeta.....	25
4.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	26
4.3. COMBINANDO RADIOTERAPIA (RT) E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)	27
5. CONCLUSÃO.....	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

1. INTRODUÇÃO

O câncer é considerado o principal desafio para a saúde pública mundial, uma vez que é uma das principais causas de mortalidade [1], [2]. Segundo o Observatório Global do Câncer (GLOBOCAN - *Global Cancer Observatory*), a estimativa para 2025 é de 21,6 milhões de novos casos de câncer no mundo[3]. Na prática clínica, uma das principais abordagens para o tratamento de diversos tipos de câncer é a radioterapia (RT). A RT utiliza radiação ionizante com alto poder de penetração nos tecidos que é capaz de destruir ou diminuir as células cancerígenas, através de danos causados ao DNA do tecido canceroso de forma altamente eficiente. No entanto, apesar da capacidade de causar danos letais às células cancerígenas, a radiação ionizante apresenta elevada toxicidade para o tecido sadio, uma vez que o dano ao DNA não é específico às células cancerígenas, mas a qualquer célula (saudável ou não) que entrar em contato com a radiação ionizante. Conseqüentemente, o controle da dosagem da radiação administrada aos pacientes é muito importante, estabelecendo um equilíbrio entre o controle do crescimento tumoral e a redução da complicação em tecidos sadios ao redor do tumor [4]–[6].

O avanço da nanotecnologia permitiu o surgimento de novas estratégias e metodologias para aumentar a eficácia do diagnóstico e tratamento do câncer, os quais exploram as propriedades singulares dos materiais na escala nanométrica [7], [8]. Dentre esses novos materiais, as nanopartículas (NP) têm sido amplamente estudadas com foco em aplicações na biologia e na medicina, apresentando potencial significativo para terapia de diversas doenças além do câncer [7], [9].

Um dos maiores desafios da medicina é desenvolver dispositivos que possam interagir especificamente com o alvo biológico afetado por doenças. Para o tratamento de tumores, o uso de materiais em nanoescala é particularmente relevante devido ao efeito de aumento da permeabilidade e retenção (EPR - *Enhanced Permeability and Retention*), definido por uma maior permeabilidade vascular e uma redução na drenagem linfática dos tumores. Como resultado, as NPs podem se acumular de forma seletiva no tumor, aumentando a eficácia do tratamento [10], [11].

Há uma variedade de nanopartículas com propriedades e aplicações singulares, como as metálicas[12], orgânicas[13], semicondutoras[14], magnéticas[15], cintiladoras[16], entre outras. Em particular, as nanopartículas cintiladoras (ScNPs) têm sido desenvolvidas para unir propriedades terapêuticas e diagnósticas em um único material, denominados de agentes

teranósticos. Os nanocintiladores são sensíveis à radiação ionizante, e sua cintilação ou radioluminescência (RL) permite a detecção da dose de radiação entregue ao tecido-alvo durante a terapia. Além disso, podem fornecer informações detalhadas sobre a localização e extensão de um tumor, bem como de avaliar a resposta do tumor à terapia, em tempo real [17], [18]. Particularmente, as NPs baseadas em Lantanídeos, como as desenvolvidas neste trabalho, demonstraram ser promissoras como cintiladores [19], [20]. Em virtude da alta relação superfície-volume, tamanhos e cargas de superfície ajustáveis, esses nanodispositivos também podem atuar como transportadores de drogas ou outros agentes terapêuticos, como os fotossensibilizadores (PS – *Photosensitizer*) [9], [21]. Uma vez conjugadas, as nanopartículas cintiladoras podem atuar como transdutoras de energia para o material fotossensível, tornando-se possível combinar duas terapias amplamente utilizadas: Terapia Fotodinâmica (PDT - *Photodynamic Therapy*) e RT [9], [22], [23].

A PDT é uma técnica que utiliza a combinação de uma substância fotossensibilizadora, oxigênio e luz visível para gerar espécies reativas que serão tóxicas às células. Porém, essa técnica possui limitações na profundidade de penetração da luz visível nos tecidos, realizando tratamentos mais superficiais [6], [24]. Visando ampliar as aplicações da PDT, Chen e Zhang sugeriram em 2006 a PDT ativada por raios X (X-PDT), como uma alternativa à terapia fotodinâmica convencional, utilizando raios X como fonte de energia ao invés de luz visível [23]. Embora haja PSs que possam ser ativados por raios X, sua quantidade é limitada [24], [25], o que justifica a proposta de combinar NPs com PSs. Portanto, a X-PDT pode melhorar os resultados terapêuticos e reduzir os danos da radiação ao tecido sadio para o tratamento de câncer profundo.

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo o desenvolvimento de nanopartículas de fluoreto de estrôncio dopadas com európio ($\text{SrF}_2:\text{Eu}$) conjugadas ao fotossensibilizador porfirina (TMPyP). Além disso, a caracterização morfológica, estrutural e radioluminescente, bem como a funcionalização das nanopartículas e testes de toxicidade foram realizados, visando o desenvolvimento de nanodispositivos para possíveis aplicações unindo Radioterapia e Terapia fotodinâmica.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. NANOPARTÍCULAS

2.1.1. Lantanídeos

Os lantanídeos formam um conjunto de 15 elementos químicos que correspondem aos elementos que vão do Lantânio, de número atômico 57, ao Lutécio, de número atômico 71. Esses elementos receberam atenção devido às suas propriedades químicas e ópticas, incluindo baixa toxicidade, banda de emissão estreita, longa vida útil e boa fotoestabilidade [24], [26].

O estado de oxidação mais comum e estável para esses elementos é o trivalente (+3), com elétrons ocupando de forma progressiva os níveis de energia 4f, seguindo a configuração [Xe] 4fⁿ 5d¹ 6s² (n = 0-14). Conseqüentemente, essas configurações eletrônicas geram uma grande variedade de níveis de energia, possibilitando emissões em uma ampla faixa espectral, no infravermelho próximo, através dos íons Ho⁺³, Nd⁺³, Er⁺³ e Tm⁺³, emissões no visível a partir do Sm⁺³, Eu⁺³, Tb⁺³, Dy⁺³, Ho⁺³, Er⁺³ e Tm⁺³, como apresentado na Figura 1, e emissões na região do ultravioleta através do Gd⁺³ [24], [27]–[29].

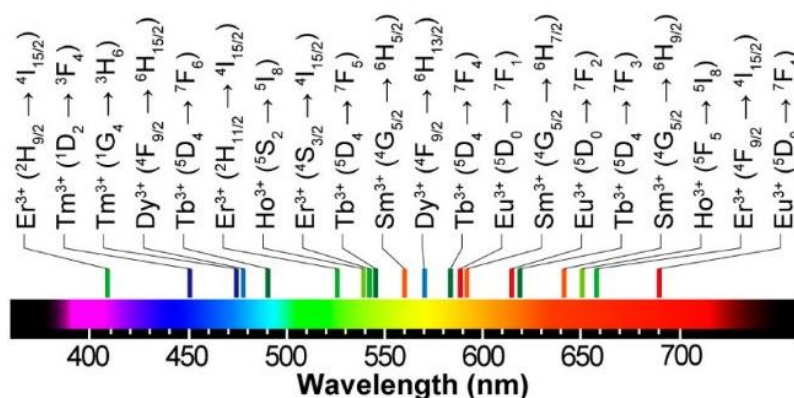


Figura 1 - Principais transições luminescentes dos lantanídeos na região visível do espectro eletromagnético – adaptado [30].

O orbital 4f é o mais interno e é blindado eletrostaticamente pelos orbitais 5s² e 5p⁶ por terem um raio mais externo. Como resultado, as transições eletrônicas no orbital f não são afetadas de forma significativa pelo campo cristalino presente no interior das matrizes ou ligantes nos quais estão inseridos, e assim os íons apresentam comportamento semelhante aos íons livres. Além disso, as transições f-f isoladas são proibidas segundo a regra de Laporte, uma vez que não são permitidas as transições da mesma paridade para moléculas ou íons centrossimétricos (lantanídeos na fase gasosa). As transições f-f serão permitidas quando a

simetria do íon for removida com um campo externo anti-simétrico. De acordo com essa regra, as transições acompanhadas da troca de paridade tornam-se parcialmente permitidas, como ocorre para as transições f-d [27], [28], [31].

As principais transições eletrônicas nos lantanídeos ocorrem pelo mecanismo de dipolo elétrico (DE), que são geradas a partir da interação do íon lantanídeo com o vetor campo elétrico através de um dipolo elétrico. Outro mecanismo responsável pelas transições eletrônicas, ainda que menos frequente, é o dipolo magnético (DM). Transições DM são causadas pelas interações dos íons lantanídeos com o componente do campo magnético através de um dipolo magnético. A intensidade de uma transição de dipolo magnético é amplamente independente do ambiente e possuem intensidade de emissão mais fraca [27], [32]

Além da dependência da configuração eletrônica, o estado oxidativo trivalente (3+) também depende do balanço entre as energias de ionização e ligação e, no caso de soluções, também é dependente da energia de solvatação. Uma vez que a remoção de um quarto elétron do orbital 4f requer muita energia, os íons trivalentes se tornam mais frequentes. Ainda que menos comum, alguns íons lantanídeos são encontrados em outros estados oxidativos, como os íons de Térbio, Praseodímio e Neodímio, que podem apresentar estado oxidativo tetravalente (4+) e são comumente encontrados em sólidos, na forma de fluoretos ou óxidos, uma vez que apresentam instabilidade em soluções. Os íons de Európio também podem ser encontrados na forma divalente (2+), mas possuem fácil oxidação para o estado trivalente quando se encontram em soluções e complexos [28]. Neste trabalho, utilizou-se o lantanídeo Európio como íon dopante, com interesse em seu estado oxidativo divalente.

2.1.2. Európio

Dentre os lantanídeos, o Európio (número atômico 63) tem atraído atenção devido as suas propriedades ópticas e seu potencial de aplicação tecnológico como dispositivos luminescentes, sondas marcadoras de biomoléculas, entre outras aplicações [28]. Os íons de Európio são excelentes dopantes, uma vez que possuem luminescência em ambos estados oxidativos, divalente e trivalente. A intensidade de emissão de ambos é fortemente dependente da composição da matriz hospedeira, bem como a concentração de dopagem. Os estados oxidativos revelam características distintas como centros emissores [33], [34], como ilustrado na Figura 2 através dos diagramas de níveis de energia.

Em algumas matrizes hospedeiras, a emissão dos íons divalentes é caracterizada por um campo cristalino fraco e composta por linhas nítidas referentes às transições $4f^7 \rightarrow 4f^7$ (${}^6P_{7/2} \rightarrow {}^8S_{7/2}$) proibidas por paridade. No entanto, na maioria dos hospedeiros, o campo cristalino possui força suficiente para mover o estado excitado mais baixo da configuração eletrônica ($4f^65d^1$) para uma região abaixo do nível ${}^6P_{7/2}$. Enquanto os orbitais 4f do Eu^{2+} permanecem praticamente imperturbáveis, a energia dos orbitais 5d é facilmente influenciada pelos ligantes. Assim, as propriedades de emissão características deste íon bivalente incluem uma ampla banda de emissão (390–580 nm). Como resultado, tem-se a transição $4f^65d^1 \rightarrow 4f^7$ (${}^8S_{7/2}$), permitida por paridade [33].

Os íons Európio trivalentes apresentam luminescência laranja-avermelhada e sua emissão ocorre das transições f-f intraconfiguracionais, com origem do estado 5D_0 para o estado 7F_J ($J = 0$ a 6). Uma das características típicas ao espectro do íon Eu^{3+} é a transição estreita nos espectros de absorção e luminescência. Além disso, as transições ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_5$ e ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_6$ exibem intensidade muito baixa e raramente são observadas nos espectros. Assim, o número de linhas observadas no espectro de luminescência para as transições ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ está relacionado a simetria do sítio do íon trivalente [33], [35].

A coexistência de íons Eu^{3+} e Eu^{2+} , como material dopante, foi identificada em alguns materiais como fósforos[36], vidros[37] ou filmes[38] durante a síntese ou preparados sob atmosfera de redução. Geralmente a atmosfera de redução, como H_2 ou CO , é necessária para reduzir Eu^{3+} a Eu^{2+} na síntese de materiais luminescentes. No entanto, em alguns outros casos, a atmosfera redutora não é necessária para a conversão, podendo ser alcançada por irradiação de raios gama, irradiação a laser, altas temperaturas ou sob atmosfera de N_2 , ar e O_2 [39], [40].

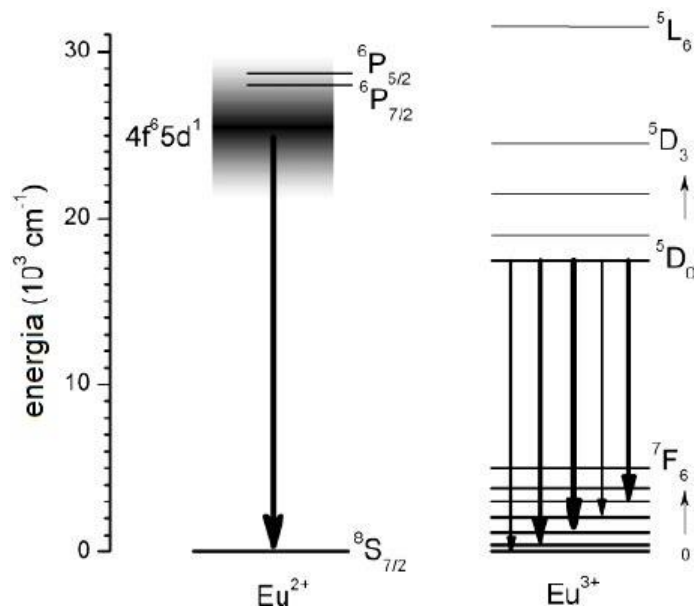


Figura 2 - Diagrama dos níveis de energia dos íons Eu^{2+} e Eu^{3+} - adaptado [33].

2.1.3. Matriz Hospedeira

A escolha da matriz hospedeira é fundamental para o desenvolvimento de materiais luminescentes uma vez que as propriedades da matriz, como estruturas cristalinas, eletrônicas e vibracionais, podem determinar aspectos importantes ao material desenvolvido. Dentre esses aspectos estão a eficiência quântica, intensidade de emissão, tempo de vida da emissão e estabilidade do material luminescente. Além disso, a escolha da matriz pode afetar a sensibilidade do material a estímulos externos, como temperatura, pressão e umidade [41]–[43].

A estrutura cristalina será responsável pela distribuição dos íons dopantes na estrutura da matriz, como a distância entre os íons dopantes, o número de coordenação e o número de sítios de simetria ocupados. Normalmente, os materiais hospedeiros requerem correspondências de rede próximas com íons dopantes. Íons alcalino-terrosos (Ca^{2+} , Sr^{2+} e Ba^{2+}) e alguns íons de metais de transição (Zr^{4+} e Ti^{4+}) possuem raio iônico próximo aos íons lantanídeos, favorecendo o movimento e ocupação do sítio na rede hospedeira [41]–[43].

O processo de dopagem é acompanhado pela formação de defeitos nos cristais, como vacâncias de cátions e ânions intersticiais que são usados para manter a neutralidade de carga. Esses efeitos podem gerar níveis de energia entre a banda de valência e a banda de condução da matriz hospedeira, além de poder provocar a quebra da simetria do campo cristalino ao redor

dos íons de terras raras, levando ao aumento ou supressão da intensidade de luminescência. A ocupação do íon lantanídeo em mais de um sítio de simetria pode originar um importante alargamento não homogêneo de suas bandas de emissão [27], [41].

As propriedades vibracionais da matriz hospedeira estão relacionadas aos fônons, ou seja, à oscilação coletiva da rede, gerando um movimento de vibração que pode aumentar ou diminuir os processos de transferência de energia não radiativa [27], [44].

Muitas pesquisas foram publicadas sobre materiais hospedeiros, como granada de ítrio e alumínio (YAG)[45], [46], óxido de zinco (ZnO)[47], óxido de ítrio (Y₂O₃)[48]. No entanto, materiais à base de fluoreto, como fluoreto de cálcio (CaF₂)[49], fluoreto de lantânio (LaF₃), fluoreto de gadolínio (GdF₃)[50] e fluoreto de estrôncio (SrF₂)[51], [52] foram extensivamente estudados durante a última década como hospedeiros de íons lantanídeos. A matriz de SrF₂ foi selecionada para este estudo devido às suas propriedades ópticas, como *bandgap* largo, baixa energia de fônons e ampla janela de transparência, bem como suas propriedades físicas, como baixo índice de refração, alta resistência à radiação, resistência mecânica e baixa higroscopicidade [51]–[54].

2.2. COMBINANDO RADIOTERAPIA E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT):

X-PDT

A Terapia Fotodinâmica é uma modalidade minimamente invasiva para o tratamento do câncer [20], [55], [56] e relativamente nova, tendo sido reportada pela primeira vez em 1900 por Raab [57]. A PDT pode causar dano oxidativo para células tumorais através da ativação de um fotossensibilizador (PS - *Photosensitizer*) por um comprimento de onda específico da luz, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS - *Reactive Oxygen Species*) [20], [22], [24], [58], [59].

O dano provocado pela PDT pode causar morte às células cancerosas e/ou danificar micro vasos tumorais, ocasionando isquemia tecidual. Essa modalidade terapêutica tem sido utilizada na clínica para tratamentos de diferentes tipos de câncer, incluindo tumores em regiões profundas, como esôfago, pulmão, bexiga, próstata, cabeça e pescoço. Porém, para os tumores localizados nessas regiões, são necessárias tecnologias avançadas de entrega de luz que permitem a iluminação de certas cavidades internas [20], [55].

No entanto, a aplicação da PDT convencional é limitada pois a maioria dos fotossensibilizadores, como os derivados de porfirina, absorvem nas regiões ultravioleta ou visível. Essa absorção pode se sobrepor ao espectro de absorção dos tecidos biológicos, dificultando a aplicação para tumores profundos, devido à baixa profundidade de penetração da luz, que pode ser de até 2,5 mm [22], [60], [61]. Embora a luz na faixa de 650-1300 nm, conhecida como janela terapêutica, penetre até 10 mm no tecido, pois o espalhamento da luz prevalece em relação à absorção, essa distância não é suficiente para tratar tumores profundos. Para que a PDT seja eficaz em todo o corpo, é necessário que haja eficiência na entrega luminosa ao fotossensibilizador [20], [55], [58].

Uma solução potencial frente a essa limitação é o uso da radiação ionizante como fonte de energia para ativação da PDT, a chamada X-PDT. O uso dos raios X como fonte de energia viabiliza a integração da Radioterapia e da Terapia Fotodinâmica, uma vez que os raios X possuem maior poder de penetração no tecido. Para essa integração são necessárias nanopartículas cintiladores/radioluminescentes como mediadoras energéticas, capazes de converter raios X em luz UV/visível para a ativação dos PSs, visto que grande parte dos PSs não absorvem diretamente a energia dos raios X [22], [24], [55]. Enquanto a maioria dos fotossensibilizadores com alto rendimento absorvem luz na região azul, poucos nanocintiladores de alta eficiência emitem nessa região espectral [23], o que ressalta a carência do desenvolvimento de nanopartículas cintiladoras com emissão azul.

Além do papel de transdutoras de energia, as nanopartículas funcionam como transportadoras dos PS, melhorando a capacidade de direcionamento ativo e direcionamento passivo pelo efeito EPR [11], [62]. Para o direcionamento passivo, as NPs tendem a ter longos períodos de circulação no organismo e se concentram preferencialmente nos tumores devido ao efeito EPR. Essa distribuição preferencial ocorre devido a presença de lacunas nas paredes dos vasos sanguíneos dos tumores e à má drenagem linfática do tecido. Para o direcionamento ativo, ligantes de direcionamento modificado, como substâncias bioativas, podem ser conjugados a superfície das NPs, aumentando a absorção delas através do reconhecimento desses ligantes por receptores específicos presentes nas células tumorais [11], [22], [62]–[64].

Dessa forma, o uso de raios X e nanopartículas cintiladoras é promissor para aplicação da PDT em tumores profundos. Nas próximas sessões serão discutidos os principais conceitos que abrangem a X-PDT.

2.2.1. Fotossensibilizador (PS)

Os fotossensibilizadores são moléculas com capacidade de interação com a luz, que na presença de oxigênio, produz ROS, como oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), entre outros. O crescente interesse na PDT desencadeou um aumento no desenvolvimento de novos PSs. Estes PSs podem ser desenvolvidos por meio de sínteses mais complexas ou por sínteses relativamente simples a partir de materiais naturais, como a porfirina [65], [66].

Os derivados da porfirina pertencem ao grupo de PSs mais estudados. O Photofrin®, pertencente a esse grupo, foi o primeiro PS aprovado em muitos países para o tratamento de diversos tumores, incluindo câncer de esôfago, pulmão e bexiga [66]–[68]. No Brasil, o primeiro PS aprovado para aplicação clínica da PDT pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi o Photogem®, também derivado da porfirina [66].

Para que os PSs sejam aprovados para aplicações clínicas junto à PDT é necessário atender uma série de requisitos. Eles devem possuir baixos níveis de toxicidade no escuro e baixa incidência de toxicidade administrativa, como hipotensão ou reação alérgica. Além disso, devem apresentar rápida eliminação farmacocinética para que não haja necessidade de proteção à luz após o tratamento [68], [69].

O mecanismo de ativação do PS ocorre a partir da absorção de energia incidente pelos elétrons do estado fundamental (S_0), que migram para o estado singlete excitado (S_1), como ilustrado na Figura 3. Em seguida, podem ocorrer dois tipos de reações. Parte da energia absorvida pelos elétrons no estado S_1 pode ser liberada ao retornar para estado fundamental através da fluorescência, com tempo de vida curto (nanossegundos). Outra possibilidade é o cruzamento intersistema, em que os elétrons do nível S_1 se movem para o estado excitado tripleto (T_1) e podem retornar ao estado fundamental através da fosforescência, com tempo de vida longa (microssegundos), ou interagir com o oxigênio molecular e produzir ROS [22], [70], [71].

A produção das ROS, a partir do estado excitado tripleto dos PSs, podem ocorrer por dois tipos de reações. Na via tipo I, o elétron reage com moléculas do meio, formando radicais que podem interagir com o oxigênio, produzindo radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais de oxigênio ($\cdot\text{O}_2$), entre outros. Na via tipo II, a energia é transferida diretamente para o oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$), formando oxigênio singlete [22], [70], [72]. O oxigênio singlete é uma molécula altamente reativa de oxigênio devido à presença de dois

elétrons desemparelhados em sua camada externa, o que o torna altamente instável e propenso a reagir com outras espécies para atingir uma configuração mais estável. Diferentemente do oxigênio singleto, o oxigênio molecular no estado de oxigênio tripleto é mais estável e menos reativo. Isso se deve ao fato de que o oxigênio tripleto possui uma configuração eletrônica na qual seus elétrons estão todos emparelhados, o que torna menos provável que ele reaja com outras substâncias [73], [74].

As vias tipo I e II podem ocorrer de forma simultânea, dependendo do PS utilizado e de suas concentrações, bem como as concentrações de oxigênio presentes no meio [22], [70], [72].

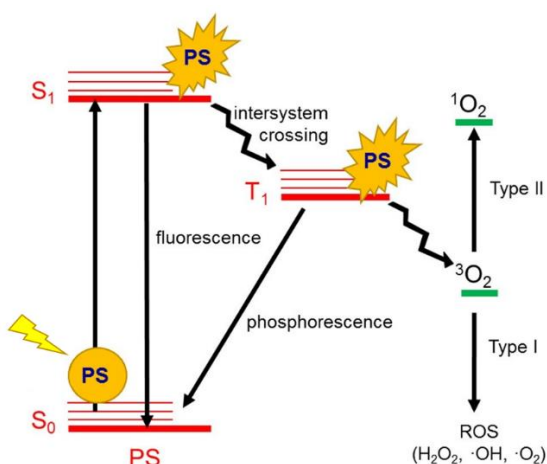


Figura 3 - Mecanismos fotofísicos e fotoquímicos da PDT [22].

2.2.1.1. Porfirina

As porfirinas são moléculas orgânicas de coloração intensa que possuem estrutura de um anel heterocíclico formado por quatro anéis pirrol e grupos funcionais, como exibido na Figura 4 (a). As porfirinas de ocorrência natural apresentam variações no número e no tipo de grupos funcionais. Adicionalmente, elas podem possuir um átomo central na molécula. Exemplos dessas porfirinas são o grupo heme, com um átomo de ferro no centro, um composto funcional presente em várias proteínas, como a hemoglobina e o citocromo; bem como a clorofila e a bacterioclorofila que possuem um átomo de magnésio no centro. Dessa forma, as porfirinas e seus derivados realizam funções importantes no funcionamento de muitos sistemas bioquímicos, como a fotossíntese e o transporte e armazenamento de oxigênio [59], [65], [66].

As porfirinas e seus derivados tornaram-se os principais compostos usados na PDT, em razão de propriedades como alta fotoestabilidade, estabilidade química, intensa absorção na região espectral do visível e infravermelho próximo (janela fototerapêutica), e reações fotoinduzidas eficientes com oxigênio molecular. Além disso, os derivados de porfirina possuem alta afinidade com lipoproteínas de baixa densidade presentes em células tumorais, favorecendo o acúmulo desses compostos nessas células [75]–[77].

Os derivados de porfirina possuem banda de absorção relativamente grande em torno de 420 nm, denominada de banda de Soret, e um conjunto de quatro bandas de baixa absorção para os comprimentos de onda na região do verde e vermelho, em aproximadamente 518, 554, 585 e 630 nm, chamados de bandas Q [65], [75], [78], como demonstrado na Figura 4 (b).

Devido às características necessárias para um bom PS e por ter uma banda de absorção sobreposta à emissão RL das nanopartículas SrF₂:Eu, o derivado da porfirina usado neste trabalho foi o meso-Tetra(n-metil-4-piridil) (TMPyP), com estrutura molecular apresentada na Figura 4 (c). A TMPyP é um fotossensibilizador que gera preferencialmente o oxigênio singlete que, por sua vez, interage eletrostaticamente com o DNA, induzindo maior citotoxicidade [79]–[81].

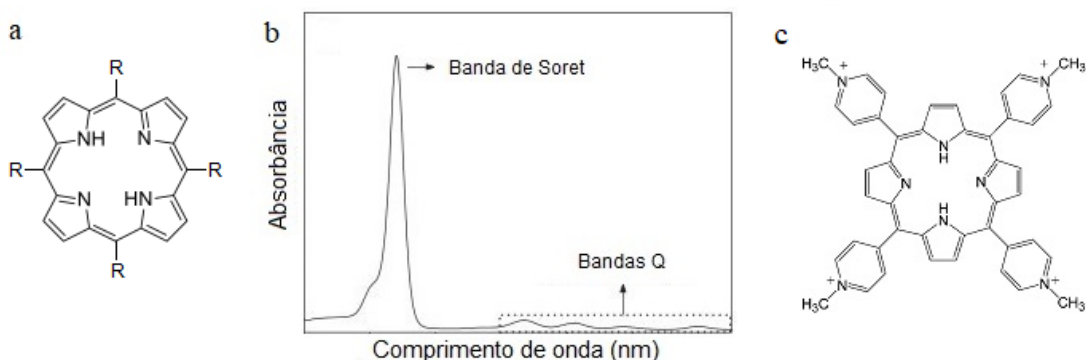


Figura 4 - (a) Estrutura molecular básica da porfirina – adaptado [82]. (b) Espectro de absorção do derivado tetrakis(4-metoxifenil) porfirina (TMPP) – adaptado [83]. (c) Estrutura da porfirina meso-Tetra(n-metil-4-piridil) (TMPyP) utilizada neste estudo – adaptado [84].

2.2.2. Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)

Espécies reativas de oxigênio são compostos químicos altamente reativos, formados pelo oxigênio molecular. São compostos que possuem um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais atômicos, o que caracteriza sua instabilidade e elevada reatividade. Como

mencionado, as ROS abrangem peróxidos (H_2O_2), superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^\cdot) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). No âmbito biológico, a produção de ROS ocorre fora e dentro das células, a partir de diversas reações bioquímicas, como resultado do metabolismo do oxigênio de uma atividade celular normal. Esses mecanismos de produção podem ser induzidos por uma variedade de agentes externos, como poluentes, metais pesados, tabaco ou radiação [22], [65], [85]–[87].

O radical hidroxila é muito reativo, removendo os elétrons de qualquer molécula do seu caminho e, dessa forma, transforma qualquer molécula em um radical livre. Porém, o peróxido de hidrogênio é potencialmente mais prejudicial que o radical hidroxila pois a sua reatividade é menor, o que possibilita tempo suficiente para a molécula chegar no núcleo da célula e reagir com o DNA. O oxigênio singlete não é um radical e possui meia vida de 10^{-5} s. Além disso, oxida os componentes celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos [88].

As ROS desempenham um papel importante nas vias de sinalização celular sendo constantemente geradas e eliminadas no sistema biológico. No entanto, quando o aumento dos seus níveis ultrapassa a capacidade de defesa antioxidante das células (estresse oxidativo), elas passam a ter efeitos nocivos. Esses efeitos compreendem danos ao DNA e RNA, oxidação de ácidos graxos poli-insaturados em lipídios, oxidação de aminoácidos em proteínas e desativação oxidativa de enzimas específicas por oxidação de cofatores. O aumento das ROS está associado ao desenvolvimento de várias doenças, como câncer, distúrbios cardiovasculares, neurodegenerativos e metabólicos [17], [85], [87], [89].

As células cancerígenas possuem maior estresse oxidativo quando comparadas às células saudáveis, devido ao aumento da atividade metabólica e mau funcionamento das mitocôndrias. Baixos níveis de ROS favorecem a sobrevivência das células cancerígenas pois fatores de crescimento e inflamação crônica são reguladas pelas ROS. Porém, o alto nível de ROS pode suprimir o crescimento tumoral, induzir a morte celular e a senescência por macromoléculas. Os danos provocados pelas ROS em terapias contra o câncer podem causar morte autofágica, apoptose mediada por receptor, necrose, dano ao DNA e ainda sinalização de produção secundária de ROS. Quanto maior a combinação desses danos, melhor será a resposta da terapia. A PDT se destaca quando comparada a outras técnicas dependentes de ROS, uma vez que essas espécies podem ser geradas mesmo em condições de hipóxia, através da via tipo I, mencionada anteriormente nos processos de ativação do PS. Os mecanismos de produção de

ROS através dessa via possuem dependência muito menor que a via tipo II. Um exemplo disso é a produção do radical hidroxila que ocorre de forma independente de oxigênio [17], [90].

2.3. OBJETIVO

Neste trabalho, nanopartículas de fluoreto de estrôncio dopadas com Európio divalente (SrF₂:Eu) foram sintetizadas e caracterizadas e, em seguida, combinadas com a porfirina TMPyP para verificar seu potencial em aplicações como nanodispositivos para combinar as técnicas de RT e PDT. As propriedades radioluminescente dessas nanopartículas foram exploradas, bem como sua morfologia e tamanho através de mudança de parâmetro no momento da síntese. Após a otimização desses parâmetros, as nanopartículas foram conjugadas a porfirina TMPyP (SrF@PAA/TMPyP) e sua capacidade de gerar ¹O₂ foi investigada. A produção de ¹O₂ a partir da porfirina TMPyP e sua interação com as nanopartículas sob irradiação de raios X foram verificadas através da técnica de Espectroscopia de Ressonância de Spin Eletrônico (ESR - *Electron Spin Resonance*). A citotoxicidade do conjugado SrF@PAA/TMPyP foi avaliada através do monitoramento da curva de crescimento da *Escherichia coli* nas condições não irradiadas e irradiadas por raios X.

Nesse sentido, esperava-se:

- ❖ Nanopartículas com emissão luminescente na região azul do espectro;
- ❖ Partículas na escala nanométrica;
- ❖ Produção de oxigênio singlete para SrF@PAA/TMPyP sob irradiação com raios X;
- ❖ Baixa toxicidade quando não irradiada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Cloreto de Európio (III) Hexahidratado (Cl₃Eu·6H₂O, 99,9%), 2,2,5,5-Tetrametil-3-pirrolina-3-carboxamida (TPC) e Etilenoglicol (99%) foram obtidos por Sigma-Aldrich. Nitrato de Estrôncio (Sr(NO₃)₂) e Fluoreto de Amônio (NH₄F) fornecidos por Dinâmica e Vetec, respectivamente. Meso-Tetra(n-metil-4-piridil) Porfirina (TMPyP) foi adquirido por Midcentury Chemicals. Ácido poliacrílico (PM = 1800).

3.2. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS

3.2.1 Síntese de nanopartículas de Fluoreto de Estrôncio dopadas com Európio (SrF₂:Eu) em diferentes proporções de Etilenoglicol e Água

Nanopartículas de fluoreto de estrôncio dopadas com európio foram sintetizadas pelo método de co-precipitação, em diferentes proporções de etilenoglicol e água (95:5%, 50:50%, 25:75% e 0:100%) para produzir um volume total de 180 mL. Inicialmente dissolveram-se 7,02 mmol de Sr(NO₃)₂ e 2.5 mol% de EuCl₃ em água sob agitação a 40 °C por 10 minutos. Em seguida, o etilenoglicol foi adicionado. Após a solução ter sido agitada por 60 minutos, 14,05 mmol de NH₄F foi acrescentado. A mistura foi agitada durante 12 h. O precursor foi separado por centrifugação por 30 minutos em 10000 G e lavado com água por 4 vezes para remover os produtos residuais da reação. Por fim, a solução obtida foi seca a 100 °C por 3 horas.

3.2.2 Síntese de nanopartículas de Fluoreto de Estrôncio dopadas com diferentes concentrações de Európio (SrF₂:Eu)

Nanopartículas de fluoreto de estrôncio dopadas com diferentes concentrações de európio (1, 2.5, 5 e 10 mol%) foram sintetizadas em uma proporção de 50:50% de EG/H₂O. com volume total de 180 mL. Inicialmente dissolveram-se 7,02 mmol de Sr(NO₃)₂ e x mol de EuCl₃ em água sob agitação a 40 °C por 10 minutos. Em seguida, o etilenoglicol foi adicionado. Após a solução ter sido agitada por 60 minutos, 14,05 mmol de NH₄F foi acrescentado. A mistura ficou sob agitação durante 12 h. O precursor foi separado por centrifugação por 30 minutos em 10000 G e lavado com água por 4 vezes para remover os produtos residuais da reação. Por fim, a solução obtida foi seca a 100 °C por 3 horas.

3.3. CARACTERIZAÇÃO

3.3.1. Radioluminescência (RL)

As medidas de radioluminescência (RL) foram realizadas utilizando um tubo de raios X (X ray Magnum, Moxtek, EUA) operando a 48 kVp e 0,2 mA. A emissão foi coletada através de uma fibra óptica acoplada a um espectrômetro Ocean Optics (USB4000) com tempo de

integração de 30s para amostras secas e 60s para amostras conjugas à porfirina, e analisada pelo programa SpectraSuite. Os dados foram analisados utilizando o software Origin (OriginPro8).

3.3.2. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS) e Potencial Zeta

A carga superficial e a distribuição das partículas foram medidas usando a técnica do espalhamento dinâmico da luz (DLS - *Dynamic Light Scattering*) através do sistema Zeta-Sizer (Malvern Instruments). Os dados foram coletados em um ângulo fixo de 90° e um comprimento de onda fixo (633 nm/laser He-Ne). As soluções foram adicionadas a uma célula de acrílico de 1 cm. O algoritmo utilizado como método de análise foi o NNLS (NonNegative Least Squares), que determina o melhor ajuste por mínimos quadrados. Os dados foram analisados utilizando o software Origin (OriginPro8).

3.3.3. Difração de Raios X

As medidas de difração de raios X (DRX) foram realizadas utilizando o método em pó com o aparelho SIEMENS-BRUKER D5005, que utiliza cátodo de cobre e monocromador de grafite para selecionar a região de emissão $K\alpha_1$ do cobre ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). O potencial na fonte foi de 40 kV e a corrente foi de 40 mA. Os difratogramas foram registrados a 0,02°/s para valores de 2θ variando entre 10 e 90°. Amostras em pó foram preparadas para obter difratogramas para verificar a natureza cristalina e a estrutura dos nanocristais. Os dados foram analisados utilizando o software Origin (OriginPro8).

3.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia e tamanho de algumas amostras foram analisadas utilizando uma microscopia eletrônica de transmissão JEOL-JEM-100 CXII. As amostras foram gotejadas em um retículo de cobre recoberto com um polímero condutor e submetidas a um processo de secagem à temperatura ambiente. As amostras de NP para imagens de MET foram preparadas em água Mili-Q™. Os dados foram analisados usando o software Imag-J.

3.4. COMBINANDO RADIOTERAPIA (RT) E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)

3.4.1. Síntese de NPs de SrF₂:Eu conjugadas a Porfirina (TMPyP)

Inicialmente foram preparadas duas soluções estoque para a conjugação das NPs e a porfirina. A primeira foi uma solução estoque na concentração de 1 μ M de porfirina (TMPyP). A segunda foi uma solução de 20% em massa de ácido poliacrílico (PAA - *Polyacrylic acid*). Foram produzidas bicamadas de PAA e Porfirina nas seguintes etapas: 1 mL da solução de PAA foi misturada em 30 mg de NP e processadas em um sonicador (Branson 450 Digital Sonifier® - Sonitech) por 10 minutos (10s de pulso e 10s de intervalo) em amplitude de 10%. Após essa etapa a amostra foi centrifugada a 16000G por 30 minutos. O sobrenadante foi removido e 1 mL de água Mili-Q™ foi adicionado para remover as moléculas de PAA não ligadas. Após 10 minutos no ultrassom de ponteira, seguindo as mesmas configurações, a amostra foi então centrifugada com os mesmos parâmetros. O sobrenadante foi removido e 1 mL da solução de Porfirina foi adicionado, levado ao ultrassom de ponteira e depois centrifugado novamente. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuspenso em água Mili-Q™, através do ultrassom de ponteira, com o intuito de remover as moléculas de Porfirina não ligadas. Dessa forma, as nanopartículas de SrF₂:Eu foram cobertas com 1 bicamada de PAA/Porfirina, levando a nanopartículas *core-shell* de SrF@PAA/TMPyP. Este processo foi repetido várias vezes para produzir nanopartículas cobertas com 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas.

3.4.2. Espectroscopia UV-Visível

Amostras das NPs SrF@PAA/TMPyP foram analisada pelo espectrofotômetro UV-vis Ultrospec 2100 Pro System (Biochrom Ltd., UK). Amostras em suspensão foram diluídas em água Mili-Q™ para avaliar a aderência da porfirina a superfície das NPs a partir dos espectros de absorção. Os dados foram analisados utilizando o software Origin (OriginPro8).

3.4.3. Radioluminescência (RL)

As medidas de RL foram realizadas usando um tubo de raios-X (X-ray Magnum, Moxtek, EUA) operando a 48 kVp e 0,2 mA. A emissão foi coletada através de uma fibra óptica acoplada a um espectrômetro Ocean Optics (USB4000) com tempo de integração de 60s para

amostras conjugadas com porfirina e analisadas usando o programa SpectraSuite. Os dados foram analisados usando o software Origin (OriginPro8).

3.4.4. Medidas da Produção de Oxigênio Singleto

Após o crescimento das bicamadas de PAA e porfirina nas NPs, a produção de oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) foi verificado através da Espectroscopia de Ressonância de Spin Eletrônico (ESR), usando o marcador de $^1\text{O}_2$ denominado 2,2,5,5-Tetrametil-3-pirrolina-3-carboxamida (TPC). Para isso, uma solução estoque 1 mol. L⁻¹ do marcador de spin TPC foi preparada em etanol. Em seguida, 60 μL desta solução foram adicionados a 1 mL das nanopartículas SrF@TMTYP em uma solução tampão fosfato-salino (PBS - *Phosphate Buffered Saline*). Metade da solução foi reservada e a outra metade foi irradiada com um feixe de 48kVp e dose de 50 Gy. Os espectros de ressonância de spin eletrônico foram obtidos à temperatura ambiente, em um espectrômetro JEOL-JES-FA 200 (9,5 GHz). Foram adotados os seguintes parâmetros: potência de microondas de 2 mW, campo central de 335,6 mT, largura de varredura de 15 mT, tempo de varredura de 2 min, amplitude de modulação de 2 mT, ganho de amplificador de 10.000X e um total de cinco varreduras para obter a média do sinal para cada amostra. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

3.4.5. Citotoxicidade

As células de *Escherichia coli* Rosetta (DE3) foram cultivadas a 37 °C em meio LB (Luria Bertani) com cloranfenicol (34 $\mu\text{g}/\text{mL}$) em densidade óptica (OD) de 1,0. Um pequeno volume foi diluído em 100 mL do novo meio LB até a DO de 0,08 e dividido em dois volumes (bactérias e bactérias com SrF@6TMPyP) para duas condições de irradiação: escuro e dose de 50 Gy de raios X (GE-Isovolt Titan E-160M-2, 160 kVp e 10 mA). Após a irradiação, a turbidez foi medida para analisar o crescimento bacteriano (absorbância em 600 nm) durante agitação constante a 37 °C ao longo de 16 h em um equipamento Multiskan Go (Thermo Scientific, EUA). Cada amostra foi analisada quatro vezes e os resultados foram normalizados de acordo com a DO no tempo igual a 0 h. Para cada uma das condições foram realizadas medidas de quatro amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE FLUORETO DE ESTRÔNCIO DOPADAS COM EURÓPIO (SrF₂:EU) EM DIFERENTES PROPORÇÕES DE ETILENOGLICOL E ÁGUA

Inicialmente as nanopartículas SrF₂:Eu foram sintetizadas em diferentes proporções de etilenoglicol e água. O etilenoglicol (EG) é um solvente orgânico comumente utilizado no preparo de nanopartículas, sendo capaz de influenciar na solubilidade, difusão e reatividade dos reagentes durante a cristalização, podendo resultar em partículas com características morfológicas distintas [91], [92]. Dessa forma, a fim de avaliar a ação do EG na morfologia e tamanho da nanopartícula, diferentes proporções de EG foram usados no processo de síntese. As sínteses foram realizadas com a proporção de Európio fixa de 2,5% mol. As proporções de EG/H₂O utilizadas foram respectivamente de 95:5 vol.%, 50:50 vol.%, 25:75 vol.% e 0:100 vol.%. Devido à insolubilidade do Nitrato de Estrôncio no etilenoglicol, não foi possível realizar a proporção de 100:0%.

A análise MET foi realizada para as amostras de 0% e 50% do volume de EG, como apresentada nas figuras 5 (a) e (c), respectivamente, bem como seus referentes histogramas das distribuições de tamanho das partículas (b) e (d). Nota-se que a presença de EG provoca mudanças na morfologia e na distribuição de tamanho das partículas, uma vez que a amostra contendo 0% de EG exibe morfologia disforme com aglomerados e um tamanho médio de 54 ± 27 nm. Quando a proporção de EG aumenta para 50% as partículas exibem morfologia cúbica, com ligeiros aglomerados e tamanho médio de 26 ± 8 nm. Essa mudança ocorre pois o etilenoglicol além de atuar como solvente, também possui capacidade de adsorver à superfície das partículas, agindo como um agente estabilizante, limitando o crescimento e suprimindo a aglomeração das partículas [92]–[96]. Esse efeito também foi observado por Wang et al. que, ao sintetizar partículas de (Y,Gd)₂O₃:Dy³⁺, substituindo parcialmente a água pela adição de etilenoglicol, analisou mudança gradual na morfologia de esfera para flor, além da redução do tamanho da esfera com a adição de EG [97]. Outro estudo, também modificando as proporções de EG/H₂O, realizado por Sun et al., observou mudanças na morfologia de partículas de NaYF₄:Yb/Er, partindo de nanoesferas, passando por nanofolhas, microfolhas e, por fim, atingindo a morfologia de microprismas [98].

A Figura 5 (e) revela a RL das amostras em pó para as diferentes proporções EG e H₂O. É possível observar a emissão característica dos íons Európio em seus dois estados oxidativos,

Eu^{2+} e Eu^{3+} , para as diferentes concentrações do solvente. A emissão do Eu^{2+} exibe uma banda larga entre o violeta e o azul, com emissão centralizada em aproximadamente 416 nm, que pode ser atribuída a transição $4f^65d^1 \rightarrow 4f^7$ [99]. As emissões em 590 nm, 615 nm, 650 nm e 696 nm correspondem ao Eu^{3+} , originadas das transições de $^5\text{D}_0$ para $^7\text{F}_1$, $^7\text{F}_2$, $^7\text{F}_3$ e $^7\text{F}_4$, respectivamente [100].

Embora o EG desempenhe um papel importante na rota proposta, aumentar sua concentração acima da proporção 50:50% de EG/ H_2O diminuiu o Eu^{2+} e aumentou a intensidade de cintilação do Eu^{3+} . A Figura 5 (e) revela que a proporção 50:50% de EG/ H_2O resulta na intensidade máxima de cintilação, maximizando a cintilação de ambos os estados de oxidação do Eu. Quando o volume de EG aumenta de 0% para 50%, o tamanho médio da partícula diminui de 54 nm para 26 nm, causando um aumento na razão superfície/volume. Como o Eu apresenta um raio atômico ligeiramente menor que o Sr, a dopagem provavelmente ocorre via substituição dos íons divalentes Sr na matriz de flúor. Portanto, a redução de Eu^{3+} para Eu^{2+} ocorre para compensação de carga da rede cristalina, uma vez que o Sr é um íon bivalente. Nesse sentido, a presença de íons Eu^{3+} seria permitida apenas em locais de defeitos superficiais, enquanto Eu^{2+} ocorreria apenas em locais internos do cristal devido à compensação de carga e porque o Eu^{2+} é facilmente oxidado se estiver na superfície do cristal em uma atmosfera de oxigênio. No entanto, o aumento da área superficial nas nanopartículas menores, leva a uma melhor acomodação dos íons Eu^{3+} nas superfícies das nanopartículas, comprometendo o Eu^{2+} no volume das partículas. De acordo com estudo realizado por Zavala-Sanchez et al., a distribuição espacial dos dopantes Eu^{2+} e Eu^{3+} na rede da hidroxiapatita depende de seu estado de valência. A emissão de Eu^{3+} foi gerada nas bordas e superfícies da hidroxiapatita, demonstrando sua localização no cristal. Enquanto a emissão de Eu^{2+} foi gerada de forma homogênea nas microestruturas, indicando que esses íons foram acomodados em todo volume da partícula [101]. Portanto, os resultados sugerem que a emissão azul do Eu^{2+} depende fortemente do tamanho da nanopartícula.

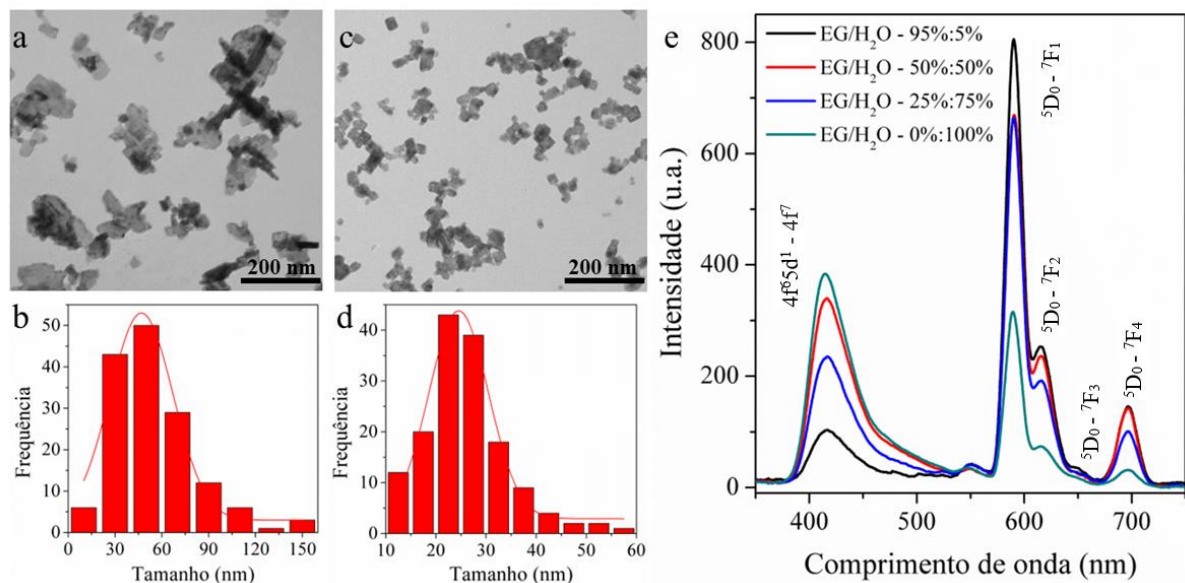


Figura 5 – Caracterização de SrF₂:Eu com diferentes proporções EG/H₂O. Imagens MET de SrF₂:Eu com proporções EG/H₂O de 0%:100% (a) e 50%:50% (c), e seus respectivos histogramas (b) e (d). (e) Espectro RL para amostras de SrF₂:Eu sintetizadas com diferentes proporções EG/H₂O.

Uma vez que a emissão de interesse para o desenvolvimento deste trabalho é a emissão do Európio em seu estado oxidativo Eu²⁺ (região de interesse em 420 nm), a síntese realizada com proporção de 50:50% de EG/H₂O foi a que apresentou maior intensidade de emissão RL em meio a EG. Como as nanopartículas serão recobertas com material fotossensibilizador, a intensidade de emissão é um fator importante visando uma alta eficiência na entrega de energia para o fotossensibilizador. Além disso, a proporção 50:50% revelou morfologia uniforme e tamanho dentro da escala nanométrica.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE FLUORETO DE ESTRÔNCIO DOPADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EURÓPIO (SRF₂:EU)

A concentração de dopante durante a síntese de nanopartículas pode afetar o processo de dopagem, uma vez que baixas concentrações podem não ser suficientes para causar a incorporação de íons na matriz hospedeira. Já concentrações muito altas de dopante podem levar a interações indesejadas. Como resultado, podem ser observadas variações na emissão radioluminescente, bem como efeitos nos tamanhos das partículas [51], [52], [102]–[104].

4.2.1. Radioluminescência (RL)

Após definir a proporção ideal de EG/H₂O para a síntese de SrF₂:Eu, foram testadas diferentes concentrações de dopante para encontrar uma nanopartícula com as propriedades desejadas. A Figura 7 (a) mostra os espectros de emissão de RL das NPs de SrF₂:Eu em pó, variando a concentração de Európio em 0%, 1%, 2,5%, 5% e 10%. Nota-se que a emissão característica dos íons Európio em seus dois estados oxidativos se mantém nos comprimentos de onda observados anteriormente. A matriz de SrF₂ possui emissão em torno de 325 nm, mas devido a intensa emissão do Európio, se torna imperceptível. A intensidade de emissão de Eu³⁺ aumenta com o aumento da concentração do dopante. O mesmo não ocorre para a emissão do Eu²⁺, visto que para a maior concentração, 10 % mol, a intensidade RL do Eu²⁺ é a menor de todas. Essa relação das intensidades também pode ser observada através da integral da área dos espectros na Figura 7 (b).

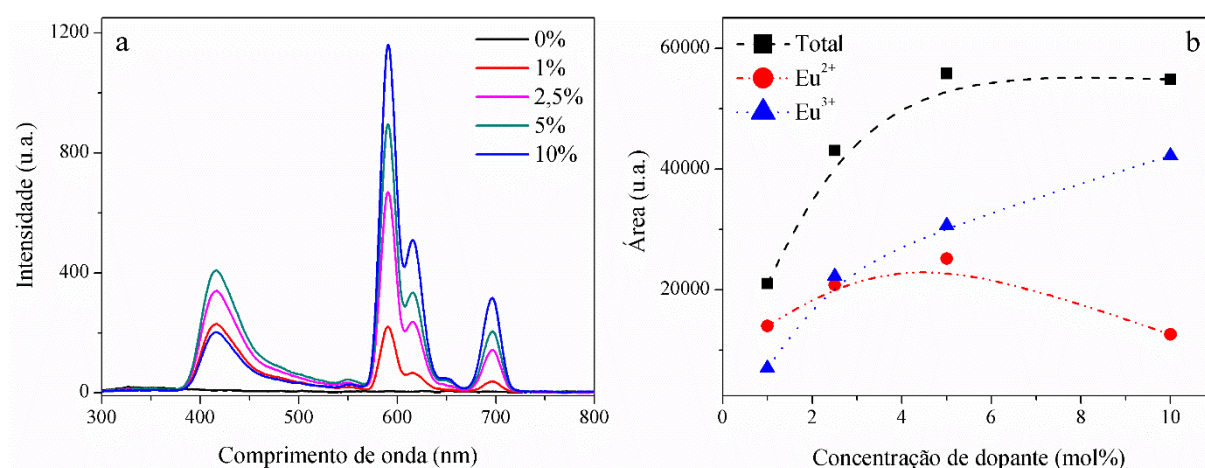


Figura 6 - (a) Espectro de radioluminescência para amostras de SrF₂ e SrF₂:Eu com diferentes concentrações de dopante. (b) Área total, área Eu²⁺ e área Eu³⁺ em função da concentração de dopante.

A razão exata de íons Eu³⁺/Eu²⁺ não pode ser determinada usando os dados do RL, mas a razão da intensidade de RL entre Eu³⁺ e Eu²⁺ foi calculada e apresentada na Tabela 1. Também foi observado que a razão da intensidade aumentou com o aumento da concentração do dopante na matriz SrF₂.

Tabela 1 - Razão da intensidade entre $\text{Eu}^{3+}/\text{Eu}^{2+}$ em função das concentrações de Európio.

Concentração de dopante (%)	Razão da intensidade ($\text{Eu}^{3+}/\text{Eu}^{2+}$)
1	0,96
2,5	1,97
5	2,19
10	5,73

Dessa forma, o aumento da intensidade do Eu^{3+} pode estar relacionado ao aumento do número de centros luminescentes na matriz, resultado da formação de defeitos extras quando o Eu^{3+} substitui os sítios de íons Sr^{2+} , bem como a possível ocupação de alguns sítios intersticiais [52], [102], [105]. A redução na emissão de Eu^{2+} em concentrações de 10 mol% pode estar relacionada a três fatores. O primeiro pode ser a saturação do material dopante causada pelo aumento na interação entre os íons Eu^{2+} adjacentes, gerando maior probabilidade de relaxação cruzada entre os níveis de energia 5d dos íons Eu^{2+} próximos. O segundo fator pode estar relacionado a absorção da emissão em 416 nm, pelas transições 4f-4f de alguns íons Eu^{3+} [103], [106]. O terceiro aspecto será abordado posteriormente, após a discussão sobre o tamanho das partículas em questão.

4.2.2. Difração de Raios X (DRX)

A Figura 8 (a) mostra os padrões de DRX de SrF_2 dopados e não dopados, bem como os padrões de SrF_2 . Os picos de difração revelam uma estrutura cúbica de face centrada. Também é possível identificar que os picos detectados para todos os difratogramas das amostras dopadas correspondem ao padrão de difração do banco de dados ICSD (COD 9009043) do SrF_2 , indicando que não há presença de nenhum pico referente a fases secundárias com Európio. Portanto, não houve formação de fases cristalinas adicionais, sugerindo que os íons dopantes foram incorporados com sucesso na matriz SrF_2 e que as nanopartículas SrF_2 dopadas com 1-10% mol de Európio são isoestruturais com o cristal SrF_2 . Resultados similares foram observados por Zhou et al.[107] e Zhi et al.[108], em cristais de fluoreto que não apresentaram fases cristalinas adicionais para íons Nd^{3+} em matriz SrF_2 e íons Er^{3+} em matriz CaF_2 , respectivamente.

Por meio da largura a meia altura do pico de difração associado ao plano (111) ($2\theta \sim 26,6^\circ$) e pela equação de Scherrer, o tamanho dos cristalitos são estimados em 27,3 nm, 24,8 nm, 20,1 nm, 19 nm e 17 nm para diferentes concentrações de Eu: 0%, 1%, 2,5%, 5% e 10%, respectivamente, com demonstrado na Figura 8 (b). Verifica-se que o aumento da concentração do dopante tende a reduzir o tamanho dos cristalitos.

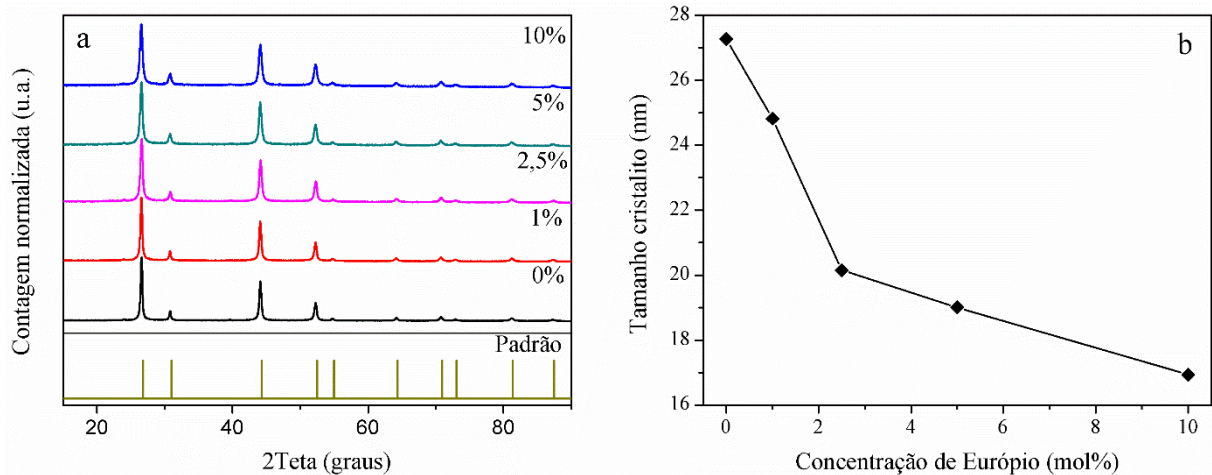


Figura 7 – (a) Difratograma para SrF₂ e SrF₂:Eu com diferentes concentrações de dopante. (b) Tamanho dos cristalitos em função da concentração de Európio.

A redução do tamanho dos cristalitos pode ser atribuída a substituição dos íons de Sr²⁺ por Eu³⁺ na rede cristalina do SrF₂, uma vez que esse mecanismo requer compensação de carga de um F⁻ extra para cada substituição. A introdução desses íons F⁻ na superfície do grão pode induzir dipolos elétricos transitórios com os polos negativos voltados para fora. Esses dipolos, por sua vez, impedem a difusão de íons F⁻, presentes na solução, a migrarem para a superfície do grão, devido ao aumento na repulsão de carga, retardando o crescimento de SrF₂, [109], [110] como ilustrado na Figura 9.

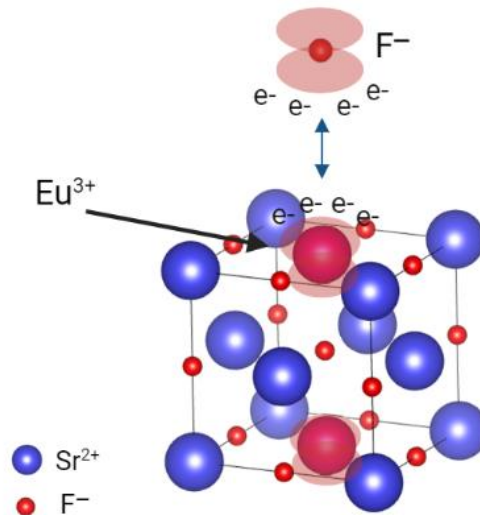


Figura 8 - Ilustração da mudança da densidade de carga superficial causada pela substituição do Sr^{2+} na rede hospedeira por um íon de Eu^{3+} . O sombreamento vermelho ao redor do íon Eu^{3+} indica o aumento das cargas negativas na troca iônica.

Esse resultado está de acordo com o estudo feito por Chen et al. [109]. Eles descreveram uma estratégia de síntese capaz de modificar o tamanho e a forma de nanopartículas de SrF_2 através da dopagem de lantanídeos. Os dados mostraram que as nanopartículas de SrF_2 puras tinham tamanhos e formas variadas. No entanto, após a dopagem com La^{3+} , as partículas exibiram tamanho uniforme e forma esférica. Para elucidar esse mecanismo, as nanopartículas de SrF_2 também foram dopadas com Gd^{3+} e Yb^{3+} , e apresentaram resultados semelhantes aos da dopagem com La^{3+} .

4.2.3. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS)

A Figura 10 (a) e (b) mostra o raio hidrodinâmico das partículas de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com as diferentes concentrações de dopante obtidos por medidas de DLS. Para as concentrações de 0%, 1%, 2,5%, 5% e 10% mol, os tamanhos médios foram de 113 nm, 63 nm, 53 nm, 61 nm, e 46 nm e os Índices de Polidispersão (PDI - *Index Polydispersity*) foram de 0,218, 0,369, 0,418, 0,440, e 0,424, respectivamente. Embora o DLS seja uma das técnicas de caracterização mais utilizadas para a caracterização de partículas esféricas, a técnica também pode ser utilizada para caracterizar partículas não esféricas em suspensão, mas para essas geometrias não há uma determinação precisa de tamanho [111]. Apesar dessa imprecisão, a presença do Európio implicou significativamente na diminuição do tamanho das partículas, como também foi observado pela análise do DRX. Os valores encontrados para o DLS são muito maiores que os

estimados no DRX, uma vez que os números encontrados pela equação de Scherrer estão relacionados ao tamanho do cristalito enquanto os dados de DLS informam sobre o raio hidrodinâmico.

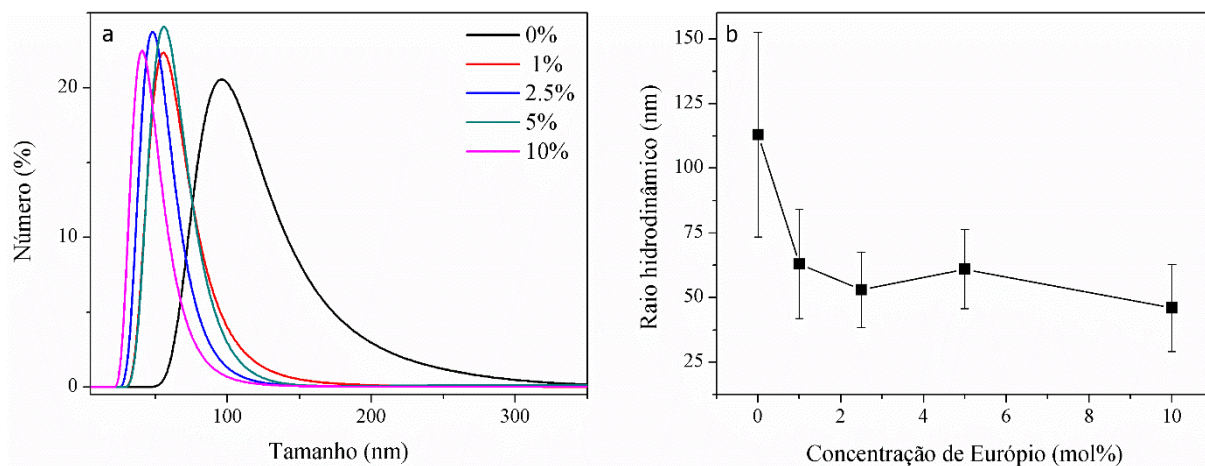


Figura 9 – (a) Espalhamento dinâmico da luz para amostra de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopantes. (b) Raio hidrodinâmico em função da concentração de Európio.

4.2.4. Potencial Zeta

A Tabela 2 apresenta o potencial zeta das partículas de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com as diferentes concentrações de dopante. Essa técnica determina a carga superficial das partículas e sua magnitude está relacionada à estabilidade eletrostática da solução coloidal. Os valores do potencial zeta variam de +100 a -100 mV. Quanto maior o módulo do potencial zeta, maior a estabilidade [100], [112]. Dessa forma, as amostras com diferentes concentrações de Európio revelaram boa estabilidade eletrostática, devido aos altos valores do módulo do potencial zeta.

Tabela 2 - Potencial zeta para amostras de SrF_2 e $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ com diferentes concentrações de dopante.

Concentração de dopante (%)	Potencial Zeta
0	+32,7
1	+38,4
2,5	+35,8
5	+26,5
10	+35,7

4.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia das amostras de SrF₂:Eu foram caracterizadas com MET. A Figura 11 mostra imagens MET de NPs SrF₂:Eu com concentrações de 1% (a, b) e 5% (d, e) de Európio e seus respectivos histogramas das distribuições de tamanho das partículas. Para as diferentes concentrações, a morfologia cúbica permaneceu inalterada, com ligeiros aglomerados e com tamanho médio de 51 ± 15 nm e 32 ± 10 nm para amostras com 1%Eu e 5%Eu, respectivamente. Através da MET, também foi constatado que o aumento da concentração do dopante tende a reduzir o tamanho das nanopartículas. As variações dos tamanhos obtidos na MET em relação aos valores observados pelo DLS podem estar relacionadas a não esfericidade das partículas.

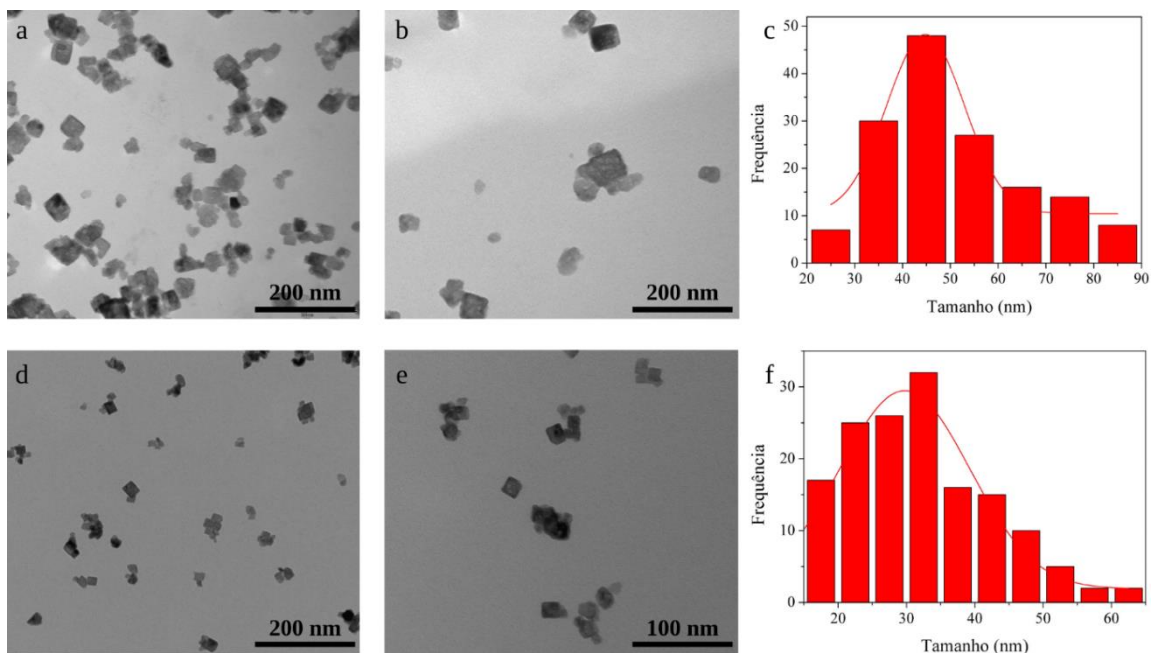


Figura 10 - Imagens MET das NPs SrF₂:Eu com diferentes concentrações do dopante e seus histogramas de distribuição de tamanho, respectivamente: (a) (b) (c) Síntese com 1% de Európio. (d) (e) (f) Síntese com 5% de Európio – Barra de escala: (a) (b) (d) 200 nm. (e) 100 nm.

Diante dos resultados que avaliam o tamanho das partículas, é possível discutir o terceiro fator relacionado a redução na emissão radioluminescente de Eu²⁺. A emissão de Eu²⁺ diminui a partir da concentração de 5 mol% do material dopante, que por sua vez diminui o tamanho das partículas, aumentando a área de superfície e tornando os sítios da superfície mais propícios a aceitar o Eu³⁺, gerando desequilíbrio de carga. Esse fator se relaciona ao estudo de Zavala-Sanchez et al., citado anteriormente em 4.1., que avaliou a distribuição espacial dos dopantes Eu²⁺ e Eu³⁺ na rede da hidroxiapatita [101].

Considerando que a emissão de interesse para o desenvolvimento deste trabalho é a emissão em torno de 420 nm, como mencionado previamente, a síntese desenvolvida com 5% de Európio foi a que revelou maior intensidade de emissão RL. Adicionalmente, as partículas com 5% de Európio exibiram um bom tamanho, na qual encontra-se dentro da escala nanométrica, com cerca de 32 nm. Desse modo, diante dos resultados obtidos para as diferentes concentrações do dopante, as nanopartículas com 5% de Európio foram as que apresentaram o melhor arranjo para seguir com o estudo.

4.3. COMBINANDO RADIOTERAPIA (RT) E TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)

O espectro de absorção da porfirina (TMPYP) indica uma ótima sobreposição ao espectro de cintilação do $\text{SrF}_2:\text{Eu}^{2+}$. A Figura 11 apresenta o pico de emissão das NPs em torno de 416 nm e o pico de absorção da porfirina em torno de 421 nm, demonstrando que a luminescência das $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ pode ser usada para excitar a porfirina em tratamentos com X-PDT.

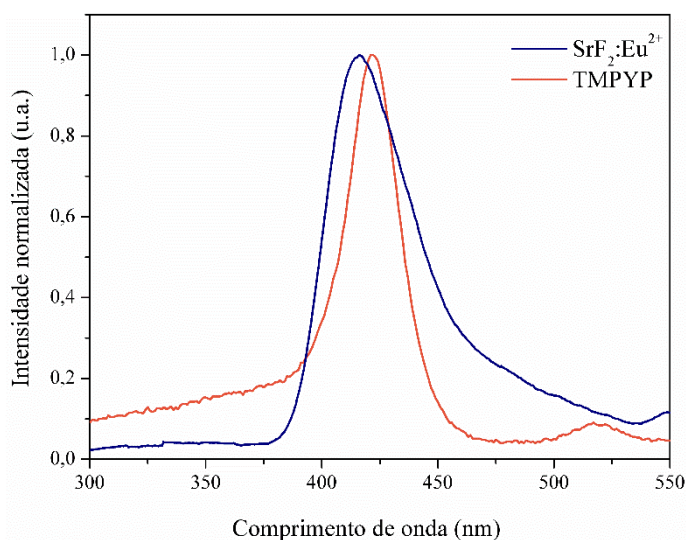


Figura 11 - Espectros normalizados relacionados à absorção da porfirina (espectro laranja) e emissão de radioluminescência $\text{SrF}_2:\text{Eu}^{2+}$ (espectro azul).

Após escolher a porfirina TMPyP como o fotossensibilizador, realizou-se um teste misturando uma solução de TMPyP com as nanopartículas, mas não houve produção significativa de oxigênio singleto, demonstrando não haver transferência de energia eficiente das NPs para a porfirina. Provavelmente isso ocorre devido à repulsão eletrostática entre ambas,

uma vez que $\text{SrF}_2:\text{Eu}$ e a TMPyP possuem cargas positivas [77], [113], [114], prejudicando assim o mecanismo de transferência de energia devido à grande distância entre elas.

Desse modo, a técnica *layer by layer* (LbL) foi utilizada depositando camadas de ácido poliacrílico (PAA) a superfície da partícula, para alterar sua carga superficial uma vez que o PAA possui carga negativa e é um polímero não tóxico e biocompatível [115], [116]. Em seguida, as NPs carregadas negativamente foram ressuspensas em uma solução de TMPyP, permitindo a ligação da porfirina à superfície das partículas por meio de interações eletrostáticas, como ilustrado na Figura 12.

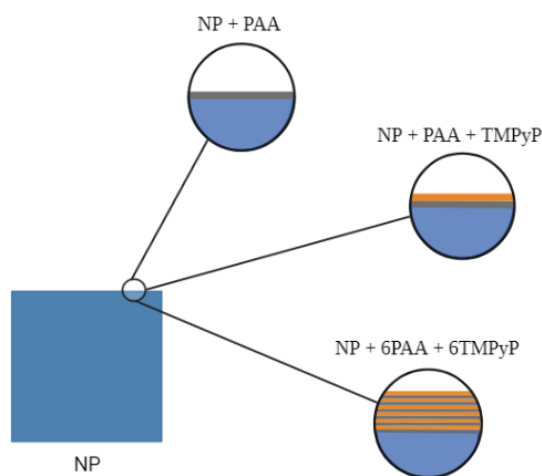


Figura 12 – Ilustração do mecanismo de crescimento das camadas de PAA e TMPyP nas NPs (SrF@PAA/TMPyP).

Foram produzidas amostras com 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas de PAA/TMTPyP ao redor das NPs (SrF@PAA/TMPyP). A aderência da porfirina à superfície das NPs foi avaliada através da comparação dos espectros de absorção das amostras contendo NPs com diferentes quantidades de bicamadas. A Figura 13 (a) mostra a espectroscopia UV-Visível da absorção da TMPyP e SrF@PAA/TMPyP . A variação do número e dos tipos de grupos funcionais em moléculas de porfirina pode afetar o número de bandas Q e influenciar a intensidade de absorção [65], [117]. Dessa forma, a porfirina TMPyP apresenta três bandas de absorção, com máxima absorção na banda de Soret em torno de 421 nm e a absorção das bandas Q em 519 nm e 587 nm.

Portanto, a espectroscopia UV-Visível revela que a absorção das SrF@PAA/TMPyP aumenta com o aumento das bicamadas, como demonstrado nas Figura 13 (a) e (b). Esses dados de absorção confirmam que a porfirina adere à superfície da NP, pois há um aumento na

intensidade do espectro de absorção conforme aumenta a quantidade de porfirina, comprovando assim o sucesso da técnica LBL na produção de partículas híbridas.

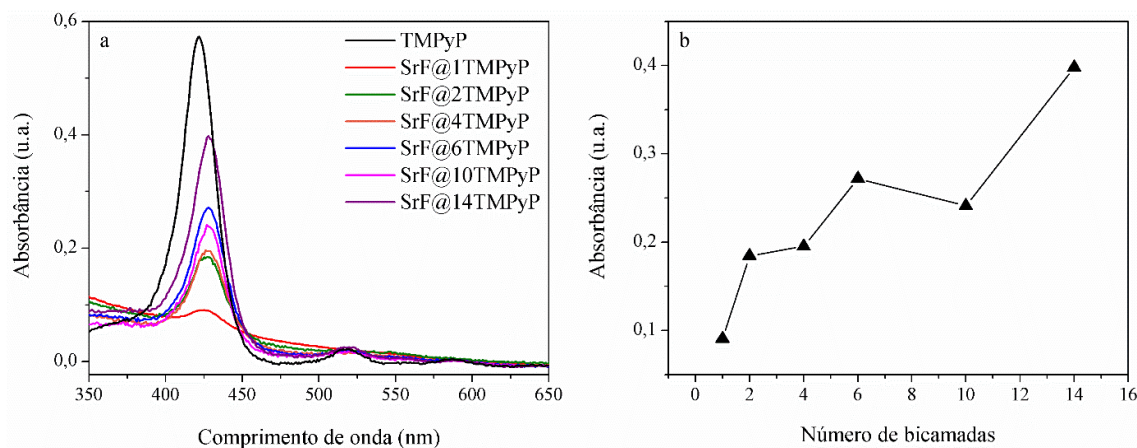


Figura 13 – (a) Espectro UV-Vis da TMPyP e SrF@PAA/TMPyP. (b) Valores absolutos da absorbância em função do número de bicamadas.

A transferência de energia das NPs para a porfirina foi avaliada através da comparação dos espectros de emissão da RL das amostras em suspensão contendo NPs com diferentes quantidades de bicamadas. A Figura 14 exhibe a intensidade da RL diminuindo drasticamente com a presença das bicamadas PAA/TMTPyP. Nota-se que a cintilação foi parcialmente absorvida para NPs com 1 e 2 bicamadas, e totalmente absorvida para 4 e 6 bicamadas. A extinção inesperada da cintilação do Eu^{3+} sugere um possível mecanismo de transferência de carga[103], ou pode ser causado pela sobreposição parcial de sua emissão com a absorção da banda Q da porfirina[77].

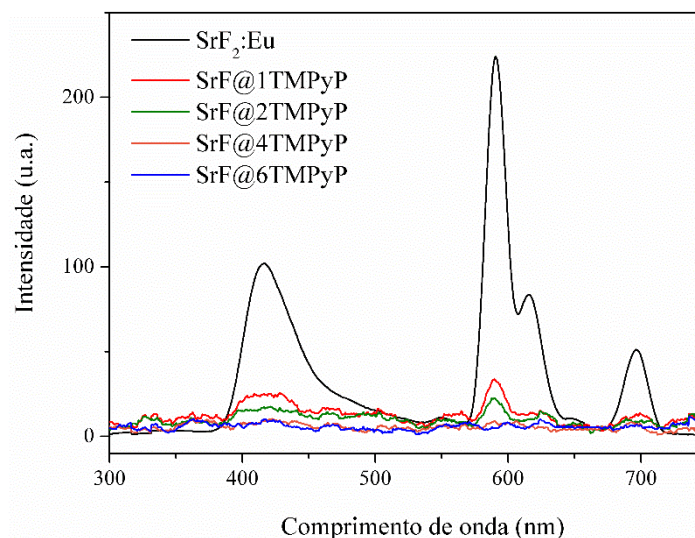


Figura 14 - Espectro de radioluminescência de NPs e SrF@PAA/TMPyP com diferentes bicamadas em suspensão.

O tamanho das NPs após recobrimento com as bicamadas PAA/TMPyP foi estudado através do espalhamento dinâmico da luz e da microscopia eletrônica de transmissão. A Figura 15 revela o tamanho das partículas SrF@PAA/TMPyP através do DLS. Para a amostra SrF₂:Eu sem bicamadas o tamanho obtido foi de 55 nm. Para as partículas com 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas o PDI e os tamanhos foram de 0,267 e 46 nm, 0,211 e 54 nm, 0,319 e 45 nm, 0,299 e 50 nm, 0,445 e 55 nm, 0,359 e 47 nm, respectivamente. Os valores obtidos estão relativamente próximos, e as variações observadas de uma amostra para outra podem estar atribuídas a flutuações estatísticas intrínsecas às medidas. Embora não haja aumento significativo no tamanho das partículas através do DLS, a camada que se forma ao redor da partícula é extremamente fina, o que impede sua visualização através das técnicas disponíveis. No entanto, outras técnicas, como a espectroscopia UV-Vis e RL, confirmam a aderência das porfirinas na superfície da partícula.

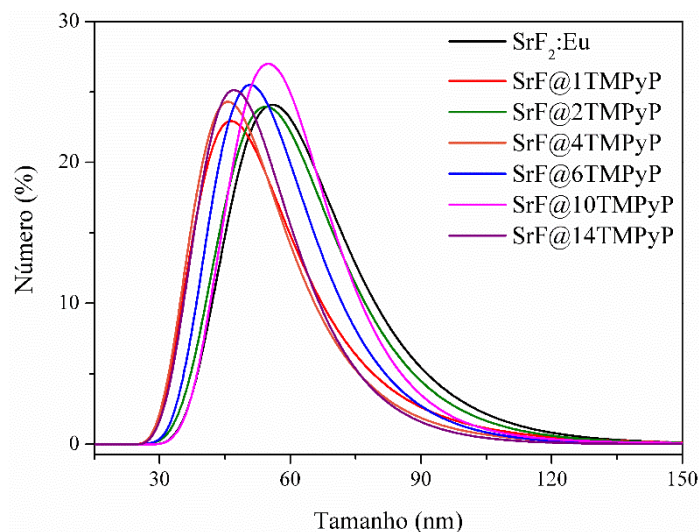


Figura 15 - Espalhamento dinâmico da luz para amostras SrF₂:Eu e SrF@PAA/TMPyP com diferentes bicamadas.

A Figura 16 demonstra as imagens de MET das SrF@PAA/TMPyP e seus respectivos histogramas das distribuições de tamanho das partículas. A Figura 16 (a) e (b) são amostras de nanopartículas cobertas com 1 bicamada e apresentam tamanho médio de 25 ± 7 nm, (c) e (d) são para amostras com 6 bicamadas e tamanho médio de 27 ± 9 nm e as imagens (e) e (f) são para as amostras com 14 bicamadas e tamanho médio de 31 ± 7 nm. As partículas exibem ligeiros aglomerados, que podem estar relacionados a tendência de aglomeração da porfirina em meio aquoso, devido à influência de sua estrutura e concentração [75], [118], [119], ou pela redução do potencial zeta devido a alternância de camadas de moléculas de cargas opostas. O tamanho das nanopartículas está relativamente próximo ao da amostra contendo apenas as nanopartículas SrF₂:Eu, em que o tamanho médio observado foi de 32 ± 10 nm. Dessa forma, a partir da análise do DLS e das imagens de MET, conclui-se que a adesão da porfirina a superfície das NPs não altera o tamanho das partículas.

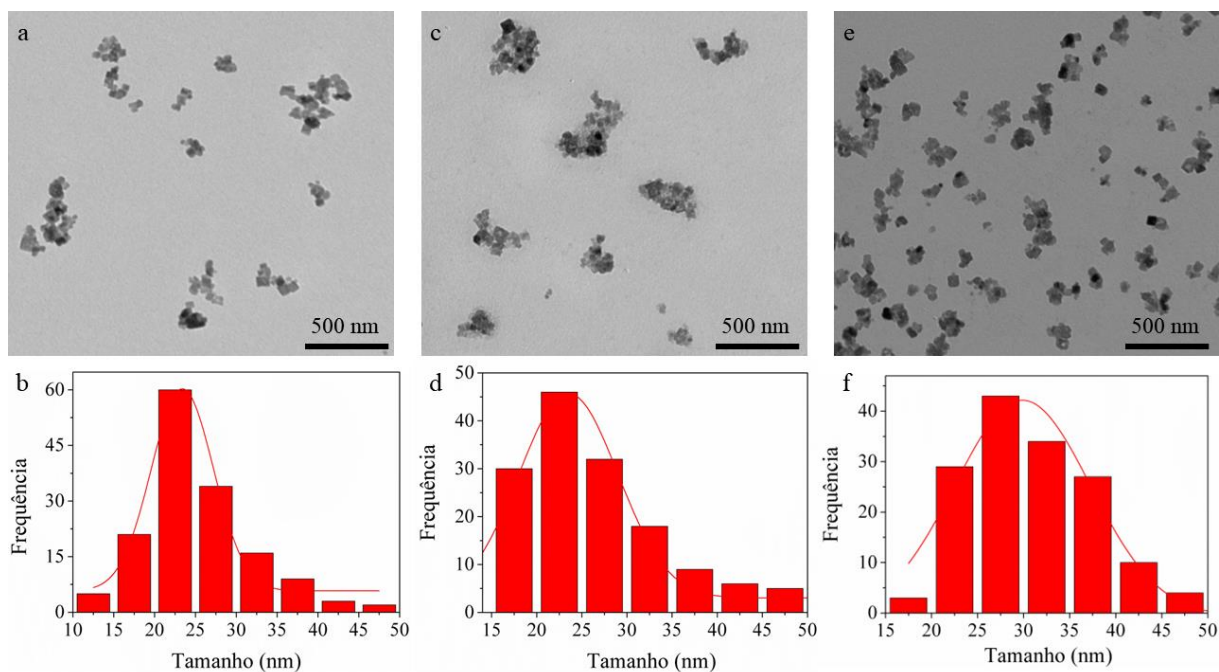


Figura 16 - Imagens MET das partículas SrF@PAA/TMPyP e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanho: (a) (b) NPs com 1 bicamada. Barra de escala: 200 nm. (c) (d) NPs com 6 bicamadas. Barra de escala: 500 nm.

Para avaliar o aumento na produção de oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) utilizou-se a espectroscopia de ressonância de spin eletrônico, através de um marcador de spin TPC que capta especificamente o oxigênio singleto. Assim, as amostras contendo NPs e NPs com 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas foram irradiadas com intuito de analisar a produção de $^1\text{O}_2$ relacionando amostras irradiadas e não irradiadas. A amostra apenas com NPs, ou seja, com 0 bicamada foi utilizada como amostra controle.

O aumento na produção de $^1\text{O}_2$ pode ser observado na Figura 17 (a) e (b) que exibe a intensidade ESR para amostras sem e com recobrimento PAA/TMPyP, respectivamente. Ambas nas condições irradiadas (50 Gy) e não irradiadas por raios X. O espectro ESR revela um aumento de 3 vezes na produção de $^1\text{O}_2$ para as amostras com 6 bicamadas.

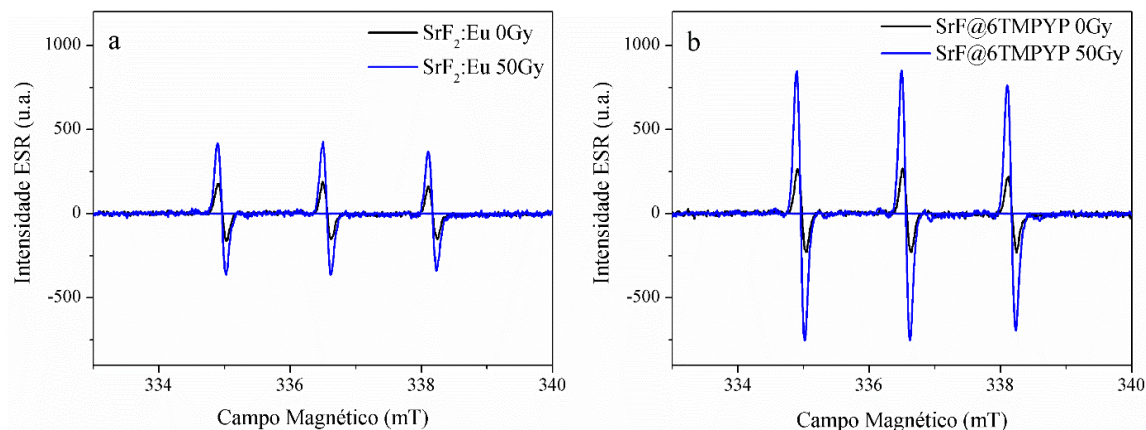


Figura 17 - (a) Espectros ESR de SrF₂:Eu puro em PBS irradiadas e não irradiadas com marcador TPC. (b) Espectros ESR de SrF@6PAA/TMPyP em PBS irradiadas e não irradiadas com marcador TPC.

A Figura 18 expressa o ganho na produção de oxigênio singlete através da razão da intensidade ESR das amostras irradiadas pela intensidade ESR das amostras não irradiadas, em função do número de bicamadas. Nota-se um aumento na produção de ¹O₂ para todas as amostras revestidas por PAA/TMPyP em relação ao ganho da amostra controle. O aumento da produção de ¹O₂ em amostras com 6 bicamadas PAA/TMPyP indica que a espessura das camadas de TMPyP é a mais adequada, sendo capaz de absorver energia das NPs e transferir essa energia para o oxigênio molecular no meio. Por outro lado, a redução de ¹O₂ em amostras com 10 e 14 bicamadas de PAA/TMPyP indica que camadas de TMPyP muito espessas podem prejudicar a transferência de energia da TMPyP para as moléculas de oxigênio. O pequeno ganho da amostra controle pode estar relacionado à radiólise da água em presença de oxigênio molecular que, de acordo com a literatura, pode gerar ¹O₂ [120]–[122]. Portanto, a amostra SrF@6PAA/TMPyP demonstrou o maior aumento na produção de oxigênio singlete e foi selecionada para dar continuidade ao estudo.

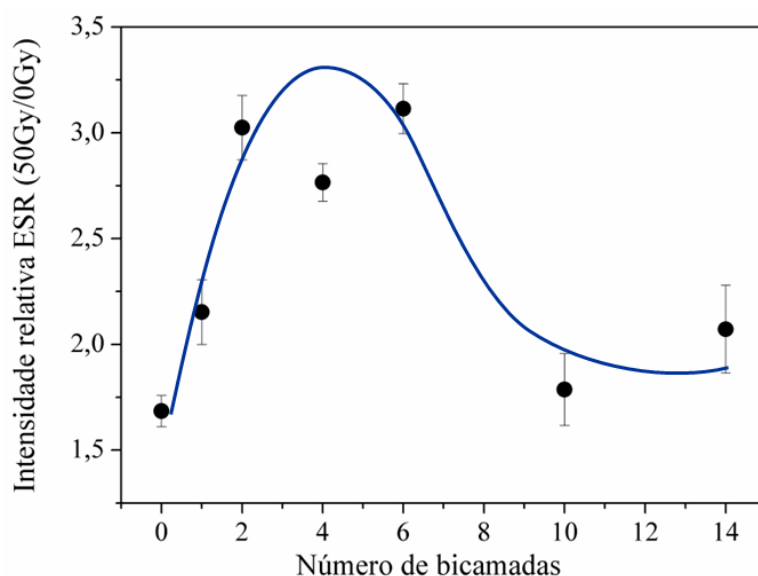


Figura 18 - Intensidade relativa ESR para NPs com 0, 1, 2, 4, 6, 10 e 14 bicamadas PAA/TMPyP.

Por fim, a citotoxicidade das partículas SrF@6PAA/TMPyP foi avaliada através do monitoramento da curva de crescimento da *Escherichia coli* nas condições não irradiadas e irradiadas por raios X, para verificar se a quantidade de $^1\text{O}_2$ produzida mediante exposição a raios X seria suficiente para ativar uma resposta biológica. A escolha pela *E. coli* se deu pela facilidade de cultivá-las, bem como sua capacidade de resistência em superfícies por longos períodos e sua alta resistência a alguns PS [100], [123]. Apesar das diferenças entre as células bacterianas e as células cancerígenas, a X-PDT também pode ser utilizada para inativar esse tipo de células [124], [125]. Adicionalmente, porfirinas catiônicas, como a TMPyP, demonstraram ser excelentes na fotoinativação de bactérias gram-negativas, uma vez que a carga positiva do PS permite forte interação eletrostática à parede celular negativamente carregada da bactéria, facilitando a entrada nas células [126]–[128].

Hanakova et al. realizaram um estudo no qual prepararam uma solução do fotossensibilizador TMPyP com o agente complexante b-ciclodextrina (PS:CD) em diferentes proporções e concentrações, a fim de melhorar a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) [129]. Após a PDT com TMPyP, observou-se uma redução significativa no crescimento de *E. coli* com a maior concentração testada (100 $\mu\text{M/L}$ na proporção 2:1). Sobretudo, o fotossensibilizador sem o agente complexante resultou em uma redução de 14% no ensaio de viabilidade celular (MTT) (100 $\mu\text{M/L}$ e 50 $\mu\text{M/L}$) e 84% (25 $\mu\text{M/L}$).

O mesmo grupo também determinou a fototoxicidade da porfirina TMPyP em células fibroblásticas embrionárias de camundongo através do ensaio de viabilidade celular, em diferentes concentrações (0,5 μM a 100 $\mu\text{M/L}$) [130]. Constatou-se elevada fototoxicidade em todas as concentrações testadas, com a viabilidade celular variando entre 20% e 13%. Notadamente, a menor viabilidade celular foi observada na concentração de 10 $\mu\text{M/L}$, atingindo 13%.

Outro estudo, realizado por Bakhtiara e Chowdhuryb [131] utilizou nanopartículas de SrF_2 como carreadoras de material genético em células de carcinoma mamário. Eles determinaram a citotoxicidade através do ensaio de viabilidade celular, verificando que as partículas são relativamente não tóxicas para as células.

A curva de crescimento bacteriano estudada neste trabalho é dividida em quatro etapas: fase *lag* antes do crescimento, fase logarítmica caracterizada pela divisão celular, fase estacionária onde o crescimento é limitado pelo ambiente e por fim, a fase de morte [100], [125]. A Figura 19 mostra a curva de crescimento para as culturas bacterianas e as culturas na presença de SrF@6TMPyP , irradiadas e não irradiadas por raios X. Todas as curvas de crescimento apresentaram os mesmos perfis de crescimento de *E. coli*. Para todas as amostras, isso é demonstrado com uma fase lag nos primeiros 30 min e uma fase log de 30 min até 6 h, seguida da fase estacionária. Esses dados revelam que a dose de raios X causou morte parcial da amostra controle de bactérias. A fase de morte não foi detectada no período de 16 h adotado para este experimento.

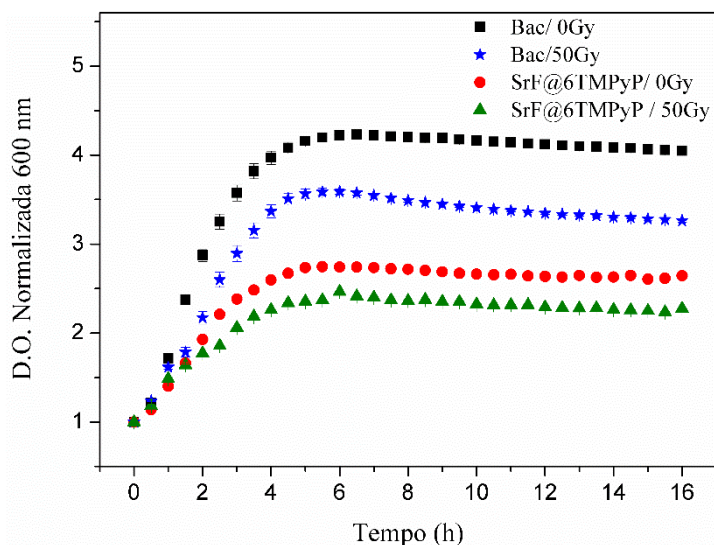


Figura 19 – Perfis de crescimento de *E. coli* Rosetta (DE3) em meio LB não irradiadas e irradiadas (50 Gy – 160KVp). As barras de erro são os desvios padrão obtidos medindo quatro amostras diferentes para cada condição.

Apesar das culturas com a estrutura *core-shell* de SrF@6TMPyP irradiadas e não irradiadas, apresentarem um mesmo perfil de crescimento, há uma diferença nas curvas em relação à densidade ótica, indicando a redução do número de bactérias viáveis em suspensão mesmo para as culturas com SrF@6TMPyP não irradiadas. Embora as culturas *E. coli* e as células cancerígenas, bem como as técnicas avaliadas no estudo de Bakhtiara e Chowdhuryb, sejam muito distintas, não sendo possível estabelecer uma correlação direta, os dados apontam que as partículas SrF₂ não apresentam toxicidade para as células cancerígenas avaliadas no estudo.

Dessa forma, os dados corroboram com as informações da literatura, indicando que o fotossensibilizador porfirina TMPyP tem potencial como agente terapêutico. Adicionalmente, a toxicidade da SrF@6TMPyP demonstra potencial aplicação em X-PDT, aumentando a produção de ¹O₂ e melhorando a eficiência dos tratamentos de tumores profundos. Em conjunto, essas informações sugerem que o conjugado SrF@6TMPyP pode ser uma opção promissora tanto no combate de infecções bacterianas quanto para tumores profundos.

5. CONCLUSÃO

As nanopartículas SrF₂ dopadas com Európio apresentaram emissão radioluminescente na região do azul e do vermelho, indicando a presença dos íons Eu²⁺ e Eu³⁺, sendo um resultado significativo, uma vez que existem poucos nanocintiladores emissores no azul. As partículas

exibiram morfologia cúbica e tamanho dentro da escala nanométrica, com aproximadamente 32 nm. Dentre as proporções de EG/H₂O testadas, a proporção 50:50% revelou morfologia uniforme e maior intensidade RL na presença de EG. Para as concentrações de dopantes testadas, a dopagem com 5%Eu exibiu a maior intensidade RL. Na combinação de Radioterapia e Terapia Fotodinâmica, as nanopartículas conjugadas à porfirina TMPyP em uma estrutura core-shell (SrF@PAA/TMPyP) revelaram a transferência de energia de raios X para a porfirina, resultando na produção de ¹O₂ sob irradiação de raios X. A máxima produção de ¹O₂ ocorreu para as partículas com 6 bicamadas PAA/TMPyP. No estudo de toxicidade, o conjugado SrF@PAA/TMPyP irradiado com raios X foi o que apresentou maior dano as bactérias *E. coli Rosetta*. Portanto, através desses resultados os nanodispositivos SrF@PAA/TMPyP demonstram potencial aplicação para tratamentos unindo RT e PDT.

6. REFERÊNCIAS

- [1] K. D. Miller *et al.*, “Cancer treatment and survivorship statistics, 2016,” *CA Cancer J Clin*, vol. 66, no. 4, pp. 271–289, Jul. 2016, doi: 10.3322/caac.21349.
- [2] H. Sung *et al.*, “Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries,” *CA Cancer J Clin*, vol. 71, no. 3, pp. 209–249, May 2021, doi: 10.3322/caac.21660.
- [3] J. Ferlay *et al.*, “Global Cancer Observatory: Cancer Tomorrow,” 2020. <https://gco.iarc.fr/tomorrow> (accessed Feb. 14, 2023).
- [4] J. Wei *et al.*, “Radiation-Induced Normal Tissue Damage: Oxidative Stress and Epigenetic Mechanisms,” *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2019, Nov. 2019, doi: 10.1155/2019/3010342.
- [5] W. Sun, Z. Zhou, G. Prax, X. Chen, and H. Chen, “Nanoscintillator-mediated X-ray induced photodynamic therapy for deep-seated tumors: From concept to biomedical applications,” *Theranostics*, vol. 10, no. 3, pp. 1296–1318, Jan. 2020, doi: 10.7150/thno.41578.
- [6] S. Clement *et al.*, “Mechanisms for Tuning Engineered Nanomaterials to Enhance Radiation Therapy of Cancer,” *Advanced Science*, vol. 7, no. 24, Dec. 2020, doi: 10.1002/advs.202003584.
- [7] A. Abbasi Kajani, S. Haghjooy Javanmard, M. Asadnia, and A. Razmjou, “Recent Advances in Nanomaterials Development for Nanomedicine and Cancer,” *ACS Appl Bio Mater*, vol. 4, no. 8, pp. 5908–5925, Aug. 2021, doi: 10.1021/acsabm.1c00591.

- [8] J. Shi, P. W. Kantoff, R. Wooster, and O. C. Farokhzad, “Cancer nanomedicine: Progress, challenges and opportunities,” *Nat Rev Cancer*, vol. 17, no. 1, pp. 20–37, Jan. 2017, doi: 10.1038/nrc.2016.108.
- [9] O. V Salata, “Applications of nanoparticles in biology and medicine,” *J Nanobiotechnology*, vol. 2, no. 3, Apr. 2004, doi: 10.1186/1477-3155-2-3.
- [10] Y. Liu *et al.*, “Metal-based NanoEnhancers for future radiotherapy: Radiosensitizing and synergistic effects on tumor cells,” *Theranostics*, vol. 8, no. 7, pp. 1824–1849, Feb. 2018, doi: 10.7150/thno.22172.
- [11] N. Bertrand, J. Wu, X. Xu, N. Kamaly, and O. C. Farokhzad, “Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 66, pp. 2–25, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.addr.2013.11.009.
- [12] I. S. Lima, E. J. Guidelli, and O. Baffa, “Dose enhancement factor caused by gold nanoparticles: Influence of the dosimetric sensitivity and radiation dose assessed by electron spin resonance dosimetry,” *Phys Med Biol*, vol. 66, no. 21, Nov. 2021, doi: 10.1088/1361-6560/ac2bb2.
- [13] X. Gu *et al.*, “Clearance of two organic nanoparticles from the brain via the paravascular pathway,” *Journal of Controlled Release*, vol. 322, pp. 31–41, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.03.009.
- [14] C. Hao *et al.*, “Chiral Semiconductor Nanoparticles for Protein Catalysis and Profiling,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 58, no. 22, pp. 7371–7374, May 2019, doi: 10.1002/anie.201902673.
- [15] E. Esmaeilnezhad *et al.*, “An experimental study on enhanced oil recovery utilizing nanoparticle ferrofluid through the application of a magnetic field,” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 58, pp. 319–327, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.jiec.2017.09.044.
- [16] J. Xie, S. Lee, and X. Chen, “Nanoparticle-based theranostic agents,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 62, no. 11, pp. 1064–1079, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.addr.2010.07.009.
- [17] Z. Gadzhimagomedova, P. Zolotukhin, O. Kit, D. Kirsanova, and A. Soldatov, “Nanocomposites for x-ray photodynamic therapy,” *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 11, Jun. 2020, doi: 10.3390/ijms21114004.
- [18] G. Song, L. Cheng, Y. Chao, K. Yang, and Z. Liu, “Emerging Nanotechnology and Advanced Materials for Cancer Radiation Therapy,” *Advanced Materials*, vol. 29, no. 32, Aug. 2017, doi: 10.1002/adma.201700996.
- [19] S. Kaščáková *et al.*, “X-ray-induced radiophotodynamic therapy (RPDT) using lanthanide micelles: Beyond depth limitations,” *Nano Res*, vol. 8, no. 7, pp. 2373–2379, Jul. 2015, doi: 10.1007/s12274-015-0747-5.
- [20] H. Chen *et al.*, “Nanoscintillator-Mediated X-ray Inducible Photodynamic Therapy for in Vivo Cancer Treatment,” *Nano Lett*, vol. 15, no. 4, pp. 2249–2256, Apr. 2015, doi: 10.1021/nl504044p.

- [21] A. Abbasi Kajani, S. Haghjooy Javanmard, M. Asadnia, and A. Razmjou, "Recent Advances in Nanomaterials Development for Nanomedicine and Cancer," *ACS Appl Bio Mater*, vol. 4, no. 8, pp. 5908–5925, Aug. 2021, doi: 10.1021/acsabm.1c00591.
- [22] A. Kamkaew, F. Chen, Y. Zhan, R. L. Majewski, and W. Cai, "Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy," *ACS Nano*, vol. 10, no. 4, pp. 3918–3935, Apr. 2016, doi: 10.1021/acs.nano.6b01401.
- [23] W. Chen and J. Zhang, "Using nanoparticles to enable simultaneous radiation and photodynamic therapies for cancer treatment," *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 6, no. 4, pp. 1159–1166, Apr. 2006, doi: 10.1166/jnn.2006.327.
- [24] X. Chen, J. Song, X. Chen, and H. Yang, "X-ray-activated nanosystems for theranostic applications," *Chem Soc Rev*, vol. 48, no. 11, pp. 3073–3101, Feb. 2019, doi: 10.1039/c8cs00921j.
- [25] J. Takahashi and M. Misawa, "Analysis of potential radiosensitizing materials for x-ray-induced photodynamic therapy," *Nanobiotechnology*, vol. 3, no. 2, pp. 116–126, May 2007, doi: 10.1007/s12030-008-9009-x.
- [26] F. Wang, Y. Zhang, X. Fan, and M. Wang, "One-pot synthesis of chitosan/LaF₃:Eu³⁺ nanocrystals for bio-applications," *Nanotechnology*, vol. 17, no. 5, pp. 1527–1532, Feb. 2006, doi: 10.1088/0957-4484/17/5/060.
- [27] M. M. Isikawa, "Microfluidic Synthesis of Scintillating Nanoparticles with Red and Near-Infrared Emission: Developing Theranostic Nanodevices with Dosimetric Properties," Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.
- [28] L. D. S. Teixeira, "Estudos das propriedades ópticas dos complexos európio tetraciclina e suas aplicações na detecção de lipoproteínas," Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- [29] Y. Cui, B. Chen, and G. Qian, "Lanthanide metal-organic frameworks for luminescent sensing and light-emitting applications," *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 273–274. Elsevier, pp. 76–86, Aug. 15, 2014. doi: 10.1016/j.ccr.2013.10.023.
- [30] F. Wang and X. Liu, "Multicolor tuning of lanthanide-doped nanoparticles by single wavelength excitation," *Acc Chem Res*, vol. 47, no. 4, pp. 1378–1385, Apr. 2014, doi: 10.1021/ar5000067.
- [31] W. G. Quirino, "Produção e caracterização de dispositivos orgânicos eletroluminescentes (OLEDs) baseados em complexos β-dicetonatos de Terras-Raras," Tese de Doutorado, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
- [32] K. Binnemans, "Interpretation of europium(III) spectra," *Coord Chem Rev*, vol. 295, pp. 1–45, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.ccr.2015.02.015.
- [33] A. Baran, S. Mahlik, M. Grinberg, and E. Zych, "High pressure and time-resolved luminescence spectra of Ca₃Y₂(SiO₄)₃ doped with Eu²⁺ and Eu³⁺," *Journal of Physics Condensed Matter*, vol. 25, no. 2, Jan. 2013, doi: 10.1088/0953-8984/25/2/025603.

- [34] A. Herrmann, S. Fibikar, and D. Ehrhart, "Time-resolved fluorescence measurements on Eu³⁺- and Eu²⁺-doped glasses," *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 355, no. 43–44, pp. 2093–2101, Oct. 15, 2009. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2009.06.033.
- [35] S. Cotton, *Lanthanide and Actinide Chemistry*, 2nd ed. Uppingham: Wiley.
- [36] M. Peng, Z. Pei, G. Hong, and Q. Su, "Study on the reduction of Eu³⁺ → Eu²⁺ in Sr₄Al₁₄O₂₅: Eu prepared in air atmosphere," *Chem Phys Lett*, vol. 371, no. 1–2, pp. 1–6, Mar. 2003, doi: 10.1016/S0009-2614(03)00044-7.
- [37] Z. Lian, J. Wang, Y. Lv, S. Wang, and Q. Su, "The reduction of Eu³⁺ to Eu²⁺ in air and luminescence properties of Eu²⁺ activated ZnO-B₂O₃-P₂O₅ glasses," *J Alloys Compd*, vol. 430, no. 1–2, pp. 257–261, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.jallcom.2006.05.002.
- [38] J. H. Hao and J. Gao, "Abnormal reduction of Eu ions and luminescence in CaB₂O₄: Eu thin films," *Appl Phys Lett*, vol. 85, no. 17, pp. 3720–3722, Oct. 2004, doi: 10.1063/1.1808876.
- [39] C. Wang, M. Peng, N. Jiang, X. Jiang, C. Zhao, and J. Qiu, "Tuning the Eu luminescence in glass materials synthesized in air by adjusting glass compositions," *Mater Lett*, vol. 61, no. 17, pp. 3608–3611, Jul. 2007, doi: 10.1016/j.matlet.2006.11.133.
- [40] Z. Pei, Q. Zeng, and Q. Su, "The application and a substitution defect model for Eu³⁺ → Eu²⁺ reduction in non-reducing atmospheres in borates containing BO₄ anion groups," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 61, no. 1, pp. 9–12, Jan. 2000, doi: 10.1016/S0022-3697(99)00237-1.
- [41] X. Li, F. Zhang, and D. Zhao, "Lab on upconversion nanoparticles: Optical properties and applications engineering via designed nanostructure," *Chem Soc Rev*, vol. 44, no. 6, pp. 1346–1378, Mar. 2015, doi: 10.1039/c4cs00163j.
- [42] F. Wang and X. Liu, "Recent advances in the chemistry of lanthanide-doped upconversion nanocrystals," *Chem Soc Rev*, vol. 38, no. 4, pp. 976–989, Mar. 2009, doi: 10.1039/b809132n.
- [43] A. A. Bol, R. van Beek, and A. Meijerink, "On the incorporation of trivalent rare earth ions in II–VI semiconductor nanocrystals," *Chemistry of Materials*, vol. 14, no. 3, pp. 1121–1126, 2002, doi: 10.1021/cm011195s.
- [44] R. Naccache, Q. Yu, and J. A. Capobianco, "The Fluoride host: Nucleation, growth, and upconversion of lanthanide-doped nanoparticles," *Adv Opt Mater*, vol. 3, no. 4, pp. 482–509, Apr. 2015, doi: 10.1002/adom.201400628.
- [45] A. C. Berends, M. A. Van De Haar, and M. R. Krames, "YAG:Ce³⁺ Phosphor: From Micron-Sized Workhorse for General Lighting to a Bright Future on the Nanoscale," *Chem Rev*, vol. 120, no. 24, pp. 13461–13479, Dec. 2020, doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00618.
- [46] A. A. Sapre *et al.*, "Optimized scintillator YAG:Pr nanoparticles for X-ray inducible photodynamic therapy," *Mater Lett*, vol. 228, pp. 49–52, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.matlet.2018.05.090.

- [47] D. Gao, L. Lyu, B. Lyu, J. Ma, L. Yang, and J. Zhang, “Multifunctional cotton fabric loaded with Ce doped ZnO nanorods,” *Mater Res Bull*, vol. 89, pp. 102–107, May 2017, doi: 10.1016/j.materresbull.2017.01.030.
- [48] F. Vetrone, J. C. Boyer, J. A. Capobianco, A. Speghini, and M. Bettinelli, “A spectroscopic investigation of trivalent lanthanide doped Y₂O₃ nanocrystals,” *Nanotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 75–81, Jan. 2004, doi: 10.1088/0957-4484/15/1/015.
- [49] L. Song, Y. Jia, X. Jin, X. Wang, M. Chen, and Y. Wu, “Novel hybrid xerogel with CaF₂: Tb³⁺ nanoparticles covalently embedded into silicon-oxygen network through sol-gel process,” *J Lumin*, vol. 250, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.jlumin.2022.119071.
- [50] T. Grzyb and S. Lis, “Photoluminescent properties of LaF₃:Eu³⁺ and GdF₃:Eu³⁺ nanoparticles prepared by co-precipitation method,” *Journal of Rare Earths*, vol. 27, no. 4, pp. 588–592, Aug. 2009, doi: 10.1016/S1002-0721(08)60294-X.
- [51] Y. Jin, W. Qin, and J. Zhang, “Preparation and optical properties of SrF₂:Eu³⁺ nanospheres,” *J Fluor Chem*, vol. 129, no. 6, pp. 515–518, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.jfluchem.2008.03.010.
- [52] M. Y. A. Yagoub, H. C. Swart, L. L. Noto, J. H. O’Connell, M. E. Lee, and E. Coetsee, “The effects of Eu-concentrations on the luminescent properties of SrF₂:Eu nanophosphor,” *J Lumin*, vol. 156, pp. 150–156, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.jlumin.2014.08.014.
- [53] Z. Liu *et al.*, “Microstructural, spectroscopic and mechanical properties of hot-pressed Er:SrF₂ transparent ceramics,” *J Eur Ceram Soc*, vol. 41, no. 9, pp. 4907–4914, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2021.03.041.
- [54] S. Ryszczyńska, K. Trejgis, Ł. Marciniak, and T. Grzyb, “Upconverting SrF₂:Er³⁺ Nanoparticles for Optical Temperature Sensors,” *ACS Appl Nano Mater*, vol. 4, no. 10, pp. 10438–10448, Oct. 2021, doi: 10.1021/acsanm.1c01964.
- [55] G. D. Wang *et al.*, “X-ray induced photodynamic therapy: A combination of radiotherapy and photodynamic therapy,” *Theranostics*, vol. 6, no. 13, pp. 2295–2305, Oct. 2016, doi: 10.7150/thno.16141.
- [56] R. Baskaran, J. Lee, and S. G. Yang, “Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications,” *Biomater Res*, vol. 22, no. 25, Jul. 2018, doi: 10.1186/s40824-018-0140-z.
- [57] O. Raab, “Ueber die Wirkung fluorescirender Stoffe auf Infusorien,” *Z. Biol.*, vol. 39, pp. 524–546, 1900.
- [58] T. Gu *et al.*, “Upconversion Composite Nanoparticles for Tumor Hypoxia Modulation and Enhanced Near-Infrared-Triggered Photodynamic Therapy,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 10, no. 18, pp. 15494–15503, May 2018, doi: 10.1021/acsami.8b03238.
- [59] D. , F. D. & J. R. Dolmans, “Photodynamic therapy for cancer,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, no. 5. pp. 375–380, May 2003. doi: 10.1038/nrc1070.

- [60] M. Ethirajan, Y. Chen, P. Joshi, and R. K. Pandey, "The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy," *Chem Soc Rev*, vol. 40, no. 1, pp. 340–362, Jan. 2011, doi: 10.1039/b915149b.
- [61] S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: A review," *Phys Med Biol*, vol. 58, no. 14, pp. 5007–5008, Jun. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/14/5007.
- [62] R. K. Jain and T. Stylianopoulos, "Delivering nanomedicine to solid tumors," *Nature Reviews Clinical Oncology*, vol. 7, no. 11, pp. 653–664, Nov. 2010. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.139.
- [63] Y. Tang, F. Soroush, J. B. Sheffield, B. Wang, B. Prabhakarpanthian, and M. F. Kiani, "A Biomimetic Microfluidic Tumor Microenvironment Platform Mimicking the EPR Effect for Rapid Screening of Drug Delivery Systems," *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-09815-9.
- [64] A. K. Iyer, G. Khaled, J. Fang, and H. Maeda, "Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting," *Drug Discovery Today*, vol. 11, no. 17–18, pp. 812–818, Sep. 2006. doi: 10.1016/j.drudis.2006.07.005.
- [65] A. P. Castano, T. N. Demidova, and M. R. Hamblin, "Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization," *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 1, no. 4, pp. 279–293, Dec. 2004, doi: 10.1016/S1572-1000(05)00007-4.
- [66] R. C. da Silva, "Avaliação da eficiência fotodinâmica de fotossensibilizadores com aplicação em terapia fotodinâmica," Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- [67] J. Usuda *et al.*, "Photodynamic Therapy (PDT) for Lung Cancers," *Journal of Thoracic Oncology*, vol. 1, no. 5, pp. 489–493, Jun. 2006.
- [68] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, and C. H. Sibata, "Photosensitizers in clinical PDT," *Photodiagnosis Photodyn Ther*, vol. 1, no. 1, pp. 27–42, May 2004, doi: 10.1016/S1572-1000(04)00007-9.
- [69] M. R. Detty, S. L. Gibson, and S. J. Wagner, "Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 47, no. 16, pp. 3897–3915, Jul. 29, 2004. doi: 10.1021/jm040074b.
- [70] B. W. Henderson and T. J. Dougherty, "HOW DOES PHOTODYNAMIC THERAPY WORK?," *Photochem Photobiol*, vol. 55, no. 1, pp. 145–157, Jan. 1992, doi: 10.1111/j.1751-1097.1992.tb04222.x.
- [71] K. Muniyandi, B. George, T. Parimelazhagan, and H. Abrahamse, "Role of Photoactive Phytocompounds in Photodynamic Therapy of Cancer," *Molecules*, vol. 25, no. 18, Sep. 2020, doi: 10.3390/molecules25184102.
- [72] P. Agostinis *et al.*, "Photodynamic therapy of cancer: An update," *CA Cancer J Clin*, vol. 61, no. 4, pp. 250–281, Jul. 2011, doi: 10.3322/caac.20114.

- [73] P. S. Maharjan and H. K. Bhattarai, “Singlet Oxygen, Photodynamic Therapy, and Mechanisms of Cancer Cell Death,” *J Oncol*, vol. 2022, Jun. 2022, doi: 10.1155/2022/7211485.
- [74] H. Wu, Q. Song, G. Ran, X. Lu, and B. Xu, “Recent developments in the detection of singlet oxygen with molecular spectroscopic methods,” *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 30, no. 1, pp. 133–141, Jan. 2011. doi: 10.1016/j.trac.2010.08.009.
- [75] G. G. Parra, “Interação de pontos quânticos com fotossensibilizadores orgânicos na presença de estruturas nano-organizadas,” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.
- [76] J. da S. Oliveira, “Multitherapeutic Nanoplatform Based on Scintillating Anthracene, Silver@Anthracene, and Gold@Anthracene Nanoparticles for Combined Radiation and Photodynamic Therapies: Enhancing Radiation Dose while Generating, Trapping, Probing, or Delivering Singlet Oxygen Species,” Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.
- [77] L. P. F. Aggarwal, “Interações das porfirinas aquo-solúveis TPPS4 e TMPyP com sistemas biológicos e modelos. Efeitos do pH e da força iônica.,” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.
- [78] I. de C. Nino, “AVALIAÇÃO DE PORFIRINAS NA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE CÁTIOS POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS E CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA,” Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- [79] X. Ragàs, M. Agut, and S. Nonell, “Singlet oxygen in Escherichia coli: New insights for antimicrobial photodynamic therapy,” *Free Radic Biol Med*, vol. 49, no. 5, pp. 770–776, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.05.027.
- [80] D. B. Eckl, L. Dengler, M. Nemmert, A. Eichner, W. Bäuml, and H. Huber, “A Closer Look at Dark Toxicity of the Photosensitizer TMPyP in Bacteria,” *Photochem Photobiol*, vol. 94, no. 1, pp. 165–172, Jan. 2018, doi: 10.1111/php.12846.
- [81] J. W. Snyder, E. Skovsen, J. D. C. Lambert, L. Poulsen, and P. R. Ogilby, “Optical detection of singlet oxygen from single cells,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 8, no. 37, pp. 4280–4293, Aug. 2006, doi: 10.1039/b609070m.
- [82] F. Bryden and R. W. Boyle, “Metalloporphyrins for Medical Imaging Applications,” in *Advances in Inorganic Chemistry*, Academic Press Inc., 2016, pp. 141–221. doi: 10.1016/bs.adioch.2015.09.003.
- [83] G. Braga *et al.*, “Autoagregação da 5,10,15,20-tetrakis(4-metoxifenil)porfirina (tmpp): Estudos espectroscópicos e análises multivariadas,” *Quim Nova*, vol. 37, no. 4, pp. 648–652, Mar. 2014, doi: 10.5935/0100-4042.20140105.
- [84] J. O. Kim, Y. A. Lee, B. H. Yun, S. W. Han, S. T. Kwag, and S. K. Kim, “Binding of meso-Tetrakis(N-methylpyridinium-4-yl)porphyrin to AT Oligomers: Effect of Chain Length and the Location of the Porphyrin Stacking,” *Biophys J*, vol. 86, no. 2, pp. 1012–1017, Feb. 2004, doi: 10.1016/S0006-3495(04)74176-4.

- [85] A. V. Snezhkina *et al.*, “ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells,” *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2019, no. 6175804, Aug. 2020, doi: 10.1155/2019/6175804.
- [86] B. Yang, Y. Chen, and J. Shi, “Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine,” *Chem Rev*, vol. 119, no. 8, pp. 4881–4985, Apr. 2019, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00626.
- [87] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, and J. Telser, “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease,” *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, vol. 39, no. 1, pp. 44–84, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- [88] K. H. Cheeseman and T. F. Slater, “An introduction to free radical biochemistry,” *British Medical Journal*, vol. 49, no. 3, pp. 481–493, Jul. 1993, doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625.
- [89] C. K. Roberts and K. K. Sindhu, “Oxidative stress and metabolic syndrome,” *Life Sciences*, vol. 84, no. 21–22, pp. 705–712, May 22, 2009. doi: 10.1016/j.lfs.2009.02.026.
- [90] J. Wang and J. Yi, “Cancer cell killing via ROS: To increase or decrease, that is a question,” *Cancer Biol Ther*, vol. 7, no. 12, pp. 1875–1884, Dec. 2008, doi: 10.4161/cbt.7.12.7067.
- [91] N. Nuñez, J. Sabek, J. García-Sevillano, E. Cantelar, A. Escudero, and M. Ocaña, “Solvent-controlled synthesis and luminescence properties of uniform Eu:YVO₄ nanophosphors with different morphologies,” *Eur J Inorg Chem*, no. 8, pp. 1301–1309, Mar. 2013, doi: 10.1002/ejic.201201016.
- [92] B. W. Chieng and Y. Y. Loo, “Synthesis of ZnO nanoparticles by modified polyol method,” *Mater Lett*, vol. 73, pp. 78–82, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.matlet.2012.01.004.
- [93] A. Karakaş, S. Harikrishnan, and H. F. Öztıp, “Preparation of EG/water mixture-based nanofluids using metal-oxide nanocomposite and measurement of their thermophysical properties,” *Thermal Science and Engineering Progress*, vol. 36, p. 101538, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.tsep.2022.101538.
- [94] R. S. de Oliveira, B. S. de Brito, J. Kulesza, S. Alves-Jr, and B. S. Barros, “Tunable photoluminescence of nanostructured LaPO₄:Eu³⁺/Tb³⁺ synthesized via a microwave-assisted ethylene glycol route,” *Ceram Int*, vol. 43, no. 11, pp. 8276–8283, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.03.160.
- [95] J. Wojnarowicz *et al.*, “Effect of Water Content in Ethylene Glycol Solvent on the Size of ZnO Nanoparticles Prepared Using Microwave Solvothermal Synthesis,” *J Nanomater*, vol. 2016, Jun. 2016, doi: 10.1155/2016/2789871.
- [96] K. G. Sharma and N. R. Singh, “Synthesis of CaWO₄:Eu³⁺ phosphor powders via ethylene glycol route and its optical properties,” *Journal of Rare Earths*, vol. 30, no. 4, pp. 310–314, Aug. 2012, doi: 10.1016/S1002-0721(12)60043-X.
- [97] W. Wang, J. Li, G. Duan, W. Zhao, B. Cao, and Z. Liu, “Morphology/size effect on the luminescence properties of the [(Y_xGd_{1-x})_{0.98}Dy_{0.02}]₂O₃ phosphor with enhanced

- yellow emission,” *J Lumin*, vol. 192, pp. 1056–1064, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.jlumin.2017.07.046.
- [98] C. Sun, M. Schäferling, U. Resch-Genger, and M. Gradzielski, “Solvothermal Synthesis of Lanthanide-doped NaYF₄ Upconversion Crystals with Size and Shape Control: Particle Properties and Growth Mechanism,” *ChemNanoMat*, vol. 7, no. 2, pp. 174–183, Feb. 2021, doi: 10.1002/cnma.202000564.
- [99] C. dos S. Bezerra, “Estudo Estrutural e Óptico do CaF₂, SrF₂ e LiCaAlF₆ Produzidos pelo Método Hidrotermal Assistido por Micro-ondas,” Tese de Doutorado, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016.
- [100] M. Isikawa and E. Guidelli, “Microfluidic Synthesis of Theranostic Nanoparticles with Near-Infrared Scintillation: Toward Next-Generation Dosimetry in X-ray-Induced Photodynamic Therapy,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 14, no. 1, pp. 324–336, Jan. 2022, doi: 10.1021/acscami.1c20689.
- [101] L. A. Zavala-Sanchez, G. A. Hirata, E. Novitskaya, K. Karandikar, M. Herrera, and O. A. Graeve, “Distribution of Eu²⁺ and Eu³⁺ Ions in Hydroxyapatite: A Cathodoluminescence and Raman Study,” *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 1, no. 12, pp. 1306–1313, Dec. 2015, doi: 10.1021/acsbmaterials.5b00378.
- [102] V. Kumar, V. Kumar, S. Som, M. M. Duvenhage, O. M. Ntwaeaborwa, and H. C. Swart, “Effect of Eu doping on the photoluminescence properties of ZnO nanophosphors for red emission applications,” *Appl Surf Sci*, vol. 308, pp. 419–430, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.apsusc.2014.04.192.
- [103] Y. Lan, B. Mei, W. Li, F. Xiong, and J. Song, “Preparation and scintillation properties of Eu²⁺:CaF₂ scintillation ceramics,” *J Lumin*, vol. 208, pp. 183–187, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.jlumin.2018.12.047.
- [104] S. Kurosawa, Y. Yokota, T. Yanagida, and A. Yoshikawa, “Eu-concentration dependence of optical and scintillation properties for Eu-doped SrF₂ single crystals,” *Physica Status Solidi (C) Current Topics in Solid State Physics*, vol. 9, no. 12, pp. 2275–2278, Dec. 2012, doi: 10.1002/pssc.201200449.
- [105] L. L. Noto, S. S. Pitale, M. A. Gusowki, J. J. Terblans, O. M. Ntwaeaborwa, and H. C. Swart, “Afterglow enhancement with In³⁺ codoping in CaTiO₃: Pr³⁺ red phosphor,” *Powder Technol*, vol. 237, pp. 141–146, Mar. 2013, doi: 10.1016/j.powtec.2013.01.029.
- [106] B. Ritter, T. Krahl, K. Rurack, and E. Kemnitz, “Nanoscale CaF₂ doped with Eu³⁺ and Tb³⁺ through fluorolytic sol-gel synthesis,” *J Mater Chem C Mater*, vol. 2, no. 40, pp. 8607–8613, Oct. 2014, doi: 10.1039/c4tc01073f.
- [107] Z. Zhou, W. Li, J. Song, G. Yi, B. Mei, and L. Su, “Synthesis and characterization of Nd³⁺ doped SrF₂ nanoparticles prepared by precipitation method,” *Ceram Int*, vol. 44, no. 4, pp. 4344–4350, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.12.028.
- [108] G. Zhi, J. Song, B. Mei, and W. Zhou, “Synthesis and characterization of Er³⁺ doped CaF₂ nanoparticles,” *J Alloys Compd*, vol. 509, no. 37, pp. 9133–9137, Sep. 2011, doi: 10.1016/j.jallcom.2011.06.084.

- [109] D. Chen, Y. Yu, F. Huang, P. Huang, A. Yang, and Y. Wang, "Modifying the size and shape of monodisperse bifunctional alkaline-earth fluoride nanocrystals through lanthanide doping," *J Am Chem Soc*, vol. 132, no. 29, pp. 9976–9978, Jul. 2010, doi: 10.1021/ja1036429.
- [110] F. Wang *et al.*, "Simultaneous phase and size control of upconversion nanocrystals through lanthanide doping," *Nature*, vol. 463, no. 7284, pp. 1061–1065, Feb. 2010, doi: 10.1038/nature08777.
- [111] P. Arenas-Guerrero *et al.*, "Determination of the size distribution of non-spherical nanoparticles by electric birefringence-based methods," *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-27840-0.
- [112] A. Kumar and C. K. Dixit, "Methods for characterization of nanoparticles," in *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, Amsterdam: Elsevier Inc., 2017, pp. 44–58. doi: 10.1016/B978-0-08-100557-6.00003-1.
- [113] D. de Sousa Neto and M. Tabak, "Interaction of the meso-tetrakis (4-N-methylpyridyl) porphyrin with gel and liquid state phospholipid vesicles," *J Colloid Interface Sci*, vol. 381, no. 1, pp. 73–82, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.jcis.2012.05.041.
- [114] K. Lang, P. Kubát, P. Lhoták, J. Mosinger, and D. M. Wagnerová, "Photophysical Properties and Photoinduced Electron Transfer Within Host-Guest Complexes of 5,10,15,20-Tetrakis(4-N-methylpyridyl)porphyrin with Water-soluble Calixarenes and Cyclodextrins," *Photochem Photobiol*, vol. 74, no. 4, pp. 558–565, Jul. 2001.
- [115] P. Parikh *et al.*, "Role of Polyacrylic Acid (PAA) Binder on the Solid Electrolyte Interphase in Silicon Anodes," *Chemistry of Materials*, vol. 31, no. 7, pp. 2535–2544, Apr. 2019, doi: 10.1021/acs.chemmater.8b05020.
- [116] H. Arkaban *et al.*, "Polyacrylic Acid Nanoplatfoms: Antimicrobial, Tissue Engineering, and Cancer Theranostic Applications," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 6, Mar. 2022, doi: 10.3390/polym14061259.
- [117] M. Lan, H. Zhao, H. Yuan, C. Jiang, S. Zuo, and Y. Jiang, "Absorption and EPR spectra of some porphyrins and metalloporphyrins," *Dyes and Pigments*, vol. 74, no. 2, pp. 357–362, May 2007, doi: 10.1016/j.dyepig.2006.02.018.
- [118] D. L. Akins, H.-R. Zhu, and C. Guo, "Absorption and Raman Scattering by Aggregated meso-Tetrakis(p-sulfonatophenyl)porphine," *J. Phys. Chem*, vol. 98, pp. 3612–3618, Apr. 1994.
- [119] K. Kano, H. Minamizono, T. Kitae, and S. Negi, "Self-Aggregation of Cationic Porphyrins in Water. Can π - π Stacking Interaction Overcome Electrostatic Repulsive Force?," *J. Phys. Chem.*, vol. 101, no. 34, pp. 6118–6124, Aug. 1997, doi: doi.org/10.1021/jp9710446.
- [120] H. Liu, P. J. H. Carter, A. C. Laan, R. Eelkema, and A. G. Denkova, "Singlet Oxygen Sensor Green is not a Suitable Probe for $1O_2$ in the Presence of Ionizing Radiation," *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-44880-2.

- [121] J. S. Oliveira and E. J. Guidelli, “Multitherapeutic nanoplatform based on scintillating anthracene, silver@anthracene, and gold@anthracene nanoparticles for combined radiation and photodynamic cancer therapies,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 126, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.msec.2021.112122.
- [122] K. Hubenko *et al.*, “Reactive oxygen species generation in aqueous solutions containing GdVO₄:Eu³⁺ nanoparticles and their complexes with methylene blue,” *Nanoscale Res Lett*, vol. 13, Apr. 2018, doi: 10.1186/s11671-018-2514-5.
- [123] Y. Zhang, T. Dai, M. Wang, D. Vecchio, L. Y. Chiang, and M. R. Hamblin, “Potentiation of antimicrobial photodynamic inactivation mediated by a cationic fullerene by added iodide: In vitro and in vivo studies,” *Nanomedicine*, vol. 10, no. 4, pp. 603–614, Mar. 2015, doi: 10.2217/nnm.14.131.
- [124] X. Zhen *et al.*, “A powerful combination of copper-cysteamine nanoparticles with potassium iodide for bacterial destruction,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 110, May 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110659.
- [125] M. C. Micheletto, É. J. Guidelli, and A. J. Costa-Filho, “Interaction of genetically encoded photosensitizers with scintillating nanoparticles for X-ray activated photodynamic therapy,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 13, no. 2, pp. 2289–2302, Jan. 2021, doi: 10.1021/acsami.0c19041.
- [126] E. Alves *et al.*, “Charge effect on the photoinactivation of gram-negative and gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins,” *BMC Microbiol*, vol. 9, 2009, doi: 10.1186/1471-2180-9-70.
- [127] T. Maisch, R. M. Szeimies, G. Jori, and C. Abels, “Antibacterial photodynamic therapy in dermatology,” *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 3, no. 10, pp. 907–917, Oct. 2004, doi: 10.1039/b407622b.
- [128] A. Garcia-Sampedro, A. Tabero, I. Mahamed, and P. Acedo, “Multimodal use of the porphyrin TMPyP: From cancer therapy to antimicrobial applications,” *J Porphyr Phthalocyanines*, vol. 23, pp. 1–17, Jan. 2020, doi: 10.1142/S1088424619500111.
- [129] A. Hanakova *et al.*, “The application of antimicrobial photodynamic therapy on *S. aureus* and *E. coli* using porphyrin photosensitizers bound to cyclodextrin,” *Microbiol Res*, vol. 169, no. 2–3, pp. 163–170, 2014, doi: 10.1016/j.micres.2013.07.005.
- [130] A. Hanakova *et al.*, “Study of photodynamic effects on NIH 3T3 cell line and bacteria,” *Biomedical Papers*, vol. 158, no. 2, pp. 201–207, Jun. 2012, doi: 10.5507/bp.2012.057.
- [131] A. Bakhtiar and E. H. Chowdhury, “PH-responsive strontium nanoparticles for targeted gene therapy against mammary carcinoma cells,” *Asian J Pharm Sci*, vol. 16, no. 2, pp. 236–252, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.ajps.2020.11.002.