

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Vitória Basilio da Costa

**Intensificação do efeito antineoplásico de derivados de dibenzalacetonas por adsorção
em nanopartículas de prata**

Juiz de Fora

2026

Vitória Basilio da Costa

**Intensificação do efeito antineoplásico de derivados de dibenzalacetonas por adsorção
em nanopartículas de prata**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Sant’Ana

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Diniz Tavares

Juiz de Fora

2026

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

Costa, Vitória Basilio da.

Intensificação do efeito antineoplásico de derivados de dibenzalacetonas por adsorção em nanopartículas de prata / Vitória Basilio da Costa. -- 2026.

83 f. : il.

Orientador: Antonio Carlos Sant'Ana

Coorientador: Guilherme Diniz Tavares

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2026.

1. Bis-chalcona. 2. nanoestruturas de prata. 3. espectroscopia SERS. 4. citotoxicidade metálica. 5. fármacos híbridos. I. Sant'Ana, Antonio Carlos, orient. II. Tavares, Guilherme Diniz, coorient. III. Título.

Vitória Basílio da Costa

Intensificação do efeito antineoplásico de derivados de dibenzalacetonas por adsorção em nanopartículas de prata

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

Aprovada em 17 de julho de 2026.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Guilherme Diniz Tavares - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues Teixeira
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Ademar Alves da Silva Filho
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 14/07/2026.



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Diniz Tavares, Professor(a)**, em 17/07/2026, às 10:20, 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 **Ademar Alves da Silva Filho, Professor(a)**, em 17/07/2026, às 10:20, 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 17/07/2026, às 10:21, 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 Magno Rodrigues Teixeira, Usuário Externo**, em 17/07/2026, às 15:56, 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-Ufff (www2.ufff.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **3085988** e o código CRC **658C866B**.

Dedico este trabalho aos meus pais Maria Lúcia e José Basilio e aos meus avós, os gigantes que me cederam os ombros nos quais me apoio. Ao meu irmão, e ao meu amor por todo apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem Ele eu não poderia fazer nada. Ele me conduziu durante toda a minha vida e agora não é diferente. Sei que não foi o acaso, sorte ou merecimento que me trouxeram até aqui, foi a mão forte dEle que me concedeu a graça e misericórdia de estar aqui.

Agradeço a minha mãe Maria Lúcia, que mulher! Mãe solo que se sacrificou e lutou com unhas e dentes por mim e por meus irmãos para que tivéssemos uma boa formação de caráter e educação, o esteio de nossa família. A guerreira a qual serei eternamente grata e que mesmo sabendo que tudo que eu faço não poderá demonstrar 1% do quão grata sou por tudo que ela fez e faz, e que mesmo assim não deixarei de tentar!

Agradeço ao meu pai José que me proporcionou as ferramentas necessárias para que eu conseguisse chegar aonde estou, que nunca me deixou preocupar com nada que não fosse os meus estudos e que mesmo sem entender procurava me perguntar sobre o que eu fazia e como isso implicava no mundo.

Ao meu irmão Gabriel, por todo o suporte durante os meus anos até aqui, por me levar as provas que me levaram a estar em uma universidade, por não poupar esforços para me ajudar. Agradeço ao meu amor Hudson, que me ajudou em momentos únicos, me estendendo a mão, me abraçando e me ajudando a passar por eles com fé e amor. Por me ajudar com contribuições valiosas em meu trabalho, pela disponibilidade e pela paciência, muito obrigada e eu te amo meu amor.

Agradeço aos meus avós Dona Sebastiana e Sr. Sebastião, parafraseando Bernardo de Chartres, se eu estou aqui, foi por estar sobre ombros de gigantes. Essa frase não poderia ter maior sentido, foram esses dois gigantes saídos da ‘roça’, com pouco estudo, trabalhando na terra e comendo o que ela fornece, sem acesso a muita informação que surgiu minha família. Foi nesse meio que os meus pais se conhecerem e deram a vida a mim e aos meus irmãos. Tenho orgulho de ser herdeira desses gigantes e de saber que meus avós viram a primeira neta formada em uma Universidade Federal e agora Mestre por ela.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Professor Antonio Carlos, que me deu uma riquíssima oportunidade em trabalhar com ele durante a iniciação científica, que me ajudou a ver o potencial na ciência brasileira e em mim. Que me ajudou a começar a trilhar o caminho como cientista e em uma linha de pesquisa desafiadora a qual não me vejo fora, e por me ajudar a segui-la no Mestrado. O meu muito obrigado.

Agradeço ao meu coorientador, Professor Guilherme, pela oportunidade de me apresentar ao universo dos ensaios biológicos e por me permitir ampliar minha formação em uma área diferente da minha. Estar em outro departamento, especialmente na Faculdade de Farmácia, foi um desafio que exigiu adaptação, aprendizado e abertura para novas formas de pensar a pesquisa científica. Sou grata pela confiança, pela orientação e por todo apoio ao longo dessa etapa. Estendo meus agradecimentos à Andrea, Allana, Nathália, Lorena e a todos do LDNano, pelo acolhimento, disponibilidade, pela ajuda nos experimentos e por tornarem esse processo mais leve e enriquecedor.

Agradeço aos professores Celly e Gustavo pelo auxílio e pelas contribuições durante o mestrado. Ao professor Gustavo, pelos ensinamentos nas disciplinas cursadas, e à professora Celly, pela participação na banca de qualificação. Agradeço também pela colaboração e generosidade ao disponibilizarem recursos importantes para o laboratório.

Agradeço aos amigos do LabNano, tanto aos que ainda fazem parte do grupo quanto àqueles que já seguiram novos caminhos: Laís, Cassiane, Paola, Rafael, Millena, Thayla, Daphne, Gabriela, Linus e Paulo Henrique. Obrigada pela amizade, pelas trocas, pelo companheirismo e por toda ajuda ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Cada conversa, orientação, gesto de apoio e momento compartilhado tornou esta caminhada mais leve e significativa.

Aos amigos que a universidade me presenteou ao longo desta trajetória: Ana Letícia, Daniel, Gabriel, Thaís, Bruno, Patrick e Gabriela Paiva, deixo minha gratidão por tornarem os dias mais leves, por dividirem comigo as alegrias, as dificuldades e as conquistas desta etapa.

Agradeço às agências de fomento CAPES, FAPEMIG e CNPq, bem como à UFJF, pelo apoio institucional, científico e financeiro concedido ao longo desta trajetória. À FAPEMIG, manifesto minha sincera gratidão pela concessão da bolsa de mestrado, auxílio fundamental para a dedicação às atividades acadêmicas e para o desenvolvimento desta pesquisa. O suporte dessas instituições foi essencial para a concretização deste trabalho e representa um importante incentivo à formação científica e ao fortalecimento da pesquisa no Brasil.

E em caso de não nos vermos mais, bom dia, boa tarde e boa noite. Deixo aqui o meu muito obrigada!

“Pois o Senhor concede sabedoria; de sua boca vem conhecimento e entendimento.”
(Provérbios 2,6, NVT).

RESUMO

O câncer permanece como um dos principais desafios da saúde pública mundial, sobretudo devido à baixa seletividade de muitos tratamentos convencionais e à ocorrência de efeitos adversos sistêmicos. Nesse contexto, derivados de dibenzalacetonas (DDB) apresentam interesse crescente em razão de sua estrutura conjugada, versatilidade química e potencial atividade antineoplásica. Este trabalho teve como objetivo avaliar a adsorção dos derivados DBD ((1E,4E)-1,5-bis[4-(dimetilamino)fenil]penta-1,4-dien-3-ona) e DBC ((1E,3E,6E,8E)-1,9-difenilnona-1,3,6,8-tetraen-5-ona) em nanopartículas de prata modificadas com agentes tiolados, bem como investigar as propriedades espectroscópicas e o potencial citotóxico dos sistemas híbridos obtidos. As nanopartículas de prata (AgNP) foram sintetizadas por redução com boroidreto e modificadas com 2-mercaptoetanol, 1-propanotiol e 1,3-propanoditiol. Os sistemas foram caracterizados pelas espectroscopias de absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS), Raman, infravermelho, por espalhamento dinâmico de luz e cálculos teóricos por Teoria do Funcional de Densidade (DFT) e, em particular, a espectroscopia de Espalhamento Raman Intensificada por Superfície (SERS; do inglês, *Surface-Enhanced Raman Scattering*). A atividade citotóxica foi avaliada pelo ensaio de MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) frente às linhagens tumorais A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28, além das linhagens sadias HaCaT e L929. Os resultados espectroscópicos indicaram que a modificação superficial das nanopartículas favoreceu a adsorção dos derivados orgânicos e a formação de regiões de intensificação do campo eletromagnético, permitindo a obtenção de espectros SERS. A comparação entre dados experimentais e teóricos demonstrou que DBD e DBC mantiveram sua integridade estrutural após interação com a superfície metálica, com intensificação seletiva de modos associados ao sistema π -conjugado, aos anéis aromáticos e ao eixo $C=C-C=O$. Nos ensaios biológicos, o sistema AgNPME+DBD apresentou citocompatibilidade em células sadias e maior efeito sobre A549 e MDA-MB-231. Já o sistema AgNPME+DBC mostrou perfil mais promissor, reduzindo a viabilidade das três linhagens tumorais avaliadas e preservando, na maioria das condições, a viabilidade das células sadias acima do limite de citocompatibilidade. Assim, os resultados sugerem que a associação entre derivados de dibenzalacetona e nanopartículas de prata modificadas representa uma estratégia promissora para intensificação do efeito antineoplásico e a espectroscopia SERS foi essencial nas estratégias de controle da adsorção dos princípios ativos.

Palavras-chave: *bis*-chalcona; nanoestruturas de prata; espectroscopia SERS; citotoxicidade metálica; fármacos híbridos.

ABSTRACT

Cancer remains one of the major challenges in global public health, mainly due to the low selectivity of many conventional treatments and the occurrence of systemic adverse effects. In this context, dibenzalacetone derivatives (DDB) have attracted increasing interest because of their conjugated structure, chemical versatility, and potential antineoplastic activity. This study aimed to evaluate the adsorption of the derivatives DBD ((1E,4E)-1,5-bis[4-(dimethylamino)phenyl]penta-1,4-dien-3-one) and DBC ((1E,3E,6E,8E)-1,9-diphenylnona-1,3,6,8-tetraen-5-one) onto silver nanoparticles modified with thiolated agents, as well as to investigate the spectroscopic properties and cytotoxic potential of the resulting hybrid systems. Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by borohydride reduction and modified with 2-mercaptoethanol, 1-propanethiol, and 1,3-propanedithiol. The systems were characterized by ultraviolet-visible absorption spectroscopy (UV-VIS), Raman spectroscopy, infrared spectroscopy, dynamic light scattering, and theoretical calculations based on Density Functional Theory (DFT), with particular emphasis on Surface-Enhanced Raman Scattering spectroscopy (SERS). Cytotoxic activity was evaluated using the MTT assay (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) against the tumor cell lines A549, MDA-MB-231, and SK-MEL-28, as well as the healthy cell lines HaCaT and L929. The spectroscopic results indicated that surface modification of the nanoparticles favored the adsorption of the organic derivatives and the formation of electromagnetic field enhancement regions, enabling the acquisition of SERS spectra. Comparison between experimental and theoretical data demonstrated that DBD and DBC maintained their structural integrity after interacting with the metallic surface, with selective enhancement of vibrational modes associated with the π -conjugated system, aromatic rings, and the C=C-C=O axis. In the biological assays, the AgNPME+DBD system showed cytocompatibility in healthy cells and a greater effect against A549 and MDA-MB-231 cells. The AgNPME+DBC system, in turn, showed a more promising profile, reducing the viability of the three evaluated tumor cell lines while preserving, under most conditions, the viability of healthy cells above the cytocompatibility threshold. Therefore, the results suggest that the association between dibenzalacetone derivatives and modified silver nanoparticles represents a promising strategy for enhancing the antineoplastic effect, and SERS spectroscopy was essential for monitoring the adsorption of the active compounds.

Keywords: *bis*-chalcone; silver nanostructures; SERS spectroscopy; metal-induced cytotoxicity; hybrid drugs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Equação química para a reação de síntese dos DDB via reação de Claisen-Schmidt.	22
Figura 2 - Esquema para ressonância de plásmon de superfície localizado para nanoestruturas metálicas.	25
Figura 3 - Modificadores de superfície: a) ME, b) PT, c) PDT.....	28
Figura 4 - Esquema representativo dos tipos de espalhamentos.	29
Figura 5 - Esquema representativo da AgNP modificada e funcionalizada com o seu campo elétrico intensificado.	30
Figura 6 - Estrutura das DDB utilizadas: a) DBD b) DBC.	32
Figura 7 - Espectro de extinção na região do UV-VIS da AgNP (A) e DLS (B).....	39
Figura 8 - Espectros de absorção na região do UV-VIS das DDB em acetato de etila.	40
Figura 9 - Espectro de extinção na região do UV-VIS das suspensões aquosas de A) AgNP, AgNPME e DBD; B) DBD e AgNPME + DBD tomados a cada 20 minutos, ao longo de 220 minutos.	41
Figura 10 - Espectro de extinção na região do UV-VIS das suspensões aquosas de A) AgNP, AgNP + ME e DBC; B) DBC e AgNP + ME + DBC tomados a cada 20 minutos, ao longo de 220 minutos.	42
Figura 11 - Espectros Raman da DBD sólida e SERS com e sem os modificadores.....	43
Figura 12 - Espectros SERS da DBD e do acetato de etila.	44
Figura 13 - Espectro Raman da DBD teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e Infravermelho (IV) de 1750 a 400 cm^{-1}	46
Figura 14 - Espectro Raman da DBD teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e Infravermelho (IV) de 3500 a 2200 cm^{-1}	47
Figura 15 - Espectros SERS da DBD experimental (A) e teórico (B).	50
Figura 16 - Geometrias otimizadas da DBD isolada (A) e na presença de um aglomerado de dez átomos de prata (B), em duas perspectivas diferentes.	52
Figura 17 - Espectros SERS da DBC e do acetato de etila.	55
Figura 18 - Espectro Raman da DBC teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e infravermelho (IV) de 1750 a 400 cm^{-1}	58
Figura 19 - Espectro Raman da DBC teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e infravermelho (IV) de 3500 a 2200 cm^{-1}	58
Figura 20 - Espectros SERS da DBC experimental (A) e teórico (B).....	60

Figura 21 - Geometrias otimizadas da DBC isolada (A) e na presença de um aglomerado de dez átomos de prata (B), em duas perspectivas diferentes.	61
Figura 22 - Espectros UV-VIS de extinção do sistema híbrido AgNPME+DBC antes e após centrifugação, em comparação ao controle AgNP sem DBC.....	63
Figura 23 - Curva analítica do DBC obtida por espectrofotometria UV-VIS na faixa de 1 a 6 mg/mL.	64
Figura 24 - Distribuição do tamanho hidrodinâmico por número das AgNP-ME-DBC (A) amostra sem centrifugação (SC); (B) amostra com centrifugação (CC).	66
Figura 25 - Viabilidade celular de HaCaT e L929 após 24 h de exposição à DBD livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBD em diferentes concentrações.....	70
Figura 26 - Viabilidade celular da linhagem tumoral A549 (A), MDA-MB-231 (B) e SK-MEL-28 (C) após 24 h de exposição à DBD livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBD em diferentes concentrações.	71
Figura 27 - Viabilidade celular de HaCaT (A) e L929 (B) após 24 h de exposição à DBC livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBC em diferentes concentrações.	74
Figura 28 - Viabilidade celular da linhagem tumoral A549 (A), MDA-MB-231 (B) e SK-MEL-28 (C) após 24 h de exposição à DBC livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBC em diferentes concentrações.	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tentativa de atribuição das bandas dos espectros Raman e SERS da DBD.	51
Tabela 2 - Tentativa de atribuição das bandas dos espectros Raman e SERS da DBC.....	54
Tabela 3 - Valores de absorvância e concentrações calculadas para o DBC a partir da curva analítica obtida por UV-VIS.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A549	<i>Human alveolar adenocarcinoma cell line</i>
ABC	<i>ATP-Binding Cassette</i>
ABCG2	<i>ATP-Binding Cassette Subfamily G Member 2</i>
ACAT1	<i>Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase 1</i>
AgNP	Nanopartícula de prata
AgNPM	Nanopartículas de prata modificadas com mercaptoetanol
AgNPM+DBC	Nanopartículas de prata modificadas com mercaptoetanol e DBC
AgNPM+DBD	Nanopartículas de prata modificadas com mercaptoetanol e DBD
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
AuNP	Nanopartícula de ouro
B3LYP	<i>Becke, 3-parameter, Lee–Yang–Parr</i>
BAX	<i>BCL2-Associated X Protein</i>
BCL2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
BCRJ	Banco de Células do Rio de Janeiro
CC	Com centrifugação
CCD	<i>Charge-Coupled Device</i>
CCL2	<i>C-C Motif Chemokine Ligand 2</i>
CXCL8	<i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 8</i>
DBC	$(1E,3E,6E,8E)^{-1},9$ -difenilnona ⁻¹ ,3,6,8-tetraen-5-ona
DBD	$(1E,4E)^{-1},5$ -bis[4-(dimetilamino)fenil]penta ⁻¹ ,4-dien-3-ona
DDB	Derivados de dibenzalacetona
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EUA	Estados Unidos da América
FT-Raman	<i>Fourier Transform Raman</i>
HaCaT	<i>Human immortalized keratinocyte cell line</i>
HCT-116	<i>Human colorectal carcinoma cell line</i>
Hsp90- α	<i>Heat Shock Protein 90 Alpha</i>

ICAM ⁻¹	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
IL ⁻¹ β	<i>Interleukin⁻¹ beta</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IV	<i>Infravermelho</i>
L929	<i>Murine fibroblast cell line</i>
LANL2DZ	<i>Los Alamos National Laboratory 2 Double-Zeta</i>
LDH	<i>Lactate Dehydrogenase</i>
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i>
LSPR	<i>Localized Surface Plasmon Resonance</i>
MDA-MB-231	<i>Human triple-negative breast cancer cell line</i>
ME	<i>2-mercaptoetanol</i>
MTT	<i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide</i>
Nd:YAG	<i>Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NP	<i>Nanopartícula</i>
OMS	<i>Organização Mundial da Saúde</i>
P.A.	<i>Para análise</i>
PA-1	<i>Human ovarian carcinoma cell line</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Solution</i>
PC3	<i>Human prostate cancer cell line</i>
PDT	<i>1,3-propanoditiol</i>
PT	<i>1-propanotiol</i>
p38	<i>p38 Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SBF	<i>Soro bovino fetal</i>
SC	<i>Sem centrifugação</i>
SERS	<i>Surface-Enhanced Raman Scattering</i>
SFB	<i>Soro fetal bovino</i>
SK-MEL-28	<i>Human melanoma cell line</i>
SNAIL	<i>Snail Family Transcriptional Repressor 1</i>
SNB	<i>Tumor cell line SNB</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
UI	<i>Unidade internacional</i>
UV-VIS	<i>Ultraviolet-visible</i>
V/PI	<i>Annexin V/Propidium Iodide</i>

VEDA	<i>Vibrational Energy Distribution Analysis</i>
VEGFR2	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
μ	Micro; prefixo equivalente a 10^{-6}
$\pm$	Mais ou menos
$\times$	Multiplicação
$<$	Menor que
$>$	Maior que
$=$	Igual
α	Alfa; constante utilizada na equação de intensidade Raman
β	Beta; posição beta em sistemas α,β -insaturados
δ	Deformação angular
ζ	Zeta; associado ao potencial zeta
λ	Comprimento de onda
ν	Ni; estiramento; também associado à frequência vibracional
π	Pi; associado ao sistema π -conjugado
τ	Tau; torção
Ω	Ohm; unidade de resistência elétrica
Ag^+	Íon prata
$\text{C}=\text{C}$	Ligação dupla carbono-carbono
$\text{C}=\text{O}$	Grupo carbonila
$-\text{OH}$	Grupo hidroxila
$-\text{SH}$	Grupo tiol ou sulfidril
$\text{S}-\text{Ag}$	Ligação enxofre-prata
Abs_{AM}	Absorbância da amostra
Abs_{CN}	Absorbância do controle negativo
A_i	Atividade Raman do modo vibracional i
c	Velocidade da luz no vácuo
h	Constante de Planck
n	Número de repetições ou número de amostras
p	Valor de significância estatística
T	Temperatura termodinâmica
x	Concentração do analito
y	Absorbância

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	CÂNCER	21
1.2	DERIVADOS DE DIBENZALACETONA	22
1.3	NANOPARTÍCULAS DE PRATA	24
1.4	MODIFICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA	26
1.5	ESPECTROSCOPIA DE ESPALHAMENTO RAMAN E SERS	28
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3	METODOLOGIA	32
3.1	MATERIAS	32
3.2	INSTRUMENTAÇÃO	33
3.2.1	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS)	33
3.2.2	Espectroscopia de espalhamento Raman	33
3.2.3	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	33
3.2.4	Análise de espalhamento dinâmico de luz	34
3.2.5	Estufa incubadora	34
3.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	34
3.3.1	Síntese de nanopartículas de prata	34
3.3.2	Metodologia computacional	35
3.3.3	Cultura de células	36
3.3.4	Ensaio de citotoxicidade	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	CARACTERIZAÇÃO UV-VIS DOS NANOMATERIAIS SINTETIZADOS E DOS DERIVADOS DE DIBENZALACETONAS	38
4.2	CARACTERIZAÇÃO RAMAN, SERS E NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS DERIVADOS DE DIBENZALACETONAS	42
4.2.1	DBD	42
4.2.2	DBC	53
4.3	<i>Drug Loading</i>	62
4.4	ENSAIO DE CITOTOXICIDADE	66
4.4.1	Ação antineoplásica da DBD	69
4.4.2	Ação antineoplásica da DBC	73
5	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	80

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

O câncer é uma doença multifacetada que resulta do crescimento descontrolado de células anormais, que se dividem de forma desregulada e podem invadir outros tecidos do corpo (Weinberg, 1996). As células cancerosas podem invadir tecidos adjacentes e disseminar-se para locais distantes no corpo, em um processo denominado metástase (Ruoslahti, 1996). O desenvolvimento do câncer envolve um processo complexo que geralmente começa com mutações do DNA das células, essas mutações podem ser causadas por diversos fatores, como exposição a substâncias químicas cancerígenas, radiação, infecções virais, fatores hereditários ou pela combinação desses fatores (Weinberg, 1996). Essas alterações no DNA resultam na desregulação de genes que controlam o ciclo celular como oncogenes, que promovem o crescimento celular, e genes supressores de tumor, que inibem o crescimento celular descontrolado, essa compreensão é consolidada pelo modelo dos *Hallmarks of Cancer* (Hanahan, 2022; Hanahan; Weinberg, 2000, 2011).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é uma das principais causas de morte no mundo responsável por cerca de 10 milhões de óbitos em 2020, o que equivale a quase uma em cada seis mortes globais. A OMS ressalta que aproximadamente 70% das mortes por câncer ocorrem em países de baixa e média renda onde barreiras de acesso à prevenção, ao diagnóstico precoce, ao tratamento e aos cuidados paliativos intensificam a carga da doença. Com isso, a prevenção, o diagnóstico precoce e o acesso a tratamentos eficazes são pilares essenciais na luta contra o câncer. A organização enfatiza a importância da prevenção, detecção precoce e de estratégias integradas para reduzir a carga global da doença, incluindo avanços no tratamento e nos cuidados paliativos (OMS, 2025).

Mesmo com os avanços observados nas últimas décadas os tratamentos antineoplásicos disponíveis atualmente ainda apresentam limitações importantes a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia continuam sendo os principais pilares do tratamento oncológico (Pourgholi *et al.*, 2021). No entanto, a quimioterapia convencional ainda apresenta baixa seletividade pois não atua apenas sobre as células tumorais, mas também pode afetar tecidos saudáveis, isso contribui para a toxicidade sistêmica e para o surgimento de efeitos adversos relevantes como anemia, náuseas, alopecia e mielossupressão (Pourgholi *et al.*, 2021; Smith & Prasad, 2021). Além disso, a resistência aos fármacos ainda representa um dos principais desafios na oncologia atual, podendo estar relacionada a alterações nos alvos moleculares,

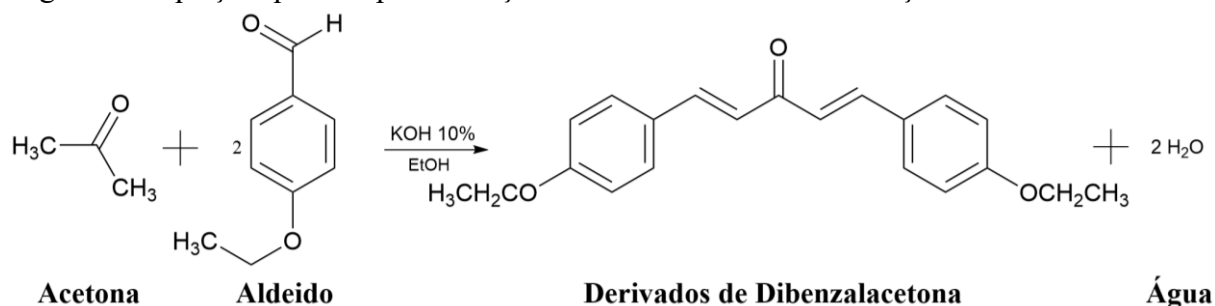
ativação de vias compensatórias, mudanças no metabolismo celular e aumento do efluxo dos compostos terapêuticos (Doostmohammadi *et al.*, 2024).

Esse cenário evidencia a necessidade de novos tratamentos anticancerígenos que apresentem maior seletividade, menor toxicidade e capacidade de atuar em diferentes alvos biológicos ao mesmo tempo. A literatura recente destaca que abordagens monoterápicas frequentemente se mostram insuficientes em doenças multifatoriais como o câncer (Doostmohammadi *et al.*, 2024; Makhoba *et al.*, 2020). Por essa razão, compostos com perfil multialvo tem sido considerados alternativas particularmente promissoras (Doostmohammadi *et al.*, 2024). Nesse contexto, os derivados de dibenzalacetona (DDB) têm despertado interesse crescente em função de sua versatilidade química, de seu potencial citotóxico e de sua possibilidade de otimização farmacológica (Chowrasia *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021).

1.2 DERIVADOS DE DIBENZALACETONA

Os DDB constituem uma classe de compostos orgânicos α,β -insaturados, caracterizados pela presença de dois anéis aromáticos conectados por uma ponte carbonílica conjugada obtida através da síntese de Claisen-Schmidt como demonstrado na Figura 1 (De Oliveira *et al.*, 2021b). Na literatura esses compostos podem aparecer também descritos como *Bis-chalconas* ou, em alguns casos, como derivados de chalcona, especialmente em trabalhos de síntese e avaliação biológica (De Oliveira *et al.*, 2021). Parte desses compostos também é tratada como análogos sintéticos da curcumina ou curcuminoides monocarbonílicos, principalmente quando resultam da substituição da fração β -dicetona da curcumina por um grupo monocarbonílico mais estável (Chowrasia *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021). Ao longo deste trabalho foi adotada de forma padronizada a denominação DDB.

Figura 1 - Equação química para a reação de síntese dos DDB via reação de Claisen-Schmidt.



Fonte: Adaptado de (De Oliveira *et al.*, 2021a)

Os DDB são moléculas que apresentam atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiparasitária e antitumoral (Abreu *et al.*, 2024; De Oliveira *et al.*, 2021a; Vanchinathan *et al.*, 2011). Essa atividade biológica está fortemente associada ao sistema conjugado dessas moléculas e da possibilidade de introdução de substituintes aromáticos ou heterocíclicos capazes de modular propriedades eletrônicas, reatividade e perfil farmacológico (Aarthi *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021a). A atividade antitumoral dessas moléculas está fortemente associada à presença do sistema α,β -insaturado carbonílico que atua como um centro eletrofílico suscetível à adição de nucleófilos biológicos. Tal interação desencadeia a modulação de vias intracelulares incluindo a inibição da proliferação celular, a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS; do inglês, *Reactive Oxygen Species*), a indução de estresse oxidativo e a ativação de vias apoptóticas dependentes de caspases (Kim *et al.*, 2016; Olender *et al.*, 2024; Sekar; Kumar; Raju, 2023)

No contexto antineoplásico, os DDB têm sido explorados tanto por suas propriedades físico-químicas quanto por seu potencial citotóxico em diferentes linhagens tumorais (Chowrasia *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2021). Oliveira *et al.*, (2021) relatam que DDB apresentaram resultados promissores contra células tumorais, com destaque para linhagens de câncer colorretal (Oliveira *et al.*, 2021). No mesmo estudo, dois derivados um etoxilado e um clorado, foram avaliados em células HCT-116 (carcinoma colorretal humano; do inglês, *Human Colorectal carcinoma*), SNB (linhagem celular tumoral humana; do inglês, *Surgical Neurology Branch*) e PC3 (câncer de próstata; do inglês, *Prostate Cancer*), sendo observada melhor resposta em HCT-116 o que sugere dependência do efeito antiproliferativo em relação ao tipo celular e ao padrão de substituição aromática (De Oliveira *et al.*, 2021a; De Oliveira; Da Silva Martini; Carlos Sant'Ana, 2022). Resultados igualmente relevantes foram descritos por Chowrasia *et al.*, (2021), que investigaram seis derivados de 1,5-diarilpenta-1,4-dien-3-ona em células de carcinoma ovariano humano PA-1 e adenocarcinoma pulmonar humano A549. Por meio do ensaio de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium) os autores demonstraram atividade antiproliferativa para todos os compostos avaliados. O estudo também descreveu fragmentação nuclear e aumento de ROS, sugerindo indução de apoptose como mecanismo de ação. Além disso, as análises *in silico* indicaram interação favorável desses derivados com alvos anticâncer como EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico; do inglês, *Epidermal Growth Factor Receptor*), Hsp90- α (proteína de choque térmico 90 alfa; do inglês, *Heat Shock Protein 90 Alpha*) e VEGFR2 (receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular; do inglês, *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2*), reforçando o potencial multialvo dos DDB.

A relevância dos DDB é ampliada quando se considera sua relação estrutural com os curcuminoides monocarbonílicos. Oliveira *et al.*, (2020) demonstraram que a substituição da fração β -dicetona da curcumina por um grupo monocarbonílico melhora a estabilidade química em pH acima de 6,5, além de favorecer a atividade biológica. Embora esse estudo tenha sido direcionado principalmente à modulação de bombas de efluxo, seu raciocínio é pertinente para a oncologia, uma vez que o efluxo ativo também constitui um mecanismo importante de resistência em células tumorais (De Oliveira *et al.*, 2021a; Housman *et al.*, 2014). Assim, os DDB se destacam não apenas pelo potencial citotóxico direto, mas também pela possibilidade de interferir em processos associados à falha terapêutica.

Em conjunto, esses dados sustentam a proposta de que os DDB representam uma plataforma química promissora para o desenvolvimento de novos agentes anticancerígenos. Sua plasticidade sintética, seu potencial multialvo e os resultados já obtidos em ensaios celulares justificam o interesse crescente por essa classe de compostos como alternativa de terapias mais eficazes e seletivas (Chowrasia *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021a; Doostmohammadi *et al.*, 2024).

1.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

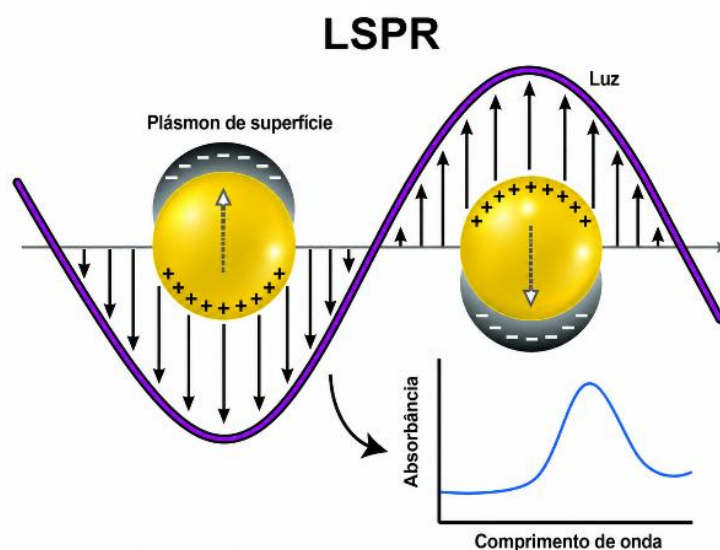
As nanopartículas de prata (AgNP) têm se destacado entre os nanomateriais metálicos mais investigados para aplicações biomédicas, em razão de suas propriedades físico-químicas, biológicas e ópticas dependentes do tamanho, da forma, da composição e da funcionalização superficial (Gherasim *et al.*, 2020; Lee; Jun, 2019). De modo geral, esses nanomateriais são descritos na faixa nanométrica classicamente associada a partículas entre 1 e 100 nm, dimensão que lhes confere elevada razão área superficial/volume e comportamento distinto em relação à prata em escala macroscópica (Karunakar *et al.*, 2024; Ong *et al.*, 2013). Essa combinação entre pequena dimensão, alta área superficial e possibilidade de controle morfológico favorece interações intensas com sistemas biológicos e amplia a versatilidade das AgNP em terapêutica, diagnóstico e engenharia biomédica (Lee; Jun, 2019; Pasparakis, 2022).

Do ponto de vista biológico, as AgNP apresentam atividade intrínseca relevante, envolvendo as propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais (Gherasim *et al.*, 2020; Karunakar *et al.*, 2024). No contexto oncológico, seu interesse decorre da capacidade de desencadear alterações celulares associadas à morte de células tumorais, especialmente por mecanismos relacionados à liberação de íons prata, ao estresse oxidativo e à desregulação de funções celulares essenciais (Gomes; Martins; Prior, 2021; Ong *et al.*, 2013). A literatura

revisada aponta que a internalização das AgNP pode resultar em geração de espécies reativas, dano mitocondrial, alteração do equilíbrio redox, comprometimento da integridade de membranas e indução de apoptose, o que sustenta seu potencial como agentes antineoplásicos (Gomes; Martins; Prior, 2021; Karunakar *et al.*, 2024; Ong *et al.*, 2013). Além disso, revisões recentes indicam que as AgNP podem reduzir efeitos adversos de quimioterápicos quando empregadas como sistemas de transporte, ao mesmo tempo em que contribuem com uma ação biológica própria, potencialmente sinérgica ao fármaco carregado (Coppoli Lanferini *et al.*, 2025; Gomes; Martins; Prior, 2021a; Karunakar *et al.*, 2024).

Outro aspecto central das AgNP reside em suas propriedades ópticas. Como nanopartículas metálicas plasmônicas, elas exibem ressonância plasmônica de superfície localizada, fenômeno associado à oscilação coletiva dos elétrons de condução quando excitados por radiação eletromagnética (Boca *et al.*, 2011; Pasparakis, 2022). Essa propriedade pode ser explorada em aplicações fototérmicas e espectroscópicas, uma vez que a absorção de luz pelas AgNP pode ser convertida em calor localizado ou em intenso aumento de campo eletromagnético na superfície da nanopartícula (Boca *et al.*, 2011; Moskovits, 2005). Em sistemas adequadamente estruturados, isso favorece aplicações em terapia fototérmica e em técnicas como o espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS), úteis tanto para fins analíticos quanto para monitoramento molecular em sistemas nanoestruturados (Jun *et al.*, 2010; Moskovits, 2005).

Figura 2 - Esquema para ressonância de plásmon de superfície localizado para nanoestruturas metálicas.



Fonte: Adaptado de Masson, 2020.

As AgNP também apresentam grande interesse como plataformas carreadores, uma vez que sua superfície pode ser funcionalizada com polímeros, peptídeos, anticorpos e outros ligantes, modulando estabilidade coloidal, biocompatibilidade e especificidade de interação com células-alvo (Holgado *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2021; Pasparakis, 2022). Essa possibilidade de modificação superficial é particularmente importante em oncologia, pois permite projetar nanosistemas com maior permanência em circulação, melhor interação com o microambiente tumoral e maior seletividade de entrega do composto terapêutico (Holgado *et al.*, 2012; Yih; Al-Fandi, 2006). Além disso, o uso de nanopartículas como sistemas de liberação surge justamente como resposta às limitações dos métodos convencionais de administração de fármacos, que frequentemente apresentam distribuição inespecífica, biodisponibilidade reduzida e toxicidade sistêmica (Yih; Al-Fandi, 2006).

Dessa forma, as AgNP podem ser compreendidas como plataformas multifuncionais de grande interesse para a terapêutica anticâncer, por reunirem em um mesmo sistema propriedades estruturais ajustáveis, atividade antitumoral intrínseca, comportamento óptico plasmônico e capacidade de carregamento de moléculas bioativas (Gherasim *et al.*, 2020; Gomes; Martins; Prior, 2021; Lee; Jun, 2019). Nesse contexto, sua associação a compostos com potencial citotóxico, como os DDB, mostra-se particularmente promissora, uma vez que permite combinar as propriedades biológicas próprias das AgNP com a atividade antineoplásica já descrita para essa classe de moléculas, configurando uma estratégia racional para o desenvolvimento de sistemas terapêuticos mais eficazes e seletivos. (Chowrasia *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021; Gomes; Martins; Prior, 2021).

1.4 MODIFICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

A modificação superficial de nanoestruturas metálicas é uma estratégia essencial para ajustar a interação entre nanopartículas metálicas e moléculas orgânicas, influenciando a estabilidade, a orientação de adsorção e o desempenho em diferentes aplicações. Dentre os agentes modificadores mais estudados pode-se destacar o 1-propanotiol (PT), o 1,3-propanoditiol (PDT) e o 2-mercaptoetanol (ME) como estão destacados na Figura 3. O ME é um tiol de cadeia curta com alta afinidade por superfícies de prata e ouro, devido à forte interação metal–enxofre. Em baixas concentrações, o ME se liga à superfície da prata através da ligação S-Ag com formação de monocamada, e expõe seu grupo hidroxila (-OH), capaz de interagir com moléculas orgânicas ricas em elétrons π , como as DDB. Essa configuração resulta

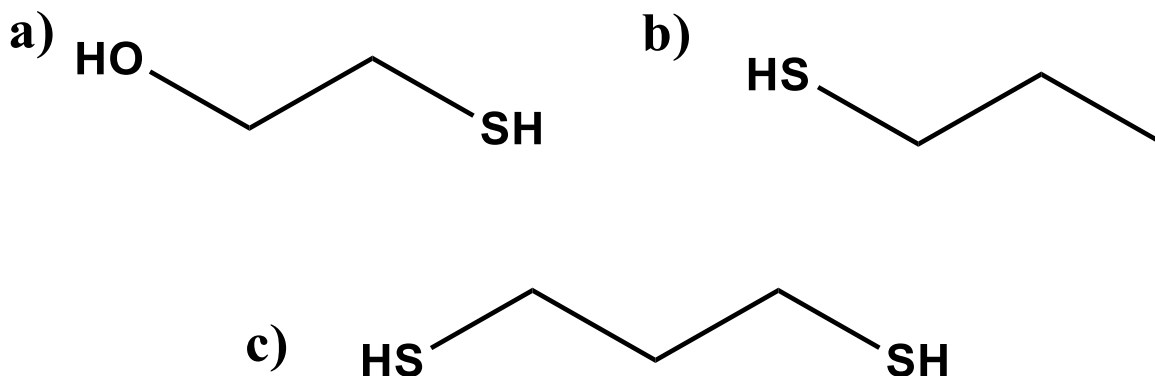
em adsorção ordenada e estável, sem bloquear por completo os sítios ativos da nanopartícula (Filgueiras *et al.*, 2016).

As DDB, compostos α,β -insaturados altamente conjugados, exibem elevada afinidade por superfícies metálicas e participam de processos de transferência (Hussain; Pu; Sun, 2021; Tarabara; Nabiev; Feofanov, 1998). Quando ancoradas sobre AgNP modificadas com ME, essas moléculas interagem preferencialmente por suas regiões carbonílicas (C=O) e vinílicas (C=C) (Filgueiras *et al.*, 2016; Tarabara; Nabiev; Feofanov, 1998; Hussain; Pu; Sun, 2021). Essa modificação evita interações diretas e desordenadas entre os grupos carbonílicos e a prata, aumentando a disponibilidade dos sítios ativos. Do ponto de vista espectroscópico, a modificação com ME altera a estrutura eletrônica e a resposta plasmônica das nanopartículas. Estudos demonstram que essa funcionalização intensifica as bandas no espectro SERS, efeito atribuído à maior transferência de carga metal-ligante (Hong; Li, 2013). No caso das DB, esse processo pode potencializar propriedades fotoativas e redox, essenciais para a ação antineoplásica (Potara *et al.*, 2013).

Biologicamente, o controle da ancoragem mediado pelo ME amplia o potencial citotóxico e antineoplásico das DDB. A combinação da geração de ROS pela prata e da capacidade das DDB de induzir apoptose e dano ao DNA resulta em sinergia terapêutica significativa (Potara *et al.*, 2013). Assim, o uso do ME como modificador de superfície em AgNP funcionalizadas com DDB representa uma abordagem inovadora para o desenvolvimento de sistemas antineoplásicos inteligentes, capazes de combinar estabilidade coloidal, seletividade e eficácia terapêutica.

Além do ME, outros modificadores tiolados têm sido utilizados para auxiliar na química superficial das AgNP, como o PT e o PDT, como mostrados na Figura 3. O 1-propanotiol é um tiol monofuncional que se liga fortemente à prata, formando monocamadas compactas e altamente hidrofóbicas (Madzharova; Heiner; Kneipp, 2020). Essa característica tende a reduzir a acessibilidade de moléculas polares à superfície metálica, o que pode ser vantajoso quando se busca limitar a dessorção em meios aquosos ou biológicos (Potara *et al.*, 2013). Já o 1,3-propanoditiol apresenta duas terminações tiol ($-SH$), permitindo uma ancoragem bidentada ou a ponteamento entre nanopartículas adjacentes (Cañamares *et al.*, 2004). Essa característica promove maior estabilidade química e estrutural, além de favorecer o acoplamento eletrônico entre as nanopartículas, intensificando o efeito SERS e a resposta óptica local.

Figura 3 - Modificadores de superfície: a) ME, b) PT, c) PDT.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

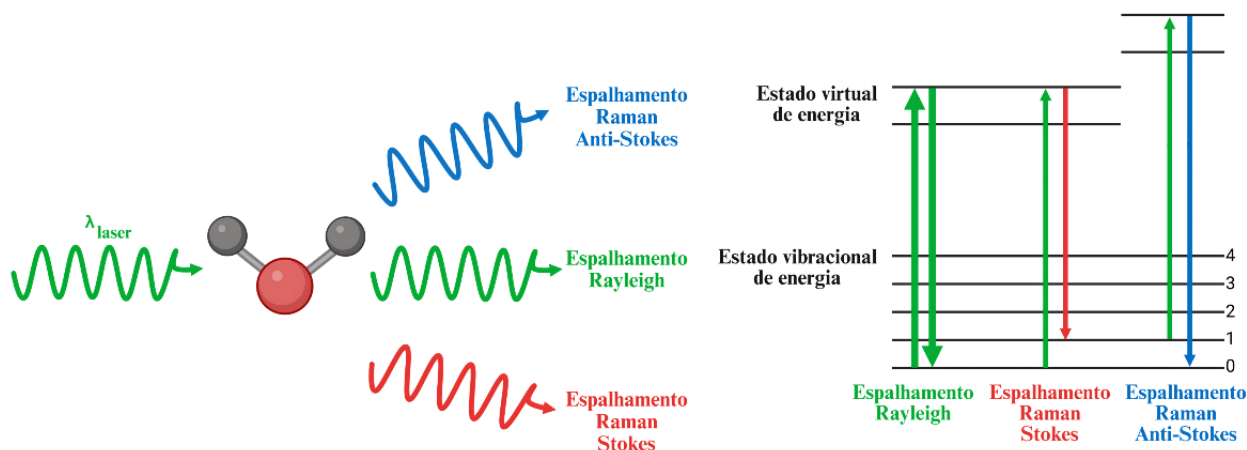
A escolha do modificador, portanto, depende do equilíbrio desejado entre estabilidade, acessibilidade e reatividade superficial. Enquanto o ME favorece interações intermoleculares e mantém a superfície parcialmente exposta, o PT oferece uma camada protetora mais densa e hidrofóbica, e o PDT permite a interconexão de nanopartículas, aumentando a intensidade do campo elétrico local, aspecto relevante para processos fotoinduzidos e terapias antineoplásicas baseadas na geração de ROS (Filgueiras *et al.*, 2016; Gomes; Martins; Prior, 2021). Biologicamente, o controle da ancoragem mediado por modificadores tiolados pode ampliar o potencial citotóxico e antineoplásico das DDB. Dessa forma, o uso racional de modificadores como ME, PT e PDT em AgNP funcionalizadas com DDB representa uma abordagem inovadora para o desenvolvimento de nanossistemas antineoplásicos inteligentes, capazes de unir estabilidade coloidal, seletividade química e eficácia terapêutica.

1.5 ESPECTROSCOPIA DE ESPALHAMENTO RAMAN E SERS

Como está demonstrado na figura 4, existem dois tipos de espalhamento inelástico: o espalhamento Raman do tipo Stokes, que ocorre quando a molécula sai do estado vibracional fundamental e retorna para um estado vibracional excitado e o espalhamento Raman anti-Stokes, que ocorre quando uma molécula que já se encontra em um estado vibracional excitado retorna a um estado vibracional de menor energia que o anterior. Um dos problemas relacionados à espectroscopia Raman é que apenas um em cada 10^6 fótons sofrem espalhamento inelástico (Sala, 2011). Uma alternativa para isso é a técnica espectroscópica de Espalhamento Raman Intensificada por Superfície (SERS – *Surface-Enhanced Raman Scattering*), uma técnica que combina as propriedades plasmônicas de metais de cunhagem como Au, Ag, e Cu,

com as de vantagens intrínsecas da espectroscopia Raman, visando aumentar a intensidade do sinal Raman de espécies adsorvidas na superfície dos nanomateriais citados, como as AgNP (Sala, 2011).

Figura 4 - Esquema representativo dos tipos de espalhamentos.

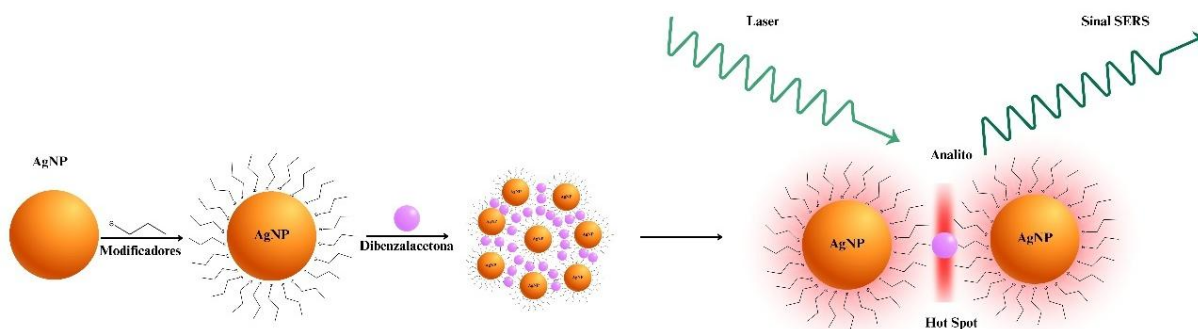


Fonte: Adaptado de Liu *et al.*, 2022.

A espectroscopia SERS é uma poderosa técnica que intensifica o sinal Raman de moléculas localizadas adsorvidas ou próximas a superfícies metálicas nanoestruturadas. Desde sua descoberta, o efeito SERS tem permitido a detecção de moléculas em concentrações extremamente baixas, tornando-se uma ferramenta essencial em diversas áreas, como a química, a biologia, ciências biomédicas e ambientais, segurança em alimentos, ciência dos materiais etc. (De Oliveira; Da Silva Martini; Carlos Sant'Ana, 2022). A eficácia do efeito SERS depende, principalmente, da ressonância dos *plásmons* de superfície localizada das nanopartículas metálicas, a qual é promovida pela radiação incidente. Essa ressonância está diretamente relacionada a fatores estruturais das nanopartículas, como o tamanho, o formato e a composição, que determinam a intensidade e a distribuição do campo eletromagnético intensificado na superfície (Xia; Campbell, 2007). Além disso pode ocorrer a aglomeração de duas ou mais AgNP e promovendo a intensificando seu campo elétrico nos chamados *hot spots* responsáveis também por promover uma intensificação do efeito SERS nesses pontos. Nanopartículas de metais como prata, ouro e cobre são amplamente utilizadas como substratos SERS devido às suas propriedades plasmônicas que confere para esses metais a capacidade ocorrência do LSPR quando excitados com radiação geralmente na região do visível (Moskovits, 2005). Quando se utilizam AgNP, estas intensificam o campo eletromagnético local quando a luz incide sobre elas, resultando em um aumento significativo no sinal Raman das moléculas próximas à superfície das nanopartículas (Gomes; Martins; Prior, 2021a).

A Figura 5 apresenta o esquema experimental adotado neste trabalho, ilustrando o processo de modificação das nanopartículas de prata com os agentes modificadores, ME, PT e PDT, utilizados para promover maior afinidade entre a superfície metálica e as DDB. Essa modificação visa favorecer a adsorção das DDB sobre a superfície das AgNP, otimizando as condições para a obtenção dos espectros SERS e possibilitando uma melhor caracterização das interações entre os sistemas híbridos. Além disso, essa abordagem contribui para o desenvolvimento de estratégias de *drug delivery*, uma vez que a combinação entre as AgNP funcionalizadas e as DDB pode potencializar a liberação controlada em células tumorais, ampliando o potencial terapêutico dos sistemas estudados.

Figura 5 - Esquema representativo da AgNP modificada e funcionalizada com o seu campo elétrico intensificado.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste projeto foi realizar a adsorção de duas diferentes DDB na superfície de AgNP, utilizando modificadores de superfície para melhorar essa interação e, assim, avaliar o potencial terapêutico *in vitro* desses nanoconjugados no tratamento de células cancerosas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

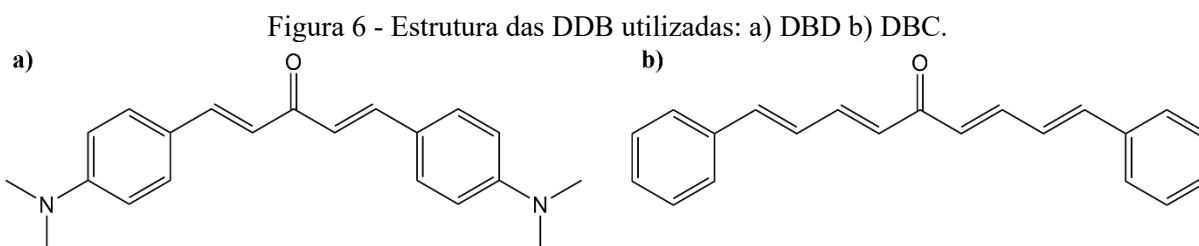
- Sintetizar e caracterizar as AgNP;
- Caracterizar as DDB puras por espectroscopia Raman e Infravermelho;
- Caracterizar as possíveis geometrias de adsorção das DDB em AgNP puras e modificadas por DLS, espectroscopias UV-VIS, Raman, SERS e cálculos computacionais;
- Avaliar o potencial citotóxico das DDB e das AgNP frente às linhagens tumorais (MDA-MB-231, SK-MEL-28 e A549), bem como em células saudáveis (HaCaT e L929);

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAS

Neste projeto foram empregados os seguintes reagentes: nitrato de prata (AgNO_3 ; Sigma-Aldrich), boroidreto de sódio (NaBH_4 ; Sigma-Aldrich), acetato de etila P.A. ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$; Synth), dimetilsufóxico (DMSO; Sigma-Aldrich), azul de tripan (Sigma-Aldrich) e água deionizada (resistividade de 18, 2 $\text{M}\Omega\text{ cm}$). Todos os reagentes utilizados nesse trabalho apresentam alto grau de pureza, segundo as informações dos fabricantes, e foram utilizados sem qualquer etapa de purificação prévia aos experimentos.

Os dois compostos de DDB (Fig.6), como DBD ((1*E*,4*E*)-1,5-bis(4-(dimetilamino)fenil)penta-1,4-dieno-3-ona e DBC ((1*E*,3*E*,6*E*,8*E*)-1,9-difenilnona-1,3,6,8-tetraeno-5-ona), foram cedidos pelos professores Alexandre M. R. Teixeira e Hécio S. Santos, da Universidade Regional do Cariri e da Universidade Estadual do Vale do Acaraú, respectivamente.



Fonte: Elaborada pela autora (2026).

As linhagens celulares imortalizadas A549 (adenocarcinoma alveolar humano), MDA-MB-231 (câncer de mama triplo-negativo em estágio avançado), SK-MEL-28 (melanoma humano), HaCaT (queratinócitos humanos não tumorais) e L929 (fibroblastos murinos) foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e mantidas conforme as recomendações do banco. As células foram cultivadas em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de L-glutamina, 4500 mg L^{-1} de glicose, $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de piruvato de sódio, 10% de soro bovino fetal (SBF) e 1% de solução de penicilina-estreptomicina. As garrafas contendo as culturas celulares foram mantidas em estufa a 37°C , sob atmosfera umidificada com 5% de CO_2 .

Foram preparadas e utilizadas solução de 2-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich) de concentração $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, solução de 1,3-propanoditiol (Sigma-Aldrich) de concentração $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, solução de 1-propanotiol (Sigma-Aldrich) de concentração $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$,

PBS (do inglês *Phosphate Buffer Solution* – solução tampão de fosfato) com pH ~ 7,4 (PBS), solução de Tripsina/EDTA 0, 25%, soro bovino fetal (SBF), Penicilina, Estreptomicina, DMEM (do inglês: *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) e sal tetrazólico (MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium]}).

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

3.2.1 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS)

Espectrômetro Ocean Optics USB 2000+XR1–ES, com resolução de 1 nm operando na região de 188 a 1080 nm, com fontes de tungstênio e deutério, para obtenção do espectro de absorção UV-VIS, empregando cubeta de quartzo de 0,5 cm de caminho óptico. Para a avaliação da viabilidade celular, foram lidas as microplacas de 96 poços no espectrofotômetro Epoch Microplate Spectrophotometer (Agilent BioTek, Gen5, versão 3.08) a 540 nm.

3.2.2 Espectroscopia de espalhamento Raman

Foi utilizado o espectrômetro FT-Raman Bruker-RFS⁻¹00, equipado com um detector de germânio refrigerado por nitrogênio líquido, com linha de excitação a laser Nd-YAG de 1064 nm, faixa de potência de 50 a 100 mW e 256 scans. Foi utilizado também o espectrômetro dispersivo Raman dispersivo Bruker modelo Senterra, equipado com detector de carga acoplada (CCD) resfriado termoeletricamente e linha laser de excitação com comprimento de onda de emissão de 532 de um laser em estado sólido de Nd:YAG (do inglês, *Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet*) de frequência dobrada e acoplado à microscópio óptico Olympus modelo BX51, utilizando-se o tempo por coadição de acumulação de 100 segundos em cada medida.

3.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrômetro infravermelho Bruker modelo Vertex70, com módulo Hyperion acoplado, utilizando um módulo de refletância total atenuada, ATR (do inglês; *Attenuated Total Reflectance*), com

superfície de diamante, resolução de 4 cm^{-1} e faixa espectral entre 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , e 256 scans, detector RT-DLaTGS e fonte Air-Cooled MIR.

3.2.4 Análise de espalhamento dinâmico de luz

O equipamento de espalhamento dinâmico de luz – DLS (do inglês, *Dynamic Light Scattering*) Malvern Zetasizer modelo Nano ZS90 foi empregado para medidas do diâmetro hidrodinâmico de partículas e de potencial- ζ , operando com laser em estado gasoso de He-Ne de comprimento de onda 632,8 nm e detecção do espalhamento à 90° com relação a radiação incidente, utilizando-se cubetas de vidro de 1,0 nm de caminho óptico.

3.2.5 Estufa incubadora

A incubação das linhagens celulares utilizadas nos ensaios citotóxicos foi realizada em estufa incubadora umidificada Panasonic, modelo COM⁻¹8ACL-PA, EUA, projetada para o cultivo de células sob condições controladas. O equipamento opera a 37°C , sob atmosfera úmida com 5% de CO_2 . A estufa é dotada de controle digital de temperatura, concentração de CO_2 e umidade, com precisão de $\pm 0,1^\circ\text{C}$ e $\pm 0,1\%$ de CO_2 , além de um sistema de umidificação automática que minimiza a evaporação dos meios e mantém a estabilidade osmótica das culturas.

3.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.3.1 Síntese de nanopartículas de prata

A síntese de nanopartículas de prata foi conduzida com base no método de Creighton (Creighton; Blatchford; Albrecht, 1979), utilizando 5,0 mL de solução aquosa de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ e 15,0 mL de NaBH_4 $2 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$. Ambas as soluções foram colocadas em banho de gelo por 5 minutos para resfriamento. Em seguida, a solução de NaBH_4 foi mantida sob agitação no banho de gelo e toda a solução de AgNO_3 foi adicionada rapidamente. A mistura foi mantida sob agitação por alguns minutos para completar a reação, após a agitação, foi interrompida. A formação e estabilidade da AgNP foi indicada pela observação de uma coloração amarelo intenso, e banda LSPR no espectro UV-VIS após 24h da realização da síntese.

A funcionalização das AgNP foi realizada com três agentes modificadores contendo grupos tiol: ME, PDT e PT, todos preparados em solução aquosa a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Para o processo de modificação superficial, as AgNP serão misturadas a cada solução de tiol nas proporções 9:1 (v/v), correspondentes às combinações AgNP:ME, AgNP:PDT e AgNP:PT, respectivamente.

3.3.2 Metodologia computacional

Os cálculos mecânico-quânticos foram realizados nos pacotes Gaussian 09 e Gauss View 5.0 (Frisch *et al.*, 2016), considerando critérios de convergência padrão configurados no *software*. A otimização das geometrias e suas interações com cluster de dez átomos de prata, foram realizadas por Teoria do Funcional de Densidade – DFT (do inglês, *Density Functional Theory*) (Hohenberg; Kohn, 1964), utilizando-se Aproximação de Gradiente Generalizado e funcional híbrido de troca-correlação de Becke, 3-parâmetros, Lee–Yang–Parr (B3LYP)(Becke, 1993; Lee; Yang; Parr, 1988). Na descrição de todos os orbitais moleculares foi utilizada base de funções duplo-zeta com orbitais atômicos com formato de gaussianas complementadas com funções difusas e de polarização *d* e *p* para átomos não hidrogenóides – 6-31G(d,p). Pseudopotencial LANL2DZ foi empregado nas otimizações envolvendo átomos de prata isolados ou em interação com DBD, atuando na descrição dos orbitais das camadas internas e camada de valência do metal.

Frequências harmônicas foram calculadas pelas diagonalização da matriz Hessiana de coordenadas internas, o que caracteriza cada estrutura como ponto de mínimo na superfície de energia potencial. Tais cálculos foram realizados ao mesmo nível de teoria da otimização de geometria, e mesmas condições de temperatura e pressão, 298,15 K e 1,0 atm. Após os cálculos das frequências vibracionais ($\bar{\nu}_i$; in cm⁻¹), suas atividades Raman (A_i ; in Å⁴ amu⁻¹) foram usadas para calcular a intensidade de cada modo normal de vibração (I_i) através da Equação 1 (de Oliveira; Sant’Ana, 2023; Marques *et al.*, 2022).

$$I_i = \frac{A_i \alpha (\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_i)^4}{\bar{\nu}_i \left(1 - e^{-\frac{hc\bar{\nu}_i}{k_B T}} \right)} = \frac{A_i \alpha (\nu_0 - \nu_i)^4}{c^3 \nu_i \left(1 - e^{-\frac{h\nu_i}{k_B T}} \right)} \quad (1)$$

onde α é uma constante (10^{-12}), $\bar{\nu}_0/\nu_0$ é número de onda / frequência do laser (em cm⁻¹/s⁻¹), h é a constante de Planck ($6,6261 \times 10^{-34}$ J s), c é a velocidade da luz no vácuo ($2,9980 \times 10^{10}$ cm s⁻¹), k_B é a constante de Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-23}$ J K⁻¹) e T é a temperatura

termodinâmica (298,15 K). A largura a meia altura das bandas Raman e SERS nos espectros teóricos foram ajustadas para 10 cm^{-1} . A atribuição dos espectros foi realizada com auxílio do *software Vibrational Energy Distribution Analysis 4* (VEDA 4) (Jamróz, 2010, 2013), e com a observação dos modos normais de vibração em *software* Gauss View 05, quando necessário.

3.3.3 Cultura de células

A linhagem de HaCat e células tumorais MDA-MB-231, SK-MEL-28 e A549 foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10,0% de SBF e 1,0% da solução dos antibióticos [Penicilina (100 UI mL^{-1}) e Estreptomicina ($100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$)] em garrafas de cultura de $75,0\text{ cm}^3$ (Nest) e mantida em estufa incubadora umidificada a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com atmosfera de 5,0% de CO_2 até atingir 80% de confluência. Em seguida, removeu o meio, lavou com PBS e adicionou-se 2,0 mL de solução de tripsina/EDTA 0,25% às garrafas de cultura, incubando por 4 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com atmosfera de 5,0% de CO_2 . Após isso, serão acrescentados 5,0 mL de meio DMEM suplementado com 10,0% de SBF e 1,0% da solução de antibióticos para inativação da enzima. O meio contendo as células foi recolhido e transferido para um tubo de centrifugação estéril de 15,0 mL, e a centrifugação foi realizada a 3500 rpm por 5 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e as células serão ressuspensas em meio DMEM suplementado com 10,0% SBF e 1,0% de solução de antibióticos. As suspensões de células foram diluídas $10\times$ diretamente no corante Azul de Tripán para contagem em câmara de Neubauer, iniciando o ensaio de viabilidade celular.

3.3.4 Ensaio de citotoxicidade

A citotoxicidade das DDB, das AgNP e das AgNP contendo DDB foi avaliada frente às linhagens celulares de adenocarcinoma pulmonar humano (A549), adenocarcinoma mamário humano (MDA-MB-231), melanoma humano (SK-MEL-28), queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT) e fibroblastos murinos (L929) por meio do ensaio do metabolismo do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de acordo com o método descrito por Mosmann (1983).

As células foram cultivadas em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibióticos (penicilina - 100 UI/mL e estreptomicina - 100 mg/mL), sob atmosfera umidificada contendo 5% de CO_2 a 37

°C. Para a realização do ensaio, as células foram semeadas em microplacas estéreis de 96 poços, na densidade de 5×10^3 células/poço, contendo 100 µL de meio de cultura, e incubadas por 24 horas para permitir a adesão celular.

Após esse período, o meio de cultura foi removido e substituído por 100 µL de meio DMEM suplementado contendo as amostras em estudo. As AgNP contendo DDB foram avaliadas nas concentrações de 3,125; 6, 25; 12,5; 25 e 50 µg/mL, enquanto as DDB livres foram testadas nas concentrações de 25 e 50 µg/mL. Adicionalmente, foram avaliadas AgNP sem DDB (AgNP puras). Todas as análises foram realizadas em quintuplicata (n = 5).

As amostras foram previamente solubilizadas em acetato de etila, sendo a concentração final do solvente limitada a 2% (v/v). Para avaliar uma possível interferência do solvente sobre a viabilidade celular, um grupo contendo apenas meio de cultura suplementado com 2% (v/v) de acetato de etila foi incluído como controle do solvente. Após a adição das amostras, as células permaneceram incubadas por 24 horas a 37 °C e 5% de CO₂.

Ao término do período de tratamento, o meio de cultura foi removido e os poços foram lavados com solução tampão fosfato-salina (PBS, pH 7,4). Em seguida, foram adicionados 90 µL de meio DMEM fresco e 10 µL de solução de MTT (5 mg/mL), mantendo-se as placas incubadas por 4 horas nas mesmas condições. Após a formação dos cristais de formazan, o sobrenadante foi removido e os cristais foram solubilizados com 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). A absorbância foi determinada em leitor de microplacas no comprimento de onda de 540 nm.

Poços contendo apenas meio de cultura DMEM foram utilizados como controle negativo e considerados como 100% de viabilidade celular. A porcentagem de viabilidade celular das amostras tratadas foi calculada a partir das médias das absorbâncias obtidas, considerando-se a absorbância média do controle negativo como referência, conforme apresentado na Equação 2. De acordo com os critérios estabelecidos pela norma ISO 10993-5:2009, valores de viabilidade celular inferiores a 70% foram considerados indicativos de efeito citotóxico.

$$Viabilidade\ celular = \frac{Abs\ AM \times 100}{Abs\ CN} \quad (2)$$

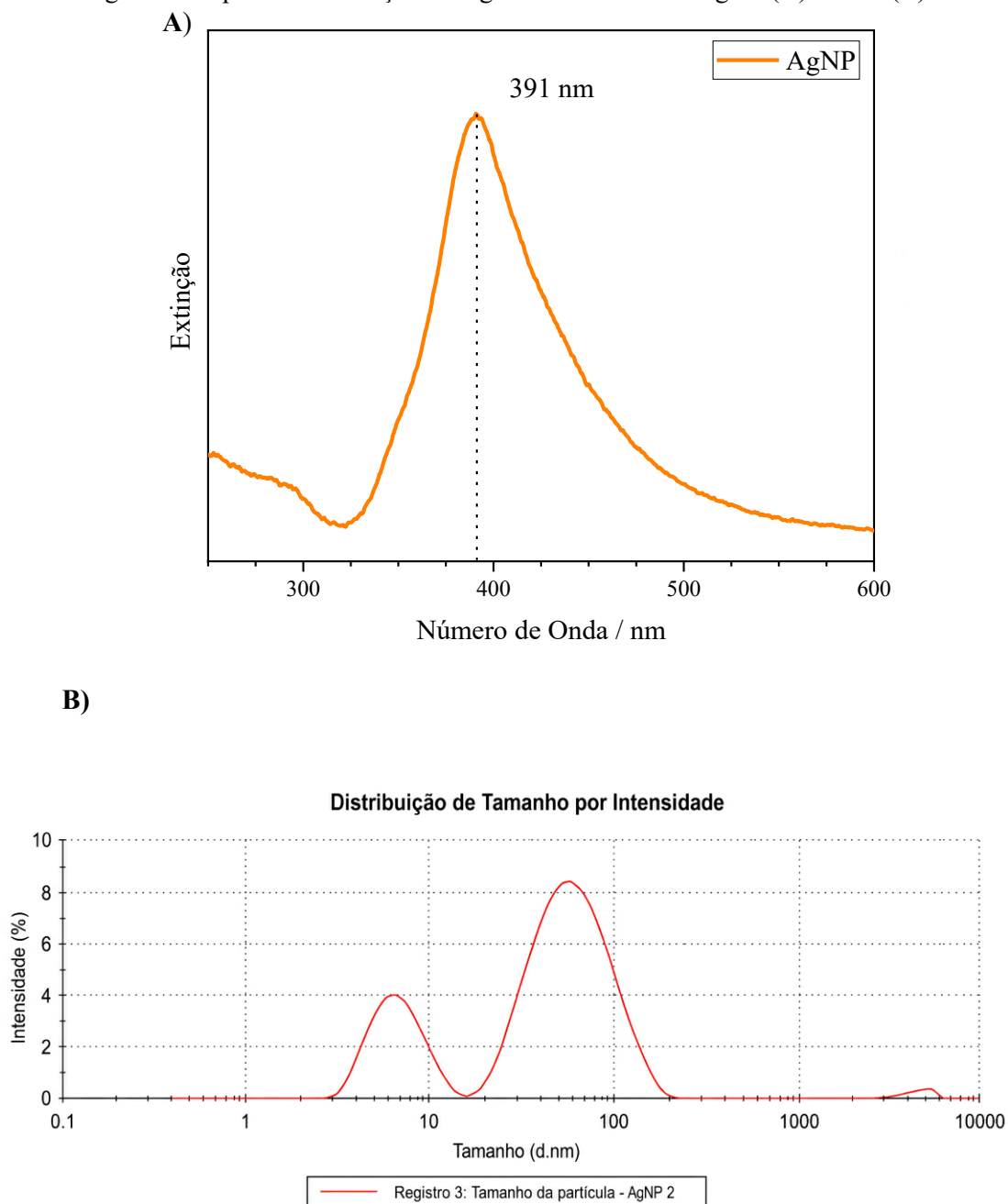
onde Abs AM e Abs CN são as absorbâncias da amostra e do controle negativo, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO UV-VIS DOS NANOMATERIAIS SINTETIZADOS E DOS DERIVADOS DE DIBENZALACETONAS

Na Figura 7 observa-se que o espectro UV-VIS da AgNP pura apresenta uma banda de LSPR centrada em 391 nm, característica do coloide obtido pela síntese de Creighton (Creighton; Blatchford; Albrecht, 1979). Bandas em comprimentos de onda maiores são associadas ao aumento do tamanho médio ou à agregação das nanopartículas, enquanto bandas em menores comprimentos de onda indicam NP menores e bem estabilizadas (Lee; Meisel, 1982). Assim, a posição da banda observada sugere uma AgNP menor, com dispersão estreita de tamanhos. A ausência de bandas adicionais no espectro reforça a homogeneidade do sistema sem a formação significativa de agregados metálicos.

Figura 7 - Espectro de extinção na região do UV-VIS da AgNP (A) e DLS (B).

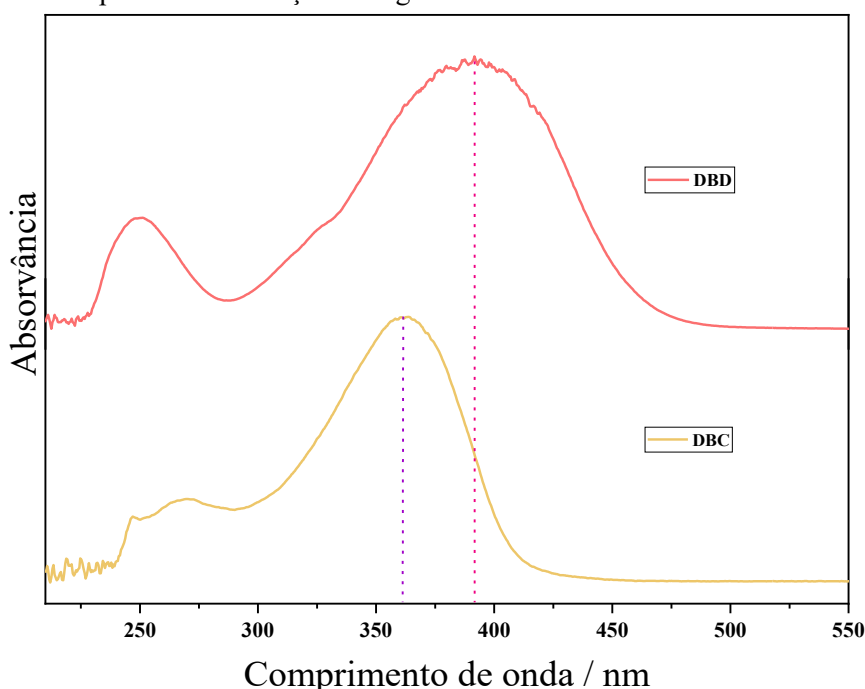


Fonte: Elaborado pela autora (2026).

As DDB puras, por sua vez, apresentaram bandas características no UV-VIS (Figura 8), com máxima absorvância em 391 nm para a DBD e 342 nm para a DBC. A variação do comprimento de onda máximo observada entre os derivados reflete as diferenças na densidade eletrônica decorrente da extensão da conjugação, do tipo de grupo aromático presente, bem como seus substituintes, o que influencia diretamente a posição e a intensidade das bandas de absorção (Maragatham *et al.*, 2019). A caracterização dessas bandas é essencial, pois fornece informações fundamentais sobre a estrutura eletrônica das moléculas e permite

selecionar a linha laser mais adequada para experimentos de espectroscopia Raman, otimizando o efeito de ressonância e a eficiência do espalhamento. Além disso, o conhecimento prévio do comportamento óptico das DDB serve como referência para comparações futuras com seus complexos metálicos e sistemas híbridos, permitindo avaliar possíveis deslocamentos nas bandas de absorção decorrentes de interações eletrônicas ou processos de adsorção em superfícies metálicas.

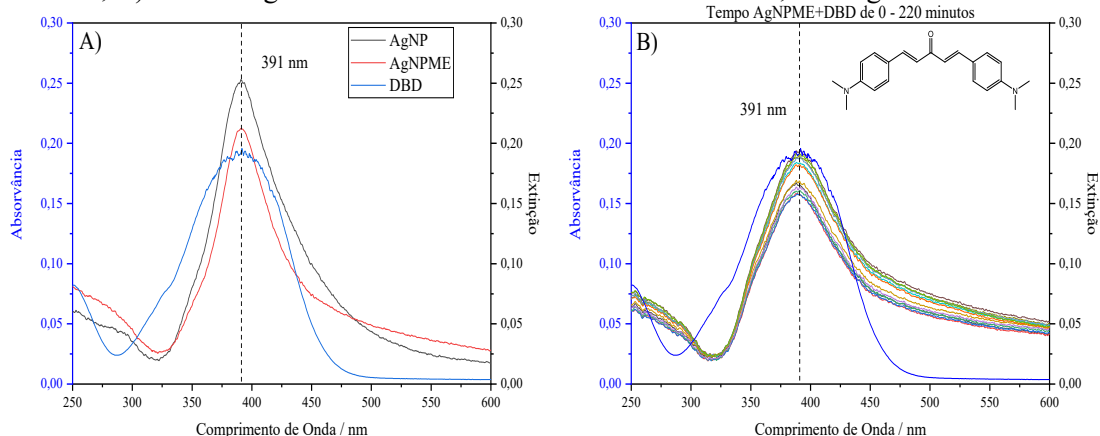
Figura 8 - Espectros de absorção na região do UV-VIS das DDB em acetato de etila.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Para avaliar a interação entre as AgNP funcionalizadas com ME (AgNPME) e a DDB, foi realizado o acompanhamento espectrofotométrico ao longo de 220 minutos, com coletas de espectros UV-VIS a cada 20 minutos. Observou-se uma diminuição progressiva na intensidade da banda LSPR, sem alteração significativa no comprimento de onda em sua banda máxima de extinção, em 391 nm, porém, observou-se um aumento no fundo acima de 500 nm, causado pelo acoplamento dos plásmons de superfície, deslocando o fundo para maiores comprimentos de onda. Por meio desse deslocamento, também é possível associar tal agregação controlada induzida pelo ME à formação dos chamados *hot spots*, regiões de forte intensificação de campo elétrico após incidência de radiação, principal responsável pela observação do efeito SERS em espectros Raman. Tal comportamento sugere a adsorção da DDB na superfície das AgNP, conforme observado na Figura 9.

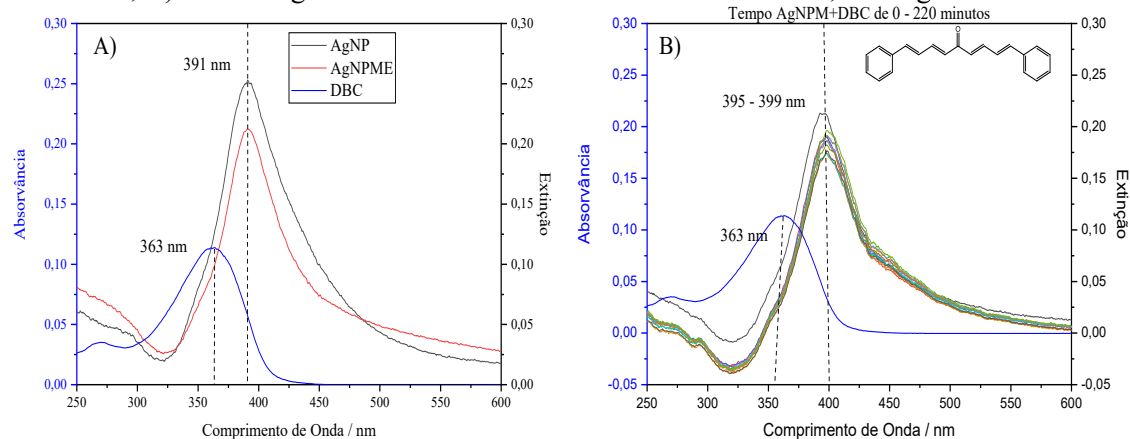
Figura 9 - Espectro de extinção na região do UV-VIS das suspensões aquosas de A) AgNP, AgNPME e DBD; B) DBD e AgNPME + DBD tomados a cada 20 minutos, ao longo de 220 minutos.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

No sistema contendo DBC, o acompanhamento espectrofotométrico por UV-VIS foi conduzido sob as mesmas condições experimentais aplicadas aos demais derivados, Figura 10. A DBC pura apresentou uma banda característica em 363 nm. No nanosistema formado por AgNP funcionalizadas com ME e DBC (AgNPME+DBC), foi observada uma banda de LSPR inicialmente em 395 nm, com deslocamento gradual para 398 nm após o período total de monitoramento, quando comparado à banda da AgNP pura em 391 nm. Esse deslocamento para maiores comprimentos de onda indica uma interação de adsorção da DDB na superfície das NP. Esse comportamento sugere uma interação estável, entre a DBC e a superfície das AgNPME. Isso favorece a formação de *hot spots* ou a interação da DBC com *hot spots* já existentes, consequentemente, a potencial observação do efeito SERS nos espectros Raman como observado posteriormente.

Figura 10 - Espectro de extinção na região do UV-VIS das suspensões aquosas de A) AgNP, AgNP + ME e DBC; B) DBC e AgNP + ME + DBC tomados a cada 20 minutos, ao longo de 220 minutos.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

De forma geral, esses resultados indicam que a presença do ME como modificador de superfície favorece a adsorção das moléculas orgânicas na interface metálica, atuando como um agente de ancoragem entre os grupos funcionais das DDB e a superfície das AgNP. Essa funcionalização promove uma melhor organização interfacial, aumenta a densidade de sítios ativos disponíveis para interação e contribui para a formação de domínios plasmônicos estáveis, responsáveis pela intensificação do campo eletromagnético local. Assim, o ME, bem como os demais modificadores, desempenham papel fundamental na eficiência de adsorção das DDB e na estabilidade coloidal dos sistemas nas concentrações utilizadas, aspectos que serão discutidos com maior profundidade nas análises Raman e SERS apresentadas nas seções seguintes.

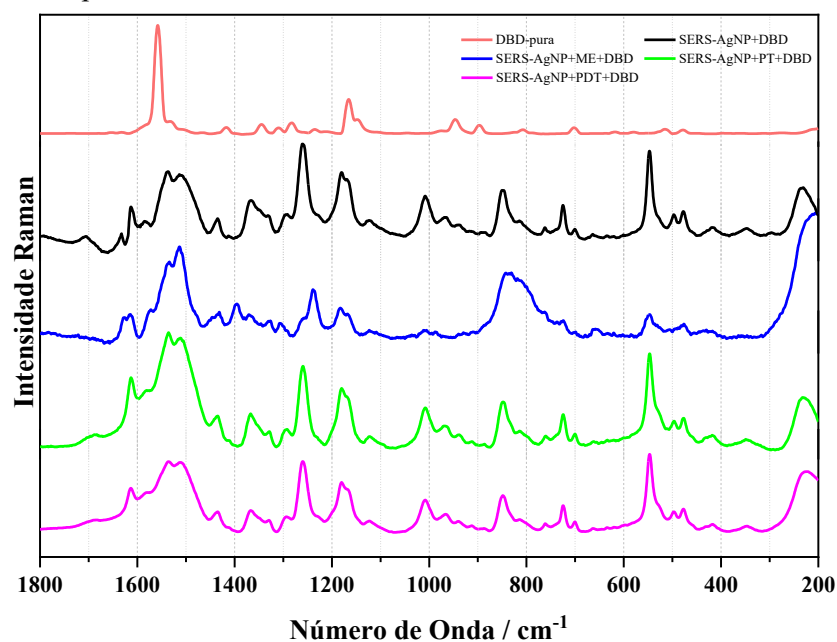
4.2 CARACTERIZAÇÃO RAMAN, SERS E NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS DERIVADOS DE DIBENZALACETONAS

4.2.1 DBD

Para fins comparativos, foram obtidos o espectro Raman da DBD no estado sólido e os espectros SERS, como está demonstrado na Figura 11. As bandas de maior destaque observadas nos espectros Raman e SERS da DBD evidenciam as principais modificações vibracionais decorrentes da interação da molécula com a superfície metálica. No espectro Raman, a banda intensa em 1560 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C=C do anel aromático (De Oliveira *et al.*, 2021), enquanto no espectro SERS essa vibração sofre um leve deslocamento para 1540 cm^{-1} , indicando uma alteração na energia vibracional desse modo normal atribuído

ao sistema conjugado em função da adsorção sobre a superfície das AgNP. Esse deslocamento sugere uma interação efetiva entre os orbitais π da molécula e a superfície metálica característico do efeito SERS, fenômeno também observado em sistemas contendo modificadores de superfície como ME, PT e PDT. Além disso, a banda em 1168 cm^{-1} no espectro Raman, atribuída à deformação angular HCC do anel aromático (De Oliveira *et al.*, 2021), também é observada no SERS em 1181 cm^{-1} , confirmando a preservação da estrutura vibracional do anel, embora com pequenas variações associadas à modificação do ambiente químico local. Essas diferenças sutis reforçam que a molécula mantém sua integridade estrutural, mas apresenta mudanças na polarizabilidade e na intensidade relativa das bandas devido à adsorção na superfície metálica.

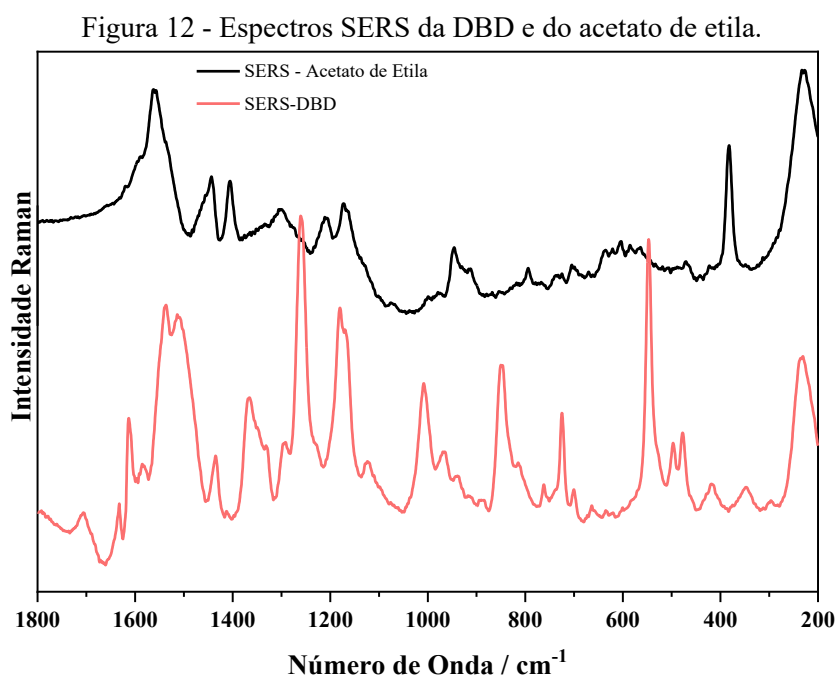
Figura 11 - Espectros Raman da DBD sólida e SERS com e sem os modificadores.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Com o objetivo de comparar e identificar as bandas características do solvente, foram obtidos espectros SERS do acetato de etila (Figura 12) empregado nas etapas de preparação e dispersão das amostras do analito. A análise espectroscópica foi conduzida sob condições experimentais idênticas às utilizadas para as amostras contendo os compostos de interesse, o que assegura a consistência dos dados e permite distinguir as bandas atribuídas ao solvente das provenientes das espécies adsorvidas na superfície das nanopartículas metálicas. Os espectros SERS do acetato de etila apresentaram bandas características em 1562 , 1444 , 1405 , 1302 , 1173 e 948 cm^{-1} , correspondentes às vibrações moleculares típicas desse solvente.

Ao comparar as bandas do solvente com as da molécula, observa-se que a banda mais intensa do acetato de etila não aparece nos espectros SERS da amostra, enquanto as bandas menos intensas mantêm suas intensidades relativas, indicando que não há interferência significativa do solvente nos modos vibracionais da molécula adsorvida. Uma banda de referência interna foi padronizada em 234 cm^{-1} , a qual não é atribuída ao estiramento metal-ligante (De Oliveira; Sant'Ana, 2023b), permitindo usá-la como um padrão interno de comparação. Com base nessa referência, nota-se que o sinal do solvente é consideravelmente mais fraco em relação às demais bandas mais intensas da amostra. Esses resultados indicam que, quando a molécula é adsorvida na superfície das nanopartículas, o solvente praticamente não compete por sítios de adsorção e apresenta interferência mínima, restrita a pequenas contribuições na região em torno de 1200 cm^{-1} do modo CH.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na Figura 13 são apresentados os espectros Raman e infravermelho teóricos e Raman experimental. A análise dessas técnicas é particularmente importante, pois o infravermelho evidencia modos associados à variação do momento de dipolo, o Raman destaca vibrações relacionadas à variação da polarizabilidade molecular, enquanto o SERS permite avaliar preferencialmente os modos vibracionais intensificados após a adsorção da molécula sobre as nanopartículas de prata. De modo geral há boa concordância entre os valores teóricos e

experimentais, sobretudo nas regiões associadas ao sistema π -conjugado, aos anéis aromáticos, às ligações C–N e às deformações esqueléticas da molécula. Pequenos deslocamentos entre os valores calculados e experimentais são esperados, uma vez que os cálculos teóricos consideram condições idealizadas, enquanto os espectros experimentais são influenciados pelo estado físico da amostra, pelo solvente, pela orientação molecular, pela interação com a superfície metálica e pela heterogeneidade dos sítios SERS.

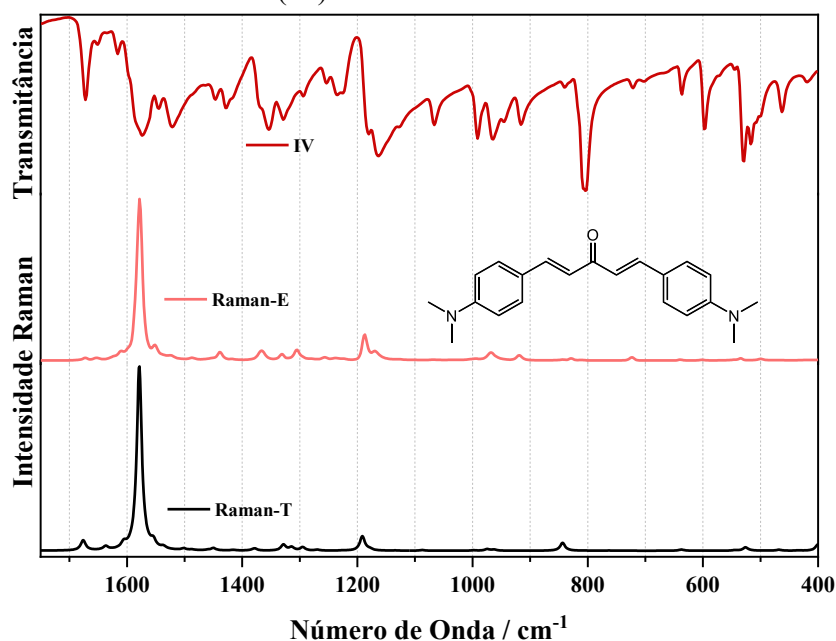
A região entre aproximadamente 1700 e 1600 cm^{-1} é uma das mais relevantes para a interpretação estrutural da DBD, pois concentra modos relacionados ao sistema carbonílico conjugado e às ligações C=C dos anéis aromáticos e da cadeia conjugada. Os modos teóricos em 1702, 1675, 1657, 1621 e 1614 cm^{-1} foram atribuídos a estiramentos $\nu(\text{C}=\text{C})$ do anel aromático e da cadeia conjugada, bem como ao acoplamento entre $\nu(\text{CO})$ e $\nu(\text{CC})$. Experimentalmente, essa região apresenta bandas no infravermelho em 1655, 1643 e 1601 cm^{-1} e bandas Raman em 1657, 1646, 1619 e 1594 cm^{-1} . A presença dessas bandas confirma o caráter fortemente conjugado da molécula, típico de DDB, nos quais o grupo carbonílico se encontra eletronicamente acoplado às ligações duplas C=C e aos anéis aromáticos.

As intensas bandas teóricas em 1305, 1222, 986 e 985 cm^{-1} , atribuídas aos modos normais envolvendo os estiramentos de $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{CC})$ e deformações envolvendo C–N, reforçam a importância dos grupos nitrogenados e da estrutura aromática na resposta vibracional. Experimentalmente, essas contribuições aparecem em regiões próximas no infravermelho e no Raman, como em 1315, 1186, 1132 e 1068 cm^{-1} . A observação desses modos indica que a interação da molécula com o ambiente metálico não se restringe ao grupo carbonílico ou às ligações C=C, mas envolve também regiões eletronicamente ricas associadas às ligações C–N.

A banda em torno de 1192–1205 cm^{-1} também apresenta intensificação na comparação entre os espectros. Esse modo pode ser atribuído principalmente à deformação angular $\delta(\text{HCC})$, com possível contribuição de estiramento $\nu(\text{C}–\text{C})$ do sistema conjugado. Na região entre 1130 e 980 cm^{-1} , predominam modos associados ao estiramento $\nu(\text{C}–\text{C})$ da cadeia conjugada e do anel aromático, além de contribuições de $\nu(\text{CN})$. As bandas teóricas em 1131, 1058, 1007, 986, 985 e 980 cm^{-1} apresentam correspondência com bandas experimentais observadas no Raman e no infravermelho, como 1245, 1179, 1152, 1132 e 1068 cm^{-1} . Essa região é importante porque reúne modos sensíveis à conformação molecular e ao grau de conjugação. Na região abaixo de 900 cm^{-1} , são observadas vibrações associadas a deformações do anel, modos fora do plano e contribuições de substituintes. A banda teórica em 868 cm^{-1} , observada no infravermelho em

999 cm^{-1} , foi atribuída ao modo $\nu(\text{CC})_{\text{Res}}$, indicando a contribuição da respiração do anel na resposta vibracional da molécula.

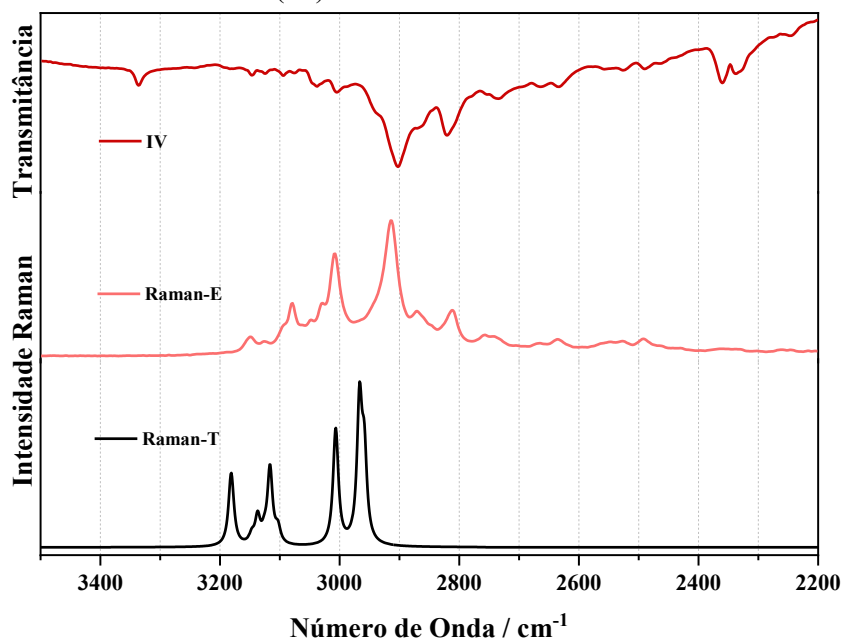
Figura 13 - Espectro Raman da DBD teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e Infravermelho (IV) de 1750 a 400 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na região de maior número de onda como visto na Figura 14, foram observados modos atribuídos aos estiramentos C–H. As bandas teóricas em 3279, 3202, 3100 e 3059 cm^{-1} foram associadas, respectivamente, aos estiramentos $\nu(\text{CH})$ do anel aromático, $\nu(\text{CH}_3)$ assimétrico, $\nu(\text{CH}_2)$ assimétrico e $\nu(\text{CH}_2)$ simétrico. Experimentalmente, essas vibrações aparecem no infravermelho em 3080, 3056, 3024 e 3003 cm^{-1} , enquanto no Raman são observadas bandas em 3061 e 3002 cm^{-1} .

Figura 14 - Espectro Raman da DBD teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e Infravermelho (IV) de 3500 a 2200 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

No espectro SERS, destaca-se a banda em 1631 cm^{-1} , em boa concordância com o valor teórico de 1614 cm^{-1} , atribuída ao modo acoplado $\nu(\text{C}=\text{O}) + \nu(\text{C}=\text{C})$. A intensificação dessa banda indica que o sistema conjugado participa diretamente da interação com a superfície metálica. Esse comportamento é coerente com a elevada polarizabilidade das ligações π , que favorece o acoplamento plasmônico entre a molécula adsorvida e o campo eletromagnético local gerado pelas nanopartículas de prata. Assim, a banda em torno de 1631 cm^{-1} pode ser considerada um indicativo importante da participação da cadeia conjugada da molécula, incluindo a carbonila no processo de adsorção.

A banda SERS observada em 1550 cm^{-1} , correspondente ao valor teórico de 1554 cm^{-1} , foi atribuída às deformações $\delta(\text{HCC})$ e $\delta(\text{CCC})$. Essa região apresenta boa correspondência entre o espectro SERS experimental e o teórico, tanto em posição quanto em intensidade espectral. A intensificação desse modo sugere participação expressiva do anel aromático e da cadeia conjugada na resposta SERS, indicando que essas porções estruturais se encontram próximas à superfície metálica ou em orientação favorável à intensificação. De forma semelhante, a banda SERS em 1519 cm^{-1} , correlacionada ao valor teórico de 1488 cm^{-1} , foi atribuída à deformação $\delta(\text{HCH})$, reforçando a contribuição dos grupos orgânicos ligados ao sistema conjugado na resposta vibracional devido à adsorção.

A banda em torno de 1525 cm^{-1} também merece destaque, sendo atribuída principalmente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$ do sistema aromático/conjugado. Esse modo está associado à redistribuição da densidade eletrônica ao longo da molécula e, por isso, é bastante

sensível a alterações provocadas pela interação com a superfície metálica. A presença dessa banda, associada às demais vibrações entre 1600 e 1500 cm^{-1} , confirma que a estrutura π -conjugada permanece preservada após a adsorção, embora apresente modificações na polarizabilidade e na intensidade relativa das bandas.

Na região intermediária, observam-se bandas importantes relacionadas a deformações angulares do anel aromático e a modos envolvendo ligações C–N e C–C. A banda SERS em 1350 cm^{-1} apresenta boa concordância com o valor teórico em torno de 1364 cm^{-1} , sendo atribuída à deformação angular $\delta(\text{HCC})$. Essa vibração indica a manutenção da estrutura aromática da molécula após a interação com a prata. De modo semelhante, a região próxima de 1318 cm^{-1} pode ser atribuída principalmente ao estiramento $\nu(\text{C–N})$, possivelmente acoplado a modos $\nu(\text{C–C})$ do anel aromático. A presença desse modo é relevante, pois sugere participação de grupos contendo nitrogênio na forte adsorção da molécula, o que pode influenciar a orientação de adsorção sobre a superfície metálica.

As intensas bandas teóricas em 1305, 1222, 986 e 985 cm^{-1} , atribuídas aos modos normais envolvendo os estiramentos de $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{CC})$ e deformações envolvendo C–N, reforçam a importância dos grupos nitrogenados e da estrutura aromática na resposta vibracional. A observação desses modos indica que a interação da molécula com o ambiente metálico não se restringe ao grupo carbonílico ou às ligações C=C, mas envolve também regiões eletronicamente ricas associadas às ligações C–N. A banda em 1205 cm^{-1} apresenta correspondência com o valor teórico próximo de 1217 cm^{-1} , indicando que os modos do anel aromático e da cadeia conjugada podem ser associados à adsorção. A manutenção dessa banda, acompanhada de pequenas variações no número de onda, sugere que a molécula não sofre degradação estrutural, mas apresenta alteração do ambiente químico local em função da proximidade com a superfície de prata. A banda SERS em 1010 cm^{-1} , atribuída ao $\nu(\text{CC})$, indica que parte da estrutura aromática/conjugada permanece ativa no espalhamento intensificado, reforçando a participação do esqueleto carbônico na interação com o substrato metálico.

Na região abaixo de 900 cm^{-1} , são observadas vibrações associadas a deformações do anel, modos fora do plano e contribuições de substituintes. A banda teórica em 868 cm^{-1} , observada no infravermelho em 999 cm^{-1} , foi atribuída ao modo $\nu(\text{CC})\text{Br}$, indicando a contribuição da respiração do anel na resposta vibracional da molécula. Embora essa banda não apareça de forma expressiva no SERS, provavelmente porque o plano do anel que interage com a superfície está paralelo à superfície, sua presença no infravermelho contribui para a confirmação estrutural do derivado. Já a banda SERS em 851 cm^{-1} , relacionada ao valor teórico

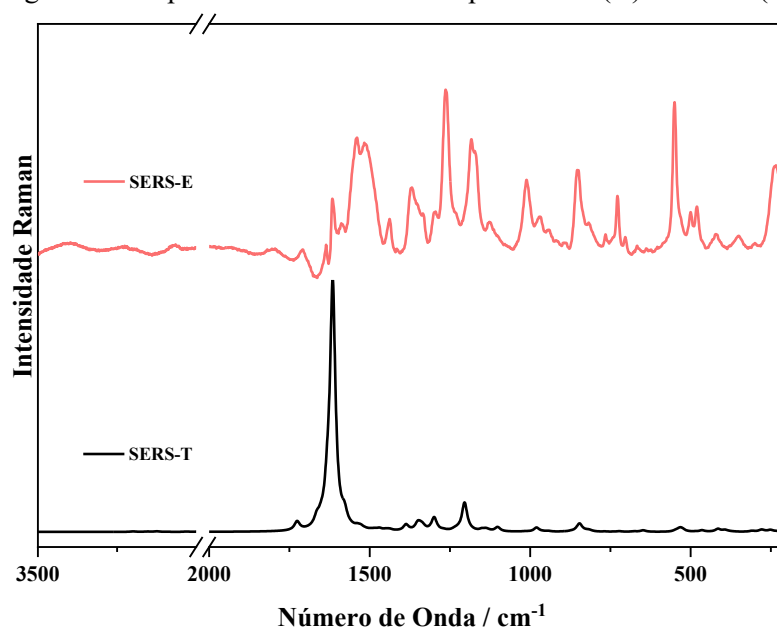
de 845 cm^{-1} , foi atribuída à deformação $\delta(\text{CCC})$ do anel aromático, indicando que modos de deformação do anel também são intensificados na presença da superfície metálica.

Na região de menores números de onda, observam-se modos esqueléticos importantes para a interpretação da adsorção. A banda SERS em 550 cm^{-1} apresenta boa correspondência com o valor teórico de 534 cm^{-1} , sendo atribuída ao modo $\gamma(\text{NCCC})$ de deformação fora do plano do anel aromático. De acordo com as regras de seleção de superfície, este modo vai ser intensificado se o anel está paralelo à superfície, por ter sua coordenada vibracional perpendicular à mesma. Já a banda SERS em 465 cm^{-1} , próxima ao valor teórico de 481 cm^{-1} , foi atribuída a deformações $\delta(\text{NCC})$ e $\delta(\text{CCN})$ externas. Essas bandas indicam que a estrutura molecular como um todo contribui para a resposta SERS, especialmente por meio de deformações do esqueleto carbônico e de modos sensíveis à orientação da molécula sobre a prata.

Além disso, a banda teórica em torno de 240 cm^{-1} pode ser atribuída a um modo de baixa frequência associado à interação molécula-metal, como $\nu(\text{Ag-N})$ ou $\nu(\text{Ag-O})$, quando observada no espectro SERS (De Oliveira; Sant'Ana, 2023b). Esse tipo de vibração é particularmente relevante, pois não está associado apenas à estrutura interna da molécula, mas à formação de uma ligação efetiva entre a molécula orgânica e a superfície metálica. A presença de uma banda nessa região sugere uma interação direta de caráter covalente entre a DBD e as nanopartículas de prata, possivelmente envolvendo átomos doadores de elétrons, como o nitrogênio ou oxigênio.

A comparação entre o espectro SERS experimental e o espectro SERS teórico demonstrados na Figura 15, mostra maior concordância nas regiões de aproximadamente 1631/1614, 1550/1554, 1519/1488, 1350/1364, 1205/1217, 1010/980, 851/845, 550/534 e $465/481\text{ cm}^{-1}$. Essas correspondências indicam que o modelo teórico representa adequadamente os principais modos intensificados experimentalmente. Entretanto, diferenças de intensidade e alargamento de bandas são observadas no espectro experimental, o que pode ser atribuído à heterogeneidade da superfície metálica, à formação de hot spots, à variação na orientação das moléculas adsorvidas, à contribuição do meio dispersante e às limitações do modelo teórico, que considera um ambiente mais simplificado (potencial harmônico) em comparação ao sistema experimental real.

Figura 15 - Espectros SERS da DBD experimental (A) e teórico (B).



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Para fins comparativos, foram analisados os espectros vibracionais experimentais de infravermelho, Raman e SERS da DBD, em conjunto com os valores teóricos obtidos por DFT, conforme apresentado na Tabela 1. Essa comparação permite avaliar a correspondência entre os modos normais de vibração calculados e as bandas observadas experimentalmente, além de identificar alterações espectrais decorrentes da interação da molécula com a superfície metálica.

De modo geral, a análise conjunta dos espectros de infravermelho, Raman, SERS e dos dados teóricos indica que a DB mantém sua integridade estrutural após a interação com as nanopartículas de prata. As principais alterações observadas no SERS estão associadas à intensificação seletiva de bandas do sistema conjugado, dos anéis aromáticos e de modos envolvendo ligações C–N e C–C. Esse comportamento sugere que a adsorção ocorre preferencialmente por regiões eletronicamente ricas da molécula, especialmente associadas ao sistema π -conjugado e, possivelmente, aos grupos contendo nitrogênio. Portanto, os dados vibracionais confirmam que a molécula apresenta interação efetiva com o substrato SERS, sem evidência de degradação química, reforçando seu potencial para estudos de ancoragem em nanopartículas metálicas e para aplicações em sistemas de detecção ou liberação controlada. Os espectros vibracionais teóricos foram obtidos a partir das geometrias otimizadas da DBD isolada e na presença de um aglomerado de dez átomos de prata como apresentados na Figura 16.

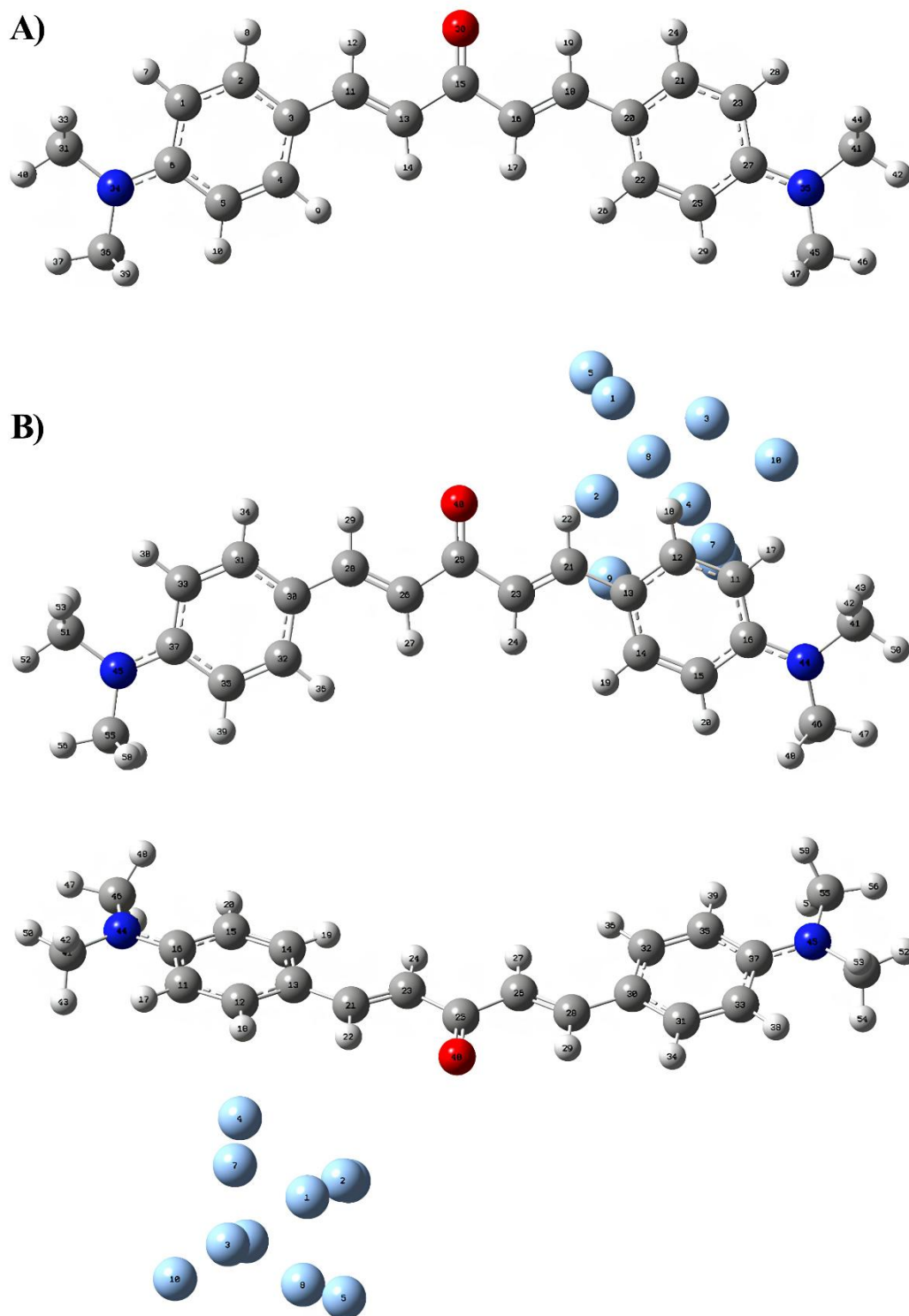
Tabela 1 - Tentativa de atribuição das bandas dos espectros Raman e SERS da DBD.

Teórico	Experimental			Atribuição	
	Infravermelho	Raman	SERS		
3279	3080	3061	-	ν (CH) _A	
3202	3056	-	-	ν (CH ₃) as	
3100	3024	3002	-	ν (CH ₂) as	
3059	3003	-	-	ν (CH ₂) s	
1767	-	2896	-	ν (C=O)	
1702	1655	1657	-	ν (C=C) _A	ν (C=C) _L
1675	-	1646	-	ν (C=C) _L	ν (C=C) _A
1657	-	1619	-	ν (C=C) _L	ν (C=O)
1621	1643	-	-	ν (C=C) _A	
1614	-	-	1631	ν (CO)	ν (CC)
1597	-	1594	-	ν (CN) _A	
1596	1601	-	-	ν (CN) _A	
1554	-	-	1550	δ (HCC)	δ (CCC)
1507	1568	1569	-	δ (CH) _A	ω (CH ₂)
1488	-	-	1519	δ (HCH)	
1479	-	1495	-	ω (CH ₂)	δ (C-H) _A
1422	1446	-	-	ν (CN) _A	δ (CH ₂)
1407	1356	-	-	δ (CH) _L	δ (CH) _A
1386	-	1451	-	δ (CH) _L	δ (CH) _A
1370	1275	-	-	δ (CH) _L	
1364	-	-	1350	δ (HCC)	
1305	-	1315	-	ν (CN)	
1236	-	1287	-	δ (CH) _A	
1233	1242	-	-	δ (CH) _A	
1222	1186	-	-	ρ (CH ₂)	ν (CN) _A
1217	-	-	1205	δ (HCC)	
1131	-	1245	-	ν (CC) _L	
1058	-	1179	-	ν (CC) _L	
1007	-	1152	-	ν (CC) _L	
986	-	1132	-	ν (CC) _A	ν CN
985	1068	-	-	ν (CC) _A	δ CN
980	-	-	1010	ν (CC)	
915	-	1031	-	γ (CC) _A	
868	999	-	-	ν (CC) _{Res}	
845	-	1000	851	δ (CCC) _A	
695	889	-	-	δ CC	δ CN
551	-	880	-	δ CC	δ CN
534	850	-	550	γ (CC) _A	
481	752	-	465	δ CC	δ CN
240	-	-	-	ν (Ag-N)	ν (Ag-O)

ν estiramento, δ angular, τ torção, γ fora do plano, A anel, L lateral, Res respiração, s simétrico, as antissimétrico

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Figura 16 - Geometrias otimizadas da DBD isolada (A) e na presença de um aglomerado de dez átomos de prata (B), em duas perspectivas diferentes.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A geometria otimizada do sistema AgNP+DBD sugere que a molécula se aproxima do aglomerado metálico de forma orientada, com um dos anéis aromáticos disposto de maneira aproximadamente paralela à superfície da prata. Essa conformação favorece a interação entre o sistema π do anel aromático e o cluster metálico, contribuindo para a intensificação seletiva das bandas associadas ao sistema conjugado observadas no SERS. Além disso, a proximidade do nitrogênio do grupo dimetilamino e do oxigênio carbonílico em relação aos átomos de prata indica que ambos podem participar do processo de ancoramento, atuando como regiões de maior densidade eletrônica capazes de estabilizar a interação molécula-metal.

4.2.2 DBC

Assim como realizado para a DBD, os espectros vibracionais experimentais de infravermelho, Raman e SERS da DBC foram avaliados comparativamente aos valores teóricos obtidos por DFT, conforme apresentado na Tabela 2. Essa abordagem permitiu correlacionar as bandas observadas experimentalmente com os modos normais de vibração previstos teoricamente, além de investigar as alterações promovidas pela adsorção da molécula sobre a superfície das nanopartículas de prata. Para a DBC, essa comparação é particularmente importante, uma vez que sua estrutura apresenta maior extensão conjugada, favorecendo modos vibracionais associados às ligações C=C, ao grupo carbonílico e aos anéis aromáticos. Dessa forma, a análise dos espectros permite identificar quais regiões da molécula são mais influenciadas pela interação com a superfície metálica e quais modos são preferencialmente intensificados no efeito SERS.

Tabela 2 - Tentativa de atribuição das bandas dos espectros Raman e SERS da DBC.

Teórico	Experimental		Atribuição
	Infravermelho	Raman SERS	
3090	3080	3061	ν (CH) _A s
3082	3056	-	ν (CH) _A as
3074	3024	3002	ν (CH) _A as
3055	3003	-	ν (CH) _L as
3042	-	2896	ν (CH) _L s
1674	1655	1657	ν (C=O)
1618	-	1646	ν (C=C) _L
1612	-	1619	ν (C=C) _L
1601	1643	-	ν (C=C) _L
1595	-	1594	ν (C=C) _A
1589	1601	-	ν (C=C) _L
1571	1568	1569	ν (C=C) _L
1525	-	-	ν (C=C) _L
1436	-	1495	δ (CH) _A
	1446	-	
1344	1356	-	δ (CH) _A
1318	-	1451	δ (CH) _A
1302	1275	-	δ (CH) _L
1288	-	1315	δ (CH) _L
1276	-	1287	ν (C _R C _L)
1262	1242	-	δ (CH) _L
1221	1186	-	δ (CH) _L
1195	-	1245	δ (CH) _L
1166	-	1179	δ (CH) _A
1145	-	1152	δ (CH) _A
1143	-	1132	δ (CH) _A
1052	1068	-	ν (CCC) _L
1016	-	1031	ν (C=C)
1016	999	-	γ (CH) _L
975	-	1000	δ (CC) _A
883	889	-	γ (CC) _{AL}
871	-	880	γ CH
824	850	-	ν (CC) _A
743	752	-	γ (CC) _{AL}
683	690	-	γ (CC) _{AL}
616	-	628	δ CC _A
500	501	-	γ (CC) _{AL}
476	486	-	δ (CC) _{AL}
240	-	-	ν (AgO)

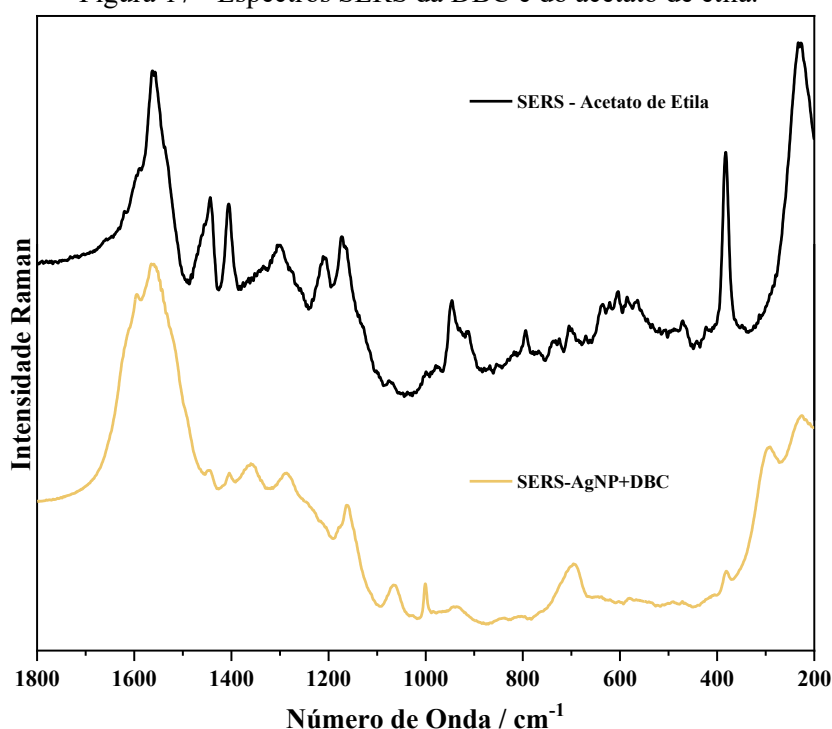
ν estiramento, δ angular, τ torsão, γ fora do plano, A anel, L lateral, Res respiração, s simétrico, as antissimétrico

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Ao comparar os espectros SERS do solvente com os da DBC na Figura 17, observa-se que as contribuições provenientes do acetato de etila não interferem de forma significativa nas principais bandas atribuídas à molécula adsorvida. As bandas características do solvente apresentam baixa intensidade relativa quando comparadas aos sinais da DBC no espectro

SERS, indicando que o solvente não compete de maneira expressiva pelos sítios de adsorção disponíveis na superfície das nanopartículas de prata. Além disso, a manutenção do perfil espectral da DBC reforça que as bandas observadas são predominantemente decorrentes da interação da molécula com a superfície metálica, e não de contribuições do meio dispersante. Dessa forma, os resultados sugerem que o acetato de etila exerce interferência mínima no espectro SERS da DBC, permitindo uma análise mais confiável dos modos vibracionais intensificados pela adsorção da molécula sobre as AgNP.

Figura 17 - Espectros SERS da DBC e do acetato de etila.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na Figura 18 e Figura 19, são comparados os espectros infravermelho e Raman teórico e experimental. De modo geral, observa-se boa concordância entre os valores teóricos e experimentais, principalmente nas regiões associadas aos estiramentos C–H, aos modos do sistema π -conjugado, às vibrações dos anéis aromáticos e às deformações angulares do esqueleto carbônico. Pequenos deslocamentos entre os valores calculados e experimentais são esperados, uma vez que os cálculos teóricos são realizados dentro de aproximações do modelo e para a molécula isolada, enquanto os espectros experimentais sofrem influência do estado físico da amostra, do ambiente químico, da orientação molecular.

Na região de maior número de onda, foram observados modos atribuídos aos estiramentos C–H. As bandas teóricas em 3090, 3082, 3074, 3055 e 3042 cm⁻¹ foram associadas

aos estiramentos $\nu(\text{CH})$ do anel aromático e da cadeia conjugada, incluindo contribuições simétricas e assimétricas. Experimentalmente, essas vibrações aparecem no infravermelho em 3080, 3056, 3024 e 3003 cm^{-1} , enquanto no Raman são observadas bandas em 3061, 3002 e 2896 cm^{-1} . A região entre 1670 e 1570 cm^{-1} é especialmente importante para a interpretação estrutural da molécula, pois concentra os principais modos associados ao sistema carbonílico conjugado e às ligações $\text{C}=\text{C}$ da cadeia conjugada e dos anéis aromáticos.

A banda teórica em 1674 cm^{-1} foi atribuída principalmente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$, com contribuição de $\nu(\text{C}=\text{C})$ da cadeia conjugada. Experimentalmente, essa vibração apresenta boa correspondência com as bandas observadas em 1655 cm^{-1} no infravermelho e 1657 cm^{-1} no Raman. Essa proximidade confirma a presença do grupo carbonílico conjugado pelo acoplamento eletrônico entre a carbonila, as ligações duplas $\text{C}=\text{C}$ e os anéis aromáticos, característica estrutural importante dos DDB. As bandas teóricas em 1618, 1612, 1601, 1595, 1589 e 1571 cm^{-1} foram atribuídas predominantemente a estiramentos $\nu(\text{C}=\text{C})$ da cadeia conjugada e dos anéis aromáticos, com possível contribuição do grupo carbonílico em alguns modos. Experimentalmente, essa região apresenta bandas Raman em 1646, 1619, 1594 e 1569 cm^{-1} , além de bandas no infravermelho em 1643, 1601 e 1568 cm^{-1} . A presença dessas bandas reforça o caráter altamente conjugado da molécula e confirma que a estrutura π -conjugada permanece preservada.

Na região entre 1500 e 1300 cm^{-1} , observam-se bandas relacionadas principalmente a deformações angulares $\text{C}-\text{H}$ dos anéis aromáticos e da cadeia conjugada. A banda teórica em 1436 cm^{-1} , observada no Raman em 1495 cm^{-1} , foi atribuída à deformação $\delta(\text{CH})$ do anel aromático. De forma semelhante, a banda experimental em 1446 cm^{-1} no infravermelho também pode ser associada a modos de deformação $\text{C}-\text{H}$ nessa região. A banda teórica em 1344 cm^{-1} , observada no infravermelho em 1356 cm^{-1} , foi atribuída à deformação $\delta(\text{CH})$ do anel aromático, confirmando a contribuição dos anéis na resposta vibracional da molécula.

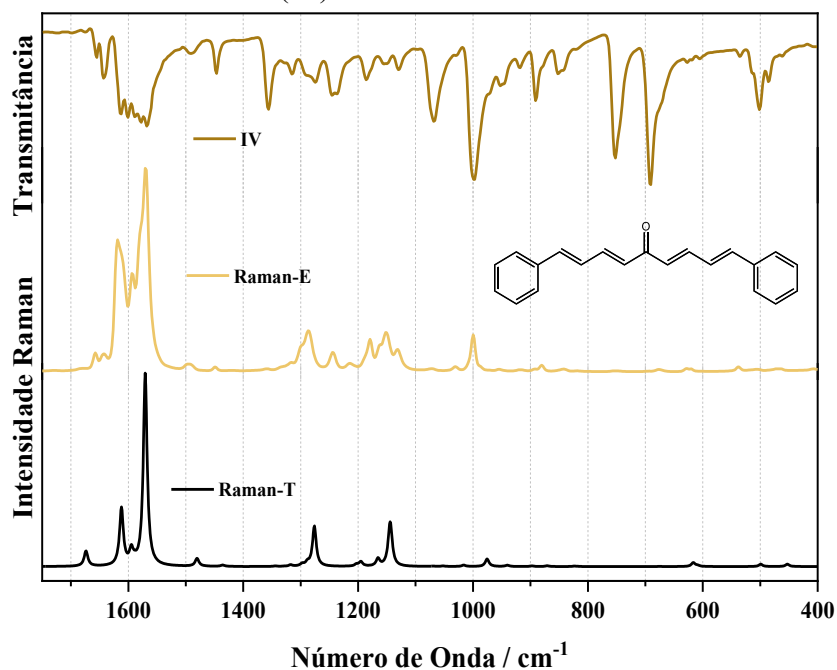
Na região intermediária, entre 1300 e 1150 cm^{-1} , predominam modos atribuídos a deformações $\delta(\text{CH})$ da cadeia conjugada e dos anéis aromáticos, além de contribuições de ligações $\text{C}-\text{C}$ do sistema conjugado. As bandas teóricas em 1302, 1288, 1276, 1262, 1221, 1195, 1166, 1145 e 1143 cm^{-1} apresentam correspondência com bandas experimentais observadas no infravermelho em 1275, 1242 e 1186 cm^{-1} , e no Raman em 1315, 1287, 1245, 1179, 1152 e 1132 cm^{-1} . Essas bandas indicam que os modos da cadeia conjugada e dos anéis aromáticos permanecem ativos nos espectros experimentais, confirmando a integridade estrutural da molécula. A banda teórica em torno de 1195 cm^{-1} , próxima à região de 1192 cm^{-1} indicada anteriormente, pode ser atribuída principalmente à deformação angular $\delta(\text{CH})$ da

cadeia conjugada, com possível contribuição de estiramento C–C. No Raman, essa região aparece em 1245 cm^{-1} .

Na região entre 1068 e 975 cm^{-1} , são observadas vibrações associadas ao estiramento do esqueleto carbônico e a deformações do anel. A banda teórica em 1052 cm^{-1} , observada no infravermelho em 1068 cm^{-1} , foi atribuída ao estiramento $\nu(\text{CCC})$ da cadeia conjugada. Já as bandas teóricas em 1016 cm^{-1} apresentam correspondência com sinais experimentais em 1031 cm^{-1} no Raman e 999 cm^{-1} no infravermelho, sendo atribuídas a $\nu(\text{C}=\text{C})$ e deformações $\delta(\text{CH})$ fora do plano da cadeia conjugada. A banda teórica em 975 cm^{-1} , observada no Raman em 1000 cm^{-1} , foi atribuída à deformação $\delta(\text{CC})$ do anel aromático. Esses resultados reforçam a contribuição do esqueleto aromático e conjugado para a resposta vibracional da DBC.

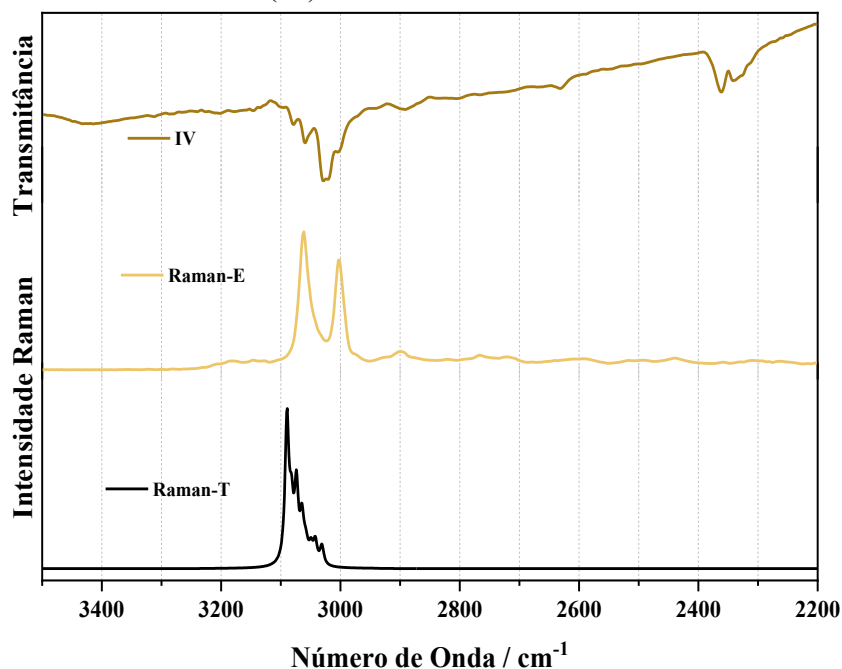
Na região abaixo de 900 cm^{-1} , predominam modos de deformação fora do plano, especialmente associados aos anéis aromáticos e ao sistema conjugado. As bandas teóricas em 883 e 871 cm^{-1} apresentam correspondência com bandas experimentais em 889 cm^{-1} no infravermelho e 880 cm^{-1} no Raman, sendo atribuídas a deformações $\gamma(\text{CC})$ fora do plano e $\gamma(\text{CH})$ fora do plano. Essas vibrações são importantes para confirmar a conformação da molécula, pois modos fora do plano são sensíveis à geometria dos anéis aromáticos e à extensão da conjugação. A banda teórica em 824 cm^{-1} , observada no infravermelho em 850 cm^{-1} , foi atribuída ao estiramento $\nu(\text{CC})$ do anel aromático, indicando a preservação da estrutura aromática. Na região de baixa frequência, observam-se modos associados a deformações esqueléticas e à interação com a superfície metálica. As bandas teóricas em 743 , 683 , 616 , 500 e 476 cm^{-1} foram atribuídas a deformações $\gamma(\text{CC})$ fora do plano dos anéis e da cadeia conjugada, além de deformações do esqueleto carbônico. Experimentalmente, essas vibrações aparecem no infravermelho em 752 , 690 , 501 e 486 cm^{-1} , e no Raman em 628 cm^{-1} .

Figura 18 - Espectro Raman da DBC teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e infravermelho (IV) de 1750 a 400 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Figura 19 - Espectro Raman da DBC teórico (Raman-T) e experimental (Raman-E), e infravermelho (IV) de 3500 a 2200 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

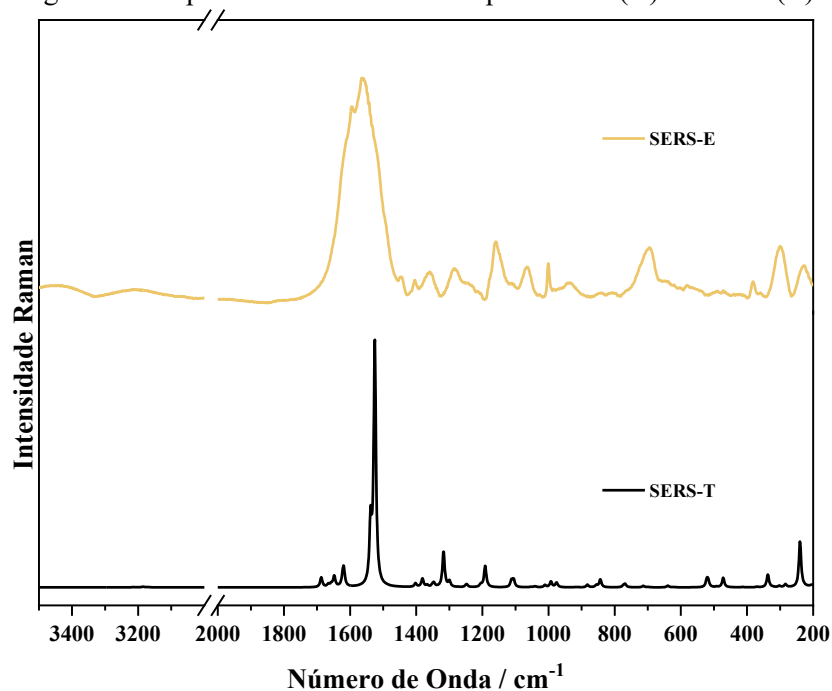
Na Figura 20 observa-se que no espectro SERS, é intensificada a banda em 1563 cm^{-1} , associada ao valor teórico de 1525 cm^{-1} e atribuída ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$ da cadeia conjugada. A intensificação dessa banda indica que o sistema conjugado participa diretamente

da interação com a superfície metálica, possivelmente por meio da interação entre os orbitais π da molécula e o campo eletromagnético local das nanopartículas de prata. A banda SERS em 1563 cm^{-1} é uma das mais relevantes para a interpretação da adsorção, pois aparece com elevada intensidade no espectro experimental é atribuída a um modo vibracional associado à cadeia lateral conjugada da molécula. Essa intensificação sugere que a DB se orienta sobre a superfície metálica de maneira a favorecer a intensificação de modos relacionados às ligações C=C. Esse comportamento está de acordo com a maior polarizabilidade do sistema π -conjugado, que tende a responder de forma mais intensa ao campo elétrico local gerado nos *hot spots* das nanopartículas de prata e às regras de seleção de superfície (Moskovits, 1982), pelas quais os modos vibracionais das porções moleculares mais próximas à superfícies e que tenham uma coordenada de vibração perpendicular à superfície, são intensificados.

A banda SERS em 696 cm^{-1} apresenta correspondência com a região experimental de 690 cm^{-1} observada no infravermelho, atribuída a deformações $\delta(\text{CC})$ fora do plano dos anéis e da cadeia conjugada. Essa banda é bastante relevante no espectro SERS, pois aparece com intensidade expressiva e sugere que modos fora do plano também são favorecidos após a adsorção. A intensificação de vibrações fora do plano pode indicar uma orientação molecular inclinada ou parcialmente paralela à superfície metálica, permitindo que componentes desses modos, perpendiculares à superfície metálica, interajam de forma eficiente com o campo elétrico local. A banda teórica em 240 cm^{-1} , observada no espectro SERS em 301 cm^{-1} , foi atribuída a um modo relacionado à prata coordenada a heteroátomos, indicado na tabela como $\nu(\text{AgO})$. Essa banda é particularmente importante, pois está associada a à interação da molécula com a superfície metálica.

Em resumo a comparação entre o espectro SERS experimental e os valores teóricos mostra maior destaque para as bandas em 1563 , 1160 , 696 e 301 cm^{-1} . A banda em 1563 cm^{-1} está associada aos estiramentos $\nu(\text{C}=\text{C})$ do sistema conjugado, indicando forte participação do eixo π -conjugado na adsorção. A banda em 1160 cm^{-1} está relacionada a deformações $\delta(\text{CH})$ do anel aromático, sugerindo contribuição das regiões aromáticas na resposta intensificada. A banda em 696 cm^{-1} indica participação de modos fora do plano, possivelmente relacionados à orientação da molécula sobre a superfície de prata. Por fim, a banda em 301 cm^{-1} reforça a contribuição da superfície metálica e sugere interação efetiva entre a molécula e as nanopartículas.

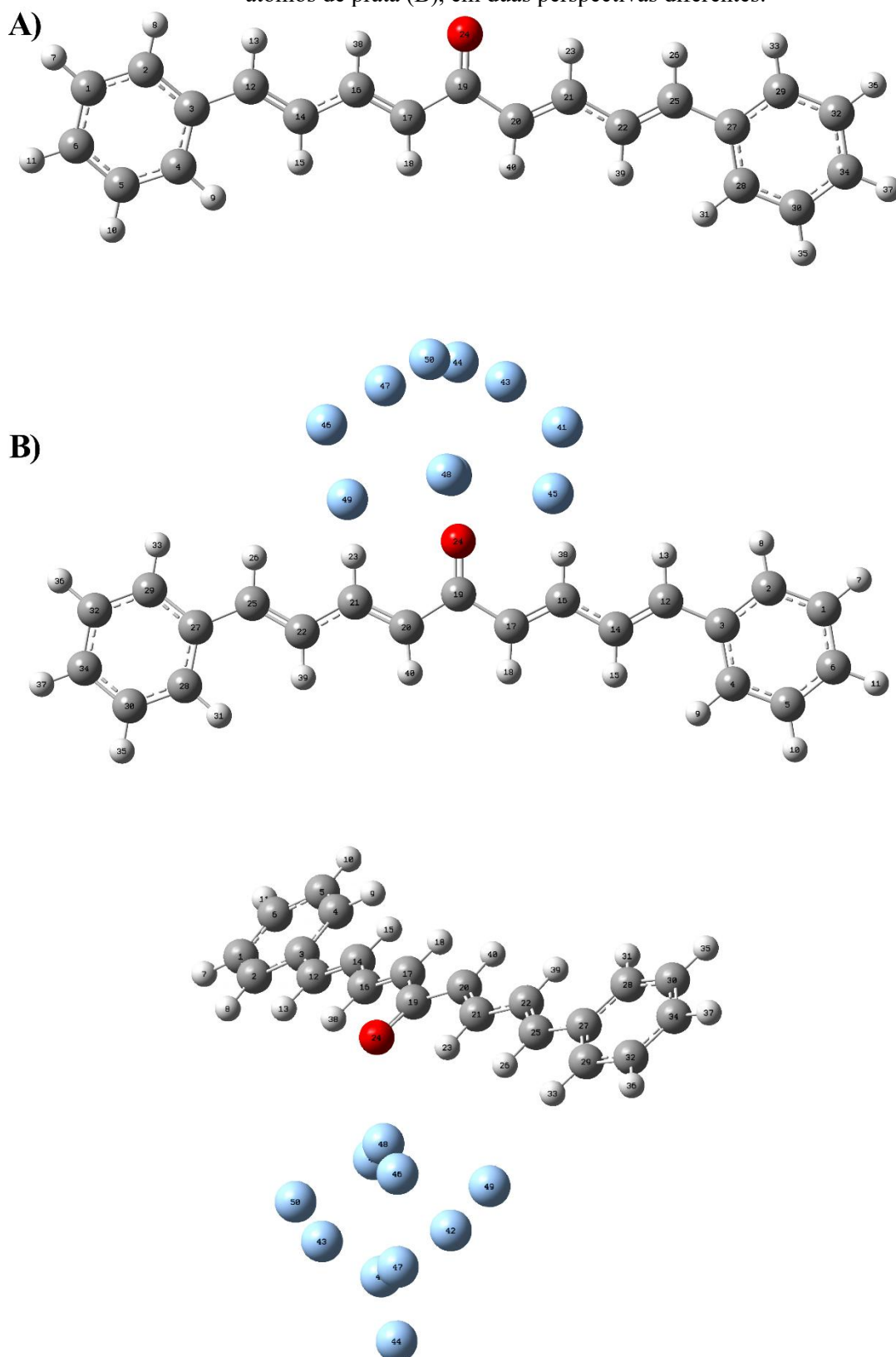
Figura 20 - Espectros SERS da DBC experimental (A) e teórico (B).



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A geometria otimizada do sistema AgNP+DBC da Figura 21 sugere que a molécula se aproxima do aglomerado metálico de forma orientada, com o grupo carbonílico direcionado para a superfície da prata. Essa conformação indica que o oxigênio da carbonila pode participar diretamente do processo de ancoragem, atuando como uma região de maior densidade eletrônica capaz de estabilizar a interação molécula-metal. Além disso, a proximidade da cadeia conjugada e dos anéis aromáticos em relação ao cluster favorece a interação do sistema π com a superfície metálica, contribuindo para a intensificação seletiva das bandas associadas às ligações C=C e aos modos fora do plano observados no espectro SERS.

Figura 21 - Geometrias otimizadas da DBC isolada (A) e na presença de um aglomerado de dez átomos de prata (B), em duas perspectivas diferentes.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

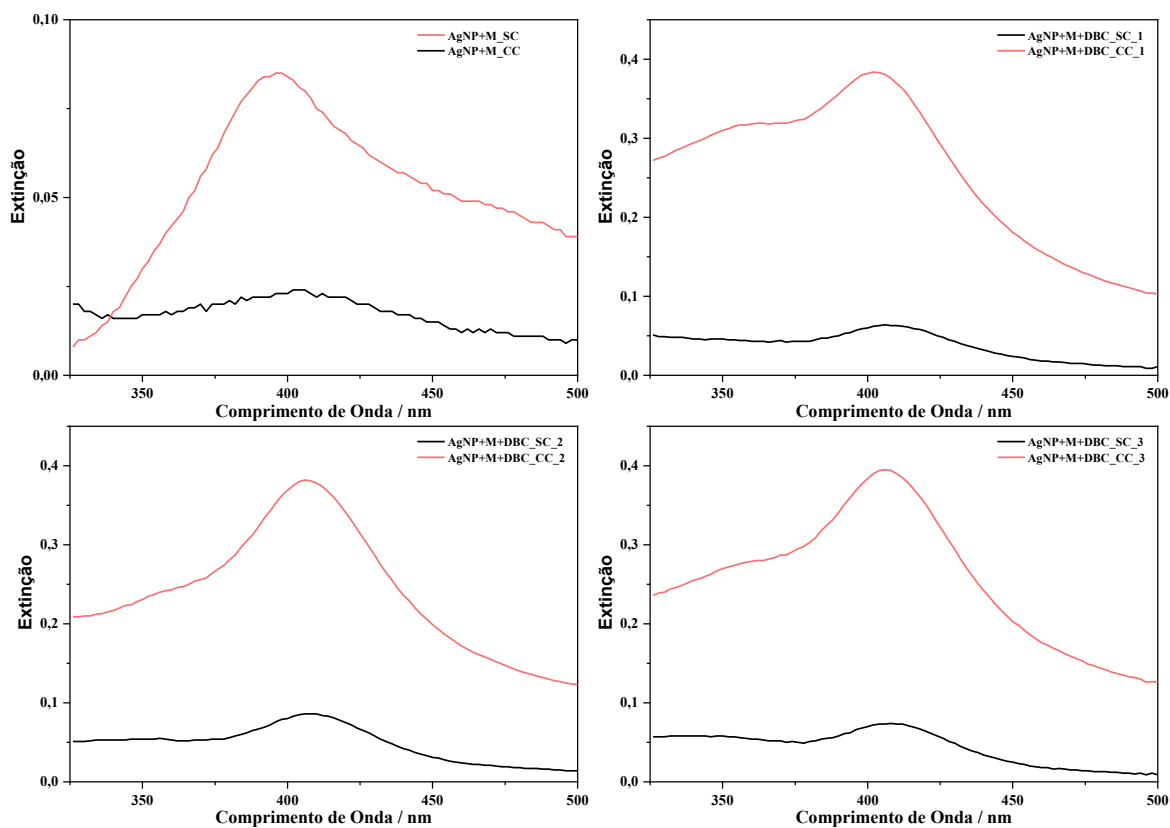
De modo geral, a análise conjunta dos espectros de infravermelho, Raman, SERS e dos dados teóricos indica que a DB mantém sua integridade estrutural após a interação com as

nanopartículas de prata, possibilitando o uso desse sistema na entrega controlada da droga. As principais alterações observadas no SERS estão relacionadas à intensificação seletiva de bandas associadas ao sistema π -conjugado, aos anéis aromáticos e aos modos fora do plano. Esse comportamento sugere que a adsorção ocorre preferencialmente por regiões eletronicamente ricas da molécula, que funcionam como bases de Lewis, especialmente o sistema conjugado $C=C-C=O$ e os anéis aromáticos. A presença da banda de baixa frequência associada à prata reforça a formação de uma interface molécula-metal, confirmando a interação efetiva da DBC com o substrato SERS. Portanto, os dados vibracionais demonstram que a molécula apresenta boa afinidade pela superfície metálica, sem evidência de degradação estrutural, o que reforça seu potencial para estudos de ancoragem em nanopartículas de prata e para aplicações em sistemas de detecção ou liberação controlada.

4.3 Drug Loading

Inicialmente, para analisar-se o quanto da DBC estava adsorvida na superfície metálica e o quanto estava livre na solução, foi realizada a leitura do branco em espectrofotometria UV-VIS, composto pela suspensão aquosa AgNPME. Após essa etapa, o sistema híbrido contendo DBC a 5 $\mu\text{g/mL}$ associada às nanopartículas de prata funcionalizadas com mercaptoetanol (AgNP+M, 9:1), na proporção 9:1, foi analisada em triplicata por UV-VIS, antes do processo de centrifugação. Em seguida, a mesma amostra que foi submetida à centrifugação a 11.000 rpm por 2 h, foi analisada nas mesmas condições experimentais. Paralelamente, a amostra controle contendo apenas AgNP_M (9:1), sem o composto ativo, também foi avaliada por UV-VIS antes e após centrifugação, a fim de verificar possíveis interferências espectrais inerentes ao sistema nanoparticulado. Esses resultados são apresentados na Figura 22.

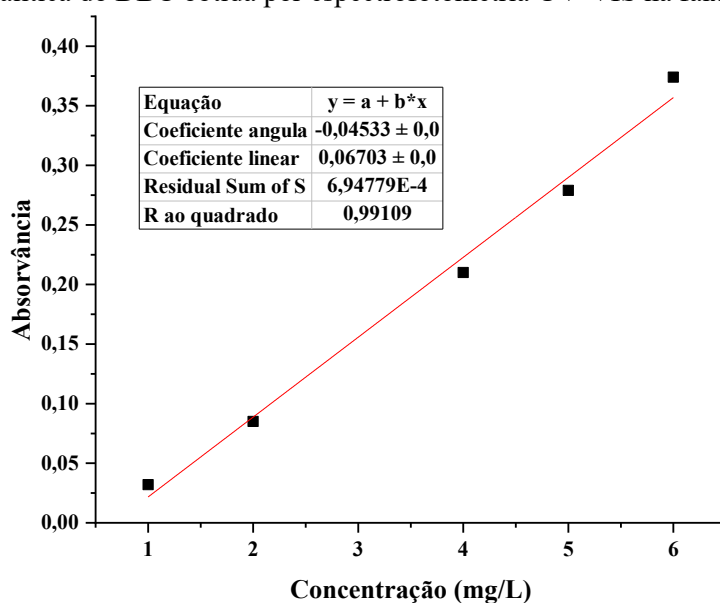
Figura 22 - Espectros UV-VIS de extinção do sistema híbrido AgNPME+DBC antes e após centrifugação, em comparação ao controle AgNP sem DBC.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Para a quantificação do DBC, foi construída uma curva de calibração demonstrado na Figura 23, na faixa de 1 a 6 mg/mL, a partir da qual foi obtida a equação linear $y = 0,067x - 0,0453$, em que y corresponde à absorbância e x à concentração do analito que foram demonstrados na Tabela 3. A linearidade observada nessa faixa indica adequação do método para a estimativa da concentração do composto nas amostras analisadas. O ponto de 3 $\mu\text{g/mL}$ foi retirado por apresentar um valor muito fora da reta.

Figura 23 - Curva analítica do DBC obtida por espectrofotometria UV-VIS na faixa de 1 a 6 mg/mL.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Tabela 3 - Valores de absorvância e concentrações calculadas para o DBC a partir da curva analítica obtida por UV-VIS

Amostras	Concentração (mg/L)	Absorvância
DBC1	1	0,032
DBC2	2	0,085
DBC4	4	0,21
DBC5	5	0,279
DBC6	6	0,374
AgNP+ME+DBC_SC	5,445916115	0,24
AgNP+ME+DBC_CC	1,38410596	0,056
Equação da Reta	$y = 0,067x - 0,0453$	
Absorvância	y	
Concentração mg/L	x	
Coeficiente angular	0,067	
Coeficiente Linear	-0,045	

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Com base nos dados experimentais obtidos para o sistema híbrido AgNP+M+DBC, observou-se absorvância de 0,240 antes da centrifugação e de 0,056 após. A partir da curva

analítica utilizada no ensaio, a amostra apresentou concentração calculada de 5,4459 µg/mL antes da centrifugação e de 1,3841 µg/mL após a centrifugação. Esses resultados evidenciam uma redução expressiva da concentração detectável de DBC na fase analisada após o tratamento centrífugo, que foi quantificada no cálculo abaixo de eficiência da encapsulação. No entanto, a presença da banda da DBC após a centrifugação indica que parte do composto ainda pode estar livre.

Cálculo da eficiência de encapsulação

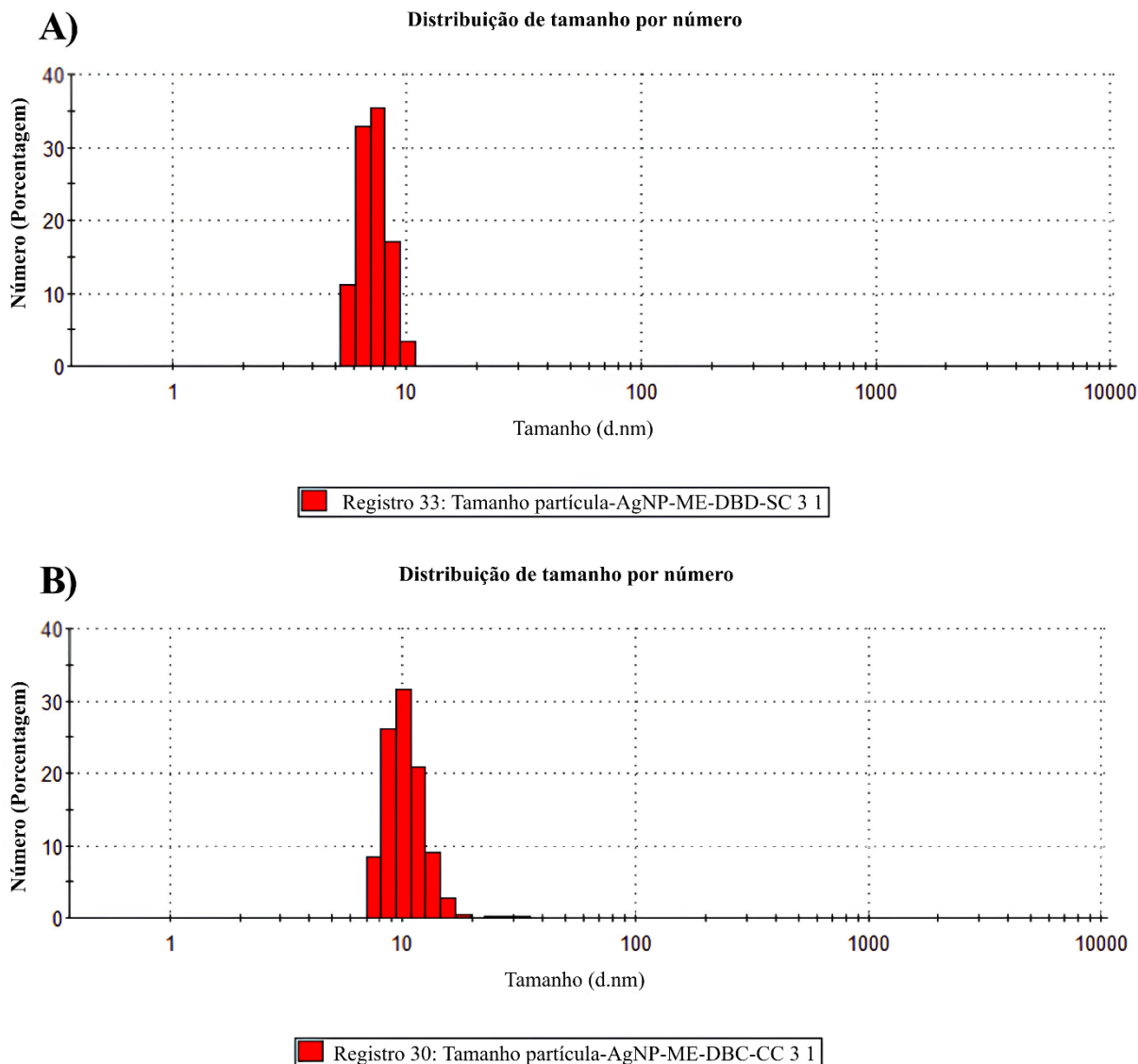
$$EE(\%) = \frac{m_{\text{DBC total adicionado}} - m_{\text{DBC livre}}}{m_{\text{DBC total adicionado}}} \times 100 \quad (3)$$

$$EE(\%) = \frac{5,4459 - 1,3841}{5,4459} \times 100$$

$$EE(\%) = 74,6\%$$

A centrifugação teve como objetivo remover as moléculas de DBC livres presentes na suspensão. Entretanto, após esse procedimento, a curva de análise ainda apresentou um sinal referente ao DBC, sugerindo que sua remoção não foi completa. A análise do histograma de distribuição de tamanho da Figura 24 obtido por DLS também revelou uma redução na população de AgNP menores após a centrifugação, indicando que parte dessas nanopartículas foi sedimentada e removida da amostra. Como essas AgNP podem apresentar moléculas de DBC adsorvidas em sua superfície, a fração retirada durante a centrifugação provavelmente continha tanto DBC livre quanto AgNP funcionalizadas com o composto. Desse modo, o valor obtido para a quantidade de DBC removida não corresponde exclusivamente ao DBC livre, pois também inclui moléculas associadas às AgNP sedimentadas. Além disso, o sinal de DBC ainda observado após a centrifugação sugere que parte do composto permaneceu na amostra, possivelmente na forma.

Figura 24 - Distribuição do tamanho hidrodinâmico por número das AgNP-ME-DBC (A) amostra sem centrifugação (SC); (B) amostra com centrifugação (CC).



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

4.4 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

A avaliação da citotoxicidade foi realizada com o objetivo de comparar a resposta de linhagens tumorais e sadias após exposição às AgNPME, aos derivados livres DBD e DBC e aos respectivos sistemas híbridos AgNPME+DBD e AgNPME+DBC. O ensaio de MTT é baseado na conversão do sal de tetrazólio em cristais de formazan por células metabolicamente ativas. Dessa forma a redução da absorbância não representa apenas perda direta de células, mas pode indicar diminuição da atividade mitocondrial, alteração do metabolismo redox, dano de membrana ou início de processos de morte celular. Esse aspecto é particularmente importante para a análise de sistemas contendo prata, já que as AgNP podem atuar por diferentes mecanismos, incluindo interação com membranas, liberação de íons Ag^+ , indução de

ROS, alteração da atividade mitocondrial e ativação de vias apoptóticas ou necróticas (Gurunathan *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2011).

Nas células sadias, HaCaT e L929, o objetivo é preservar a viabilidade celular e evitar diferenças significativas em relação ao controle negativo (DMSO 5%). Embora não sejam células primárias as HaCaT mantêm características relevantes de queratinócitos epidérmicos, como capacidade de estratificação, expressão de marcadores de diferenciação e participação em respostas inflamatórias cutâneas (Breitkreutz *et al.*, 1998; Maas-Szabowski; Stärker; Fusenig, 2003). Além da viabilidade celular, os queratinócitos também podem responder a estímulos químicos ou físicos por meio da liberação de moléculas sinalizadoras. Entre elas estão as citocinas como IL- 1β (interleucina-1 beta; do inglês, *interleukin-1 beta*) e IL-6 (interleucina-6; do inglês, *interleukin-6*), associadas à resposta inflamatória. Também podem ser liberadas quimiocinas como CCL2 (ligante 2 de quimiocina do motivo C-C; do inglês, *C-C motif chemokine ligand 2*) e CXCL8 (ligante 8 de quimiocina do motivo C-X-C; do inglês, *C-X-C motif chemokine ligand 8*), responsáveis por atrair células do sistema imune. Além disso, podem ocorrer alterações em moléculas de adesão como ICAM-1 (molécula de adesão intercelular 1; do inglês, *intercellular adhesion molecule 1*) e E-caderina (caderina epitelial; do inglês *Epithelial cadherin*), que participam da interação entre células. Assim, mesmo quando os queratinócitos permanecem viáveis, esses marcadores podem indicar uma resposta inflamatória ou alteração na organização celular após a exposição ao material testado (Curzytek; Maes; Kubera, 2021).

Fibroblastos da linhagem L929 apresentam papel essencial na manutenção da matriz extracelular, na reparação tecidual e na resposta a materiais biomédicos. Estudos com L929 demonstram que essas células são sensíveis a alterações do citoesqueleto, adesão e integridade de membrana, de modo que mudanças em sua mecânica celular podem refletir alterações funcionais importantes (Wu; Kuhn; Moy, 1998). Além disso, L929 é uma linhagem particularmente responsiva a estímulos que envolvem estresse mitocondrial e espécies reativas de oxigênio, como demonstrado em modelos de citotoxicidade induzida por TNF- α (fator de necrose tumoral alfa; do inglês, *Tumor Necrosis Factor alpha*), nos quais a morte celular está associada à geração mitocondrial de ânion superóxido e à necrose dependente de radicais livres (Hennet; Richtert; Peterhans, 1993; Vercammen *et al.*, 1998). Por isso, reduções de viabilidade em L929 devem ser interpretadas com atenção, pois podem indicar maior sensibilidade fibroblástica a alterações redox, danos de membrana ou comprometimento mitocondrial.

Entre as linhagens tumorais, A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28 representam modelos com perfis biológicos distintos. A549 é uma linhagem de adenocarcinoma pulmonar

frequentemente utilizada como modelo de câncer de pulmão e de epitélio alveolar tipo II. Essa linhagem apresenta características associadas à resistência tumoral, incluindo subpopulações com fenótipo de células-tronco tumorais, atividade de transportadores ABC (cassete de ligação ao ATP; do inglês, *ATP-Binding Cassette*), como ABCG2 (subfamília G, membro 2 do cassete de ligação ao ATP; do inglês, *ATP-Binding Cassette Subfamily G Member 2*), e maior resistência a fármacos como doxorrubicina e metotrexato (Sung *et al.*, 2008). Além disso, estudos em A549 demonstram que alterações no citoesqueleto, especialmente em microfilamentos, microtúbulos e filamentos intermediários de vimentina, podem estar relacionadas à redução da proliferação, migração e sobrevivência tumoral (Klimaszewska-Wisniewska *et al.*, 2017). Dessa forma, a redução de viabilidade em A549 após exposição aos sistemas híbridos pode estar relacionada tanto ao estresse oxidativo induzido pela prata quanto à interferência dos derivados conjugados em processos de proliferação, metabolismo e organização celular.

A linhagem MDA-MB-231 é um modelo de carcinoma mamário triplo-negativo, caracterizado por elevada agressividade, motilidade e ausência de receptores hormonais clássicos. Estudos demonstram que essas células apresentam perfil metabólico associado ao acúmulo de lipídios, maior captação de LDL (lipoproteína de baixa densidade; do inglês, *Low-Density Lipoprotein*) e expressão aumentada de ACAT1 (acil-CoA:colesterol aciltransferase 1; do inglês, *Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase 1*), características que favorecem processos de migração e comportamento invasivo (Antalis *et al.*, 2011). Além disso, a expressão de fatores relacionados à transição epitélio-mesenquimal, como SNAIL (proteína dedo de zinco SNAIL; do inglês, *Snail Family Transcriptional Repressor 1*), contribui para invasividade, crescimento tumoral, metástase linfonodal e resistência a quimioterápicos (Olmeda *et al.*, 2007). Essa combinação de metabolismo ativo, elevada plasticidade e tendência à resistência terapêutica torna MDA-MB-231 uma linhagem relevante para avaliar a capacidade dos sistemas AgNPME+DDB em reduzir a viabilidade de células tumorais agressivas. A literatura também demonstra que nanopartículas de prata podem reduzir a viabilidade de MDA-MB-231 por mecanismos envolvendo aumento de LDH (lactato desidrogenase; do inglês, *Lactate Dehydrogenase*), geração de ROS, ativação de caspase-3 (protease cisteína-aspártico 3; do inglês, *Cysteine-Aspartic Protease 3*) e fragmentação nuclear, reforçando a hipótese de morte celular mediada por estresse oxidativo e apoptose (Gurunathan *et al.*, 2013).

A linhagem SK-MEL-28, derivada de melanoma maligno, apresenta comportamento distinto das demais linhagens tumorais avaliadas. Melanomas são tumores frequentemente associados à elevada capacidade adaptativa, resistência terapêutica e alterações em vias de

sinalização relacionadas à sobrevivência celular. Em SK-MEL-28, a indução de morte celular por compostos antitumorais pode envolver dano ao DNA, aumento de LDH, ativação de caspase-3, fosforilação de p38 (proteína quinase ativada por mitógeno p38; do inglês, *P38 Mitogen-Activated Protein Kinase*) e translocação nuclear de NF-κB (fator nuclear kappa B; do inglês, *Nuclear Factor Kappa B*), indicando que a efetividade de um composto frente a essa linhagem depende da ativação de vias pró-apoptóticas específicas (Jia *et al.*, 2019). Assim, a resposta diferencial observada entre DBD e DBC em SK-MEL-28 pode estar associada à capacidade estrutural de cada derivado em interagir com a célula e superar mecanismos de resistência relacionados ao melanoma.

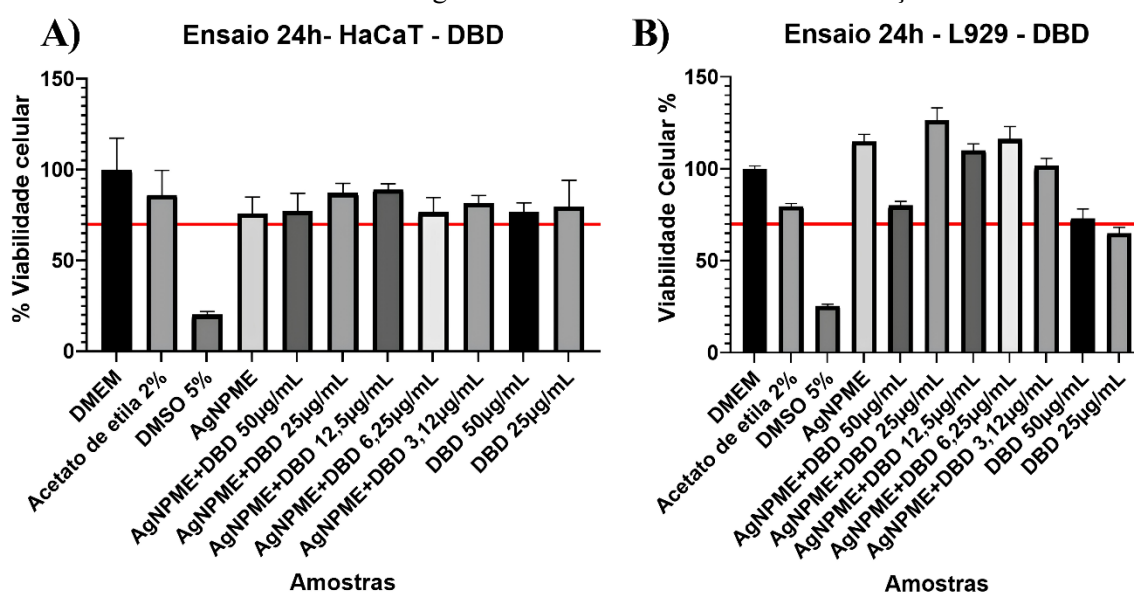
4.4.1 Ação antineoplásica da DBD

A associação da DBD às AgNPME, como pode ser visto na Figura 25, demonstrou perfil favorável de biocompatibilidade frente às células saudáveis. Em HaCaT, os sistemas híbridos AgNPME+DBD, nas concentrações de 3,12 a 50 µg/mL, mantiveram viabilidade celular superior a 80%, sem redução biologicamente relevante em relação ao controle negativo. A AgNPME isolada também apresentou um comportamento citocompatível, enquanto a DBD livre, nas concentrações de 50 e 25 µg/mL manteve a viabilidade celular acima do limite de segurança. Esse resultado indica que a adsorção da DBD à superfície metálica não intensificou a toxicidade das nanopartículas em queratinócitos. Considerando que a linhagem HaCaT apresenta comportamento epitelial e participa de respostas associadas à integridade cutânea, a preservação da viabilidade nessa linhagem sugere que o sistema AgNPME+DBD apresenta compatibilidade inicial com células epiteliais não tumorais (Breitkreutz *et al.*, 1998; Curzytek; Maes; Kubera, 2021).

Nas células L929, os sistemas AgNPME+DBD também mantiveram viabilidade compatível com citocompatibilidade. O controle negativo DMEM apresentou viabilidade de 100%, enquanto o acetato de etila 2% manteve viabilidade acima do limite de 70%. Em contraste, o DMSO 5% reduziu a viabilidade para abaixo de 30%, confirmando sua ação citotóxica e validando a sensibilidade do ensaio. A AgNPME isolada apresentou viabilidade de acima de 100%, enquanto os sistemas AgNPME+DBD mantiveram valores acima de 80,0% para todas as suas concentrações. Esses dados demonstram que a formulação híbrida não comprometeu a atividade metabólica dos fibroblastos, mesmo nas maiores concentrações avaliadas. A resposta de L929 é particularmente relevante porque essa linhagem pode ser sensível a danos mitocondriais, alterações de membrana e desequilíbrio redox. Como o ensaio

de MTT depende da atividade de enzimas mitocondriais, a manutenção ou aumento da viabilidade em L929 sugere ausência de prejuízo metabólico relevante após exposição ao AgNPME+DBD. Esse resultado diferencia o sistema híbrido da DBD livre, que apresentou comportamento mais variável, com viabilidade acima de 70% em 50 $\mu\text{g/mL}$ e 60% em 25 $\mu\text{g/mL}$. Assim, a associação às AgNPME parece ter reduzido o impacto da molécula livre sobre fibroblastos, possivelmente por modular sua disponibilidade no meio, sua interação com a membrana celular ou sua internalização.

Figura 25 - Viabilidade celular de HaCaT e L929 após 24 h de exposição à DBD livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBD em diferentes concentrações.

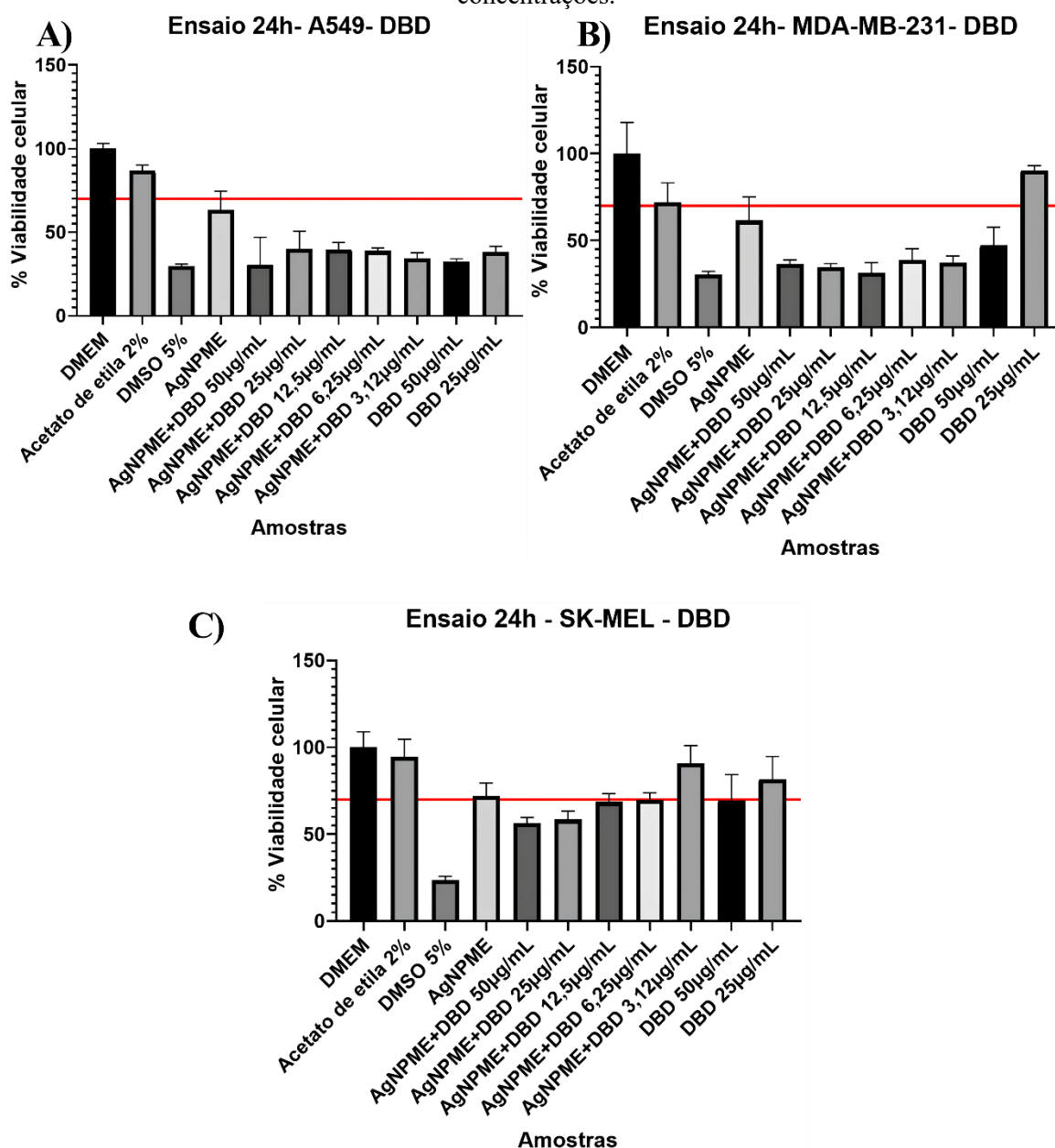


Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Nas linhagens tumorais demonstrados na Figura 26, a combinação AgNPME+DBD promoveu redução mais evidente da viabilidade celular, principalmente em A549 e MDA-MB-231, enquanto o efeito foi mais limitado em SK-MEL-28. Em A549 a AgNPME isolada reduziu a viabilidade para aproximadamente 60%, enquanto os sistemas AgNPME+DBD mantiveram a viabilidade entre aproximadamente 30% e 40%. A DBD livre também apresentou efeito citotóxico nessa linhagem com valores próximos a 30-40% nas concentrações de 50 e 25 $\mu\text{g/mL}$, esses resultados indicam que a DBD, principalmente quando associada às AgNPME, apresentou um efeito expressivo contra a linhagem de carcinoma pulmonar. Em A549, essa resposta pode estar relacionada à sensibilidade da linhagem a compostos capazes de interferir em proliferação, ciclo celular, organização do citoesqueleto e homeostase redox. A literatura demonstra que a redução da viabilidade em A549 pode envolver apoptose mediada por alterações na razão BCL2/BAX, necrose, catástrofe mitótica e desorganização de

microfilamentos, microtúbulos e vimentina (Klimaszewska-Wiśniewska *et al.*, 2017). Nesse contexto, o sistema AgNPME+DBD pode atuar por uma combinação entre o efeito pró-oxidante associado à prata e a atividade do sistema carbonílico conjugado da DBD.

Figura 26 - Viabilidade celular da linhagem tumoral A549 (A), MDA-MB-231 (B) e SK-MEL-28 (C) após 24 h de exposição à DBD livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBD em diferentes concentrações.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na linhagem MDA-MB-231 a AgNPME isolada apresentou viabilidade próxima de 60%, enquanto os sistemas AgNPME+DBD reduziram a viabilidade para valores em torno de 30% a 40%, dependendo da concentração avaliada. Esse comportamento indica forte resposta

citotóxica frente à linhagem de câncer de mama triplo-negativo, a DBD livre apresentou resposta mais dependente da concentração, com maior redução da viabilidade em 50 µg/mL e efeito menos pronunciado em 25 µg/mL. A redução de viabilidade observada para AgNPME+DBD também é coerente com o perfil biológico da linhagem. Por se tratar de uma linhagem triplo-negativa, altamente migratória e metabolicamente adaptada, MDA-MB-231 tende a apresentar mecanismos de resistência, mas também maior vulnerabilidade a terapias que elevam a pressão oxidativa e comprometem a homeostase mitocondrial. Nanopartículas de prata já foram associadas à redução dose-dependente da viabilidade de MDA-MB-231, com aumento de ROS, LDH, caspase-3 e fragmentação nuclear (Gurunathan *et al.*, 2013). Assim, a intensificação do efeito após associação entre AgNPME e DBD sugere que a nanopartícula pode favorecer a apresentação da droga à célula tumoral e contribuir para a indução de estresse oxidativo.

Na linhagem SK-MEL, demonstrada na Figura 20, o efeito da DBD foi mais discreto quando comparado às linhagens A549 e MDA-MB-231. A AgNPME isolada e algumas concentrações de AgNPME+DBD reduziram parcialmente a viabilidade celular, porém nem todas as condições apresentaram valores inferiores a 70%. Esse resultado sugere que a SK-MEL apresentou maior resistência ao sistema AgNPME+DBD, indicando que a resposta citotóxica da DBD depende do tipo celular avaliado. A resposta mais limitada indica que a DBD não foi igualmente efetiva contra todas as linhagens tumorais. Esse resultado pode estar associado à maior resistência intrínseca de células de melanoma e à necessidade de ativação de vias específicas de morte celular, como p38, NF-κB e caspase-3, para que ocorra apoptose de forma mais eficiente (Jia *et al.*, 2019). Assim, embora a DBD associada às AgNPME tenha apresentado perfil promissor em A549 e MDA-MB-231, sua atividade frente à SK-MEL-28 foi menos intensa, sugerindo dependência do tipo celular.

Do ponto de vista estrutural, a DBD pertence aos DDB, compostos α,β -insaturados caracterizados por um sistema carbonílico conjugado entre anéis aromáticos. Essa estrutura favorece a deslocalização eletrônica e a interação com alvos biológicos, sendo associada a propriedades antiproliferativas e citotóxicas em diferentes modelos tumorais (Chowrasia *et al.*, 2022; De Oliveira *et al.*, 2021a). Derivados de 1,5-diarilpenta-5,4-dien-3-ona, estruturalmente relacionados à dibenzalacetona e considerados análogos sintéticos da curcumina, já demonstraram atividade antiproliferativa em A549, acompanhada de fragmentação nuclear e aumento de ROS (Chowrasia *et al.*, 2022). Portanto, os resultados obtidos para AgNPME+DBD são compatíveis com a possibilidade de ação combinada entre a prata e o derivado orgânico conjugado DBD.

De forma integrada, a DBD associada às AgNPME apresentou atividade dependente da linhagem e da concentração. O sistema preservou a viabilidade das células saudáveis HaCaT e L929, enquanto promoveu redução da viabilidade em A549 e MDA-MB-231. A concentração de 12,5 µg/mL se destaca por conciliar boa citocompatibilidade em células não tumorais e efeito relevante em linhagens tumorais, configurando um ponto de equilíbrio entre segurança e atividade antitumoral. Entretanto, a resposta limitada em SK-MEL-28 indica que a DBD pode não ser suficiente para superar mecanismos de resistência característicos de melanoma nas condições avaliadas.

4.4.2 Ação antineoplásica da DBC

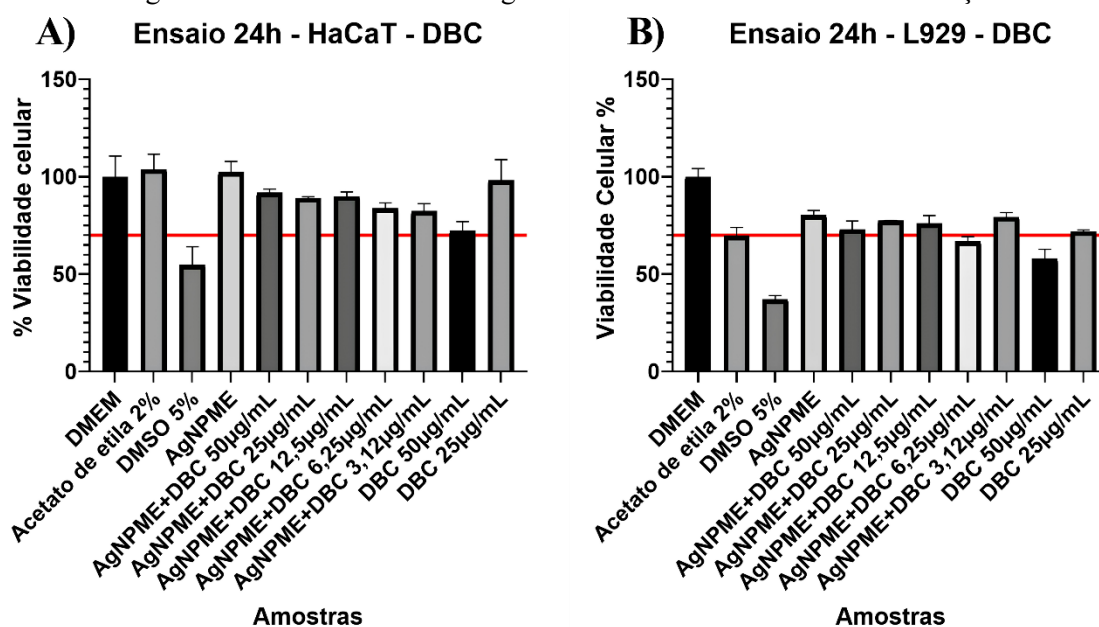
A avaliação do DBC demonstrado na Figura 27, evidenciou um perfil de resposta frente às linhagens tumorais, sobretudo quando o composto foi associado às AgNPME. Enquanto a DBD apresentou atividade mais dependente da concentração e da linhagem, o DBC demonstrou ação mais ampla entre A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28. Esse comportamento sugere que diferenças estruturais entre os dois compostos influenciam diretamente sua interação com as células, sua adsorção ao sistema nanoparticulado e sua capacidade de induzir citotoxicidade.

Nas células HaCaT, o DBC e os sistemas AgNPME+DBC apresentaram perfil citocompatível, com viabilidade acima de 70% em todas as condições avaliadas. A AgNPME isolada apresentou viabilidade de acima de 100%, enquanto os sistemas AgNPME+DBC, nas concentrações de 50 a 3,12 µg/mL, mantiveram valores superiores a 80%. Mesmo o DBC livre preservou a viabilidade de 72,3% em 50 µg/mL e 98,1% em 25 µg/mL. Esses dados indicam que o DBC, principalmente quando associado às AgNPME, não comprometeu de forma expressiva a atividade metabólica dos queratinócitos. Considerando que as HaCaT são células epiteliais envolvidas em processos de barreira e resposta inflamatória, a manutenção de viabilidade nessa linhagem reforça o perfil de segurança inicial do sistema híbrido (Breitkreutz *et al.*, 1998).

Nas células L929, a resposta foi mais sensível do que em HaCaT. A AgNPME isolada manteve viabilidade de acima de 80%, enquanto os sistemas AgNPME+DBC em quase todas as concentrações mantiveram viabilidade acima de 70%, com exceção da concentração de 6,25 µg/mL que reduziu a viabilidade para 66,8%. O DBC livre também apresentou maior toxicidade para L929, com viabilidade de 58,0% em 50 µg/mL e 71,8% em 25 µg/mL. Esse

comportamento indica que fibroblastos são mais sensíveis ao DBC do que queratinócitos, possivelmente em razão de diferenças na adesão, organização do citoesqueleto, atividade mitocondrial e resposta a estresse oxidativo. A L929 é uma linhagem sensível a mecanismos de morte mediados por ROS mitocondrial, especialmente quando há desequilíbrio entre geração de radicais livres e capacidade antioxidante (Hennot; Richtert; Peterhans, 1993; Vercammen *et al.*, 1998). Portanto, a redução observada para DBC livre em 50 µg/mL e AgNPME+DBC em 6, 25 µg/mL sugere que essas condições podem ultrapassar o limite de tolerância metabólica dos fibroblastos.

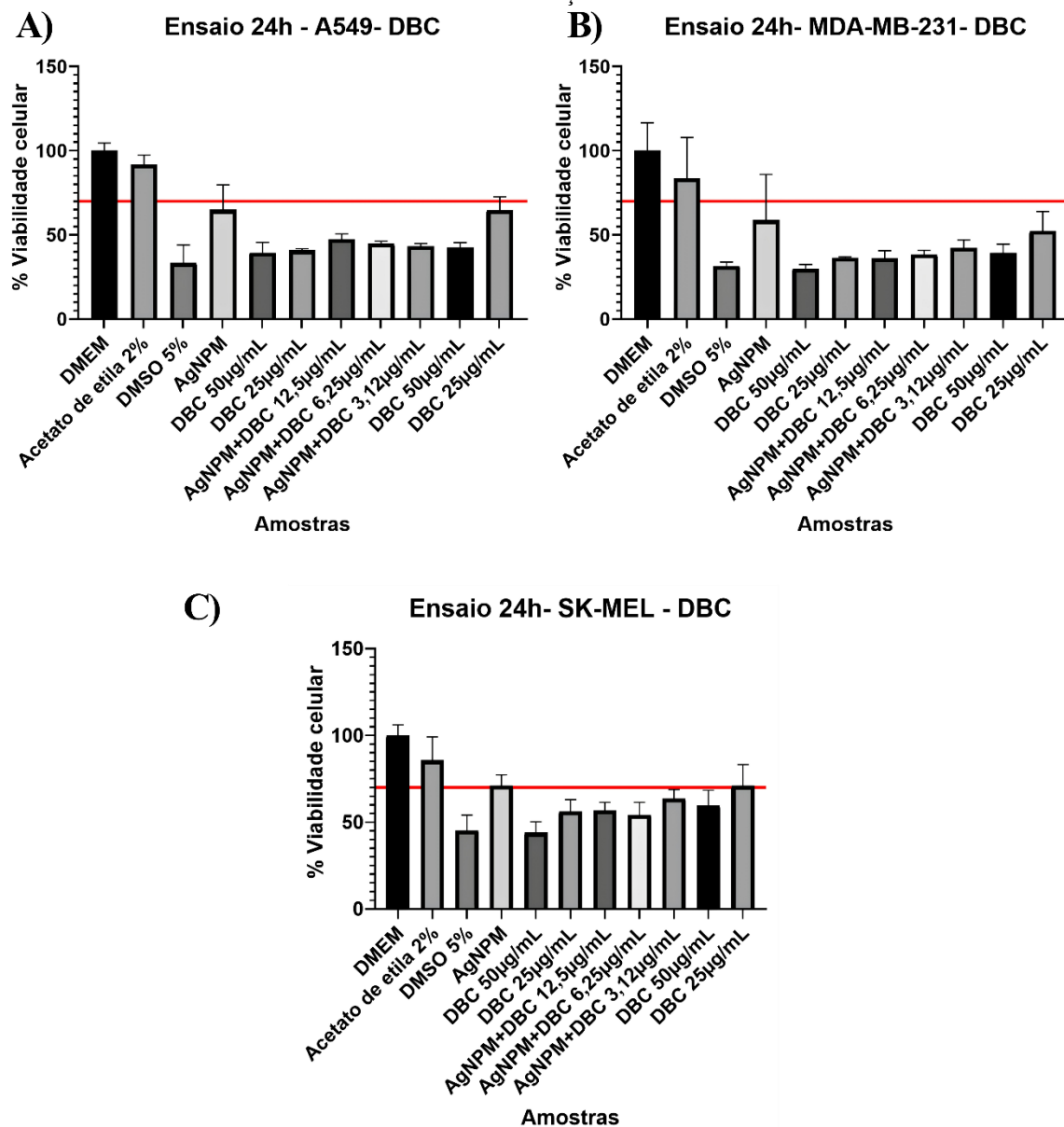
Figura 27 - Viabilidade celular de HaCaT (A) e L929 (B) após 24 h de exposição à DBC livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBC em diferentes concentrações.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A avaliação do DBC evidenciou um perfil de resposta mais intenso frente às linhagens tumorais, sobretudo quando o composto foi associado às AgNPME. Enquanto a DBD apresentou atividade mais dependente da concentração e da linhagem, o DBC demonstrou ação mais ampla entre A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28. Esse comportamento sugere que diferenças estruturais entre os dois derivados influenciam diretamente sua interação com as células, sua adsorção ao sistema nanoparticulado e sua capacidade de induzir citotoxicidade.

Figura 28 - Viabilidade celular da linhagem tumoral A549 (A), MDA-MB-231 (B) e SK-MEL-28 (C) após 24 h de exposição à DBC livre, AgNPME e sistemas híbridos AgNPME+DBC em diferentes concentrações.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Em A549, todas as formulações AgNPME+DBC reduziram a viabilidade para valores inferiores a 70%. A AgNPME isolada apresentou viabilidade de 64,9%, enquanto os sistemas AgNPME+DBC reduziram a viabilidade para valores entre 39% e 47%. O DBC livre também apresentou atividade antitumoral, com viabilidade de 42,5% em 50 µg/mL e 64,8% em 25 µg/mL. Esses resultados indicam efeito citotóxico pronunciado contra A549, inclusive em concentrações menores, sugerindo que o DBC possui atividade intrínseca mais intensa do que a DBD frente a essa linhagem. A resposta em A549 pode estar relacionada à vulnerabilidade dessa linhagem a compostos capazes de interferir em vias de proliferação, ciclo celular e

organização estrutural. A549 possui subpopulações com características de células-tronco tumorais e expressão de transportadores ABC, como ABCG2, o que pode contribuir para resistência a fármacos (Sung *et al.*, 2008). Mesmo assim, compostos capazes de provocar estresse oxidativo, apoptose, necrose, catástrofe mitótica ou desorganização do citoesqueleto podem reduzir sua viabilidade (Klimaszewska-Wiśniewska *et al.*, 2017). Nesse sentido, o AgNPME+DBC pode atuar por mecanismos complementares: a prata contribui para perturbação redox e mitocondrial, enquanto o DBC, por sua estrutura conjugada, pode favorecer interações com membranas e alvos intracelulares relacionados à sobrevivência tumoral.

Em MDA-MB-231, o DBC apresentou o efeito mais expressivo entre as linhagens avaliadas. A AgNPME isolada apresentou viabilidade abaixo de 60 %, enquanto os sistemas AgNPME+DBC mantiveram a viabilidade abaixo 45 %. O DBC livre também reduziu a viabilidade para 39,4% em 50 µg/mL e 52,3% em 25 µg/mL. Esses dados demonstram forte atividade citotóxica contra uma linhagem agressiva e triplo-negativa, cuja biologia está associada à elevada capacidade migratória, metabolismo lipídico alterado e expressão de marcadores relacionados à invasividade ((Antalis *et al.*, 2011; Olmeda *et al.*, 2007). A maior sensibilidade da MDA-MB-231 ao AgNPME+DBC pode ser interpretada a partir de dois aspectos principais. Primeiro, células tumorais agressivas apresentam elevada demanda metabólica e maior dependência de vias adaptativas para manter proliferação e migração. Segundo essas células podem ser particularmente vulneráveis a sistemas que aumentam a produção de ROS e comprometem a função mitocondrial. A literatura demonstra que AgNPs induzem citotoxicidade em MDA-MB-231 por meio de redução da viabilidade, aumento de LDH, geração de ROS, ativação de caspase-3 e fragmentação nuclear (Gurunathan *et al.*, 2013). Assim, a associação entre AgNPME e DBC pode potencializar uma resposta redox-dependente e pró-apoptótica, explicando a redução expressiva da viabilidade nessa linhagem.

Na linhagem SK-MEL-28, o DBC também apresentou desempenho superior ao observado para a DBD. A AgNPME isolada apresentou viabilidade abaixo de 70%, enquanto os sistemas AgNPME+DBC se mantiveram abaixo de 60%. O DBC livre reduziu a viabilidade para 54,7% em 50 µg/mL e 60,0% em 25 µg/mL. Esse resultado indica que, diferentemente da DBD, o DBC foi capaz de reduzir a viabilidade de SK-MEL-28 abaixo de 70% em todas as condições avaliadas. Como a morte celular em SK-MEL-28 pode envolver dano ao DNA, aumento de LDH, ativação de caspase-3, via p38 e modulação de NF-κB, é possível que o DBC apresente maior capacidade de ativar mecanismos pró-apoptóticos nessa linhagem (Jia *et al.*, 2019). A maior resposta do DBC em SK-MEL-28 pode estar associada à sua estrutura mais estendida e conjugada, que favorece interações hidrofóbicas e eletrônicas com membranas e

compartimentos celulares. Em comparação à DBD, o DBC possui uma cadeia conjugada mais ampla e maior extensão aromática, o que pode aumentar sua afinidade por ambientes lipofílicos e superfícies nanoestruturadas (Da Silva *et al.*, 2018; Periasamy; Kothainayaki; Sivakumar, 2016). Essa característica pode favorecer a interação com a membrana celular e a internalização ou aproximação do sistema híbrido aos compartimentos intracelulares. Quando associado às AgNPME, esse efeito pode ser somado ao potencial pró-oxidante da prata, elevando a pressão oxidativa sobre células tumorais (Gomes; Martins; Prior, 2021a; Park *et al.*, 2011).

Comparativamente, o AgNPME+DBC apresentou perfil mais promissor que o AgNPME+DBD, pois reduziu a viabilidade das três linhagens tumorais avaliadas, enquanto preservou, em geral, as células saudáveis. A DBD mostrou melhor equilíbrio em condição específica, principalmente em AgNPME+DBD 12,5 µg/mL, com boa compatibilidade em HaCaT e L929 e resposta relevante em A549 e MDA-MB-231. Já o DBC apresentou ação mais ampla, destacando-se nas formulações AgNPME+DBC 50, 25, 12,5 e 3,12 µg/mL, que combinaram redução expressiva da viabilidade tumoral com manutenção da viabilidade das células saudáveis acima de 70%. A seletividade observada parece resultar da combinação entre as propriedades físico-químicas dos sistemas híbridos e as características biológicas de cada linhagem. Assim, enquanto a manutenção da viabilidade em HaCaT e L929 indica citocompatibilidade inicial, a redução em A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28 sugere efeito citotóxico desejável. Contudo, AgNPME+DBC 6, 25 µg/mL e DBC livre 50 µg/mL devem ser interpretados com cautela, devido à maior sensibilidade observada em L929.

De modo geral, o AgNPME+DBC foi o sistema mais promissor, especialmente pela ação efetiva contra A549, MDA-MB-231 e SK-MEL-28. A resposta controlada das AgNPME isoladas também sugere que a modificação superficial contribuiu para limitar a toxicidade em células não tumorais, em concordância com a literatura, que descreve a citotoxicidade das nanopartículas de prata como dependente de tamanho, concentração, estabilizante, tipo celular e resposta ao estresse oxidativo (Park *et al.*, 2011; Veeraraghavan *et al.*, 2021). Estudos complementares envolvendo ROS, LDH, potencial mitocondrial, anexina V/PI e caspases ainda são necessários para confirmar os mecanismos de morte celular envolvidos.

5 CONCLUSÕES

As nanopartículas de prata foram sintetizadas e caracterizadas inicialmente por espectroscopia UV-VIS. A presença da banda de ressonância plasmônica de superfície localizada na região de 391 nm confirmou a formação das AgNP com distribuição estreita de tamanhos, indicando a obtenção de um coloide compatível com nanopartículas de prata estáveis nas condições avaliadas. As alterações observadas nos espectros SERS, após a adição dos modificadores de superfície e dos derivados orgânicos, indicaram mudanças no ambiente plasmônico das nanopartículas, sugerindo interação entre a superfície metálica e as moléculas de interesse. A adsorção das DDB em AgNP puras e modificadas foi investigada por DLS e pelas espectroscopias UV-VIS, Raman e SERS. Os resultados indicaram que os modificadores de superfície, especialmente o mercaptoetanol, favoreceram a aproximação entre as moléculas orgânicas e a superfície das AgNP.

A caracterização das DDB puras por espectroscopia Raman permitiu identificar bandas vibracionais associadas principalmente ao sistema π -conjugado, aos anéis aromáticos e ao grupo carbonílico. Esses dados foram importantes para estabelecer o perfil vibracional de referência da DBD e da DBC antes da interação com as nanopartículas, possibilitando a comparação posterior com os espectros dos sistemas híbridos. A boa correspondência entre os dados experimentais e teóricos contribuiu para a atribuição das principais bandas e para a compreensão das regiões moleculares envolvidas na interação com a superfície metálica.

Nos espectros SERS, a intensificação seletiva de bandas vibracionais confirmou a interação efetiva das DDB com o substrato metálico. Para a DBD, as alterações espectrais sugeriram participação do sistema conjugado, dos anéis aromáticos e de regiões contendo nitrogênio e oxigênio no processo de adsorção. Para a DBC, a intensificação de modos associados ao eixo $C=C-C=O$, aos anéis aromáticos e a vibrações fora do plano indicou que a interação ocorre preferencialmente por regiões eletronicamente ricas da molécula, em especial a carbonila. A aproximação pelos heteroátomos pode ser favorecida pela presença do modificador de superfície ME, que favorece o ancoramento por ligações de hidrogênio. Em ambos os casos, não foram observados indícios de degradação estrutural após a adsorção, demonstrando que os nanoconjugados preservaram as características vibracionais essenciais dos derivados.

A avaliação citotóxica das DDB, das AgNP e dos sistemas híbridos AgNPME+DBD e AgNPME+DBC demonstrou que a associação entre os derivados orgânicos e as

nanopartículas de prata modificadas foi capaz de alterar a resposta biológica frente às linhagens tumorais MDA-MB-231, SK-MEL-28 e A549, mantendo, em condições específicas, viabilidade aceitável nas células saudáveis HaCaT e L929. O sistema AgNPME+DBD apresentou perfil citocompatível em células saudáveis e efeito mais evidente sobre A549 e MDA-MB-231, enquanto a resposta em SK-MEL-28 foi menos expressiva. Já o sistema AgNPME+DBC apresentou desempenho mais abrangente, reduzindo a viabilidade das três linhagens tumorais avaliadas e preservando, na maioria das concentrações, a viabilidade das células saudáveis acima do limite de citocompatibilidade estabelecido pela ISO 10993-5.

Entre os sistemas avaliados, AgNPME+DBC destacou-se como o nanoconjugado mais promissor, uma vez que apresentou maior amplitude de ação antitumoral frente às três linhagens cancerosas estudadas. Entretanto, a maior sensibilidade observada em L929 em algumas condições indica que a concentração do sistema híbrido deve ser cuidadosamente selecionada para preservar a seletividade entre células tumorais e saudáveis. Assim, os resultados sugerem que a adsorção da DBC em AgNP modificadas pode representar uma estratégia relevante para intensificação do efeito antineoplásico.

Portanto, os resultados obtidos confirmam que as AgNP modificadas podem atuar como plataformas eficientes para adsorção de DDB, permitindo a formação de sistemas híbridos com propriedades espectroscópicas bem definidas e potencial atividade antineoplásica *in vitro*. A associação das DDB às nanopartículas de prata modificadas mostrou-se uma estratégia promissora para intensificar a resposta citotóxica frente a células tumorais, com destaque para o sistema AgNPME+DBC.

REFERÊNCIAS

- ARTHI, K. V. *et al.*, Experimental spectra, electronic energies (liquid and gaseous phases) quantum computational strategies and potential biological activity studies of (1E, 4E)-1, 5-bis (4-methoxyphenyl) penta-1,4-dien-3-one: An antiviral agent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 356, 15 jun. 2022.
- ABREU, Flavia Oliveira Monteiro da Silva *et al.*, Formulation of nanoemulsions enriched with chalcone-based compounds: formulation process, physical stability, and antimicrobial effect. **Polymer Bulletin**, v. 81, n. 8, p. 7367–7391, 1 jun. 2024.
- ANTALIS, Caryl J. *et al.*, Migration of MDA-MB-231 breast cancer cells depends on the availability of exogenous lipids and cholesterol esterification. **Clinical and Experimental Metastasis**, v. 28, n. 8, p. 733–741, dez. 2011.
- BECKE, Axel D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.
- BÍBLIA. Português. **Bíblia de estudo Nova Versão Transformadora**. Tradução de Susana Klassen. 1. ed. São Paulo: Mundo Cristão, 2018.
- BOCA, Sanda C. *et al.*, Chitosan-coated triangular silver nanoparticles as a novel class of biocompatible, highly effective photothermal transducers for in vitro cancer cell therapy. **Cancer Letters**, v. 311, n. 2, p. 131–140, 2011.
- BREITKREUTZ, Dirk *et al.*, Epidermal differentiation and basement membrane formation by HaCaT cells in surface transplants. **European Journal of Cell Biology**, v. 75, n. 3, p. 273–286, 1998.
- CAÑAMARES, M. V. *et al.*, Surface-enhanced Raman scattering study of the adsorption of the anthraquinone pigment alizarin on Ag nanoparticles. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 35, n. 11, p. 921–927, 25 nov. 2004.
- CHOWRASIA, Deepak *et al.*, In vitro and in silico growth inhibitory, anti-ovarian & anti-lung carcinoma effects of 1,5 diarylpenta-1,4-dien-3-one as synthetically modified curcumin analogue. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 18, p. 8569–8586, 2022.
- COPPOLI LANFERINI, Daphne F. *et al.*, Tracking chemical interactions of caspofungin on silver nanoparticles through SERS spectroscopy for antifungal applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 340, p. 126349, nov. 2025.
- CREIGHTON, J. Alan; BLATCHFORD, Christopher G.; ALBRECHT, M. Grant. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics**, v. 75, p. 790–798, 1979.
- CURZYTEK, K.; MAES, M.; KUBERA, M. Immune-Regulatory and Molecular Effects of Antidepressants on the Inflamed Human Keratinocyte HaCaT Cell Line. **Neurotoxicity Research**, v. 39, n. 4, p. 1211–1226, 1 ago. 2021.

DA SILVA, Pedro S. Pereira *et al.*, On the Performance of Hybrid Functionals for Non-linear Optical Properties and Electronic Excitations in Chiral Molecular Crystals: The Case of Butterfly-Shaped Dicinnamalacetone. **ChemPhysChem**, v. 19, n. 1, p. 82–92, 5 jan. 2018.

DE OLIVEIRA, Mauro M. *et al.*, Full Spectroscopic Characterization and Cytotoxicity Activity of Synthetic Dibenzalacetone Derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1231, 5 maio 2021.

DE OLIVEIRA, Rafael; DA SILVA MARTINI, William; CARLOS SANT'ANA, Antonio. Combined effect involving semiconductors and plasmonic nanoparticles in photocatalytic degradation of pesticides. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 17, p. 100657, maio 2022.

DE OLIVEIRA, Rafael; SANT'ANA, Antonio Carlos. Featured Properties of the Adsorption of Tebuconazole on Ag Surface Characterized through SERS Spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 00, n. 00, p. 1–8, 2023.

DOOSTMOHAMMADI, Ali *et al.*, **Potentials and future perspectives of multi-target drugs in cancer treatment: the next generation anti-cancer agents.** **Cell Communication and Signaling BioMed Central Ltd**, , 15 abr. 2024.

FILGUEIRAS, Aline Luciano *et al.*, The adsorption of rifampicin on gold or silver surfaces mediated by 2-mercaptoethanol investigated by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 86, p. 75–80, set. 2016.

FRISCH, M. J. *et al.*, **Gaussian 09, Inc., Wallingford CT.** Wallingford CT, USA Gaussian Inc., , 2016.

GHERASIM, Oana *et al.*, **An updated review on silver nanoparticles in biomedicine.** **Nanomaterials** MDPI AG, , 1 nov. 2020.

GOMES, Helena I. O.; MARTINS, Catarina S. M.; PRIOR, João A. V. Silver Nanoparticles as Carriers of Anticancer Drugs for Efficient Target Treatment of Cancer Cells. **Nanomaterials**, v. 11, n. 4, p. 964, 9 abr. 2021.

GURUNATHAN, Sangiliyandi *et al.*, Cytotoxicity of biologically synthesized silver nanoparticles in MDA-MB-231 human breast cancer cells. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

HANAHAN, Douglas. **Hallmarks of Cancer: New Dimensions.** **Cancer Discovery** American Association for Cancer Research Inc., 1 jan. 2022.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. **The Hallmarks of Cancer Review evolve progressively from normalcy via a series of preCell.**

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. **Hallmarks of cancer: The next generation.** **Cell**, 4 mar. 2011.

HENNET, Thierry; RICHTERT, Christoph; PETERHANS, Ernst. **Tumour necrosis factor- α induces superoxide anion generation in mitochondria of L929 cells** *Biochem. J.* [S.l.: S.n.].

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, 9 nov. 1964.

HOLGADO, M. A. *et al.*, **Drug Targeting to Cancer by Nanoparticles Surface Functionalized with Special Biomolecules** *Current Medicinal Chemistry*. [S.l.: S.n.].

HONG, Seongmin; LI, Xiao. One step surface modification of gold nanoparticles for surface-enhanced Raman spectroscopy. **Applied Surface Science**, v. 287, p. 318–322, dez. 2013.

HOUSMAN, Genevieve *et al.*, **Drug resistance in cancer: An overview**. *Cancers MDPI AG*, 5 set. 2014.

HUSSAIN, Nisar; PU, Hongbin; SUN, Da-Wen. Synthesis of bimetallic core-shelled nanoparticles modified by 2-mercaptoethanol as SERS substrates for detecting ferbam and thiabendazole in apple puree. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 38, n. 8, p. 1386–1399, 3 ago. 2021.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5:2009: biological evaluation of medical devices — Part 5: tests for *in vitro* cytotoxicity. 3. ed. Geneva: ISO, 2009. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/36406.html>. Acesso em: 29 abr. 2026.

JAMRÓZ, Michał H. **Vibrational Energy Distribution Analysis: VEDA 4**. Warsaw, Poland, 2010.

JAMRÓZ, Michał H. Vibrational energy distribution analysis (VEDA): Scopes and limitations. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 114, p. 220–230, 2013.

JIA, Y. *et al.*, Ferruginol induced apoptosis on SK-Mel-28 human malignant melanoma cells mediated through P-p38 and NF- κ B. **Human and Experimental Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 227–238, 1 fev. 2019.

JUN, Bong-Hyun *et al.*, Multifunctional Silver-Embedded Magnetic Nanoparticles as SERS Nanoprobes and Their Applications. **Small**, v. 6, n. 1, p. 119–125, 4 jan. 2010.

KARUNAKAR, Karthik *et al.*, “**Therapeutic advancements in nanomedicine: The multifaceted roles of silver nanoparticles**”. *Biotechnology Notes KeAi Communications Co.*, 1 jan. 2024.

KIM, Byung-Hak *et al.*, Inhibition of tyrosinase activity and melanin production by the chalcone derivative 1-(2-cyclohexylmethoxy-6-hydroxy-phenyl)-3-(4-hydroxymethyl-phenyl)-propenone. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 480, n. 4, p. 648–654, nov. 2016.

KLIMASZEWSKA-WISNIEWSKA, Anna *et al.*, Antiproliferative and antimetastatic action of quercetin on A549 non-small cell lung cancer cells through its effect on the cytoskeleton. **Acta Histochemica**, v. 119, n. 2, p. 99–112, 1 mar. 2017.

LEE, Chengteh; YANG, Weitao; PARR, Robert G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LEE, P. C.; MEISEL, D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 86, n. 17, p. 3391–3395, 1 ago. 1982.

LEE, Sang Hun; JUN, Bong Hyun. **Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine**. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI AG, , 2 fev. 2019.

LIMA, Franciely R. A. *et al.*, Accessing BCG in infected macrophages by antibody-mediated drug delivery system and tracking by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 255, 5 jul. 2021.

LIU, Kunxiang *et al.*, Raman Spectroscopy: A Novel Technology for Gastric Cancer Diagnosis. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, 15 mar. 2022.

MAAS-SZABOWSKI, Nicole; STÄRKER, Anja; FUSENIG, Norbert E. **Epidermal tissue regeneration and stromal interaction in HaCaT cells is initiated by TGF- α** . **Journal of Cell Science**, 15 jul. 2003.

MADZHAROVA, Fani; HEINER, Zsuzsanna; KNEIPP, Janina. Surface-Enhanced Hyper Raman Spectra of Aromatic Thiols on Gold and Silver Nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 124, n. 11, p. 6233–6241, 19 mar. 2020.

MAKHOBHA, Xolani H. *et al.*, Potential impact of the multi-target drug approach in the treatment of some complex diseases. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 3235–3249, 2020.

MARAGATHAM, G. *et al.*, Structure determination and quantum chemical analysis of chalcone derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1179, p. 568–575, mar. 2019.

MARQUES, Flávia C. *et al.*, Surface-enhanced Raman spectroscopy of one and a few molecules of acid 4-mercaptobenzoic in AgNP enabled by hot spots generated by hydrogen bonding. **Physical Chemistry Chemical Physics**, 2022.

MASSON, Jean-Francois. Portable and field-deployed surface plasmon resonance and plasmonic sensors. **The Analyst**, v. 145, n. 11, p. 3776–3800, 2020.

MOSKOVITS, M. Surface selection rules. **The Journal of Chemical Physics**, v. 77, n. 9, p. 4408–4416, 1 nov. 1982.

MOSKOVITS, Martin. Surface-enhanced Raman spectroscopy: A brief retrospective. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 36, n. 6–7, p. 485–496, 2005.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

OLENDER, Dorota *et al.*, Synthesis of bis-Chalcones Based on Green Chemistry Strategies and Their Cytotoxicity Toward Human MeWo and A375 Melanoma Cell Lines. **Molecules**, v. 29, n. 21, p. 5171, 31 out. 2024.

OLMEDA, David *et al.*, SNAI1 is required for tumor growth and lymph node metastasis of human breast carcinoma MDA-MB-231 cells. **Cancer Research**, v. 67, n. 24, p. 11721–11731, 15 dez. 2007.

ONG, C. *et al.*, **Send Orders of Reprints at bspsaif@emirates.net.ae Silver Nanoparticles in Cancer: Therapeutic Efficacy and Toxicity** *Current Medicinal Chemistry*. [S.l.: S.n.].

ONG, C. *et al.*, Silver Nanoparticles in Cancer: Therapeutic Efficacy and Toxicity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 772–781, 1 fev. 2013b.

PARK, Margriet V. D. Z. *et al.*, The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 36, p. 9810–9817, dez. 2011.

PASPARAKIS, George. **Recent developments in the use of gold and silver nanoparticles in biomedicine. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology** John Wiley and Sons Inc, , 1 set. 2022.

PERIASAMY, R.; KOTHAINAYAKI, S.; SIVAKUMAR, K. Encapsulation of dicinnamalacetone in β -cyclodextrin: A physicochemical evaluation and molecular modeling approach on 1:2 inclusion complex. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 53, n. 9, p. 546–556, 1 set. 2016.

POTARA, Monica *et al.*, Chitosan-coated triangular silver nanoparticles as a novel class of biocompatible, highly sensitive plasmonic platforms for intracellular SERS sensing and imaging. **Nanoscale**, v. 5, n. 13, p. 6013, 2013.

POURGHOLI, Ali *et al.*, Anticancer Potential of Silibinin Loaded Polymeric Nanoparticles against Breast Cancer Cells: Insight into the Apoptotic Genes Targets. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 22, n. 8, p. 2587–2596, 2021.

RUOSLAHTI, E. How cancer spread. 1996.

SALA, Oswaldo. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2^a ed. SP: Editora Unesp, 2011. v. 1

SEKAR, PRAVEEN; KUMAR, SHRIDHARSHINI; RAJU, Senthil Kumar. A Review on Chemistry, Synthesis and Biological Applications of Chalcone-based Schiff Bases. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 13, n. 3, p. 145–154, 15 mar. 2023.

SMITH, Claire Elizabeth Powers; PRASAD, Vinayak. Targeted Cancer Therapies. **American family physician**, v. 103, n. 3, p. 155–163, 1 fev. 2021.

SUNG, Ji Min *et al.*, Characterization of a stem cell population in lung cancer A549 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 371, n. 1, p. 163–167, 20 jun. 2008.

TARABARA, Vladimir V.; NABIEV, Igor R.; FEOFANOV, Alexei V. Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Study of Mercaptoethanol Monolayer Assemblies on Silver Citrate Hydrosol. Preparation and Characterization of Modified Hydrosol as a SERS-Active Substrate. **Langmuir**, v. 14, n. 5, p. 1092–1098, 1 mar. 1998.

VANCHINATHAN, K. *et al.*, Synthesis, crystal growth and characterization of 1,5-diphenylpenta-1,4-dien-3-one: An organic crystal. **Physica B: Condensed Matter**, v. 406, n. 22, p. 4195–4199, 15 nov. 2011.

VEERARAGHAVAN, Vishnu Priya *et al.*, Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Scutellaria barbata* and coating on the cotton fabric for antimicrobial applications and wound healing activity in fibroblast cells (L929). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 7, p. 3633–3640, 1 jul. 2021.

VERCAMMEN, Dominique *et al.*, Inhibition of Caspases Increases the Sensitivity of L929 Cells to Necrosis Mediated by Tumor Necrosis Factor. **J. Exp. Med.** [S.l.: S.n.]. Disponível em: <http://www.jem.org>.

WEINBERG, R. **How Cancer Arises**. [S.l.: S.n.].

WU, H. W.; KUHN, T.; MOY, V. T. **Mechanical Properties of L929 Cells Measured by Atomic Force Microscopy: Effects of Anticytoskeletal Drugs and Membrane Crosslinking**. SCANNING. [S.l.: S.n.].

XIA, Younan; CAMPBELL, Dean J. Plasmons: Why Should We Care? **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 1, p. 91, 1 jan. 2007.

YIH, T. C.; AL-FANDI, M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 97, n. 6, p. 1184–1190, 15 abr. 2006.