

Universidade Federal de Juiz De Fora
Instituto de Ciências Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

Pedro Victor Almeida Pessanha

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DO FÁRMACO ANTINEOPLÁSICO
DOXORRUBICINA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO POR
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS**

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Sant'Ana

Juiz de Fora
2025

Pedro Victor Almeida Pessanha

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DO FÁRMACO ANTINEOPLÁSICO
DOXORRUBICINA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO POR
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS**

Tese apresentada ao departamento de Química da
Universidade Federal de Juiz de Fora como parte dos
requisitos necessários para a obtenção do título de
doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Sant'Ana

Juiz de Fora
2025

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pessanha, Pedro Victor Almeida.

Estudo das interações do fármaco antineoplásico doxorrubicina com nanopartículas de ouro por técnicas espectroscópicas / Pedro Victor Almeida Pessanha. -- 2025.

148 f. : il.

Orientador: Antônio Carlos Sant'ana

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2025.

1. SERS. 2. nanopartículas. 3. ouro. 4. espectroscopia. 5. DFT. I. Sant'ana, Antônio Carlos, orient. II. Título.

Pedro Victor Almeida Pessanha

"Estudo das interações do fármaco antineoplásico dioxorrubicina com nanopartículas de ouro por técnicas espectroscópicas"

Tese apresentada ao
Programa de Pós-
Graduação em
Química
da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Doutor em
Química. Área de
concentração: Química.

Aprovada em 13 de agosto de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Carlos Sant'Ana - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Jean Cláudio Santos Costa
Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Alexandre Cuin
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Maurício Antonio Pereira da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 31/07/2025.



Documento assinado eletronicamente por **Rômulo Augusto Ando, Usuário Externo**, em 13/08/2025, às 17:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Carlos Sant Ana, Professor(a)**, em 13/08/2025, às 17:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mauricio Antonio Pereira da Silva, Professor(a)**, em 13/08/2025, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Cuin, Professor(a)**, em 13/08/2025, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **JEAN CLAUDIO SANTOS COSTA, Usuário Externo**, em 13/08/2025, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **2525409** e o código CRC **45529AE3**.

Dedico essa tese a meus pais, que me deram à vida; a meu filho, que me deu novamente à vida; aos meus irmãos, que possuem braços muito fortes; à minha companheira, pela dúvida sempre desafiadora; e ao meu orientador, pelo ponto de referência no centro da entropia.

Trazemos conosco, como um tesouro irrecusável, um monte de crenças e de certezas indignas. Mesmo quem consegue desembaraçar-se delas e vencê-las, permanece – no deserto de sua lucidez – ainda fanático: de si mesmo, de sua própria existência; humilhou todas as suas obsessões, salvo o terreno em que afloram; perdeu todos os seus pontos fixos, salvo a fixidez da qual provém. A vida tem dogmas mais imutáveis que a teologia, pois cada existência está ancorada em infalibilidades que fazem empalidecer as elucubrações da demência ou da fé. O cético mesmo, apaixonado por suas dúvidas, mostra-se fanático pelo ceticismo. O homem é o ser dogmático por excelência; e seus dogmas são tanto mais profundos quando não os formula, quando os ignora e os segue. (Cioran, 2014, p. 101).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que surgiram como resultado das ações que tomei ao longo da vida. Esse trabalho surge como um produto do entremeio do fio do destino de todas elas ao fio do meu próprio destino. Continuam todos a viver em mim, e permanecerão comigo nas assíntotas do tempo, pois é por meio de tudo isso que o passado e o futuro ganham sentido e projeção.

Aos meus pais, irmãos, avós, tios e primos. Aos amigos, os grandes e os pequenos.

Ao meu filho querido, João, minha bússola de vida, nem tanto pelas responsabilidades quanto pelos reencontros com o ser-autêntico.

Ao professor Antônio Carlos Sant’Ana, meu querido orientador, guru, às vezes psicólogo e, sobretudo, amigo.

Ao LabNano, ao NEEM, ao Departamento de Química, ao ICE. À Faculdade de Letras e ao ICH. A todos os professores de todos estes lugares.

Aos amigos da Fundação CAEd e da Viação Conecta, de quem sem meu abuso da compreensão e da tolerância nada teria sido possível.

Acontece que as palavras simplesmente não bastam.

À UFJF, FAPEMIG, CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro.

RESUMO

A espectroscopia Raman associada às técnicas de intensificação de sinal constitui um leque de poderosas técnicas para a caracterização de substratos utilizáveis como sistemas de carregamento de fármacos em sistemas biológicos. Juntamente com a possibilidade de construir sistemas de carregamento mais eficientes emerge também a chance de minimizar muitos efeitos adversos que as drogas utilizadas no tratamento de doenças como o câncer podem trazer aos pacientes. A doxorrubicina é um agente antineoplásico e antibiótico amplamente utilizado em tratamentos de câncer em todo o mundo. Porém, os altos custos associados ao tratamento — em termos de saúde e finanças — são ainda concentrados pela absorção da droga, que facilmente permeia por todo o corpo humano, causando danos que podem levar o paciente à morte. Assim, garantir a eficiência da entrega controlada do fármaco significa também reduzir os danos a tecidos não neoplásicos. Tudo isso passa pela construção de dispositivos de entrega mais eficientes, como os dispositivos baseados em nanoestruturas metálicas, de modo que conhecer a interação do fármaco com a superfície da nanoestrutura é crucial. Neste trabalho, sintetizou-se nanoestruturas de ouro através do método da redução química com boroidreto e testou-se a eficiência SERS do coloide através das técnicas de espectroscopia de absorção na região UV-VIS-NIR e espectroscopia Raman nas linhas 632,8, 785 e 1064 nm. Para estudar o sistema com o fármaco, lançou-se mão do uso de conhecidos modificadores de superfície, como cloreto de potássio, mercaptoetanol e ácido clorídrico. As análises de espectroscopia permitiram inferir que a doxorrubicina adsorve em um plano perpendicular ao plano da superfície nanoestruturada na presença do mercaptoetanol, que age como espaçador e induz interações do tipo dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio; e em um plano diagonal ao plano da superfície quando os modificadores KCl e HCl, que formam interações do tipo íon-íon e íon dipolo, foram utilizados. Em paralelo, estruturas computacionais foram geradas e otimizadas para caracterizar, usando essa poderosa ferramenta de atribuição, tanto a adsorção em modelo de cluster quanto os dados espectroscópicos obtidos experimentalmente. Esses resultados indicam que a adsorção pode ocorrer em diferentes regimes e fornecem indícios de que o tipo de força de interação pode ser controlado, algo que é fundamental para a construção de dispositivos de entrega controlada de fármacos.

Palavras-chave: espectroscopia; sistemas biológicos; fármacos; nanopartículas.

ABSTRACT

Raman spectroscopy combined with signal-enhancement techniques constitutes a set of powerful tools for the characterization of substrates intended for use as drug delivery systems in biological environments. Along with the possibility of developing more efficient delivery platforms, there also emerges the opportunity to minimize many of the adverse effects associated with drugs employed in the treatment of diseases such as cancer. Doxorubicin is a widely used antineoplastic and antibiotic agent in cancer therapies worldwide. However, the high costs of treatment — in terms of health and finances — are compounded by the drug's systemic absorption, as it readily permeates throughout the human body, causing damage that may even lead to patient death. Thus, ensuring the efficiency of controlled drug delivery also entails reducing the impact on non-neoplastic tissues. This challenge requires the design of more effective delivery devices, such as those based on metallic nanostructures, making it crucial to understand the interaction between the drug and the nanostructured surface. In this study, gold nanostructures were synthesized via the chemical reduction method using borohydride, and the SERS efficiency of the resulting colloids were evaluated through absorption spectroscopy in the UV-VIS-NIR region, Raman and SERS spectroscopy at 632.8, 785, and 1064 nm excitation lines. To investigate the drug–nanostructure system, well-known surface modifiers such as potassium chloride, mercaptoethanol, and hydrochloric acid were employed. Spectroscopic analyses indicated that doxorubicin adsorbs in a plane perpendicular to the nanostructured surface in the presence of mercaptoethanol, which acts as a spacer and induces dipole–dipole interactions and hydrogen bonding. In contrast, adsorption occurs in a diagonal orientation relative to the surface plane when KCl and HCl are used, as these modifiers promote ion–ion and ion–dipole interactions. In parallel, computational structures were generated and optimized to characterize, by means of this powerful assignment tool, both cluster-model adsorption and the experimental spectroscopic data. These findings indicate that adsorption may occur under different regimes and provide evidence that the type of interaction force can be tuned, a key aspect for the design of controlled drug delivery devices.

Keywords: spectroscopy; biological systems; pharmaceuticals; nanoparticles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mortalidade causada por neoplasias no quinquênio de 2020-2024 (a), e mortalidade por tipo de neoplasia no ano-base de 2021 (b).	25
Figura 2 - Estrutura molecular da DOX, indicando a porção antraquinona (AP), os anéis I, II, III e IV, cadeia lateral (SC) e a porção açúcar (SM).	28
Figura 3 – Esquemas representativos para os espalhamentos Rayleigh, Stokes e anti-Stokes.	35
Figura 4 – Esquema representativo dos processos de espalhamento Stokes ressonante e de decaimento por fluorescência.	39
Figura 5 – Esquema da síntese de via úmida das AuNP baseada na metodologia de Creighton (1973) utilizada nesse trabalho.	56
Figura 6 – Espectros de absorção eletrônica na região UV-VIS-NIR de (a) AuNP logo após a síntese e (b) 24 horas após a síntese, armazenado em frasco âmbar, na temperatura ambiente (~21 °C). Espectro realizado em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm.	57
Figura 7 – Histogramas de tamanhos das AuNP obtidas. Intensidade do espalhamento (a), e número de espalhadores (b).	58
Figura 8 – Estruturas da DOX. (a) Estrutura química evidenciando os grupos I antraquinona e II carboidrato, e (b) estrutura gerada computacionalmente e utilizada como input nos cálculos de simulação.	60
Figura 9 – Espectros de absorção eletrônica (a) de uma solução aquosa de DOX (1×10^{-4} mol L ⁻¹) e (b) simulado no vácuo. <i>Inset</i> : orbitais naturais de transição (I) do estado fundamental e (II) do estado excitado. Espectro obtido na temperatura ambiente (~21 °C), em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. As estruturas foram otimizadas e os cálculos TD para singletos gerados no nível de teoria B3LYP/6-31+g(d,p).	61

Figura 10 – Espectros de absorção UV-VIS-NIR não modificados (a) solução aquosa de DOX (1×10^{-4} mol L⁻¹), (b) AuNP puras em diluição aquosa 9:1, (c) AuNP e DOX na concentração final de 1×10^{-4} mol L⁻¹, na proporção 9:1, em 51 espectros obtidos consecutivamente durante uma janela de uma hora (1.17 minutos de tempo médio de aquisição), e (d) soma dos espectros *a* e *b*. Todos os espectros foram obtidos em temperatura ambiente (~21 °C) e cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. 64

Figura 11 – Fórmula estrutural do β -ME (a) e estrutura da interação Au- β -ME-DOX esperada. 65

Figura 12 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais AuNP com adição de β -ME nas concentrações finais de (a) 1×10^{-6} mol L⁻¹, (b) 1×10^{-7} mol L⁻¹, (c) 1×10^{-8} mol L⁻¹, (d) 1×10^{-9} mol L⁻¹, (e) 1×10^{-10} mol L⁻¹ e (f) 1×10^{-11} mol L⁻¹. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente (~21 °C), em proporção coloide:modificador de 9:1. 67

Figura 13 – Estrutura da interação Au-Cl-DOX esperada. 69

Figura 14 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais de AuNP com adição de solução aquosa de KCl nas concentrações finais de (a) 1×10^{-1} mol L⁻¹, (b) 1×10^{-2} mol L⁻¹, e (c) 1×10^{-3} mol L⁻¹. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente (~21 °C), em proporção coloide:modificador de 9:1. 70

Figura 15 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais AuNP com adição de solução aquosa de HCl nas concentrações finais de (a) 1×10^{-2} mol L⁻¹, (b) 5×10^{-3} mol L⁻¹, (c) 1×10^{-3} mol L⁻¹ e (d) 1×10^{-4} mol L⁻¹. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente (~21 °C), em proporção coloide:modificador de 9:1. 72

Figura 16 – Espectros Raman da DOX sólida em (a) FT-Raman, 1064 nm, 1000 mW, 512 scans, obtido em tubo de Duran; (b) Raman dispersivo, 785 nm, 25 mW, 3 acumulações com 50 segundos de aquisição, obtido em lâmina de vidro; (c) DOX em solução aquosa (1×10^{-3} mol L⁻¹) em Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, obtido

em suporte de plástico, e (d) Atividade Raman simulada no nível de teoria DFT, com funcional e base B3LYP/6-31+G(d,p)..... 75

Figura 17 – Espectros Raman de (a) solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, e espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em Raman dispersivo, 633 nm, 10 mW, 3 acumulações com 20 segundos de aquisição, utilizando KCl como modificador de superfície nas concentrações (b) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em suporte plástico. 81

Figura 18 – Espectros SERS de (a) solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em FT-Raman, 1064 nm, 500 mW, 512 scans com KCl adicionado nas concentrações finais de $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em tubos de Duran. 82

Figura 19 – Espectros SERS sequenciais sobre a superfície da dispersão de AuNP. DOX com concentração final de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, com KCl adicionado na concentração final de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. *Inset*: intensidade da banda localizada em 1208 cm^{-1} , que representa bem o comportamento temporal do espectro. 84

Figura 20 – Espectro Raman de (a) DOX no estado sólido, obtido em porta amostras de alumínio, e (b) espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em tubo de Duran. Proporção de diluição final (DOX/ β -ME):AuNP 1:9. Espectros obtidos com radiação excitante em 1064 nm. 86

Figura 21 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a lamínula através de secagem a vácuo. (a) 100 pontos obtidos com radiação excitante de 633 nm, 5 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, sem tratamento, e (b) espectro médio após correção de linha base e suavização (*smoothing*) leve (I), e espectro médio obtido de 80 pontos após a remoção dos pontos que não apresentavam sinal ou apresentavam intenso sinal de carbono (II). Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$). 88

Figura 22 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração final de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a lamínula através de secagem a vácuo. 62 de 64 pontos obtidos com radiação excitante de 633 nm, 10 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, sem tratamento. Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$). 90

Figura 23 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando (a) KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (b) β -ME como modificador de superfície na concentração final de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a lamínula através de secagem a vácuo. Espectros obtidos com radiação excitante de 633 nm, 10 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, com correção de linha-base e suavização (*smoothing*) leve. Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$). 91

Figura 24 – Espectro Raman de (a) DOX no estado sólido, obtido em porta amostras de alumínio, espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (b) utilizando KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e (c) utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em tubo de Duran. Proporção de diluição final (DOX/ β -ME):AuNP 1:9. Espectros obtidos com radiação excitante em 1064 nm. 94

Figura 25 – (a) Espectro Raman ressonante da DOX em solução aquosa a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; espectros de SERRS de DOX na concentração final de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ na superfície das AuNP, modificados com KCl a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (b) em suspensão e (c) como filme seco. Todos os espectros Raman e SERRS foram excitados com $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$ 97

Figura 26 – Modelos de adsorção da DOX em superfície metálica (a) sem modificador ou com a adição de KCl ou (b) com a adição de β -ME..... 98

Figura 27 – Modelo de adsorção sem utilização de modificadores de superfície, contendo uma molécula de DOX e um cluster de ouro de 6 átomos, Au_6 , no vácuo. (a) estrutura inicial e (b) estrutura após a convergência. A metodologia utilizada foi B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ//B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ. 99

Figura 28 – Superfície de energia potencial elétrico baseada em densidade eletrônica para a estrutura final do modelo de adsorção. Regiões em azul apresentam potencial positivo, regiões em laranja ou vermelho potencial negativo. As regiões em tom de verde apresentam potencial aproximadamente neutro.	100
Figura 29 – Espectros SERS teórico da DOX na concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com KCl na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como modificador de superfície; e atividades Raman (b) teórica para a molécula no vácuo e (c) teórica para o cluster proposto no vácuo.	101
Figura 30 – Posições em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada. Os símbolos $\otimes$ e $\odot$ indicam posições em planos colineares ao plano da antraquinona localizados abaixo e acima, respectivamente.	104
Figura 31 – Posições de (a) a (g) em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada (I) e a respectiva geometria de equilíbrio resultante (II).....	106
Figura 32 - Posições (h) e (i) em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada (I) e a respectiva geometria de equilíbrio resultante (II). h) Adsorção testada para o íon DOXH^+ (carga positiva obtida através da supressão do ânion Cl^- da espécie cloridrato), e i) para DOX neutra, removendo-se o ácido clorídrico do anel da hexose.....	108
Figura 33 – Superfície de energia potencial do <i>cluster</i> DOX- Au_2 por posição de conformação testada. ($\Delta\Delta E_0$: soma das energias eletrônica e de ponto zero; $\Delta\Delta E$: energia eletrônica termicamente corrigida; $\Delta\Delta H$: soma das entalpias eletrônica e de ponto zero; $\Delta\Delta G$: soma das energias livres térmica e eletrônica.)	110
Figura 34 – Posições (I) e (II) de quelação de um cátion Au^{+1} testadas na DOX pela supressão de um próton do anel antraquinônico.	113
Figura 35 – Variações das energias de reação observadas, em termos da soma das energias eletrônicas dos íons DOX^{-1} e Au^{+1} livres, para as reações de formação do complexo entre a DOX^{-1} e um cátion Au^{+1} nas duas posições, I e II.....	115

Figura 36 – Geometria de adsorção (I) e superfície de potencial eletrostático (II) da posição I de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX. 117

Figura 37 – Orbitais naturais de transição HOMO (I) e LUMO (II) da posição I de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX. 118

Figura 38 – Geometria de adsorção (I) e superfície de potencial eletrostático (II) da posição II de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX. 120

Figura 39 – Orbitais naturais de transição HOMO (I) e LUMO (II) da posição II de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX. 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Indicadores de mortalidade por causa para o ano-base de 2021.....	24
Tabela 2 – Atribuição-tentativa das bandas Raman observadas nos espectros da DOX, e frequências calculadas correspondentes. Todos os valores estão apresentados em números de onda (cm^{-1}).....	77
Tabela 3 – Atribuição-tentativa das bandas Raman e SERS observadas nos espectros da DOX, e frequências calculadas correspondentes. Todos os valores apresentados estão em números de onda (cm^{-1}).....	95
Tabela 4 – Posições de interação DOX-Au ₂ e energias de adsorção envolvidas (kcal mol^{-1}).	109
Tabela 5 – Coordenadas cartesianas da estrutura de entrada do cloridrato de DOX.....	137
Tabela 6 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do cloridrato de DOX.	138
Tabela 7 – Coordenadas cartesianas de entrada do <i>cluster</i> de seis átomos de ouro (DOX-Au ₆).	140
Tabela 8 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do <i>cluster</i> de seis átomos de ouro (DOX-Au ₆).	140
Tabela 9 – Coordenadas cartesianas da estrutura de entrada do cloridrato de DOX adsorvida em um <i>cluster</i> de seis átomos de ouro (DOX-Au ₆).....	140
Tabela 10 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do cloridrato de DOX adsorvida em um <i>cluster</i> de seis átomos de ouro (DOX-Au ₆).	142

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Vetor do Momento de Dipolo Induzido.....	36
Equação 2 – Polarizabilidade como variação da coordenada interna.....	36
Equação 3 – Probabilidade do momento de transição entre dois estados vibracionais.....	36
Equação 4 – Dependência da intensidade Raman com a probabilidade do momento de transição e com a frequência à quarta potência para dois estados vibracionais a e b distintos.....	37
Equação 5 – Equação de Kramers-Heisenberg-Dirac para os elementos do tensor de polarizabilidade.	38
Equação 6 – Dependência da intensidade com a frequência e com a probabilidade do momento de transição vibrônica.....	40
Equação 7 – Modelo do campo elétrico no exterior de uma nanoestrutura metálica esferoide, utilizando a aproximação quasi-estática.	41
Equação 8 – Equação para a intensidade SERS.	41
Equação 9 – Hamiltoniano da parte eletrônica da função de onda. Índices i, j e N correspondem aos elétrons, e o índice A corresponde aos núcleos.....	42
Equação 10 – Termos energéticos do hamiltoniano eletrônico.....	42
Equação 11 – Número de elétrons em termos da densidade eletrônica.....	43
Equação 12 – Energia eletrônica total de um sistema de N elétrons.	43
Equação 13 – Equação de Kohn-Sham.	44
Equação 14 – Operadores potenciais de Kohn-Sham.....	44

Equação 15 – Densidade eletrônica em termos dos estados eletrônicos de um elétron.	45
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AP	Porção antraquinônica da doxorubicina (<i>Anthraquinone Portion</i>)
Au ₂	Dímero de ouro composto pela ligação metálica de dois átomos de Au ⁰
Au ₆	<i>Cluster</i> de ouro composto pela ligação metálica de seis átomos de Au ⁰
AuNP	Nanopartículas de ouro
DFT	Teoria do funcional da densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
DOX	Doxorrubicina
DOX.HCl	Cloridrato de doxorubicina
DOX ⁻¹	Forma aniônica da doxorubicina obtida pela remoção de um próton da porção antraquinônica da espécie doxorubicina neutra
DOXH ⁺	Forma catiônica da doxorubicina obtida pela remoção do ânion cloreto da espécie cloridrato de doxorubicina
LSPR	Ressonância de plásmon de superfície localizado (Localized Surface Plasmon Resonance)
mW	Miliwatts
nm	Nanômetros
RR	Efeito Raman ressonante
SC	Cadeia lateral da doxorubicina (<i>Side Chain</i>)

SERRS	Espalhamento Raman ressonante intensificado por superfície (<i>Surface Enhanced Resonant Raman Scattering</i>).
SERS	Espalhamento Raman intensificado por superfície (<i>Surface Enhanced Raman Scattering</i>)
SM	Porção açúcar da doxorubicina (<i>Sugar Moiety</i>)
TD-DFT	Teoria do funcional da densidade dependente do tempo (<i>Time-Dependent Density Functional Theory</i>)
UV	Região espectral do ultravioleta
UV-VIS	Região espectral do ultravioleta e visível
UV-VIS-NIR	Região espectral do ultravioleta, visível e infravermelho próximo
β -ME	2-Mercaptoetanol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
1.1 CÂNCER.....	23
1.2 DOXORRUBICINA.....	27
1.2.1 Propriedades e Características Químicas e Farmacológicas.....	27
1.2.2 Utilização	30
1.2.3 Desafios e Limitações (Toxicidade e Resistência)	30
1.2.4 Estratégias para Superar Limitações	31
1.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN	33
1.3.1 Espectroscopia Raman Ressonante.....	37
1.3.2 Espectroscopia de Espalhamento Raman Intensificado por Superfície	40
1.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE	42
2 OBJETIVOS	47
2.1 OBJETIVO GERAL.....	47
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
3 METODOLOGIA.....	49
3.1 REAGENTES	49
3.2 EQUIPAMENTOS	49
3.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE PRATA/OURO ...	49
3.4 ESTUDO DA CINÉTICA DA ADSORÇÃO DE MODIFICADORES DE SUPERFÍCIE NAS NANOESTRUTURAS.....	50
3.5 ESTUDO DA ADSORÇÃO DE DOX NAS NANOESTRUTURAS COM OU SEM MODIFICADORES DE SUPERFÍCIE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VIS-NIR	51
3.6 ESTUDO DO PADRÃO VIBRACIONAL POR ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	51
3.7 ESTUDO DO PADRÃO SERS DA DOX EM DISPERSÃO	52
3.8 SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DAS PROPRIEDADES ELETRÔNICAS, VIBRACIONAIS E ENERGÉTICAS DA DOX	52
3.9 ESTUDO DO PADRÃO SERS DA DOX EM FILMES FINOS	53
3.10 SIMULAÇÃO SISTEMAS-MODELO DE ADSORÇÃO EM CLUSTERS DE AU	53

4 RESULTADOS	55
4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS METÁLICAS	55
4.1.1 Espectroscopia de absorção eletrônica na região UV-VIS-NIR.....	56
4.2 ADSORÇÃO DE MODIFICADORES NA SUPERFÍCIE DAS AuNP.....	62
4.2.1 Doxorrubicina	62
4.2.2 Adição de solução de β -ME.....	64
4.2.3 Adição de solução de KCl	68
4.2.4 Adição de solução de HCl	71
4.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN E SERS	73
4.3.1 Doxorrubicina experimental e simulado	73
4.3.2 Espectroscopia SERS com adição de KCl.....	80
4.3.3 Espectroscopia SERS com adição de β -ME	85
4.3.4 Espectroscopia SERS em lâmina de vidro	87
4.3.5 Modelos de adsorção molecular	93
4.3.6 Modelo computacional de adsorção sem modificador	98
4.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE	102
4.4.1 Sítios de adsorção – <i>clusters</i> de Au ₂	103
4.4.2 Concorrência de reações de complexação – átomo de Au	111
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124
REFERÊNCIAS	129
ANEXO A – Coordenadas cartesianas das estruturas de entrada e saída (DFT)	137
ANEXO B – Script para aplicação do PCA em Python 3.12.....	145
ANEXO C – Publicação associada	148

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define como câncer o conjunto de doenças, de origem multifatorial, caracterizado pelo crescimento celular desordenado, capaz de afetar diversos tecidos do corpo e que foi responsável pela morte de 8.8 milhões de pessoas ao redor do mundo no ano de 2015 (Miller *et al.*, 2016). Embora certos tipos de câncer apresentem uma alta taxa de sobrevivência quando a doença é diagnosticada precocemente, o tratamento geralmente requer cirurgias e terapias em que a relação dos efeitos agonistas e antagonistas é grande (Bray *et al.*, 2018).

Dentre as estratégias mais utilizadas para aumentar a eficiência dos tratamentos e reduzir as reações adversas, encontra-se o uso de nanoestruturas – metálicas, orgânicas ou conjugadas – para a realização da entrega controlada de fármacos diretamente na região tumoral, através da associação de agentes, como anticorpos ou fragmentos de DNA, visando o reconhecimento de receptores específicos na parede celular, ou de forma passiva, na qual a entrega é atribuída à angiogênese tumoral (Johnstone; Suntharalingam; Lippard, 2016; Wilhelm *et al.*, 2016).

A angiogênese tumoral é a capacidade aumentada de abertura de novos vasos sanguíneos na região do tumor, o que resulta em um efeito vascular da permeabilidade e retenção aumentada. A real contribuição deste efeito, porém, é controversa; embora as regiões tumorais possuam um fator de crescimento epitelial elevado, a desordem intrínseca do crescimento celular produz tecidos extremamente desorganizados, ocasionando em contrapartida o rápido fechamento de vasos sanguíneos e linfáticos. A elevada velocidade de formação e fechamento de vasos, de menor diâmetro e maior pressão, também desfavorece a entrega seletiva de drogas realizada com partículas maiores (Nichols; Bae, 2014).

A possibilidade de usar nanopartículas de ouro ou prata no transporte de fármacos e a associação dessas nanoestruturas com a espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) levou essa técnica a ser largamente explorada na caracterização de sistemas biológicos com variados interesses, de imageamento e diagnóstico a tratamento. Nanoestruturas de metais de cunhagem exibem transições ressonantes de plásmon de superfície localizado quando excitadas por radiação eletromagnética na região do visível e infravermelho próximo e (Kelly *et al.*, 2003), dependendo da radiação incidente, podem ainda provocar aquecimento, possibilitando o uso de terapia fotodinâmica. A técnica SERS fornece informações sobre as espécies adsorvidas via quimissorção direta na superfície das nanoestruturas ou através da

interação com modificadores de superfícies (Kairdolf; Qian; Nie, 2017; Wang *et al.*, 2011). Contudo, a aplicação de sistemas de nanoestruturas na entrega controlada de fármacos depende da atribuição precisa das interações que ocorrem no sistema em nanoescala para que haja o entendimento de diversos mecanismos envolvidos no processo, como o mecanismo de reconhecimento de tecidos, de entrada celular, o caminho intracelular percorrido, e a ocorrência de efeitos adversos.

1.1 CÂNCER

Câncer é a denominação comum de um conjunto de doenças causadas por alterações genéticas e caracterizadas pelo crescimento desordenado de células, que superam os limites normais de divisão celular característicos das células saudáveis. Assim, esse conjunto de doenças provoca geralmente a formação de tumores que afetam as funções orgânicas e homeostáticas mais básicas, geralmente causando sintomas indesejáveis e até a morte (Einolghasi *et al.*, 2025; Santos *et al.*, 2023). O câncer é encarado como um desafio de saúde pública em todo o mundo. Globalmente, em 2020, o câncer causou quase 10 milhões de mortes e é esperado que se torne, ainda neste século, a principal causa de morte e o maior obstáculo para a elevação da expectativa de vida em todos os países (Bray *et al.*, 2018). A expectativa é que ele se torne a principal causa de morte, superando até mesmo outras causas relacionadas a doenças não transmissíveis, como doenças cardíacas, fome e guerra em vários países.

Muitos tipos diferentes de câncer, que apresentam características próprias e afetam os diferentes tecidos do corpo, podem ser observados. As células cancerosas surgem como resultado de mutações genéticas ou epigenéticas, que podem surgir como resultado de processos de seleção natural ou como resposta a fatores estressores externos e ambientais, como a exposição à poluição, à dietas pobres em nutrientes ou ricas em compostos químicos, hábitos e doenças, podendo afetar praticamente qualquer tecido do corpo. Muitos deles formam tumores sólidos, que são massas anormais de tecido, como o câncer de mama ou de próstata. Outros, como as leucemias, que afetam o sangue ou a medula óssea, são capazes de formar nódulos macios e podem ser caracterizados pela ausência de um núcleo sólido (Döhner; Weisdorf; Bloomfield, 2015; Siegel *et al.*, 2023). A tabela 1 apresenta os indicadores de mortalidade para o ano-base de 2021.

Tabela 1 – Indicadores de mortalidade por causa para o ano-base de 2021

Indicador	Ano de 2021
Óbitos totais	1.832.649
Algumas doenças infecciosas e parasitárias*	486.667
Doenças do aparelho circulatório	382.507
Neoplasias (tumores)	235.805
Causas externas de morbidade e de mortalidade	149.322
Doenças do aparelho respiratório	142.468
Doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas	96.818
Sintomas, sinais e achados anormais de exames clínicos e de laboratório, não classificados em outra parte	94.134
Doenças do aparelho digestivo	72.317
Doenças do aparelho geniturinário	50.858
Doenças do sistema nervoso	49.527
Algumas afecções causadas no período perinatal	18.602
Transtornos mentais e comportamentais	18.409
Malformações congênitas, deformidades e anomalias cromossômicas	9.992
Doenças de pele e tecido subcutâneo	8.169
Doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários	7.296
Doenças do sistema osteomuscular e do tecido conjuntivo	6.170
Gravidez, parto e puerpério	3.408
Doenças do ouvido e apófise mastóide	156

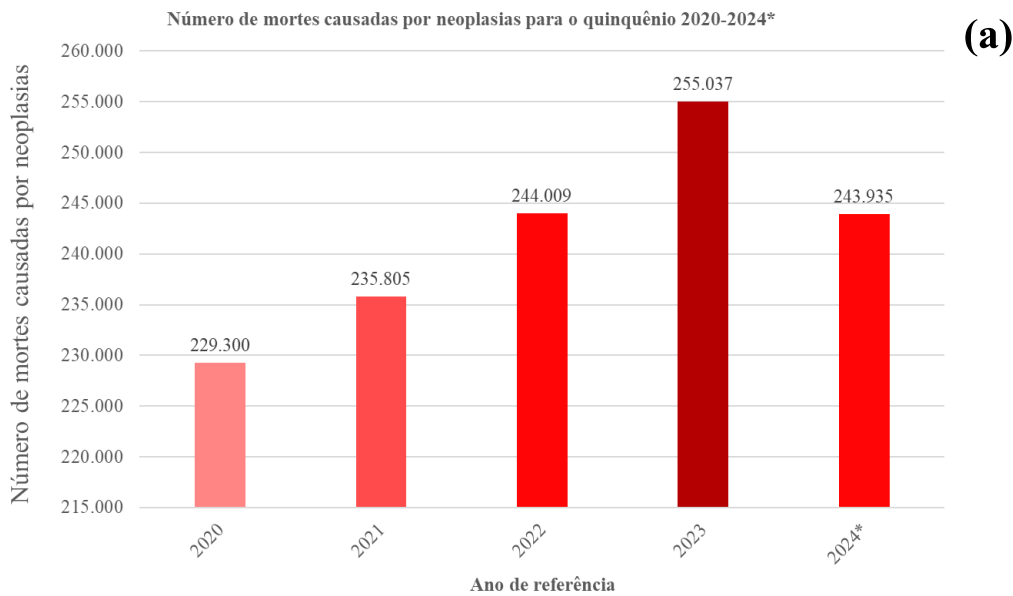
*Altas taxas de mortalidade relativas às síndromes causadas pela pandemia de Sars-COV2 de 2019.

Fonte: DATASUS (2021).

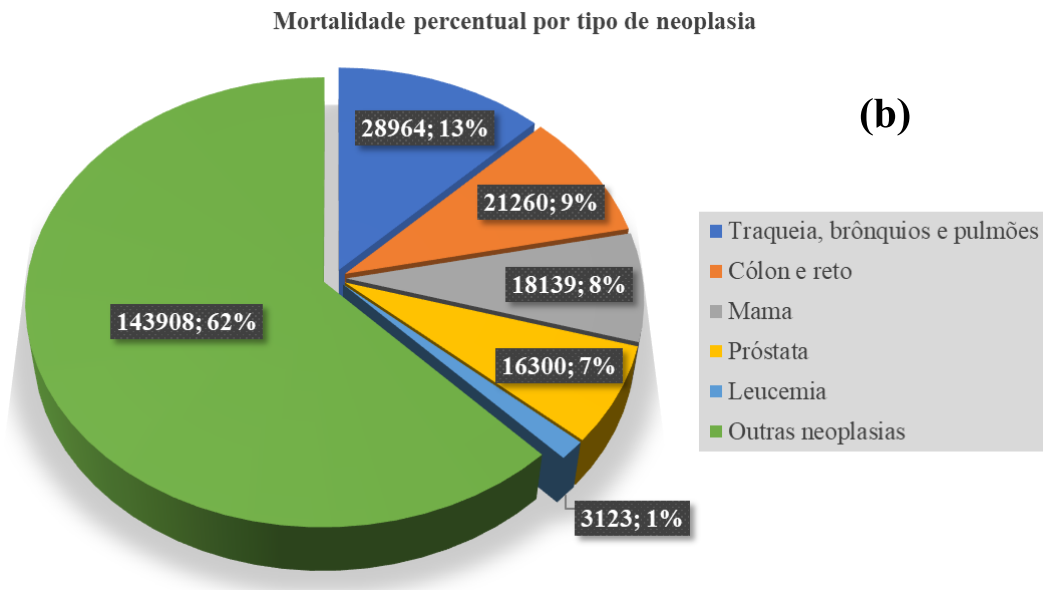
No Brasil, para o triênio de 2023 a 2025, são esperados 704 mil novos casos de câncer no total, conforme apresentado na figura 1 (a). A estimativa é de 483 mil novos casos de câncer, excluindo-se o câncer de pele não melanoma. O câncer de mama feminino e o de próstata são os mais comuns e que apresentam a maior taxa de mortalidade estratificada. É

esperado que o câncer de mama feminino apresente 73 mil novos casos e o de próstata, 71 mil novos casos nesse período, conforme a figura 1 (b). Esses dois tipos de neoplasias juntos representam uma parte expressiva dos casos esperados. Além desses tumores sólidos que afetam órgãos específicos, a leucemia também é um câncer importante, com estimativa do surgimento de 7,9 mil novos casos no Brasil para esse triênio.

Figura 1 – Mortalidade causada por neoplasias no quinquênio de 2020-2024 (a), e mortalidade por tipo de neoplasia no ano-base de 2021 (b)



*O ano-base de 2024 corresponde a uma estimativa.



Fonte: DATASUS (2021).

O perfil do câncer no Brasil reflete uma mistura de padrões de países desenvolvidos e em desenvolvimento, como uma evidência da diversidade étnica e cultural do país. As informações sobre a estimativa de casos no Brasil para 2023-2025 vêm dos Registros de Câncer de Base Populacional e do Sistema de Informação sobre Mortalidade, que utiliza uma metodologia similar à do Observatório Global do Câncer (Global Cancer Observatory – GLOBOCAN). É importante notar que as fontes fornecem estimativas de incidência para o Brasil em 2023-2025, mas não detalham o número de mortes esperadas por tipo de câncer para este mesmo período no país (Santos *et al.*, 2023). No entanto, os dados de mortalidade por fardo geral de doenças podem ser encontrados para o quinquênio de 2020 a 2024 no Sistema de Informação de Mortalidade (SIM), mantido pelo governo brasileiro.

A carga global do câncer é influenciada por uma variedade de fatores de risco modificáveis e não modificáveis, o que ressalta a importância de estratégias de controle e prevenção adaptadas às especificidades regionais. Entre os principais fatores de risco estão o tabagismo (incluindo fumo e tabaco de mascar), o consumo de álcool, dietas inadequadas (baixas em frutas e vegetais, e com alto consumo de carnes processadas), alta massa corporal (obesidade) e inatividade física. Infecções como HPV (câncer cervical), *Helicobacter pylori* (câncer de estômago) e hepatites (câncer de fígado) também são contribuintes significativos, especialmente em regiões menos desenvolvidas (Bray *et al.*, 2018; Murray, 2020). A prevenção e o tratamento do câncer envolvem diversas abordagens: as terapias convencionais incluem cirurgia, radioterapia e quimioterapia, frequentemente utilizadas em combinação. Avanços recentes trouxeram novas opções, como as terapias-alvo, que inibem o crescimento de células cancerosas específicas com menores danos às células saudáveis, e a imunoterapia, que utiliza o sistema imunológico do paciente para combater o câncer. Outras abordagens incluem a terapia hormonal para cânceres sensíveis a hormônios, a terapia com células-tronco, a ablação (como a ablação por radiofrequência), a terapia gênica e os tratamentos focados em características moleculares, como as mutações em genes de reparo de DNA (DDR) com inibidores de PARP (Debela *et al.*, 2021; Waks; Winer, 2019). Além disso, sistemas avançados de entrega de medicamentos, como nanoformulações (lipossomas e nanopartículas), estão sendo desenvolvidos para melhorar a especificidade, a eficácia e reduzir a toxicidade sistêmica dos quimioterápicos, como a doxorrubicina. A otimização dessas terapias, muitas vezes personalizadas com base em fatores tumorais do paciente, é crucial para melhorar os resultados e a qualidade de vida (Bisht *et al.*, 2024; Einolghasi *et al.*, 2025; Imantay *et al.*, 2025).

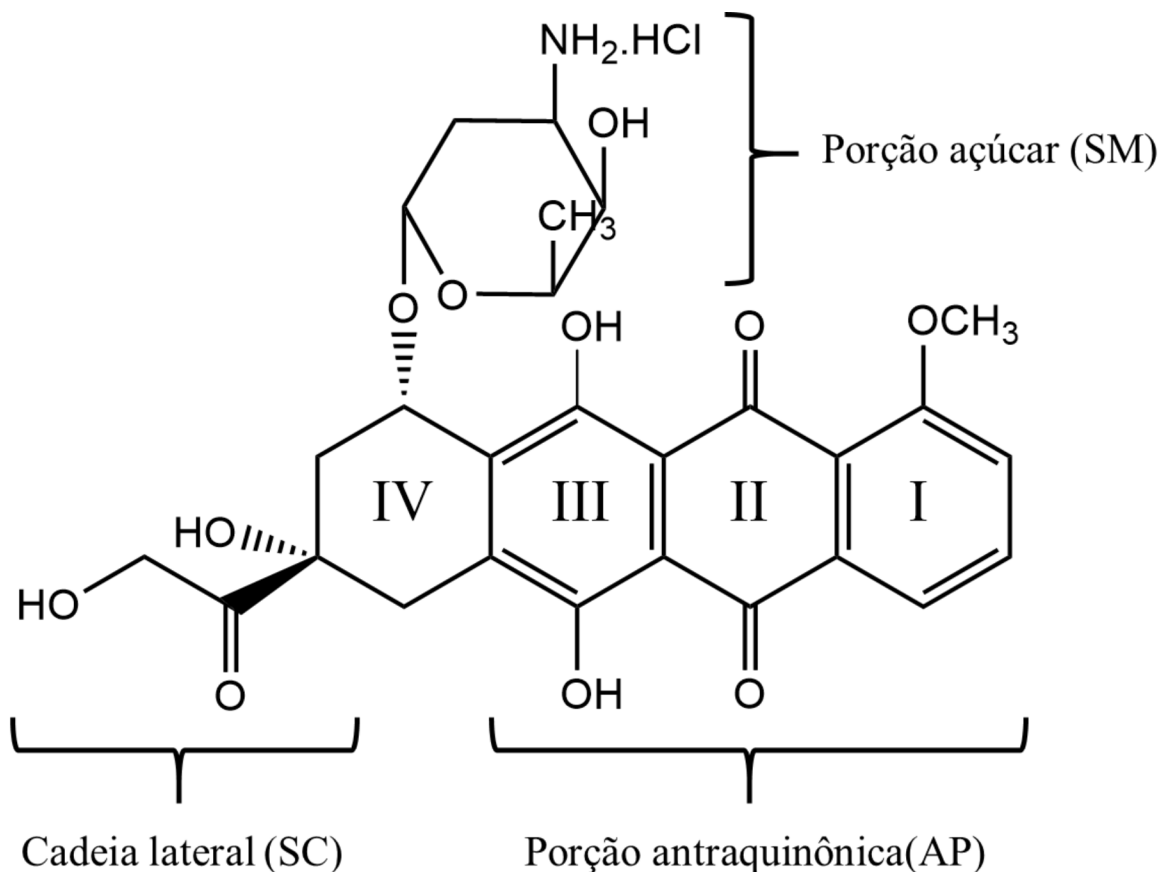
1.2 DOXORRUBICINA

A Doxorubicina (DOX), também conhecida como Adriamicina, é um dos fármacos quimioterápicos mais potentes e amplamente utilizados no tratamento de uma vasta gama de cânceres. É também um antibiótico antracíclico descoberto na década de 1950, isolado de uma cepa específica da bactéria *Streptomyces peucetius* var. *caesius* (Farhoudi *et al.*, 2024).

1.2.1 Propriedades e Características Químicas e Farmacológicas

A estrutura molecular da DOX é composta por uma parte plana, o grupo antraquinona, de três anéis aromáticos de seis carbonos condensados a um quarto anel lábil, ligados a um aminoaçúcar do tipo hexose, a daunosamina, localizado fora do plano da antraquinona. O cloridrato de DOX possui 70 átomos, resultando em 204 graus de liberdade de modos vibracionais ($3n - 6$), e possui o grupo pontual C_1 . A antraquinona apresenta características altamente lipofílicas, enquanto a porção do açúcar é hidrofílica (Olszówka *et al.*, 2016). A DOX, portanto, é um fármaco anfotérico e biocompatível, capaz de se translocar para diversos compartimentos subcelulares, onde interrompe a integridade do ácido desoxirribonucleico (DNA) intracelular, proteínas e moléculas lipídicas. Para aumentar sua solubilidade aquosa, o grupo amino do açúcar geralmente é protonado, formando o cloridrato de doxorubicina ($DOX \cdot HCl$), que é a forma geralmente comercializada em pó para preparo da suspensão. Além disso, a presença dos vários grupos funcionais, como anéis conjugados, grupos funcionais ácidos e básicos no aminoaçúcar, ligações quinônicas e uma cadeia lateral lábil tornam-na tanto anfífilica quanto anfotérica (Luu *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2021). A figura 2 mostra a estrutura molecular do DOX e, neste esquema, os três anéis que compõem a porção antraquinônica (Anéis I, II e III), o anel lábil (Anel IV), a porção açúcar (SM), a porção antraquinônica (AP) e a cadeia lateral (SC) foram representadas para aprofundar a descrição correta dos modos de vibração.

Figura 2 - Estrutura molecular da DOX, indicando a porção antraquinona (AP), os anéis I, II, III e IV, cadeia lateral (SC) e a porção açúcar (SM)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O mecanismo de ação antitumoral da doxorubicina é multifacetado e envolve diversas vias intracelulares:

- **Intercalação no DNA:** O principal mecanismo de ação da DOX envolve a sua intercalação entre os pares de bases do DNA. Essa intercalação afeta o funcionamento normal da molécula de DNA, prejudicando sua estrutura e suprimindo a replicação celular. Uma única molécula de doxorubicina pode causar um relaxamento da dupla hélice do DNA em aproximadamente -27° (Yan *et al.*, 1997).

- **Inibição da Topoisomerase II:** A DOX suprime a função da topoisomerase II, uma enzima que impede quebras no DNA nuclear de fita dupla. Ao se ligar à topoisomerase-II β (TOP2B), a doxorubicina inibe a capacidade da enzima de religar as fitas de DNA, causando

um expressivo aumento do número de quebras no DNA e aumentando a apoptose celular (Ibrahim Fouad; Rizk, 2024).

- Geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS): A DOX aumenta a geração de ROS, mediando danos a lipídios, proteínas e DNA. No citoplasma, a doxorubicina atua como um aceptor de elétrons e é convertida em uma forma semi-quinona instável por enzimas oxidorredutases, como NADH desidrogenase, óxido nítrico sintase e xantina oxidase. Essa semi-quinona instável é reconvertida em doxorubicina com a liberação de ROS, o que resulta em peroxidação lipídica, estresse oxidativo, dano à membrana, dano ao DNA e apoptose (Sritharan; Sivalingam, 2021).

- Complexação com Ferro: A DOX é um quelante de ferro, e o complexo doxorubicina-ferro catalisa a conversão de H_2O_2 e O_2^- intracelulares em radicais hidroxila reativos ($\text{OH}^\cdot$) através do ciclo do ferro entre Fe^{+2} e Fe^{+3} ou complexos ferro-peroxo que causam danos ao DNA, aos lipídios e às proteínas. Essas interações estimulam o ciclo redox excessivo e perturbam a função mitocondrial (Minotti, G., 2004).

- Danos ao DNA e Indução de Apoptose: A indução de dano ao DNA e a promoção do dano oxidativo podem causar apoptose pela DOX. As células moribundas tratadas com DOX sofrem modificações celulares que permitem a ativação de células dendríticas vizinhas e a apresentação aprimorada de antígenos tumorais (Minotti, Giorgio *et al.*, 1998).

- Outros Alvos Intracelulares: A DOX também interfere na regulação da homeostase de Ca^{+2} mitocondrial e celular, do ferro, e na superprodução de ceramida. No citoplasma, a DOX liga-se a proteassomas 26S com alta afinidade, e os sinais de translocação nuclear na subunidade 20S do proteassoma permitem a entrada da antraciclina no núcleo através dos poros nucleares. A DOX se liga à cardiolipina, um fosfolípido da membrana mitocondrial interna, e inibe os complexos I e II da cadeia de transporte de elétrons (ETC), levando à geração de ROS. Também induz a síntese de ceramida, capaz de ativar o fator de transcrição CREBL1, induzindo a expressão de genes pró-apoptóticos (Linders *et al.*, 2024).

A DOX atua em diferentes fases do ciclo celular: as células nas fases M e S são as mais sensíveis (inibição da síntese de DNA), seguidas pela fase G2 (pode afetar a síntese de

proteínas ou a configuração estrutural), e em menor extensão pela fase G1 (talvez devido à inibição da síntese de RNA) (Ibrahim Fouad; Rizk, 2024; Sritharan; Sivalingam, 2021).

1.2.2 Utilização

Desde a sua aprovação pela FDA em 1974, a DOX é amplamente utilizada, sozinha ou em combinação com outros fármacos quimioterápicos, como terapia de primeira linha para uma infinidade de tumores sólidos e metastáticos. É um componente essencial no tratamento de cânceres de mama, pulmão, ovário, tireoide, gástrico, sarcomas de tecidos moles, linfomas agressivos, neuroblastoma, tumores ósseos osteogênicos, tumor de Wilms, leucemia linfoblástica/mieloblástica aguda, doença de Hodgkin e linfoma cutâneo de células T (Linders *et al.*, 2024; Mathivathanan *et al.*, 2018).

1.2.3 Desafios e Limitações (Toxicidade e Resistência)

Apesar de sua eficácia, o uso clínico da DOX é limitado por sérios efeitos colaterais e pelo desenvolvimento de resistência. A toxicidade cardíaca da DOX é um dos efeitos adversos mais sérios e dose-dependentes, podendo levar à insuficiência cardíaca. Enquanto o trabalho inicial se concentrava no impacto direto da DOX nos cardiomiócitos, estudos recentes também destacam o papel do endotélio. Células endoteliais danificadas pela DOX podem desencadear o desenvolvimento e a progressão da cardiomiopatia, diminuindo a liberação e atividade de fatores endoteliais chave e induzindo a morte de células endoteliais. A cardiomiopatia dose-dependente pode resultar em insuficiência cardíaca congestiva (ICC) em 2,2% dos casos. A principal causa da cardiotoxicidade é a oxidação do ferro e a geração de radicais livres. A DOX e seu metabólito doxorubicinol também foram relatados por induzir disfunção cardíaca através de sua ligação e alteração da funcionalidade da Ca^{+2} ATPase do retículo sarco/endoplasmático (SERCA2A) e redução dos grupos tiol do receptor de rianodina (RyR2) (Bobo *et al.*, 2016; Szafraniec *et al.*, 2016).

A neurotoxicidade induzida pela DOX é a segunda reação adversa mais grave, depois da cardiotoxicidade, e limita significativamente sua aplicação clínica. O "quimiocérebro" é uma das complicações mais importantes da neurotoxicidade induzida pela DOX, manifestada como comprometimento neurocognitivo. Os mecanismos de neurotoxicidade induzida pela DOX são múltiplos e incluem estresse oxidativo, neuroinflamação, disrupção mitocondrial, apoptose,

autofagia, disfunção de neurotransmissores e comprometimento da neurogênese. O estresse oxidativo é considerado o principal iniciador da neurotoxicidade induzida pela DOX, levando à regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α (Ibrahim Fouad; Rizk, 2024).

As células cancerosas podem desenvolver resistência ao tratamento ao longo do tempo, o que limita a eficácia da terapia. A resistência aos fármacos é a principal causa de falha terapêutica em ambientes clínicos (Zang *et al.*, 2024).

1.2.4 Estratégias para Superar Limitações

Pesquisas contínuas se concentram em melhorar a eficácia da DOX e reduzir seus efeitos colaterais. O emprego de nanoestruturas para a liberação de DOX tem sido a estratégia mais popular para reverter a quimiorresistência e suprimir a toxicidade aguda. Estes sistemas oferecem vantagens, como a maior proteção do fármaco, biodistribuição aprimorada, seletividade e melhor farmacocinética. Os fármacos quimioterápicos convencionais frequentemente exibem eficácia limitada devido a desafios como a toxicidade em tecidos normais, o desenvolvimento de resistência celular e outros impactos adversos que podem comprometer a qualidade de vida do paciente. Ao contrário dos fármacos livres, os sistemas de entrega de fármacos (*drug-delivery systems* – DDS) podem oferecer vantagens significativas, incluindo o direcionamento preciso, a redução da toxicidade sistêmica, a melhoria da eficácia e o aumento do tempo de circulação sanguínea do fármaco (Srinivasan *et al.*, 2016; Zang *et al.*, 2024).

Sistemas de entrega nanoestruturados também demonstraram reduzir a toxicidade e aumentar a eficácia, permitindo a obtenção de maiores efeitos terapêuticos a doses mais baixas do fármaco aos pacientes, minimizando o risco de efeitos cardiotoxicos dose-dependentes.

Formulações lipossomais de DOX, como o Doxil, foram as primeiras nanodrogas aprovadas pela FDA em 1995. O Doxil foi aprovado para tratar sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e mieloma múltiplo. Outras formulações incluem o Myocet para câncer de mama. Lipossomas revestidos com polietilenoglicol resultam em tempo de circulação prolongado e maior acúmulo em exsudatos malignos a partir do efeito biocompatibilizador desse álcool. Existem também lipossomas termossensíveis, que liberam DOX de forma controlada em resposta ao calor (Chen *et al.*, 2024; Jarmila; Veronika; Peter, 2024).

Prodrgas que se ligam à albumina endógena, como DOXO-EMCH, foram desenvolvidas para aumentar a concentração do fármaco em locais-alvo e reduzir a toxicidade.

DOXO-EMCH demonstrou ter uma área sob a curva (AUC) grande, um pequeno volume de distribuição e baixa depuração em comparação com a DOX livre, e foi bem tolerada em doses significativamente mais altas que a DOX padrão (Kratz, 2008).

A DOX pode ser conjugada a nanopartículas de óxidos de ferro supermagnéticas (SPIONS) para entrega direcionada magneticamente e liberação pH-responsiva. Essas nanopartículas podem ser usadas, ainda, como substratos SERS para detecção em baixas concentrações e para monitoramento do fármaco. A DOX pode, também, ser carregada em nanopartículas de sílica mesoporosas, que oferecem boas biocompatibilidade, alta eficiência de carregamento e funcionalização de superfície. O sistema DOX·HCl-SiO₂ NPs é promissor para liberação de fármacos e demonstrou entrega eficiente ao núcleo de células cancerosas (Gautier *et al.*, 2013; Munnier *et al.*, 2008).

A quitosana e seus derivados são biopolímeros não tóxicos, biodegradáveis e mucoadesivos, com propriedades físico-químicas e biológicas ajustáveis, permitindo o direcionamento específico a células cancerosas. A quitosana quaternizada, por exemplo, torna-se permanentemente positiva, o que é útil para entrega de fármacos através de uso como substrato de recobrimento. As micelas poliméricas podem encapsular DOX e liberar o fármaco em resposta a estímulos específicos do tumor, como o pH ácido. Exemplos incluem micelas que incorporam epirrubicina e docetaxel, usadas em terapias combinadas (Ulbrich *et al.*, 2016).

Hidrogéis que carregam DOX são candidatos promissores para a entrega sítio-específica do fármaco no local do tumor, melhorando seu acúmulo nuclear e prevenindo a resistência a fármacos. A DOX também é frequentemente usada em combinação com outros fármacos quimioterápicos ou compostos naturais. A combinação de quimiodrogas com fitoquímicos, como curcumina, berberina e resveratrol, demonstrou sucesso em experimentos pré-clínicos (Zang *et al.*, 2024).

Nanoestruturas metálicas, em particular as nanopartículas de ouro (AuNP), são plataformas promissoras na entrega de fármacos devido às suas propriedades únicas, incluindo características ópticas e elétricas, que não são encontradas em nanopartículas baseadas em outros materiais (Teixeira; Costa; Sant'Ana, 2019). Essas nanopartículas podem ser fabricadas com precisão para otimizar a entrega do fármaco, sua localização e a biodistribuição, através do controle de seu tamanho, forma, carga superficial e composição. A síntese de nanopartículas metálicas é frequentemente realizada utilizando soluções de materiais de baixo custo como reagentes, como boroidreto de sódio, citrato trissódico ou ácido ascórbico, e permite o uso de

agentes de revestimento para prevenir a agregação e reduzir a toxicidade (Srinivasan *et al.*, 2016).

Esse tipo de nanoestrutura tem sido extensivamente explorado no carreamento e entrega de diversos fármacos, incluindo a DOX e o paclitaxel, indicando elevada capacidade dessas nanoestruturas para a entrega de fármacos direcionada a tumores (Fortuni *et al.*, 2023). Além disso, as AuNP direcionadas aos fibroblastos associados ao câncer mostraram-se eficazes em inibir sua ativação, oferecendo potencial no tratamento do câncer de ovário. A entrega de fármacos funcionalizados na superfície das nanopartículas de ouro pode potencializar a eficácia antitumoral e, ao mesmo tempo, reduzir a toxicidade sistêmica, uma possibilidade que surge devido à rica química de superfície das nanopartículas. A sua versatilidade permite sua aplicação na teranóstica (diagnose e terapia combinados), bem como em imunoterapia e radioterapia do câncer (Lu *et al.*, 2024).

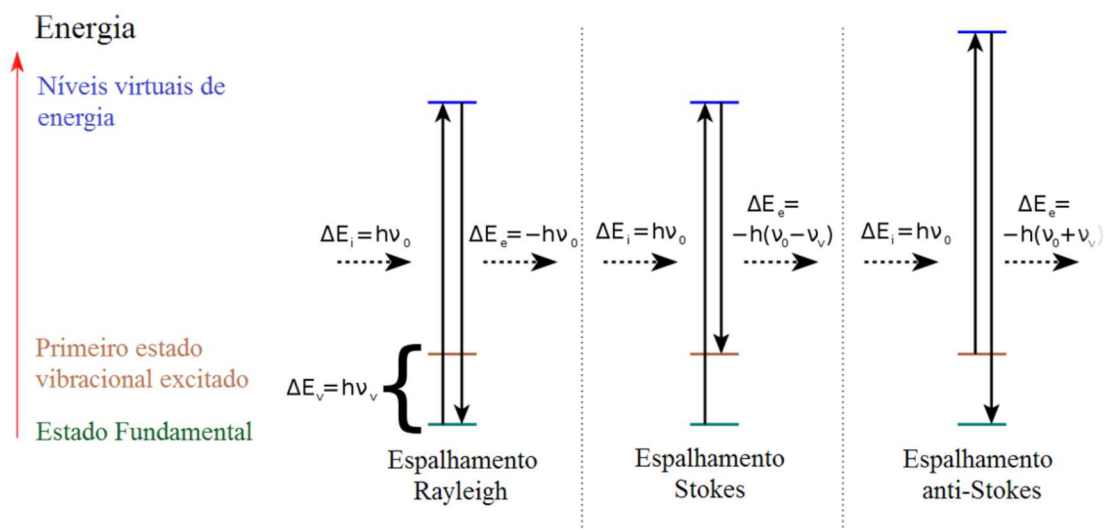
Para superar essas barreiras e aprofundar o entendimento da dinâmica dos fármacos, as pesquisas futuras devem enfatizar o desenvolvimento e aprimoramento de sistemas de monitoramento avançados. Técnicas como a espectroscopia de espalhamento Raman e, em particular, a espectroscopia de espalhamento Raman baseada no efeito de intensificação por superfície (*Surface-Enhanced Raman Scattering* - SERS), são essenciais, por oferecerem alta resolução, permitindo rastrear a distribuição intracelular, as interações moleculares e o modo de ação dos fármacos em tempo real, fornecendo informações capazes de complementar as metodologias médicas e analíticas vigentes (Cho *et al.*, 2008; Lee; Wang; Nie, 2015). A espectroscopia SERS, por exemplo, demonstrou ser uma ferramenta poderosa para detecção de biomoléculas, com alta sensibilidade e capacidade de fornecer informações químicas sem a necessidade de pré-tratamento ou de modificações moleculares, o que a torna ideal para o rastreamento da liberação de fármacos (daFonseca; Costa; Sant’Ana, 2018; Teixeira; Costa; Sant’Ana, 2019). Além disso, a construção de modelos teóricos e computacionais robustos é fundamental para prever e entender os mecanismos de liberação de fármacos dos nanocarreadores (Olszówka *et al.*, 2016). Em nível fundamental, esses modelos são necessários para relacionar as propriedades físico-químicas do fármaco e a composição da formulação às taxas de liberação, uma vez que tornam possíveis relacionar a natureza das interações observadas com a estrutura das formulações de DDS.

1.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN

O efeito Raman é a base de variadas técnicas de espectroscopia vibracional, que fornecem informações sobre o ambiente químico e a estrutura molecular dos mais variados tipos de amostra. A espectroscopia Raman, baseada inteiramente neste efeito, mede as diferenças de energia entre os fótons da radiação incidente e os fótons espalhados pela amostra, baseando-se na natureza de dois fótons do fenômeno. O efeito Raman foi descoberto por Chandrasekhara Venkata Raman em 1928, e seu trabalho publicado mais tarde lhe renderia, em 1930, o prêmio Nobel em física (Raman; Krishnan, 1928).

O fenômeno do espalhamento de luz através da interação molecular com a radiação monocromática incidente pode ocorrer de forma elástica ou inelástica. O espalhamento elástico de luz, também chamado de espalhamento Rayleigh, ocorre sem que haja diferença de energia entre o fóton incidente e o fóton espalhado, e possui intensidade cerca de 10^3 - 10^4 vezes maior que os fótons espalhados com diferenças de energia detectáveis. O espalhamento inelástico de luz, ou seja, espalhamento em que parte da energia é transferido para a amostra, é chamado de espalhamento Stokes quando a diferença é negativa, isto é, quando os fótons são espalhados com frequência menor que os fótons da radiação incidente, e espalhamento anti-Stokes para os fótons que possuem energia maior do que a energia da radiação incidente. Esta diferença de energia pode ser atribuída a modos vibracionais específicos. Através de processos de transferência de energia, a molécula ou cristal é levada a um estado virtual de energia, de rápido decaimento. Este retorno pode levar a molécula ao primeiro estado vibracionalmente excitado para o espalhamento Stokes, com ganho de energia igual à diferença entre a energia dos dois fótons envolvidos no processo. O espalhamento anti-Stokes ocorre quando a excitação para o estado virtual contempla moléculas já excitadas vibracionalmente, em que o processo radiativo de relaxamento pode levar a molécula ao estado fundamental de energia vibracional. A diferença de energia entre os dois fótons fornece a mesma energia da transição fundamental, mas com intensidade muito menor e proporcional ao número de moléculas que se encontram excitadas na temperatura ambiente ao interagirem com a radiação excitante (Sala, 2008). A Figura 3 ilustra o mecanismo de espalhamento Rayleigh, Stokes e anti-Stokes.

Figura 3 – Esquemas representativos para os espalhamentos Rayleigh, Stokes e anti-Stokes



Fonte: Adaptado de Sala (2008).

A partir de um processo de excitação com incidência de radiação monocromática plano-polarizada com frequência ν_0 , a molécula sofre excitação para um estado virtual de maior energia com $\Delta E_i = h\nu_0$, que decai para o estado fundamental rapidamente com o espalhamento de um novo fóton, perdendo energia com módulo igual a $\Delta E_e = h\nu_0$. Em alguns casos, o decaimento radiativo acontece para um nível vibracional excitado com energia de transição $\Delta E_v = h\nu_v$, que pode ser atribuída à diferença de energia entre os níveis vibracionais específicos. A excitação para o estado virtual também pode ocorrer com espécies que já se encontram em níveis vibracionais excitados, com energia $\Delta E_v = h\nu_v$, conforme a distribuição de Boltzmann para estados de energia. Neste caso, o relaxamento pode ocorrer para um estado fundamental vibracional, e a diferença de energia entre os fótons incidentes e espalhados, com as energias $\Delta E_i = h\nu_0$ e $\Delta E_e = h(\nu_0 + \nu_v)$, fornece a energia da transição vibracional.

O efeito Raman está relacionado com a variação nos momentos de dipolo induzidos através da excitação produzida por um campo elétrico externo. Os vetores de momento de dipolo induzido $\vec{P}$, apresentados na equação 1, apresentam dependência vetorial com o vetor campo elétrico $\vec{E}$ da radiação incidente ponderado pela polarizabilidade molecular α (Sala, 2008).

Equação 1 – Vetor do Momento de Dipolo Induzido

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}$$

A polarizabilidade molecular α , numa primeira aproximação para osciladores harmônicos, pode ser expandida em série de Taylor em função da coordenada interna q , que apresenta as variações em torno da distância de equilíbrio existente para uma configuração em que um dos osciladores se encontra no centro de um conjunto de coordenadas espaciais (Sala, 2008), conforme a equação 2.

Equação 2 – Polarizabilidade como variação da coordenada interna

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q + \frac{1}{2!} \left(\frac{\partial^2 \alpha}{\partial q^2}\right)_0 q^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{\partial^3 \alpha}{\partial q^3}\right)_0 q^3 \dots$$

Para o oscilador harmônico simples, as derivadas de maior ordem tomam tamanhos muito pequenos quando comparados com os dois primeiros termos e podem ser desprezadas.

A atividade Raman depende da probabilidade do momento de transição entre dois estados vibracionais distintos a e b , que depende do tensor de polarizabilidade $(\alpha_{ij})_{ab}$ e ao menos uma componente ij deve ser diferente de zero, tal qual apresentado na equação 3 (Sala, 2008).

Equação 3 – Probabilidade do momento de transição entre dois estados vibracionais

$$(\alpha_{ij})_{ab} = \langle \psi_a | \alpha_{ij} | \psi_b \rangle$$

$$(\alpha_{ij})_{ab} = \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q}\right)_0 \langle \psi_a | q | \psi_b \rangle$$

A intensidade Raman, como apresentada na equação 4, depende do quadrado da probabilidade do momento de transição, em que i e j são vetores unitários das coordenadas entre dois estados vibracionais distintos, além de ser diretamente proporcional à frequência da radiação incidente I_0 e à quarta potência da frequência da radiação ν espalhada. Como o operador q transforma de forma antissimétrica a função vibracional, é necessário que o produto entre φ_a e φ_b também transforme de forma antissimétrica para que a integral apresentada na

equação 3 seja diferente de zero. Para estes casos, a regra de seleção para transições vibracionais é $\Delta\nu = \pm 1$, em que o sinal de ‘+’ equivale às transições envolvendo fótons Stokes e o sinal de ‘-’ equivale às transições envolvendo fótons anti-Stokes (Sala, 2008).

Equação 4 – Dependência da intensidade Raman com a probabilidade do momento de transição e com a frequência à quarta potência para dois estados vibracionais a e b distintos

$$I_{ab} = \left(\frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 \nu^4 \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{ab}|^2$$

Para sistemas reais é necessário, porém, considerar a anarmonicidade dos osciladores, que pode ser descrita pela presença de um termo que considera o amortecimento das vibrações. É necessário, então, considerar as derivadas de maior ordem nas séries de Taylor para a polarizabilidade, que fornecem novos autovalores para a energia do oscilador harmônico, corrigidos por uma constante de amortecimento (Sala, 2008).

1.3.1 Espectroscopia Raman Ressonante

A espectroscopia Raman ressonante utiliza, para a excitação, radiação em ressonância ou pré-ressonância com transições eletrônicas existentes na molécula ou em um cristal. A interação entre a radiação eletromagnética e a molécula ou cristal leva a estados virtuais com energia próxima daquela de estados eletrônicos próprios, o que favorece tanto o efeito de Raman ressonante quanto processos de fluorescência a partir de cromóforos específicos, o que em geral ocorre com muita intensidade em função da elevada distribuição de estados de energia entre as moléculas ou cristais (Strommen; Nakamoto, 1977).

Em processos de espalhamento de luz, a probabilidade de uma transição depende dos elementos do tensor de polarizabilidade, $(\alpha_{ij})_{ab}$, para os quais uma expressão analítica é dada pela equação de Kramers-Heisenberg-Dirac, conforme a equação 5. Esse modelo se baseia na aproximação adiabática de Born-Oppenheimer, que propõe que os fenômenos eletrônicos ocorrem com velocidade muito maior do que os fenômenos de deslocamento nuclear, ou seja, os estados vibrônicos associados às transições são formados por produtos de funções puramente eletrônicas e puramente vibracionais (Clark; Dines, 1986).

Equação 5 – Equação de Kramers-Heisenberg-Dirac para os elementos do tensor de polarizabilidade

$$[\alpha_{ij}]_{ab} = \frac{1}{hc} \sum_r \left[\frac{[\mu_i]_{ar} [\mu_j]_{rb}}{\nu_{rb} - \nu_0 + i\Gamma_r} + \frac{[\mu_j]_{ar} [\mu_i]_{rb}}{\nu_{ra} + \nu_0 + i\Gamma_r} \right]$$

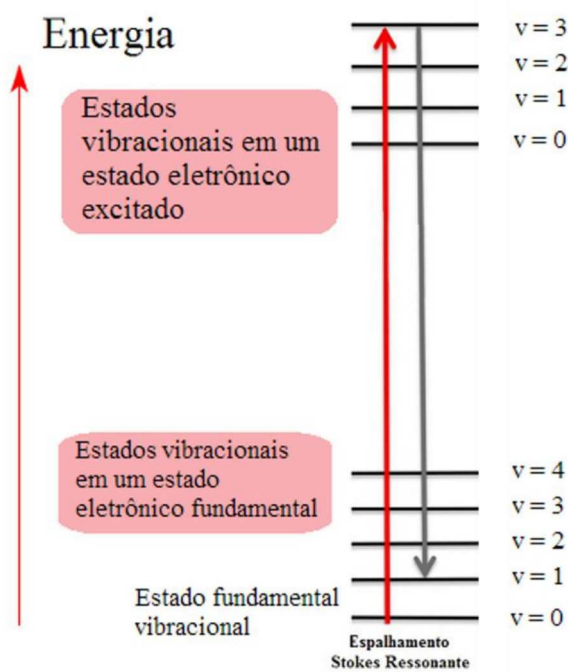
Nessa equação, que representa uma soma sobre todos os estados r , os termos μ_{ij} são os componentes do momento de dipolo das transições que envolvem o estado virtual de energia e Γ é o fator de amortecimento associado ao curto tempo de vida desse estado virtual. No espalhamento Raman ressonante, o termo $\tilde{\nu}_{rb} - \tilde{\nu}_0$ torna-se muito pequeno e o estado excitado de relevância torna-se dominante nessa soma de estados. Essas considerações, juntamente das considerações perturbativas sobre o acoplamento vibrônico relacionado às coordenadas normais, leva a um aumento da complexidade dos modelos, introduzindo quatro termos (A, B, C e D) que dependem dos componentes do momento de dipolo das transições vibracionais e eletrônicas associadas (Gong *et al.*, 2015). Esses termos ficaram conhecidos como termos de Albrecht (Albrecht, 1961), e a equação que relaciona a probabilidade de transição vibrônica, considerando os fenômenos ressonantes eletrônicos (e de forma resumida por mérito da clareza), está dada abaixo. Nesse formalismo, o termo A descreve as contribuições dos momentos de dipolo de transição e dos fatores de Franck-Condon sobre o tensor polarizabilidade de transição, que devem ambos ser diferentes de zero para qualquer transição. Este termo dá origem aos espalhamentos Stokes e anti-Stokes nessas condições. Já a contribuição do termo B está associada ao acoplamento do estado ressonante a algum estado excitado próprio do espalhador, e sua intensidade está relacionada com as integrais de transição e sobreposição vibrônicas. As contribuições dos termos C e D são geralmente negligenciadas; o termo C se assemelha ao termo B, com a diferença fundamental de que o estado de acoplamento é o estado fundamental e não o estado excitado, e, todavia, não há evidências experimentais dessa contribuição; e, por último, o termo D, que é ainda menor do que o termo C, mas que pode descrever combinações de primeiros sobretons e combinações binárias de sobretons de modos que apresentem alguma simetria (Clark; Dines, 1986).

Assim, para que uma transição Raman ressonante ocorra, é necessário que as integrais do momento de transição sejam não nulas, o que implica que as transições permitidas devem ser aquelas que são permitidas por dipolo elétrico. Além disso, a parte vibracional deve envolver

$\Delta v \neq 1$ e $\Delta s = 0$, uma vez que as funções de onda que descrevem os estados vibracionais e as funções de spin devem ser ortonormais. Em termos de simetria molecular, pode-se afirmar que as transições totalmente simétricas são permitidas, e que as transições assimétricas não devem ser observadas, ou seja, se a representação do modo vibracional Q_k estiver contida no produto direto das representações dos estados eletrônicos e e s , $\Gamma_e \otimes \Gamma_s$, então a integral de acoplamento vibrônico será não nula (Clark; Dines, 1986).

A figura 4 apresenta um esquema representativo para o espalhamento Stokes ressonante.

Figura 4 – Esquema representativo dos processos de espalhamento Stokes ressonante e de decaimento por fluorescência



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A intensidade das transições eletrônicas acopladas às transições vibracionais possui dependência com a quarta potência da soma das frequências associadas à transição eletrônica e vibracional (Strommen; Nakamoto, 1977), conforme apresentado na equação 6.

Equação 6 – Dependência da intensidade com a frequência e com a probabilidade do momento de transição vibrônica

$$I_{gb,ga} = \frac{128\pi^5}{9c^4} I_0 \sum_i \sum_j \left| (\alpha_{ij})_{ga,gb} \right|^2 (\nu_0 \pm \nu_b)^4$$

Na equação 6, ν_0 é a frequência associada ao fóton de excitação e ν_b é a frequência associada a uma transição vibracional de $\nu = 0$ para $\nu = 1$; i e j são as coordenadas espaciais individuais de cada componente do versor polarizabilidade, g faz referência ao estado fundamental eletrônico e a e b são quaisquer par de números quânticos vibracionais envolvidos numa transição hipotética (Strommen; Nakamoto, 1977). A expressão $(\alpha_{ij})_{ga,gb}$ é a polarizabilidade de transição que envolve as integrais com as funções de onda dos estados eletrônicos fundamental e excitado e os estados vibracionais correspondentes.

1.3.2 Espectroscopia de Espalhamento Raman Intensificado por Superfície

Embora a espectroscopia Raman forneça informações sobre a estrutura molecular e o ambiente químico para variados tipos de amostras, seu desempenho por vezes é limitado pela baixa secção de choque Raman das espécies de interesse analítico e pela dificuldade de obter-se espectros para amostras que apresentam absorção alta em diversas linhas de excitação no visível. Observou-se, porém, que nanoestruturas metálicas, em especial dos metais de cunhagem ouro, prata e cobre, apresentam intensas bandas de absorção eletrônica na região do visível, e estas bandas podem ser atribuídas à ressonância de plásmon de superfície localizado (do inglês *Localized Surface Plasmon Resonance* – LSPR). Esta ressonância de plásmon provoca uma forte intensificação do campo elétrico local na superfície das nanoestruturas, levando a intensificações nos espectros Raman de espécies adsorvidas nos substratos metálicos, chegando inclusive a ordens de 10^8 em alguns casos (Willems; Van Duyne, 2007).

Numa primeira aproximação, a intensificação de campo elétrico exterior às nanopartículas pode ser determinada através da aplicação das equações de Maxwell a um modelo esferoide metálico de raio a e constante dielétrica $\epsilon_{int}(\nu_0)$ dependente da frequência da radiação incidente, imerso em um meio de constante dielétrica fixa ϵ_{ext} , em que r é o módulo do vetor que liga o centro da esfera a todos pontos do seu exterior, $\hat{i}$, $\hat{j}$ e $\hat{k}$ são versores de

coordenadas cartesianas e E_0 é o módulo do campo elétrico na direção perpendicular à superfície. A equação 7 apresenta o modelo do campo (Willets; Van Duyne, 2007).

Equação 7 – Modelo do campo elétrico no exterior de uma nanoestrutura metálica esferoide, utilizando a aproximação quasi-estática

$$\vec{E}_{ext} = E_0 \hat{k} - \left(\frac{\epsilon_{int}(\nu_0) - \epsilon_{ext}}{\epsilon_{int}(\nu_0) + 2\epsilon_{ext}} \right) a^3 E_0 \left(\frac{1}{r^3} \hat{k} - \frac{3k}{r^5} (i\hat{i} + j\hat{j} + k\hat{k}) \right)$$

Na condição de ressonância, ou seja, quando a constante dielétrica do interior da esfera metálica iguala-se a $-2\epsilon_{ext}$, o campo elétrico é enormemente intensificado. A intensificação, entretanto, cai rapidamente com o aumento da distância entre o ponto de medida e a esfera metálica (WILLETS, 2007). A intensificação do fenômeno SERS depende da ressonância entre a frequência da radiação incidente e as transições intrabandas do plásmo-poláriton metálico. Além disso, a intensidade SERS depende também do número de moléculas espalhadoras N no volume útil e da secção de choque Raman σ_{RS} ; depende da intensidade da radiação incidente $I(\nu_0)$ e do quadrado dos módulos dos campos elétricos incidente e espalhado, $|\vec{E}(\nu_0)|^2$ e $|\vec{E}(\nu_s)|^2$, respectivamente; a dependência pode ser expressa matematicamente pela equação 8.

Equação 8 – Equação para a intensidade SERS

$$I_{SERS}(\nu_s) = N \times I(\nu_0) |\vec{E}(\nu_0)|^2 \times |\vec{E}(\nu_s)|^2 \sigma_{RS}$$

As propriedades eletrônicas de nanoestruturas metálicas são fortemente determinadas por sua morfologia e tamanho, resultando em intensificações de campo elétrico local diferente quando na presença de excitação por radiação eletromagnética, o que permite a escolha da forma e tamanho das nanopartículas de maneira a adequá-las às diferentes aplicações (KELLY, 2003). Além disso, a pode ocorrer também o efeito químico, que está diretamente relacionado à mudança da polarizabilidade molecular decorrente da adsorção na superfície da nanoestrutura. Esse efeito, raramente ultrapassa a intensificação aproximada de ~ 10 vezes, mas fornece relevantes informações a respeito dos sítios moleculares capazes de interagir com a nanoestrutura (Le Ru *et al.*, 2007).

1.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

A Teoria do Funcional da Densidade (*Density Functional Theory* - DFT) é uma metodologia central e amplamente aplicada na química computacional e em diversas outras áreas científicas, especialmente para investigar as propriedades de estado fundamental de sistemas moleculares e de superfície. É valorizada por sua eficiência e confiabilidade na determinação dessas propriedades (Burke; Wagner, 2013).

A DFT permite uma análise profunda da estrutura eletrônica, das ligações químicas e da reatividade em sistemas atômicos e moleculares. Especificamente, a DFT é utilizada para calcular e prever com precisão propriedades cruciais do estado fundamental, como as geometrias moleculares, as energias totais, e as densidades eletrônicas. Além disso, pode determinar as energias de ionização e afinidades eletrônicas, modos vibracionais normais e polarizabilidades, bem como simular espectros Raman. Em sistemas de superfície, a DFT é empregada para compreender interações entre moléculas e superfícies, processos catalíticos, adsorção e as propriedades eletrônicas de materiais (Xie; Lei; Fang, 2012).

A distinção fundamental da DFT, em contraste com as teorias da mecânica quântica, baseadas na função de onda (como Hartree-Fock, Møller-Plesset e Coupled Cluster), reside na sua dependência primária da densidade eletrônica como variável fundamental.

Por meio da aproximação de Born-Oppenheimer, o operador hamiltoniano da parte eletrônica da função de onda é dado pela equação 9.

Equação 9 – Hamiltoniano da parte eletrônica da função de onda. Índices i, j e N correspondem aos elétrons, e o índice A corresponde aos núcleos

$$\hat{H}_{ele} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 + \sum_{i,j,i \neq j}^N \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}}$$

Uma vez que cada elétron sofre os efeitos de um potencial externo devido aos núcleos M , o hamiltoniano pode ser rescrito conforme a equação 10.

Equação 10 – Termos energéticos do hamiltoniano eletrônico

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{ext}$$

No entanto, para um sistema de N elétrons interagentes, os termos $\hat{V}_{ee}$ dessa equação, relacionados aos potenciais de interação do tipo coulômbica entre os elétrons implicam na resolução de sistemas que dependem das coordenadas de todos os elétrons ($3N$ coordenadas para N elétrons), tornando-os computacionalmente custosos para sistemas grandes. A DFT aborda o problema levando o foco para a densidade eletrônica, uma função que depende de apenas três coordenadas espaciais, independentemente do número de elétrons (Burke; Wagner, 2013; Verma; Truhlar, 2020).

Os fundamentos teóricos da DFT moderna foram estabelecidos pelos teoremas de Hohenberg e Kohn em 1964, que demonstraram que a energia do estado fundamental de um sistema de muitos elétrons é um funcional único e universal da densidade eletrônica (Hohenberg; Kohn, 1964). Assim, o número de elétrons, uma função unívoca da densidade eletrônica, pode ser obtido através de uma integração ao longo de todo o espaço da densidade eletrônica, conforme a equação 11.

Equação 11 – Número de elétrons em termos da densidade eletrônica

$$N = \int \rho(r) dr$$

A energia total do sistema pode então ser determinada pela aplicação do hamiltoniano a esse funcional da densidade eletrônica, tal qual é exibido na equação 12.

Equação 12 – Energia eletrônica total de um sistema de N elétrons

$$E_v[\rho(r)] = F[\rho(r)] + \int V(r)\rho(r)dr$$

Nessa equação, F é o hamiltoniano puramente eletrônico, mostrado na equação 9, e o termo integral é o potencial externo escrito por meio do funcional da densidade eletrônica. Os dois teoremas seminais de Hohenberg e Kohn que validam essas proposições são (Hohenberg; Kohn, 1964):

1 – O potencial externo é um funcional único da densidade eletrônica. O hamiltoniano, e, portanto, todas as propriedades do estado fundamental podem ser determinadas completamente pela densidade eletrônica.

2 – A energia do estado fundamental pode ser determinada por meio do Teorema Variacional. A densidade que minimiza a energia total é a densidade eletrônica do estado fundamental.

Em 1965, Kohn e Sham introduziram uma abordagem que transforma o problema de muitos corpos em um conjunto de equações efetivas para elétrons não interagentes em um potencial efetivo (o potencial de Kohn-Sham, V_{KS}), exibido na equação 13 (Kohn; Sham, 1965). Assim, com base nesses dois teoremas, os autores puderam demonstrar que a densidade eletrônica do estado fundamental, que corresponde ao estado de energia eletrônica mínima, pode ser obtida através de N equações de Schroedinger de um elétron como uma função desse termo potencial V_{KS} .

Equação 13 – Equação de Kohn-Sham

$$-\frac{1}{2}\nabla_i^2\psi_i(r) + V_{KS}(r)\psi_i(r) = \varepsilon_i\psi_i(r)$$

Nessa equação, ε_i são multiplicadores de Lagrange que correspondem à ortonormalidade dos N estados de um elétron, $\psi_i(r)$. O potencial de Kohn-Sham agrupa os termos potenciais já mencionados, como o potencial de interação elétron-núcleo e o potencial de interação coulômbicas puramente eletrônico dado pela aproximação de Hartree, V_H . No entanto, a diferenciação ocorre pela introdução de um termo, o potencial de troca e correlação, V_{XC} . Em situações em que o potencial de troca e correlação é negligenciado, a DFT corresponde ao próprio método de Hartree-Fock (Kohn; Sham, 1965). Assim, o potencial de Kohn-Sham é dado pela equação 14.

Equação 14 – Operadores potenciais de Kohn-Sham

$$V_{KS}(r) = V_{ext}(r) + V_H(r) + V_{XC}(r)$$

A densidade eletrônica, então, é construída na forma da equação 15.

Equação 15 – Densidade eletrônica em termos dos estados eletrônicos de um elétron

$$\rho(r) = 2 \sum_i^N |\psi_i(r)|^2$$

O elemento central da DFT é o funcional de troca e correlação (XC), que representa a porção não-trivial da interação de muitos corpos entre os elétrons. Como a forma exata desse funcional é desconhecida, diversas aproximações podem ser empregadas. A Aproximação da Densidade Local (LDA) é a forma mais simples, baseando-se na densidade eletrônica local (Kohn; Sham, 1965). As Aproximações de Gradiente Generalizado (GGAs) melhoram a LDA incorporando informações sobre o gradiente da densidade eletrônica. Exemplos notáveis incluem PW91 (Burke; Perdew; Wang, 1998) e PBE (Perdew; Ernzerhof; Burke, 1996). Funcionais Híbridos combinam uma porção do termo de troca exata de Hartree-Fock com termos de troca e correlação da DFT. O B3LYP é um exemplo amplamente utilizado. Meta-GGAs adicionam a densidade de energia cinética ao gradiente da densidade. Funcionais Híbridos Separados por Intervalo, como CAM-B3LYP, são úteis para descrever estados de transferência de carga de longo alcance e estados de Rydberg, devido à sua inclusão não constante de troca do tipo Hartree-Fock (Becke, 1993).

A precisão dos resultados da DFT está diretamente ligada à escolha do funcional XC. O uso de um funcional inadequado ou um conjunto de base pequeno e inconsistente pode levar a resultados duvidosos. Além da escolha do funcional, os cálculos de DFT utilizam conjuntos de base para representar matematicamente os orbitais atômicos, a partir dos quais são construídos os orbitais moleculares. Aprimoramentos como funções de polarização e difusas são comuns para melhorar a descrição da distribuição eletrônica (Burke; Wagner, 2013; Laurent; Jacquemin, 2013).

Neste trabalho, a adsorção do fármaco antineoplásico cloridrato de doxorrubicina (DOX) em superfícies de nanopartículas de ouro (AuNP) foi caracterizada vibracionalmente por meio das espectroscopias Raman e Raman intensificada por superfície (SERS) usando diferentes radiações excitantes e modificadores de superfície. A caracterização das geometrias de adsorção de DOX adsorvida em AuNP foi realizada na presença e ausência de íons cloreto

(Cl⁻) e de 2-mercaptoetanol (β -ME) por meio de espectroscopia SERS. Cálculos da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) foram utilizados para possibilitar a atribuição conclusiva dos modos vibracionais desta molécula, permitindo caracterizar diferentes mecanismos de ancoragem. Tal abordagem só foi possível pela comparação de diferentes padrões espectrais por meio do registro de espectros SERS na presença e ausência de condições de ressonância. A cinética de adsorção em superfícies de AuNP, com o controle sobre os processos de agregação, foi coletada com distintos modificadores de superfície e investigada por espectroscopia UV-VIS-NIR.

2 OBJETIVOS

As próximas sessões apresentam os objetivos gerais e específicos deste trabalho.

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as interações da doxorubicina (DOX), com e sem a presença dos modificadores de superfície cloreto de potássio (KCl), ácido clorídrico (HCl) e 2-mercaptoetanol (β -ME) com a superfície das nanoestruturas metálicas de ouro, através das espectroscopias Raman, SERS e UV-VIS-NIR, e realizar a atribuição vibracional a partir de estudos de simulação computacional dos sistemas molécula-metal visando entender os mecanismos de interação do fármaco com as superfícies metálicas para potencial aplicação biológica como estratégia de entrega controlada de fármacos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter os padrões espectrais por espectroscopia Raman da DOX no estado sólido utilizando as radiações de excitação de 1064, 785 e 633 nm, para elucidar os padrões vibracionais, principais grupos ligados aos cromóforos, resposta aos comprimentos de onda de excitação e a atribuição das vibrações desse fármaco;
- b) Estudar, através de espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões do UV-VIS-NIR, a influência da adição dos modificadores de superfície HCl, KCl e β -ME ao sistema nanoestruturado composto pela adição de fármaco às dispersões de nanopartículas metálicas, visando obter o regime cinético de adsorção otimizado para os estudos de espectroscopia SERS;
- c) Obter os padrões espectrais por espectroscopia SERS da DOX utilizando os sistemas nanoestruturados compostos pela adição de fármaco às dispersões de nanoestruturas, com e sem a presença dos modificadores HCl, KCl e β -ME nos regimes cinéticos previamente determinados, nas radiações de excitação de 1064, 785 e 633 nm, para elucidar as atribuições das vibrações desse fármaco quando em ambiente modificado;

- d) Determinar os padrões vibracionais de interação associados à adsorção da DOX pela interação do fármaco com os modificadores, que interagem através de forças de interação intermolecular variadas;
- e) Obter, através de simulação computacional, os perfis de vibração molecular para a DOX, que permitam a atribuição dos espectros Raman e SERS para a geração de padrões bem definidos de frequências vibracionais e analisar a convergência do modelo à luz dos dados experimentais, propondo mecanismos de interação entre a superfície nanoestruturada e o fármaco antineoplásico;
- f) Inferir, através das atribuições dos espectros SERS da DOX adsorvida na superfície das nanoestruturas, os possíveis sítios de interação preferencial com o metal ou modificador de superfície;
- g) Obter, através de simulação computacional, os perfis de excitação eletrônica da DOX livre e adsorvida em modelos de *clusters* simples de Au, com a respectiva análise das energias do sistema;

3 METODOLOGIA

As próximas sessões apresentam os aspectos metodológicos deste trabalho.

3.1 REAGENTES

Cloridrato de doxorrubicina (DOX), ácido tetracloroáurico(III) tri-hidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), boro-hidreto de sódio (NaBH_4), citrato trissódico di-hidratado, 2-mercaptoetanol (β -ME), cloreto de potássio (KCl) e ácido clorídrico (HCl) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados sem purificação adicional. Toda a vidraria, incluindo as lamínulas, foi limpa por banho em água régia (3:1, $\text{HCl}:\text{HNO}_3$), seguido de enxágue abundante com água deionizada. Todas as soluções foram utilizadas recém-preparadas, com água Milli-Q (resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C).

3.2 EQUIPAMENTOS

Os espectros Raman, RR, SERS e SERRS foram obtidos em espectrômetro FT-Raman Bruker, modelo RFS/100, com excitação em 1064 nm e Raman Bruker, modelo Senterra, com radiações excitantes em 532 nm, 633 nm e 785 nm; as medidas de espectroscopia eletrônica de absorção da região do ultravioleta e visível em um espectrofotômetro Shimadzu UV1600; e as medidas de espalhamento dinâmico de luz baseada em espectroscopia de correlação de fótons foram obtidas em um espectrômetro Zetasizer ZS Nano, todos disponíveis no Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular (NEEM) do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora (DQ-UFJF). As simulações computacionais dos sistemas foram realizadas no software Gaussian 09 rev. D 01 (Frisch *et al.*, 2009) disponível através de licença acadêmica em computador pessoal, ou em computador disponível no Laboratório de Nanoestruturas Plasmônicas (LabNano) do DQ-UFJF.

3.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE PRATA/OURO

As nanoestruturas de ouro foram obtidas através do método da redução química bem estabelecido nos trabalhos de Creighton (Creighton; Blatchford; Albrecht, 1978), que consiste na redução de solução aquosa de ácido tetracloroáurico(III) ($2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, 10 mL) pela

adição lenta, gota a gota, de uma solução aquosa de boroidreto de sódio ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, 30 mL) em banho de gelo. O aparecimento de uma cor vermelho-vinho indicou a formação das AuNP, sendo esta cor uma forte característica da transição LSPR de nanopartículas de tamanho menor que comprimento de onda da luz visível. Em seguida, a dispersão de nanoestruturas obtida foi mantida em repouso por 12 horas na temperatura ambiente, visando a evolução da reação redox com o boroidreto. Ao fim desse período, 300 μL de citrato trissódico 1 % (m/v) foram adicionados gota a gota, e a suspensão coloidal foi armazenada sob refrigeração. Indicativos sobre a morfologia das nanoestruturas foram obtidos através de espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-VIS-NIR, apoiada também pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (*dinamical light scattering* – DLS) por espectroscopia de correlação de fótons. Para isso, uma alíquota de aproximadamente 2 mL das dispersões foi adicionada, ao término das sínteses, à cubetas lisas e descartáveis de PET, permeáveis ao comprimento de onda da luz incidente, 632,8 nm, com caminho óptico de 1 cm, e as análises foram obtidas em triplicada.

3.4 ESTUDO DA CINÉTICA DA ADSORÇÃO DE MODIFICADORES DE SUPERFÍCIE NAS NANOESTRUTURAS

As soluções dos modificadores de superfície KCl, HCl e β -ME foram adicionadas às nanoestruturas metálicas diretamente após a síntese, na proporção de diluição de 1:9, e as dispersões obtidas foram analisadas via espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-VIS-NIR buscando caracterizar a evolução da banda principal de absorção eletrônica e do fundo de espalhamento ao longo do tempo, utilizando como cubeta uma célula de quartzo permeável à faixa de radiação estudada, com caminho ótico de 0,5 cm. As concentrações finais de KCl variaram entre 1×10^{-1} a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O HCl foi estudado na janela de concentrações entre 1×10^{-2} a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A janela de concentrações para o β -ME foi mais ampla, variando entre 1×10^{-6} a $1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. Os espectros foram obtidos de forma periódica durante um tempo total de uma hora, com períodos de aproximadamente 1 minuto para as dispersões modificadas com KCl e β -ME, e de aproximadamente 10 minutos para a solução de HCl. As cinéticas de adsorção não apresentaram diferenças significativas na presença da DOX nas concentrações estudadas e foram, portanto, suprimidas.

3.5 ESTUDO DA ADSORÇÃO DE DOX NAS NANOESTRUTURAS COM OU SEM MODIFICADORES DE SUPERFÍCIE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VIS-NIR

As soluções aquosas de DOX com concentrações finais variando entre 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas às AuNP na proporção de diluição de 1:9. O estudo na presença dos modificadores de superfície envolveu a adição das soluções dos modificadores às nanoestruturas, respeitando as concentrações finais apresentadas na sessão 3.2 e a proporção de diluição acima, e, em seguida, foram adicionadas às AuNP. As dispersões obtidas foram analisadas via espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-VIS-NIR, utilizando como cubeta uma célula de quartzo permeável à faixa de radiação estudada, com caminho ótico de 0,5 cm por espectros tomados consecutivamente durante um período de 1 hora.

3.6 ESTUDO DO PADRÃO VIBRACIONAL POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

A DOX em estado sólido e as soluções aquosas de DOX com concentrações finais variando entre 1×10^{-3} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas aos respectivos suportes e levadas direto à análise por espectroscopia Raman nas linhas de excitação disponíveis. Nas análises por FT-Raman utilizando linha de excitação em 1064 nm, os suportes utilizados foram suportes de alumínio para a DOX no estado sólido e os tubos de Duran de vidro convencional para as soluções e dispersões. Já nas análises por Raman dispersivo, utilizando as linhas de excitação em 785 e 632,8 nm, os suportes utilizados foram, para o estado sólido, lâminas de vidro, e, para as soluções, suportes plásticos obtidos artesanalmente da tampa de frascos Eppendorf, ou ainda as amostras foram gotejadas sobre lâminas de vidro e o foco foi obtido sobre a superfície do líquido por interferometria. Em seguida, os espectros foram coletados e tratados por *software*, utilizando as versões para Windows do próprio *software* Opus Bruker disponível nos aparelhos, do *software* Origin Pro 2018, ou ainda através de *scripts* em *Python* 3.12 utilizando as versões Linux dos *softwares* VSCode ou Jupyter Notebook.

3.7 ESTUDO DO PADRÃO SERS DA DOX EM DISPERSÃO

As soluções aquosas de DOX com concentrações finais variando entre 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas, em proporção de diluição de 1:9, diretamente às dispersões de AuNP e levadas para análise nas linhas de excitação disponíveis. Nas análises por FT-Raman, utilizando linha de excitação em 1064 nm, os suportes utilizados foram os tubos de Duran de vidro convencional para as soluções e dispersões. Já nas análises por Raman dispersivo, utilizando as linhas de excitação em 785 e 632,8 nm, os suportes utilizados foram os suportes plásticos obtidos artesanalmente da tampa de frascos Eppendorf.

Para a análise na presença dos modificadores de superfície, as soluções aquosas de DOX com concentrações finais variando entre 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas às AuNP na proporção de diluição de 1:9. O estudo na presença dos modificadores de superfície envolveu a adição das soluções dos modificadores às nanoestruturas, respeitando as concentrações finais apresentadas na sessão 3.2 e a proporção de diluição acima, e, em seguida, foram adicionadas às AuNP.

Em seguida, os espectros foram coletados e tratados, por meio de remoção da linha base e, quando necessário, suavização por *software*, utilizando as versões para Windows do próprio *software* Opus Bruker disponível nos aparelhos, do *software* Origin Pro 2018, ou ainda através de *scripts* em *Python 3.12* utilizando as versões Linux dos *softwares* VSCode ou Jupyter Notebook.

3.8 SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DAS PROPRIEDADES ELETRÔNICAS, VIBRACIONAIS E ENERGÉTICAS DA DOX

A topologia da DOX foi modelada utilizando a versão Linux do *software* Gaussview 6. Para isso, partiu-se, como um palpite inicial verossímil de estrutura topológica, dos dados apresentados sobre a estrutura cristalina do nitrato de doxorubicina (Mathivathanan *et al.*, 2018) por meio da substituição do ânion nitrato pelo ânion cloreto, uma vez que, durante a etapa de execução deste trabalho, o cloridrato de doxorubicina ainda não apresentava elucidação da sua estrutura cristalina (Bezzon *et al.*, 2023).

A conformação mais estável, os dados sobre frequências vibracionais, os estados excitados e a análise da função de onda foram obtidos para a DOX usando o nível de teoria baseado na teoria do funcional da densidade (*density functional theory* – DFT), conforme o

modelo acima, no vácuo, para a espécie DOX.HCl (comumente referida no resto deste trabalho como DOX, salvo nas sessões em que a distinção se faz necessária), que apresenta carga 0 e multiplicidade de spins 1; para a espécie obtida DOXH^+ , obtida mediante a supressão do ânion Cl^- do cloridrato, que apresenta carga +1 e multiplicidade de spins 1; e para a DOX neutra, obtida pela completa supressão do HCl da porção daunosamina, que apresenta carga zero e multiplicidade de spins 1.

Para isso, utilizou-se o funcional híbrido B3LYP, composto pelas partes do funcional de troca de três parâmetros B3 e a energia de correlação LYP. Além disso, utilizou-se o conjunto de bases gaussianas simples-zeta 6-31+G(d,p), com a adição de um conjunto de funções difusas (+) e de polarização para os átomos hidrogenoides (p) e não-hidrogenoides (d).

3.9 ESTUDO DO PADRÃO SERS DA DOX EM FILMES FINOS

A adsorção da DOX na superfície das nanoestruturas de Au em filmes nanoestruturados foi estudada através da obtenção de filmes baseados na técnica de *drop casting* (ou *dip coating*). As dispersões nanoestruturadas foram preparadas, inicialmente, conforme descrito na sessão 3.5. Em seguida, algumas gotas dessas dispersões foram adicionadas a lamínulas de vidro pré-limpas com água régia (3:1, $\text{HCl}:\text{HNO}_3$) e devidamente secas. As lâminas modificadas foram levadas à estufa à vácuo por cerca de 30 minutos, até ocorrer a remoção completa do solvente. Em seguida, as lâminas foram levadas à análise utilizando os microscópios confocais Raman acoplados aos espectrômetros, em que o ponto de foco utilizado foi o foco visualmente determinado na superfície dessas lâminas. Os espectros foram obtidos em *grids*; 64 (8x8) pontos na análise usando espectrômetro FT-Raman com comprimento de onda de excitação em 1064 nm, e 100 (10x10) pontos na análise usando espectrômetro Raman dispersivo com comprimento de onda de excitação em 632,8 nm. Em seguida, os espectros obtidos foram tratados por software conforme metodologia descrita na sessão 3.5.

3.10 SIMULAÇÃO SISTEMAS-MODELO DE ADSORÇÃO EM CLUSTERS DE AU

Os sistemas nanoestruturados compostos pelos fármacos antineoplásicos adsorvidos na superfície das nanoestruturas de ouro foram comparados com os sistemas simulados computacionalmente para modelos de *clusters* simples.

O modelo mais simples de adsorção envolveu a complexação da espécie resultante da remoção de um próton da porção antraquinônica da DOX, DOX^{-1} , e envolveu a modelagem da adsorção através da descrição da DOX^{-1} pelo método citado anteriormente, B3LYP/6-31+G(d,p), e um cátion Au^{+1} modelado através do uso do potencial de caroço efetivo (*effective core potential* – ECP) e bases explícitas na camada de valência LanL2DZ. Para esse modelo, foram obtidas as geometrias de equilíbrio, energias, frequências vibracionais, superfícies de potenciais eletrostáticos, orbitais moleculares canônicos, perfil de excitação eletrônica e os orbitais naturais de transição (*natural transition orbitals* – NTO) associados a esse perfil eletrônico.

O modelo mais simples de adsorção utilizando Au^0 envolveu a complexação de um dímero Au_2 às espécies cloridrato de DOX (DOX.HCl) em sete diferentes sítios de adsorção baseados na densidade eletrônica local dessa espécie; e das espécies DOXH^+ e DOX neutra, resultante da remoção de um próton da porção daunosamina e da remoção do ácido clorídrico, respectivamente. A modelagem das espécies derivadas da DOX se deu pelo método citado anteriormente, B3LYP/6-31+G(d,p), e os dímeros Au_2 foram modelados através do uso do ECP LanL2DZ. Para esse modelo, foram obtidas as geometrias de equilíbrio, frequências vibracionais, e as energias envolvidas.

O modelo mais complexo de adsorção utilizando Au^0 envolveu a complexação de um *cluster* Au_6 às espécies cloridrato de DOX utilizando o dado energético mais favorável obtido para o dímero Au_2 , e transcorreu utilizando o método mencionado anteriormente. Para esse modelo, foram obtidas as geometrias de equilíbrio, frequências vibracionais, superfícies de potenciais eletrostáticos e as energias envolvidas.

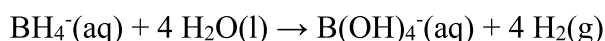
4 RESULTADOS

As próximas sessões apresentam os resultados obtidos para as sínteses, adsorção dos modificadores de superfície, caracterização espectroscópica e teórica.

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS METÁLICAS

As nanoestruturas de ouro (AuNP) foram sintetizadas pelo método úmido, conforme descrito por Creighton e colaboradores (Creighton; Blatchford; Albrecht, 1978), que consiste na redução do sal de ouro na forma de uma solução aquosa (HAuCl_4 , $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$, 10 mL), tetracloroaurato de hidrogênio, através do uso de uma solução aquosa de boroidreto de sódio (NaBH_4 , $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, 30 mL), resultando em uma dispersão coloidal com volume final de 40 mL. As sínteses transcorreram em banho de gelo e, ao final, uma solução de citrato de sódio foi adicionada à mistura ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{O}_7\text{H}_5$, 300 μL , 1 % m/v). A adição de citrato de sódio ao final da síntese, em concentração baixa, contribui para maior estabilidade do coloide nas condições de aclimação necessárias para a conservação, sem comprometimento das propriedades coloidais (Filgueiras *et al.*, 2017). As dispersões de nanoestruturas metálicas obtidas por via úmida, em especial as de prata e ouro, respeitam um regime cinético de duas etapas, envolvendo uma etapa de nucleação, na qual o sal de ouro forma pequenas estruturas de poucos nanômetros, que depois coalescem em estruturas maiores ao longo da evolução temporal (Polte *et al.*, 2012, 2010). Além disso, a reação de redução com o ânion boroidreto (BH_4^-) utiliza uma proporção não estequiométrica desse reagente, uma vez que o BH_4^- reage também com a água, provocando o aparecimento de bolhas e cavitações que podem ser explicadas pela reação de formação e evolução do hidrogênio a partir da água, conforme a equação 16.

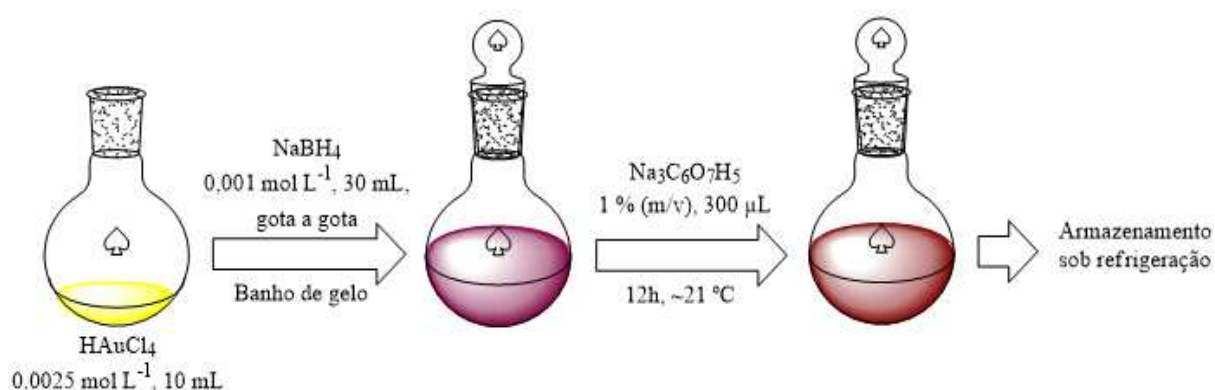
Equação 16 – Reação de oxirredução da água com o ânion boroidreto



A formação de bolhas de gases, que ocorre como um produto dessa reação concomitante à redução metálica pode interferir no índice de refração da dispersão metálica, influenciando a obtenção de dados espectroscópicos acerca da dispersão e dos regimes de adsorção. Assim, para evitar essa interferência e reduzir a influência do meio fortemente redutor, as dispersões permaneceram por 12 horas em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ\text{C}$) após a

adição da solução de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{O}_7\text{H}_5$, visando favorecer a evolução da reação de oxirredução, garantir que a maior parte do BH_4^- se encontre na forma de B(OH)_4^- , e o consequente aumento da concentração efetiva de nanoestruturas metálicas. A figura 5 apresenta um esquema da síntese das dispersões coloidais de AuNP.

Figura 5 – Esquema da síntese de via úmida das AuNP baseada na metodologia de Creighton (1973) utilizada nesse trabalho

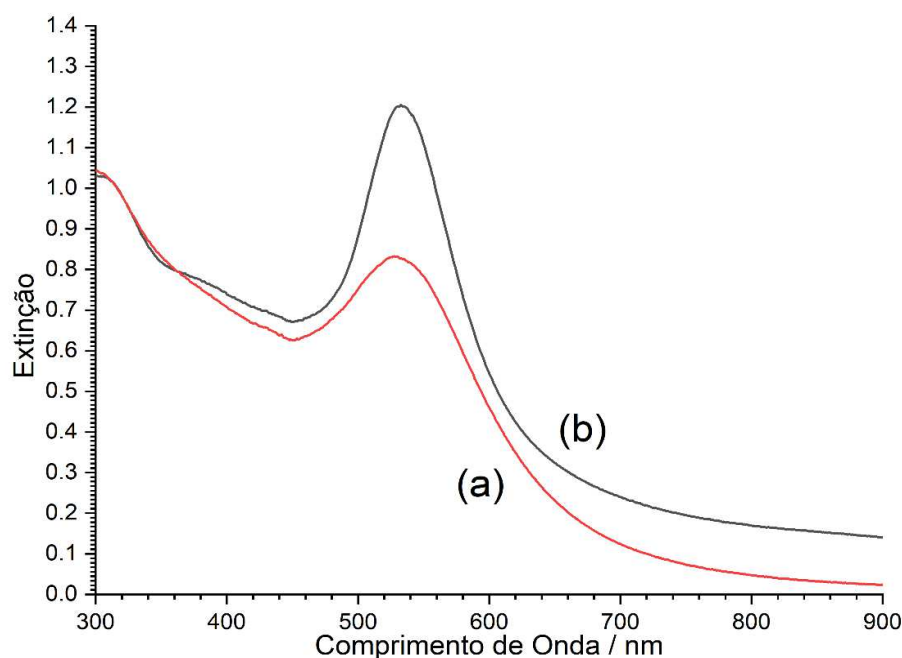


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.1.1 Espectroscopia de absorção eletrônica na região UV-VIS-NIR

A metodologia de Creighton (CREIGHTON, 1973) ligeiramente modificada fornece coloides altamente reprodutíveis, com máximo de absorção eletrônica variando entre 510 e 535 nm. Um traço marcante das dispersões coloidais obtidas utilizando-se boroidreto como agente redutor é a contínua e rápida evolução do coloide nas primeiras horas ao final da síntese, com a concomitante formação de cavidades de ar resultante de reações redox da água do meio reacional (equação 16). Essas reações alteram as propriedades ópticas do meio, como o índice de refração, e dificultam a realização de análises mais longas. Além disso, o meio fortemente redutor, com excesso de boroidreto, resulta em dispersões eletronicamente diferentes para alíquotas obtidas em tempos distintos conforme apresentado na figura 6.

Figura 6 – Espectros de absorção eletrônica na região UV-VIS-NIR de (a) AuNP logo após a síntese e (b) 24 horas após a síntese, armazenado em frasco âmbar, na temperatura ambiente ($\sim 21^\circ\text{C}$). Espectro realizado em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm

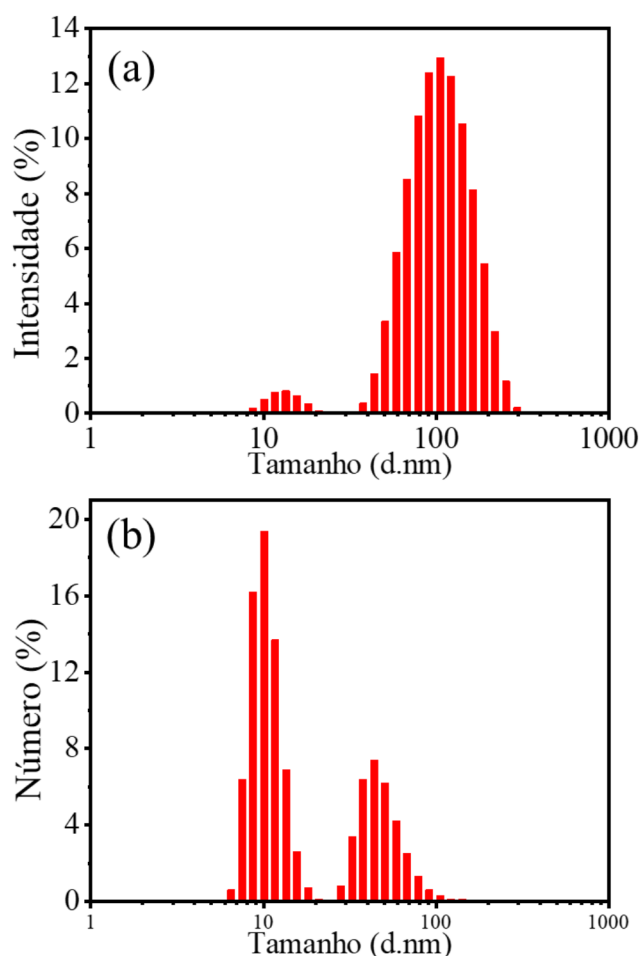


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Assim, optou-se por deixar o coloide evoluir por 12 horas em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ\text{C}$), o que culminou no aumento da intensidade das bandas de absorção eletrônica por toda a extensão da região visível, em especial do máximo de absorção eletrônica, localizado em ~ 520 nm, que pode ser atribuído aos intervalos de distribuição de parcelas menores da distribuição de tamanhos, e do fundo na região entre 640 e 800 nm, que pode ser atribuído à formação de partículas ou agregados maiores. Após 12 horas, minimizou-se também a formação de bolhas. Estes resultados indicam a obtenção de uma dispersão coloidal com uma distribuição controlada, mas ampla, de tamanhos estruturais, e possivelmente bidispersa. Esse fato foi posteriormente confirmado através de análises das medidas de espalhamento dinâmico de luz por espectroscopia de correlação de fótons (DLS – *Dynamic Light Scattering*). Nessa técnica, o tamanho das nanoestruturas pode ser aproximado através da medida do espalhamento da luz plano-polarizada e aproximadamente monocromática que incide sobre as dispersões. Assim, o tamanho das nanoestruturas pode ser aproximado pelo tamanho de sólidos de revolução teóricos criados pela adição do diâmetro das nanoestruturas e da dupla-camada elétrica que as envolve. Esses resultados tendem a superestimar os tamanhos das nanoestruturas, mas, em geral, as

distribuições seguem padrões verossímeis e condizentes com uma primeira aproximação. A figura 7 apresenta os histogramas de tamanho obtidos através dessa técnica.

Figura 7 – Histogramas de tamanhos das AuNP obtidas. Intensidade do espalhamento (a), e número de espalhadores (b)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

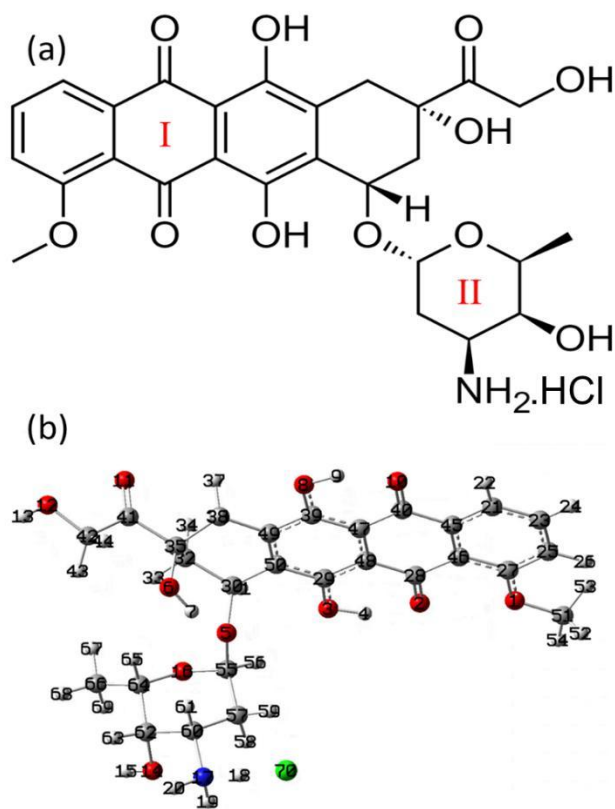
Os resultados apresentados na figura 7 (b) indicam que a dispersão coloidal apresenta duas distribuições, centradas em tamanhos de aproximadamente 10 e 40 nanômetros, respectivamente. O espalhamento, no entanto, não é isonômico, com as menores parcelas da segunda distribuição correspondendo à maioria absoluta do espalhamento observado na figura 6 (a). De acordo com a teoria de Mie, para um mesmo comprimento de onda, partículas um pouco maiores são, de fato, responsáveis pela maior parcela do espalhamento. Assim, essa síntese forneceu dispersões com ampla faixa de tamanhos, o que permitiu seu uso como

substrato SERS ressonante em diferentes radiações incidentes no visível e no infravermelho próximo.

4.1.2 Doxorrubicina

A estrutura da DOX é composta pela condensação de duas estruturas principais. A primeira delas é a estrutura da antraquinona, representada por I na figura 7 (a). Esse grupo é o grupo eletronicamente mais importante da DOX, pois corresponde ao principal grupo cromóforo dessa molécula. O segundo grupo, representado por II na figura 7 (a), corresponde a um anel hexose modificado, a daunosamina. É possível notar que, estruturalmente, a antraquinona apresenta características de um grupo cromóforo principal. Essa estrutura apresenta um conjunto de três anéis conjugados e em ressonância, como em um antraceno. No entanto, essa estrutura também é modificada por grupos capazes de doar e retirar elétrons do sistema ressonante. Assim, o esqueleto planar da DOX apresenta uma grande nuvem π conjugada, com a adição ainda dos orbitais dos heteroátomos modificadores paralelos ao plano da antraquinona. A figura 8 (b) apresenta a estrutura da DOX com os átomos numerados, conforme utilizada como palpite inicial de geometria molecular.

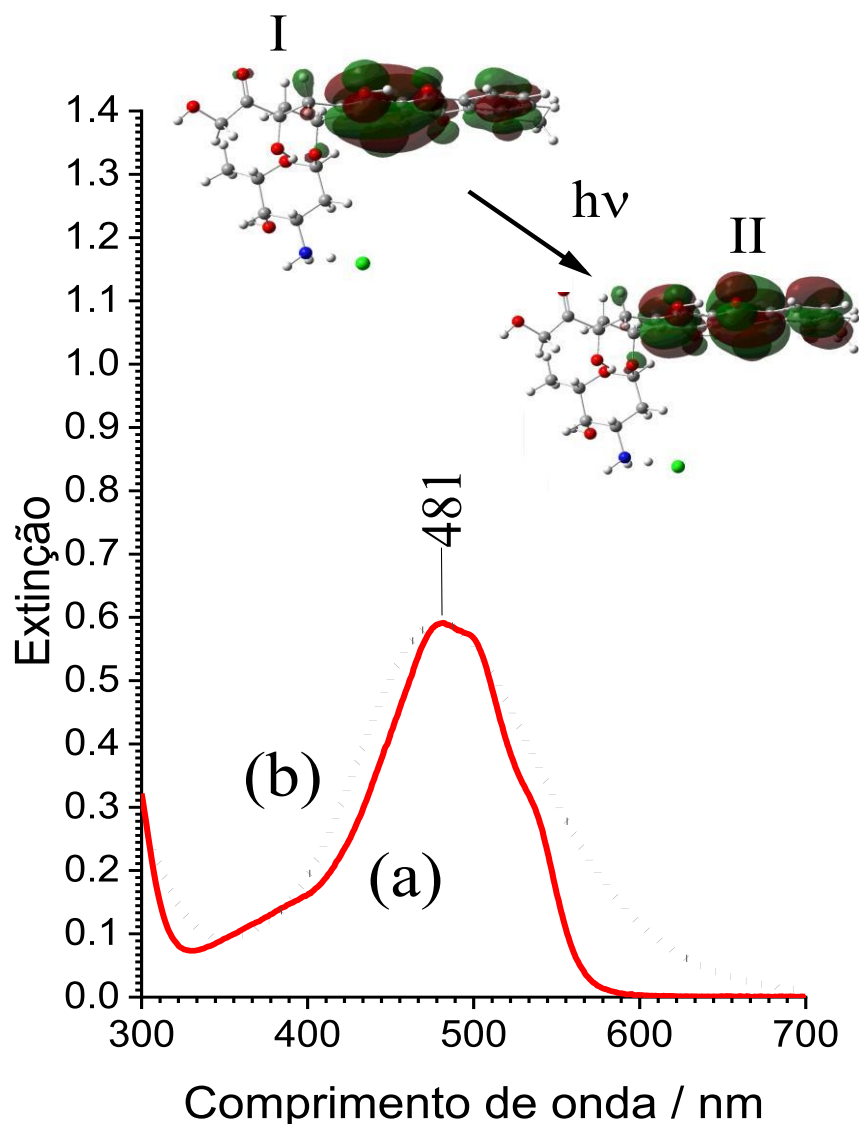
Figura 8 – Estruturas da DOX. (a) Estrutura química evidenciando os grupos I antraquinona e II carboidrato, e (b) estrutura gerada computacionalmente e utilizada como input nos cálculos de simulação



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A DOX é um fármaco levemente solúvel em água ($k_Ps\ 2,01 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$), de modo que a faixa de concentração das soluções aquosas utilizadas neste trabalho variou entre 1×10^{-3} e $1 \times 10^{-5}\ \text{mol L}^{-1}$. Em solução aquosa, o espectro de absorção eletrônica da DOX apresenta uma única banda com máximo de absorção eletrônica em 481 nm, e por ombros na envoltória dessa banda, conforme pode ser observado na Figura 9 (a). O espectro de absorção eletrônica da DOX no vácuo foi também obtido utilizando a estrutura demonstrada na figura 9 (b), para efeitos de comparação e atribuição das transições observadas.

Figura 9 – Espectros de absorção eletrônica (a) de uma solução aquosa de DOX (1×10^{-4} mol L^{-1}) e (b) simulado no vácuo. *Inset*: orbitais naturais de transição (I) do estado fundamental e (II) do estado excitado. Espectro obtido na temperatura ambiente (~ 21 °C), em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A absorção eletrônica deste fármaco em solução é amplamente dominada pelo grupo antraquinona, conforme demonstrado nos fragmentos apresentados no *inset* da figura 9. O fragmento I apresenta os orbitais naturais de transição (*natural transition orbitals* - NTO) do estado fundamental e o fragmento II apresenta os NTO do estado excitado envolvidos na transição eletrônica. Orbitais naturais de transição baseiam-se na metodologia de Lowdin, e são amplamente utilizados para condensar orbitais envolvidos em transições eletrônicas que

envolvem muitos orbitais moleculares canônicos através do uso de conjuntos de bases ortogonalizadas próprias. A transição eletrônica escolhida no espectro simulado foi a que apresentou a maior força de oscilador, com $f = 0.2837$, e que envolve basicamente os orbitais HOMO e LUMO da DOX. Todas as outras transições apresentaram força de oscilação correspondente a 10 % ou menos da transição principal e foram desconsideradas. Além disso, a ocupância dos orbitais observados na transição foi de 0.99, indicando que a transição ocorre quase que unicamente envolvendo esses dois orbitais de interesse, localizados em planos paralelos ao plano que contém a antraciclina. É notável ainda que o máximo da banda de absorção eletrônica localiza-se exatamente sobre o comprimento de onda de 481 nm. Assim, muito embora a simulação UV-VIS seja altamente dependente do protocolo usado, principalmente das funções de base, não é possível desconsiderar que a simulação utilizando as bases de Pople parece adequada para a simulação de espectros de absorção UV-VIS da DOX.

4.2 ADSORÇÃO DE MODIFICADORES NA SUPERFÍCIE DAS AuNP

As nanoestruturas metálicas apresentam uma rica química de superfície. Porém, é necessário o domínio do uso de modificadores de superfície para ter controle adequado desta química, e muitas vezes as propriedades ópticas e a estabilidade dos sistemas coloidais são sacrificados na tentativa de adsorver moléculas que desestabilizam a dispersão. Além disso, técnicas como a espectroscopia SERS dependem, dentre outros fatores, da proximidade das moléculas analisadas à superfície metálica do substrato, o que muitas vezes, porém, acontece em diferentes regimes cinéticos, juntamente do processo de agregação coloidal, evidenciando ainda mais a necessidade de controle do que se adsorve na superfície.

Neste trabalho utilizou-se soluções aquosas dos modificadores de superfície KCl, HCl) e β -ME em diferentes faixas de concentração final em concentrações variadas, para entender, através de monitoramento da banda de absorção eletrônica das dispersões metálicas via espectroscopia de absorção eletrônica na região UV-VIS-NIR, o regime cinético de absorção na superfície.

4.2.1 Doxorrubicina

Apesar da alta disponibilidade de doadores de elétrons evidenciada pela estrutura do fármaco exposta na figura 8 (a) e, seguindo o esquema mostrado na figura 8 (b), contendo os átomos de oxigênio (átomos 1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 14 e 16) e o átomo de nitrogênio do

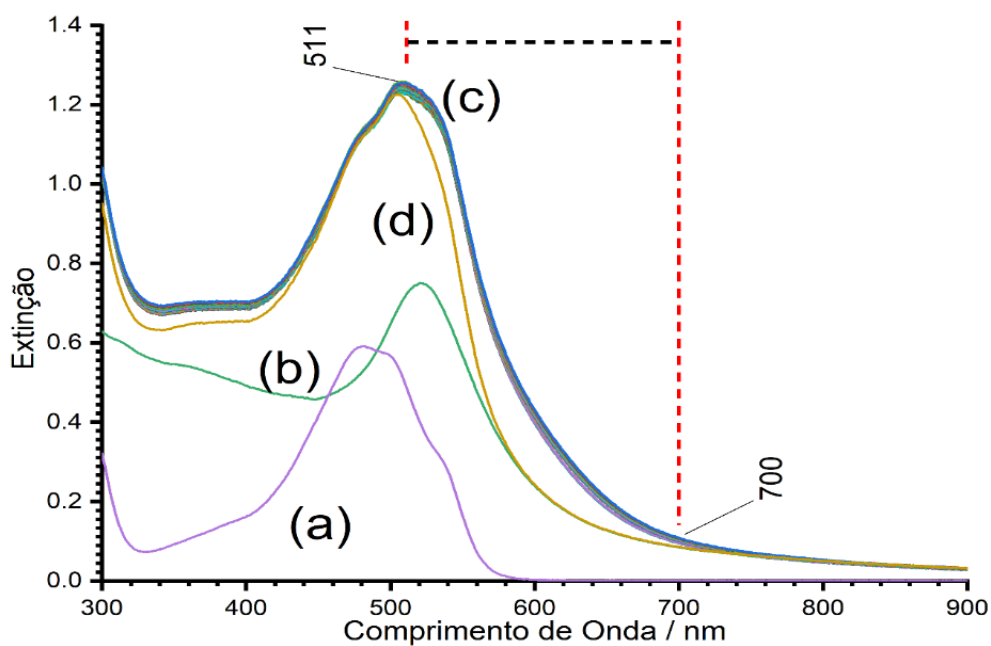
carboidrato (átomo 17), a DOX induz baixa agregação, o que resulta em adsorção escassamente apreciável nas nanoestruturas tais quais sintetizadas, contendo na superfície apenas borato resultante da redução do ouro pelo boroidreto e citrato adicionado ao fim da síntese. Este fato pode ser parcialmente racionalizado levando-se em conta a possibilidade da existência de uma estrutura quasiaromática que envolve um equilíbrio entre os anéis da antraquinona contendo os átomos de oxigênio 2, 3, 8 e 10, juntamente com os átomos de hidrogênio 4 e 9 (Gautier *et al.*, 2013). A formação da estrutura quasiaromática pode reduzir a energia livre da estrutura final por ressonância, resultando em maior estabilidade e maior rigidez do esqueleto antraquinônico.

De maneira similar, o átomo de nitrogênio, 17, em solução aquosa, participa do equilíbrio ácido-base resultante do ácido clorídrico que forma a espécie cloridrato e, portanto, possui seu próprio equilíbrio e estabilidade a serem avaliados.

Ademais, o fragmento carboidrato pode existir tanto na conformação barco quanto na conformação cadeira, além de estar ligado ao anel não-conjugado do esqueleto antraquinônico, que possui certa liberdade conformacional, por uma ligação simples. Assim, a liberdade de movimento desse grupo resulta em alta liberdade conformacional, o que acaba contribuindo para que haja alto impedimento estérico nas regiões que contém os átomos de oxigênio 1, 2, 3, 5, 6 e 16. A figura 10 apresenta os espectros de absorção eletrônica da DOX em meio coloidal.

A figura 10 permite observar a estabilidade das dispersões após a adição de DOX na concentração final de 1×10^{-4} mol L⁻¹. É possível afirmar que a agregação induzida em uma janela de uma hora foi potencialmente a mesma, e não é possível observar grandes mudanças nesse período. Todavia, ao comparar-se a série de espectros obtidos temporalmente com a soma do espectro da DOX, figura 10 (a), com o espectro das AuNP, figura 10 (b), resultando no espectro (d) da figura 10, é possível observar uma janela, entre 511 e 700 nm, que apresenta um aumento na absorção eletrônica em uma região que compreende as absorções do coloide e do fármaco, indicando a ocorrência da adsorção molecular na superfície metálica.

Figura 10 – Espectros de absorção UV-VIS-NIR não modificados (a) solução aquosa de DOX (1×10^{-4} mol L⁻¹), (b) AuNP puras em diluição aquosa 9:1, (c) AuNP e DOX na concentração final de 1×10^{-4} mol L⁻¹, na proporção 9:1, em 51 espectros obtidos consecutivamente durante uma janela de uma hora (1.17 minutos de tempo médio de aquisição), e (d) soma dos espectros *a* e *b*. Todos os espectros foram obtidos em temperatura ambiente (~ 21 °C) e cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

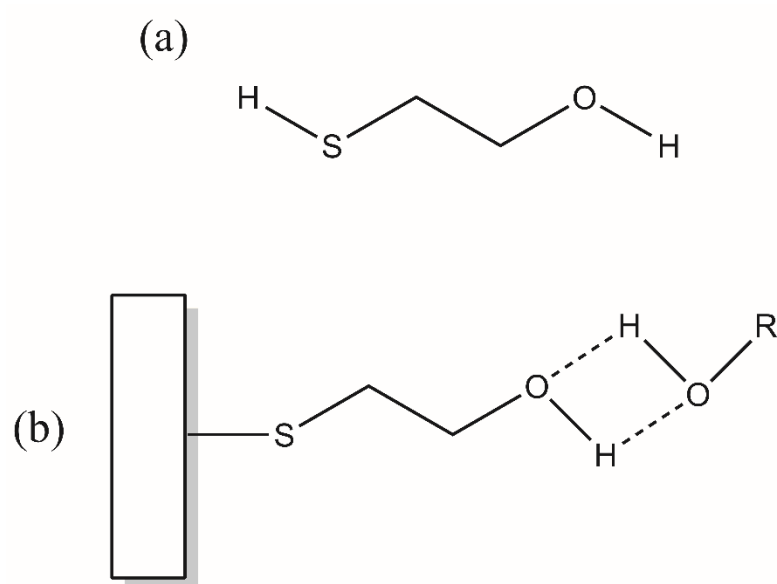
No entanto, para a obtenção de um substrato SERS que apresente sinal também com o uso de radiações menos energéticas, mais penetrantes, e que se distanciam das condições de ressonância que podem ocorrer quando se usa radiações próximas à janela de transições eletrônicas da molécula, é necessário buscar a adição de modificadores de superfície que levem a condição de ressonância com o plásmon localizado de superfície em regiões mais deslocadas para a região do vermelho.

4.2.2 Adição de solução de β -ME

A molécula de β -ME faz parte de um grupo de modificadores amplamente utilizados nos trabalhos envolvendo a química de superfície de nanopartículas metálicas (Marques *et al.*, 2018). O átomo de enxofre do grupo tiol apresenta uma elevada afinidade por superfícies metálicas de prata e ouro, e é capaz de abstrair o próton para o meio coloidal e ligar-se

fortemente à superfície molecular. Somado a isso, o grupo álcool na outra terminação da molécula apresenta afinidade alta com a água e compostos capazes de formar interações baseadas em dipolo, o que pode afetar significativamente a dupla camada elétrica que envolve as nanoestruturas, possibilitando a modificação da superfície através da ancoragem baseadas neste tipo de interação. Com o intuito de utilizar as nanoestruturas em análises de espectroscopia SERS nas radiações 633, 785 e, se possível, 1064 nm, adicionou-se diferentes concentrações de β -ME à dispersão coloidal e monitorou-se a evolução da banda de absorção eletrônica relacionada ao plásmon localizado de superfície durante intervalos de uma hora, nos quais as medidas foram obtidas com período de aproximadamente 1 minuto. Buscou-se, com isso, favorecer a formação de agregados maiores através de uma cinética controlada de adsorção do β -ME. A possibilidade da avaliação das interações dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio, principalmente com os átomos de oxigênio da DOX poderiam afetar a distribuição de estados energéticos observáveis, principalmente através de mudanças na topologia assumida pelo fármaco na superfície das nanoestruturas. A figura 11 apresenta a estrutura do β -ME e representa de forma simplificada o tipo de interação esperada entre esse modificador, que perde o próton do grupo tiol para se coordenar à superfície metálica, e o fármaco.

Figura 11 – Fórmula estrutural do β -ME (a) e estrutura da interação Au- β -ME-DOX esperada



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

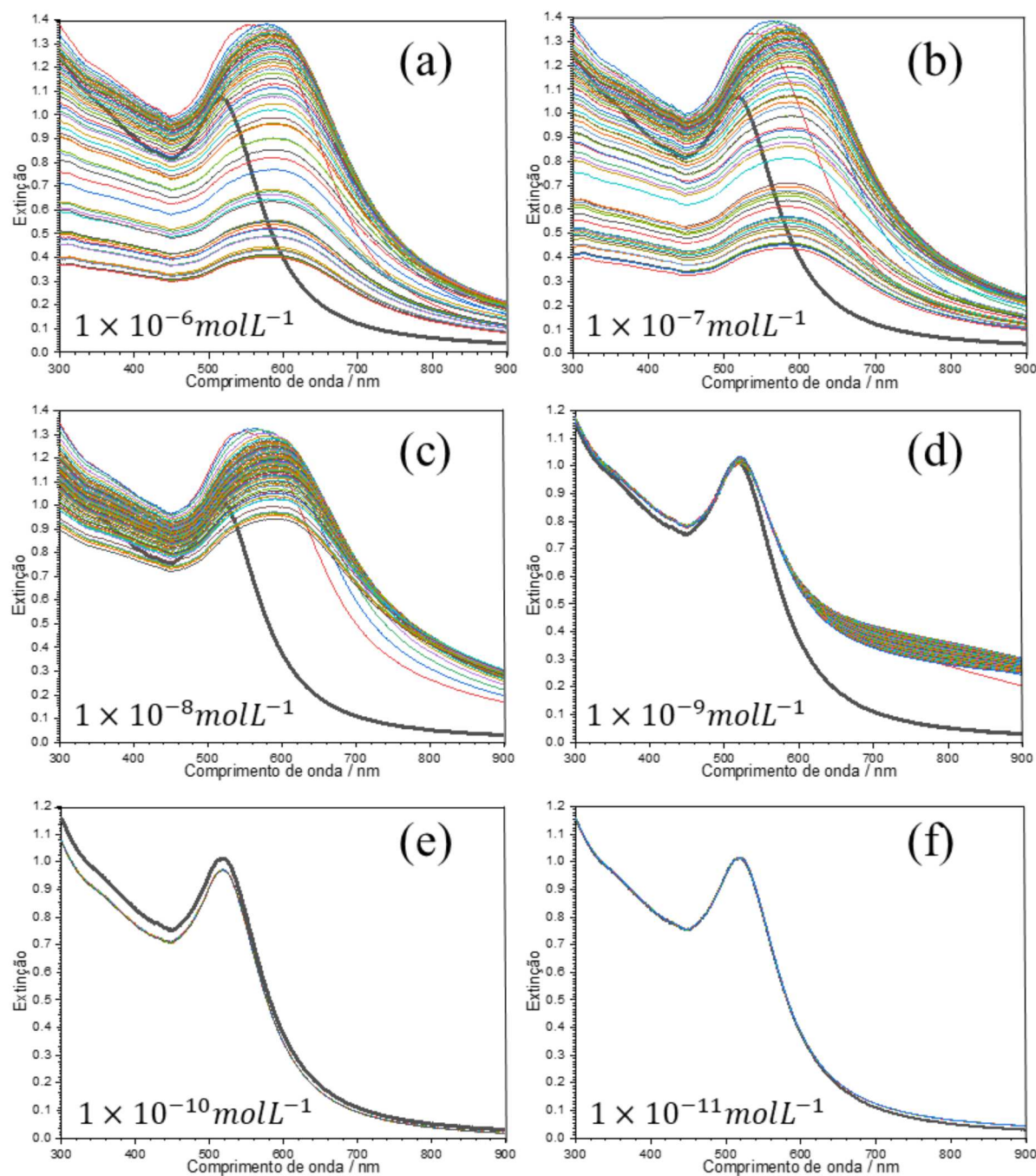
Pode-se ainda relacionar o regime cinético que governa a adsorção de moléculas na superfície (que também envolve a agregação das nanoestruturas) à consequente mudança de cristalinidade e à passagem da dimensão nanométrica para a micrométrica, além da decorrente perda das propriedades ópticas dependentes da forma e tamanho das nanoestruturas. A figura 12 apresenta os espectros obtidos para seis concentrações de β -ME, variando entre 1×10^{-6} e $1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$.

Os espectros apresentaram diferentes regimes de agregação para cada concentração. Nas concentrações mais altas, 1×10^{-6} e $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 12 (a) e (b)), é possível notar uma rápida evolução da banda LSPR, com o deslocamento do máximo de absorção de $\sim 520 \text{ nm}$ para $\sim 600 \text{ nm}$ em um intervalo médio de 2 a 5 minutos. Tal aumento é um indicativo da rápida formação de aglomerados nanoestruturados maiores em ressonância com a radiação deslocada para o vermelho. Essa mudança ocorre ainda em par com um aumento da linha-base em cada um dos espectros, indicando também o aumento da turbidez característica da formação de espécies micrométricas. Nos espectros finais da série temporal, o estado das dispersões já é composto praticamente por espécies nas dimensões micro ou milimétrica, com ressonância de plásmon localizado fora da região do visível. É possível notar ainda que nas regiões do visível mais deslocadas para o vermelho e infravermelho próximo não há aumento aparente de absorção, indicando que embora a nessas concentrações de β -ME dispersão possa dar origem a um substrato próprio para análise com linhas laser menos energéticas, a rápida coalescência possivelmente tornaria inviável a obtenção de espectros reprodutíveis em tempo hábil.

De maneira oposta, para as concentrações menores (figura 12 (e) e (f)) – 1×10^{-10} e $1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ – é possível observar uma evolução muito lenta, sem modificação aparente e, portanto, sem a formação dos agregados em tempo rápido o suficiente para a obtenção prática dos espectros.

Os melhores regimes cinéticos para a obtenção de espectros foram obtidos nas concentrações 1×10^{-8} e $1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, mostrados na figura 12 (c) e (d). É possível observar a rápida formação de agregados em ressonância com as radiações deslocadas para o vermelho. A dispersão em que foi adicionado β -ME na concentração final de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ apresentou coalescência mais rápida, enquanto a dispersão com o modificador na concentração final de $1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ permaneceu estável durante toda a análise, indicando a possibilidade de realização de análises mais lentas.

Figura 12 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais AuNP com adição de β -ME nas concentrações finais de (a) $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, (d) $1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, (e) $1 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ e (f) $1 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$), em proporção coloide:modificador de 9:1



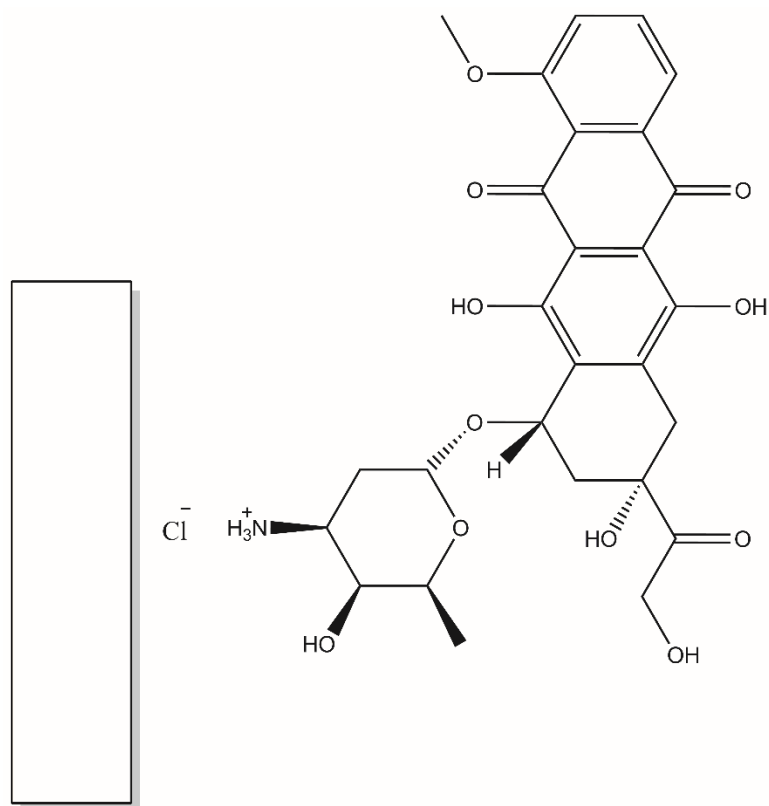
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Concomitantemente, as concentrações de 1×10^{-8} e $1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ são de 3 a 5 ordens de grandezas menores do que as concentrações de DOX utilizadas neste trabalho, de modo que é possível, de forma conveniente, esperar que os espectros apresentem predominantemente o padrão de bandas da espécie no estado mais concentrado em solução, ou seja, da DOX. É possível ainda que, para análises em substratos SERS secos em lâmina de vidro, seja possível identificar, através do espectro SERS, espécies interagindo com o modificador de superfície se o número de pontos e medidas for grande o suficiente.

4.2.3 Adição de solução de KCl

O KCl é um sal inorgânico amplamente utilizado como modificador de superfície, principalmente nos casos em que a rápida agregação se faz necessária e imprescindível. Diferentemente do β -ME, este sal é um eletrólito forte, ou seja, quando em solução encontra-se completamente dissociado nas espécies hidratadas ânion cloreto e cátion potássio, $\text{K}^+(\text{aq})$ e $\text{Cl}^-(\text{aq})$, sendo esse último o ânion responsável pela agregação das nanoestruturas. Sabe-se que o cloreto apresenta elevada afinidade pela superfície metálica, em particular a superfície de ouro, sendo capaz de formar interações fortes de caráter eletrostático através da doação de densidade eletrônica para o retículo do metal. Em termos de estruturas de bandas, as nanoestruturas apresentam um caráter intermediário entre o metal de estrutura cristalina estendida (*bulk*) e o metal atômico, com separação clara entre as bandas de condução e de valência, mas não tão pronunciada como nos orbitais atômicos do Au. A aproximação da espécie Cl^- , que possui elevada razão carga-raio, tem o efeito de distorcer a estrutura de bandas do ouro nanoestruturado, levando a uma redução da então alta energia livre de Gibbs de superfície. Como resultado, coloides metálicos de Au, Ag e Cu tendem a formar agregados de partículas de forma muito rápida e irreversível a partir da adição de uma solução de KCl à dispersão. No regime de baixas concentrações, no entanto, esse efeito é controlável, permitindo labilidade sobre as interações e sobre a química de superfície das nanoestruturas. Buscou-se, com isso, atingir a condição de análise que favorecesse a formação de interações íon-íon, principalmente com o átomo de nitrogênio do cloridrato de DOX; através da troca da espécie positiva entre o cloreto da solução – oriundo do cloridrato de DOX – e o cloreto adicionado, localizado majoritariamente na superfície das nanoestruturas, objetivando-se a ancoragem do fármaco na superfície. A figura 13 apresenta a estrutura da interação esperada entre o ouro, o cloreto e a DOX.

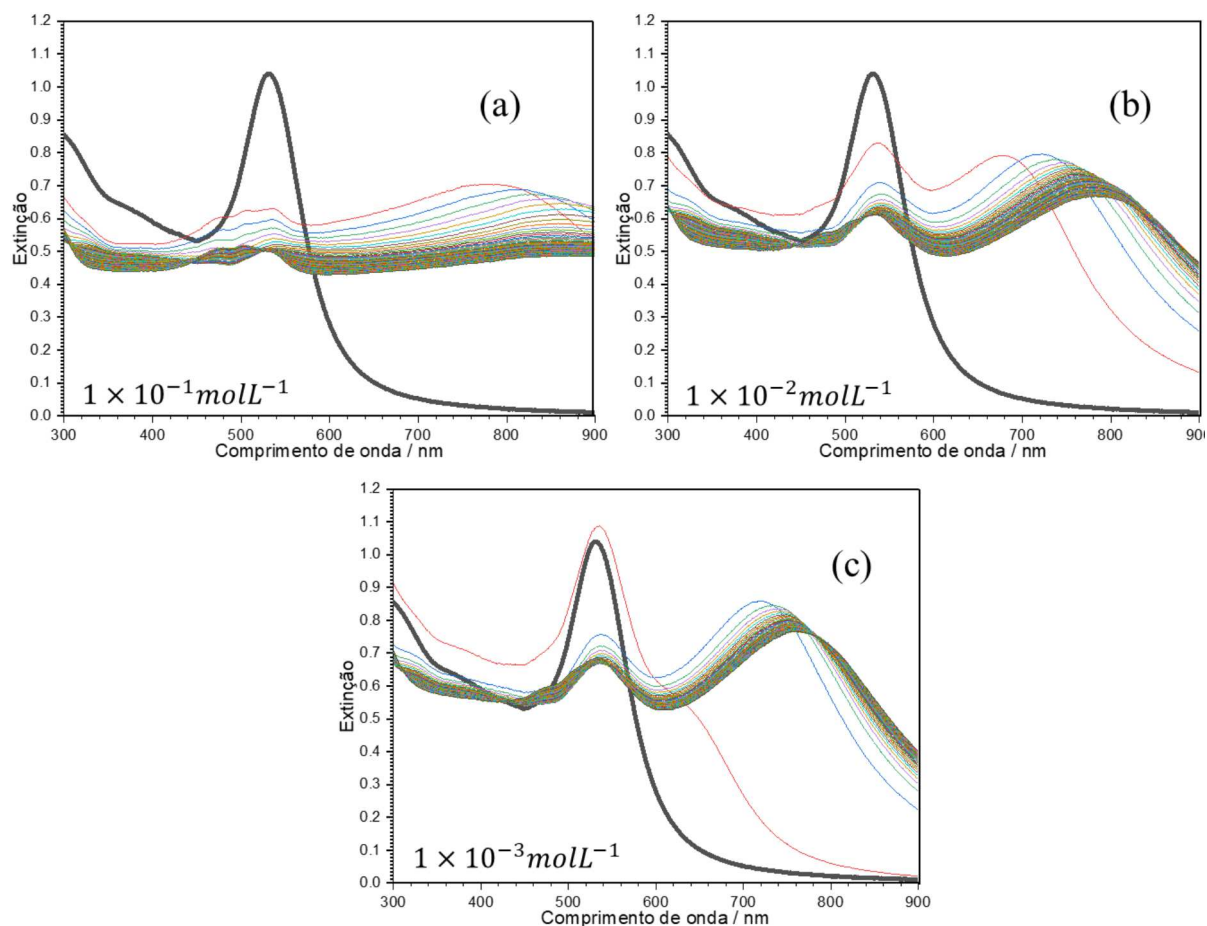
Figura 13 – Estrutura da interação Au-Cl⁻-DOX esperada



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Buscando entender o regime cinético de agregação e inferir a realização de análises nas linhas laser disponíveis, adicionou-se diferentes concentrações de uma solução aquosa de KCl à dispersão coloidal e monitorou-se a evolução da banda LSPR em janelas de uma hora, com período de obtenção de 1 minuto. A figura 14 apresenta os espectros obtidos para três concentrações de soluções de KCl, variando entre 1×10^{-1} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 14 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais de AuNP com adição de solução aquosa de KCl nas concentrações finais de (a) $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, e (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$), em proporção coloide:modificador de 9:1



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

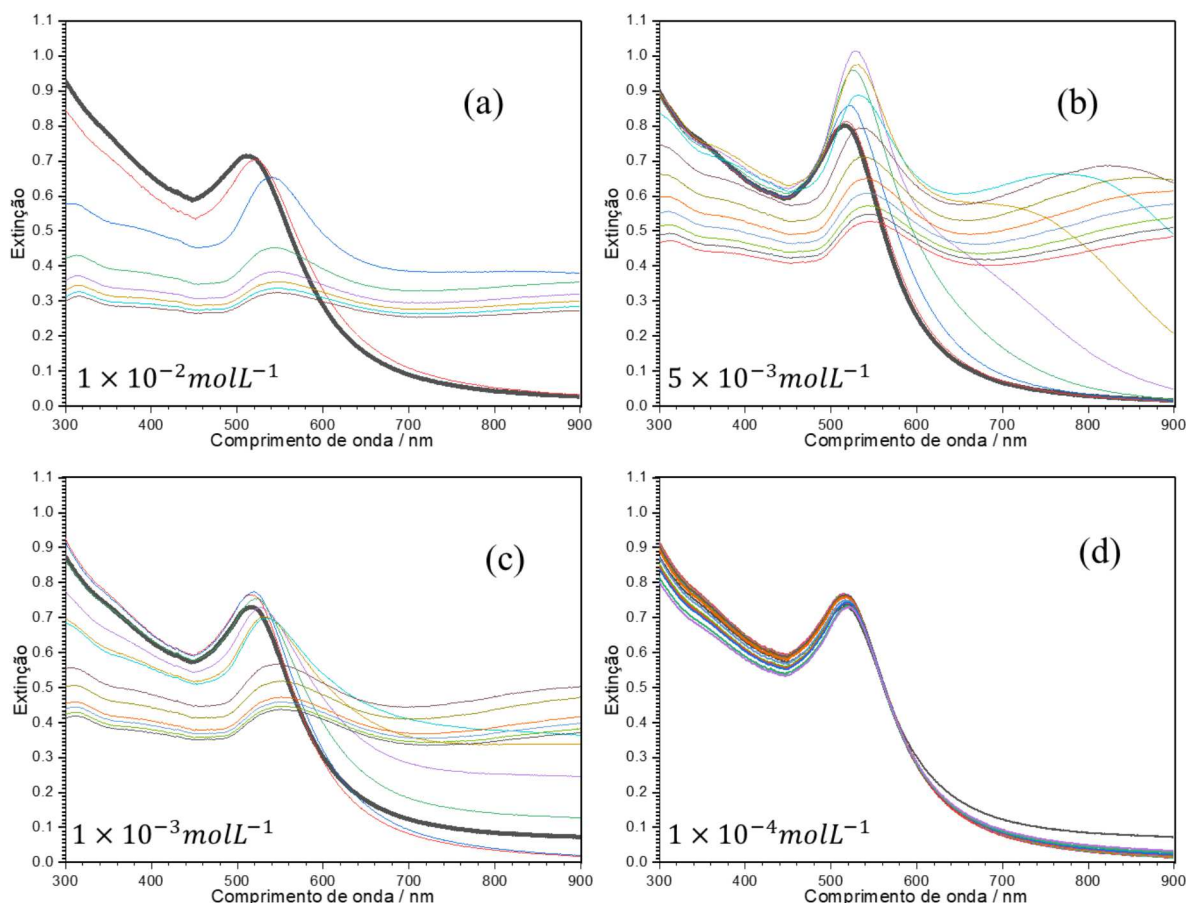
A adição de KCl levou a resultados que apresentam alguma similaridade com os anteriores. É possível observar a rápida coalescência do coloide na concentração mais alta adicionada ($1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, figura 14 (a)), com o consequente aumento do fundo de espalhamento causado pela dispersão da luz de nanopartículas maiores, e passagem para fase sólida, com rápido aumento da turbidez e formação de sobrenadante. Porém, para as concentrações 1×10^{-2} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (figuras 14 (b) e (c)), embora a coalescência seja ainda rápida, é possível observar o surgimento de uma segunda banda de absorção eletrônica deslocada para a região do vermelho, juntamente da diminuição da intensidade da banda de absorção principal, localizada em torno de $\sim 520 \text{ nm}$. Essa relação é um indicativo de rápido

consumo de nanoestruturas menores, favorecendo a formação de agregados em ressonância com as radiações menos energéticas, constituindo, assim, estratégias viáveis para a realização de análises mais lentas e uma possibilidade real de utilizar as variadas concentrações para se obter espectros SERS em todas as linhas de excitação disponíveis.

4.2.4 Adição de solução de HCl

As soluções de ácido clorídrico são conhecidas modificadoras de superfície por agir tanto como doadores de cloreto para a dispersão, quanto como substrato para a alteração do pH nas análises. Tais possibilidade fornecem excelentes recursos para as análises de espécies zwitteriônicas e para analisar vibracionalmente espécies que apresentam vários grupos ácidos e básicos, constituindo assim um meio de obter experimentalmente dados estruturais que variam em função dos pK das espécies. O HCl é um ácido forte, cedendo completamente seu próton para o meio e formando a espécie hidratada $\text{Cl}^-(\text{aq})$, responsável pela agregação das nanoestruturas. Assim, diferentes concentrações desse ácido foram adicionadas; monitorou-se a evolução da banda LSPR em janelas de uma hora, com período de obtenção de 5 a 10 minutos. Buscou-se, com isso, além de variar o pH, favorecer e alterar a formação de interações íon-íon, principalmente com o átomo de nitrogênio do cloridrato de DOX e o cloreto adicionado, localizado majoritariamente na superfície da nanoestrutura. A figura 15 apresenta os espectros obtidos para três concentrações de soluções de HCl, variando entre 1×10^{-2} e $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 15 - Espectros UV-VIS-NIR das dispersões coloidais AuNP com adição de solução aquosa de HCl nas concentrações finais de (a) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (d) $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos em cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm, em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$), em proporção coloide:modificador de 9:1



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O HCl apresenta um comportamento similar ao que foi observado para o KCl. É possível observar a rápida coalescência dos coloides; logo após a adição do modificador de superfície, ocorre diminuição da intensidade da banda de absorção do coloide, concomitante a um aumento da linha base e à formação de uma banda de absorção na região de maior comprimento de onda. Os coloides agregaram rapidamente para as três primeiras concentrações. Para a concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 15 (d)), não se observou nenhuma das mudanças previamente descritas, o que sugere que nessa concentração o ácido clorídrico já não possua atividade como modificador de superfície. Uma solução na concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ possui pH 4, enquanto as dispersões de AuNP, modificadas na proporção 1:9, possuem pH aproximado entre 4 e 5.

É possível utilizar o ácido clorídrico como modificador de superfície para obtenção de espectros SERS, porém a baixa estabilidade e rápida coalescência do substrato é um impeditivo para que este substrato seja utilizado em análises mais longas nas radiações 785 e 1064 nm, uma vez que as condições de ressonância podem estar sendo ultrapassadas rapidamente.

4.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN E SERS

A avaliação dos resultados obtidos com as diferentes concentrações de modificadores de superfície forneceu dados de alta confiabilidade sobre os regimes cinéticos de adsorção de moléculas no substrato metálico e de agregação das nanoestruturas. Estes dados são de suma importância para a realização de análises de espectroscopia SERS, uma vez que, para que haja a intensificação do sinal, o substrato SERS deve possuir propriedades que dependem do tamanho e da forma das nanoestruturas metálicas, e tais propriedades devem ser conservadas após a adição dos modificadores de superfície, uma vez que a intensificação do campo elétrico local, gerada pela ressonância do plásmon de superfície localizado, decai com a distância.

Além disso, para que uma correta atribuição das bandas observadas através das análises SERS seja realizada, é necessário conhecer os espectros Raman das moléculas envolvidas na análise experimental e, se possível, teoricamente. As próximas sessões apresentam os resultados da espectroscopia Raman experimental e atividade Raman simulados computacionalmente para a DOX isolada no vácuo, seguidas pelos resultados de espectroscopia SERS obtidos utilizando as dispersões AuNP, a DOX como molécula-sonda e alguns modificadores de superfície.

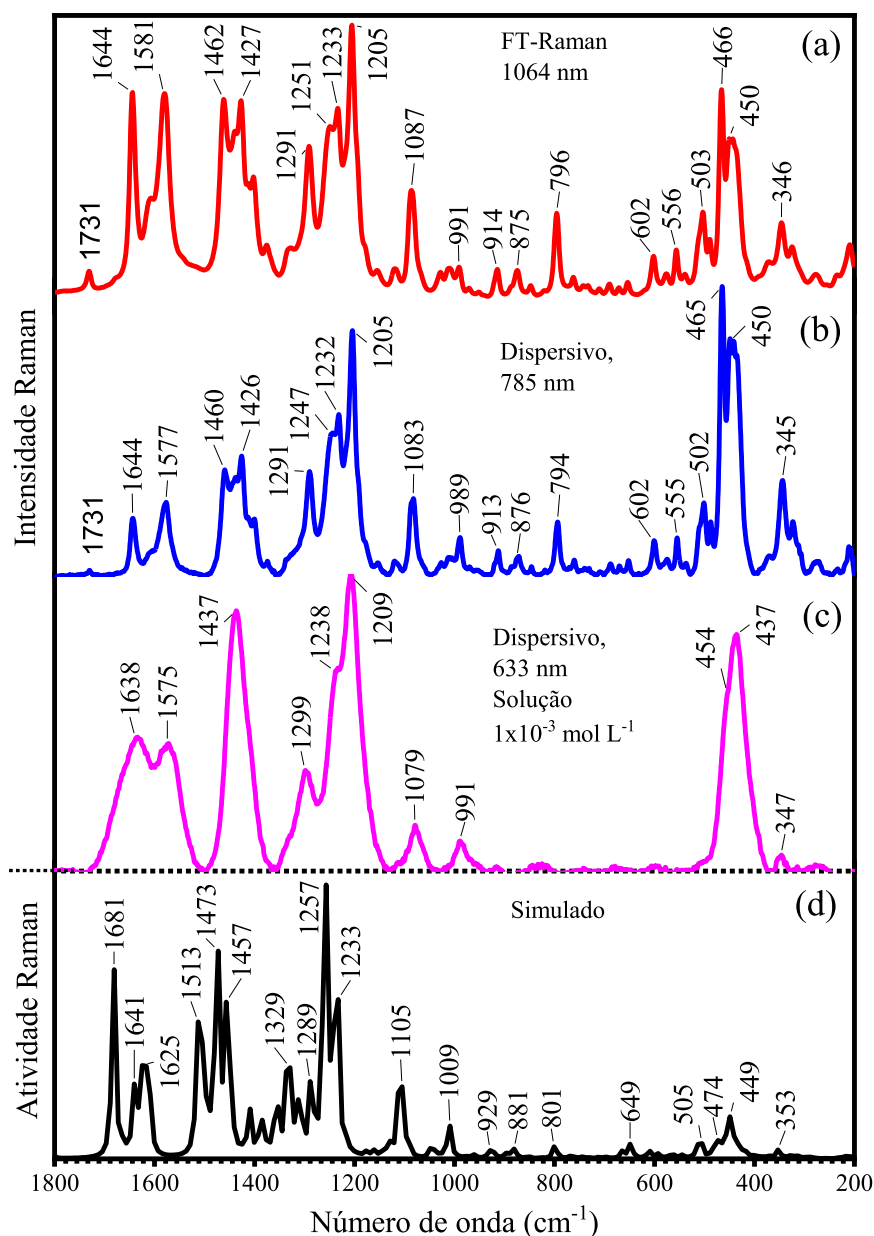
4.3.1 Doxorrubicina experimental e simulado

O cloridrato de DOX é um sólido vermelho-alaranjado, com a principal banda de absorção no visível definida em uma janela entre 420 e 580 nm, com máximo de absorção na região do ciano, conforme apresentado na figura 9. Assumiu-se, então, que a molécula não apresentaria ressonância em nenhuma das três radiações Raman disponíveis para análise, isto é, em 1064, 785 e 633 nm. Na prática, contudo, observou-se um forte efeito de pré-ressonância na obtenção dos espectros ao se utilizar a radiação de comprimento de onda 633 nm, o que não permitiu a observação das bandas Raman da DOX sólida utilizando essa radiação pela presença de um forte fundo de emissão, e exigiu a correção da linha-base mesmo para a solução com

concentração variando entre 10^{-3} e 10^{-5} mol L⁻¹. Mesmo em solução, a DOX apresenta forte fundo de emissão, o que é uma evidência da ocorrência de transições envolvendo estados eletrônicos virtuais próximos a estados eletrônicos próprios da molécula.

Por conveniência, apresenta-se aqui apenas os espectros Raman com a maior concentração, uma vez que estes espectros possuem a maior razão sinal/ruído. Estes espectros podem ser observados na figura 16. Todos os espectros passaram por correção de linha-base.

Figura 16 – Espectros Raman da DOX sólida em (a) FT-Raman, 1064 nm, 1000 mW, 512 scans, obtido em tubo de Duran; (b) Raman dispersivo, 785 nm, 25 mW, 3 acumulações com 50 segundos de aquisição, obtido em lâmina de vidro; (c) DOX em solução aquosa (1×10^{-3} mol L⁻¹) em Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, obtido em suporte de plástico, e (d) Atividade Raman simulada no nível de teoria DFT, com funcional e base B3LYP/6-31+G(d,p)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em geral, os espectros Raman da DOX sólida são espectros bem resolvidos e bem definidos em todas as regiões. Na figura 16, a maior discrepância se dá principalmente pela

apresentação do espectro da solução aquosa de DOX com a radiação de 633 nm (figura 16 (c)), que apresenta bandas alargadas e compostas por envoltórias largas, engendrando em seu interior bandas menores que são bem resolvidas com as outras radiações excitantes. Este fato, no entanto, é esperado, uma vez que a multiplicidade de interações que ocorrem entre o solvente, a água, e o soluto altera sensivelmente as populações de estados vibracionais da DOX, uma vez ainda que a solução tende a estados termodinâmicos de menor potencial químico, e tal redução se dá, dentre outros fatores, pela variação da entalpia das ligações químicas ao sofrer alargamento ou encurtamento devido às interações com o solvente.

Os espectros obtidos com radiação em 1064 e 785 nm (figuras 16 (a) e (b)) apresentam várias similaridades e, quando observados principalmente em sua região mais baixa é possível notar a mesma intensidade entre as bandas. As diferenças, todavia, começam a aparecer para as vibrações mais energéticas, principalmente a partir de 1200 cm^{-1} . Nesta região, que compreende majoritariamente vibrações do anel que envolvem heteroátomos, como os átomo de oxigênio, e vibrações envolvendo certos dobramentos que também envolvem heteroátomos. O conjunto de bandas que aparece na região compreendida entre 1462 e 1426 cm^{-1} nas radiações 1064 e 785 nm, e que foi atribuído como formado pelas vibrações do esqueleto antraquinônico envolvendo anéis ligados a oxigênio de hidroxila e das quinonas, e envolvendo vários dobramentos de carbono e hidrogênio, apresenta maior ressonância de metaestados para a radiação menos energética. O mesmo comportamento pode ser observado das bandas relativas às vibrações puras dos anéis fenólicos, localizadas a partir de 1600 cm^{-1} . No entanto, é preciso cautela para afirmar que este é um caso de ressonância específica da molécula com laser, uma vez que a intensidade Raman depende, dentre outros fatores instrumentais, como as próprias montagens experimentais utilizadas e da frequência da luz incidente, da quarta potência da frequência da radiação espalhada.

Os modos vibracionais observados para a DOX mostraram-se por vezes muito complexos para realizar uma decomposição simples. Dessa maneira, obteve-se também o espectro simulado da atividade Raman. Este espectro, apresentado sem correções térmicas nem correções de anarmonicidade, possui perfil semelhante àquele observado experimentalmente, o que permitiu realizar uma tentativa de atribuição para somar às atribuições disponíveis na literatura. Este trabalho está apresentado aqui, na tabela 2.

Tabela 2 – Atribuição-tentativa das bandas Raman observadas nos espectros da DOX, e frequências calculadas correspondentes. Todos os valores estão apresentados em números de onda (cm^{-1})

Raman (sólido) 1064 nm	Raman (sólido) 785 nm	Raman (solução) 632.8 nm	Raman (Simulado) B3LYP/6-31+G(d,p)	Assignment
1731	1731	-	1806	$\nu(\text{CO})_{\text{SC}}$
1644	1644	1667(sh)	1681	$\nu(\text{CO}) + \nu(\text{CC})_{\text{AP}}$
1609	1609	1638	1641	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{COH})_{\text{Anel III}}$
-	-	-	1627	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel III}}$
1581	1577	1575	1625	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{NH}_3)$
1462	1460	-	1513	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO}) + \delta(\text{COH})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}}$
1439(sh)	1439(sh)	1437	1473	$\delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}} + \delta(\text{CH})_{\text{Anel IV}} + \delta(\text{CH})_{\text{SC}}$
1427	1426	1410(sh)	1410	$\delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel II}} + \delta(\text{NH}_3) + \delta(\text{CH})_{\text{SC}}$
1291	1291	1299	1329	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \omega(\text{CH}_2) + \delta(\text{OH})_{\text{Anel III}} + \tau(\text{NH}_3)$
1251	1247	-	1260	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \tau(\text{CH}_2)$
1233	1232	1238(sh)	1257	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \tau(\text{CH}_2) + \tau(\text{NH}_3)$
1205	1205	1209	1233	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO})_{\text{Metoxi}} + \nu(\text{CN})$
1087	1083	1079	1105	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO})_{\text{SC, Metoxi}}$
991	989	991	1009	$\nu(\text{CN}) + \nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CO})_{\text{SM, Metoxi}}$
875	876	-	881	$\delta(\text{CC})_{\text{AP}} + \gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$
796	794	-	801	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$
503	502	-	505	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \delta(\text{CCO})$
466	465		474	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \delta(\text{OH})$
450	450		465	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}}$
443 (sh)	443 (sh)	437	449	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \delta(\text{CC})_{\text{Anel IV}}$
346	345	347	353	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$

AP: porção antraquinônica; SM: porção açúcar; SC: cadeia lateral; sh: ombro; ν : estiramento; δ : deformação angular; γ : deformação angular fora do plano; ω : *wagging*; ρ : torção; τ : *twist*.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 16 mostra os espectros Raman da DOX em estado sólido usando linhas de excitação em 1064 nm (figura 16 (a)) e 785 nm (figura 16 (b)), bem como de uma solução aquosa de 1×10^{-3} mol L⁻¹ usando a linha de excitação em 632,8 nm (figura 16 (c)). Para comparação, os espectros de atividade Raman simulados com o nível de teoria DFT e método B3LYP/6-31+g(d,p) estão apresentados (figura 16 (d)). O espectro Raman da DOX em solução aquosa na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foi registrado com linha de excitação em 632,8 nm, uma vez que, nesta concentração, a intensificação do sinal devido ao efeito RR foi maior do que a influência do sinal de fluorescência. Este espectro mostra bandas largas localizadas em 1638, 1575, 1437, 1238, 1209 e 437 cm⁻¹, frequentemente com a presença de ombros nas envoltórias, que podem ser atribuídos a modos normais nos quais as vibrações da AP estão sempre presentes. Tal proposição permite correlacionar as bandas que apresentaram amplificação de sinal com os modos vibracionais que estão acoplados às transições eletrônicas. Este padrão espectral mostra bandas com perfil amplo e de complicada atribuição, que podem ser associadas à solvatação de DOX, uma vez que a formação de ligações de hidrogênio da água com átomos de oxigênio disponíveis pode levar a muitos microambientes locais e estados de energia vibracionais disponíveis.

Os padrões espectrais Raman são muito diferentes quando linhas de laser no infravermelho próximo são usadas. Buscando uma justificativa para esse comportamento, vale ressaltar que a banda em 796 cm⁻¹, que possui intensidade significativa no espectro Raman obtido com a linha de laser de 1064 nm, perde intensidade relativa à medida que o comprimento de onda das linhas de laser diminui, quase desaparecendo quando a análise transcorreu com a linha de laser de 632,8 nm. Pode-se assumir, então, como um indicativo de que tal banda não sofre intensificação que possa ser associada ao efeito RR. Por essa razão, esse modo vibracional pode ser considerado não acoplado à transição eletrônica virtual do cromóforo, e essa banda pode ser usada como uma boa referência interna para monitorar a intensificação das bandas sob influência do efeito RR. Dessa forma, é digno de nota que as intensidades relativas das bandas de 1800 a 1000 cm⁻¹, bem como de 500 a 400 cm⁻¹ perdem intensidade em relação à banda localizada em 796 cm⁻¹ quando ocorre o aumento do comprimento de onda da radiação excitante utilizada. É possível que o efeito RR seja o responsável pela intensificação de tais bandas, atribuídas a modos normais envolvendo vibrações da AP, que é, como discutido antes, o principal sítio do cromóforo na transição eletrônica observada em ~480 nm. Quando o espectro Raman é obtido com radiação excitante de 785 nm, um padrão espectral de intensidades intermediário entre os espectros obtidos com os comprimentos de onda de excitação 632,8 e

1064 nm foi observado. Usando 1064 nm, mudanças importantes em intensidades relativas são observadas, indicando que somente com tal linha de laser a influência do efeito RR pode ser completamente desconsiderada. Esses resultados indicam que a linha laser de excitação em 1064 nm é a mais adequada para o estudo da conformação de adsorção em superfícies metálicas via espectroscopia SERS.

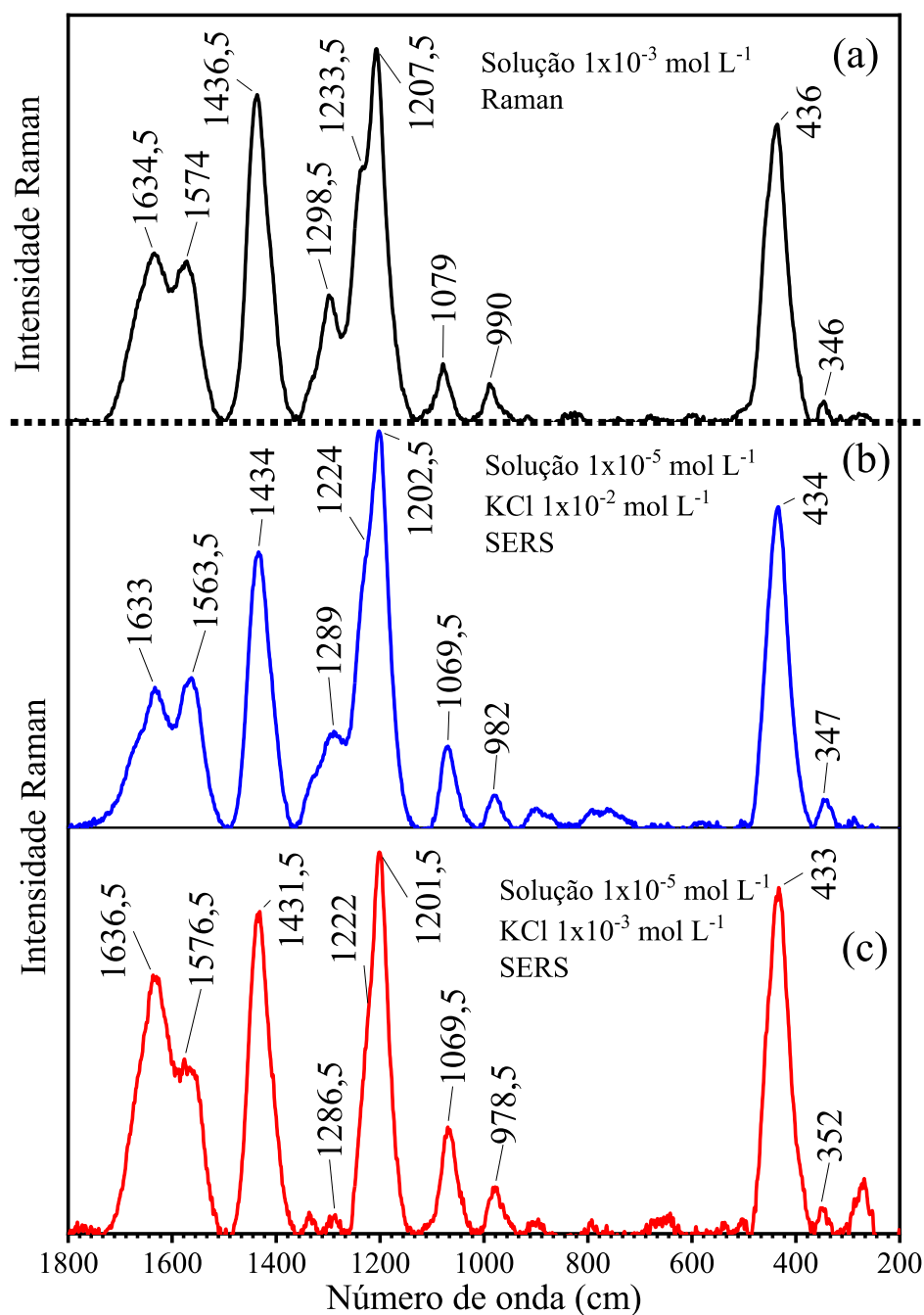
As bandas mais pronunciadas no espectro Raman da DOX, quando a linha laser com comprimento de onda em 1064 nm foi usada, são observadas em 1644, 1581, 1462, 1427, 1291, 1251, 1233, 1205, 1087 e 796 cm^{-1} , que foram atribuídas às vibrações envolvendo a AP, conforme apresentado na Tabela 2. Mesmo que, com esta excitação, o efeito RR possa ser desconsiderado, as vibrações da AP ainda são aparentemente muito importantes na composição da polarizabilidade molecular da DOX. As bandas observadas em 1251, 1233 e 1205 cm^{-1} são atribuídas a modos vibracionais combinando estiramento CC da AP sendo, esta última, a banda mais intensa observada neste espectro Raman. As bandas localizadas em 1644, 1581 e 1462 cm^{-1} , também fortemente pronunciadas, são atribuídas aos modos combinados de estiramento C=C e C=O da AP. A banda, também intensa, em 1427 cm^{-1} foi atribuída a um modo envolvendo várias coordenadas normais de vibração, sendo a mais importante delas a deformação angular envolvendo o grupo CH_3 do modificador metóxi (anel I) e o estiramento C=C da AP. A banda em 1291 cm^{-1} pode ser atribuída a um modo envolvendo estiramento C=C combinado com as deformações angulares dos grupos -CH, -OH e -NH. A banda em aproximadamente 1087 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento CC da AP, combinado com forte estiramento do modificador metóxi e da SC. À banda observada em 796 cm^{-1} atribuiu-se um modo vibracional composto principalmente pela deformação angular fora do plano da AP e estiramento CC da SM. Uma forte banda também pode ser observada em aproximadamente 466 cm^{-1} , com uma banda de intensidade reduzida aproximadamente pela metade em cerca de 450 cm^{-1} . Essa primeira banda foi atribuída principalmente ao alongamento CC do AP, enquanto a última foi relacionada à deformação angular fora do plano da AP.

É possível, no entanto, perceber que mesmo em solução, na radiação 633 nm, o espectro da DOX aparece bem definido para concentrações mais altas e exibe um perfil similar ao espectro do sólido, tornando este um bom ponto de partida para a comparação dos espectros SERS.

4.3.2 Espectroscopia SERS com adição de KCl

Nesta sessão, estudou-se o efeito da concentração dos modificadores de superfície adicionados e a influência do tempo de análise na obtenção dos espectros. A agregação dos substratos SERS metálicos depende fortemente da concentração dos modificadores adicionados. Além disso, esse processo é caracterizado por uma mudança contínua e irreversível. Assim, mesmo para concentrações menores, é esperado que a agregação ocorra de forma ininterrupta. Nesse processo, a desestabilização das nanoestruturas leva às condições de ressonância com a radiação; essa condição pode ser atingida mais rapidamente ou mais lentamente, mas dificilmente pode ser interrompida sem remover completamente o solvente, imobilizando as nanoestruturas ou adicionando novos modificadores de superfície, o que fatalmente altera a química da superfície além de ocasionar a formação de novas interações entre o soluto e a molécula de interesse, alterando assim o ambiente químico. A figura 17 apresenta o espectro Raman da DOX na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, adicionada em um substrato SERS composto pelas dispersões de AuNP, seguida da adição de KCl nas concentrações de 1×10^{-2} e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 17 – Espectros Raman de (a) solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, e espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em Raman dispersivo, 633 nm, 10 mW, 3 acumulações com 20 segundos de aquisição, utilizando KCl como modificador de superfície nas concentrações (b) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em suporte plástico

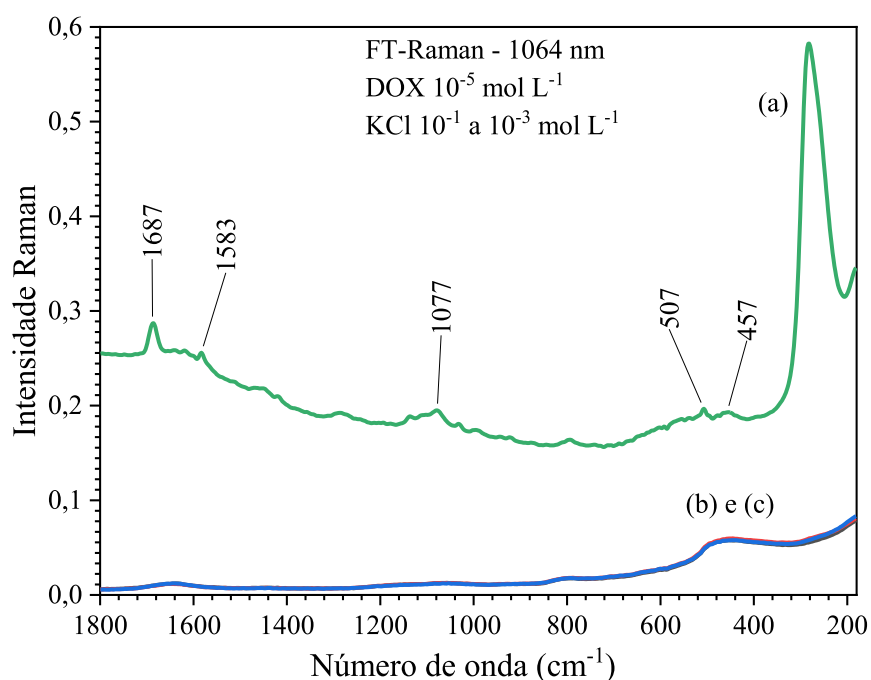


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Os espectros SERS apresentados na figura 17 (b) e (c) exibem um padrão que muito se assemelha ao padrão vibracional da solução de DOX na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, apresentado na figura 16 (c). No entanto, é possível observar o aparecimento de pequenas diferenças de intensidade relativa entre algumas bandas em regiões bem-marcadas, principalmente na região acima de 1200 cm^{-1} , onde aparecem a maioria das vibrações de anel contidas no plano, o que é suficiente para indicar a presença de efeito SERS. Os espectros apresentados nas figuras 17 (b) e (c) apresentam padrões de bandas similares, tanto em termos de intensidades relativas quanto de localização das bandas. Assim, através das observações das intensidades relativas é possível demonstrar a possibilidade da realização de análises utilizando KCl como modificador de superfície.

Com a radiação excitante de 1064 nm foi possível observar a presença de bandas fracas em um forte fundo SERS utilizando KCl na concentração de $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. A figura 18 apresenta resultados similares, porém com a radiação excitante em 1064 nm.

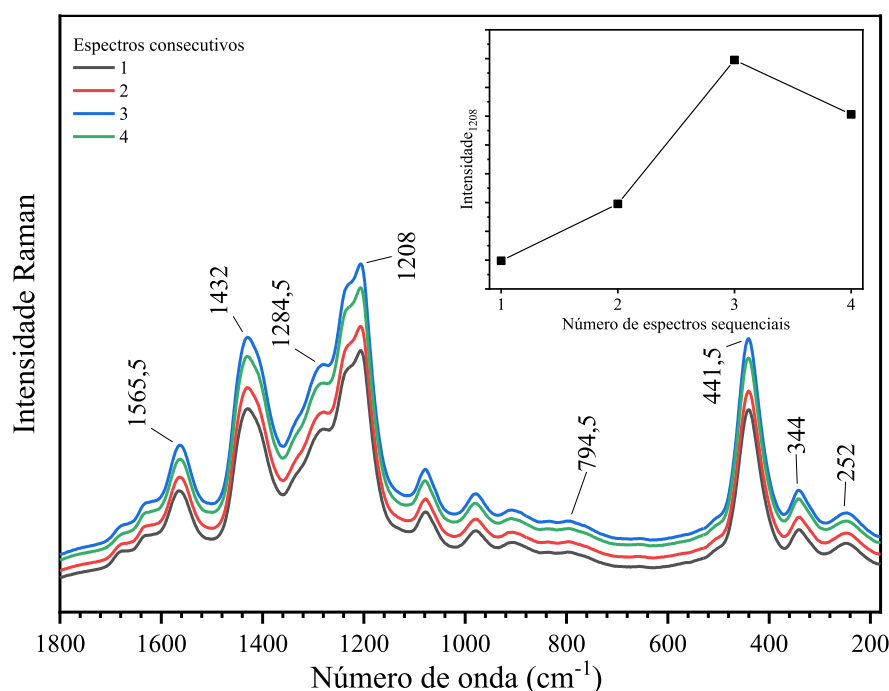
Figura 18 – Espectros SERS de (a) solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em FT-Raman, 1064 nm, 500 mW, 512 scans com KCl adicionado nas concentrações finais de $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos em tubos de Duran



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Conforme citado por Nie *et al* (Lee; Wang; Nie, 2015), e explicitado anteriormente, a DOX parece apresentar interações fracas com a superfície, e a interação que induz uma certa agregação, observada na figura 10 (c), não parece ser suficiente para promover a proximidade e observar forte intensificação via efeito eletromagnético e químico, além de deslocamentos, causadas por interação com a superfície do metal. No entanto, essa interação ocorre e permite a observação de mudanças claras nos padrões espectrais. As melhores condições de análise observadas se deram para a concentração de KCl de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para a obtenção de espectros SERS com radiação incidente em 632,8 nm, e $1 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ para a obtenção de espectros SERS com radiação incidente em 1064 nm. Esse resultado é coerente, uma vez que a adição da menor concentração desse modificador de superfície é suficiente para causar a agregação mais lenta das nanoestruturas, chegando em um tempo apreciável à condição de ressonância requerida para a intensificação com esse laser. Por outro lado, a adição da concentração maior de KCl agrega mais rapidamente as nanoestruturas, levando o sistema a um estado ótimo para a obtenção dos espectros utilizando a radiação menos energética, 1064 nm. Para estudar o efeito do tempo na obtenção dos espectros com substrato na presença de modificadores de superfície, um conjunto de espectros foi obtido sequencialmente sobre a superfície da dispersão em uma mesma amostra, alterando-se apenas a posição para evitar acumulação subsequente em um mesmo ponto da dispersão. A figura 19 apresenta esses resultados para a radiação incidente em 632,8 nm.

Figura 19 – Espectros SERS sequenciais sobre a superfície da dispersão de AuNP. DOX com concentração final de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos Raman dispersivo, 633 nm, 20 mW, 3 acumulações com 30 segundos de aquisição, com KCl adicionado na concentração final de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. *Inset*: intensidade da banda localizada em 1208 cm^{-1} , que representa bem o comportamento temporal do espectro



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O espectrômetro utilizado para a obtenção destes espectros utiliza um sistema de janelas de detecção separadas por regiões do espectro fotônico analisado. Assim, nas condições especificadas de obtenção dos espectros, levando-se em conta os tempos de obtenção de fundo de referência e a obtenção de fato dos espectros nas três regiões, cada espectro foi obtido em um tempo de aproximadamente 10 minutos. Após esse período, o foco da objetiva foi rapidamente reajustado para a superfície da dispersão e um novo espectro foi obtido. Ao final, gastou-se um tempo hábil de 40 minutos para a obtenção destes espectros. O máximo de intensidade foi observado para o terceiro espectro dessa série, conforme o destaque no *inset* da figura 19. Esse resultado pode estar associado ao andamento do processo de agregação das nanoestruturas, que resultaram em um substrato capaz de permitir a obtenção de espectros SERS reprodutíveis até o início da queda de sinal finalmente ser observado.

Não foi possível obter espectros reprodutíveis com as dispersões utilizando a radiação excitante de 785 nm, uma vez que os espectros exibiam um forte fundo de ressonância, sem presença de sinal, e muitas vezes encoberto pelo fundo de luz parasita exibido pelo aparelho.

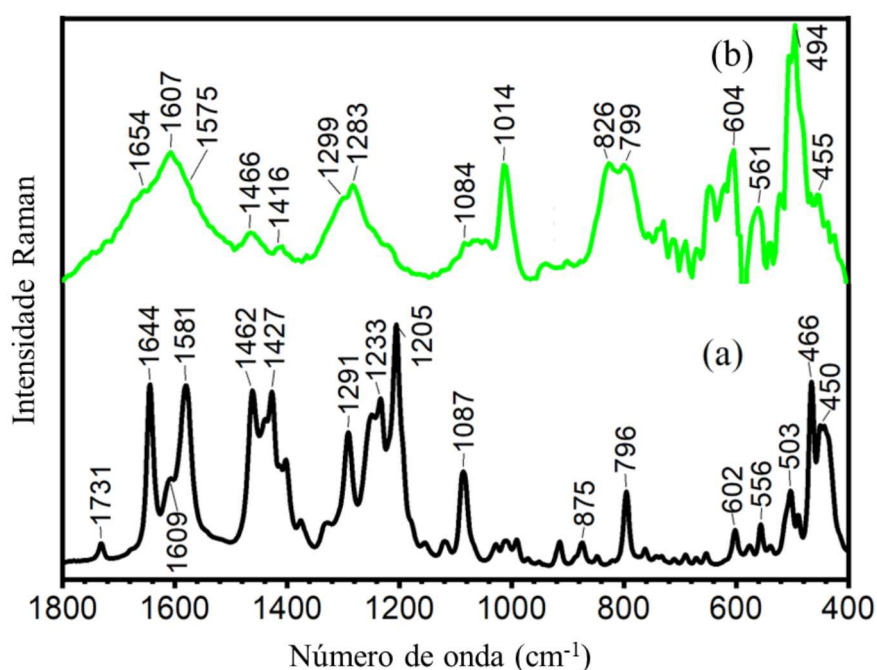
4.3.3 Espectroscopia SERS com adição de β -ME

A aplicação de organotióis como modificadores de superfície constitui uma poderosa técnica para a realização da adsorção controlada na superfície das nanoestruturas metálicas. Essas moléculas interagem fortemente com o metal através do grupo tiol, $-SH$, que pode abstrair-se de um próton para formar o grupo tiolato, $-S^-$, este último responsável pela formação de ligações estáveis entre o metal e o enxofre. O grupo existente na outra terminação da molécula permite que o tipo de interação entre a nanoestrutura modificada e o ambiente químico desejado possa ser controlado; grupos funcionais como o ácido carboxílico, $-COOH$, o aldeído, $-C=O$, e o álcool, $-OH$, permitem a formação de interações do tipo dipolo-dipolo e ligação de hidrogênio, trazendo à nanoestrutura funcionalizada a capacidade de se dispersar em meios que possuem a capacidade de formar tais interações; além disso, grupos terminais como o grupo amina, $-NH_2$, permitem interações polares, enquanto o grupo metila, $-CH_3$, permite interações apolares. Ao mesmo tempo, o tamanho da cadeia que separa esses grupos também é capaz de alterar o regime das interações intermoleculares entre o ambiente químico e o substrato funcionalizado (Marques *et al.*, 2018). Assim, a funcionalização dessas moléculas é capaz de levar à formação de monocamadas auto-estruturadas, controladas e ordenadas.

Visando avaliar a interação da DOX com um substrato orgânico capaz de interagir tanto com o solvente quanto com o metal nanoestruturado, adicionou-se uma alíquota de β -ME à solução de DOX e, em seguida, adicionou-se essa mistura à dispersão de nanoestruturas. Essa adição foi realizada nos regimes pré-determinados pelas análises da cinética de adsorção via espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões UV-VIS-NIR para a molécula de β -ME. Assim, a concentração final de DOX e de β -ME foi de, respectivamente, $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, adicionados às nanoestruturas em proporção de 1:9 de diluição. Conforme apresentado na figura 11 (d), a formação de interações do tipo dipolo-dipolo envolvendo a porção amônio e ligações de hidrogênio realizadas pelo β -ME, principalmente com os átomos de oxigênio da DOX poderia afetar a distribuição de estados vibracionais populados, principalmente através de mudanças na topologia assumida pelo fármaco na superfície das nanoestruturas. Essas mudanças podem ser detectadas através de variações no perfil vibracional desse fármaco adsorvido na superfície nanoestruturada. A figura 20 apresenta o espectro SERS

obtido para a DOX utilizando essa metodologia e o respectivo espectro do fármaco no estado sólido para efeito de comparação.

Figura 20 – Espectro Raman de (a) DOX no estado sólido, obtido em porta amostras de alumínio, e (b) espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração 1×10^{-5} mol L^{-1} , utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração de 1×10^{-8} mol L^{-1} , obtido em tubo de Duran. Proporção de diluição final (DOX/ β -ME):AuNP 1:9. Espectros obtidos com radiação excitante em 1064 nm



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Na presença do modificador de superfície β -ME, o padrão espectral SERS da DOX mudou consideravelmente. Nestes espectros, é possível observar que as bandas em 1575, 1419, 1299 e 1014 cm^{-1} , atribuídas a modos compostos de deformação angular do grupo -NH, ao estiramento do grupo -CN, bem como as bandas observadas em 1466, 1416, 1084 e 1014 cm^{-1} , envolvendo o grupo metóxi nos modos atribuídos, permitem inferir que tanto o amônio quanto o metóxi são os principais sítios de interação entre a DOX e esse modificador de superfície. No entanto, as mudanças significativas nas intensidades relativas dessas bandas, bem como a presença de bandas intensificadas em 826 e 799 cm^{-1} , atribuídas a modos envolvendo vibrações fora do plano da AP, indicam que essa estrutura molecular está orientada em uma geometria da AP mais próxima de um plano paralelo à superfície do ouro. Nesse caso, os modos vibracionais

dominados por componentes fora do plano de adsorção devem ser intensificados pelas regras de seleção de superfície (Ding *et al.*, 2017), uma vez que têm componentes perpendiculares bem determinados em relação à superfície metálica. Assim, é possível supor que as ligações de hidrogênio provavelmente estão presentes, e possuem o papel de orientar o fármaco à estrutura formada pela interação entre o modificador e a superfície da nanoestrutura.

Esses resultados levaram naturalmente ao questionamento a respeito do tipo de interação formada em um ambiente que não permita a constante autorreorganização que ocorre em uma dispersão coloidal. As dispersões coloidais possuem um comportamento dinâmico, no qual moléculas livres de solvente, dos modificadores e da DOX podem entrar e sair constantemente no volume dado pela dupla camada elétrica. Além disso, esse comportamento se intensifica à medida que as modificações ocorrem. A adição de modificadores leva à agregação da dispersão coloidal de forma contínua e irreversível, de modo que a obtenção das condições ótimas de ressonância com a radiação necessárias para a análise SERS deve sempre levar em conta o caráter evolutivo da diversidade de microestados populados. Assim, optou-se por realizar a análise dos padrões SERS da DOX também em um ambiente que controle naturalmente o deslocamento desses equilíbrios envolvido nas dispersões. Para isso, utilizou-se filmes imobilizados sobre lâminas de vidro.

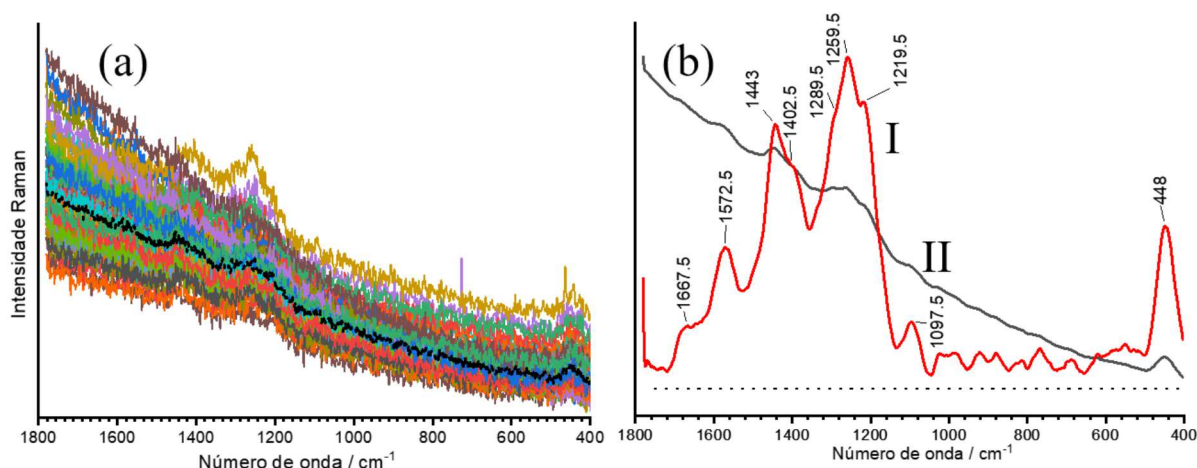
4.3.4 Espectroscopia SERS em lâmina de vidro

A realização de análises SERS utilizando filmes tem a vantagem de manter as moléculas imobilizadas em suas conformações específicas sobre o substrato metálico. Abstraindo-se o solvente, abstrai-se também a influência do elevado grau de movimento que as moléculas adquirem em solução, e também a influência da entalpia de solvatação sobre as ligações químicas, de modo que o sistema se torna estático, e pode ser pensado quase que totalmente como um sólido.

A principal vantagem dessas medidas reside no fato de que um espectro SERS em dispersão é gerado pela luz espalhada por moléculas em diferentes *hot-spots*, que sofrem sobre suas nuvens eletrônicas efeito de diferentes campos elétricos intensificados, relacionados com a forma e estrutura dos agregados metálicos naquele sistema dinâmico. A qualquer momento em uma medida suficientemente rápida para garantir que qualquer eventual modificação induzida na amostra pelo laser seja descartada, o espectro será potencialmente o mesmo. Com substratos imobilizados, no entanto, é possível separar as contribuições das moléculas espalhadoras se as medidas foram grandes o suficiente, isto é, se pontos suficientes forem

medidos, com o uso de alguma estatística descritiva. A figura 21 apresenta os resultados de uma medida utilizando a técnica de deposição por *dropcast*, que consiste na evaporação da dispersão modificada em lâminas de vidro através de estufa à vácuo, em que o mapeamento foi realizado em 100 pontos sobre a superfície de uma laminula de vidro.

Figura 21 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a laminula através de secagem a vácuo. (a) 100 pontos obtidos com radiação excitante de 633 nm, 5 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, sem tratamento, e (b) espectro médio após correção de linha base e suavização (*smoothing*) leve (I), e espectro médio obtido de 80 pontos após a remoção dos pontos que não apresentavam sinal ou apresentavam intenso sinal de carbono (II). Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

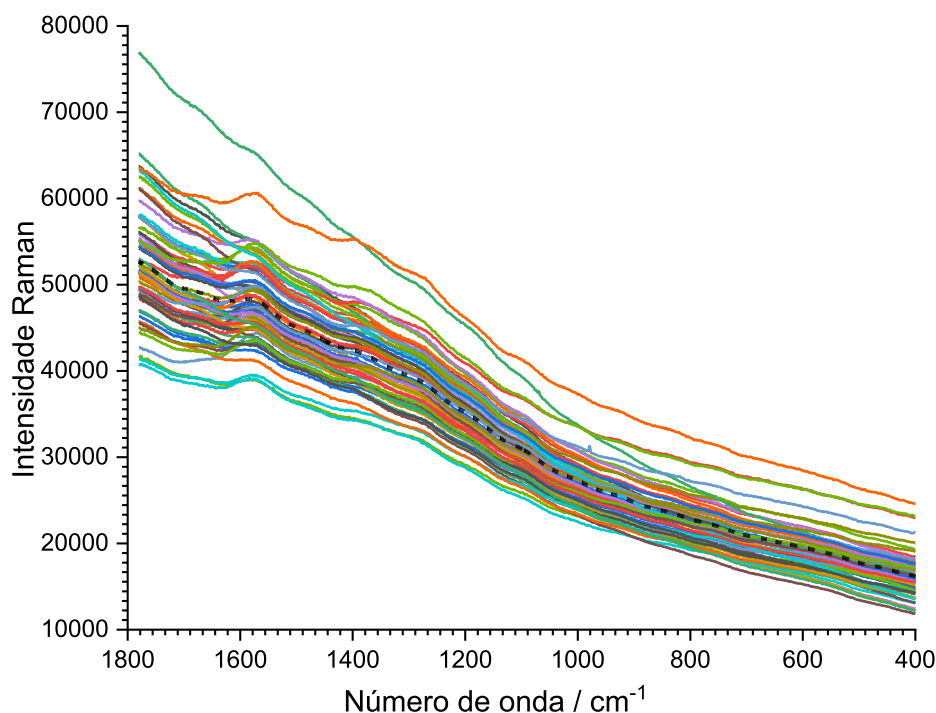
A obtenção de espectros Raman e SERS utilizando a radiação 633 possui um problema intrínseco ligado a formação de espécies de carbono amorfo através da interação com o laser, caso apresente elevada potência, como observado na figura 21. Assim, optou-se por aumentar para $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a concentração de DOX e reduzir a potência para 5 mW, a fim de preservar a integridade da amostra em tempo suficiente para a obtenção dos espectros no mapeamento. Porém, mesmo com essas medidas vários pontos apresentaram sinal intenso de carbono ou não apresentaram sinal e, assim, dos 100, 20 foram suprimidos na obtenção dos espectros finais.

É possível notar que, mesmo em substrato imobilizado, existe um forte fundo no espectro, característico da medida de espectroscopia Raman da DOX sólida, que somente

apresenta este fundo, e baixíssima relação sinal ruído. No entanto, o espectro médio obtido revela bandas que, após a correção da linha base, apresentam o padrão SERS da DOX, apresentando inclusive várias diferenças de intensidade relativa na região acima de 1200 cm^{-1} . É necessário lembrar aqui que as regras de seleção para espectroscopia SERS ditam que os modos intensificados são aqueles em que a vibração ocorre perpendicularmente à superfície de adsorção (Ding *et al.*, 2017). Assim, observa-se que, aparentemente, os modos intensificados são os modos que incluem as vibrações do esqueleto antraquinônico, e vale também salientar que, para isso, a DOX deve estar próxima o suficiente da superfície metálica para exibir esse efeito, que pode ser de natureza eletromagnética e química. Uma maneira de entender melhor a adsorção da DOX sobre a superfície metálica envolve a análise do mapeamento deste sistema imobilizado sobre a lamínula, porém utilizando β -ME como modificador de superfície.

A figura 22 apresenta o mapeamento com 64 pontos utilizando esta molécula como modificador de substrato.

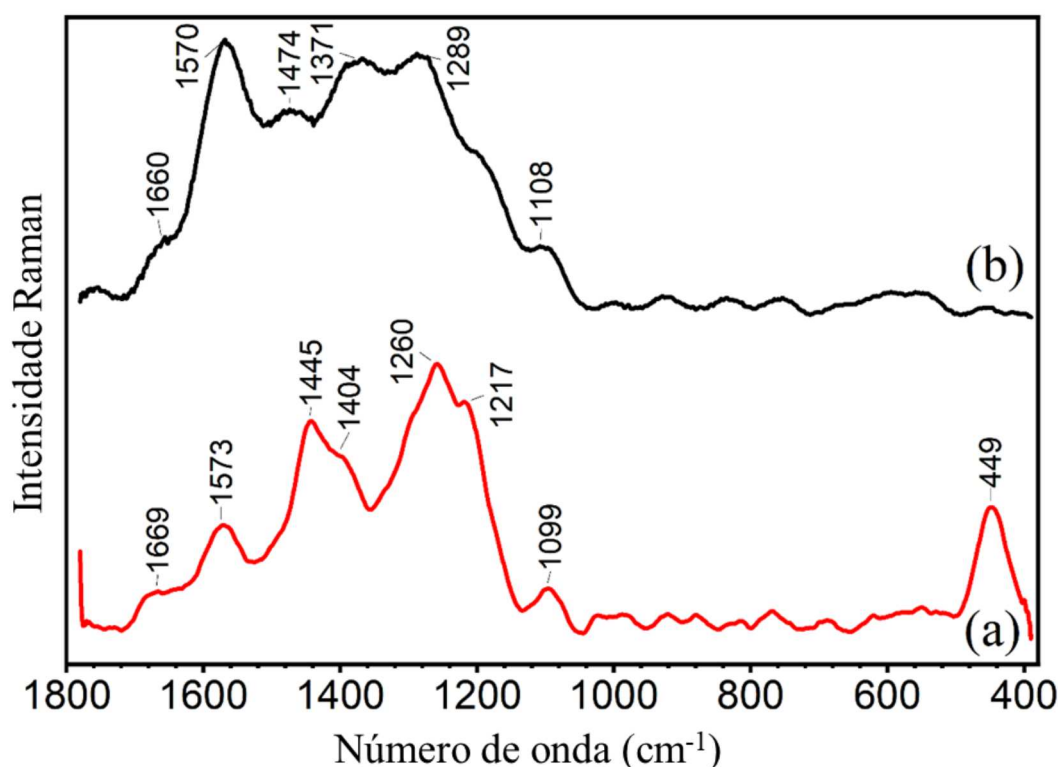
Figura 22 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração final de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a lamínula através de secagem a vácuo. 62 de 64 pontos obtidos com radiação excitante de 633 nm, 10 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, sem tratamento. Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

É possível notar que, mesmo sem tratamentos, os espectros apresentaram elevada razão sinal-ruído. Porém, é possível observar a presença do fundo ligado à formação de carbono amorfo na maioria dos espectros e em diferentes intensidades, o que não seria totalmente corrigido com uma correção de linha base de espectro médio. Mesmo assim, vale ressaltar que aparentemente alguns espectros apresentam perfis diferentes de outros, o que pode ser um indicativo de adsorção preferencial em *hot-spots* não ligados ao cloreto que forma a espécie cloridrato, mas ao mercaptoetanol, via interações de dipolo. A figura 23 apresenta os espectros finais para as duas condições utilizadas na obtenção dos espectros utilizando lamínulas de vidro.

Figura 23 – Espectros SERS da DOX na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando (a) KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (b) β -ME como modificador de superfície na concentração final de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, e imobilizados sobre a lamínula através de secagem a vácuo. Espectros obtidos com radiação excitante de 633 nm, 10 mW, 2 acumulações com 5 segundos de aquisição, com correção de linha-base e suavização (*smoothing*) leve. Espectros obtidos em temperatura ambiente ($\sim 21^\circ \text{C}$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 23 mostra os espectros SERS médios de DOX quando a suspensão contendo AuNP modificada com KCl e β -ME foi seca para formar um filme. Desta forma, o processo de oclusão causada pela remoção do solvente impõe a adsorção e favorece a geração de campo elétrico local por acoplamento plasmônico. Além disso, provoca mudanças nos mecanismos de transferência de carga, favorecendo a extinção da fluorescência. Tais processos permitem o registro do espectro SERS de DOX com um padrão espectral peculiar. Todas as bandas intensificadas podem ser atribuídas a modos com fortes contribuições da AP e a maioria delas é composta por ambos os grupos metóxi, como 1445, 1404, 1217 e 1099 cm^{-1} , e amônio, como 1573, 1404, 1260, e 1217 cm^{-1} . Dessa forma, novamente é possível inferir que os mecanismos

de interação da DOX com a superfície do ouro modificado com ânions cloreto, envolvem interações através de grupos metóxi e amônio.

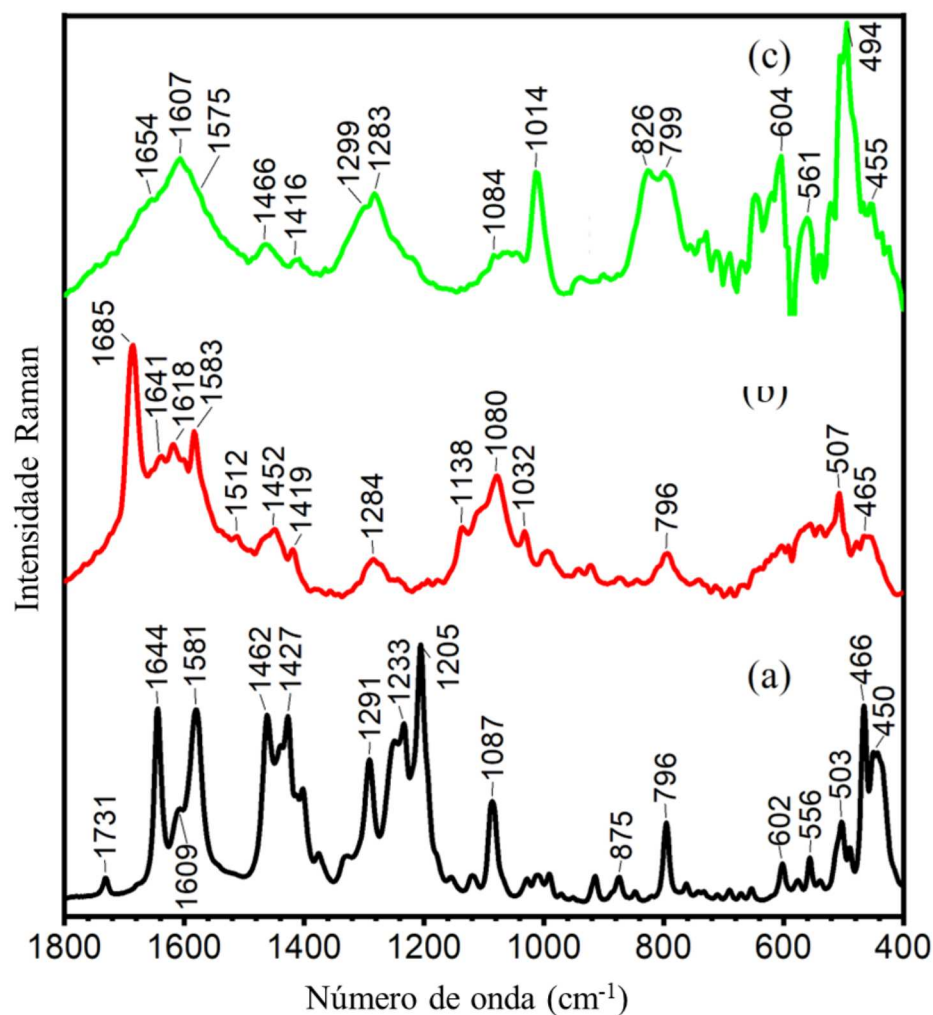
Embora a figura 23 apresente padrões espectrais essencialmente distintos, ambos apresentam uma forte presença de carbono amorfo, com surgimento possivelmente provocado pela frequência da radiação incidente, que não pôde ser completamente suprimida pela remoção da linha-base. Assim, é possível que um conjunto de técnicas capazes de aprender os padrões e determinar a influência desses efeitos em um espaço próprio de características seja capaz de diferenciar e classificar as informações relevantes. Nesse sentido, foi desenvolvido um script, utilizando *Python 3*, que realiza o pré-tratamento dos espectros, ou seja, a correção da linha-base e a suavização, e análise de componentes principais (*Principal Component Analysis – PCA*) visando separar as contribuições das bandas características observadas daquelas geradas como um artefato. No entanto, o baixo número de amostras representativas obtidas (100 e 64 utilizando radiações excitantes em 1064 e 632,8 nm, respectivamente) constituiu um impeditivo temporal para a finalização dessa etapa. Em todos estes casos, os espectros SERS apresentam muito fundo e baixa razão sinal/ruído, o que sugere que o aumento do espaço amostral seja uma saída óbvia para aumentar a confiabilidade das análises. Outro ponto de vital importância é a possibilidade da realização das análises de forma não-supervisionada. O PCA, como técnica de análise exploratória e classificatória, é um método de aprendizado de máquinas que reduz a dimensionalidade do espaço amostral, ou seja, fornece melhores resultados através da classificação prévia dos dados de entrada, o que constitui um impeditivo prático em muitas aplicações em que as diferenças observadas são muito sutis. Esse método pode ser usado de forma não-supervisionada; porém para amostras que apresentam multicolinearidade, essa técnica não se comporta bem. A literatura já apresenta metodologias que permitem que a classificação se dê de forma analítica pelos algoritmos nas análises por espectroscopia SERS, pareando outras técnicas de aprendizado de máquina não supervisionado, como a incorporação estocástica de vizinhos com distribuição-t (*t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding – t-SNE*) (Barucci *et al.*, 2021) ou redes neurais convolucionais profundas (*Deep Convolutional Neural Networks – DCNN*) (Dong *et al.*, 2024), e por espectroscopia Raman (Fuentes *et al.*, 2023); no entanto, esse processo pode acabar sendo custoso computacionalmente para análises que apresentem elevada complexidade e necessidade de um espaço amostral muito amplo, como os dados sugerem ser o caso das análises via SERS. O script desenvolvido até então, que realiza o pré-tratamento e o PCA, encontra-se disponível nos anexos desta tese.

4.3.5 Modelos de adsorção molecular

A análise dos padrões SERS da DOX observados com o uso dos modificadores de superfície, tanto em dispersão quanto em filmes finos, sugere que a DOX possui sítios de adsorção preferencial na superfície nanoestruturada, e que esse sítio diverge em relação à condição da modificação utilizada, ou seja, a DOX apresenta adsorção diferente para as modificações com KCl e com β -ME. Nesse aspecto, a comparação dos padrões de bandas observados nos espectros permitiu a obtenção de padrões clássicos de vibração, capazes de trazer à luz a consideração das geometrias de adsorção da DOX nas superfícies metálicas, quando se utilizou a radiação excitante de comprimento de onda de 1064 nm, pois apenas nessa condição o efeito de intensificação resultante do efeito Raman ressonante foi eliminado. Os dados obtidos a respeito desses padrões podem ser visualizados na tabela 3.

Os espectros SERS de DOX foram obtidos fora da condição de ressonância, usando a linha de excitação com comprimento de onda em 1064 nm, para as AuNP modificadas com KCl e β -ME, como apresentado nas figuras 18 e 20. Na figura 24 também se apresenta o espectro Raman de DOX no estado sólido, para comparação. O pH da suspensão de AuNP é aproximadamente 6,0, enquanto o valor de pKa aparente da DOX é de 8,2. Este fato é um indicativo que, nas condições em que esses experimentos SERS ocorrem, a amina protonada é possivelmente a espécie predominante em solução; é possível ainda que o cátion amônio esteja envolvido na adsorção através do par iônico com o ânion Cl^{-1} , que está em ponte com a superfície metálica. As bandas intensificadas em 1583, 1419 e 1138 cm^{-1} , atribuídas à deformação angular do grupo -NH e ao alongamento do grupo -CN da daunosamina, reforçam essa suposição. Entretanto, bandas intensificadas em 1452, 1419, 1138 e 1080 cm^{-1} , que também são atribuídas a modos envolvendo a fração metóxi, permitem inferir que esse grupo está próximo o suficiente à superfície do ouro.

Figura 24 – Espectro Raman de (a) DOX no estado sólido, obtido em porta amostras de alumínio, espectros SERS de uma solução aquosa de DOX com concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (b) utilizando KCl como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e (c) utilizando β -ME como modificador de superfície na concentração de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, obtido em tubo de Duran. Proporção de diluição final (DOX/ β -ME):AuNP 1:9. Espectros obtidos com radiação excitante em 1064 nm



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 3 – Atribuição-tentativa das bandas Raman e SERS observadas nos espectros da DOX, e frequências calculadas correspondentes. Todos os valores apresentados estão em números de onda (cm^{-1})

Raman (sólido) 1064 nm	Raman (solução) 632.8 nm	SERS (KCl aq) 632.8 nm	SERS (filme) 632.8 nm	SERS (KCl aq) 1064 nm	SERS (β -ME aq) 1064 nm	Raman (Sim.)	Atribuição
1731	-	-	-	-	-	1806	$\nu(\text{CO})_{\text{SC}}$
1644	1667(sh)	1660(sh)	1669(sh)	1685	1673(sh)	1681	$\nu(\text{CO}) + \nu(\text{CC})_{\text{AP}}$
1609	1638	1637	-	1641	1654	1641	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{COH})_{\text{Anel III}}$
-	-	-	-	1618	1607	1627	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel III}}$
1581	1575	1577	1571	1583	1575(sh)	1625	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{NH}_3)$
1462	-	-	-	1452	1466	1513	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO}) + \delta(\text{COH})_{\text{Anel III}} + \delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}}$
1439(sh)	1437	1432	1443	-	-	1473	$\delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}} + \delta(\text{CH})_{\text{Anel IV}} + \delta(\text{CH})_{\text{SC}}$
1427	1410(sh)	1410(sh)	1407	1419	1416	1410	$\delta(\text{CH}_3)_{\text{Metoxi}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel II}} + \delta(\text{NH}_3) + \delta(\text{CH})_{\text{SC}}$
1291	1299	1287	1296	-	1299	1329	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \omega(\text{CH}_2) + \delta(\text{OH})_{\text{Anel III}} + \tau(\text{NH}_3)$
1251	-	-	-	1284	1283	1260	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \tau(\text{CH}_2)$
1233	1238(sh)	1234(sh)	1258	-	-	1257	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \tau(\text{CH}_2) + \tau(\text{NH}_3)$
1205	1209	1202	1220	1138	-	1233	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO})_{\text{Metoxi}} + \nu(\text{CN})$
1087	1079	1070	1096	1080	1084	1105	$\nu(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CO})_{\text{SC, Metoxi}}$
991	991	979	989	-	1014	1009	$\nu(\text{CN}) + \nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \nu(\text{CO})_{\text{SM, Metoxi}}$
875	-	-	-	-	826	881	$\delta(\text{CC})_{\text{AP}} + \gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$
796	-	-	-	796	799	801	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$
503	-	-	-	507	494	505	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \nu(\text{CC})_{\text{Anel I}} + \delta(\text{CCO})$
466	-	-	-	-	-	474	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \delta(\text{OH})$
450	-	-	-	-	-	465	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}}$
443 (sh)	437	433	449	465	455	449	$\nu(\text{CC})_{\text{Anel II/III}} + \delta(\text{CC})_{\text{Anel IV}}$
346	347	-	-	-	-	353	$\gamma(\text{CC})_{\text{AP}} + \nu(\text{CC})_{\text{SM}}$

AP: porção antraquinônica; SM: porção açúcar; SC: cadeia lateral; ν : estiramento; δ : deformação angular; γ : deformação angular fora do plano;

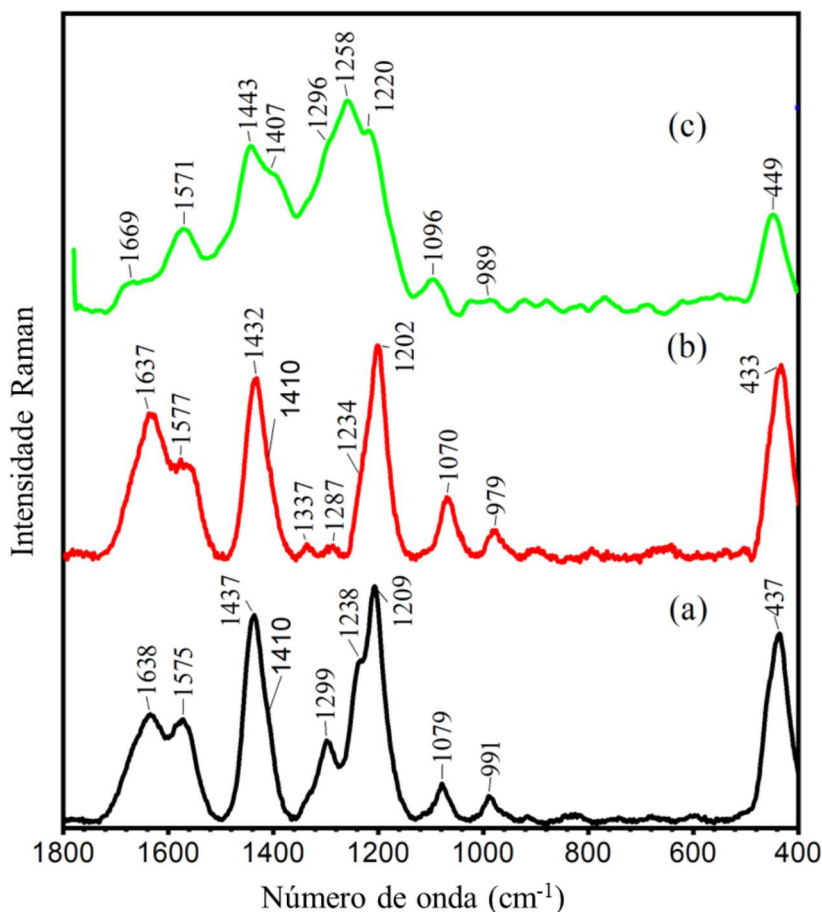
ω : *wagging*; ρ : torção; τ : *twist*.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A estrutura calculada a partir do cluster DOX e Au₆, apresentada com mais detalhes na próxima sessão, indicou que essa molécula pode adsorver através de dois sítios moleculares, e ambos os grupos amônio e metóxi têm afinidade particular pela superfície do ouro. Bandas SERS mais intensas em 1685, 1641, 1618, 1080 e 507 cm⁻¹, atribuídas a vibrações da AP, permitem propor que o plano molecular do AP pode ser inclinado para a superfície metálica, com tais modos vibracionais tendo um componente perpendicular, com a intensificação observada devendo-se às regras de seleção de superfície. Na presença do modificador de superfície β-ME, o padrão espectral SERS muda consideravelmente, indicando que outra geometria de adsorção, provavelmente envolvendo ligações de hidrogênio, está presente. As bandas em 1575, 1419, 1299 e 1014 cm⁻¹, atribuídas aos modos de deformação angular -NH e estiramento -CN, bem como as bandas em 1466, 1416, 1084 e 1014 cm⁻¹, envolvendo o grupo metóxi nos modos atribuídos, permitem inferir que tanto o amônio quanto o metóxi são novamente sítios de ancoragem nas interações de adsorção. No entanto, as mudanças significativas nas intensidades relativas dessas bandas, bem como a presença de bandas intensificadas em 826 e 799 cm⁻¹, atribuídas aos modos envolvendo vibrações fora do plano da AP, indicam que essa fração está tendendo a uma geometria paralela à superfície do ouro. Nesse caso, os modos fora do plano são intensificados pelas regras de seleção de superfície, uma vez que têm componente perpendicular em relação à superfície metálica.

A figura 25 apresenta os espectros registrados usando radiação excitante de 632,8 nm. Os padrões espectrais da DOX em solução e adsorvida na suspensão de AuNP são muito semelhantes, com algumas poucas mudanças e deslocamentos em intensidades relativas, indicando que o efeito RR, mesmo que de longa distância, pode impedir a correlação completa entre o padrão espectral e a geometria de adsorção. Embora o efeito RR prevaleça sobre as influências de adsorção, todas as bandas intensificadas também passaram por deslocamentos, indicando que interações de superfície ocorreram no processo de adsorção. O aumento da banda em 1637 cm⁻¹, atribuído a um modo específico de vibrações da AP, indica que tal fração está envolvida nas interações de adsorção.

Figura 25 – (a) Espectro Raman ressonante da DOX em solução aquosa a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; espectros de SERRS de DOX na concentração final de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ na superfície das AuNP, modificados com KCl a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (b) em suspensão e (c) como filme seco. Todos os espectros Raman e SERRS foram excitados com $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$

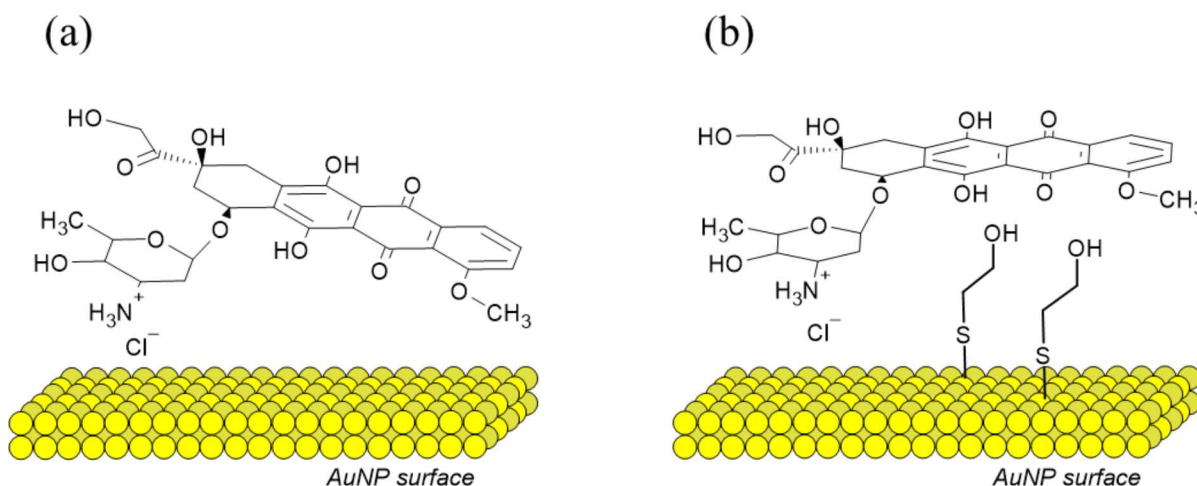


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 25 (c) mostra os espectros SERRS médios de DOX quando a suspensão contendo AuNP modificada com KCl foi seca em estufa à vácuo para formar um filme. Desta forma, o processo de oclusão impõe a adsorção e gera um campo elétrico local particular por acoplamento plasmônico, além de provocar mudanças nos mecanismos de transferência de carga, favorecendo a extinção da fluorescência. Tais processos permitem o registro do espectro SERRS de DOX com um padrão espectral peculiar. Toda a banda aumentada pode ser atribuída a modos com forte contribuição da AP, e a maioria delas é composta por ambos os grupos metóxi, como 1443, 1407, 1220, 1096 e 989 cm^{-1} , e o grupo amina, como 1571, 1407, 1296, 1258, 1220 e 986 cm^{-1} . Dessa forma, novamente é possível inferir que os mecanismos de adsorção de DOX na superfície do ouro, modificados com ânions Cl^- , envolvem interações

através dos grupos metóxi e amônio. Assim, um modelo de adsorção foi proposto, com base nos dados apresentados até então. Ele pode ser observado na figura 26.

Figura 26 – Modelos de adsorção da DOX em superfície metálica (a) sem modificador ou com a adição de KCl ou (b) com a adição de β -ME



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

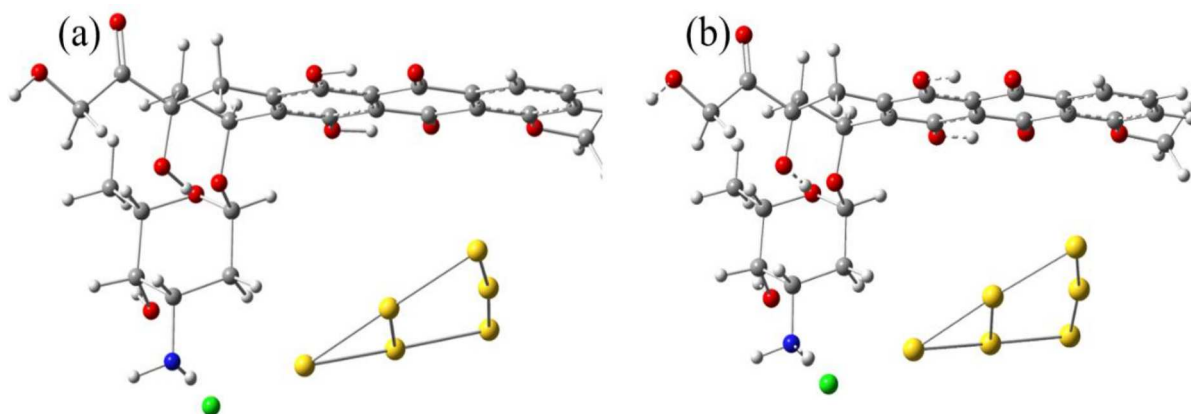
O uso de diferentes radiações excitantes, em particular no infravermelho próximo, para escapar do efeito RR para a compreensão do processo de adsorção é uma estratégia importante. No entanto, o uso de modificadores de superfície para intensificar a afinidade química da DOX com a superfície do Au é uma abordagem que apresenta fortes indícios de controle sobre a afinidade química e que pode ser explorada para a construção de nanodispositivos para sistemas de liberação controlada de fármacos. No entanto, a funcionalização geralmente envolve reações químicas, o que aumenta a complexidade dos processos e pode modificar importantes propriedades químicas do fármaco. Desta forma, o presente trabalho mostrou que é possível pensar em estratégias para funcionalizar a superfície metálica adaptando interações específicas do fármaco, mediadas por modificadores de superfície de baixo custo, avaliadas por espectroscopias SERS e SERRS.

4.3.6 Modelo computacional de adsorção sem modificador

A obtenção de espectros SERS teóricos representativos é um grande desafio na área do desenvolvimento e implementação de códigos. Conforme a tecnologia evolui, têm-se à

disposição códigos cada vez mais eficientes, o que associado com o aumento dramático do poder computacional das últimas décadas, vêm trazendo de volta o interesse nessas medidas, que se tornam cada vez mais próximas. Assim, estudou-se um modelo de adsorção da DOX sem modificador de superfície através da metodologia DFT. Para tal, um *cluster* de ouro do tipo Au_6 teve sua geometria otimizada e a frequência calculada – a fim de verificar a presença de frequências de vibração imaginária, o que indicaria que a geometria não seria própria para o cálculo de frequência por não caracterizar um mínimo na superfície de energia potencial – utilizando a metodologia B3LYP/LanL2DZ//B3LYP/LanL2DZ e, em seguida, um modelo foi montado com a estrutura previamente otimizada da DOX na metodologia B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ//B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ. A proposta de ancoragem utilizada foi a do compartilhamento de densidade eletrônica do cloreto. A figura 27 apresenta as estruturas iniciais para o modelo de ancoragem e a estrutura final obtida após a simulação.

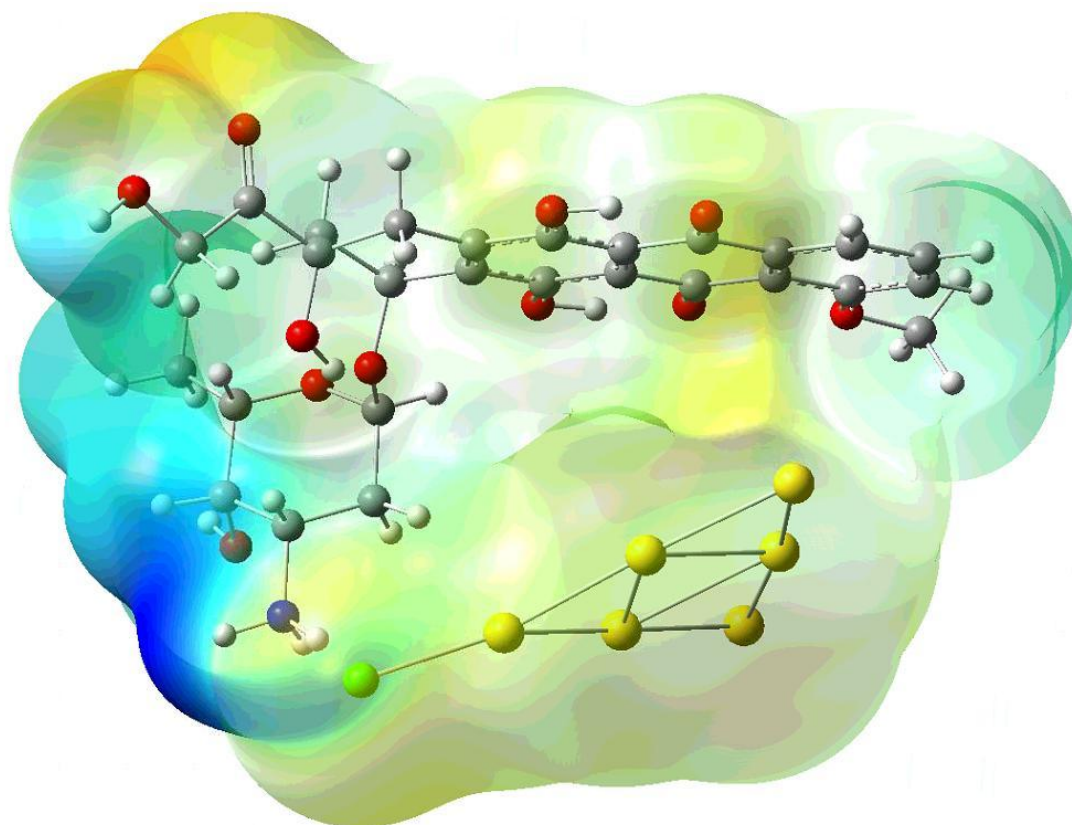
Figura 27 – Modelo de adsorção sem utilização de modificadores de superfície, contendo uma molécula de DOX e um cluster de ouro de 6 átomos, Au_6 , no vácuo. (a) estrutura inicial e (b) estrutura após a convergência. A metodologia utilizada foi B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ//B3LYP/6-31+G(d,p)/LanL2DZ



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O modelo foi otimizado já no primeiro palpite de estrutura, sem que fosse obtida frequência negativa, um indicativo de que a estrutura está compreendida em um estado que é um mínimo na superfície de energia potencial. Para tentar visualizar melhor, uma superfície de potencial elétrico baseada em densidade eletrônica foi gerada. A figura 28 apresenta esse resultado.

Figura 28 – Superfície de energia potencial elétrico baseada em densidade eletrônica para a estrutura final do modelo de adsorção. Regiões em azul apresentam potencial positivo, regiões em laranja ou vermelho potencial negativo. As regiões em tom de verde apresentam potencial aproximadamente neutro



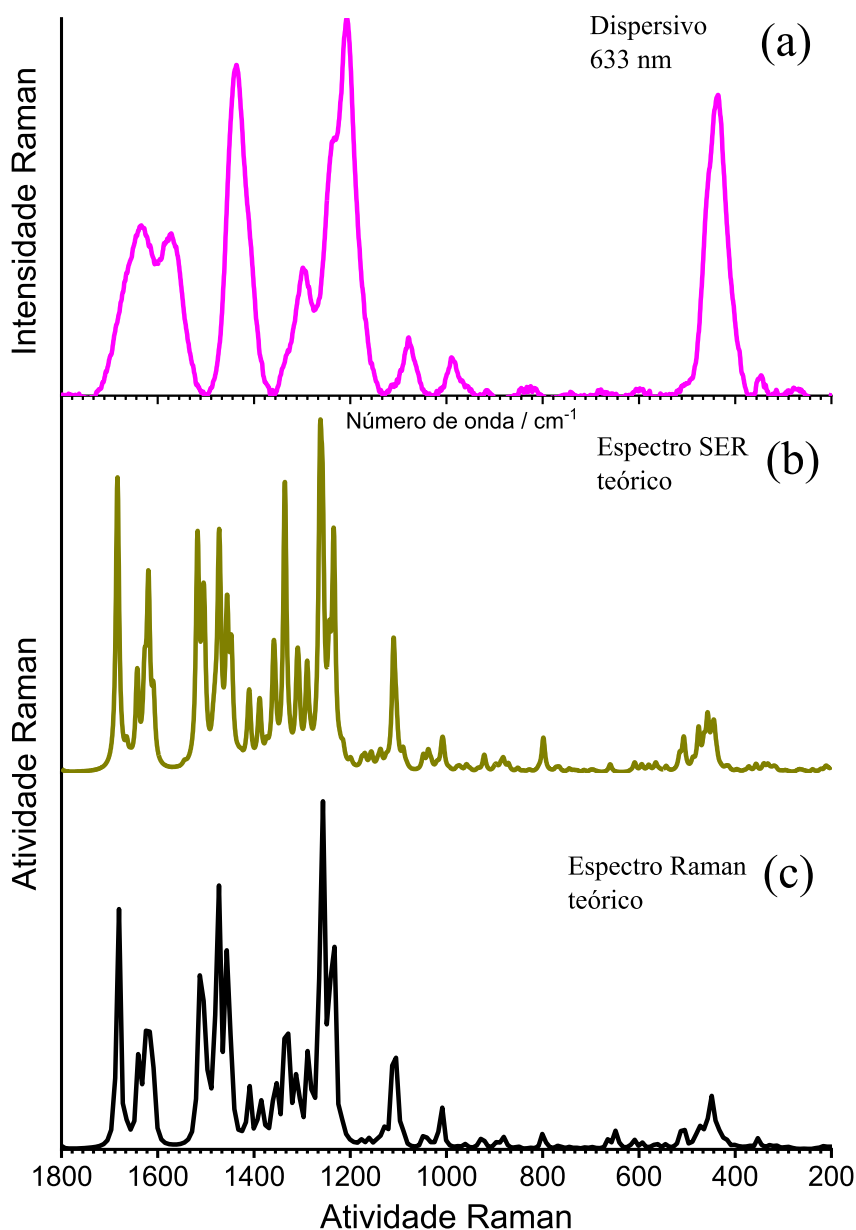
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A superfície de energia potencial evidencia que os potenciais elétricos no entorno do modelo do cluster e do corpo da antraquinona são aproximadamente os mesmos, o que sugere a ancoragem na geometria semelhante à geometria inicial, em um plano aproximadamente perpendicular ao plano que contém os anéis da antraciclina. Ao mesmo tempo, no vácuo, o cloreto deveria exibir alta concentração de densidade eletrônica negativa, o que não ocorre, algo que também é um indicativo de compartilhamento de densidade eletrônica com o *cluster* Au₆.

Os cálculos TD-DFT para a geração de espectros UV-VIS-NIR teóricos e orbitais naturais de transição (NTO) para o modelo de adsorção, o que poderia indicar a formação de complexo de superfície, estão apresentados nas próximas sessões para modelos mais simples de *clusters* de Au.

A figura 29 apresenta a atividade Raman teórica obtido com a metodologia de cluster proposta.

Figura 29 – Espectros SERS teórico da DOX na concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com KCl na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ como modificador de superfície; e atividades Raman (b) teórica para a molécula no vácuo e (c) teórica para o cluster proposto no vácuo



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A atividade Raman obtida teoricamente para o modelo de DOX com o cluster Au_6 apresenta um perfil similar ao perfil observado da atividade Raman para a molécula no vácuo.

No entanto, embora não seja possível observar-se deslocamento de bandas, é possível perceber uma diferença na intensidade relativa das bandas, principalmente na região onde as vibrações de anel aromático se concentram. Há, por exemplo, um expressivo aumento da atividade Raman na região entre 1400 e 1200 cm^{-1} . Nessa região, conforme a tabela 3, estão localizados os modos vibracionais compostos por estiramentos dos grupos -CC da AP, *wagging* e torsões de grupos -CH₂ e, mais importantes, deformações no plano de grupos -OH, estiramento no plano do grupo metóxi, -OCH₃, e deformações do grupo amina, -NH₂. Experimentalmente, essa região aparece como uma única envoltória e alguns ombros nas proximidades do máximo de intensidade, e uma banda menor localizada nas proximidades de 1400 cm^{-1} . Além disso, o agrupamento em cerca de 1400 cm^{-1} , bem resolvido nos espectros teóricos e no espectro do sólido apresentado na figura 24 (a), aparece no espectro RR da DOX como uma única banda. É possível que a intensificação observada experimentalmente possa ser correlacionada ao aumento da atividade Raman observado nos espectros de atividade Raman simulada, mesmo que estes espectros não levem em conta o efeito de ressonância eletrônica de longa distância exibido pela DOX. Ainda assim, esses dados parecem condizer com os resultados observados experimentalmente, para o qual foram atribuídas as geometrias de adsorção apresentadas na figura 26.

É preciso lembrar que quando não há efeito químico no SERS, mas apenas o efeito eletromagnético, o que é comum em superfícies metálicas muito bloqueadas ou quando a molécula não interage com a superfície do substrato, comumente abstraem-se os deslocamentos nas bandas, uma vez que o campo elétrico intensificado age à distância, não alterando o que, em um modelo clássico, seria chamado de constante de mola de ligação química.

Assim, é possível que o modelo de cluster apresente uma metodologia robusta o suficiente para obter dados e relacionar com a atribuição das bandas SERS, tanto de forma elucidativa quando de forma preditiva.

4.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

As próximas sessões combinam resultados experimentais com os resultados obtidos via simulação computacional.

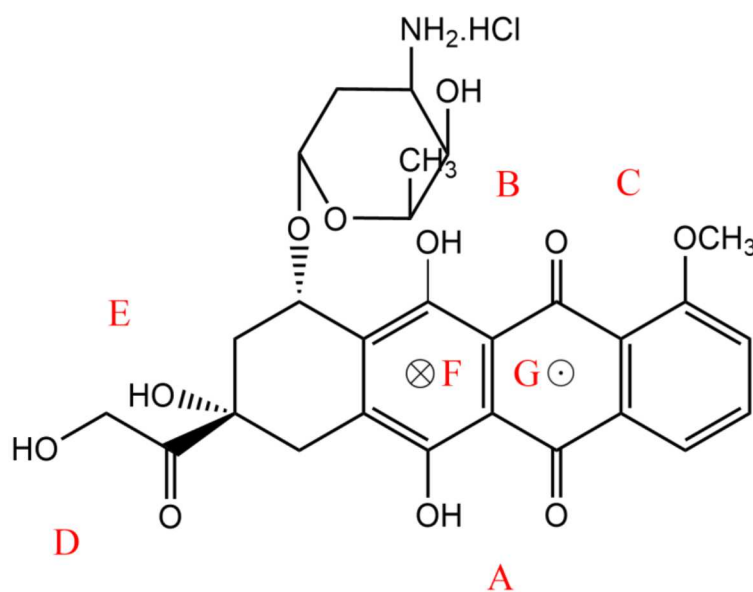
4.4.1 Sítios de adsorção – *clusters* de Au₂

A DOX possui em sua estrutura vários grupos capazes de interagir de várias maneiras com os mais variados tipos de substâncias. Essa molécula é formada por um grupo antraquinônico substituído, por uma cadeia lateral e por um grupo hexose modificado, aqui também referido como grupo ou porção glicônica. Nessas estruturas, é possível observar a presença desses grupos, que conferem a essa molécula seu caráter anfifílico, anfotérico e zwitteriônico. O grupo antraquinônico pode ser entendido como um conjunto de três anéis conjugados, modificados, conforme a nomenclatura apresentada na figura 2. Nesses anéis, observa-se a presença de um grupo metóxi (-OCH₃) no anel I, das ligações quinônicas (duas ligações -C=O simétricas no anel, uma em orientação *para* à outra) no anel II e de hidroxilas (duas ligações -OH simétricas no anel, uma em orientação *para* à outra). Nessa nomenclatura, o último anel, IV, que não apresenta conjugação com os três anéis anteriores e que, portanto, possui certa labilidade, forma uma ligação glicosídica com a hexose modificada em posição β à uma das ligações quinônicas e uma ligação simples com a cadeia lateral em posição δ à essa mesma ligação quinônica, que por sua vez também apresenta um grupo hidroxila (-OH). A hexose modificada apresenta um grupo amino primário protonado (-NH₃⁺Cl⁻) pelo ácido clorídrico utilizado para descrever o cloridrato de DOX, e uma hidroxila no carbono α àquele que forma essa ligação com o grupo amino. A cadeia lateral apresenta ainda um grupo cetona e uma outra hidroxila nas posições α e β relativas ao anel IV, respectivamente. Assim, é razoável que a presença desses grupos, em especial dos grupos -OH e -C=O possa contribuir com a doação de densidade eletrônica, possibilitando a formação de complexos e de ligações de hidrogênio com a água das dispersões, da solução desse fármaco e com quaisquer moléculas utilizadas como modificadores. Da mesma maneira, é possível inferir que a presença do grupo cloridrato possa formar interações de natureza eletrostática com a superfície carregada negativamente das nanoestruturas metálicas pela adsorção de citrato trissódico ou borato resultante das reações de oxirredução que se processam na síntese; uma vez que esses grupos apresentam a capacidade de formar interações mais fortes, é possível ainda que a DOX interaja com as nanoestruturas ou com materiais orgânicos através de interações mais fracas formadas pela nuvem π da antraquinona, pelos carbonos da cadeia lateral ou ainda pelo grupo metóxi do anel I.

Assim, um estudo teórico utilizando a DFT foi realizado para avaliar a adsorção do ouro metálico na forma de um dímero Au₂, em fase gasosa, através da interação desse dímero

com os principais grupos doadores de densidade eletrônica presentes na DOX. Nesse estudo, o dímero Au_2 foi adicionado à DOX nas posições exibidas na figura 30, e as geometrias desses conjuntos foram otimizadas e as energias obtidas. Para isso, utilizou-se o funcional híbrido B3LYP e as funções de base de Pople 6-31+G(d,p), enquanto o dímero Au_2 foi modelado utilizando o conjunto de bases de Los Alamos com pseudopotencial de núcleo efetivo para os elétrons do núcleo e as bases explícitas para os elétrons de valência, LanL2DZ. Optou-se pelo dímero em detrimento de cluster maiores para preservar a natureza metálica do átomo de Au e restringir as funções de onda moleculares a funções de estado do tipo singlete, uma vez que a simulação de estados tripleto levaria a um aumento considerável de tempo de cálculo.

Figura 30 – Posições em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada. Os símbolos $\otimes$ e $\odot$ indicam posições em planos colineares ao plano da antraquinona localizados abaixo e acima, respectivamente



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

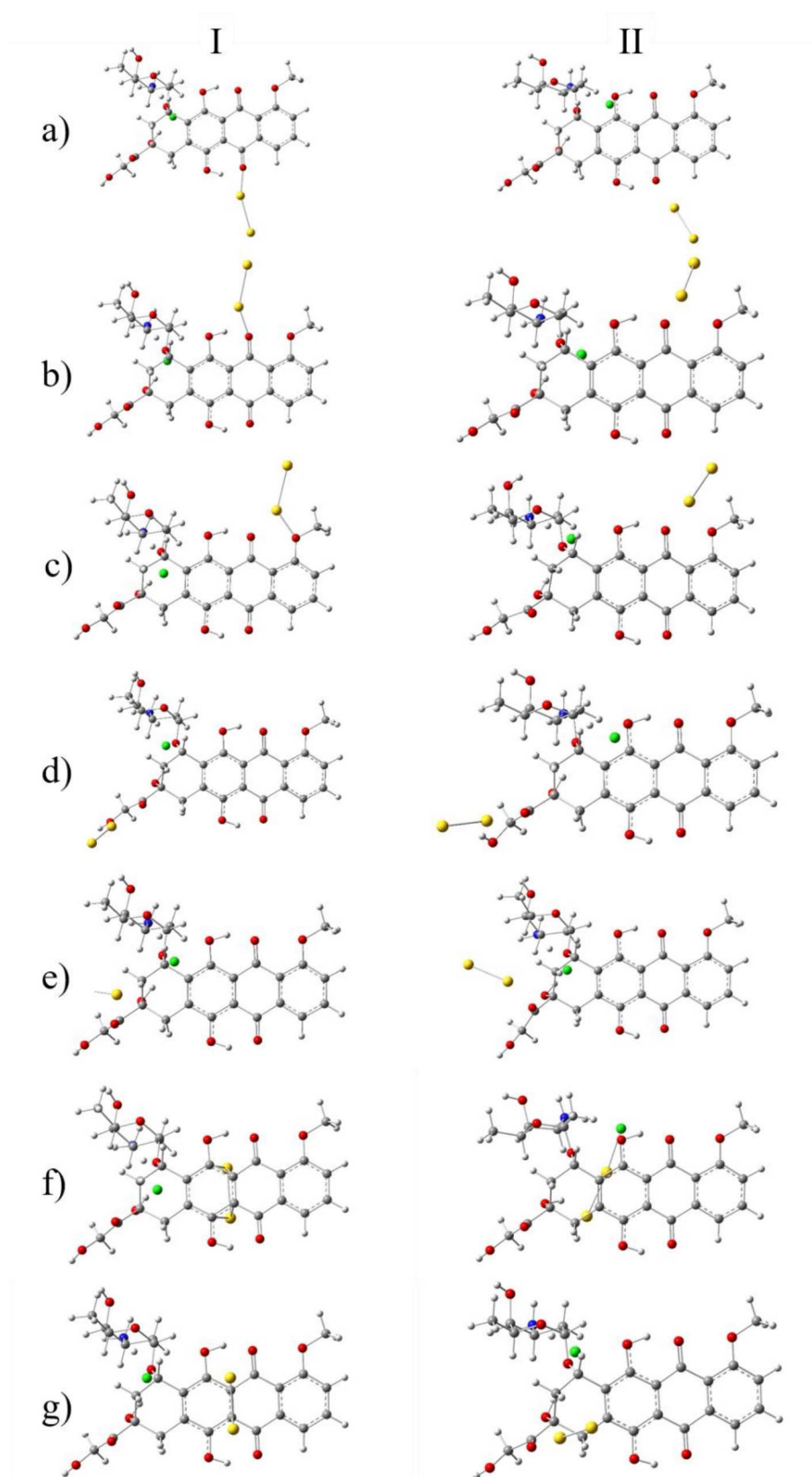
A figura 31 apresenta as geometrias iniciais (I) e as respectivas geometrias otimizadas (II) para as posições de (a) a (g) em que a adsorção do dímero Au_2 foi testada. As posições de (a) a (g) foram selecionadas a partir da análise dos principais grupos doadores de densidade eletrônica presentes na DOX. Nas posições (a) e (b) o dímero de Au_2 foi adicionado na proximidade de um grupo -C=O quinolídico e de um grupo -OH localizados nos anéis II e III, respectivamente, porém em posições opostas localizadas no plano do anel antraquinônico. A posição (c) apresenta o dímero de Au_2 na proximidade de um grupo -C=O quinolídico e do grupo

metóxi, $-\text{OCH}_3$, localizados nos anéis I e II, respectivamente. As posições (d) e (e) foram testadas em posições que não envolvem o anel antraquinônico. A posição (d) apresenta o dímero de Au_2 localizado na proximidade de um grupo cetona e de um grupo hidroxila localizados nas posições α e β , respectivamente, em relação ao anel IV; e a posição (e) apresenta o dímero de Au_2 localizado na proximidade de dois grupos $-\text{OH}$, localizados diretamente no anel IV e na posição β ao anel IV, respectivamente.

A estrutura (a) converge, em (II), para uma posição entre os anéis I e II da antraquinona, com o dímero ocupando uma região que apresenta menor densidade eletrônica. As estruturas (b) e (c), localizadas entre os anéis II e III, e I e II, respectivamente, convergem para uma estrutura final, em (II), semelhante à estrutura do palpite inicial da estrutura (c), ou seja, com o dímero localizado na proximidade dos grupos doadores de densidade eletrônica localizados nos anéis I e II, respectivamente. Esse fato pode estar relacionado ao tipo de interação formada entre a DOX e o dímero. A possibilidade da formação de uma estrutura quasi-ressonante com os anéis formados por meio de um mecanismo semelhante ao de tautomerismo ceto-enólico entre os pares de grupos $\text{C}=\text{O}$ e $-\text{OH}$ de um mesmo lado do anel antraquinônico implica em uma estabilidade maior dessas ligações e, portanto, explica o deslocamento do dímero metálico para uma região menos rica em elétrons. Além disso, os orbitais moleculares do anel ocupam uma grande parcela espacial no exterior do esqueleto do anel (figura 8), o que sugere uma espécie de repulsão para regiões menos populadas no entorno. É importante notar ainda que a posição (b) convergiu para um ponto-de-sela de energia potencial, ou seja, para um estado de transição, o que foi confirmado pela obtenção das frequências vibracionais que apresentaram o primeiro valor negativo, indicando uma frequência vibracional imaginária para o primeiro modo descrito.

Esse efeito não ocorre com as estruturas (d) e (e), em que os dímeros interagem com os grupos doadores localizados na cadeia lateral. Ambas as posições de adsorção convergiram para posições similares às dos palpites iniciais. Na posição (d), o dímero é orientado externamente ao plano do anel antraquinônico ao interagir com os grupos cetona e hidroxila, enquanto na posição (e) o dímero aparece localizado entre a cadeia lateral e o anel glicônico, fruto da interação com as duas hidroxilas.

Figura 31 – Posições de (a) a (g) em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada (I) e a respectiva geometria de equilíbrio resultante (II)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

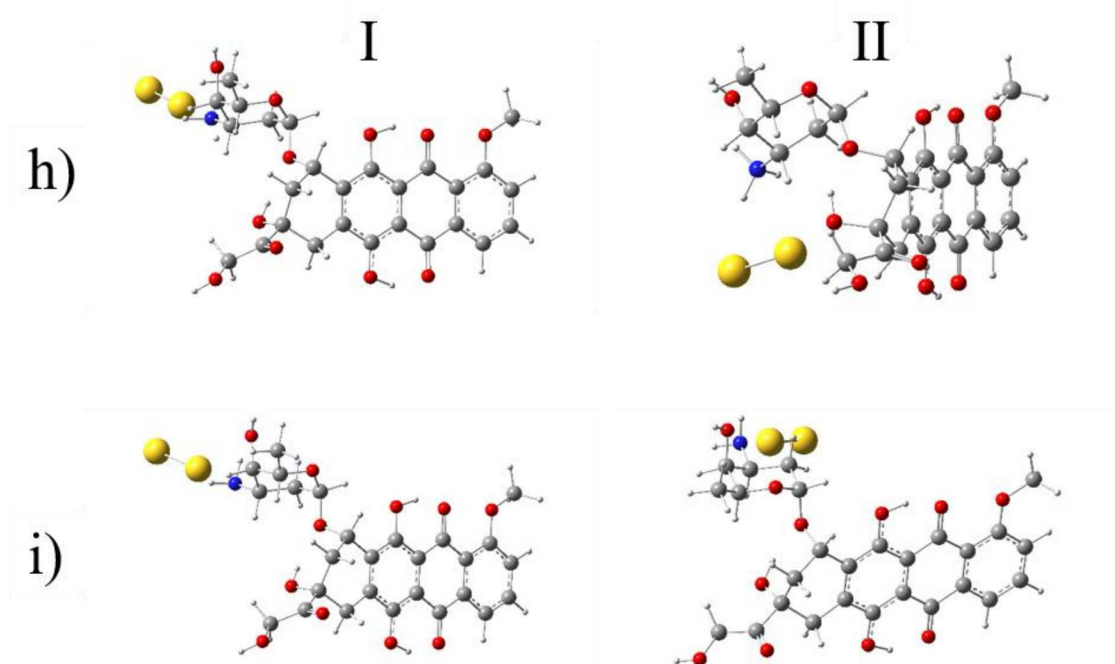
As posições de adsorção (f) e (g) foram testadas sobre planos orientados paralelamente ao plano da antraquinona. Na posição (f), o dímero foi inicialmente colocado sob a ligação C=C entre os anéis II e III, uma vez que essa porção da molécula apresenta uma simetria de plano horizontal ao plano próprio molecular. Na posição (g), o dímero foi inicialmente colocado sobre essa mesma ligação. A estrutura obtida a partir da posição (f) inicial apresenta o dímero de Au₂ deslocado do eixo entre os anéis II e III para uma posição diagonal ao eixo localizado entre os anéis III e IV. Nessa estrutura, é possível observar a ocorrência de um deslocamento do anel glicônico, que adquire uma visível conformação de cadeira. Nessa estrutura, o ânion cloreto se desloca para uma posição superior ao esqueleto antraquinônico, carregando eletrostaticamente a estrutura do anel glicônico para essa nova posição. É possível que essa estrutura topológica minimize as interações eletrostáticas por meio da formação de outras interações múltiplas, como é possível observar através da proximidade entre o dímero de Au₂ e os grupos doadores -OH ligados ao anel IV. Já a estrutura obtida através da posição (g) apresenta um dímero Au₂ deslocado para a proximidade dos grupos doadores semelhantes ao da posição (e), porém orientados para o interior da molécula.

O grupo amina, presente na forma de cloridrato na porção glicônica da DOX, apresenta elevada afinidade com nanoestruturas de ouro. Assim, para avaliar a possibilidade da formação de complexos através do grupo amina, duas estruturas de adsorção foram propostas através desse grupo, conforme apresentado na figura 32. Na primeira estrutura (figura 32 (h)), realizou-se a supressão do ânion cloreto da espécie cloridrato, mas mantendo a presença do próton originado pelo HCl. Utilizou-se este arranjo para preservar a carga positiva localizada no anel glicônico. Na segunda estrutura (figura 32 (i)), removeu-se completamente o ácido clorídrico, preservando-se a estrutura e a carga neutra da DOX. Para isso, as estruturas das respectivas espécies derivadas da DOX, a forma catiônica sem a presença do cloridrato, DOXH⁺, e a forma neutra sem a presença do HCl, DOX, foram geometricamente otimizadas e as frequências vibracionais foram obtidas para confirmar que essa estrutura correspondia a um estado de mínimo de energia. Em seguida, as energias respectivas foram tomadas como referência para realizar a comparação com a espécie adsorvida no dímero de Au₂.

A estrutura obtida a partir da posição (h) inicial apresenta o dímero de Au₂ deslocado em direção à cadeia lateral. Esse deslocamento é razoável, na medida que a estrutura da DOX na posição (h) permanece carregada com a presença do íon -NH₃⁺ no grupo glicônico. Assim, o dímero se desloca no sentido de outros grupos doadores de densidade eletrônica da molécula, como os grupos -OH localizados na cadeia lateral, no sentido de minimizar a interação

eletrostática e a energia livre do sistema. Sem a presença do ânion cloreto, toda a molécula adquire uma carga residual positiva. A estrutura obtida através da interação pela posição (i) apresenta um comportamento diverso; o dímero de Au_2 apresenta uma interação direta com o grupo amino, $-\text{NH}_2$, e se orienta para o exterior do anel glicônico. Assim, a interação passa a ter uma característica menos eletrostática, com perda do caráter iônico, e com o aumento do caráter de complexação, com a ligação ocorrendo através dos orbitais p_z do grupo amino. Esses comportamentos estão exibidos na figura 32.

Figura 32 - Posições (h) e (i) em que a adsorção de um cluster de Au_2 foi testada (I) e a respectiva geometria de equilíbrio resultante (II). h) Adsorção testada para o íon DOXH^+ (carga positiva obtida através da supressão do ânion Cl^- da espécie cloridrato), e i) para DOX neutra, removendo-se o ácido clorídrico do anel da hexose



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A tabela 4 apresenta os valores das variações das energias de interação obtidas para as posições de (a) a (i). Dentre as posições (a) a (g), nas quais a estrutura da DOX foi mantida em sua forma cloridrato, ou seja, $\text{DOX} \cdot \text{HCl}$, a adsorção do dímero de Au_2 não é favorável energeticamente. As posições (a), (b), (c), (d), (e) e (g) apresentam variações positivas para $\Delta\Delta E_0$, $\Delta\Delta E$, $\Delta\Delta H$ e $\Delta\Delta G$. A posição (f), porém, apresenta valores negativos para $\Delta\Delta E_0$, $\Delta\Delta E$ e $\Delta\Delta H$, mas valor positivo para $\Delta\Delta G$, indicando um certo favorecimento termodinâmico desta

forma, embora esse resultado venha a corroborar a hipótese de que a interação eletrostática externa e a repulsão eletrostática interna parecem ter um caráter determinante na formação da ligação entre a DOX e o ouro. Enquanto o dímero de Au₂ é orientado, nas outras estruturas, em direções determinadas pelos grupos doadores de elétrons, na posição (f) o dímero pode interagir também com a nuvem de elétrons π do anel antraquinona, além da proximidade com os grupos carregados eletrostaticamente, ou seja, os grupos -NH₃⁺ e Cl⁻.

Tabela 4 – Posições de interação DOX-Au₂ e energias de adsorção envolvidas (kcal mol⁻¹)

Posição	$\Delta\Delta E_0$	$\Delta\Delta E$	$\Delta\Delta H$	$\Delta\Delta G$
Au2a	10,18	11,26	10,67	20,12
Au2b ^a	8,53	9,33	8,74	18,69
Au2c	7,84	8,79	8,20	17,38
Au2d	4,32	5,29	4,70	13,66
Au2e	7,74	8,60	8,00	18,81
Au2f	-5,36	-4,36	-4,96	5,40
Au2g	7,68	8,72	8,13	17,34
Au2h ^b	-20,77	-20,21	-20,81	-8,90
Au2i ^c	-25,72	-24,90	-25,49	-15,91

^a: Ponto-de-sela;

^b: DOXH⁺ obtida através da supressão do ânion Cl⁻ do anel da hexose;

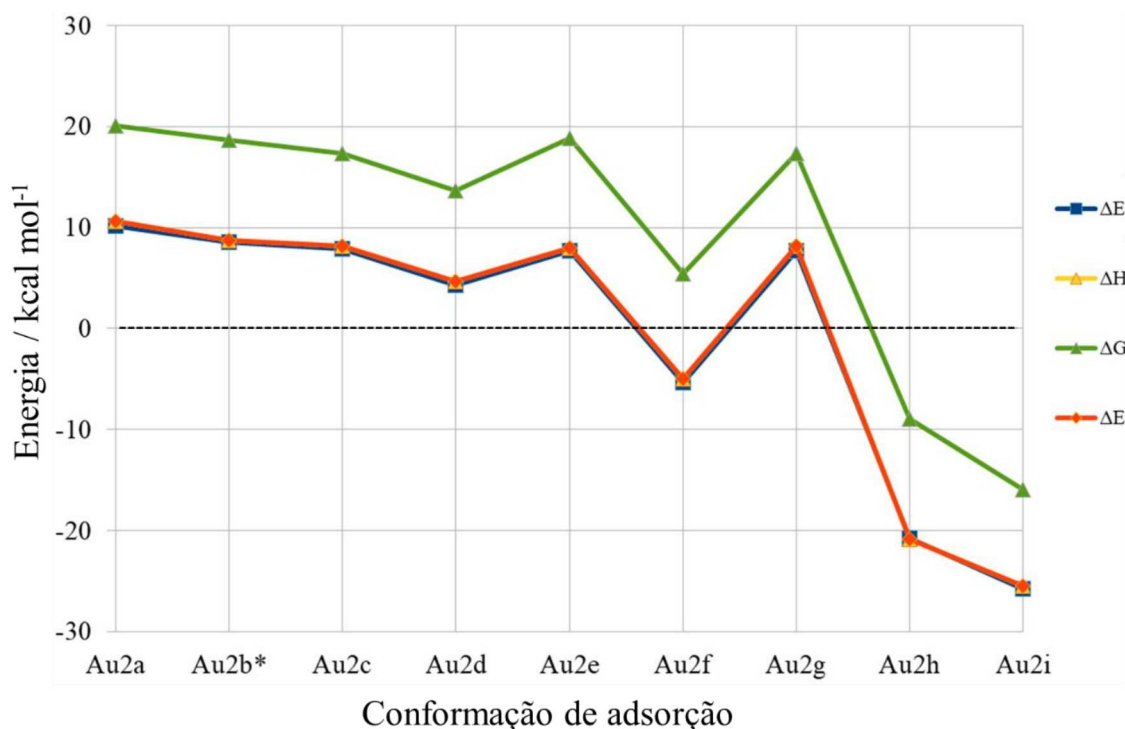
^c: DOX neutra.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 33 apresenta o gráfico das variações de energia de adsorção do dímero Au₂ em todas as posições testadas. É possível observar que a adsorção pelas espécies obtidas pelas posições (h) e (i) é favorável termicamente, pois apresentam valores negativos para todas as energias, inclusive para as variações de entalpias e energias livres de Gibbs de reação. A adsorção do dímero Au₂ nessas espécies é facilitada pelo fato de não haver barreira de potencial que precisa ser vencida para que a reação transcorra. Mesmo no caso da espécie protonada, a DOXH⁺, o balanço de cargas que ocorre em função dos muitos grupos doadores de elétrons e a reorganização das posições moleculares permite ao agregado se aproximar de uma conformação que minimiza as interações eletrostáticas possíveis. A labilidade das ligações químicas da porção hexose da molécula e do grupo lateral permite que a molécula envolva o dímero, centralizando a carga positiva residual desse grupo metálico e do próton no anel glicônico na posição (h), e a elevada afinidade do grupo amino pelo ouro implica na interação direta entre

este grupo e o dímero. Em termos de orbitais moleculares do tipo LCAO, o grupo amino apresenta 2 elétrons livres em um orbital p_z isolado em um dos vértices de um tetraedro.

Figura 33 – Superfície de energia potencial do *cluster* DOX-Au₂ por posição de conformação testada. ($\Delta\Delta E_0$: soma das energias eletrônica e de ponto zero; $\Delta\Delta E$: energia eletrônica termicamente corrigida; $\Delta\Delta H$: soma das entalpias eletrônica e de ponto zero; $\Delta\Delta G$: soma das energias livres térmica e eletrônica.)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A análise dos sítios de adsorção da DOX em modelos pequenos de dímeros Au₂ permite algumas conclusões sobre as características desse tipo de transformação. Em um primeiro momento, para a espécie iônica neutra da DOX, o DOX·HCl, a transformação não parece ser favorável, embora possa ocorrer com base em interações mais fracas, como a que ocorre na posição (f) acima. Essa transformação, porém, baseia-se em interações mais fracas do que a formação de complexos observada nas posições (h) e (i). O fato de estas últimas terem se mostrado reações totalmente favoráveis do ponto de vista termodinâmico indicam que a elevada afinidade do grupo amino pelo ouro é capaz de sobrepor até mesmo a protonação desse grupo, ao suprimir-se o cloridrato.

No entanto, é possível que essas observações sejam também fruto de uma descrição teórica incompleta do sistema. Sabe-se que as simulações de moléculas no vácuo tendem a

enovelar as moléculas tanto quanto possível, em uma espécie de contração que visa justamente minimizar a influência dos termos de atração e repulsão coulômbicos. Sem entrar na seara dos métodos de simulação totalmente correlacionados, uma possibilidade de avaliar a natureza dessas interações de modo mais profundo envolve utilizar modelos de solvatação contínua, como o modelo de densidade de solvente (*solvent model density* – SMD) ou o modelo contínuo polarizável com formalismo de equações integrais (*integral equation formalism polarizable continuum model* – IEFPCM), que permitem um maior relaxamento das ligações químicas e possibilitam a formação de estruturas moleculares mais livres. Outra possibilidade envolve analisar a função de onda. A obtenção de orbitais naturais ligantes (*natural bond orbitals* – NBO) permite avaliar a ordem de ligação entre os átomos das moléculas e dos *clusters* metálicos, bem como prever a intensidade da interação entre eles. A análise dos orbitais atômicos difusos (*fuzzy atomic orbitals*) permite ainda a obtenção da medida da intensidade das interações de longa distância, uma medida que o DFT tende a subestimar sem as correções necessárias.

A obtenção das energias para as espécies derivadas da DOX, a forma catiônica sem a presença do cloridrato, DOXH^+ , e a forma neutra sem a presença do HCl, DOX, sugerem ainda a possibilidade da ocorrência de reações laterais de complexação entre essas espécies e o ouro metálico. A estrutura microscópica das nanoestruturas metálicas é irregular e dinâmica, tendendo a condensar a parte que apresenta a maior cristalinidade no centro das nanoestruturas e a parte amorfa na superfície; assim, é razoável supor que átomos na superfície de uma nanoestrutura possam apresentar o que é chamado de *efeito de borda*, ou seja, que átomos na superfície sofram certos tipos de deformação em sua estrutura eletrônica, que depende da interação com a parte amorfa da nanoestrutura e com o exterior, mediado pela presença eventual de adsorbatos e pelos solventes contidos na dupla camada elétrica do exterior das partículas. Nesse aspecto, o cálculo a partir de *clusters* metálicos, com maior número de átomos de ouro, pode se aproximar de um modelo teórico mais robusto.

4.4.2 Concorrência de reações de complexação – átomo de Au

A DOX (DOX) é um conhecido quelante de ferro, sendo capaz de se ligar tanto ao Fe^{+2} quanto ao Fe^{+3} (Sritharan; Sivalingam, 2021). Em um dos mecanismos que podem levar a danos no DNA e à apoptose celular, a DOX participa de um conjunto de reações catalisadas por enzimas, que geram espécies oxigenadas com alta reatividade. Nessas reações, a DOX, após

entrar no citoplasma, libera Fe^{2+} , um produto de reações redox que ocorrem com os cátions férricos provenientes de proteínas além da ferritina, como a fração [4Fe-4S] da proteína citoplasmática aconitase. Essas reações ocorrem em uma via de mão dupla; são capazes de gerar a apoptose celular das células tumorais a partir dos danos causados ao DNA, aos lipídios e às proteínas (Minotti, Giorgio *et al.*, 1998; Zweier *et al.*, 1986). No entanto, quando essas reações ocorrem em células saudáveis, elas resultam em alta toxicidade. Nos cardiomiócitos, essas reações podem resultar em aguda toxicidade, capaz de provocar cardiomiopatias graves.

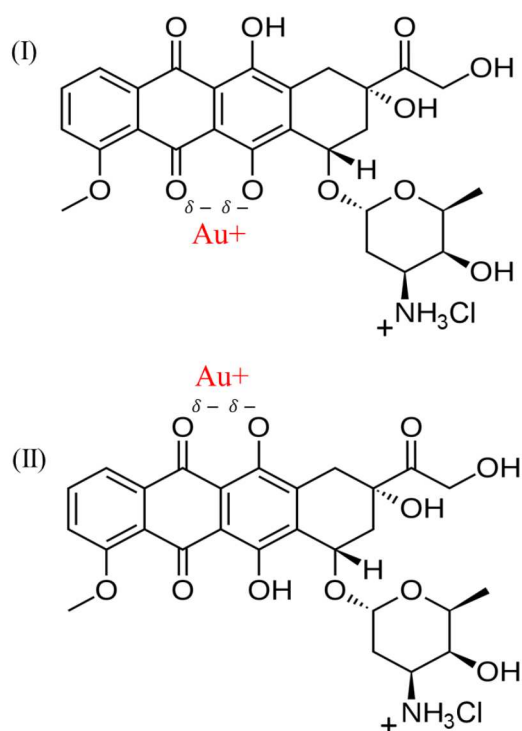
A capacidade de formar complexos estáveis com o ferro, no entanto, fornece uma possibilidade de lançar mãos de uma abordagem alternativa para sistemas de entrega controlada de fármacos. A utilização de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro funcionalizadas com o complexo DOX- Fe^{+2} como um mecanismo de entrega controlada e direcionada pela aplicação de um campo magnético externo mostrou-se uma estratégia versátil e promissora para evitar os efeitos cardiotóxicos dessa droga. Além disso, a formação desse complexo é sensível ao pH; as nanoestruturas foram capazes de realizar a entrega da DOX livre, sem a presença de ferro, em pH 4,0 (Gautier *et al.*, 2013; Munnier *et al.*, 2008).

Assim, com o intuito de testar um modelo teórico que se aproxima de um *ad-atomo* metálico na superfície da nanoestrutura, com densidade de carga tendendo a ser positiva por possuir um número mínimo de átomos vizinhos, foi realizado uma simulação envolvendo a interação da DOX com um íon Au^{+1} em fase gasosa. Nesse estudo, a espécie reativa de DOX, DOX^{-1} , foi modelada a partir da remoção de um próton da estrutura antraquinônica em duas diferentes posições, I e II, exibidas na figura 34. Para isso, foi utilizado o funcional híbrido B3LYP e as funções de base de Pople 6-31+G(d,p), enquanto o cátion Au^{+1} foi modelado utilizando o conjunto de bases de Los Alamos com pseudopotencial de caroço efetivo para os elétrons do núcleo e as bases explícitas para os elétrons de valência, LanL2DZ. Embora os cátions de Au^{+1} sejam conhecidos e não tão estáveis quando os cátions Au^{+3} , optou-se pelo uso dessas espécies catiônicas para manter a neutralidade de carga do complexo formado, uma vez que a DFT não comporta muito bem a descrição de espécies muito carregadas. A formação dos complexos foi analisada em termos das variações das energias de reação obtidas em relação às energias observadas para os íons DOX^{-1} e Au^{+1} livres. Para isto, foi utilizada a energia eletrônica obtida diretamente através da simulação dessa espécie carregada e ela foi utilizada diretamente sem o emprego de fatores de correção. Essa metodologia foi aplicada para a obtenção das energias e das geometrias otimizadas, das superfícies de potencial eletrostático (*potential electrostatic surface* - PES), espectros Raman simulados, espectros de absorção UV-VIS-NIR

simulados para 20 estados eletrônicos do tipo singlete e orbitais naturais de transição (*natural transition orbitals* - NTO).

A DOX é considerada uma base anfifílica leve (pK_a 8,3). Assim, é esperado que, quando em solução ácida, os grupos que apresentam caráter ácido na porção glicônica ($pK_a < 7$), na antraquinona ($pK_a \sim 8,5$) e na cadeia lateral ($pK_a > 10$) encontrem-se todos protonados. No entanto, buscou-se averiguar se a afinidade da base de Lewis formada, DOX^{-1} , com o cátion Au^{+1} pode levar à formação do complexo em uma estrutura condizente com aquelas esperadas em uma solução com pH 7 ou menor. Assim, optou-se pela remoção do próton no anel antraquinônico, uma vez que o complexo formado com o Fe^{+2} parece ser capaz de quebrar mesmo a estabilidade extra que a formação de uma estrutura quasi-ressonante envolvendo os três anéis benzênicos da antraquinona é capaz de formar em pH neutro. As posições em que o próton foi suprimido estão apresentadas na figura 34.

Figura 34 – Posições (I) e (II) de quelação de um cátion Au^{+1} testadas na DOX pela supressão de um próton do anel antraquinônico

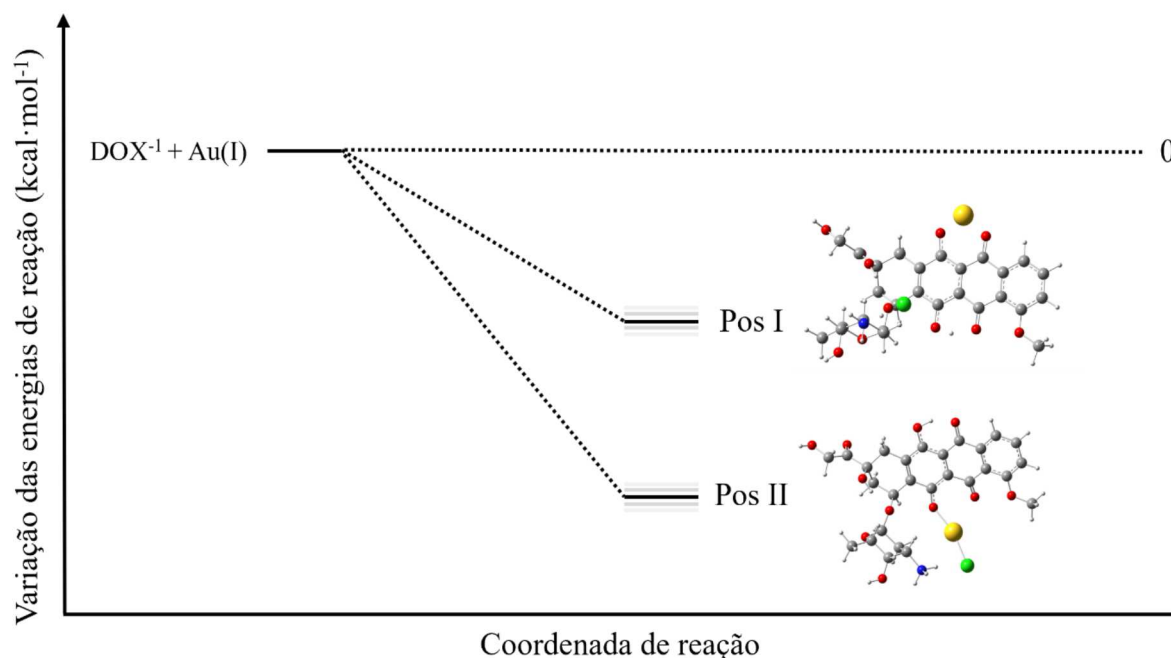


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 35 apresenta as geometrias otimizadas após a adição do cátion Au^{+1} , e as variações das energias obtidas após a adsorção do cátion Au^{+1} nas duas posições. A soma das

energias das espécies neutras foi tomada como referência para o cálculo das variações. As diferenças das energias para as duas posições da espécie DOX^{-1} são de -0,727, -0,821, -0,821 e -0,533 kcal mol^{-1} para $\Delta\Delta E_0$, $\Delta\Delta E$, $\Delta\Delta H$ e $\Delta\Delta G$, respectivamente. A precisão desses cálculos, no entanto, é de 1 kcal mol^{-1} ; assim, considerou-se apenas a energia da posição I para o cálculo das variações. A adição do cátion Au^{+1} apresenta-se, do ponto de vista energético, extremamente favorável termicamente, com variação das energias livres de Gibbs de reação entre -144,489 e -172,415 kcal mol^{-1} para as posições I e II, respectivamente. Presumivelmente, a adição do cátion Au^{+1} é capaz de neutralizar a densidade eletrônica extra, resultante da remoção do próton na antraquinona. Além disso, a estrutura resultante da adição do cátion Au^{+1} na posição II se encontra parcialmente envolta em torno das espécies carregadas, o que favorece a minimização das interações eletrostáticas dos grupos carregados nas simulações realizadas no vácuo.

Figura 35 – Variações das energias de reação observadas, em termos da soma das energias eletrônicas dos íons DOX^{-1} e Au^{+1} livres, para as reações de formação do complexo entre a DOX^{-1} e um cátion Au^{+1} nas duas posições, I e II



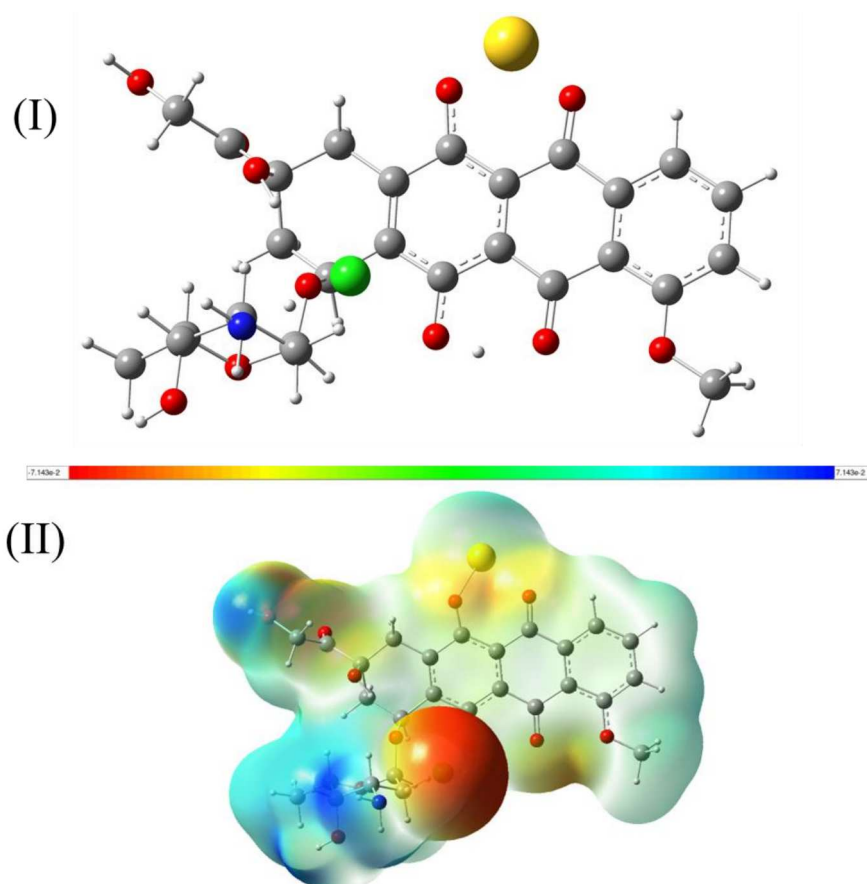
Posição	$\Delta\Delta E_0$	$\Delta\Delta E$	$\Delta\Delta H$	$\Delta\Delta G$
Pos I	-141.910	-140.569	-140.569	-144.489
Pos II	-172.106	-171.009	-171.008	-172.415

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O principal grupo cromóforo eletrônico da DOX está localizado principalmente sobre a porção antraquinona da molécula (Figura 8), com máximo de absorção eletrônica em 481 nm, resultando em uma solução aquosa de cor vermelho alaranjada. No entanto, experimentalmente, em soluções tipicamente básicas, com valores de pH acima do pKa aparente, a remoção de um ou dois prótons ligados ao grupo antraquinônico resulta em um deslocamento da banda de absorção para regiões de maior comprimento de onda, com a redução da intensidade do pico de absorção em 481 nm e a emergência de uma banda menor em torno de 600 nm (Munnier *et al.*, 2008). Além disso, a DOX apresenta caráter anfotérico; os pKa dos grupos ácidos da antraquinona são muito próximos, de modo que essa molécula pode existir em uma combinação de estados eletrônicos determinados pela adição ou remoção de um ou dois prótons específicos (Paul *et al.*, 1975).

A figura 36 apresenta a geometria de adsorção e a superfície de potencial eletrostático obtidos para o complexo formado entre a DOX e o cátion Au^{+1} pela posição I. Essa geometria apresenta o cátion Au^{+1} ocupando a posição I diretamente na posição em que o próton foi removido, levando a uma leve distorção do ângulo da ligação $\text{C}=\text{O}$ quinônica no plano da antraquinona. A análise da superfície de potencial eletrostático indica concentração de potenciais altamente negativos no cloridrato, referentes à presença do ânion Cl^{-1} , e apenas ligeiramente negativo sobre as ligações $\text{C}=\text{O}$ dos grupos simétricos aos grupos interagentes no anel antraquinônico e nos oxigênios da cadeia lateral, tanto $-\text{OH}$ quanto $\text{C}=\text{O}$. No entanto, a sobreposição de potenciais sobre o átomo de ouro parece ser um indicativo de que a neutralidade de carga nessa região foi atingida, o que não acontece nas outras regiões mencionadas, uma vez que essas regiões encontram-se afastadas, com cargas mais localizadas e apresentam interação inexistente ou quase nula com o átomo de ouro. Essas relações suscitam a ocorrência de uma redução da capacidade de interação do complexo DOX-Au^{+1} com grupos fortemente carregados negativamente, mantendo, contudo, a possibilidade de interação através de interações mais fracas e menos polares.

Figura 36 – Geometria de adsorção (I) e superfície de potencial eletrostático (II) da posição I de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX

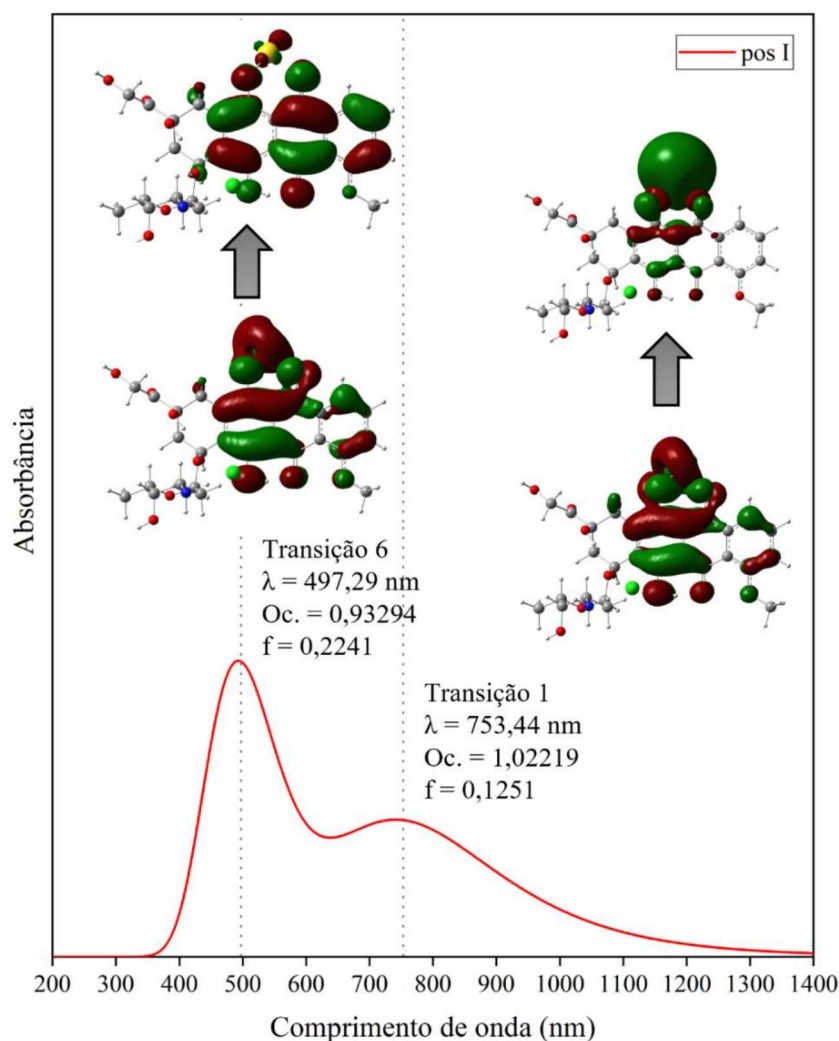


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 37 apresenta os orbitais naturais de transição (NTO) referentes aos orbitais HOMO e LUMO de transição para o complexo formado entre a DOX e o cátion Au^{+1} adsorvido pela posição I. É possível identificar que tanto o orbital de transição HOMO quanto o LUMO são formados principalmente pela combinação de orbitais moleculares localizados principalmente sobre a porção antraquinônica da molécula, em especial dos anéis II e III (Figura 2), com pouca ou nenhuma contribuição de orbitais localizados na cadeia lateral e na porção glicônica. Um ponto de grande importância é a concentração, no caso desses dois orbitais, de densidade eletrônica no entorno ou mesmo sobre o átomo de ouro. Esse resultado implica que os orbitais gerados pela contração das funções de onda utilizadas para descrever o ouro com a complexação passaram a fazer parte do principal grupo cromóforo da molécula. O espectro simulado de absorção eletrônica apresentado também na figura 37, diferentemente daquele apresentado na figura 9, é descrito em termos de duas transições principais, que apresentam as

maiores forças de osciladores observadas. Nesse espectro, a transição eletrônica com maior probabilidade corresponde ao valor experimental observado, em torno de 480 nm. No espectro da posição I, entretanto, observa-se uma transição mais intensa, com máximo de absorção localizado em aproximadamente 497 nm, e uma segunda transição, deslocada para a região do infravermelho, com máximo de absorção localizado em cerca de 753 nm. Embora ambas essas transições sejam descritas também por orbitais moleculares canônicos localizados no principal grupo cromofórico da molécula, a antraquinona, ambas apresentam forte localização também sobre o átomo de ouro.

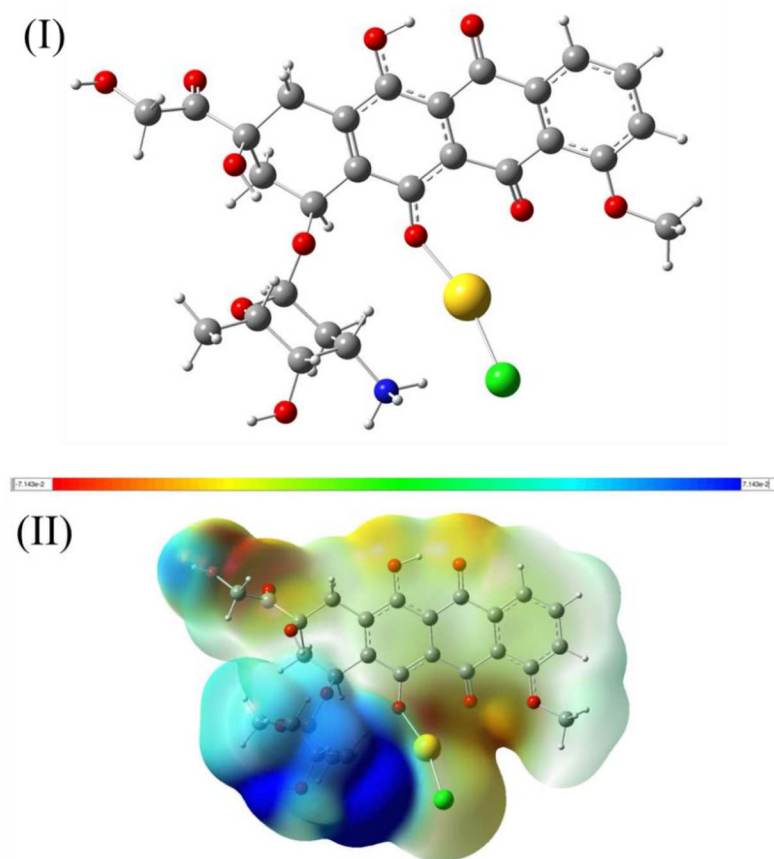
Figura 37 – Orbitais naturais de transição HOMO (I) e LUMO (II) da posição I de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

De modo semelhante, a figura 38 apresenta a geometria de adsorção e a superfície de potencial eletrostático obtidos para o complexo formado entre a DOX e o cátion Au^{+1} pela posição II. Diferentemente do que foi observado para a posição I, essa geometria apresenta o cátion Au^{+1} ocupando a posição II de forma deslocada com relação à posição inicial ocupada pelo próton removido. A interação com o grupo quinona ocorre com uma distorção do ângulo da ligação $\text{C}=\text{O}$ muito maior, com o Au^{+1} localizado entre a porção glicônica, o ânion Cl^{-1} e o eixo dado pelo plano da antraquinona. Essa configuração de interação resulta em um arranjo molecular muito mais contraído do que a interação que aparece na posição I, com o Au^{+1} localizado entre dois grupos volumosos da DOX. A análise da superfície de potencial eletrostático suscita, diferentemente do que foi observado na posição I, concentração de potenciais altamente positivos na região do cloridrato e de toda a porção glicônica da molécula, um indicativo de que o ânion Cl^{-1} , que na primeira posição neutraliza a carga do cátion amônio, não possui densidade de carga suficiente para neutralizar esse grupo com a presença do cátion Au^{+1} . O ânion Cl^{-1} parece interagir majoritariamente com o Au^{+1} . Essa parte da molécula então adquire um caráter positivo muito maior, enquanto o potencial negativo resultante das várias ligações π dos anéis e de elétrons de grupos n dos heteroátomos encontram-se distribuídos de forma aproximadamente homogênea sobre a porção antraquinônica e sobre a cadeia lateral da molécula. Nessa posição de adsorção molecular, o centro de densidade eletrônica encontra-se deslocado para a cadeia lateral.

Figura 38 – Geometria de adsorção (I) e superfície de potencial eletrostático (II) da posição II de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX



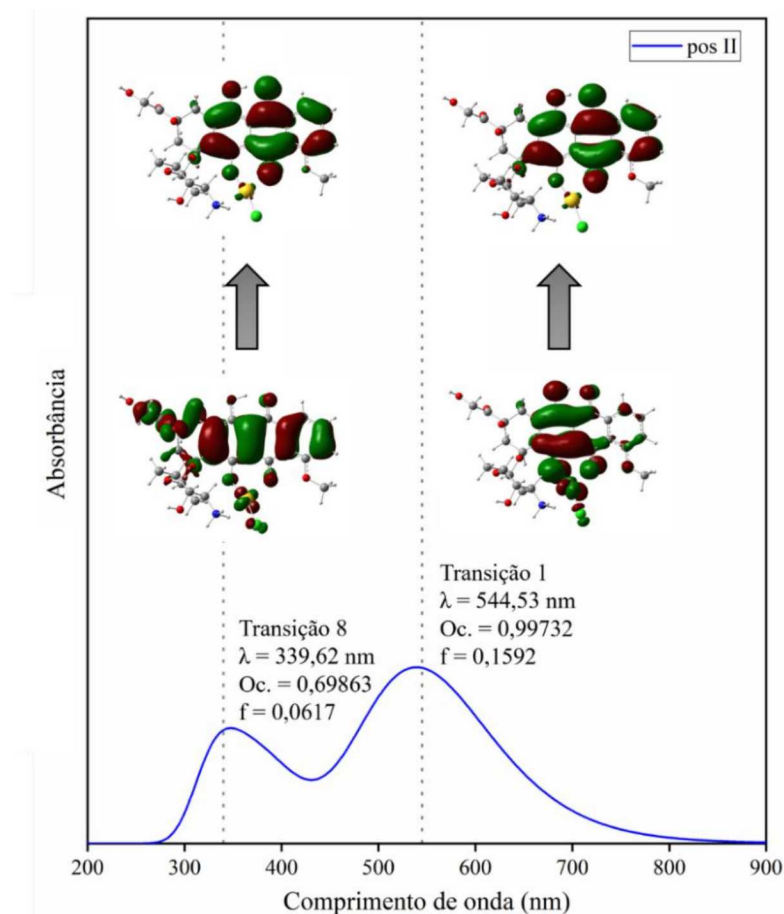
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A figura 39 apresenta os orbitais naturais de transição (NTO) referentes aos orbitais HOMO e LUMO de transição para o complexo formado entre a DOX e o cátion Au^{+1} adsorvido pela posição II. Como no caso da posição I, o espectro da posição II pode ser descrito principalmente pela presença de duas transições que possuem as maiores forças de osciladores; A transição 1, centrada em torno de 545 nm, e a transição 8, centrada em aproximadamente 340 nm. Assim como para a posição de adsorção I, tanto o orbital de transição HOMO quanto o LUMO são formados principalmente pela combinação de orbitais moleculares localizados principalmente sobre a porção antraquinônica da molécula, em especial dos anéis II e III (Figura 2). No entanto, diferentemente do que foi observado na posição I, as concentrações de densidade eletrônica no entorno do átomo de ouro são bem menores. Ao mesmo tempo, uma grande contribuição da densidade eletrônica pode ser observada nos anéis I e IV da antraquinona. A transição 8 possui componentes eletrônicos também, além dos anéis da

antraquinona, muito localizados sobre a cadeia lateral. Esse resultado indica que os orbitais resultantes da composição das funções de onda eletrônicas utilizadas para descrever o ouro compõem apenas parcialmente o grupo cromóforo da molécula, o que é um indicativo de que na posição II esses orbitais não se sobrepõem tão bem aos orbitais naturais originais quanto na posição I.

No entanto, é possível observar a influência de um segundo fenômeno, capaz de conferir estabilidade a esse tipo de composto; o excesso de carga negativa resultante da remoção do próton contribui para a formação da estrutura quasiaromática capaz de conferir estabilização extra à DOX. No entanto, a remoção do próton na posição II seguida da inserção do cátion Au^{+1} parece estabilizar melhor esse excesso, além de interagir com menor intensidade com o ânion cloreto. Assim, o excesso de carga livre pode ser estabilizado pela rede de ligações conjugadas do tipo π ao longo de toda a molécula, incluindo, neste caso, a cadeia lateral por meio principalmente dos heteroátomos que compõem grupos retiradores de elétrons.

Figura 39 – Orbitais naturais de transição HOMO (I) e LUMO (II) da posição II de adsorção de um cátion Au^{+1} em DOX



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Esse conjunto de resultados indica que a formação de complexos de DOX^{-1} com o Au^{+1} fornece indícios de um mecanismo factível para entender a adsorção molecular da DOX na superfície das nanoestruturas de ouro. As considerações sobre a energética desse tipo de reação, associadas às considerações sobre a parte eletrônica indicam que esse tipo de reação é muito favorável energeticamente. É razoável supor, no entanto, que a principal barreira para a consolidação desse tipo de reação envolve a perda do cátion para o meio reacional, uma vez que o coloide de Au de Creighton apresenta pH em torno de 4,0 e esses grupos apresentem, ambos, pKa na faixa entre ~8-9. No entanto, os coloides são dispersões que tendem a minimizar a energia livre do sistema, uma vez que as nanoestruturas metálicas de tamanho nanométrico contribuem com energia livre positiva, algo que é refletido na tendência à agregação que esses materiais possuem. Assim, uma hipótese válida é a de que o deslocamento do próton para o meio possa ser guiado por efeitos puramente termodinâmicos, com a possibilidade da

ocorrência de reações capazes de reduzir esse excesso de energia livre, mesmo que em menor grau comparado ao todo.

Entretanto, experimentalmente é um fato que a variação do pH e a consequente desprotonação dos grupos ácidos leva a um deslocamento da parte eletrônica para a região do vermelho, um fato confirmado também pelas simulações dos sistemas abordados neste capítulo. Contudo, as variações visuais associadas à cor não foram observadas de forma experimental ao se adsorver a DOX na superfície das nanoestruturas metálicas, embora tenha-se observado o deslocamento da banda de absorção molecular ao adicionar DOX aos sistemas de nanoestruturas na figura 10.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, as espectroscopias Raman, SERRS e SERS, com o auxílio das simulações computacionais por DFT, permitiram inferir os processos de adsorção de DOX sobre superfícies de AuNP com a mediação de modificadores de superfície β -ME e Cl^- .

Foi demonstrado, por espectroscopia UV-VIS-NIR, que suspensões aquosas com AuNP modificadas apresentaram cinética de adsorção ótima de DOX e dos modificadores de superfície β -ME e KCl nas concentrações de $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, contribuindo para a obtenção de espectros SERS com diferentes radiações excitantes em ressonância com transições eletrônicas de *clusters* metálicos. Os nanoagregados formados pela adição desses modificadores apresentaram perfis de absorção eletrônica de evolução temporal lenta e controlada, com ressonância de plásmon de superfície localizado do visível até o infravermelho próximo. Esse controle das propriedades plasmônicas dos substratos SERS permitiu o emprego desses nano agregados como substratos utilizados no registro de espectros SERS utilizando linhas de laser de excitação do vermelho até o infravermelho próximo.

O espectro Raman da DOX foi obtido utilizando as radiações excitantes de 1064, 785 e 632,8 nm. Foi possível obter-se o espectro da DOX no estado sólido, nas radiações 1064 e 785 nm. Apresentou-se uma tentativa de atribuição das bandas observadas, obtidas por meio de simulações computacionais utilizando o método B3LYP/6-31+G(d,p)//B3LYP/6-31+G(d,p). Essa atribuição mostrou-se complexa, e a atribuição das bandas se deu muitas vezes através da composição de vários modos vibracionais diferentes. No entanto, foi possível observar que o padrão espectral da DOX é dominado pelas vibrações da AP, tanto na região alta ($> 900 \text{ cm}^{-1}$), onde os principais modos estão relacionados aos estiramentos CC da porção antraquinona, quanto da região baixa, onde foi possível identificar a presença de uma banda de intensidade média relacionada à deformação angular da porção AP fora do plano molecular, que foi utilizada como padrão interno para o efeito SERS. Apesar da DOX não apresentar absorção eletrônica apreciável na região do vermelho e do infravermelho próximo, foi possível observar a intensificação das bandas atribuídas aos modos da AP, que é o principal grupo cromóforo eletrônico desse fármaco, ao passar da radiação incidente no infravermelho para a radiação no vermelho, indicando que a DOX apresenta ressonância de metaestados eletrônicos mesmo em frequências distantes daquelas relacionadas à transição eletrônica observada. Assim, ao passar do vermelho para o infravermelho próximo, foi possível observar a intensificação de bandas atribuídas a modos compostos por vibrações do grupo amina protonado e do grupo metóxi.

Os espectros da DOX sólida obtidos com radiação excitante de 632,8 nm foram completamente dominados pela fluorescência, e não permitiram a identificação de bandas bem definidas sob um forte fundo de emissão resultante desse fenômeno. Contornou-se parcialmente essa característica por meio da obtenção dos espectros, utilizando essa radiação, de soluções de DOX na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A possível existência de outros mecanismos de relaxação energética além da emissão da radiação permitiu a obtenção desses espectros, que apresentaram o perfil de bandas da DOX em bandas largas e em regiões específicas; foi possível atribuir as bandas observadas a superestruturas de bandas relacionadas principalmente aos modos vibracionais da AP, uma vez que nessa radiação foi verificada uma forte influência da ressonância eletrônica de longa distância.

Os padrões observados nos espectros Raman e Raman ressonante da DOX permaneceram presentes também nos espectros SERS e SERRS. A intensificação das bandas observadas foi caracterizada como indicativos de sítios de adsorção preferencial do fármaco, a partir da aplicação das regras de seleção de superfície, e permaneceram presentes nos padrões espectrais da DOX obtidos nas superfícies de ouro modificadas com Cl^{-1} e $\beta\text{-ME}$. A comparação de ambos permitiu sugerir que, na presença de cobertura de Cl^{-1} , a DOX adsorve através do mecanismo de par iônico, com a porção amina protonada interagindo com Cl^{-1} em ponte com a superfície metálica, enquanto na presença do $\beta\text{-ME}$ o plano da antraquinona tende a uma posição paralela em relação à superfície do ouro. Esses resultados nos permitem afirmar que modificações químicas simples podem dar origem a diferentes tipos de interações, tornando o sistema baseado em AuNPs e DOX adequado para uma variedade de aplicações.

Esses resultados foram corroborados pela simulação de modelos de adsorção da DOX em ouro, tanto na forma de um *ad-atomo* com densidade de carga positiva (Au^{+1}) quanto em modelos de *clusters* simples de poucos átomos de Au^0 (Au_2 e Au_6). A adsorção do cloridrato de DOX parece seguir um equilíbrio que envolve múltiplos fatores, como o mecanismo de estabilização de densidade de carga no anel antraquinônico por quasi-ressonância e os mecanismos de equilíbrios ácido-base envolvidos nos prótons. No entanto, as simulações da energética e TD-DFT do sistema $\text{DOX}^{-1}\text{-Au}^{+1}$ mostraram que a formação do *ad-atomo* é extremamente favorável termicamente, com $\Delta\Delta E$, $\Delta\Delta H$ e $\Delta\Delta G \ll 0$. No entanto, é de se supor que as principais barreiras de potenciais energéticos envolvidas estejam justamente ligadas aos mecanismos de estabilização mencionados anteriormente, uma vez que a obtenção de um estado de transição verificável dependeria da abstração de um próton e da quebra da quasi-ressonância estabilizadora da AP. Contudo, as energias obtidas são ainda corroboradas pela análise da

função de onda, que indica que os orbitais atômicos do ouro passam a integrar a estrutura de orbitais moleculares do principal grupo cromofórico da DOX.

A análise da DOX adsorvida sobre os clusters Au_2 permitiu inferir os principais sítios de adsorção molecular sobre a superfície das nanopartículas ouro. Em modelos de Au^0 , mostrou-se que a DOX interage preferencialmente em um plano colinear ao plano próprio da antraquinona. Essa interação parece estar diretamente relacionada à nuvem π deslocalizada da AP, mas também com a proximidade que assumem os grupos $\text{C}=\text{O}$ e $-\text{OH}$ da AP, e o ânion Cl^- , pois o fármaco sofre uma alteração de sua conformação, adquirindo uma estrutura enovelada. Esse comportamento é característico de simulações no vácuo, uma vez que a formação dessa estrutura minimiza as interações eletrostáticas dominantes nesse meio.

A análise da DOX adsorvida sobre os clusters Au_6 forneceu indicativos das geometrias de adsorção preferencial desse fármaco sobre os *clusters*. A DOX interage preferencialmente em um plano inclinado com relação ao plano molecular da AP. Esses dados foram corroborados pela comparação dos espectros SERS da DOX utilizando os modificadores de superfície Cl^- e $\beta\text{-ME}$. Por meio deles, foi possível observar a ocorrência da intensificação específica de uma banda relacionada a um modo de deformação angular fora do plano da porção AP, indicando que esse modo está localizado próximo o suficiente da estrutura metálica para sofrer ação da intensificação do campo elétrico, de acordo com as regras de seleção de superfície.

Esta tese apresenta resultados conclusivos, que permitem inferir dados a respeito dos mecanismos de adsorção molecular da DOX nas superfícies de ouro. Esses dados estão no cerne da aplicabilidade desses sistemas nanoestruturados como potenciais agentes de entrega controlada de fármacos, uma vez que elucidam a química de superfície de uma molécula complexa de interesse biológico e caracterizam as nanopartículas metálicas no que tange a funcionalização de sua estrutura e a cinética de adsorção. Todavia, esse conhecimento pode ainda ser ampliado sobre os sistemas dessa natureza, a partir da obtenção de isotermas de adsorção dos modificadores utilizados nesse trabalho, bem como de novos modificadores, além do fármaco de interesse. A obtenção de espectros SERS ou SERRS em outras linhas permitiria também inferir mais dados a respeito dos mecanismos de intensificação por superfície e por ressonância própria da molécula. Uma possibilidade de tangenciar esses efeitos envolveria a utilização de moléculas espaçadoras maiores e que possuem a possibilidade de interagir por forças de dispersão de London, como o ácido 11-mercaptoundodecanoico, que interage de maneira similar com a superfície metálica pelo tiolato de maneira semelhante ao $\beta\text{-ME}$, mas que possui mais liberdade para se orientar espacialmente. De forma semelhante, a obtenção do

perfil Raman ressonante de forma simulada, através da resolução de sistemas estáticos de perturbação acoplada, permitiria elucidar o perfil de ressonância e caracterizar a excitação baseada no comprimento de onda da radiação incidente. Nessa linha, a caracterização do estado eletrônico excitado da DOX através da simulação da energética, do perfil vibracional e da análise da função de onda, baseadas em técnicas com dependência temporal, permitiria completar as informações a respeito do perfil de ressonância desse fármaco.

As simulações computacionais podem ser enriquecidas, ainda, pelo tratamento de um sistema que utiliza modelos de solvatação implícita, como os modelos baseados em cavidades dielétricas, ou solvatação explícita ou mista, utilizando moléculas de água para mediar transferências de prótons puros ou em conjunto com os modelos implícitos. Essas técnicas permitem uma maior relaxação das ligações químicas, o que afeta diretamente os perfis vibracionais e permite caracterizar melhor os processos de transferência de carga e as eventuais reações laterais envolvidas nesses mecanismos. O tratamento de *clusters* maiores, embora custosos computacionalmente, permite ainda obter modelos mais bem caracterizados pelas teorias de bandas, mais similares ao ouro metálico nanoestruturado.

A obtenção de espectros SERS reproduzíveis, a obtenção de técnicas que permitem evitar a ressonância própria da DOX e obter dados conclusivos sobre seu padrão vibracional e, sobretudo, sua atribuição são discutidas na literatura nos moldes da espectroscopia Raman sem intensificação. No entanto, lidar da mesma maneira com um efeito tão complexo, um fenômeno de segunda ordem, de descrição tão profunda e difícil é um procedimento imperfeito. Mesmo a mais simples atribuição de bandas em um espectro SERS torna-se uma tarefa hercúlea quando o sistema não é conhecido, de modo que deve existir no pesquisador que galga esse caminho uma disposição para explorar e ampliar os olhares, algo que deve imperar sobre as obviedades e tensões do cotidiano do laboratório, de modo que o modelo estudado seja muito bem construído e parametrizado adequadamente.

As nanoestruturas modificadas possuem potencial para análise em sistemas biológicos, principalmente no que tange a sua estabilidade. Uma vez que se conhece os regimes cinéticos para dados modificadores, é possível ainda adicionar moléculas que isolam a superfície da nanoestrutura, como a quitosana natural ou modificada, o polietilenoglicol ou a polivinil-pirrolidona, amplamente utilizados como biocompatibilizadores em sistemas biológicos, impedindo também a agregação e mantendo a estabilidade durante os testes.

É possível que as ferramentas computacionais, apesar das dificuldades tanto na teoria quanto no manuseio, forneçam muitas maneiras de observar a evolução das reações químicas e

da formação de sistemas nanoestruturados de interesse, muito embora a acurácia muitas vezes troque moedas com o custo computacional. No entanto, se os palpites estruturais estiverem corretos, é possível obter-se superfícies altamente refinadas e correlacionar com o modelo físico-químico de interesse.

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, A. C. On the Theory of Raman Intensities. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], vol. 34, n° 5, p. 1476–1484, 1961. <https://doi.org/10.1063/1.1701032>.
- BARUCCI, A.; D'ANDREA, C.; FARNESI, E.; BANCHELLI, M.; AMICUCCI, C.; DE ANGELIS, M.; HWANG, B.; MATTEINI, P. Label-free SERS detection of proteins based on machine learning classification of chemo-structural determinants. **Analyst**, [s. l.], vol. 146, n° 2, p. 674–682, 21 jan. 2021. <https://doi.org/10.1039/d0an02137g>.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], vol. 98, n° 7, p. 5648–5652, 1993. <https://doi.org/10.1063/1.464913>.
- BEZZON, V. D. N.; CATURELLO, N. A. M. dos S.; DALPIAN, G. M.; FERREIRA, F. F. Crystal structure determination and DFT analysis of doxorubicin hydrochloride for controlled-release drug formulations. **Journal of Molecular Structure**, [s. l.], vol. 1294, 15 dez. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136412>.
- BISHT, A.; AVINASH, D.; SAHU, K. K.; PATEL, P.; DAS GUPTA, G.; KURMI, B. Das. A comprehensive review on doxorubicin: mechanisms, toxicity, clinical trials, combination therapies and nanoformulations in breast cancer. **Drug Delivery and Translational Research**, [s. l.], 1 jan. 2024. <https://doi.org/10.1007/s13346-024-01648-0>.
- BOBO, D.; ROBINSON, K. J.; ISLAM, J.; THURECHT, K. J.; CORRIE, S. R. Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], vol. 33, n° 10, p. 2373–2387, 1 out. 2016. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1958-5>.
- BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], vol. 68, n° 6, p. 394–424, nov. 2018. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
- BURKE, K.; PERDEW, J. P.; WANG, Y. DERIVATION OF A GENERALIZED GRADIENT APPROXIMATION: THE PW91 DENSITY FUNCTIONAL. In: DOBSON J. F. ET AL (org.). **Electronic Density Functional Theory**. New York: Springer Science+Business Media, 1998. p. 81–111.
- BURKE, K.; WAGNER, L. O. DFT in a nutshell. **International Journal of Quantum Chemistry**, [s. l.], vol. 113, n° 2, p. 96–101, 15 jan. 2013. <https://doi.org/10.1002/qua.24259>.
- CHEN, J.; HU, S.; SUN, M.; SHI, J.; ZHANG, H.; YU, H.; YANG, Z. Recent advances and clinical translation of liposomal delivery systems in cancer therapy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], vol. 193, 1 fev. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106688>.

CHO, K.; WANG, X.; NIE, S.; CHEN, Z.; SHIN, D. M. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. **Clinical Cancer Research**, [s. l.], vol. 14, n° 5, p. 1310–1316, 1 mar. 2008. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>.

CLARK, R. J. H.; DINES, T. J. Resonance Raman Spectroscopy, and Its Application to Inorganic Chemistry. **Angewandte Chemie International Edition in English**, [s. l.], vol. 25, n° 2, p. 131–158, 1986. <https://doi.org/10.1002/anie.198601311>.

CREIGHTON, J. A.; BLATCHFORD, C. G.; ALBRECHT, M. G. Plasma Resonance Enhancement of Raman Scattering by Pyridine Adsorbed on Silver or Gold Sol Particles of Size. [s. l.], , p. 790–798, 1978. .

DAFONSECA, B. G.; COSTA, L. A. S.; SANT'ANA, A. C. Insights of adsorption mechanisms of Trp-peptides on plasmonic surfaces by SERS. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], vol. 190, p. 383–391, 5 fev. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.09.039>.

DEBELA, D. T.; MUZAZU, S. G. Y.; HERARO, K. D.; NDALAMA, M. T.; MESELE, B. W.; HAILE, D. C.; KITUI, S. K.; MANYAZEWAL, T. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. **SAGE Open Medicine**, [s. l.], vol. 9, 2021. <https://doi.org/10.1177/20503121211034366>.

DING, S. Y.; YOU, E. M.; TIAN, Z. Q.; MOSKOVITS, M. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy. **Chemical Society Reviews**, [s. l.], vol. 46, n° 13, p. 4042–4076, 2017. DOI 10.1039/c7cs00238f. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C7CS00238F>.

DÖHNER, H.; WEISDORF, D. J.; BLOOMFIELD, C. D. Acute Myeloid Leukemia. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], vol. 373, n° 12, p. 1136–1152, 17 set. 2015. DOI 10.1056/NEJMra1406184. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1406184>.

DONG, Y.; HU, J.; JIN, J.; ZHOU, H.; JIN, S.; YANG, D. Advances in machine learning-assisted SERS sensing towards food safety and biomedical analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], vol. 180, 1 nov. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117974>.

EINOLGHASI, F. B.; ZEINALI, B.; VAFAI, K.; MOJRA, A. Development of a prediction model for hyperthermia-enhanced drug delivery using thermosensitive nanoparticles. **Journal of Thermal Biology**, [s. l.], vol. 129, 1 abr. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2025.104124>.

FARHOUDI, L.; HOSSEINIKHAH, S. M.; KAZEMI-BEYDOKHTI, A.; ARABI, L.; ALAVIZADEH, S. H.; MOOSAVIAN, S. A.; JAAFARI, M. R. pH-sensitive polymeric micelles enhance the co-delivery of doxorubicin and docetaxel: an emerging modality for treating breast cancer. **Cancer Nanotechnology**, [s. l.], vol. 15, n° 1, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12645-024-00275-1>.

FILGUEIRAS, A. L.; DUTRA, T. M. F.; PASCHOAL, D.; DOS SANTOS, H. F.; SANT'ANA, A. C. A SERS investigation of antimicrobial adsorption on silver nanoparticles

as mediated by surface modifiers. **Journal of Raman Spectroscopy**, [s. l.], vol. 48, n° 6, p. 789–794, 2017. <https://doi.org/10.1002/jrs.5131>.

FORTUNI, B.; RICCI, M.; VITALE, R.; INOSE, T.; ZHANG, Q.; HUTCHISON, J. A.; HIRAI, K.; FUJITA, Y.; TOYOUCHI, S.; KRZYZOWSKA, S.; VAN ZUNDERT, I.; ROCHA, S.; UJI-I, H. SERS Endoscopy for Monitoring Intracellular Drug Dynamics. **ACS Sensors**, [s. l.], vol. 8, n° 6, p. 2340–2347, 23 jun. 2023. <https://doi.org/10.1021/acssensors.3c00394>.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOŚLOWSKI, J.; FOX, D. J. Gaussian 09, Revision D.01. **Gaussian 09, Revision B.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT**, Wallingford CT, 2009. Disponível em: citeulike-article-id:9096580.

FUENTES, A. M.; NARAYAN, A.; MILLIGAN, K.; LUM, J. J.; BROLO, A. G.; ANDREWS, J. L.; JIRASEK, A. Raman spectroscopy and convolutional neural networks for monitoring biochemical radiation response in breast tumour xenografts. **Scientific Reports**, [s. l.], vol. 13, n° 1, 1 dez. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28479-2>.

GAUTIER, J.; MUNNIER, E.; DOUZIECH-EYROLLES, L.; PAILLARD, A.; DUBOIS, P.; CHOURPA, I. SERS spectroscopic approach to study doxorubicin complexes with Fe²⁺ ions and drug release from SPION-based nanocarriers. **Analyst**, [s. l.], vol. 138, n° 24, p. 7354–7361, 2013. <https://doi.org/10.1039/c3an00787a>.

GONG, Z. Y.; TIAN, G.; DUAN, S.; LUO, Y. Significant Contributions of the Albrecht's A Term to Nonresonant Raman Scattering Processes. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [s. l.], vol. 11, n° 11, p. 5385–5390, 10 nov. 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00761>.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. **Inhomogeneous Electron Gas**. [S. l.: s. n.], 9 nov. 1964.

IBRAHIM FOUAD, G.; RIZK, M. Z. Neurotoxicity of the antineoplastic drugs: “Doxorubicin” as an example. **Journal of Molecular Histology**, [s. l.], 2024. <https://doi.org/10.1007/s10735-024-10247-9>.

IMANTAY, A.; MASHUROV, N.; ZHAISANBAYEVA, B. A.; MUN, E. A. Doxorubicin-Conjugated Nanoparticles for Potential Use as Drug Delivery Systems. **Nanomaterials**, [s. l.], vol. 15, n° 2, 1 jan. 2025. <https://doi.org/10.3390/nano15020133>.

JARMILA, P.; VERONIKA, M.; PETER, M. Advances in the delivery of anticancer drugs by nanoparticles and chitosan-based nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**: X, [s. l.], vol. 8, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2024.100281>.

JOHNSTONE, T. C.; SUNTHARALINGAM, K.; LIPPARD, S. J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. **Chemical Reviews**, [s. l.], vol. 116, n° 5, p. 3436–3486, 9 mar. 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00597>.

KAIRDOLF, B. A.; QIAN, X.; NIE, S. Bioconjugated nanoparticles for biosensing, in vivo imaging, and medical diagnostics. **Analytical Chemistry**, [s. l.], vol. 89, n° 2, p. 1015–1031, 17 jan. 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04873>.

KELLY, K. L.; CORONADO, E.; ZHAO, L. L.; SCHATZ, G. C. The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. **Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], vol. 107, n° 3, p. 668–677, 23 jan. 2003. <https://doi.org/10.1021/jp026731y>.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects*. **Physical Review**, [s. l.], vol. 140, n° 4A, p. 1133–1138, 15 nov. 1965. .

KRATZ, F. Albumin as a drug carrier: Design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], vol. 132, n° 3, p. 171–183, 18 dez. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.05.010>.

LAURENT, A. D.; JACQUEMIN, D. TD-DFT benchmarks: A review. **International Journal of Quantum Chemistry**, [s. l.], vol. 113, n° 17, p. 2019–2039, 2013. <https://doi.org/10.1002/qua.24438>.

LE RU, E. C.; BLACKIE, E.; MEYER, M.; ETCHEGOINT, P. G. Surface enhanced raman scattering enhancement factors: A comprehensive study. **Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], vol. 111, n° 37, p. 13794–13803, 20 set. 2007. <https://doi.org/10.1021/jp0687908>.

LEE, K. Y. J.; WANG, Y.; NIE, S. In vitro study of a pH-sensitive multifunctional doxorubicin-gold nanoparticle system: therapeutic effect and surface enhanced Raman scattering. **RSC Advances**, [s. l.], vol. 5, n° 81, p. 65651–65659, 2015. <https://doi.org/10.1039/c5ra09872f>.

LINDERS, A. N.; DIAS, I. B.; LÓPEZ FERNÁNDEZ, T.; TOCCHETTI, C. G.; BOMER, N.; VAN DER MEER, P. A review of the pathophysiological mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity and aging. **npj Aging**, [s. l.], vol. 10, n° 1, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41514-024-00135-7>.

LU, Q.; KOU, D.; LOU, S.; ASHRAFIZADEH, M.; AREF, A. R.; CANADAS, I.; TIAN, Y.; NIU, X.; WANG, Y.; TORABIAN, P.; WANG, L.; SETHI, G.; TERGAONKAR, V.; TAY, F.; YUAN, Z.; HAN, P. Nanoparticles in tumor microenvironment remodeling and cancer immunotherapy. **Journal of Hematology and Oncology**, [s. l.], vol. 17, n° 1, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01535-8>.

LUU, A. Z.; CHOWDHURY, B.; AL-OMRAN, M.; TEOH, H.; HESS, D. A.; VERMA, S. Role of Endothelium in Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. **JACC: Basic to Translational Science**, [s. l.], vol. 3, n° 6, p. 861–870, 1 dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2018.06.005>.

MARQUES, F. C.; OLIVEIRA, G. P.; TEIXEIRA, R. A. R.; JUSTO, R. M. S.; NEVES, T. B. V.; ANDRADE, G. F. S. Characterization of 11-mercaptoundecanoic and 3-mercaptopropionic acids adsorbed on silver by surface-enhanced Raman scattering. **Vibrational Spectroscopy**, [s. l.], vol. 98, p. 139–144, 2018. DOI 10.1016/j.vibspec.2018.07.015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.07.015>.

MATHIVATHANAN, L.; YANG, G.; LENG, F.; RAPTIS, R. G. Crystal structure and conformational analysis of doxorubicin nitrate research communications. [s. l.], , p. 400–405, 2018. <https://doi.org/10.1107/S2056989018002955>.

MILLER, K. D.; SIEGEL, R. L.; LIN, C. C.; MARIOTTO, A. B.; KRAMER, J. L.; ROWLAND, J. H.; STEIN, K. D.; ALTERI, R.; JEMAL, A. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], vol. 66, n° 4, p. 271–289, jul. 2016. <https://doi.org/10.3322/caac.21349>.

MINOTTI, G. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. **Pharmacological Reviews**, [s. l.], 2004. <https://doi.org/10.1124/pr.56.2.6>.

MINOTTI, Giorgio; RECALCATI, S.; MORDENTE, A.; LIBERI, G.; CALAFIORE, A. M.; MANCUSO, C.; PREZIOSI, P.; CAIRO, G. The secondary alcohol metabolite of doxorubicin irreversibly inactivates aconitase/iron regulatory protein-1 in cytosolic fractions from human myocardium. **The FASEB Journal**, [s. l.], vol. 12, p. 541–552, maio 1998. <https://doi.org/https://doi.org/10.1096/fasebj.12.7.541>.

MUNNIER, E.; COHEN-JONATHAN, S.; LINASSIER, C.; DOUZIECH-EYROLLES, L.; MARCHAIS, H.; SOUCÉ, M.; HERVÉ, K.; DUBOIS, P.; CHOURPA, I. Novel method of doxorubicin-SPION reversible association for magnetic drug targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], vol. 363, n° 1–2, p. 170–176, 3 nov. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.006>.

MURRAY, C. J. L. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, [s. l.], vol. 396, n° 10258, p. 1233–1249, 2020. DOI 10.1016/S0140-6736(20)30752-2. Disponível em: www.thelancet.com.

NGUYEN, T. N.; NGUYEN, T. T.; NGHIEM, T. H. L.; NGUYEN, D. T.; TRAN, T. T. H.; VU, D.; NGUYEN, T. B. N.; NGUYEN, T. M. H.; NGUYEN, V. T.; NGUYEN, M. H. Optical properties of doxorubicin hydrochloride load and release on silica nanoparticle platform. **Molecules**, [s. l.], vol. 26, n° 13, 1 jul. 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26133968>.

NICHOLS, J. W.; BAE, Y. H. EPR: Evidence and fallacy. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], vol. 190, p. 451–464, 28 set. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.057>.

OLSZÓWKA, M.; RUSSO, R.; MANCINI, G.; CAPPELLI, C. A computational approach to the resonance Raman spectrum of doxorubicin in aqueous solution. **Theoretical Chemistry Accounts**, [s. l.], vol. 135, nº 2, p. 1–15, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00214-015-1781-9>.

PAUL, H. E.; PAUL, M. F.; CHEMOTHERAPY, E.; HALLEY, F. J.; GLOSCOCK, H. W.; THER RES, C.; HAYES, J. J.; BORGMANN, A. R.; MONKHOUSE, D. C.; LACH, J. L.; NEWTON, J. M.; ROWLEY, G.; THORNBLOM, J.; PHARM PHAR-, J. **Electronic Absorption Spectra and Protolytic Equilibria of Doxorubicin: Direct Spectrophotometric Determination of Microconstants**. [S. l.: s. n.], 1975.

PERDEW, J. P.; ERNZERHOF, M.; BURKE, K. Rationale for mixing exact exchange with density functional approximations. **J. Chem. Phys**, [s. l.], vol. 105, nº 22, p. 9982–9985, 1996. Disponível em: <http://ojps.aip.org/jcpo/jcpocr.jsp>.

POLTE, J.; ERLER, R.; THÜNEMANN, A. F.; SOKOLOV, S.; AHNER, T. T.; RADEMANN, K.; EMMERLING, F.; KRAEHNERT, R. Nucleation and growth of gold nanoparticles studied via in situ small angle X-ray scattering at millisecond time resolution. 4., 23 fev. 2010. **ACS Nano** [...]. [S. l.: s. n.], 23 fev. 2010. vol. 4, p. 1076–1082. <https://doi.org/10.1021/nn901499c>.

POLTE, J.; TUAEV, X.; WUITHSCHICK, M.; FISCHER, A.; THUENEMANN, A. F.; RADEMANN, K.; KRAEHNERT, R.; EMMERLING, F. Formation mechanism of colloidal silver nanoparticles: Analogies and differences to the growth of gold nanoparticles. **ACS Nano**, [s. l.], vol. 6, nº 7, p. 5791–5802, 2012. <https://doi.org/10.1021/nn301724z>.

RAMAN, C. V.; KRISHNAN, K. A new type of secondary radiation. **Nature**, Calcutta, nº 121, p. 501–502, 16 fev. 1928. .

SALA, O. **Sala, O. Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2.ed. São Paulo: Editora UNESP, 2008.

SANTOS, M. de O.; LIMA, F. C. da S. de; MARTINS, L. F. L.; OLIVEIRA, J. F. P.; ALMEIDA, L. M. de; CANCELA, M. de C. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [s. l.], vol. 69, nº 1, 6 fev. 2023. <https://doi.org/10.32635/2176-9745.rbc.2023v69n1.3700>.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; WAGLE, N. S.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], vol. 73, nº 1, p. 17–48, jan. 2023. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>.

SRINIVASAN, S.; BHARDWAJ, V.; NAGASETTI, A.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, A.; MCGORON, A. J. Multifunctional surface-enhanced raman spectroscopy-detectable silver nanoparticles for combined photodynamic therapy and pH-triggered chemotherapy. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, [s. l.], vol. 12, nº 12, p. 2202–2219, 2016. <https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2312>.

SRITHARAN, S.; SIVALINGAM, N. A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin. **Life Sciences**, [s. l.], vol. 278, 1 ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119527>.

STROMMEN, D. P.; NAKAMOTO, K. Resonance Raman Spectroscopy. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], vol. 54, n° 8, p. 474–478, ago. 1977. .

SZAFRANIEC, E.; MAJZNER, K.; FARHANE, Z.; BYRNE, H. J.; LUKAWSKA, M.; OSZCZAPOWICZ, I.; CHLOPICKI, S.; BARANSKA, M. Spectroscopic studies of anthracyclines: Structural characterization and in vitro tracking. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], vol. 169, p. 152–160, 5 dez. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.06.035>.

TEIXEIRA, R. A. R.; COSTA, L. A. S.; SANT'ANA, A. C. A proposal for the adsorption of anastrozole anticancer drug on gold nanoparticle surfaces. **Journal of Raman Spectroscopy**, [s. l.], vol. 50, n° 10, p. 1462–1467, 2019. <https://doi.org/10.1002/jrs.5641>.

ULBRICH, K.; HOLÁ, K.; ŠUBR, V.; BAKANDRITSOS, A.; TUČEK, J.; ZBOŘIL, R. Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. **Chemical Reviews**, [s. l.], vol. 116, n° 9, p. 5338–5431, 11 maio 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00589>.

VERMA, P.; TRUHLAR, D. G. **Status and Challenges of Density Functional Theory**. [S. l.: s. n.], 2020.

WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, [s. l.], vol. 321, n° 3, p. 288–300, 22 jan. 2019. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>.

WANG, X.; QIAN, X.; BEITLER, J. J.; CHEN, Z. G.; KHURI, F. R.; LEWIS, M. M.; SHIN, H. J. C.; NIE, S.; SHIN, D. M. Detection of circulating tumor cells in human peripheral blood using surface-enhanced raman scattering nanoparticles. **Cancer Research**, [s. l.], vol. 71, n° 5, p. 1526–1532, 1 mar. 2011. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3069>.

WILHELM, S.; TAVARES, A. J.; DAI, Q.; OHTA, S.; AUDET, J.; DVORAK, H. F.; CHAN, W. C. W. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. **Nature Reviews Materials**, [s. l.], vol. 1, 2016. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.14>.

WILLETS, K. A.; VAN DUYNE, R. P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. **Annual Review of Physical Chemistry**, [s. l.], vol. 58, p. 267–297, 2007. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607>.

XIE, H. J.; LEI, Q. F.; FANG, W. J. Intermolecular interactions between gold clusters and selected amino acids cysteine and glycine: A DFT study. **Journal of Molecular Modeling**, [s. l.], vol. 18, n° 2, p. 645–652, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00894-011-1112-6>.

YAN, Q.; PRIEBE, W.; CHAIRES, J. B.; CZERNUSZEWICZ, R. S. Interaction of doxorubicin and its derivatives with DNA: Elucidation by resonance Raman and surface-enhanced resonance Raman spectroscopy. **Biospectroscopy**, [s. l.], vol. 3, n° 4, p. 307–316, 1997. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1997\)3:4<307::AID-BSPY6>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1997)3:4<307::AID-BSPY6>3.0.CO;2-0).

ZANG, C.; TIAN, Y.; TANG, Y.; TANG, M.; YANG, D.; CHEN, F.; GHAFFARLOU, M.; TU, Y.; ASHRAFIZADEH, M.; LI, Y. Hydrogel-based platforms for site-specific

doxorubicin release in cancer therapy. **Journal of translational medicine**, [s. l.], vol. 22, n° 1, p. 879, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05490-3>.

ZWEIER, J. L.; GIANNI, L.; MUINDI, J.; MYERS, C. E. Differences in O₂ reduction by the iron complexes of adriamycin and daunomycin: the importance of the sidechain hydroxyl group. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [s. l.], vol. 884, n° 2, p. 326–336, 19 nov. 1986. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-4165\(86\)90181-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-4165(86)90181-9).

ANEXO A – Coordenadas cartesianas das estruturas de entrada e saída (DFT)

Tabela 5 – Coordenadas cartesianas da estrutura de entrada do cloridrato de DOX

Átomo	x	y	z
O	5.807904	-2.200638	-1.202417
O	3.307265	-1.564545	-1.532645
O	0.876464	-1.025618	-1.784436
H	1.766305	-1.489974	-1.866837
O	-1.865588	-0.507512	-0.450521
O	-2.810677	1.665145	1.054638
H	-2.465830	0.766860	0.923857
O	1.608854	3.501956	1.232815
H	2.565908	3.552338	1.510683
O	4.065825	2.883745	1.477890
O	-3.151663	4.521208	-1.004011
O	-5.239706	4.898668	0.609244
H	-5.909446	4.970395	1.300245
O	-5.032109	-3.816132	-0.524656
H	-5.752837	-3.778373	-1.165697
O	-3.445935	-1.600287	-1.810358
N	-3.602671	-3.790494	1.820088
H	-2.584056	-3.856069	2.523852
H	-3.740761	-4.662135	1.305592
H	-4.392400	-3.686179	2.458509
C	6.257002	1.259546	1.075068
H	6.339475	2.164508	1.664802
C	7.348867	0.425112	0.858195
H	8.317199	0.673174	1.282529
C	7.213237	-0.735054	0.099371
H	8.076226	-1.370081	-0.053962
C	5.973621	-1.085160	-0.463912
C	3.506993	-0.555643	-0.820352
C	1.113694	0.063309	-1.035396
C	-1.344617	0.547398	-1.313367
H	-1.231977	0.136518	-2.320746
C	-2.318104	1.725736	-1.351156
H	-3.316983	1.357539	-1.603185
H	-2.014900	2.422047	-2.140070
C	-2.341564	2.493636	-0.016292
C	-0.932650	3.045355	0.285075
H	-0.772350	3.954010	-0.309482
H	-0.886402	3.351885	1.334547
C	1.482306	2.380387	0.509043
C	3.882251	1.851722	0.795298

C	-3.315731	3.685354	-0.139128
C	-4.458737	3.749180	0.860175
H	-5.036939	2.817071	0.772812
H	-4.019756	3.743709	1.869301
C	5.016360	0.927421	0.524794
C	4.841725	-0.244044	-0.256118
C	2.570729	1.528112	0.254976
C	2.391123	0.353562	-0.528870
C	0.188465	2.075726	-0.005026
C	0.016141	0.931497	-0.769217
C	6.908277	-3.084121	-1.406568
H	7.281631	-3.482657	-0.455911
H	7.722653	-2.589768	-1.949437
H	6.510862	-3.899266	-2.011227
C	-2.226506	-1.723014	-1.090920
H	-1.479270	-1.963192	-1.850586
C	-2.291849	-2.820099	-0.029426
H	-2.355951	-3.780187	-0.552074
H	-1.378025	-2.813146	0.569389
C	-3.518990	-2.648827	0.871025
H	-3.405141	-1.748942	1.483410
C	-4.797823	-2.522890	0.031741
H	-5.641441	-2.238747	0.683401
C	-4.618790	-1.403528	-1.012623
H	-4.519967	-0.467091	-0.442800
C	-5.790192	-1.274491	-1.978352
H	-5.637552	-0.416473	-2.637836
H	-6.729489	-1.127023	-1.434558
H	-5.876868	-2.160049	-2.617513
Cl	-1.277043	-3.857193	3.457401

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 6 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do cloridrato de DOX

Átomo	x	y	z
O	5.807904	-2.200638	-1.202417
O	3.307265	-1.564545	-1.532645
O	0.876464	-1.025618	-1.784436
H	1.766305	-1.489974	-1.866837
O	-1.865588	-0.507512	-0.450521
O	-2.810677	1.665145	1.054638
H	-2.465830	0.766860	0.923857
O	1.608854	3.501956	1.232815
H	2.565908	3.552338	1.510683
O	4.065825	2.883745	1.477890
O	-3.151663	4.521208	-1.004011

O	-5.239706	4.898668	0.609244
H	-5.909446	4.970395	1.300245
O	-5.032109	-3.816132	-0.524656
H	-5.752837	-3.778373	-1.165697
O	-3.445935	-1.600287	-1.810358
N	-3.602671	-3.790494	1.820088
H	-2.584056	-3.856069	2.523852
H	-3.740761	-4.662135	1.305592
H	-4.392400	-3.686179	2.458509
C	6.257002	1.259546	1.075068
H	6.339475	2.164508	1.664802
C	7.348867	0.425112	0.858195
H	8.317199	0.673174	1.282529
C	7.213237	-0.735054	0.099371
H	8.076226	-1.370081	-0.053962
C	5.973621	-1.085160	-0.463912
C	3.506993	-0.555643	-0.820352
C	1.113694	0.063309	-1.035396
C	-1.344617	0.547398	-1.313367
H	-1.231977	0.136518	-2.320746
C	-2.318104	1.725736	-1.351156
H	-3.316983	1.357539	-1.603185
H	-2.014900	2.422047	-2.140070
C	-2.341564	2.493636	-0.016292
C	-0.932650	3.045355	0.285075
H	-0.772350	3.954010	-0.309482
H	-0.886402	3.351885	1.334547
C	1.482306	2.380387	0.509043
C	3.882251	1.851722	0.795298
C	-3.315731	3.685354	-0.139128
C	-4.458737	3.749180	0.860175
H	-5.036939	2.817071	0.772812
H	-4.019756	3.743709	1.869301
C	5.016360	0.927421	0.524794
C	4.841725	-0.244044	-0.256118
C	2.570729	1.528112	0.254976
C	2.391123	0.353562	-0.528870
C	0.188465	2.075726	-0.005026
C	0.016141	0.931497	-0.769217
C	6.908277	-3.084121	-1.406568
H	7.281631	-3.482657	-0.455911
H	7.722653	-2.589768	-1.949437
H	6.510862	-3.899266	-2.011227
C	-2.226506	-1.723014	-1.090920
H	-1.479270	-1.963192	-1.850586
C	-2.291849	-2.820099	-0.029426

H	-2.355951	-3.780187	-0.552074
H	-1.378025	-2.813146	0.569389
C	-3.518990	-2.648827	0.871025
H	-3.405141	-1.748942	1.483410
C	-4.797823	-2.522890	0.031741
H	-5.641441	-2.238747	0.683401
C	-4.618790	-1.403528	-1.012623
H	-4.519967	-0.467091	-0.442800
C	-5.790192	-1.274491	-1.978352
H	-5.637552	-0.416473	-2.637836
H	-6.729489	-1.127023	-1.434558
H	-5.876868	-2.160049	-2.617513
Cl	-1.277043	-3.857193	3.457401

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 7 – Coordenadas cartesianas de entrada do *cluster* de seis átomos de ouro (DOX-Au₆)

Átomo	x	y	z
Au	0.000000	-1.674870	0.000000
Au	-2.701153	-1.561604	0.000000
Au	2.702195	-1.557813	0.000000
Au	1.451307	0.839012	0.000000
Au	-1.451262	0.836516	0.000000
Au	-0.001087	3.118759	0.000000

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 8 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do *cluster* de seis átomos de ouro (DOX-Au₆)

Átomo	x	y	z
Au	-1.450575	0.837486	0.000000
Au	-2.701091	-1.559483	0.000000
Au	-0.000001	3.118952	0.000000
Au	1.450576	0.837494	0.000000
Au	0.000000	-1.674977	0.000000
Au	2.701092	-1.559473	0.000000

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 9 – Coordenadas cartesianas da estrutura de entrada do cloridrato de DOX adsorvida em um *cluster* de seis átomos de ouro (DOX-Au₆)

Átomo	x	y	z
O	1.748891	1.175669	-3.900004
O	-0.792553	0.810073	-3.472928
O	-3.184521	0.320308	-2.945436

H	-2.256687	0.262034	-3.340529
O	-5.327809	-0.419413	-0.926792
O	-6.413319	1.075438	1.224176
H	-5.793982	0.442928	0.829423
O	-3.240288	4.575002	0.530039
H	-2.334548	4.995061	0.536584
O	-0.788149	4.987279	-0.018195
O	-8.542097	3.593346	-0.058579
O	-9.810281	3.087213	2.230981
H	-10.127132	2.890156	3.120450
O	-6.885663	-4.699100	-0.668333
H	-7.766151	-4.899665	-1.011448
O	-6.807437	-1.955043	-1.920982
N	-4.752880	-4.359881	0.871579
H	-3.674104	-4.259328	1.014087
H	-4.930239	-5.150342	0.241979
H	-5.146824	-4.603468	1.783147
C	1.605180	4.390984	-1.260064
H	1.538145	5.219588	-0.565870
C	2.801998	4.066121	-1.894653
H	3.698689	4.645666	-1.696609
C	2.866702	2.990792	-2.774343
H	3.811420	2.746049	-3.241981
C	1.725335	2.213667	-3.046925
C	-0.743303	1.753712	-2.652637
C	-3.135222	1.365889	-2.101503
C	-5.548499	0.844257	-1.635442
H	-5.629635	0.614779	-2.701938
C	-6.844611	1.500793	-1.156576
H	-7.654827	0.766295	-1.186766
H	-7.113705	2.311781	-1.842168
C	-6.698410	2.097072	0.254886
C	-5.594765	3.174861	0.241704
H	-6.001057	4.089067	-0.211584
H	-5.329342	3.434460	1.270821
C	-3.168805	3.537553	-0.317990
C	-0.780181	4.005103	-0.791863
C	-8.026360	2.767227	0.666822
C	-8.621591	2.360786	2.004954
H	-8.787116	1.272636	1.986639
H	-7.857636	2.541240	2.776969
C	0.463064	3.627922	-1.510564
C	0.489982	2.529197	-2.410271
C	-1.986058	3.210761	-1.004961
C	-1.962724	2.114605	-1.908985
C	-4.350249	2.768195	-0.511453

C	-4.325703	1.701407	-1.399106
C	2.977771	0.791201	-4.516431
H	3.723577	0.504201	-3.765601
H	3.368635	1.591809	-5.156805
H	2.727711	-0.074919	-5.129144
C	-5.448374	-1.595812	-1.699327
H	-5.037238	-1.424702	-2.696602
C	-4.686184	-2.722308	-0.992206
H	-4.645378	-3.572734	-1.681140
H	-3.664366	-2.397632	-0.779739
C	-5.409589	-3.133680	0.292620
H	-5.325000	-2.346351	1.046924
C	-6.890062	-3.451842	0.028296
H	-7.425529	-3.561959	0.985568
C	-7.546246	-2.288460	-0.745122
H	-7.554464	-1.428758	-0.058314
C	-8.975585	-2.587169	-1.184171
H	-9.412041	-1.699161	-1.650217
H	-9.598474	-2.865671	-0.327575
H	-9.004862	-3.388792	-1.930906
Cl	-1.836855	-4.380784	1.359747
Au	-0.058802	-2.554204	0.814069
Au	2.336338	-1.849113	-0.296445
Au	1.109922	-0.197636	1.553002
Au	4.773726	-1.032498	-1.363490
Au	2.388550	2.178824	2.233040
Au	3.689754	0.666463	0.423442

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 10 – Coordenadas cartesianas da estrutura otimizada do cloridrato de DOX adsorvida em um *cluster* de seis átomos de ouro (DOX-Au₆)

Átomo	x	y	z
O	-3.044491	3.053516	3.172037
O	-0.558500	2.304455	3.068075
O	1.782547	1.470272	2.914936
H	0.828582	1.610391	3.218499
O	4.148575	0.083646	1.213386
O	5.643457	1.052334	-0.922630
H	4.920509	0.529399	-0.542387
O	2.644229	4.790314	-1.374054
H	1.797492	5.278198	-1.575907
O	0.222874	5.556381	-1.199480
O	7.688838	3.694463	0.213103
O	9.226071	2.781289	-1.764667

H	9.661970	2.405095	-2.538900
O	4.943913	-4.212574	2.529873
H	5.396283	-4.309210	3.377382
O	4.642736	-1.259650	3.080051
N	4.082933	-4.097135	-0.004913
H	3.529104	-3.911942	-0.918114
H	3.529325	-4.674624	0.633363
H	4.899817	-4.649667	-0.277408
C	-2.307629	5.527403	-0.097374
H	-2.084152	6.157862	-0.949728
C	-3.576111	5.493095	0.475393
H	-4.373708	6.108915	0.070162
C	-3.837542	4.669558	1.567702
H	-4.833001	4.654851	1.992837
C	-2.827067	3.858983	2.115852
C	-0.416727	3.044438	2.069567
C	1.938628	2.289268	1.860193
C	4.318549	1.430583	1.763586
H	4.243738	1.361130	2.851674
C	5.710068	1.929564	1.374902
H	6.456839	1.183688	1.665302
H	5.933495	2.849177	1.925316
C	5.819446	2.232974	-0.130958
C	4.790667	3.318285	-0.515121
H	5.194377	4.304495	-0.250807
H	4.664157	3.320240	-1.602268
C	2.379670	3.987721	-0.332167
C	0.039614	4.790849	-0.227730
C	7.231448	2.778569	-0.439576
C	7.984965	2.131238	-1.589971
H	8.095745	1.060793	-1.361174
H	7.344287	2.188519	-2.483465
C	-1.291593	4.726936	0.431841
C	-1.520379	3.880940	1.547059
C	1.114393	3.947412	0.277969
C	0.887431	3.094815	1.392271
C	3.442039	3.171060	0.151109
C	3.215689	2.326520	1.230164
C	-4.351786	2.955086	3.732224
H	-5.075261	2.594063	2.992182
H	-4.683651	3.916057	4.143855
H	-4.262234	2.226429	4.538044
C	3.670135	-0.913254	2.100114
H	2.825440	-0.530647	2.674034
C	3.261399	-2.126455	1.261683
H	2.730446	-2.816802	1.925327

H	2.572604	-1.815349	0.470274
C	4.494573	-2.821453	0.680663
H	4.961976	-2.202456	-0.090116
C	5.518879	-3.148253	1.773326
H	6.460838	-3.489200	1.310635
C	5.831648	-1.872000	2.579973
H	6.332999	-1.185916	1.880985
C	6.745968	-2.117222	3.774080
H	6.989579	-1.165798	4.253036
H	7.680349	-2.594495	3.460019
H	6.258487	-2.740494	4.532594
Cl	2.802994	-3.649173	-2.652869
Au	0.805854	-2.341126	-1.810304
Au	-1.193929	-2.332284	0.045093
Au	-0.895885	-0.227630	-1.747701
Au	-3.257293	-2.236795	1.842714
Au	-2.728119	1.811269	-1.661313
Au	-3.142629	-0.128907	0.159388

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

ANEXO B – Script para aplicação do PCA em Python 3.12

```

### Libraries
import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
import matplotlib.gridspec as gridspec
import scipy.signal as ss

link = "Link para os dados removido" #KCl 10-3M
link2 = "Link para os dados removido"
url = link2 + link[32:-20]

criteria = 3 # criteria to remove spikes

# reading csv with pandas and converting to numpy;
sersdf = pd.read_csv(url)
wavelength = sersdf['Wavelength'].to_numpy()
sers = sersdf.iloc[:,1:].to_numpy()

# slicing till desired window;
lwindow = np.where(wavelength == 1050)[0] # retorna um array 1x1 com o valor
do índice
rwindow = np.where(wavelength == 1730.5)[0] # retorna um array 1x1 com o
valor do índice
wavelength = wavelength[int(lwindow[0]):int(rwindow[0])] # Precisa chamar o
índice, pois são arrays 1x1.
sers = sers[int(lwindow[0]):int(rwindow[0]),:] # Precisa chamar o índice,
pois são arrays 1x1.

# Initializing matrices to correct data;
linear_adj = np.zeros([2, 124]) # Matrix to receive the a,b coeffs;
linear_adj2 = np.zeros(sers.shape) # Matrix to receive the full point
corrections;
sers_base = np.zeros(sers.shape) # Matrix to receive baseline corrected
spectra;
sers_norm = np.zeros(sers.shape) # Matrix to receive normalized spectra;
savgol_norm = np.zeros(sers.shape) # Matrix to receive savgol filter
corrected spectra;

### Generate baseline equations for each curve
# Iterate through the baselines to get a and b linear adjustments coeffs;
for idx in range(len(sers[0,:])):
    linear_adj[0,idx], linear_adj[1,idx] = np.polyfit([wavelength[0],
wavelength[-1]], \
[sers[0,idx], sers[-1,idx]], deg = 1) # Generates the straight lines to
subtract

```

```

linear_adj2[:,idx] = wavelength * linear_adj[0, idx] + linear_adj[1,
idx]

# Subtract (correction df + min cell of each column) from original df;
sers_base = sers - linear_adj2
sers_base = sers_base - sers_base.min().min()

### Detecting spikes;
# Modified Z-scores application
mzscores = sers_base.copy()
spikes = np.zeros(sers.shape)
sers_nospike = sers_base.copy()

for i in range(criteria):
    # Search for spikes;
    for idx in range(len(sers[0,:])):
        mzscores[:,idx] = np.abs(0.6745 * (np.diff(mzscores[:,idx], prepend
= mzscores[0,idx]) - np.median(mzscores[:,idx])) \
        / np.median(np.abs(np.diff(mzscores[:,idx], prepend =
mzscores[0,idx])) - np.median(mzscores[:,idx])))
        spikes[:,idx] = mzscores[:,idx] > (criteria *
np.std(mzscores[:,idx]) * np.ones(len(wavelength))) +
np.mean(mzscores[:,idx]) # converts spikes location to boolean matrix

# Interpolating spikes;
    for spikj in range(len(spikes[0,:])):
        for spiki in range(len(spikes[:,0])):
            if (spikes[spiki, spikj] == True) and (spiki-21 > 0): # Had to
double the sub conditions do avoid empty slice and dividing by zero error;
                sers_nospike[spiki, spikj] = np.mean(sers_nospike[spiki-
21:spiki-1, spikj])
            else:
                sers_nospike[spiki, spikj] = sers_nospike[spiki, spikj]

# # Normalize by dividing by max intensity;
for idx in range(len(sers[0,:])):
    sers_norm[:,idx] = sers_nospike[:,idx] / sers_nospike[:,idx].max()

# Savgol filter application
for idx in range(len(sers[0,:])):
    savgol_norm[:,idx] = ss.savgol_filter(sers_norm[:,idx], 50, 3)

# Covariance matrix test;
savgolcenter = np.zeros_like(savgol_norm)
for idx in range(len(savgol_norm[0,:])):
    savgolcenter[:,idx] = (savgol_norm[:,idx] - np.mean(savgol_norm, axis =
1)).T / np.std(savgol_norm, axis = 1).T
cov_mat = np.cov(savgolcenter)

```

```
### PCA;
# Eigen decomposition of cov_mat;
values, vectors = np.linalg.eig(cov_mat)
values = values[np.argsort(values)][::-1] # Already tested: values are
getting reordered from last to first
vectors = vectors[:, np.argsort(values)[::-1]] # Reordering vectors by
values order
pctvar = values / np.sum(values) # Computing the percentage of variance for
each component
cumpctvar = np.cumsum(pctvar) # Computing the cumulative percentage of
variance for components
```

ANEXO C – Publicação associada

Full Paper

Journal of
the Brazilian
Chemical
Society<https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20250121>*J. Braz. Chem. Soc.* **2025**, 36, 11, e-20250121, 1-11
©2025 Sociedade Brasileira de Química

The Control of the Adsorption of Doxorubicin on Gold Surfaces Tracked by Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy

Pedro Victor A. Pessanha^a and Antonio Carlos Sant'Ana^{a*}^aLaboratório de Nanoestruturas Plasmônicas, Instituto de Ciências Exatas,
Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Martelos,
36036-900 Juiz de Fora-MG, Brazil

Doxorubicin (DOX) is a drug used in the treatment of several neoplasms, but known for strong side effects, including dysfunctions in heart, bone marrow and liver. These effects have been overcome through its use in drug delivery systems, as gold nanoparticles (AuNP). Seeking to understand such complex interactions, surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy was used to study the control of the adsorption of DOX on Au surfaces provided by chemical modifications with chloride ions and 2-mercaptoethanol (ME). The optimal adsorption kinetics was determined by UV-Vis-NIR spectroscopy to preclude aggregation processes and to maximize the localized surface plasmon resonance (LSPR) with the excitation lines for SERS analysis. The vibrational assignment of Raman and SERS spectra were done with the support of Density Functional Theory (DFT) calculation, allowing the proposition of adsorption geometries of the drug on the metallic surfaces.

Keywords: plasmonic, quantum calculation, cancer, adsorption control, nanodevice

Introduction

Cancer is the ordinary denomination given to the set of diseases characterized by the fast disordered growth of cells, demanding a lot of energy, nutrients and oxygen, resulting in highly vascularized tissues,^{1,2} which lead to the formation of very aggressive tumors. There is a search for new chemical³ and biochemical^{4,5} strategies to improve efficiency of existent drugs, as for instance the use of nanodevices to the delivery of antineoplastic drugs to minimize side effects.⁶ The antineoplastic agents doxorubicin (DOX) is widely used, since it has a potent action against many different types of cancer, such as osteosarcoma,⁷ hepatocellular carcinoma⁸ and myeloma.⁹ However, the potential of DOX as an effective antineoplastic drug comes with high affection of health tissues, resulting in high cytotoxic, neurotoxic and cardiotoxic effects.^{10,11} Such may lead to chronic irreversible cardiotoxicity,¹² among others, resulting in potentially lethal heart failure and stroke. Seeking to overcome such unwilling effects, DOX was applied with various methods of encapsulation,^{9,13-15} such as liposomes,¹⁶⁻¹⁹ polymeric micelles²⁰⁻²³ and exosomes,²⁴⁻²⁶

as well as drug delivery system to improve the specificity for tumors.^{27,28}

Functionalized metallic nanoparticles have been used to deliver drugs, since they exhibit unique surface chemistry and biological features,²⁹ as coadsorption of tissue recognizer, increasing the bioavailability in the target tissue and reducing unwanted side effects.³⁰ Particularly, gold nanoparticles (AuNP) present relevant optical properties, besides low toxicity to health tissues.³¹ AuNP have electronic transitions, named localized surface plasmon resonance (LSPR), which generates a huge increase in the intensity of the electric field near the particle.³² This feature is the base of surface-enhanced Raman scattering (SERS), a crucial effect to understand the rich surface chemistry of AuNP through the study of adsorbed molecules.³³ SERS spectral patterns allow that gold nanodevices for drug delivery could be built with understanding and control of interactions in the drug adsorption.³¹ SERS spectroscopy is based on the giant signal enhancement by electromagnetic mechanism, due to the resonance of LSPR transition with laser excitation.³⁴ In addition, the named chemical effect lead to the vibrational signature of the surface complex formed in the adsorption,³⁵ which is an outstanding way to study interactions from molecular adsorbates and metallic surfaces.

The surface chemistry of AuNP allows passive delivery routes,¹⁴ due to the neoangiogenesis. with the enhancement

*e-mail: antonio.sant@ufjf.br

Editor handled this article: Adriana Nunes Correia (Associate) and Brenno A. D. Neto (Editor-in-Chief)



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.