



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS FLORIANÓPOLIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Matheus Rick Gomes

Síntese e caracterização de ácidos graxos organosselenados e redox responsivos

Florianópolis - SC

2025

Matheus Rick Gomes

Síntese e caracterização de ácidos graxos organosselenados e redox responsivos

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química Orgânica .

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Fabiano de Freitas Marin

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana Passarella Gerola

Florianópolis - SC

2025

Gomes, Matheus Rick
Síntese e caracterização de ácidos graxos
organosselenados e redox responsivos / Matheus Rick
Gomes
Orientadora, Camila Fabiano de Freitas Marin,
coorientador, Adriana Passarella Gerola, 2025.
97 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Química. 2. Selênio. 3. Ácido graxo. 4. Redox-
responsivo. 5. Câncer. I. Marin, Camila Fabiano de
Freitas. II. Gerola, Adriana Passarella. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. IV. Título.

Matheus Rick Gomes

Síntese e caracterização de ácidos graxos organosselenados e redox responsivos

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado, em 30 de julho de 2025,
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Antonio Luiz Braga
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof^ª. Dr^a. Marta Elisa Rosso Dotto
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof^ª. Dr^a. Patrícia Bulegon Brondani
Universidade Federal Santa Catarina - UFSC

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de mestre em química orgânica.



Documento assinado digitalmente

Adriana Passarella Gerola

Data: 31/10/2025 15:38:24-0300

CPF: ***.536.269-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Documento assinado digitalmente

CAMILA FABIANO DE FREITAS MARIN

Data: 31/10/2025 14:52:54-0300

CPF: ***.347.669-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof^ª. Dr^a Camila Fabiano de Freitas Marin
Orientadora

Florianópolis, 2025.

AGRADECIMENTOS

Escrevi estas páginas em meados da metade do ano 2025 D.C., enquanto acompanhava o mundo pelas mídias. Sociedades sendo dizimadas pela covardia e inação, guerra e sofrimento causados por motivos fúteis e antigos. Às vezes não damos o devido valor, nem nos sentimos gratos pelo o que temos, até mesmo quando temos paz. Acompanhei tudo isso não na melhor das condições, mas o necessário nunca me faltou e a muitos eu tenho que agradecer.

Durante esta jornada nos últimos dois anos, eu tive o auxílio de muitas pessoas que foram fundamentais para esta conquista. Em primeiro lugar, a minha família, que acompanhou de longe minha luta e torceu por mim, dando o apoio necessário e possível. Quero que saibam que vocês são minha maior riqueza e privilégio. Em especial, minha mãe foi de extrema importância, por me amparar nas horas difíceis e sempre ser um refúgio de carinho, segurança e amor.

Na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) fiz muitos colegas e amigos que marcaram minha história, me ensinaram muito e são amizades que levarei comigo para o resto de minha vida. Logo na minha chegada, fui recebido pela professora Camila que me orientou durante o mestrado, juntamente com a professora Adriana como coorientadora. Agradeço às duas pela orientação, carinho, ensinamentos e conselhos, mas principalmente pela paciência. Uma mudança de área como a que me propus foi um processo difícil e árduo, mas não poderia ter sido mais simples graças à atenção e compreensão que recebi de vocês. Serei sempre grato.

A UFSC, mas principalmente o departamento de química, me receberam de braços abertos e foi muito fácil me enturmar. Depois de dois anos posso afirmar que fiz grandes amizades que levarei comigo até o fim de minha vida, e espero que depois também. Não direi nomes porque são muitos, mas nunca deixei de expressar o carinho que sinto por todos e como foram importantes durante este processo conturbado. Agradeço também ao meu país que sempre me ofertou uma educação de qualidade, espero um dia poder devolver à sociedade o que foi investido em mim.

Lembre-se, então: só há um tempo que é importante... o agora! E é importante porque somente nele temos poder sobre nós mesmos. E a pessoa mais necessária é aquela com quem você está, porque ninguém pode saber se terá algo (Дело) com mais alguém. E a ação mais importante é fazer-lhe o bem, porque somente para isso o homem foi enviado à vida.

(Liev Tolstói, 1885)

RESUMO

Como consequência do estilo de vida contemporâneo, observa-se um aumento significativo nos casos de câncer, com perspectivas de agravamento nos próximos anos. Diante desse cenário, a nanotecnologia biomédica tem avançado de forma expressiva, especialmente na busca por novos materiais oncológicos capazes de viabilizar terapias menos agressivas e mais específicas para diferentes tipos celulares tumorais. Muitos tumores sólidos desenvolvem condições de hipóxia, que induzem mecanismos de sobrevivência celular e promovem a expressão de fatores de angiogênese, processos diretamente relacionados à imunossupressão tumoral. Nesses casos, sistemas redox responsivos surgem como um alvo terapêutico promissor, sendo sensível a estratégias que modulam o estresse oxidativo. Nesse contexto, materiais contendo selênio têm despertado grande interesse devido à sua responsividade redox e reconhecida atividade antitumoral. Dentre os organosselenados reportados na literatura, destacam-se os selenetos com grupos β -carbonílicos, os quais, quando oxidados a selenóxidos, sofrem reação de β -eliminação, liberando um alceno e um ácido selenênico. Este último, por ser instável, é rapidamente convertido em formas mais oxidadas, como os ácidos selenínico e selenônico, espécies altamente bioativas. Em especial, o ácido selenínico tem sido explorado em sistemas de liberação sustentada, atuando sinergicamente com outros componentes terapêuticos, como fotossensibilizadores, agentes antiangiogênicos e indutores de estresse oxidativo. Diante desse panorama, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e a caracterização de ácidos graxos organosselenados redox-responsivos, com potencial aplicação em sistemas nanoestruturados para liberação seletiva de compostos bioativos em microambientes tumorais. A proposta baseou-se na introdução de um átomo de selênio em posição β à carbonila, possibilitando sua oxidação e subsequente reação de eliminação para liberação de espécies antitumorais. Foram sintetizados dois compostos inéditos: o ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) e o ácido 3-(dodecilseleno)propanoico (C12Se), obtidos a partir de disselenetos alquílicos e ácido 3-bromopropanoico. A caracterização estrutural foi realizada por RMN de ^1H , ^{13}C e ^{77}Se , espectrometria de massas por injeção direta (MS-ESI) e espectroscopia de infravermelho (FTIR), confirmando a formação das estruturas propostas. A formação de agregados em escala coloidal foi realizada primeiramente a partir da investigação da fluorescência do pireno. Os estudos revelaram a formação de agregados acima de $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$. A técnica de espalhamento de luz ressonante (RLS) corroborou esses achados, evidenciando aumento na intensidade de sinal na faixa de transição. Medidas por espalhamento dinâmico de luz (DLS) indicaram agregados com diâmetro médio de $170,2 \pm 6,2 \text{ nm}$, índice de polidispersão (PDI) de $0,227$ e potencial zeta de $-47,2 \pm 1,6 \text{ mV}$, sugerindo estabilidade coloidal adequada. Dentre os compostos obtidos, o C8Se apresentou maior grau de pureza e foi selecionado para os estudos complementares em meio aquoso. A microscopia eletrônica de transmissão (MET) confirmou a morfologia esférica das nanoestruturas, com certa polidispersidade. Análises térmicas por DSC revelaram transição de fusão a $45,7^\circ\text{C}$ com ΔH de $161,4 \text{ J/g}$, enquanto a TGA indicou estabilidade térmica até cerca de 200°C . Os resultados demonstram que o C8Se é um promissor surfactante redox-responsivo, com propriedades estruturais e físico-químicas favoráveis à formação de nanoagregados estáveis e potencial aplicação em sistemas de liberação sustentada direcionados ao microambiente tumoral oxidativo.

Palavras-chave: Surfactante; Selênio; Redox-responsivo.

ABSTRACT

Because of contemporary lifestyle, there has been a significant increase in cancer cases, with expectations of further worsening in the coming years. In this scenario, biomedical nanotechnology has made remarkable advances, especially in the search for new oncological materials capable of enabling less aggressive and more specific therapies for different tumor cell types. Many solid tumors develop hypoxic conditions that induce cellular survival mechanisms and promote the expression of angiogenic factors, processes directly related to tumor immunosuppression. In such cases, redox-responsive systems emerge as promising therapeutic targets, being sensitive to strategies that modulate oxidative stress. In this context, selenium-containing materials have attracted great interest due to their redox responsiveness and recognized antitumor activity. Among the organoselenium compounds reported in the literature, selenides with β -carbonyl groups stand out; when oxidized to selenoxides, they undergo β -elimination reactions, releasing an alkene and a selenenic acid. The latter, being unstable, is rapidly converted into more oxidized forms, such as seleninic and selenonic acids, which are highly bioactive species. Particularly, seleninic acid has been explored in sustained release systems, acting synergistically with other therapeutic components such as photosensitizers, antiangiogenic agents, and oxidative stress inducers. In this context, the present work aimed at the development and characterization of redox-responsive organoselenium fatty acids, with potential application in nanostructured systems for selective release of bioactive compounds in tumor microenvironments. The approach was based on the introduction of a selenium atom at the β -position to the carbonyl, enabling its oxidation and subsequent elimination reaction to release antitumor species. Two novel compounds were synthesized: 3-(octylseleno)propionic acid (C8Se) and 3-(dodecylseleno)propionic acid (C12Se), obtained from alkyl diselenides and 3-bromopropanoic acid. Structural characterization was performed by ^1H , ^{13}C , and ^{77}Se NMR, direct injection mass spectrometry (MS-ESI), and infrared spectroscopy (FTIR), confirming the proposed structures. The formation of colloidal-scale aggregates was initially investigated by pyrene fluorescence. Studies revealed aggregate formation above 0.05 mmol L^{-1} . Resonant light scattering (RLS) technique corroborated these findings, showing an increase in signal intensity within the transition range. Dynamic light scattering (DLS) measurements indicated aggregates with an average diameter of $170.2 \pm 6.2 \text{ nm}$, polydispersity index (PDI) of 0.227, and zeta potential of $-47.2 \pm 1.6 \text{ mV}$, suggesting adequate colloidal stability. Among the compounds obtained, C8Se showed higher purity and was selected for further aqueous medium studies. Transmission electron microscopy (TEM) confirmed the spherical morphology of the nanostructures, with some polydispersity. Thermal analyses by DSC revealed a melting transition at 45.7°C with ΔH of 161.4 J/g , while TGA indicated thermal stability up to approximately 200°C . The results demonstrate that C8Se is a promising redox-responsive surfactant with structural and physicochemical properties favorable for the formation of stable nanoaggregates and potential application in sustained release systems targeted to the oxidative tumor microenvironment.

Keywords: Surfactant, Selenium; Redox-responsive.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração simplificada da angiogênese por brotamento.	8
Figura 2: Representação esquemática do monômero de um surfactante	12
Figura 4: Representação da determinação da concentração micelar crítica (CMC) empregando-se tensiometria.	13
Figura 5: Variação de fluorescência em razão do solvente	14
Figura 6: Reações das principais selenoenzimas	20
Figura 7: Natureza dipolar das ligações Se=O	24
Figura 8: Ilustração simplificada do processo de redução do AMS e seus componentes.	24
Figura 9: Polipeptídeo anfifílico contendo selênio.	26
Figura 10: Polímero EROs responsivo para liberação de selênio inorgânico	27
Figura 11: Estrutura do selenopeptídeo Sec(Dod)2KGPLGVRGRGD	28
Figura 12: Representação esquemática da ação do selenopeptídeo.	29
Figura 13. A) Espectros de RMN ^1H e B) DPT-135 do disseleneto de dioctila em CDCl_3 a 298 K, 200 MHz.	37
Figura 14. Espectro de RMN ^1H (A) e RMN ^{13}C (B) do ácido 3-(octilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K	40
Figura 15: Espectro de RMN ^{77}Se do ácido 3-(octilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K	41
Figura 16. Espectro de infravermelho dos ácidos láurico e 3-(octilseleno)propanoico respectivamente.	43
Figura 17: A) Espectro de MS-ESI do ácido 3-(octilseleno)propanoico em formiato de amônio (4 mmol L^{-1}) em acetonitrila no modo negativo. B) Representação esquemática da clivagem da molécula durante a ionização.	44
Figura 18 Espectro de RMN ^1H do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.	44
Figura 19 Espectro de RMN ^{13}C do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.	46
Figura 20. A) Espectro de MS-ESI do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em formiato de amônio (4 mmol L^{-1}) em acetonitrila no modo negativo. B) Representação esquemática da clivagem da molécula durante a ionização.	45
Figura 21: Espectros de emissão de fluorescência do Pireno, (A) em diferentes concentrações do C8Se; (B) em diferentes concentrações do C12Se	47
Figura 22. Variação da razão de intensidades I_1/I_3 do pireno em função da concentração total de surfactantes (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C.	48

Figura 23. Variação da intensidade de emissão das bandas I₁ e I₃ do pireno com a concentração dos surfactantes (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C 49

Figura 24. Perfis de Stern-Volmer para o pireno $4,95 \times 10^{-4}$ mol/L na presença de diferentes concentrações de (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C. 50

Figura 25. Ajuste dos dados de emissão do pireno na presença de diferentes concentrações do C8Se pela Equação 4. Dados obtidos a 25 °C. 51

Figura 26. Perfis de RLS obtidos em diferentes concentrações de (A) C8Se; (B) C12Se a 25 °C. As setas indicam a sequência dos espectros com o aumento da concentração dos compostos. 52

Figura 27. Os gráficos (A) e (C) correspondem ao sistema com C8Se, enquanto (B) e (D) referem-se ao C12Se, sendo (C) e (D) ampliações das regiões de menores concentrações. Dados obtidos a 25 °C. 53

Figura 28: Histogramas de Dh em função de distribuição de intensidade da luz espalhada sobreposta pela distribuição cumulativa da intensidade espalhada para o ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se). 55

Figura 29: Histogramas de Dh em função da distribuição de intensidade da luz espalhada sobreposta pela distribuição cumulativa da intensidade espalhada para o ácido 3-(dodecilseleno)propanoico (C12Se). 59

Figura 30. Valores de tensão superficial mensurados para diferentes concentrações do composto C8Se. 60

Figura 31. (A-B-C) Micrografias de transmissão da dispersão coloidal do composto C8Se, (D-E-F) Distribuição de tamanho das partículas contadas. $[C8Se] = 0,08 \text{ mmolL}^{-1}$ 61

Figura 32. Perfis térmicos do composto C8Se. (A) Curvas de TGA e DTGA, evidenciando os eventos de perda de massa e suas respectivas taxas de decomposição. (B) Curva de DSC, indicando a transição de fusão e o comportamento térmico do composto. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: O selenoproteoma humano.	20
Tabela 2: Deslocamentos químicos para ^1H RMN do ácido 3-(octilseleno)propanoico e do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico	41
Tabela 3: Valores de Diâmetro hidrodinâmico (Dh), índice de polidispersidade (PDI) e Potencial Zeta (ζ) para o ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) em diferentes concentrações em meio aquoso.	58
Tabela 4: Valores de Diâmetro hidrodinâmico (Dh), índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta (ζ) para C12Se em diferentes concentrações em meio aquoso.	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecanismos da reação de eliminação de selenóxido	26
Esquema 2. Representação esquemática da rota sintética empregada na obtenção dos disselenetos, exemplificado pela obtenção do disseleneto de dioctila.	37
Esquema 3. Representação esquemática da rota sintética empregada na obtenção do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Se β CO - Selênio-beta-carbonil

Se β COOH - Selênio-beta-carboxílico

C12Se β COOH - Ácido 3-(dodecilselênio)propanoico

C8Se β COOH - Ácido 3-(octilselênio)propanoico

EROs - Espécies reativas de oxigênio

MMPs - Metaloproteinases

MMP-2 - Metaloproteinase 2

MMP-9 - Metaloproteinases

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

DOX - Doxorubicina

NK - Natural killer

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

Crio-MET - Crio-microscopia eletrônica de transmissão

CMC - Concentração micelar crítica

CAC - Concentração agregacional crítica

GPx - Glutathione peroxidase

GSH - Glutathione reduzida

Trx - Tiorredoxina

TMS - Trimetilsilano

NP - Nanopartícula

SeNP - Nanopartícula de selênio

MT - Microambiente tumor

HLA-E - *Human Leukocyte Antigen E*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 TUMOR E CÂNCER.....	3
2.1.1 Hipóxia.....	5
2.1.2 Angiogênese.....	6
2.2 SISTEMAS NANOMÉTRICOS DE LIBERAÇÃO.....	9
2.2.1 Surfactantes.....	11
2.3 SELÊNIO.....	19
2.3.1 Ácido selenínico e sua ação biológica.....	22
2.3.2 Sistemas nanoestruturados para liberação de ácidos orgânicos de selênio.....	24
3. OBJETIVOS.....	29
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1 MATERIAIS.....	31
4.2 MÉTODOS SINTÉTICOS.....	31
4.2.1 Síntese do disseleneto de dioctila.....	31
4.2.2 Síntese do disseleneto de didodecila.....	31
4.2.3 Síntese do ácido 3-(octilselênio)propanoico.....	32
4.2.4 Síntese do ácido 3-(dodecilselênio)propanoico.....	33
4.3 CARACTERIZAÇÃO E INSTRUMENTAÇÃO.....	33
4.3.1 Espectroscopia de ressonância magnética (RMN).....	33
4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	34
4.3.3 Análise de massas por injeção direta (MS).....	34
4.3.4 Espectroscopia de fluorescência.....	34
4.3.5 Espalhamento de luz ressonante (RLS).....	35
4.3.6 Potencial Zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS).....	35
4.3.7 Medidas de tensão superficial.....	35
4.3.8 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	35
4.3.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	36
4.3.10 Análise termogravimétrica (TGA).....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SURFACTANTES CONTENDO SELÊNIO BETA CARBOXÍLICO.....	37
5.1.1 Síntese e Caracterização dos ácidos 3-(octilselênio)propanoico e 3-(dodecilselênio)propanoico.....	38
5.2. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE AGREGAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS NA PRESENÇA DE PIRENO.....	46
5.3 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ E POTENCIAL ZETA.....	55
5.4 TENSÃO SUPERFICIAL.....	61

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET).....	62
5.6 ANÁLISE TÉRMICA.....	65
6 CONCLUSÃO.....	68
7 PERSPECTIVAS.....	69
8 REFERÊNCIAS.....	70

1 INTRODUÇÃO

Dentre os grandes desafios atuais enfrentados pela medicina, destaca-se o câncer.¹ Considerado um problema de saúde pública global, é uma das principais causas de mortalidade e morbidade no mundo, com projeções alarmantes de crescimento em função do envelhecimento populacional e de mudanças no estilo de vida.³ Estima-se que uma a cada cinco pessoas desenvolverá algum tipo de câncer ao longo da vida, o que reforça a necessidade de novas abordagens terapêuticas mais eficazes e específicas.⁴

O tratamento oncológico, no entanto, permanece um desafio complexo. Em casos mais agressivos, como o glioblastoma, a sobrevida média dos pacientes é de apenas alguns meses ou anos após o diagnóstico.⁵ Uma das principais dificuldades enfrentadas pela terapia oncológica é a heterogeneidade celular dos tumores, marcada por múltiplas mutações e perfis distintos.^{6,7} Nesse contexto, estratégias terapêuticas avançadas têm sido um dos principais focos do desenvolvimento científico, buscando o direcionamento seletivo com base no perfil celular específico de cada tipo de câncer.⁸

Entre os alvos moleculares mais estudados, o sistema redox tem despertado grande interesse, especialmente em tumores sólidos.⁹ O microambiente tumoral caracteriza-se por apresentar desequilíbrios redox, com níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que participa de processos fundamentais para a sobrevivência tumoral, incluindo proliferação, migração e angiogênese. A manipulação desse sistema pode resultar na inibição da angiogênese e na indução de morte celular programada.¹⁰

O organismo por si só tenta driblar a ação oxidativa das EROs, apresentando um sistema de proteção redox composto por uma série de enzimas redox responsivas, muitas das quais são baseadas em enxofre e selênio a partir dos aminoácidos cisteína e metionina, bem como em seus análogos de selênio. É importante destacar que os dois calcogênios citados possuem responsividade redox, especialmente o selênio, sendo utilizados pelas células como via de proteção do dano oxidativo causado por EROs. Sabe-se também que enzimas responsáveis pelo equilíbrio redox estão relacionadas com o disparo de vias de morte programadas.

Por estarem presentes em enzimas antioxidantes e possuírem notável responsividade redox, compostos contendo selênio e enxofre são capazes de modular processos oxidativos celulares, e por isso são amplamente estudados em tratamentos contra o câncer.¹¹ Em particular, os compostos de selênio têm demonstrado efeitos antiangiogênicos, imunomoduladores e inibidores de enzimas redox responsivas, com resultados promissores no tratamento de diversos tipos de câncer, como o de mama.¹²

Os nanomateriais ocupam atualmente uma posição de destaque na fronteira do conhecimento científico e tecnológico, configurando-se como uma das áreas mais promissoras da ciência moderna. Sua aplicação abrange diversas áreas, com avanços significativos especialmente na biomedicina, onde vêm contribuindo para transformações profundas na qualidade de vida humana.²

Entre os mecanismos mais investigados na nanotecnologia biomédica empregando compostos de selênio, destaca-se a reação de β -eliminação de selenóxidos, a partir de selenetos orgânicos, que leva à liberação de espécies oxidativas de selênio, como ácidos selenênicos, selenínicos e selenônicos.¹³ Esse processo tem sido aplicado no desenvolvimento de nanopartículas funcionais, que podem atuar sinergicamente com outros componentes para induzir estresse oxidativo nas células tumorais, resultando na liberação controlada de compostos ativos.¹⁴⁻¹⁶ Além disso, sistemas baseados em surfactantes redox-responsivos, moléculas anfífilas amplamente utilizadas em formulações farmacêuticas, têm sido explorados para a construção de nanocarreadores inteligentes.¹⁷ Assim, a diferença de polaridade entre as formas reduzidas e oxidadas do selênio e do enxofre permite a criação de sistemas que colapsam em presença de oxidantes, como o peróxido de hidrogênio, promovendo a liberação seletiva do agente terapêutico.

Apesar dos avanços na área, diversos aspectos relacionados à reatividade dos compostos de selênio e à sua aplicabilidade clínica permanecem pouco compreendidos e demandam investigação aprofundada. Este trabalho propõe-se a contribuir para esse campo emergente por meio do desenvolvimento e da caracterização de sistemas nanoestruturados redox-responsivos à base de selênio, com potencial aplicação no tratamento de tumores sólidos. Parte-se da hipótese de que é possível desenvolver racionalmente ácidos graxos organosselenados redox-responsivos, com potencial para atuarem como surfactantes. Esses compostos seriam capazes de formar agregados nanoestruturados estáveis, com propriedades redox responsivas favoráveis a futuras aplicações biomédicas, especialmente no contexto oncológico. Para isso, o estudo concentra-se na síntese, purificação e caracterização físico-química desses ácidos graxos organosselenados, com foco na análise de seu comportamento de agregação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Com o objetivo de contextualizar o presente trabalho, apresenta-se uma revisão bibliográfica abordando a definição de tumores e cânceres, bem como suas principais características. Em seguida, são discutidas novas metodologias nanotecnológicas aplicadas ao tratamento de neoplasias. Por fim, explora-se o papel do selênio na indução de propriedades redox-responsivas em moléculas, destacando seu potencial como agente quimioterápico. Enfatiza-se o uso de nanopartículas contendo selênio β -carbonilado (Se β CO) para a liberação sustentada de ácidos de selênio sob estímulos redox, além de sua atuação como agente antiangiogênico e imunomodulador.

2.1 TUMOR E CÂNCER

Um tumor ou neoplasia, refere-se a uma massa anormal de tecido originada por um crescimento celular excessivo, que pode ou não ser cancerosa. O último ocorre quando um tumor é benigno, permanece no local, não possui a capacidade de invadir tecidos adjacentes, nem de se espalhar através da corrente sanguínea pelo processo de metástase.¹⁸

O câncer está entre as principais causas de morte atualmente, responsável por aproximadamente 10 milhões de mortes anuais, conforme dados da Organização Mundial da Saúde.¹⁹ Comumente definido como uma expansão celular descontrolada, com o potencial de infiltrar tecidos próximos e disseminar para outros locais. Contudo, o câncer é mais complexo que isso e é alvo de estudos constantes para entender seus mecanismos e funcionamento. Uma definição mais exata seria: uma doença causada por crescimento celular desordenado por células mutantes que se diferenciam das células saudáveis, e passíveis de evolução por seleção natural, capaz de invadir tecidos, remodelar a matriz extracelular e suprimir o sistema imune.

O câncer emerge de células normais que passam por um processo de transformação, adquirido por meio de dois tipos de alterações: genética e/ou epigenética. As alterações genéticas estão relacionadas ao sequenciamento das bases nitrogenadas que compõem o DNA. Por outro lado, alterações epigenéticas incluem modificações químicas como acetilação e desacetilação que alteram a expressão genética sem modificar o sequenciamento do DNA. Estas modificações resultam em um processo de perda da diferenciação, ganho de capacidade de proliferação e à aquisição de características novas. A transformação confere às células uma nova identidade funcional, como a evasão do sistema imune, a angiogênese, replicação ilimitada e a invasão tecidual.²⁰

Células tumorais, principalmente as cancerígenas, não permanecem sempre as mesmas, elas evoluem por um processo chamado de evolução somática, em que acumulam mutações que podem beneficiar sua replicação, invasão e evasão, enquanto são selecionadas em um meio agressivo de competição por recursos entre as células.²¹ Há um processo de diversificação genética e seleção clonal dentro do microambiente tumoral (MT). A dinâmica é complexa, e faz com que os cânceres de maior poder de mutação se tornem mais perigosos. A intervenção terapêutica pode destruir clones tumorais e degradar o ambiente tumoral, mas também pode exercer uma pressão seletiva que favorece a expansão de variantes resistentes. Este caráter darwiniano do câncer é uma das principais razões para o fracasso terapêutico.²²

Nesse contexto de instabilidade genética e seleção clonal, destacam-se os oncogenes, genes cuja ativação ou superexpressão está diretamente relacionada à promoção do fenótipo tumoral. Assim, um oncogene é um gene que é responsável por processos pró-cancerígenos, como por exemplo os genes KRAS, HER2 e BRAF.²³ Contudo, para que a replicação acentuada aconteça, é necessário que o tumor desenvolva mutações que silenciem genes supressores tumorais como TP53 e RB. Isso ocorre porque as células já possuem mecanismos que induzem a paralisação de crescimento (senescência) ou a morte programada (apoptose) quando há uma expressão demasiada destes oncogenes.²⁴

Outra característica desenvolvida por grande parte das células tumorais é a elevada concentração de EROs. Esta concentração é capaz de levar uma célula saudável ao colapso, culminando na ativação de mecanismos de morte programada em prol do sistema. No entanto, células tumorais conseguem sobreviver nestas condições devido à mudança na expressão e atividade de proteínas e enzimas, como, por exemplo, pelo aumento de glutatona e canais iônicos.²⁵ Além disso, muitas células tumorais apresentam uma mudança significativa no seu metabolismo mitocondrial, que passa a preferir glicólise anaeróbica mesmo na presença de oxigênio, isto é conhecido como o efeito Warburg.²⁶ O metabolismo mitocondrial é modificado em benefício da célula, para suprir a demanda pela síntese de biomoléculas importantes que compõem blocos construtores utilizados nos processos de proliferação, como ácidos graxos, nucleotídeos e aminoácidos.²⁷ Nesse cenário, é possível afirmar que a mitocôndria desempenha um papel fundamental no processo de proliferação e invasão tumoral.

Além de eliminar as células tumorais, é de grande interesse que esta eliminação ocorra por vias apoptóticas e não por necrose. A apoptose, espécie de morte celular programada, pode ser ativada via receptores externos ou por via mitocondrial, ativada por estresse oxidativo, dano ao DNA, falta de nutrientes ou oxigênio.²⁸ Quando uma célula morre por apoptose, seus componentes são fragmentados e envoltos por vesículas produzidas por caspases, formando os

chamados corpos apoptóticos. Após o rompimento da membrana, esses corpos apoptóticos serão fagocitados por macrófagos e células vizinhas. Este processo de morte diferencia-se da necrose, que não é um processo programado e libera resíduos celulares que ativarão o sistema imune. Isso ocorre porque as células que surgem no processo de ‘limpeza’ da região onde houve o processo de necrose, acabam liberando fatores que estimulam a produção de novos vasos celulares, fato indesejado no processo de morte celular.²⁹

Dentre os diversos tipos de tumores, são chamados de tumores sólidos, aqueles caracterizados pelo crescimento de células em tecidos não hematológicos, como epitélio, músculo, osso ou sistema nervoso, diferentes das neoplasias hematológicas, que afetam principalmente o sangue e a medula óssea.³⁰ A complexidade estrutural e funcional dos tumores sólidos impõe desafios significativos para a quimioterapia, radioterapia e terapias-alvo. Barreiras físicas, como a alta densidade da matriz extracelular e o aumento da pressão intersticial, dificultam a penetração de fármacos. Além disso, a presença de nichos hipóxicos, regiões com baixo suprimento de oxigênio, contribui para a seleção de células tumorais mais resistentes e agressivas, influenciando diretamente a progressão tumoral e a resposta terapêutica.³⁰ Essa característica torna a hipóxia um importante foco de estudo no desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

2.1.1 Hipóxia

Quando as células tumorais crescem desordenadamente, também alterando seu metabolismo e microambiente, é comum a todos os tumores durante seu desenvolvimento encontrar uma insuficiência de recursos para suprir sua demanda metabólica anormal. Um dos recursos que se tornam mais escassos e em menor concentração é o oxigênio molecular O₂, o que leva ao estado de hipóxia, que faz com que a célula ative fatores reguladores da transcrição celular que a farão entrar em um estado de sobrevivência.³¹

O foco deste processo está na atuação dos fatores induzíveis por hipóxia (HIFs), um conjunto de proteínas que regulam a ativação de genes em resposta à condição de hipóxia, sendo a HIF-1 α a mais estudada e superexpressa em tumores sólidos malignos como carcinomas de mama, pulmão, pele, ovário, próstata e pâncreas. Durante o estado de normóxia (níveis normais de oxigênio) há hidroxilação de resíduos de prolina, pela ação das PHDs (prolil-hidroxilases). Em seguida a proteína HIF-1 α hidroxilada é reconhecida, e marcada para ser degradada pelo proteassoma.³² Durante o estado de hipóxia estes fatores não são neutralizados, e passam a

regular a transcrição de centenas de genes, como efeito, o estado de hipóxia desencadeia uma série de modificações que dificultam o tratamento quimioterápico.

Dentre as modificações em todo o sistema tumoral induzidas por hipóxia, a acidificação da região extracelular é algo que dificulta a entrada de fármacos na célula, devido ao fenômeno chamado de aprisionamento iônico (*ion trapping*). A bicamada lipídica que forma a membrana celular é permeável para compostos neutros, contudo, a exemplo do fármaco doxorrubicina (DOX), que é protonado em pH levemente ácido, muitos fármacos formam espécies iônicas nesta região ácida e são impedidos de entrar na célula.¹³⁹

Terapias quimioterápicas têm sua efetividade reduzida por outra modificação induzida por hipóxia, o aumento da expressão de proteínas de efluxo de fármacos (*drug efflux protein*), responsáveis por expulsar drogas e toxinas para fora da célula. Elas desempenham um papel muito importante para a resistência a múltiplas drogas. A inibição da proteína HIF-1 α pôde inclusive, reverter a resistência ao medicamento no câncer de cólon.³³

A resistência à apoptose não é apenas importante para o crescimento celular, mas também para a resistência a múltiplos fármacos, já que muitos deles atuam de forma a induzir a célula ao processo de apoptose.³⁴ Dentre os genes de supressão tumoral, o TP53 é o mais importante, e entre todos os genes, é aquele que mais sofre mutações. Codifica a proteína p53, que detecta danos ao DNA e induz a apoptose ou reparo de células danificadas. Em casos menos severos de hipóxia, TP53 é suprimido, sendo que é o equilíbrio entre p53 e HIF-1 α que define se a célula sobreviverá ou não. Em casos de hipóxia severa o nível de p53 tende a aumentar, como um mecanismo de proteção contra células cancerosas, levando à morte por apoptose.³⁵ Uma outra característica intrínseca dos tumores sólidos é a angiogênese, ou seja, o desenvolvimento de uma vasculatura própria.²⁰

2.1.2 Angiogênese

Primeiramente, a angiogênese foi definida como a proliferação e migração de células endoteliais vasculares,³⁶ contudo, descobriu-se após anos de pesquisas que este é um processo mais complexo e dinâmico que envolve vários tipos de células e sistemas.³⁷ A partir de um certo momento do desenvolvimento tumoral, as células desenvolvem a capacidade de formar ou recrutar vasos sanguíneos adjacentes para contornar a escassez de oxigênio e nutrientes, isto é inevitável no decorrer da evolução de um tumor, sendo chamado de angiogênese.²⁰

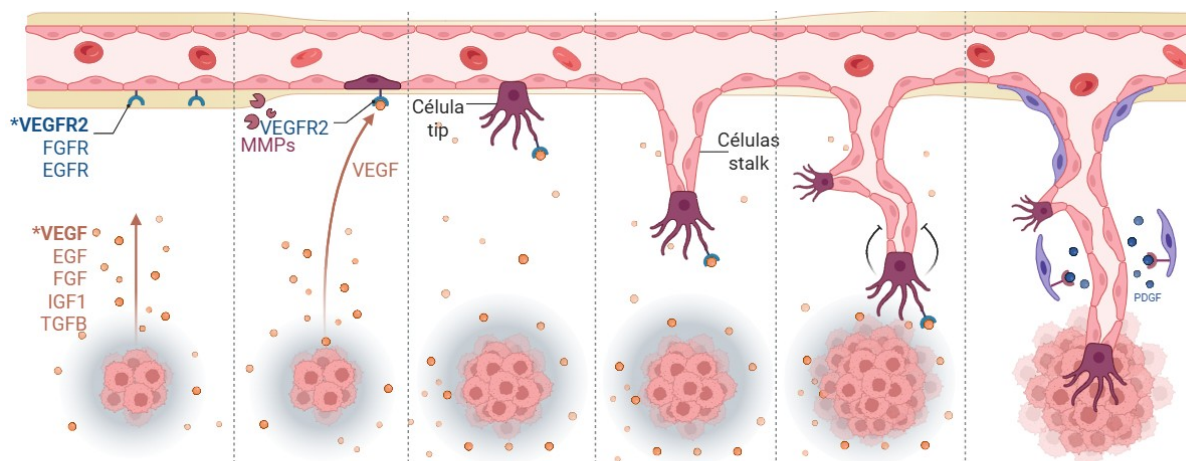
O MT não se limita apenas ao interior das células mutantes, mas também é composto pelos seus arredores e engloba também tecidos e células adjacentes como células endoteliais,

fibroblastos, adipócitos, macrófagos associados ao tumor e células da medula óssea. O MT desempenha um papel crucial nesse processo, por promover a supressão imunológica e a angiogênese.³⁸

O maior estímulo para a angiogênese é o estado de hipóxia que é causado quando há baixa presença de oxigênio, que resulta dos fatores induzidos por hipóxia (HIFs).³⁹ Isto leva ao aumento da expressão de fatores angiogênicos como VEGF, FGF, PDGF e angiopoetinas (Ang-1 e Ang-2), que são conjuntos (famílias) de proteínas capazes de englobar ligantes e receptores que regulam etapas diferentes e diversos aspectos do processo angiogênico. Por exemplo, a ativação, a proliferação, migração de células endoteliais, remodelamento da matriz extracelular e estabilização das novas vasculaturas.⁴⁰

Angiogênese por brotamento é o processo angiogênico mais compreendido e comum, que acontece em etapas (Figura 1).⁴¹ Inicia com a secreção de fatores de crescimento, principalmente da família VEGF (Figura 1, etapa 1), que resultam na ativação do endotélio, onde as células endoteliais mais próximas se ativam e degradam a matriz extracelular através de enzimas da família das metaloproteinases de matriz (MMPs) (Figura 1, etapa 2), que são indispensáveis no processo de remodelação da matriz extracelular, responsáveis pela quebra de diversas proteínas como o colágeno, elastina, laminina e proteoglicanos.⁴² Células endoteliais próximas ao estímulo angiogênico se diferenciam para uma ‘célula *tip*’, que guia o crescimento do chamado broto vascular (Figura 1, etapa 3). As células adjacentes às células *tips*, modificam-se para as chamadas ‘células *stalk*’ (Figura 1, etapa 4, que se multiplicam em direção à célula *tip*, e são responsáveis pelo crescimento do broto (Figura 1, etapa 5)). Quando brotos de vasculaturas próximas se encontram, ocorre o processo de anastomose, que é a junção e conexão dos brotos resultando em um novo vaso sanguíneo, que posteriormente passará por um processo de maturação através do recrutamento de células da musculatura lisa e pericitos (Figura 1, última etapa). Durante este processo, cada etapa é acionada por fatores angiogênicos variados, sendo o principal deles, a família VEGF.⁴³

Figura 1: Ilustração simplificada das etapas da angiogênese por brotamento.



Criado em Created in <https://BioRender.com> e inspirado por ³⁷

Entretanto, a angiogênese por brotamento não é o único mecanismo para a formação de novas vasculaturas, mas como é o processo angiogênico mais importante, os estudos focam-se nela enquanto os outros tipos ainda são menos compreendidos. Em algumas abordagens, para contornar a falta de oxigênio e nutrientes, células tumorais podem se organizar em canais vasculares, dispensando a participação de células endoteliais, como observado em alguns tipos de células, como glioblastoma, em um processo conhecido como mimetismo vasculogênico.⁴⁴ Outros tumores evitam a formação de novos vasos, preferem sequestrar vasculaturas existentes, através de um processo chamado cooptação vascular, mais comum em órgãos de alta vascularização como cérebro, pulmão e fígado, sendo este tipo mais comum em tumores metastáticos e com resistência a terapias antiangiogênicas.⁴⁵ Células derivadas da medula óssea também podem ser recrutadas para o processo de angiogênese tumoral.^{46,47}

A angiogênese também pode ser iniciada pelas células-tronco tumorais, um subgrupo celular com alto potencial de diferenciação para vários tipos celulares tumorais, são fontes de resistência a terapias, e podem até regenerar o tumor além de promover angiogênese.^{48,49} Cada tipo e cada etapa dos processos de neovascularização tumoral depende de distintos fatores angiogênicos e outras moléculas, como integrinas e MMPs.

Apesar de amplamente associada à progressão tumoral, a angiogênese também pode ser explorada de forma estratégica no tratamento do câncer, por meio do chamado efeito EPR (*Enhanced Permeability and Retention*).⁵⁰ Esse efeito decorre da formação desorganizada e permeável dos vasos sanguíneos tumorais, que permite a penetração e retenção preferencial de nanopartículas nos tecidos tumorais, em detrimento dos tecidos saudáveis. Tal propriedade tem sido amplamente explorada pela nanotecnologia, que permite o desenvolvimento de sistemas de liberação sustentada e direcionada de fármacos, aumentando sua eficácia terapêutica e

reduzindo efeitos colaterais.⁵¹ Dessa forma, a compreensão dos mecanismos angiogênicos não apenas contribui para o entendimento da biologia tumoral, mas também abre caminho para soluções baseadas em nanotecnologia, tema que será aprofundado na seção seguinte.

2.2 SISTEMAS NANOMÉTRICOS DE LIBERAÇÃO

Os sistemas nanométricos de liberação são tecnologias que podem viabilizar ou aprimorar o uso de fármacos em terapias diversas. Muitos fármacos de notória atividade biológica são insolúveis em meio aquoso ou sofrem decomposição ou metabolização desnecessária que podem diminuir a sua eficácia, ou causar reações adversas. Incorporá-los em sistemas de liberação é uma solução para questões de solubilidade,⁵² estabilidade e absorção.^{53,54}

O efeito EPR, baseia-se na anormalidade das vasculaturas de tumores sólidos. Ele permite o acúmulo preferencial de nanopartículas em tecidos tumorais, constituindo uma ferramenta para melhorar os efeitos terapêuticos, e minimizar os efeitos colaterais.⁵⁵ Devido ao processo de angiogênese descontrolado, os tumores sólidos constroem uma vasculatura danificada, formada por endotélios descontínuos e membranas basais irregulares, que formam fenestrações em escala nanométrica e conferem uma permeabilidade favorável.^{56,57} Em regiões tumorais, a drenagem linfática é comprometida, o que também permite uma maior retenção de partículas.⁵⁶ Contudo, esta diminuição na drenagem linfática pode levar ao acúmulo de líquido entre as células, que gera um aumento de pressão do fluido intersticial, funcionando como uma força que expulsa agentes terapêuticos, e dificulta a penetração na massa tumoral.⁵⁸ Além disso, tumores são distintos e possuem diferenças significativas de densidade vascular e na matriz extracelular, não apenas de um tumor para o outro, mas também dentro do mesmo tumor. Para minimizar estes fatores, e potencializar o efeito EPR, objetiva-se geralmente partículas com diâmetro de 10 a 200 nm para um direcionamento passivo.⁵⁹

Para além do direcionamento passivo relacionado ao efeito EPR, também é possível desenvolver carregadores que direcionam o fármaco ativamente para as células de interesse.⁶⁰ Ligantes para receptores tumorais específicos podem ser funcionalizados em nanopartículas para direcionar à células desejadas.⁶¹ Sistemas de liberação também podem ser projetados para serem sensíveis à características do microambiente no qual se almeja a liberação, bem como responderem a estímulos externos. Níveis elevados de EROs, glutatona reduzida (GSH), pHs ácidos, temperatura elevada, ultrassom e radiação, podem ser utilizados para interagir com o sistema, culminando na liberação do fármaco encapsulado.⁶² Nanopartículas magnéticas

também podem ser empregadas, e direcionam-se ao alvo no qual é aplicado um campo magnético que irá reter a nanopartícula no tecido desejado, levando a liberação controlada e localizada.⁶³

No geral, as nanopartículas podem ser classificadas de acordo com sua composição química. As formadas fundamentalmente por materiais inorgânicos (como sílica, ouro e prata) tendem a ter estrutura estável e boas propriedades ópticas e magnéticas úteis tanto para terapia quanto para imagem.⁶⁴ Nanopartículas baseadas em carbono como grafeno, nanotubos e fulerenos destacam-se pela resistência mecânica, condutividade elétrica e propriedades fototérmicas.⁶⁵ Nanopartículas orgânicas podem ser constituídas tanto de polímeros e surfactantes sintéticos quanto de biomoléculas naturais (como lipídios, proteínas ou polissacarídeos). Devido à biocompatibilidade e biodegradabilidade, nanopartículas orgânicas são amplamente visadas para aplicações biomédicas.⁶⁶

A natureza do composto anfifílico é fundamental para determinar o tipo de nanopartícula gerada, e estas estruturas podem ser variadas. Micelas são agregados moleculares de núcleo hidrofóbico, em contraste com as micelas reversas, em que as regiões polares se voltam para o interior e as apolares formam uma camada externa.⁶⁷ As nanopartículas poliméricas são constituídas de polímeros que também podem agregar-se em sistemas nanométricos,⁵² e copolímeros anfifílicos podem formar estruturas micelares poliméricas (com núcleo).⁶⁸ Dendrímeros são polímeros com estrutura esférica compostos por grandes cadeias com alto nível de ramificação, são considerados nanopartículas de ótima monodispersidade. Os lipossomas, por outro lado, são vesículas esféricas que possuem uma ou mais bicamadas lipídicas e um interior aquoso, sendo na maioria dos casos constituídos por fosfolipídios.⁶⁹

Outros tipos de nanopartículas de grande interesse são os cristais líquidos, que são estados da matéria intermediária entre fase sólida e fase líquida, conhecida como mesofase e exibem tanto ordem molecular quanto fluidez. Podem ser divididos em dois grupos baseados no estímulo responsável por sua formação. Os cristais líquidos termotrópicos (CLT) são formados a partir da influência da temperatura, muito empregados em televisores. Os cristais líquidos liotrópicos são formados em razão da concentração e da natureza do solvente, sendo constituídos principalmente por compostos anfifílicos em solução. Podem apresentar estruturas de formas cúbicas, lamelares e hexagonais (que são mais comuns).⁷⁰ Estas estruturas são constituídas por diversos tipos de lipídios.

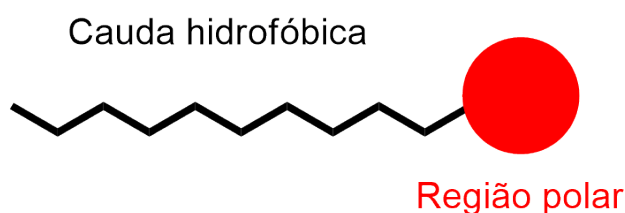
Assim como os cristais líquidos liotrópicos, os surfactantes também desempenham um papel essencial na obtenção de micelas,⁷¹ agregados polímero/surfactante,⁷² e nanopartículas

lipídicas sólidas,⁷³ configurando-se como componentes-chave no desenvolvimento de carreadores nanométricos com amplo potencial em aplicações de nanomedicina.

2.2.1 Surfactantes

Surfactantes são moléculas de caráter anfifílico, ou seja, comportam simultaneamente em sua estrutura partes hidrofílicas e hidrofóbicas. Isto faz com que estes compostos tenham solubilidade tanto em solvente orgânico, como aquoso. Os monômeros de surfactantes mais simples, apresentam uma cauda hidrofóbica e uma região polar de tamanhos variados, desde grupos polares (comumente chamada de cabeça polar), a peptídeos e estruturas poliméricas (Figura 2), podendo ser classificados pela carga da sua região polar, sendo catiônicos, aniônicos, zwitteriônicos ou não iônicos.⁷⁴⁻⁷⁶

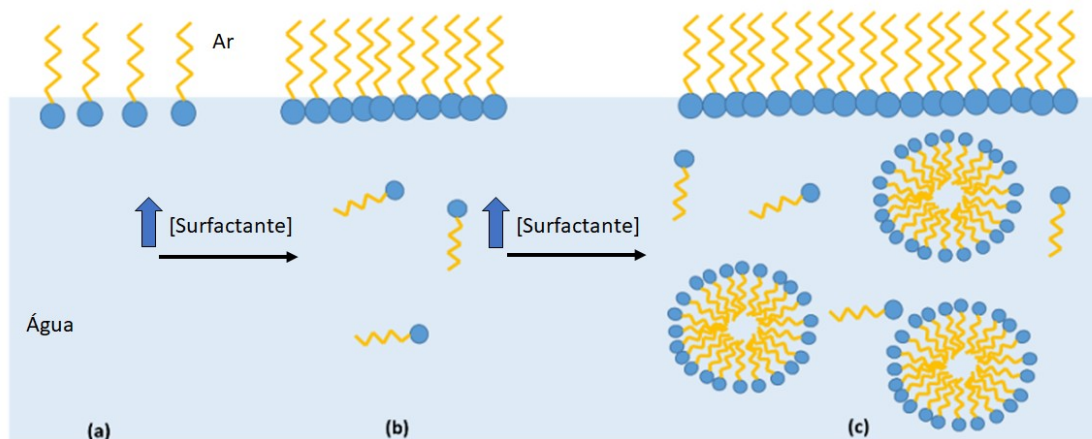
Figura 2: Representação esquemática do monômero de um surfactante.



Fonte: o autor

Quando em uma solução aquosa, estas moléculas têm a capacidade de se acumularem como uma monocamada superficial, diminuindo a tensão superficial até um valor mínimo (Figura 3a). Quando esta monocamada fica saturada, atinge-se a concentração micelar crítica (CMC) ou concentração agregacional crítica (CAC), a depender da estrutura formada. Contudo, a partir do momento em que ocorre a saturação desta camada de surfactante, as moléculas excedentes passam a organizar-se no interior da solução, conforme representado na Figura 3b. Com o aumento da concentração, as partes apolares da molécula juntam-se de forma a minimizar o contato com o solvente aquoso, formando uma estrutura de núcleo hidrofóbico e superfície hidrossolúvel (Figura 3c). Entretanto, o processo de micelização não ocorre apenas em solventes aquosos, mas com água há um efeito hidrofóbico maior. Este é um processo entrópico, em que formação de aglomerados hidrofóbicos acontece para liberar moléculas de água ao invés de organizá-las em torno de estruturas hidrofóbicas.⁷⁷

Figura 3. Representação do processo de micelização (a) Formação da monocamada superficial, (b) saturação da superfície e (c) formação dos agregados micelares no seio da solução.



Fonte: Adaptado a partir de ⁷⁸

A formação de micelas ocorre porque este processo reduz a energia livre de Gibbs (ΔG) de forma que conduz o sistema ao equilíbrio, como é dado pela Equação 1:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

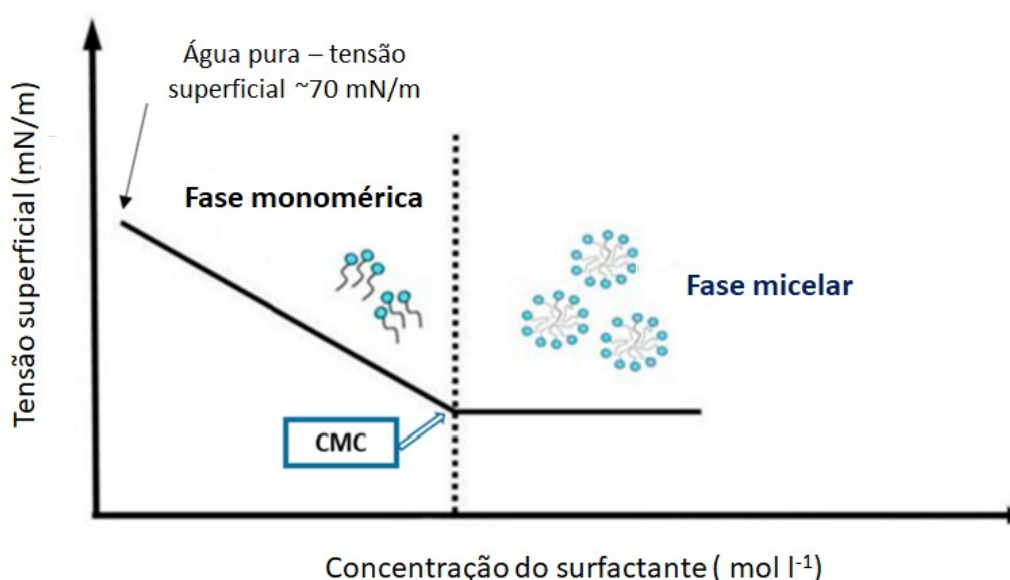
Em que ΔH é a variação de entalpia, T é temperatura e ΔS é a variação de entropia. Assim, a micelização é um processo espontâneo ($\Delta G < 0$), impulsionado principalmente pelo ganho entrópico ($\Delta S > 0$) resultante da liberação das moléculas de água previamente estruturadas ao redor das cadeias hidrofóbicas dos surfactantes, superando geralmente a contribuição entálpica (ΔH), especialmente em temperaturas ambientes.⁷⁹

Esta capacidade organizacional dos surfactantes os permite formar diversos tipos de estruturas com amplas aplicações biomédicas. Estruturas com regiões hidrofóbicas podem encapsular moléculas apolares, formando sistemas carregadores e promotores de solubilidade. Assim, constituem uma alternativa viável na incorporação, biotransporte e biodisponibilização de fármacos em terapias de diversos fins, como antibacterianas, antivirais, anticancerígenas e anti-inflamatórias, dentre outras.

A determinação de CMC, tamanho, carga e formato das nanopartículas geradas pelo surfactante é essencial, para a construção de sistemas para aplicações industriais e biológicas. A caracterização físico-química dos surfactantes é feita por um conjunto de técnicas que avaliam sua capacidade de autoagregação, estabilidade e morfologia.

A CMC pode ser determinada por análise da tensão superficial em função da concentração do tensoativo. À medida que a concentração aumenta, a tensão superficial do líquido diminui até atingir um ponto em que o surfactante adicionado não age na superfície do líquido, mas contribui para a formação de agregados, indicando a saturação da interface e a formação de micelas.⁸⁰ Essa medição pode ser realizada por métodos como o do anel de Du Noüy ou da placa de Wilhelmy, que avaliam a força necessária para romper a tensão superficial por meio de um anel ou uma placa de platina mergulhados e retirados do líquido. O ponto de inflexão na curva de tensão superficial por concentração corresponde à CMC, conforme representado na Figura 4.

Figura 4. Representação da determinação da concentração micelar crítica (CMC) empregando-se tensiometria.



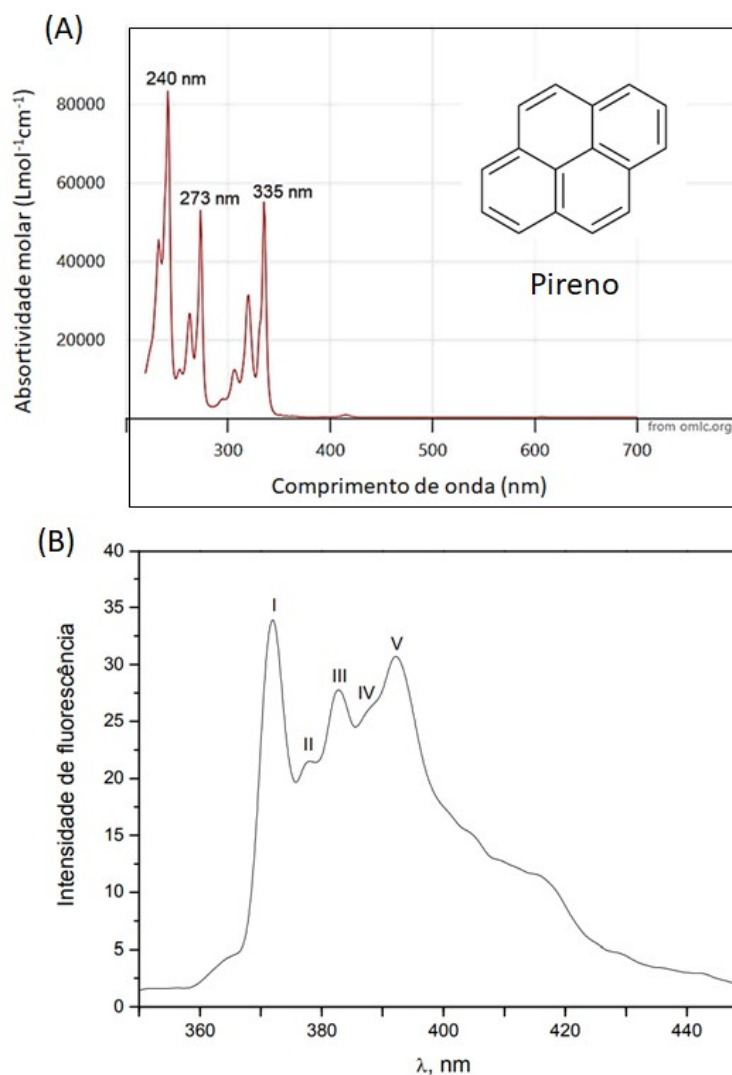
Fonte: adaptado a partir de ⁸¹

Outro método muito utilizado para determinar o CMC e também obter informações sobre os agregados é a espectroscopia de fluorescência com o emprego de sondas fluorescentes.⁸² O espectro de emissão destas sondas modifica quando se incorporam em micelas, devido a estarem em um meio mais apolar que inibe a formação de dímeros.

Dentre as sondas fluorescentes mais empregadas em determinação de CMC, destaca-se o pireno, uma molécula policíclica aromática com estrutura altamente simétrica e rígida, formada por quatro anéis benzênicos fundidos, conforme Figura 5A. Essa organização confere à molécula uma extensa conjugação eletrônica, que a torna fluorescente e sensível às variações do microambiente em que se encontra. Trata-se de uma molécula hidrofóbica ($\log P = 4,88$),¹⁴⁰

portanto com baixa solubilidade em água (0.139 mg/L a 25 °C) e boa solubilidade em solventes orgânicos, excedendo 25 mg/mL em dimetilsulfóxido.¹⁴¹

Figura 5. Variação de fluorescência em razão do solvente (A) Estrutura molecular do pireno e seu espectro de absorção eletrônica em ciclohexano. (B) Emissão de fluorescência do pireno em água.



Fonte: Adaptado a partir de ⁸³

Dentre as diversas características do pireno, destaca-se seu comportamento espectroscópico em solução diluída, especialmente em solventes apolares, apresentando uma série de bandas estruturadas entre aproximadamente 250 e 370 nm, atribuídas a transições eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Como representado na Figura 5A para o pireno em ciclohexano, dentre as transições observadas, destaca-se a mais intensa e

permitida, localizada nas faixas de maior energia do espectro (tipicamente entre 240 e 280 nm). Já a transição em região de menor energia (320 - 340 nm), embora eletronicamente permitida pela simetria do sistema, é menos intensa, em solventes apolares, pode ser considerada parcialmente proibida por seleção de simetria. Em meios polares ou em presença de interações específicas, essa proibição parcial pode ser relaxada, permitindo um aumento da intensidade relativa dessa transição.

Como observado na Figura 5A, o espectro de absorção do pireno também apresenta estrutura vibracional fina, revelando várias bandas bem resolvidas que refletem a rigidez conformacional da molécula e a baixa eficiência de relaxação vibracional no estado excitado. Essa estrutura é indicativa da elevada simetria do pireno (grupo de simetria D_{2h}) e da preservação da organização eletrônica mesmo após a excitação. Os principais máximos de absorção ocorrem tipicamente em torno de 242, 273 e 335 nm, embora esses valores possam variar ligeiramente em função do solvente e da temperatura. Os coeficientes de absorvidade molar associados às bandas mais intensas geralmente superam $40.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, confirmando a natureza altamente conjugada e fotossensível do sistema. Essas características fazem do pireno uma excelente sonda espectroscópica para estudos de microambientes em sistemas coloidais, polímeros e membranas, particularmente em contextos nos quais se deseja monitorar variações de polaridade ou reorganizações estruturais supramoleculares.^{84,85}

Nesse contexto, a estrutura vibracional bem resolvida também é observada em seu espectro de fluorescência, com bandas intensas e espaçadas, que se modificam conforme a polaridade do meio Figura 5B. O espectro de fluorescência do monômero de pireno apresenta cinco bandas vibrônicas bem definidas entre 370 e 400 nm, denominadas I a V em sequência crescente. A banda I apresentada na figura 5b (I_1), correspondente à transição $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v=0)$, mostra um aumento considerável de intensidade à medida que a polaridade do solvente se eleva, especialmente quando comparada à terceira banda III (I_3), associada à transição $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v=2)$. Por esse motivo, a razão entre as intensidades das bandas I (em torno de 373 nm) e III (cerca de 384 nm) é amplamente utilizada como parâmetro quantitativo da polaridade do meio, sendo conhecida como valor de P_y ($P_y = I/I_3$ (I_1/I_3)).⁸⁶

Essa sensibilidade decorre de dois fatores principais: a simetria da molécula e a solvatação diferencial dos estados eletrônicos. Em meios apolares, a alta simetria da nuvem eletrônica do pireno é preservada, favorecendo a emissão da banda I_3 . Por outro lado, em solventes polares, essa simetria é parcialmente rompida pelas interações dipolares entre o solvente e a molécula excitada, o que altera a distribuição da densidade eletrônica e afeta seletivamente a intensidade das bandas vibracionais. De maneira geral, em solventes mais

polares, observa-se um aumento na intensidade relativa da banda I_1 e uma atenuação da banda I_3 , o que resulta em uma razão I_1/I_3 mais elevada. Assim, valores maiores dessa razão indicam ambientes polares, enquanto valores mais baixos são característicos de regiões hidrofóbicas.⁸⁷

Esse comportamento é particularmente útil na investigação de sistemas micelares. Em solução aquosa diluída, o pireno encontra-se exposto ao meio polar, apresentando uma razão I_1/I_3 elevada. Com o aumento da concentração do surfactante e a subsequente formação de micelas, a molécula de pireno começa a se particionar preferencialmente para o interior hidrofóbico das micelas, promovendo uma mudança significativa no ambiente local. Essa transição é acompanhada por uma queda abrupta na razão I_1/I_3 , indicando que o pireno está agora inserido em uma região apolar. A partir dessa mudança, torna-se possível determinar a CMC. O gráfico da razão I_1/I_3 em função da concentração do surfactante, portanto, fornece uma curva com perfil sigmoidal, cujo ponto de inflexão, ou alternativamente a interseção entre os regimes linear e constante, pode ser usado como critério para estimativa da CMC.⁸⁸

Além disso, é importante considerar que a precisão dessa metodologia depende de fatores como a concentração da sonda, o volume efetivo da fase hidrofóbica e a eficiência de partição do pireno. Em surfactantes com CMC muito baixa, por exemplo, o volume interno das micelas pode não ser suficiente para acomodar eficientemente as moléculas de pireno, resultando em valores intermediários da razão I_1/I_3 mesmo após a formação de micelas, o que pode levar à superestimação da CMC. Esses efeitos devem ser considerados cuidadosamente na análise dos dados experimentais, especialmente em sistemas não convencionais, como os baseados em copolímeros ou misturas complexas.⁸⁹

Uma outra técnica que pode ser empregada na determinação da CMC é o Espalhamento de Luz Ressonante, do inglês “*Resonance Light Scattering*” (RLS).⁹⁰ Essa técnica tem se consolidado como uma ferramenta analítica sensível e versátil na investigação de processos de agregação molecular e formação de complexos supramoleculares em solução. Diferentemente das abordagens espectroscópicas convencionais baseadas em absorção ou emissão de fluorescência, como o nome já informa, o RLS se baseia na detecção da luz espalhada de forma coerente por sistemas que apresentam centros eletronicamente ressonantes. Esse fenômeno é particularmente intensificado quando moléculas cromofóricas, como corantes aromáticos ou sondas hidrofóbicas, participam de interações não covalentes que resultam em estruturas de maior anisotropia ou volume hidrodinâmico, como micelas, vesículas ou complexos com macromoléculas.⁹¹

A implementação do RLS é frequentemente realizada por meio de espectrômetros de fluorescência, operando no modo de varredura síncrona (*synchronous scan*), em que os

comprimentos de onda de excitação e emissão são mantidos iguais ($\Delta\lambda = 0$). Essa condição permite que a intensidade de espalhamento seja monitorada em função do comprimento de onda, gerando espectros característicos altamente sensíveis a alterações conformacionais, à formação de agregados ou à presença de interações intermoleculares específicas. Dessa forma, o RLS tem sido amplamente empregado em estudos envolvendo a caracterização de sistemas auto-organizados, o monitoramento de transições de fase, e a detecção de interações entre moléculas orgânicas e surfactantes, mesmo em concentrações próximas ao limite de detecção espectroscópica.⁹²

Além disso, a técnica tem se mostrado particularmente eficaz na determinação da concentração micelar crítica (CMC) de surfactantes, com base no aumento abrupto da intensidade de espalhamento associado à formação de agregados micelares. À medida que a concentração do surfactante ultrapassa a CMC, a organização molecular resulta em estruturas capazes de amplificar significativamente o sinal de RLS, permitindo a identificação precisa desse ponto de transição por meio da análise da dependência entre a intensidade do espalhamento e a concentração. Essa abordagem oferece uma alternativa sensível e não invasiva em relação a métodos tradicionais, sendo especialmente útil em sistemas contendo sondas espectroscópicas ou corantes hidrofóbicos que interagem seletivamente com o interior micelar.⁹³

Uma outra técnica baseada no espalhamento de luz é o Espalhamento de Luz Dinâmico, do inglês “*Dynamic Light Scattering*” (DLS). Essa técnica é amplamente utilizada na caracterização de sistemas coloidais e nanoparticulados, por permitir a obtenção de parâmetros hidrodinâmicos relacionados ao tamanho, distribuição de partículas em suspensão e determinação do Potencial Zeta (ζ).⁹⁴

A principal informação fornecida pelo DLS é o tamanho médio das partículas ou agregados em solução, bem como sua distribuição de tamanhos (índice de polidispersidade - PDI). No contexto de agregação de surfactantes, a técnica permite monitorar o surgimento de agregados, como micelas ou vesículas, que apresentam diâmetros significativamente superior aos das unidades monoméricas. Assim, ao acompanhar o diâmetro hidrodinâmico (D_h) em função da concentração do surfactante, torna-se possível identificar a concentração a partir da qual há um crescimento abrupto do tamanho médio das espécies presentes, o que caracteriza a formação cooperativa de agregados e, portanto, pode ser correlacionado com a CMC.⁹⁵

Tecnicamente falando, no DLS, um laser passa pela amostra contendo nanopartículas que espalham a luz e detectores geralmente fixos, que captam a intensidade da luz espalhada e suas flutuações com o tempo em decorrência do movimento browniano. As partículas maiores

possuem uma mobilidade menor e por isso geram menos flutuações. Estas informações são analisadas matematicamente por uma função de autocorrelação que fornece o coeficiente de difusão, permitindo obter a medida de D_h pela equação de Stokes-Einstein (Equação 2):

$$D_h = K_b T / 6 \pi \eta D \quad (2)$$

Em que K_b é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, η é a viscosidade do solvente e D é o coeficiente de difusão da partícula.

O valor obtido leva em consideração não apenas o centro da nanopartícula, mas também a camada de solvatação e outros componentes agregados. Contudo, este modelo é projetado para nanopartículas de estrutura esférica, e qualquer modificação na morfologia interfere na precisão dos dados. Outra informação importante sobre a dispersão que pode ser obtida por DLS é o PDI, que é um valor entre 0 e 1, sendo zero para sistemas monodispersos (estruturas de mesmo tamanho) e 1 para quando o sistema é composto por diversas populações de tamanhos diferentes.⁹⁶

Os equipamentos modernos possuem geralmente a capacidade de aferir também o potencial zeta, ou seja, a medida da carga elétrica no plano de cisalhamento da nanopartícula com o meio, sendo associado à estabilidade do sistema. O potencial da nanopartícula também é importante para prever e explicar a interação com diversos receptores e membranas. A depender da natureza dos componentes do sistema, a carga poderá ser positiva ou negativa, sendo que potenciais acima de ± 30 mV já indicam uma repulsão forte o suficiente entre as partículas para que não haja agregação e o sistema seja estável.⁹⁷

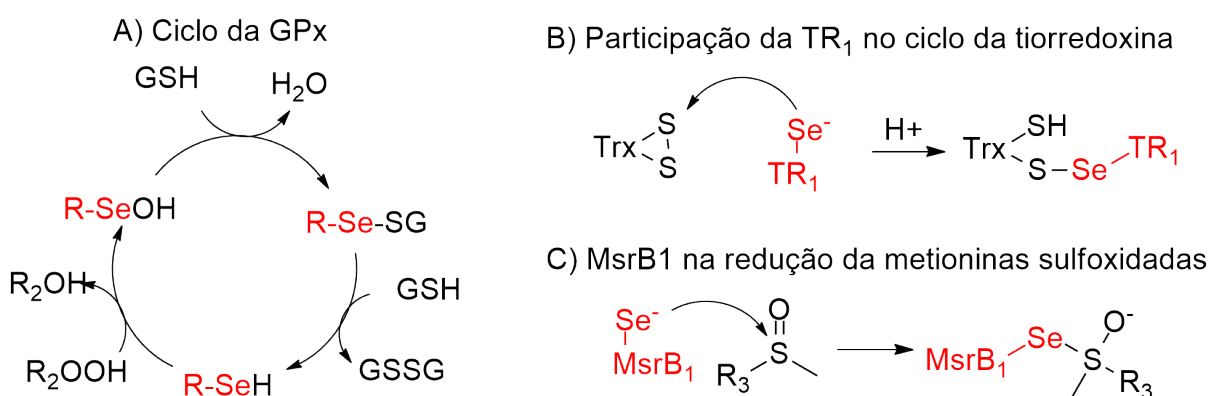
A morfologia das nanopartículas interfere significativamente em suas aplicações, bem como nas interações com células e outros componentes biológicos, além de influenciar a taxa de liberação de fármacos incorporados.⁹⁸⁻¹⁰⁰ A microscopia é uma técnica que permite visualizar objetos que não podem ser vistos a olho nu, e revelar sua topografia e tomografia. No caso de nanopartículas tão pequenas, são necessários equipamentos de alta resolução para avaliação. Atualmente as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), e a microscopia de força atômica (MFA) são as mais empregadas. E cada técnica tem suas limitações e capacidades.

2.3 SELÊNIO

Em 1817 Berzelius descobriu um novo elemento, o qual denominou selênio e foi primeiramente reconhecido como uma toxina relacionada a uma série de doenças, que posteriormente descobriu-se ser selenose, intoxicação por selênio proveniente de alimentos com altos níveis do elemento.¹⁰¹ Contudo, depois de alguns anos foram encontradas correlações entre os níveis baixos de selênio e a taxa de mortalidade e incidência de câncer. O selênio orgânico é um micronutriente essencial para o ser humano, sendo recomendado o consumo em torno de 55 µg por dia para um bom funcionamento de mecanismos celulares importantes. É um elemento do grupo dos calcogênios, sendo muito comparado com o enxofre.

Selenoproteínas são compostas por resíduos de selenocisteína, e atuam principalmente como antioxidantes, empregadas em uma série de processos e mecanismos de proteção de sistemas como o reprodutivo, neural e cardiovascular. Sendo o selênio presente no sítio ativo, atuando como catalisador redox (Figura 6).¹⁰²

Figura 6: Reações das principais selenoenzimas.



Fonte ¹⁰³

As selenoenzimas são fundamentais para compor o sistema antioxidante, atuando na prevenção de dano oxidativo a fosfolipídios, DNA e enzimas. Ao todo, são 25 proteínas e enzimas que possuem selênio em sua composição, na forma do aminoácido selenocisteína (Tabela 1). Algumas destas enzimas e proteínas são expressas por células específicas, e muitas

ainda pouco se sabe sobre qual a função. Entretanto, destacam-se entre elas, as das famílias Glutathione Peroxidase (GPx) e Tiorredoxina Redutase (Trx) (Tabela 1).¹⁰³ Estas enzimas são alvos terapêuticos muito explorados por estarem diretamente relacionadas com a proteção de fosfolípidios, DNA e enzimas dos altos níveis de EROs da célula tumoral, e com silenciamento de apoptose.

Tabela 1: O selenoproteoma humano.

Nº	Selenoproteína	Abreviação	Função
1	Glutathione Peroxidase 1	GPx1	Glutathione peroxidase citosólica
2	Glutathione Peroxidase 2	GPx2	Função antioxidante no trato gastrointestinal
3	Glutathione Peroxidase 3	GPx3	Antioxidante plasmático
4	Glutathione Peroxidase 4	GPx4	Glutathione de hidroperóxidos de fosfolípidos
5	Glutathione Peroxidase 6	GPx6	Glutathione olfatória
6	Tiorredoxina redutase 1	TrxR1, TRxR3	Redução de tiorredoxina citosólica
7	Tiorredoxina/glutathione redutase	TGR, TR2	Expressão testicular
8	Tiorredoxina 3	TR3, TRxR2	Redução de tiorredoxina mitocondrial
9	Metionina-R-sulfóxido redutase	MsrB1	Redução de metionina oxidada
10	Selenofosfatase sintetase 2	SPS2	Síntese de selenoproteínas
11	Iodotironina redutase	DI1	Ativação do hormônio tireoidiano
12	Iodotironina redutase	DI2	Iodotironina redutase de tecido específico
13	Iodotironina redutase	DI3	Desativação do hormônio tireoidiano
14	Selenoproteína 15 kDa	Sep15	Cogitada no desdobramento de proteínas
15	Selenoproteína H	SeIH	Desconhecido
16	Selenoproteína I	SeII	Desconhecido
17	Selenoproteína K	SeIK	Cogitada na degradação

			endoplasmática
18	Selenoproteína M	SeIM	Desconhecido
19	Selenoproteína N	SeIN	Papel putativo no desenvolvimento muscular
20	Selenoproteína O	SeIO	Desconhecido
21	Selenoproteína P	SeIP	Transporte de selênio
22	Selenoproteína S	SeIS	Cogitada na degradação endoplasmática
23	Selenoproteína T	SeIT	Desconhecido
24	Selenoproteína V	SeIV	Desconhecido
25	Selenoproteína W	SeIW	Desconhecido

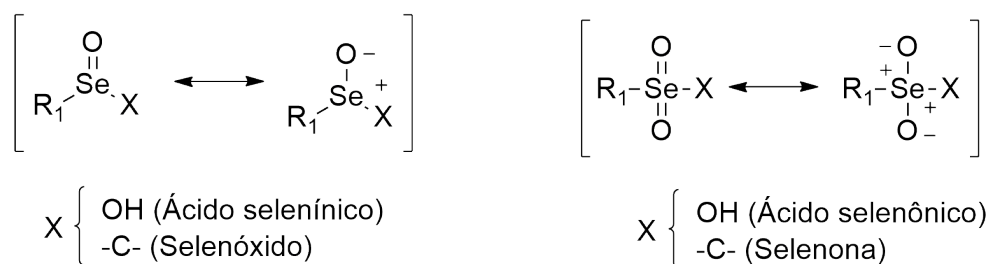
Fonte: adaptado de ¹⁰³

Um questionamento foi levantado sobre por que os organismos, principalmente mamíferos, utilizam o selênio para funções tão vitais, já que a distribuição de selênio na crosta terrestre não é homogênea¹⁰⁴ e tão abundante quanto o enxofre. Além disso, a inserção de selenocisteína em polipeptídeos é muito mais complicada que para o seu aminoácido análogo, cisteína, e demanda um consumo de ATP maior.¹⁰⁵

Sabe-se que o uso de selênio por oxidoredutases específicas é vantajoso para o processo catalítico. Ao comparar o selenol com o tiol, a ligação com o hidrogênio é mais fraca com selênio do que com o enxofre. Isso acontece porque o selênio é um átomo mais pesado (78,96 u), de maior tamanho (120 pm) e polarizabilidade. Em decorrência disto, as espécies de selênio são mais nucleofílicas. O tamanho e a polarizabilidade do selênio influenciam também em outra característica importante, suas ligações são mais distantes, o que prejudica a sobreposição de orbitais p necessária para formar ligações π , que serão mais fracas, o que explica porque estruturas de selenoésteres serem mais instáveis que seus análogos de enxofre, em razão de sua baixa capacidade de ressonância do selênio com a carbonila. Além disso, estruturas como selenóxido, selenonas e ácidos selenínicos e selenônicos, terão uma natureza mais dipolar (Figura 7), o que leva a uma diferença nas propriedades químicas dos óxidos de selênio em comparação ao enxofre, como por exemplo, o fato de seus óxidos terem um caráter

mais iônico, faz das espécies de selênio eletrófilos mais reativos, e torna a oxidação um processo mais reversível.

Figura 7: Natureza dipolar das ligações Se=O



Adaptado de ¹⁰¹

O uso de selênio pelo sistema redox celular é vantajoso devido a sua capacidade de reagir de forma rápida, principalmente com hidroperóxidos, e prontamente reverter o processo, tornando-o importante para que o processo enzimático seja mais rápido, e reversível. Isto explica sua presença no sítio ativo e na estrutura de selenoenzimas, bem como a resistência à inativação por oxidação, e o ganho de poder catalítico por parte de enzimas que têm suas cisteínas substituídas por selenocisteína.

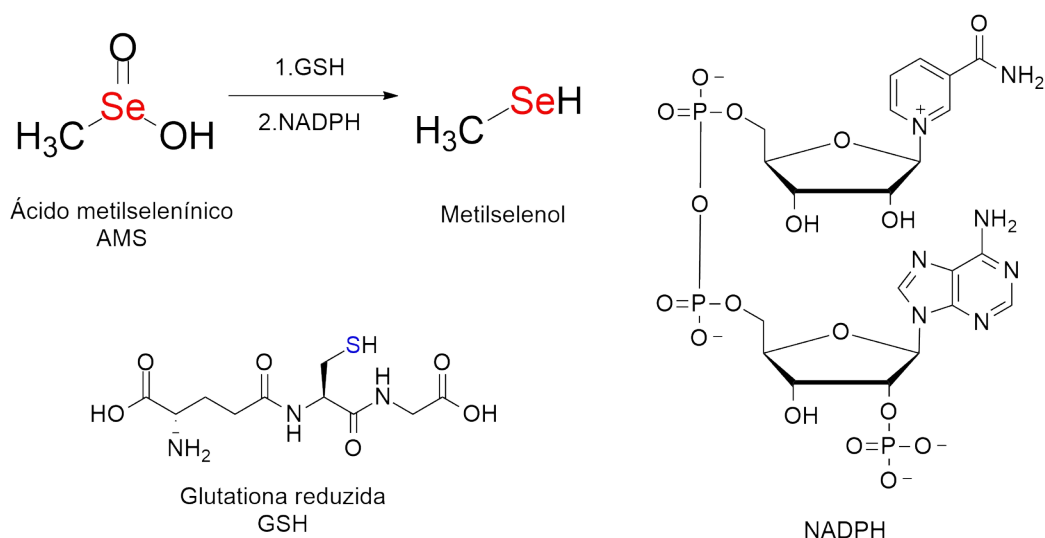
2.3.1 Ácido selenínico e sua ação biológica

Já há relatos de formação de ácido selenínico em glutathionas peroxidases sobre estresse oxidativo.¹⁰⁶ Dentre todos os ácidos selenínicos, certamente o mais estudado é o ácido metilselenínico (AMS), destacado como um gerador de metilselenol (CH_3SeH), um metabólito importante com propriedades antitumorais. O emprego destas espécies de selênio é principalmente estudado no contexto de nanopartículas com grupos precursores, que reagem com moléculas oxidantes. Uma revisão sobre estes estudos, serão abordados mais à frente no item 2.3.2.

O ácido selenínico é uma espécie de selênio, que penetra na célula de maneira mais eficaz em comparação ao selenol. O AMS é rapidamente convertido em metilselenol por processos envolvendo GSH e o redutor NADPH (Figura 8)¹⁰⁷. É capaz de causar uma

citotoxicidade maior para célula tumoral, comprometendo uma série de processos importantes para a sobrevivência da célula ao mesmo tempo que apresenta uma ação anti-inflamatória.

Figura 8: Ilustração simplificada do processo de redução do AMS e seus componentes.



Fonte ¹⁰⁷

A atuação do AMS, se dá em grande parte devido a sua capacidade de ser convertido em selenol. Pois este processo reduz significativamente os níveis de glutathiona reduzida (GSH), que é responsável por ligar-se a fármacos e inativá-los, induzindo a resistência a medicamentos.¹⁰⁷ A redução de GSH também resulta no acúmulo de EROs, que podem desencadear vias de morte por apoptose ou danos oxidativos às membranas celulares ricas em grupos tióis, que formam ligações de dissulfeto com fibrinogênio compondo um escudo resistente à degradação que protege a célula da destruição por fagocitação, resultando em um fator antiproliferativo.^{108,109} Com o desbalanço redox também formam-se espécies de hidroperóxidos lipídicos, devido à oxidação lipídica. Por isso, acredita-se que a citotoxicidade mais seletiva às células tumorais do AMS seja também em decorrência do maior nível de lipídios em células tumorais.^{110,111}

O retículo endoplasmático (RE) é um orgânulo de múltiplas funções e essencial para o dobramento de proteínas, homeostase do cálcio e síntese de lipídios.¹¹² Envolve biomoléculas em vesículas para serem maturadas no complexo de Golgi. Entretanto, quando há um estresse no RE, ocorre o acúmulo de proteínas mal dobradas que pode induzir a apoptose em casos mais

prolongados. Neste contexto, o AMS demonstra-se um agente de potencial terapêutico como causador de estresse do RE. Ainda que não haja uma elucidação sobre os mecanismos que expliquem todos os casos,¹¹³⁻¹¹⁶ sabe-se de algumas selenoproteínas que situam-se lá, das quais algumas ainda tem função desconhecida, e sugere-se participação em processos regulatórios.^{114,117,118}

O AMS também suprime a expressão da subunidade $\beta 3$ da integrina, que é essencial para a adesão e migração das células endoteliais durante a angiogênese, por meio da inibição da fosforilação de componentes de vias de sinalização, especialmente em células epiteliais.¹¹⁹ Além disso, o AMS demonstrou-se como um regulador na expressão de fatores de crescimento vascular VEGF e Ang-2 em células malignas de câncer de mama.

Foi demonstrado que o AMS tem a capacidade de inibir a HIF-1 α em células hipóxicas, enquanto as prolin-hidroxilases PHD2 e PHD3 foram ativadas, como demonstrado no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço humano.¹²⁰ A inibição de HIF-1 α por ação das PHD's também pode explicar a sinergia entre o AMS e fármacos que têm resistência gerada por HIF-1, como o docetaxel.^{121,122} Em carcinomas de células renais claras das linhagens RC2 e 786-0, o AMS também demonstrou inibir a expressão de HIF-1 α e HIF-2 α em doses farmacológicas, sendo que em cada linhagem o efeito se deu por mecanismos diferentes.¹²³

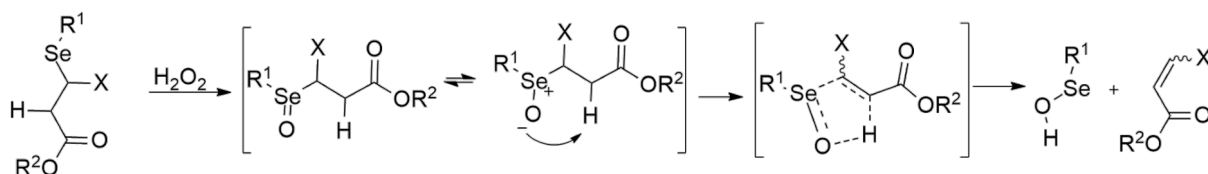
Os ácidos selenínicos possuem propriedades de agir em diversos processos e de formas variadas a depender do tipo de célula tumoral, comprometendo processos realizados por selenoproteínas e outros componentes do sistema de equilíbrio entre as espécies oxidantes e redutoras. Em estudos para variados tipos celulares, modulam o sistema tumoral de forma que o torna interessante no uso em terapias combinatórias.

2.3.2 Sistemas nanoestruturados para liberação de ácidos orgânicos de selênio

Nanopartículas de selênio descritas na literatura são em sua maioria feitas a partir de selênio inorgânico e um agente redutor,¹²⁴ e se mostram eficazes em terapias antimicrobianas e antitumorais, além de apresentarem toxicidade mais baixa do que o selenito de sódio.¹²⁵ Entretanto, como demonstrado a seguir, o uso de nanopartículas baseadas em estruturas que possuam função orgânica de selênio vem ganhando destaque. O selênio apresenta uma eletronegatividade de 2,55 na escala Pauling, muito próxima à do carbono de 2,5 e por isso é capaz de formar selenetos orgânicos apolares,¹⁴² bem como disselenetos, que podem ser empregados em regiões hidrofóbicas de moléculas anfífilas, e garantir a estrutura e propriedades redox responsivas.

óxido de selênio pode reagir através de um mecanismo concertado para eliminar o ácido selenênico, que é instável e facilmente oxidado a ácidos selenínico e selenônico (Figura 9).

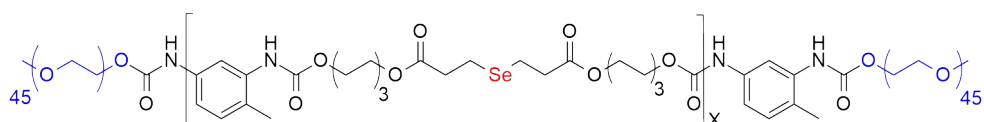
Esquema 1: Mecanismos da reação de eliminação de selenóxido



Fonte: o autor

Este tipo de reação pode ser incorporado a sistemas para a liberação de ácidos inorgânicos de selênio, caso o selenoéter esteja ligado a duas funções carbonílicas por dois carbonos de distância. Nesse contexto, Wang e colaboradores, foram os primeiros a sintetizar um polímero degradável a base de selênio por eliminação de selenóxido (Figura 10).¹⁴³

Figura 10: Polímero EROs responsivo para liberação de selênio inorgânico



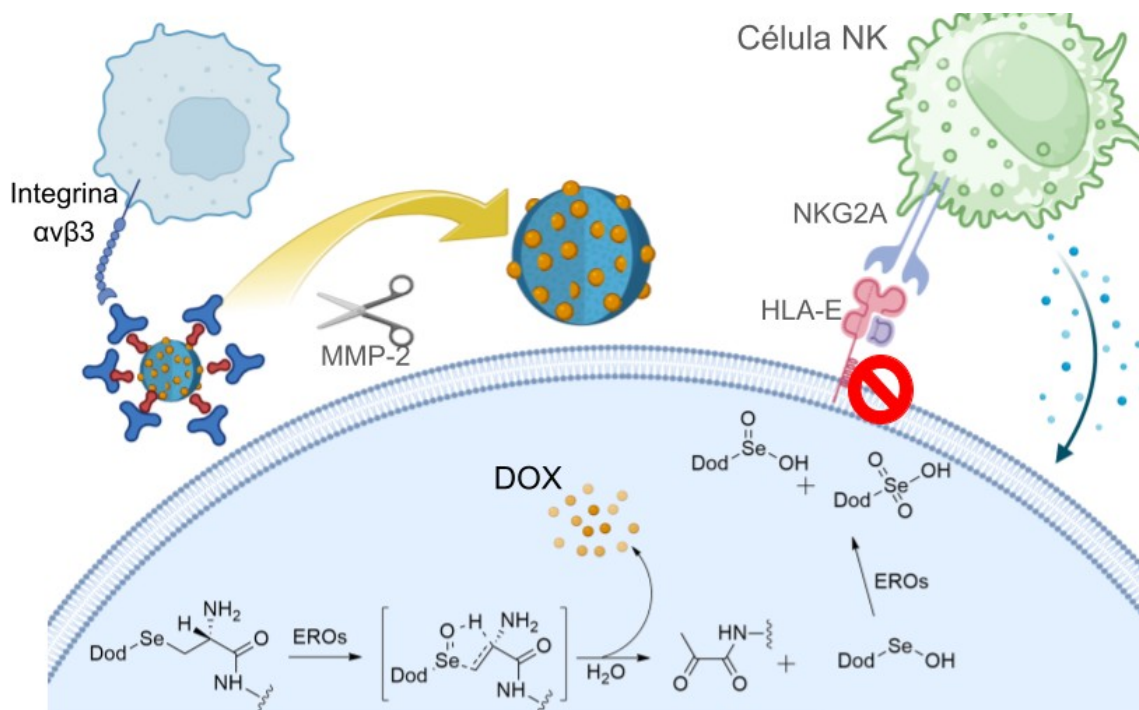
Fonte: o autor.¹⁴³

Porções de selenocisteína em que o selênio é funcionalizado com uma grande cadeia alquílica, podem ser utilizadas como substituintes que conferem a uma estrutura polar e de maior porte, características anfífilas e responsividade redox. Pois o grupo selenocisteína também é um composto Se β CO. Esta metodologia mostrou-se importante para formar surfactantes a partir da funcionalização com peptídeos de sequências funcionais, assim formando micelas com alto poder de reconhecimento celular e capacidade de encapsular fármacos, como por exemplo em terapias contra a aterosclerose.¹⁵ Sendo necessário nestas metodologias, o emprego de duas porções da cauda apolar selenada.

Destaca-se um estudo de Wei e colaboradores de 2022, em que relataram um selenopeptídeo auto-organizado que reage com enzimas e é redox-responsivo.¹⁴ A nanopartícula de selenopeptídeo de sequência Sec(Dod)2KGPLGVGRGD foi incorporada com

selênio por enxofre, os efeitos imunomodulatórios não foram os mesmos, o que evidencia o quanto o selênio é importante. Contudo, entende-se que a diminuição da expressão de HLA-E é uma consequência da sinergia entre a espécie de selênio formada e a ação da DOX. Pois ao comparar os testes realizados com DOX sem um carregador e os testes do selenopeptídeo sem a incorporação de DOX, não há a mesma capacidade em suprimir a expressão dos receptores HLA-E (Figura 12).

Figura 12: Representação esquemática da ação do selenopeptídeo.



Adaptado de ¹⁴

A ação de células NK é acionada pelo balanço de estímulos supressivos e estimulatórios, balanço este que é influenciado pela condição cancerígena, levando a exaustão da célula NK.¹²⁸ Porém em outros trabalhos que envolvem a liberação de formas de ácidos orgânicos de selênio, também relatam a capacidade de bloquear a expressão dos receptores HLA-E quando empregados em conjunto com outros agentes.^{129,130} Além disso a liberação de ácido selenínico já foi estudada juntamente no contexto da terapia fotodinâmica, em que a reação de eliminação de selenóxido foi eficaz com ¹O₂ (oxigênio singlete), e culminou em efeitos antiangiogênicos.¹⁶

Diante desse panorama, reforça-se a hipótese de que a incorporação de selênio em estruturas anfifílicas pode viabilizar o desenvolvimento de compostos redox-responsivos capazes de atuar como surfactantes e formar agregados nanoestruturados estáveis. Tais sistemas devem apresentar propriedades físico-químicas promissoras e potencial de aplicação no desenvolvimento de nanocarreadores funcionais voltados à terapia de tumores sólidos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo do estudo é caracterizar sua estrutura e partículas formadas em solução, para avaliar suas propriedades visando sua utilização em sistemas de liberação nanométricos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Sintetizar um surfactante e caracterizar sua estrutura por técnicas espectroscópicas.
- II. Avaliar seu perfil por análise de fluorescência, analisando emissão e espalhamento de luz ressonante utilizando o pireno como sonda.
- III. Analisar o diâmetro hidrodinâmico por espalhamento dinâmico de luz (DLS), o índice de polidispersão, bem como o potencial zeta em diferentes concentrações.
- IV. Caracterizar seu perfil como tensoativo por análise de tensão superficial.
- V. Caracterizar o material por meio de análises calorimétricas.
- VI. Elucidar as estruturas geradas por microscopia eletrônica de transmissão.
- VII. Determinar a concentração micelar crítica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Dos reagentes utilizados nas sínteses e análises, selênio em pó 99,55% (mesh 100), ácido 3-bromopropanoico 97%, 1-bromododecano 97%, 1-bromooctano 99%, cloreto, trietilamina 99%, pireno 99% e clorofórmio deuterado 99,8% são provenientes da Sigma Aldrich. O borohidreto de sódio 95% é da marca Vetec. O tetrahidrofurano P.A 99% e o etanol P.A 99,5% utilizados são da marca Synth, e os solventes empregados para purificação em coluna cromatográfica como acetato de etila e hexano são respectivamente das marcas Rauter e Quimidrol, os quais destilaram-se previamente.

4.2 MÉTODOS SINTÉTICOS

4.2.1 Síntese do disseleneto de dioctila

Em balão de duas bocas munido de condensador, flambado e sob atmosfera inerte, adicionaram-se 10 mmol (0,79 g) de selênio em pó, 15 mL de etanol e em seguida 12 mmol (0,456 g) de borohidreto de sódio (1,2 equivalentes). Em seguida o sistema foi conectado a um sistema de borbulhamento contendo uma solução 1,25% de hipoclorito de sódio, e aplicou-se um fluxo de gás argônio para borbulhar sobre a solução de hipoclorito para neutralizar o gás de selênio. Cessado o borbulhamento, a solução foi mantida a 70 °C e agitada por uma hora. A reação adquiriu uma coloração castanho-escuro bem característica. Em seguida a reação foi levada à temperatura ambiente, para adicionar-se vagarosamente 10 mmol (1,931 g) de brometo de octila (1 equivalente) solubilizado em 5 mL de etanol. A reação adquiriu uma coloração amarela e 25 minutos após a adição do brometo, adicionou-se uma solução saturada de cloreto de sódio. A extração do produto foi realizada com três frações de diclorometano. Obteve-se 1,44 g de um óleo amarelo, e o rendimento da reação foi de 75%.

4.2.2 Síntese do disseleneto de didodecila

Em balão de duas bocas munido de condensador, flambado e sob atmosfera inerte, adicionaram-se 10 mmol (0,79 g) de selênio em pó, 15 ml de etanol e em seguida 12 mmol (0,456 g) de borohidreto de sódio (1,2 equivalentes). Em seguida o sistema foi conectado a um sistema de borbulhamento contendo uma solução 1,25% de hipoclorito de sódio, e aplicou-se

um fluxo de gás para borbulhar sobre a solução oxidante para neutralizar o gás de selênio. Cessado o borbulhamento, a solução foi mantida a 70 °C e agitada por uma hora. A reação adquiriu uma coloração castanho-escuro bem característica. Em seguida a reação foi levada à temperatura ambiente, para adicionar-se vagarosamente 10 mmol (2,492 g) de brometo de dodecila (1 equivalente) solubilizado em 5 mL de etanol. A reação adquiriu uma coloração amarela e 25 minutos após a adição do brometo, adicionou-se uma solução saturada de cloreto de sódio, que levou a formação de um sólido que foi filtrado em um kitassato, e em seguida purificado por cristalização em hexano. Obteve-se 1,6 gramas de um cristal amarelo, e rendimento de 65%.

4.2.3 Síntese do ácido 3-(octilseleno)propanoico

A síntese dos dois ácidos graxos empregados no trabalho foi baseada na metodologia empregada por Doudin e colaboradores.¹³¹ Em um balão de duas bocas sob atmosfera inerte adicionaram-se 2,11 mmol de disseleneto de dioctila solubilizado em 20 mL de THF. Em seguida solubilizou-se 8,4 mmol (4 equivalentes) de borohidreto com 10 mL de uma solução 1:1 de THF e água deionizada, e adicionou-se gota-a-gota. Quando a solução parou de liberar gás e perdeu a coloração amarela, adicionou-se 5,88 mmol (2,8 equivalentes) de ácido 3-bromopropanoico solubilizado em 10 mL de água deionizada contendo 8,1 mmol de trietilamina. Após a adição do brometo, deixou-se reagir por 30 minutos, para então adicionar-se água e basificar a solução cuidadosamente até pH 14 com uma solução concentrada de NaOH, e extrair duas vezes com éter etílico. Com uma solução de HCl (2 mol L⁻¹), acidificou-se cuidadosamente a fase aquosa até pH 1, e após realizaram-se 3 extrações com éter etílico. As fases orgânicas desta última etapa foram unificadas e tratadas com sulfato de magnésio para então serem filtradas e evaporadas. O óleo resultante foi solubilizado em etanol, adicionado um pouco de água e lavado à geladeira para cristalizar, o que levou à obtenção de um sólido branco avermelhado e impuro, que foi purificado por coluna cromatográfica, utilizando como fase móvel uma solução de 10% de acetato de etila em hexano. Separou-se uma mancha revelada em iodo de RF 0,65. No final obteve-se um sólido branco com 33% de rendimento. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H, CH₃), δ 1,28 (m, 10H, -CH₂-), δ 1,65 (q, J = 4,4 Hz, 2H, -CH₂-), δ 2,6 (t, J = 7,2 Hz, 2H, -CH₂-Se), δ 2,78 (m, J = 4,4 Hz, 4H, Se-CH₂-CH₂-CO).

4.2.4 Síntese do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico

Em um balão de duas bocas, flambado e com atmosfera inerte, foi adicionado 1,8 mmol de disseleneto solubilizado em 20 mL de THF, para então adicionar gota-a-gota 7,67 mmol (4,25 equivalentes, 0,291 g) de borohidreto de sódio dissolvido em 10 mL de uma solução 1:1 de etanol e água deionizada, e esperou-se o desaparecimento da coloração amarela da mistura reacional, que tornou-se branca, para então adicionar 5,9 mmol (3,27 equivalentes, 0,902 g) de ácido 3-bromopropanoico dissolvido em 10 mL de água, contendo 5,9 mmol (0,236 g) de NaOH. Reagiu-se por 45 minutos para então adicionar água deionizada e extrair com duas alíquotas de éter etílico que foram desprezadas. A fase aquosa foi posteriormente acidificada até pH 1 com solução de HCl 5 mol L⁻¹, seguida de extração com éter etílico em três triplicata. As frações orgânicas foram reunidas, tratadas com sulfato de magnésio anidro, filtradas e concentradas em rotaevaporador. O produto obtido foi dissolvido em etanol, ao qual se adicionou água. Após resfriamento a -15 °C por 4 horas, formou-se um sólido branco, que foi isolado por filtração. Esse material passou por purificação em coluna cromatográfica com hexano como fase móvel, resultando em 345 mg de um sólido branco (rendimento de 30%). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 0,89 (t, J = 6,8 Hz, 3H, CH₃), δ 1,27 (m, 18H, -CH₂-), δ 1,67 (m, 2H, -CH₂), δ 2,56 (J = 7,6 Hz, 2H, CH₂-Se), δ 2,78 (m, J = 4,4 Hz, 2H, Se-CH₂-CH₂-COOH).

4.3 CARACTERIZAÇÃO E INSTRUMENTAÇÃO

4.3.1 Espectroscopia de ressonância magnética (RMN)

As análises estruturais de ressonância foram realizadas nos equipamentos multiusuários Bruker DRX 200 e Bruker DRX 400, disponíveis na central de análises da UFSC. Para todos, utilizou-se o clorofórmio deuterado como solvente, munido de trimetilsilano (TMS) como padrão interno. Foram realizadas análises dos núcleos ¹H e ¹³C, feitas para confirmar a obtenção dos disselenetos precursores, e para elucidação da estrutura dos produtos formados. Todas as amostras foram feitas com 0,65 ml de clorofórmio deuterado e 30 mg de composto.

Caracterizou-se o ácido graxo selenilado inédito produzido neste trabalho (ácido 3-(octilseleno)propanoico), do qual foi feito um espectro de ⁷⁷Se para caracterização. Utilizou-se um tubo de padrão interno munido de 3 mg de disseleneto de difenila, como referencial para a medida.

4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o objetivo de caracterizar o composto ácido graxo inédito (ácido 3-(octilseleno)propanoico), este foi previamente seco em bomba de alto vácuo. Em seguida, preparou-se uma pastilha com brometo de potássio (KBr), que foi analisada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando um espectrômetro Bruker Alpha, disponível na Central de Análises da UFSC.

4.3.3 Análise de massas por injeção direta (MS)

As análises de espectroscopia de massas, foram realizadas através do método de injeção direta, em que o material foi purificado e injetado em um espectrômetro de massas híbrido triplo quadrupolo/trap linear de íons, Q Trap 3200 (Applied Biosystems/MDS Sciex).

Os ácidos graxos foram diluídos com uma solução de acetonitrila e formiato de amônio 4 mmol L^{-1} , até a concentração de 1 ppm. As amostras foram injetadas sob uma voltagem de íon spray de -4500 V. No caso, do ácido graxo de substituinte octil, diversas voltagens foram testadas.

4.3.4 Espectroscopia de fluorescência

Para as medidas de fluorescência, 6 mg de ácido graxo foram dissolvidos em torno de 2 mL de água, com a adição de alíquotas de 0,1 mL de uma solução $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio até que o composto se solubilizasse no ultrassom. Em seguida a solução foi solubilizada com água deionizada 20 vezes. O pH da solução adicionada era neutro. Utilizou-se um espectrofotômetro de fluorescência Cary Eclipse da marca Varian, e cubetas de quartzo. Escolheu-se o pireno como sonda para esta análise. Solução de pireno $4,95 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ em etanol foi preparada, e adicionou-se 0,01 mL em uma cubeta contendo 1,99 mL de água deionizada.

Para a medida de emissão, a excitação foi realizada em 334 nm, com largura de fenda (*slit*) de 10 nm na excitação e 2,5 nm na emissão. O espectro de emissão foi obtido na faixa de 350 a 600 nm, com modo de varredura ajustado para velocidade média. Os dados foram analisados via razão entre as bandas I1 (372 nm) e I3 (383 nm), e suas intensidades em relação à concentração do ácido graxo.

4.3.5 Espalhamento de luz ressonante (RLS)

A técnica de espalhamento de luz de Rayleigh (RLS) foi empregada para avaliar a formação de agregados em solução. As medições foram realizadas utilizando um espectrofotômetro no modo de varredura síncrona, em que o comprimento de onda de excitação é igual ao de emissão ($\Delta\lambda = 0$). O espectro foi registrado na faixa de 200 a 800 nm, com resolução adequada para detectar variações na intensidade de espalhamento associadas à formação e crescimento de estruturas supramoleculares.

4.3.6 Potencial Zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS)

O processo de solubilização foi realizado da mesma forma que para as análises de fluorescência. As medidas de tamanho médio e potencial zeta dos agregados, foram realizadas em um equipamento ZetaPlus da marca Brookhaven, utilizando um eletrodo BI-SREL. Uma solução para cada amostra foi devidamente preparada, e todas foram realizadas medidas em triplicata. Para o diâmetro hidrodinâmico, as leituras foram feitas a 90° e 25 °C.

4.3.7 Medidas de tensão superficial

A fim de avaliar as propriedades tensoativas do composto, realizou-se medidas de tensão superficial para uma série de concentrações. Para este experimento foi utilizado um tensiômetro Kruss Easy Dyne, pelo método do anel de Du Nouy. A temperatura do experimento foi controlada em 25°C utilizando um banho termostático e o medidor de temperatura embutido no aparelho. Uma solução foi gerada para cada ponto. O recipiente foi lavado entre cada amostra, apenas com água e etanol, o mesmo é válido para o anel, que posteriormente era exposto a chama do maçarico para secagem. Todos os pontos foram feitos em triplicata.

4.3.8 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A morfologia dos agregados foi avaliada por meio da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET). A dispersão foi depositada em um grid de cobre recoberto com filme de Formvar®. A análise foi realizada utilizando-se o microscópio JEM-1400 TEM, disponível no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC, operado a uma

aceleração de 80 kV. O preparo da amostra ocorreu 24 horas antes da análise: 5 μL da nanoformulação 0,08 mmol L^{-1} foram depositados no *grid* e o excesso foi removido com papel absorvente.

4.3.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Para analisar os eventos calorimétricos do produto, foi realizada uma análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) no equipamento DSC-50 Shimadzu, disponível na central de análises da UFSC. Sob uma atmosfera de N_2 , duas corridas foram realizadas de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $135\text{ }^{\circ}\text{C}$ com uma taxa de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. O resfriamento entre as corridas foi feito com uma taxa de $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

4.3.10 Análise termogravimétrica (TGA)

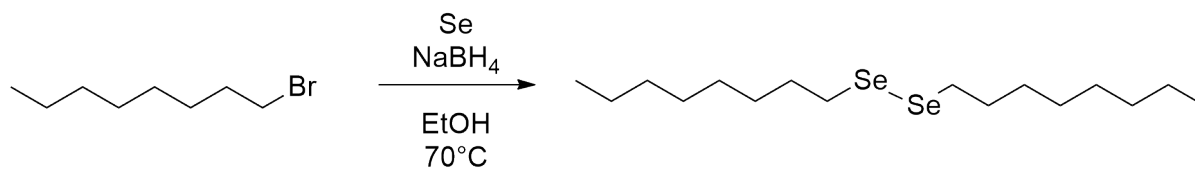
Para realizar a análise termogravimétrica, foi utilizado um analisador termogravimétrico Shimadzu TGA-50. No qual utilizaram-se 7 mg do ácido graxo, que passaram por um processo de aquecimento de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $500\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob uma taxa de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. O gás de arraste empregado foi o gás nitrogênio (N_2).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SURFACTANTES CONTENDO SELÊNIO BETA CARBOXÍLICO

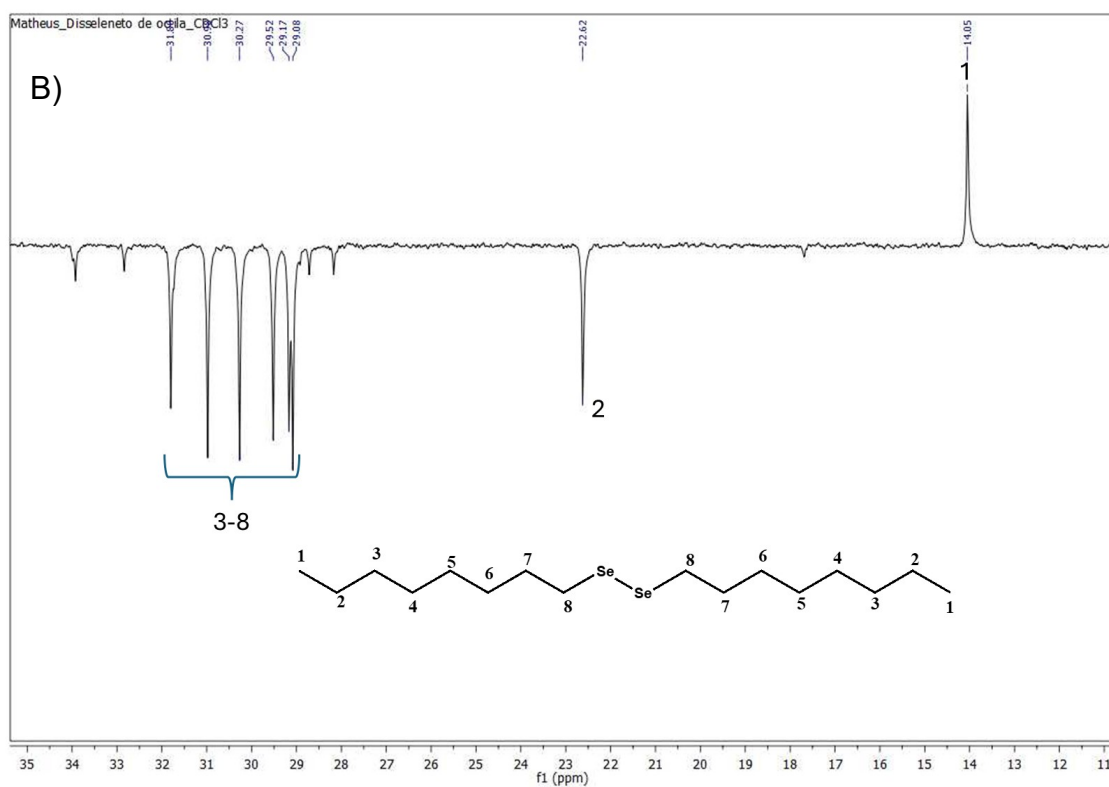
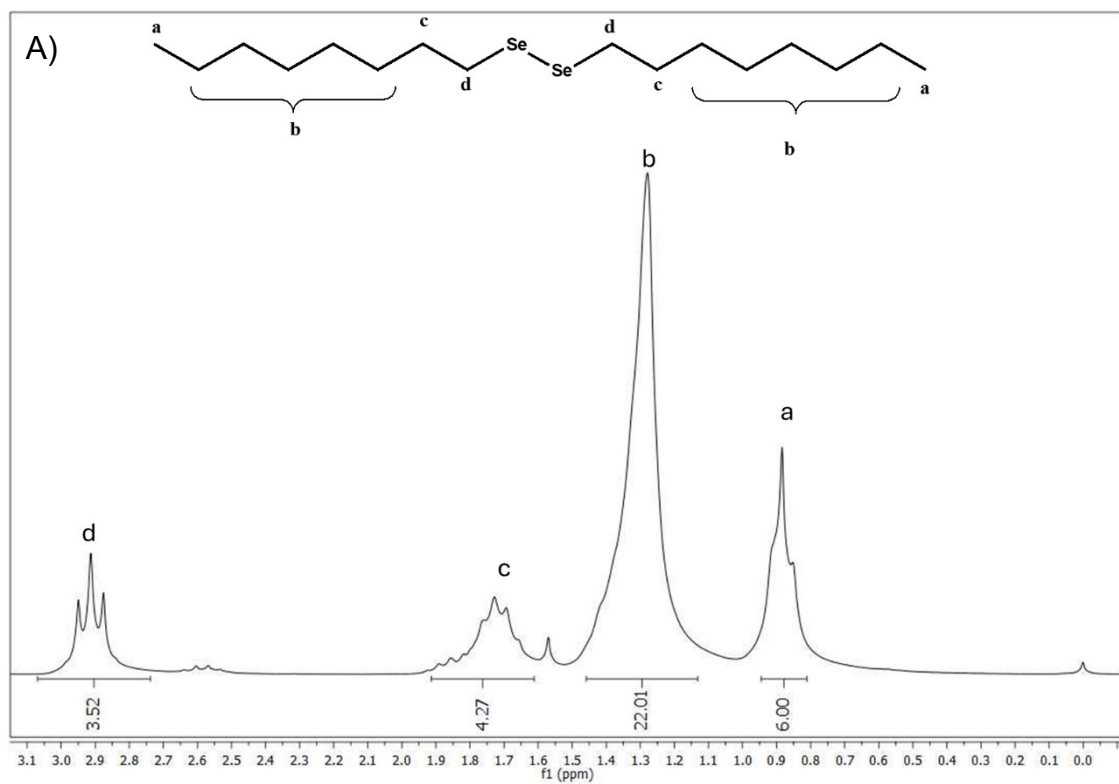
Primeiramente, realizou-se a síntese dos disselenetos de didodecila e de dioctila de acordo com o Esquema 2. A síntese foi baseada na redução de selênio elementar empregando borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor, formando o ânion eletrolítico Se_2^{2-} , que reage rapidamente com brometo de alquila (com 8 ou 12 carbonos) para formar os disselenetos de alquila¹³² com rendimentos de 75% e 65% respectivamente.

Esquema 2. Representação esquemática da rota sintética empregada na obtenção dos disselenetos, exemplificada pela obtenção do disseleneto de dioctila.



O disseleneto de dioctila foi caracterizado por ^1H RMN (Figura 13 A). O espectro apresentou uma pequena impureza, o que não caracteriza uma limitação, visto que se trata de um reagente intermediário, e que pode ser empregado para a próxima etapa da reação. De maneira geral, as integrais estão próximas aos valores esperados, enquanto a multiplicidade de alguns sinais não está bem resolvida, com alargamento destes, como é comum para espectros de compostos contendo longas cadeias carbônicas, com vários sinais na mesma região. Adicionalmente, na análise do DEPT-135 de ^{13}C (Figura 13 B) observaram-se oito carbonos distintos na amostra, sendo um deles por um pico positivo referente ao grupo CH_3 terminal e sete picos negativos, referentes aos CH_2 do disseleneto, em concordância com o esperado.

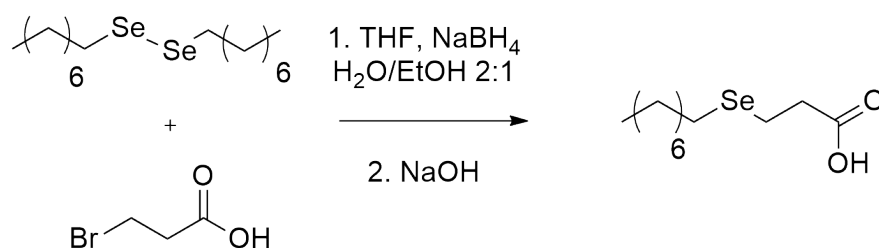
Figura 13. A) Espectros de RMN ^1H e B) DPT-135 do disseleneto de dioctila em CDCl_3 a 298 K, 200 MHz.



5.1.1 Síntese e Caracterização dos ácidos 3-(octilseleno)propanoico e 3-(dodecilseleno)propanoico

Na sequência, realizou-se a síntese das moléculas anfifílicas contendo um selênio em uma posição beta a carboxila, usando os disselenetos com cadeias apolares previamente sintetizados. Quando colocados na presença de um agente redutor, ocorre a formação de alquilselenolatos (RSe^-) altamente nucleofílicos,¹³² que prontamente reagem com o ácido 3-bromopropanoico, para formar o ácido 3-(octilseleno)propanoico (Esquema 3), obtido com um rendimento de 33%. A síntese do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico, seguiu o mesmo procedimento empregando-se o disseleneto de didodecila, previamente preparado. O rendimento do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico foi de 30%.

Esquema 3. Representação esquemática da rota sintética empregada na obtenção do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico.



O ácido 3-(octilseleno)propanoico foi inicialmente caracterizado por RMN ^1H (Figura 14A). O sinal referente ao próton ácido não pode ser observado em CDCl_3 , devido à rápida troca. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios de metileno e a forma dos espectros são, essencialmente, como esperados. Os deslocamentos químicos para ^1H RMN do ácido 3-(octilseleno)propanoico, as integrais dos sinais e as multiplicidades são mostrados na Tabela 2. O espectro de RMN ^{13}C (Figura 14 B), mostrou um sinal de baixa intensidade em δ 178,41, referente a carbonila do grupo ácido carboxílico. Em adição, os outros dez carbonos foram observados. Os espectros de RMN obtidos indicam a obtenção do ácido 3-(octilseleno)propanoico, com boa pureza. A presença do selênio foi confirmada pela obtenção do espectro de RMN ^{77}Se (Figura 15).

Figura 14. Espectro de RMN ^1H (A) e RMN ^{13}C (B) do ácido 3-(octilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.

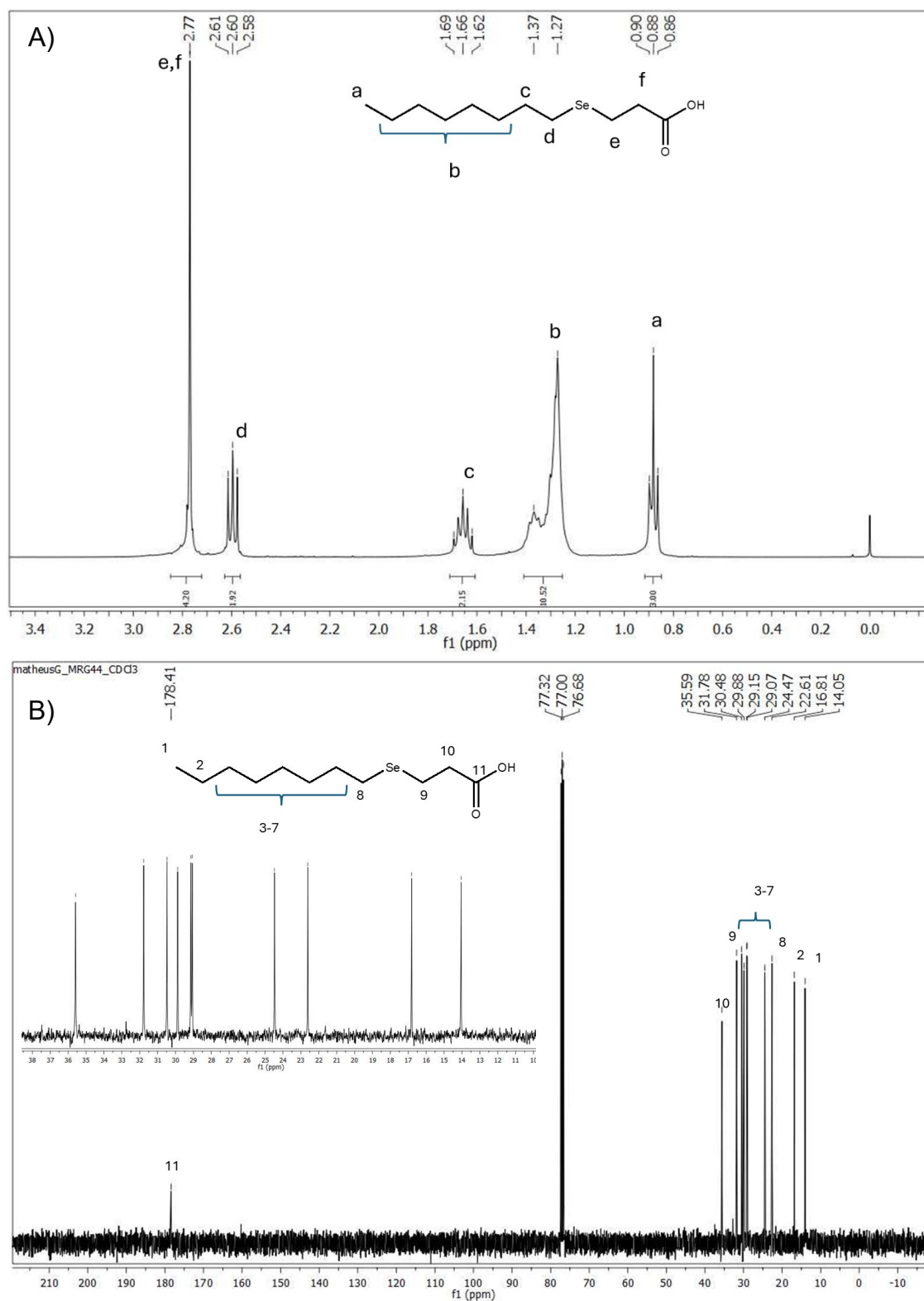
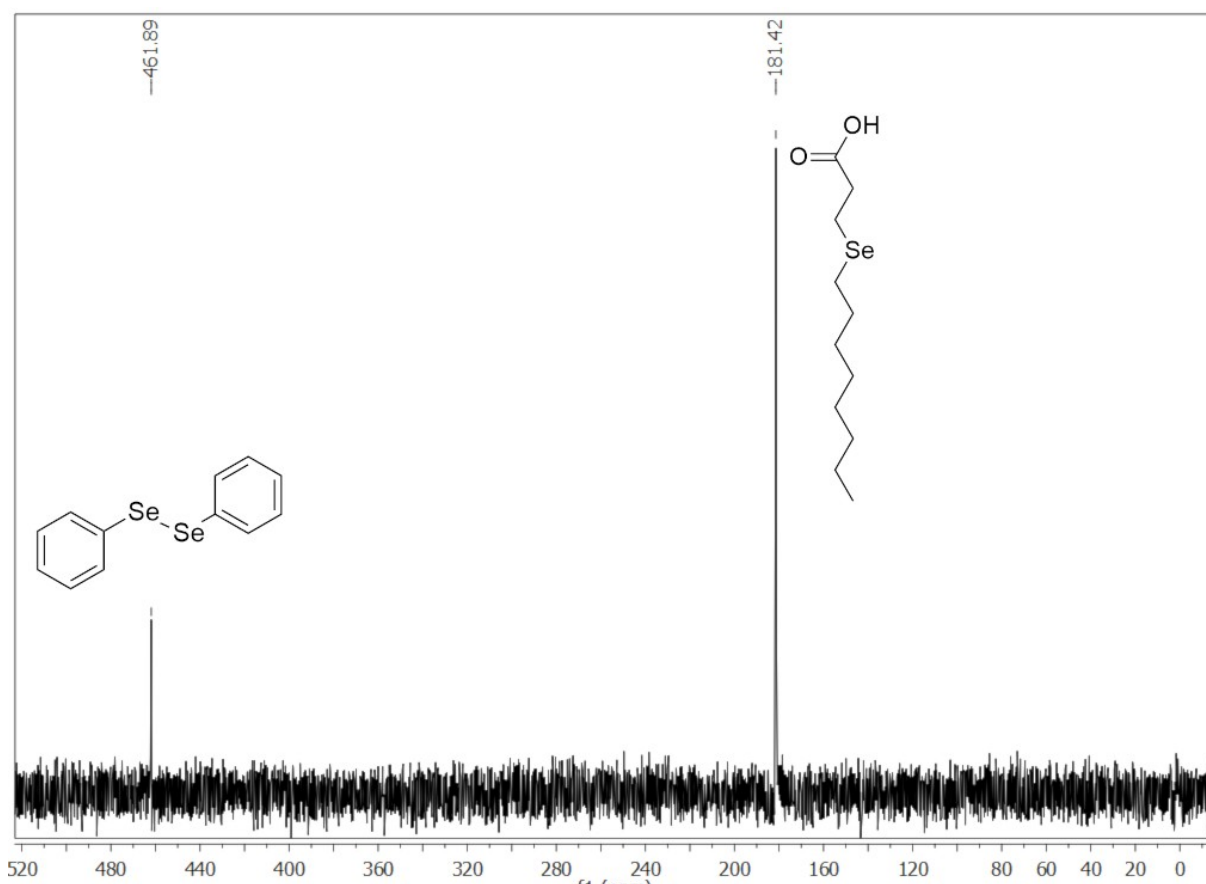


Tabela 2. Deslocamentos químicos para ^1H RMN do ácido 3-(octilseleno)propanoico e do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K utilizando TMS como padrão interno.

	ácido 3-(octilseleno)propanoico		ácido 3-(dodecilseleno)propanoico
a	0,88 (3H, tripleto)	a	0,89 (3H, tripleto)
b	1,28 (10H, multiplete)	b	1,27 (18H, multiplete)
c	1,65 (2H, quinteto)	c,d	1,67 (4H, multiplete)
d	2,60 (2H, tripleto)	e	2,55 (2H, tripleto)
e,f	2,78 (4H, multiplete)	f	2,61 (2H, tripleto)

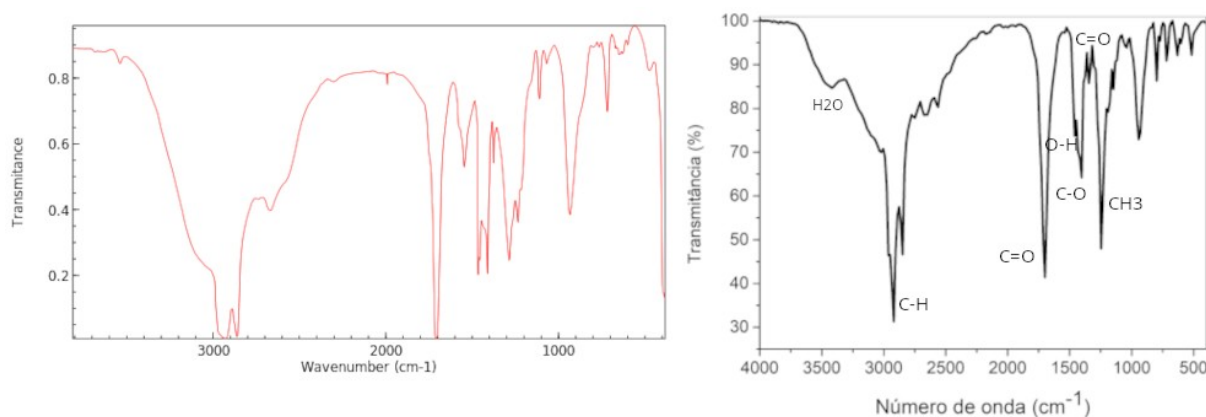
Figura 15: Espectro de RMN ^{77}Se do ácido 3-(octilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.



O FTIR do ácido 3-(octilseleno)propanoico foi obtido e pode ser visto na Figura 16. Para um composto de seleneto orgânico, espera-se a presença de uma banda entre 500 e 600

cm^{-1} resultante do estiramento da ligação Se-C,⁶⁶ que devido à baixa intensidade e variação de posição, faz com que esta banda tenha pouco valor na determinação de estruturas. No espectro de FTIR do ácido 3-(octilseleno)propanoico, existem sinais nesta região, mas que também se dão em razão das ligações C-C e C-H da porção alquílica. Adicionalmente, observou-se no espectro uma banda intensa em 1705 cm^{-1} , referente à deformação axial C=O de dímeros de ácido carboxílico, cuja deformação aparece na região de $1720\text{-}1706 \text{ cm}^{-1}$, enquanto os monômeros de ácidos alifáticos saturados absorvem em torno de 1760 cm^{-1} .⁶⁸ A região de 1400 cm^{-1} possui sinais que podem ser atribuídos à deformação angular O-H e CH_3 . Em 2840 cm^{-1} há um sinal característico de deformação axial de ligações C-H de alcanos. Nos espectros de ácidos carboxílicos há bandas provenientes da deformação axial de C-O e da deformação angular de O-H, respectivamente entre $1320 - 1210 \text{ cm}^{-1}$ e $1440 - 1395 \text{ cm}^{-1}$, nesta encontram-se sinais intensos em 1404 e 1241 cm^{-1} . O espectro de FTIR obtido experimentalmente para o ácido 3-(octilseleno)propanoico é idêntico ao análogo ácido láurico, diferenciando-se apenas pela presença da banda em 3419 cm^{-1} , que pode ser referente à água residual na amostra.

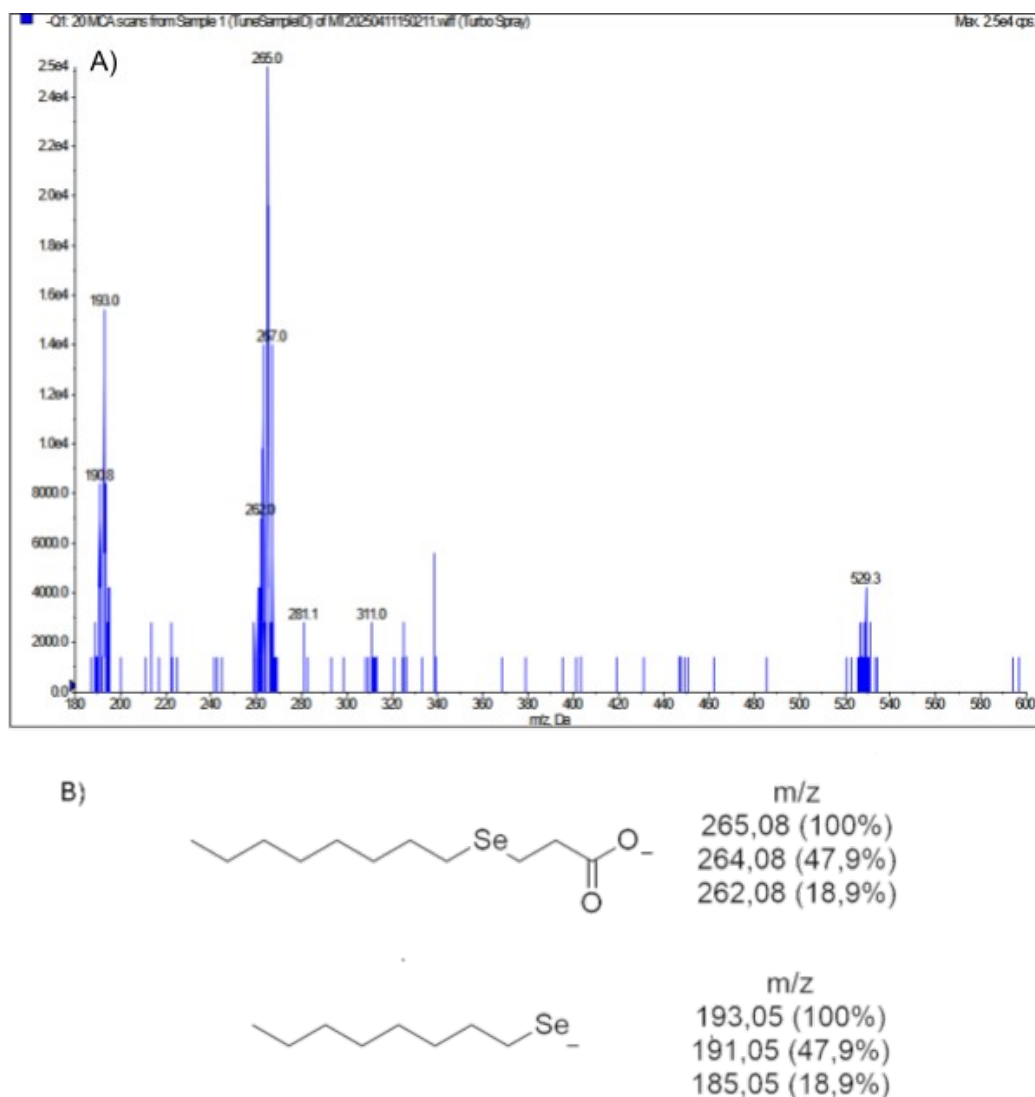
Figura 16. Espectro de infravermelho dos ácidos láurico (vermelho) e 3-(octilseleno)propanoico (preto) respectivamente.



A formação do ácido 3-(octilseleno)propanoico ($\text{MM} = 266,08 \text{ g mol}^{-1}$) foi confirmada por Espectrometria de massas por Ionização por eletrospray (MS-ESI) no modo negativo, mostrando um sinal correspondente ao composto almejado (265 m/z), como pode ser visto na Figura 17 A. Além da observação do sinal principal esperado, referente ao íon molecular, espera-se a presença de outros 5 picos, devido a presença de selênio na molécula, já que este elemento possui seis isótopos estáveis: ^{74}Se (0,89 %), ^{76}Se (9,37 %), ^{77}Se (7,63%), ^{78}Se (23,77%), ^{80}Se (49,61%) e ^{82}Se (8,73%).¹³³ Os principais sinais observados experimentalmente foram em 261, 262, 263, 265 e 267 m/z , como esperado para esta molécula. Os resultados

obtidos confirmaram a formação do produto almejado. Em adição, um sinal de quebra do produto contendo selênio, alquilselenolatos, RSe^- , pode ser visto em 193. O Perfil de quebra pode ser observado na Figura 17B.

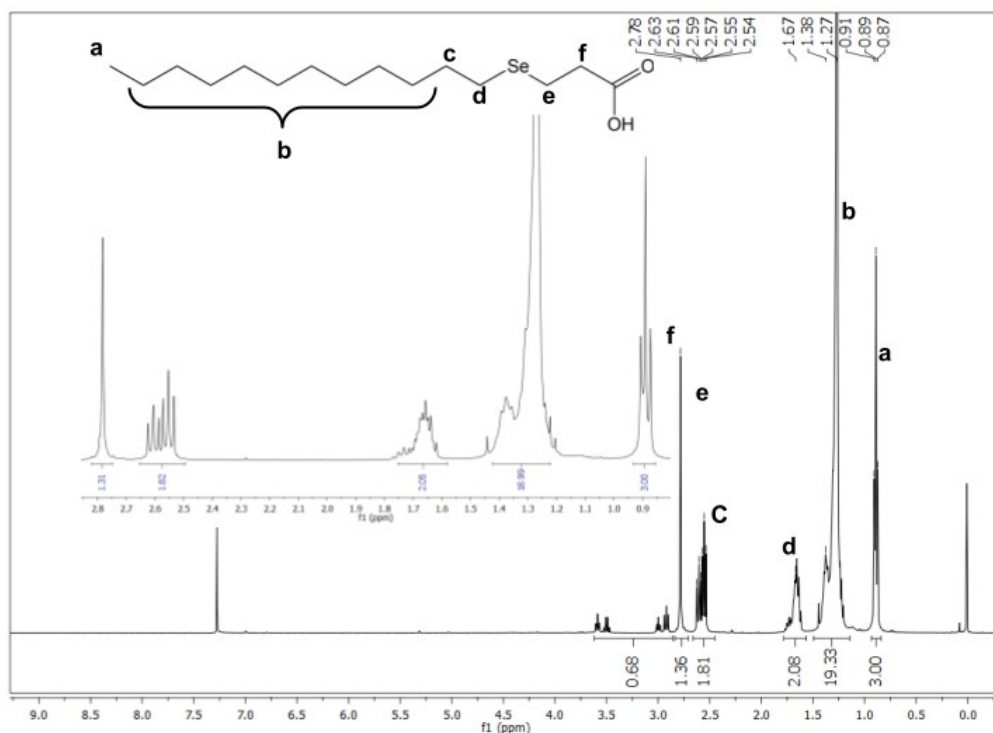
Figura 17: A) Espectro de MS-ESI do ácido 3-(octilseleno)propanoico em formiato de amônio (4 mmol L^{-1}) em acetonitrila no modo negativo. B) Representação esquemática da clivagem da molécula durante a ionização.



O ácido 3-(dodecilseleno)propanoico foi caracterizado por RMN ^1H (Figura 18). Assim, como observado para o ácido 3-(octilseleno)propanoico, o sinal referente ao próton ácido não pode ser observado em $CDCl_3$, enquanto os deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos são apresentados na Tabela 2. Os deslocamentos químicos e a multiplicidade dos sinais estão em concordância com o esperado, contudo a integração dos sinais não foi exata,

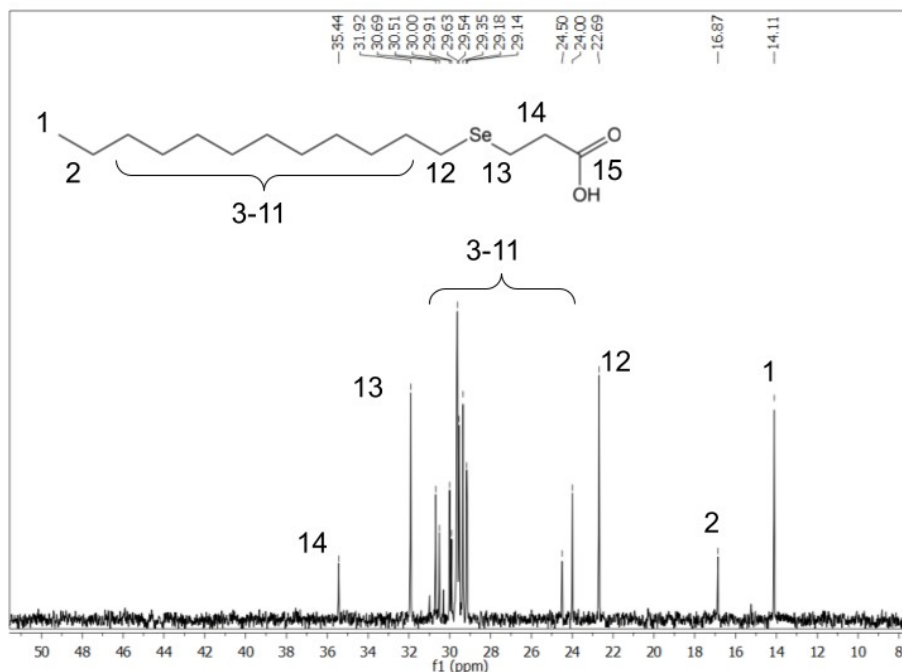
indicando a possibilidade de efeitos de agregação da molécula e alargamento das bandas, além da presença de impurezas (cerca de 10%).

Figura 18. Espectro de RMN ^1H do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.



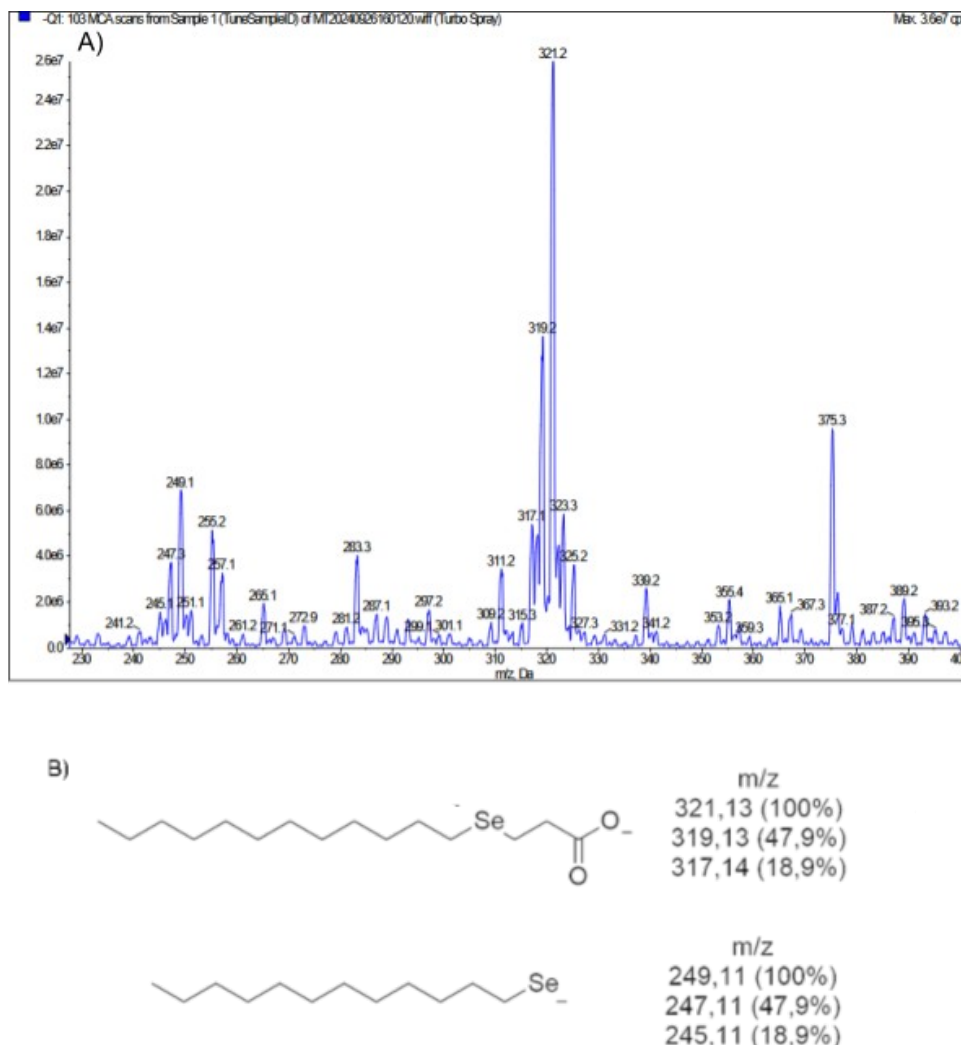
O espectro de RMN ^{13}C do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico é mostrado na Figura 19. Assim, como aconteceu para o espectro de RMN ^1H , sinais de impureza foram observados. Além disso, o sinal da carbonila do ácido carboxílico não foi observado. Contudo, os demais carbonos apresentaram deslocamentos químicos em concordância com o esperado, com um perfil similar ao ácido 3-(octilseleno)propanoico respeitando o número de carbonos do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico.

Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em CDCl_3 a 298 K.



A formação do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico ($MM = 322,14 \text{ g mol}^{-1}$) foi confirmada por MS-ESI no modo negativo, mostrando um sinal correspondente ao composto almejado (321 m/z), como pode ser visto na Figura 20A. Os principais sinais observados experimentalmente foram em 317, 318, 319, 321 e 323 m/z , sendo que a projeção da molécula criada no Chemdraw mostrou a presença de 3 sinais característicos em 321,13 (100%), 319,13 (47,9%) e 317,14 (18,9%). Os resultados obtidos confirmaram a formação do produto almejado. Em adição, um sinal de quebra do produto contendo selênio, alquilselenolatos, RSe^- , pode ser visto em 249. O Perfil de quebra pode ser observado no Figura 20B.

Figura 20. A) Espectro de MS-ESI do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico em formiato de amônio (4 mmol L^{-1}) em acetonitrila no modo negativo. B) Representação esquemática da clivagem da molécula durante a ionização.



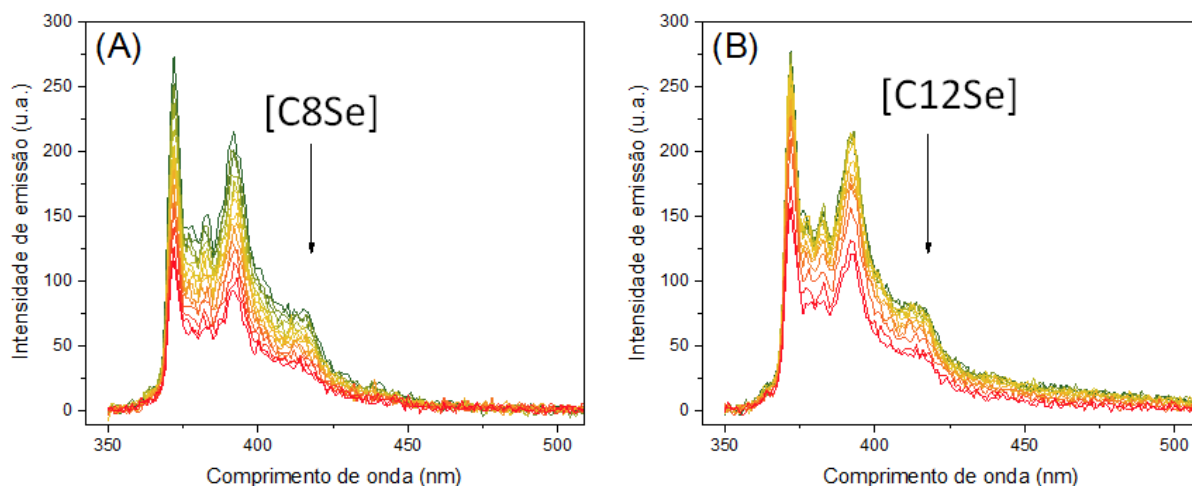
Apesar dos resultados obtidos indicarem que tanto o ácido 3-(octilseleno)propanoico quanto o ácido 3-(dodecilseleno)propanoico foram obtidos com sucesso, o primeiro apresenta maior grau de pureza, sendo, portanto de maior interesse para a avaliação das propriedades físico-química subsequentes.

Na sequência, para facilitar a interpretação dos dados, o ácido 3-(octilseleno)propanoico será referenciado como C8Se e o ácido 3-(dodecilseleno)propanoico como C12Se.

5.2. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE AGREGAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS NA PRESENÇA DE PIRENO

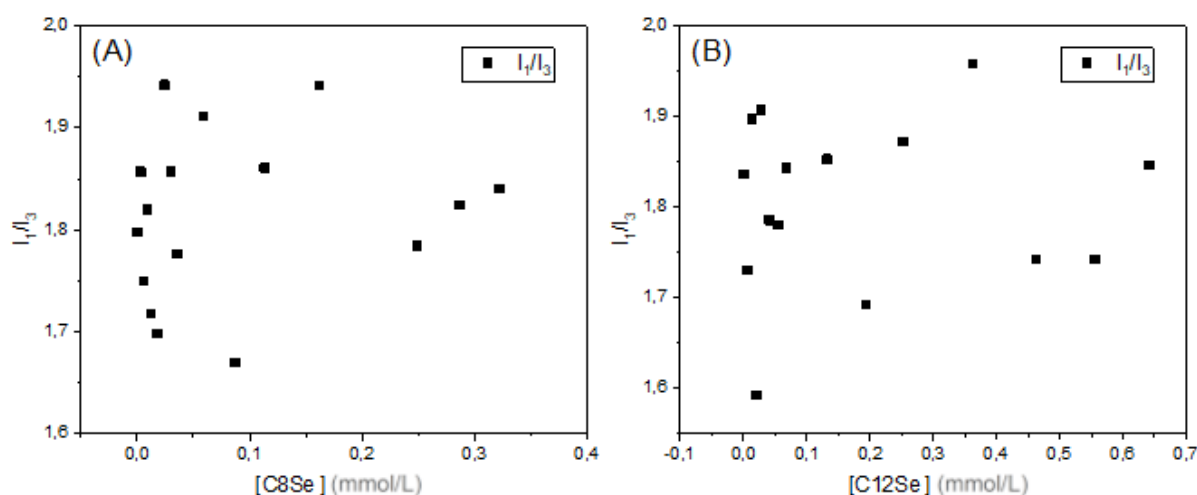
Com o intuito de avaliar o processo de agregação do C8Se e do C12Se, o pireno foi utilizado como sonda fluorescente de polaridade. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 21.

Figura 21: Espectros de emissão de fluorescência do Pireno, (A) em diferentes concentrações do C8Se; (B) em diferentes concentrações do C12Se.



A análise das Figuras 21A e 21B, revela que em ambos os sistemas, C8Se e C12Se, apresentam as bandas características de emissão do pireno, com destaque para as bandas I_1 (em ~ 373 nm) e I_3 (em ~ 382 nm), atribuídas às transições eletrônicas do estado excitado singleto do pireno. Para melhor avaliar o comportamento do pireno na presença dos compostos sintetizados, os gráficos de I_1/I_3 foram plotados e são apresentados na Figura 22.

Figura 22. Variação da razão de intensidades I_1/I_3 do pireno em função da concentração total de surfactantes (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C.

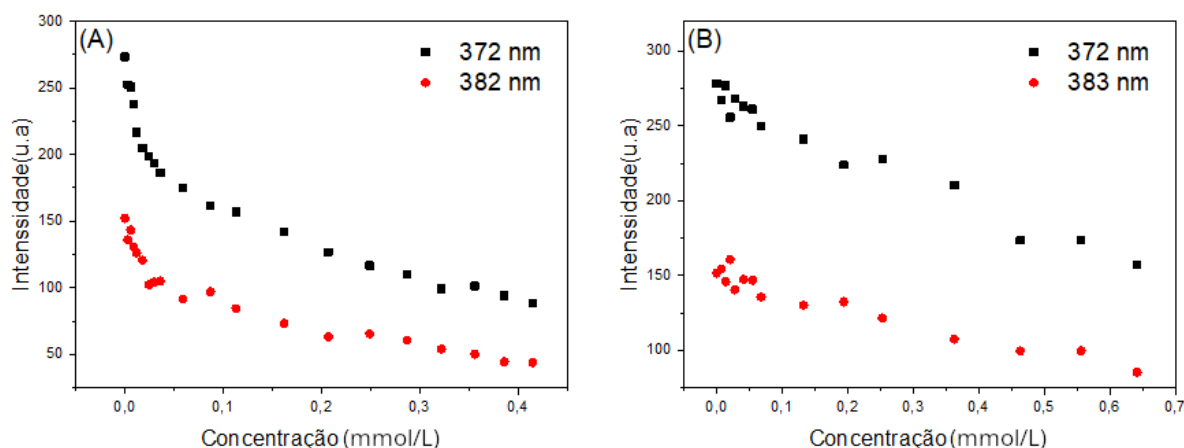


É amplamente reconhecido que os gráficos da razão I_1/I_3 do pireno em função da concentração total de surfactante apresentam um perfil sigmoidal típico próximo à CMC. Em concentrações abaixo da CMC, os valores da razão I_1/I_3 refletem um ambiente polar. Com o aumento da concentração de surfactante, observa-se uma queda acentuada nessa razão, sugerindo que o pireno passa a sondar um microambiente mais hidrofóbico. Acima da CMC, a razão se estabiliza, indicando que o pireno está predominantemente localizado na região hidrofóbica das micelas. Contudo, como observado nas Figuras 22A e 22B, o comportamento sigmoidal esperado para surfactantes convencionais não foi observado no presente estudo. Aqui vale destacar que esse método é muito bem estabelecido na literatura, sendo utilizado não apenas em soluções micelares puras, mas também em sistemas com surfactantes mistos, para investigar interações entre polímeros e surfactantes, e em estudos sobre o efeito de aditivos nas propriedades micelares de surfactantes iônicos e não iônicos.^{82,134}

A ausência do perfil sigmoidal pode ser atribuída, ao menos em parte, ao fato de que o volume da pseudofase hidrofóbica gerada pelos compostos C8Se e C12Se pode não ser suficientemente grande para promover o particionamento efetivo do pireno. Nessa condição, a sonda se distribui entre o meio aquoso contínuo e a fase hidrofóbica emergente, resultando em uma razão I_1/I_3 intermediária, que ainda reflete predominantemente um ambiente mais polar. Esse particionamento limitado compromete a sensibilidade do método e pode levar à superestimação da CMC ou até mesmo inviabilizar sua determinação com base nesse parâmetro. Tal comportamento já foi descrito na literatura para sistemas em que a microambiente hidrofóbico não é suficientemente organizado ou volumoso para acomodar de forma eficiente a sonda apolar.^{135,136} Além disso, a análise dos dados em ambos os comprimentos de onda de I_1 e I_3 , revela que, à medida que a concentração dos surfactantes aumenta, ocorre um

decréscimo sistemático na intensidade de emissão das bandas I₁ e I₃, indicando uma supressão da fluorescência do pireno, Figuras 23A e 23B.

Figura 23. Variação da intensidade de emissão das bandas I₁ e I₃ do pireno com a concentração dos surfactantes (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C.



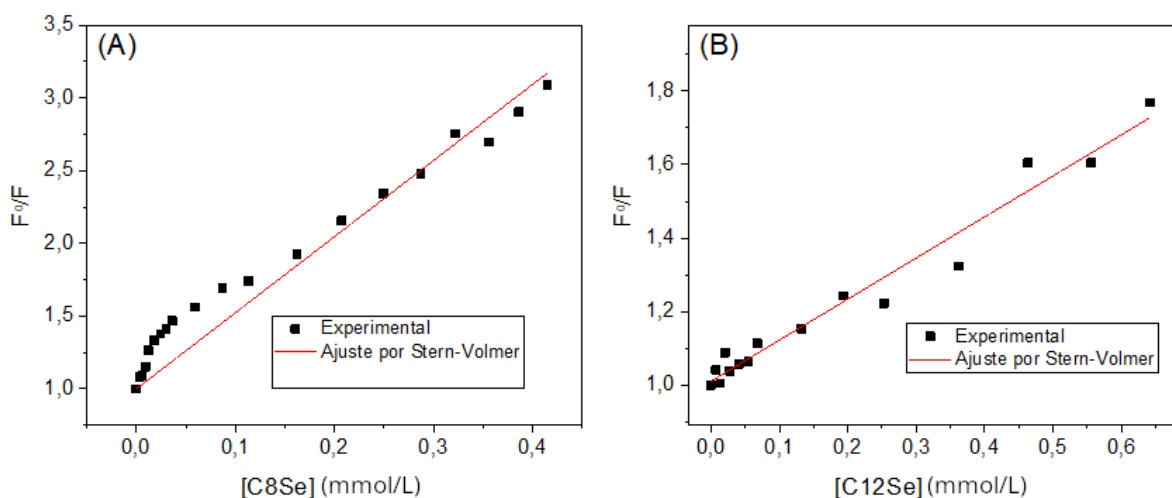
A supressão observada na Figura 23 pode estar relacionada a diferentes fatores. Nesse contexto, existem relatos na literatura sobre processos de supressão por interação estática ou dinâmica entre surfactantes e sondas fluorescentes como o pireno, seja por complexação, transferência de energia, ou mesmo pela introdução de grupos pesados ou heteroátomos que favorecem caminhos não radiativos de relaxamento eletrônico.¹³⁷ No caso específico de compostos contendo selênio, a presença do selênio pode favorecer esse tipo de interação devido ao seu caráter eletronegativo e polarizável, o que pode facilitar processos de supressão via interação eletrônica.

Com intuito de melhor avaliar o processo de supressão de fluorescência observado, os dados experimentais das bandas I₁ e I₃ foram ajustados pela Equação 3, conhecida como Equação de Stern-Volmer.⁸²

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[S] \quad (3)$$

Em que F_0 e F_F representam as intensidades de fluorescência do pireno na ausência e na presença do supressor (C8Se ou C12Se), respectivamente, e $[S]$ é a concentração do supressor. Os dados ajustados à Equação 3 são apresentados na Figura 24.

Figura 24. Perfis de Stern-Volmer para o pireno $4,95 \times 10^{-4}$ mol/L na presença de diferentes concentrações de (A) C8Se e (B) C12Se a 25 °C.



Os ajustes de Stern–Volmer apresentados na Figura 24 evidenciam comportamentos distintos para os sistemas com C8Se (Figura 24A) e C12Se (Figura 24B). No caso do C8Se, observa-se um desvio significativo da linearidade nas menores concentrações do composto, acompanhado por uma mudança clara de inclinação ao longo da curva. Esse comportamento não-linear já antecipa a limitação do modelo clássico de Stern–Volmer para a descrição adequada desses dados. De fato, o ajuste linear resultou em um coeficiente de determinação relativamente baixo ($R^2 = 0,89$), o que inviabiliza a determinação precisa e confiável da constante de Stern–Volmer (K_{sv}) nesse sistema.

Essa não linearidade sugere que o pireno se encontra distribuído de forma heterogênea entre o meio contínuo (mais polar) e a pseudofase hidrofóbica proporcionada pelo C8Se. Tal distribuição desigual pode originar populações de sonda fluorescente com diferentes acessibilidades ao agente supressor (neste caso, o C8Se), o que compromete a aplicabilidade do modelo de Stern–Volmer tradicional, que assume homogeneidade no sistema e supressão dinâmica uniforme.

Em contraste, para o sistema contendo C12Se (Figura 24B), observa-se um comportamento significativamente “mais linear” ao longo da faixa de concentrações estudadas. O bom ajuste dos dados ($R^2 = 0,98$) indica uma distribuição mais homogênea do pireno no sistema, possivelmente associada à formação de estruturas organizadas mais eficientes por C12Se, capazes de promover o particionamento mais consistente da sonda para a pseudofase hidrofóbica. Nessa condição, a constante de Stern–Volmer (K_{sv}) pode ser determinada com maior segurança, resultando em um valor de $1,11 \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$.

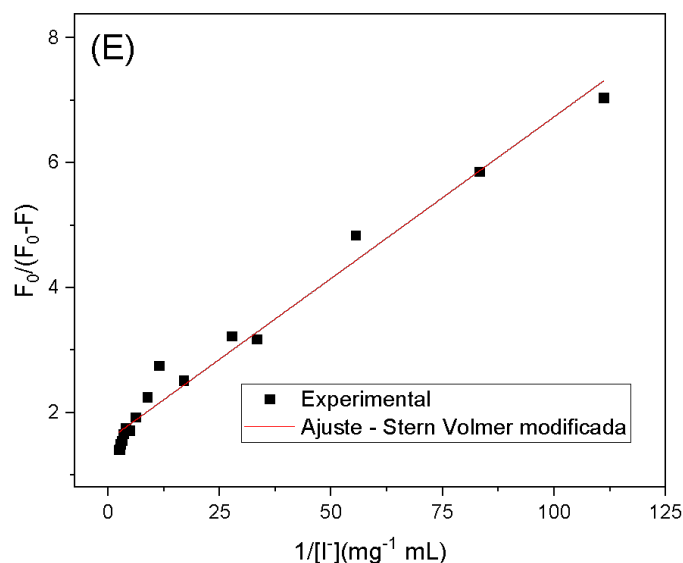
Portanto, os dados de Stern–Volmer corroboram as observações feitas a partir dos espectros de emissão, mostrando que a natureza do surfactante influencia diretamente o microambiente ao redor do pireno e, conseqüentemente, a dinâmica de supressão de sua fluorescência.

Voltando ao caso do C8Se, uma possível explicação para o comportamento não-linear observado no ajuste de Stern–Volmer é a existência de duas populações distintas de moléculas de pireno. Uma das populações estaria acessível ao composto, que atua como agente supressor de fluorescência (população incorporada na pseudofase hidrofóbica). A outra população, por sua vez, estaria parcialmente ou totalmente inacessível, possivelmente retida no meio contínuo aquoso ou em microambientes menos organizados. Essa heterogeneidade na acessibilidade pode decorrer da natureza do sistema, em que a pseudofase hidrofóbica ainda não é suficientemente desenvolvida ou está em equilíbrio dinâmico com o meio contínuo. Nesses casos, a equação clássica de Stern-Volmer não é mais válida, sendo necessário empregar um modelo modificado que leva em consideração essa distribuição desigual da sonda: a Equação 4 de Stern-Volmer modificada é dada por ⁸²

$$\frac{F_0}{F_0 - F} = \frac{1}{f_a K_a [S]} + \frac{1}{f_a} \quad (4)$$

Nesta equação, F_0 e F representam as intensidades relativas de fluorescência do pireno na ausência e na presença do supressor, respectivamente. O parâmetro f_a corresponde à fração da fluorescência inicial que é acessível ao supressor (surfactante C8Se); $[S]$ é a concentração do agente supressor, e K_a é a constante de supressão de Stern-Volmer referente à fração acessível à supressão, comumente utilizada para modelar mecanismos de supressão estática. Os resultados obtidos com o uso da Equação 4 estão apresentados na Figura 25.

Figura 25. Ajuste dos dados de emissão do pireno na presença de diferentes concentrações do C8Se pela Equação 4. Dados obtidos a 25 °C.



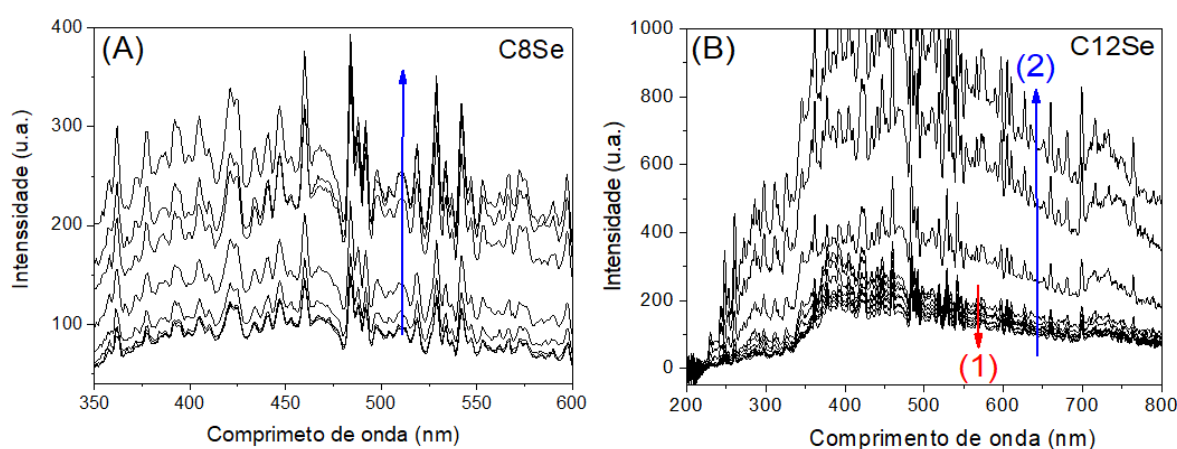
O ajuste dos dados experimentais pela Equação 4, resultou em um coeficiente de determinação elevado ($R^2 = 0,98$), evidenciando que esse modelo é capaz de descrever adequadamente o sistema investigado. Assim, admite-se a supressão da fluorescência do pireno não é homogênea em todo o meio, como pressupõe o modelo clássico, mas ocorre majoritariamente em uma subpopulação acessível ao surfactante C8Se. A fração acessível calculada foi $f_a \sim 0,64$, o que indica que cerca de 64% das moléculas de pireno participam efetivamente do processo de supressão dinâmica. Isso significa que uma parcela significativa da sonda (aproximadamente 36%) permanece inacessível ao surfactante, possivelmente retida no meio contínuo. Esse particionamento desigual é coerente com a ausência do perfil sigmoidal esperado na razão I_1/I_3 e reforça a hipótese de heterogeneidade no sistema.

A constante de Stern-Volmer da fração acessível ao supressor foi determinada como $Ka = 0,0517 \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$. Esse valor reflete a eficiência da supressão na fração do pireno que interage diretamente com o surfactante. Embora não seja particularmente alto, ele é compatível com um sistema em que a supressão ocorre em meio organizado, mas ainda limitado pela estruturação parcial da pseudofase hidrofóbica.

Em conjunto, os resultados obtidos através do modelo modificado não apenas explicam o comportamento não linear observado nos dados, como também fornecem parâmetros relevantes que ajudam a caracterizar a distribuição do pireno no sistema contendo C8Se. Eles reforçam a ideia de que, em sistemas anfífilos com baixa ou intermediária capacidade de auto-organização, a interpretação dos dados de fluorescência deve levar em conta a heterogeneidade do meio e a acessibilidade parcial da sonda.

Diante das dificuldades enfrentadas na determinação da CMC empregando-se a fluorescência do pireno, optou-se alternativamente pela análise por RLS, cuja sensibilidade à formação de agregados supramoleculares permite inferir com maior precisão a ocorrência de processos de auto-organização em solução. Os dados obtidos para ambos os surfactantes estão apresentados na Figura 26.

Figura 26. Perfis de RLS obtidos em diferentes concentrações de (A) C8Se; (B) C12Se a 25 °C. As setas indicam a sequência dos espectros com o aumento da concentração dos compostos.

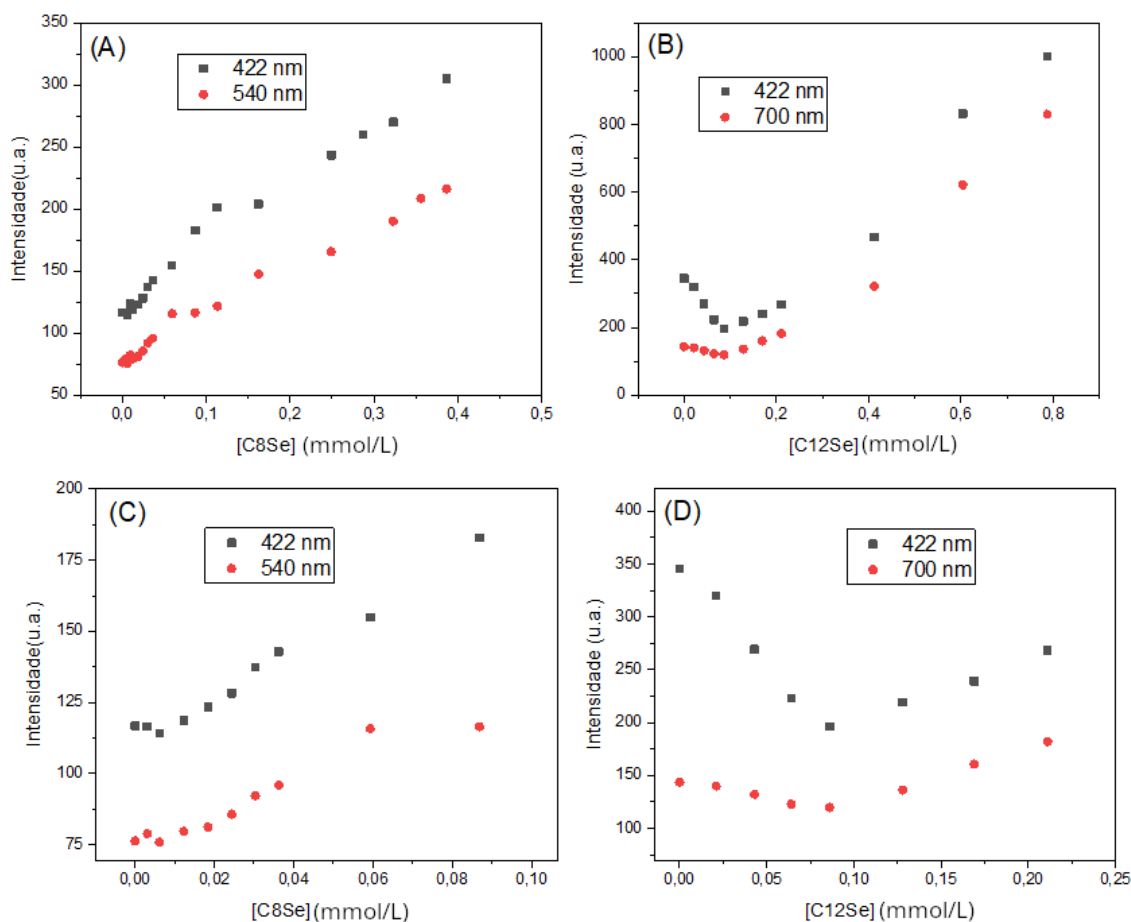


No caso do C8Se (Figura 26A), observa-se que as três primeiras adições do surfactante (0 até $12 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) não promoveram alterações expressivas na intensidade do espalhamento ressonante, indicando a predominância de espécies moleculares dispersas em solução. No entanto, a partir de uma determinada concentração ($30 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), evidenciada pelo aumento súbito no sinal, indicado pela seta azul, há um crescimento acentuado da intensidade de espalhamento, sugerindo a formação de agregados, possivelmente micelas. Esse comportamento é característico de sistemas que atravessam o limiar da CMC, refletindo o início da agregação cooperativa do surfactante.

Para o C12Se (Figura 26B), o comportamento inicial é distinto, nas primeiras adições (0 até $86 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), do surfactante, observa-se uma redução da intensidade de RLS (seta vermelha (1)), atribuída ao efeito de diluição do meio. Entretanto, a partir dessa concentração ocorre uma acentuada elevação do sinal de espalhamento (seta azul (2)), comportamento análogo ao observado para o C8Se, sendo indicativo da formação de agregados. Para uma melhor visualização dos efeitos observados por RLS, foram selecionados dois comprimentos de

onda característicos para cada sistema, nos quais a intensidade de espalhamento foi plotada em função da concentração de surfactante, conforme apresentado na Figura 27.

Figura 27. Os gráficos (A) e (C) correspondem ao sistema com C8Se, enquanto (B) e (D) referem-se ao C12Se, sendo (C) e (D) ampliações das regiões de menores concentrações. Dados obtidos a 25 °C.



No caso do C8Se, observa-se um crescimento progressivo da intensidade de espalhamento à medida que a concentração do surfactante aumenta, particularmente em 422 nm, com comportamento similar, embora menos intenso em 540 nm. No entanto, não é possível identificar com segurança um ponto de inflexão bem definido que permita determinar com precisão a CMC. Essa ausência de uma transição clara pode estar associada ao menor comprimento da cadeia hidrofóbica do C8Se. Assim, o processo de agregação ocorre de forma mais gradual, sem um limite de transição cooperativa nítido, como normalmente observado em surfactantes com cadeias mais longas.

Em contraste, para o sistema com C12Se, os gráficos (Figura 27B) evidenciam um comportamento distinto. Inicialmente, há uma diminuição da intensidade de espalhamento, notada especialmente no comprimento de onda de 422 nm, atribuída ao efeito de diluição do sistema (já observado nos espectros da Figura 26). No entanto, a partir de uma certa concentração, ocorre um aumento expressivo da intensidade, caracterizando um ponto de inflexão visível, destacado no gráfico (Figura 27D). Com base na variação do sinal de RLS, estima-se que esse ponto ocorre em torno de $90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, valor que pode ser um indicativo da CMC para o C12Se.

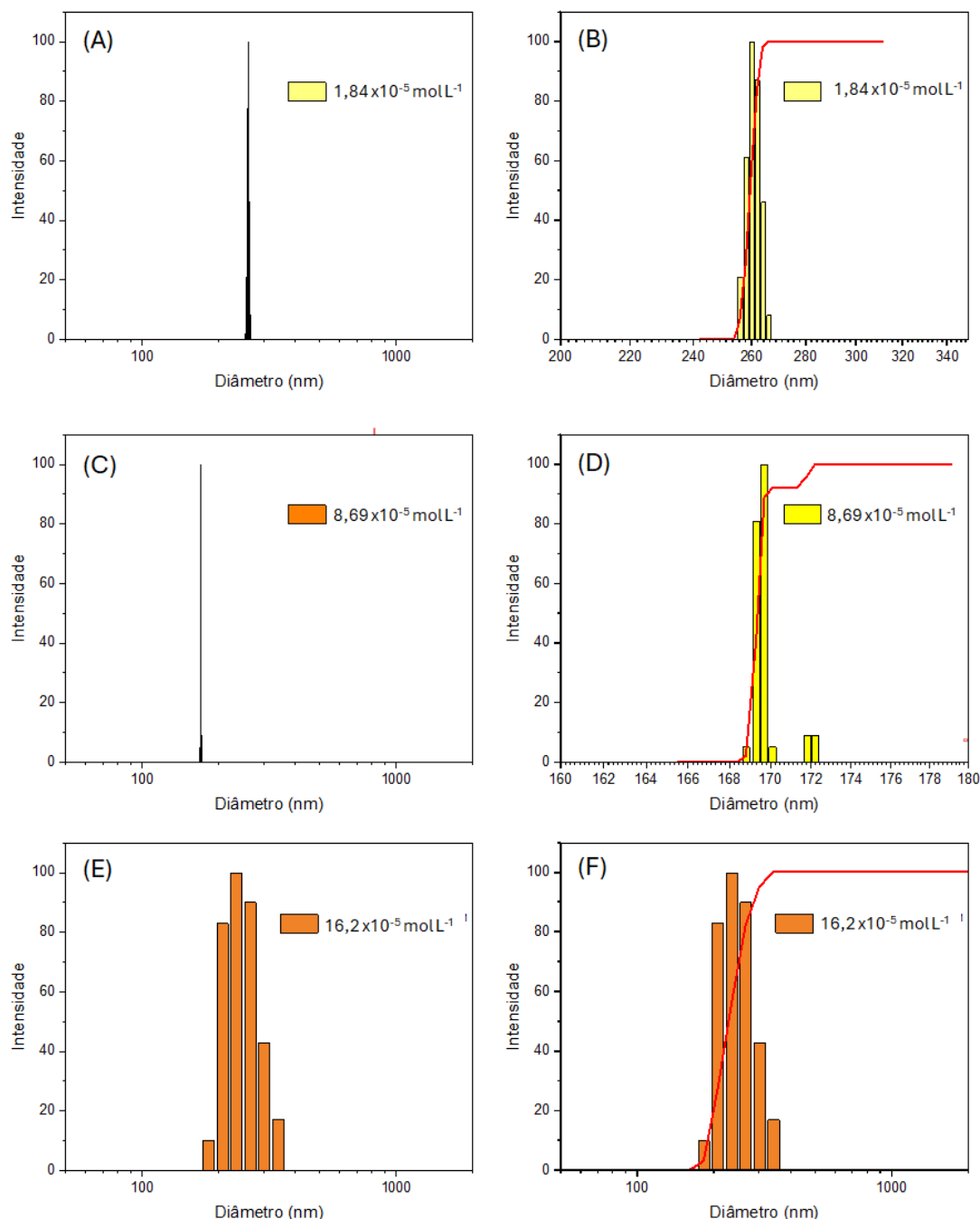
Esses resultados evidenciam não apenas a sensibilidade da técnica de RLS na detecção da CMC, mas também como a estrutura molecular do surfactante impacta diretamente no perfil de agregação, sendo possível distinguir comportamentos de transição cooperativa mais ou menos definidas a partir da análise das curvas de intensidade em função da concentração.

Tendo em vista a dificuldade de determinação da CMC para o C8Se, optou-se por avaliar os sistemas também pela técnica de DLS.

5.3 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ E POTENCIAL ZETA

A utilização do DLS constitui uma abordagem útil em casos como o do C8Se, em que o limiar para a formação dos agregados é menos evidente nos espectros de RLS, possivelmente devido ao menor comprimento da cadeia hidrofóbica, que pode levar a uma agregação mais gradual. A técnica de DLS foi empregada para avaliar o comportamento de autoagregação do surfactante ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) em diferentes concentrações, com o objetivo inicial de estimar não somente a CMC, mas também o Diâmetro hidrodinâmico (Dh) o Índice de polidispersão (PDI) e o potencial Zeta (ζ). Os resultados obtidos são apresentados nos histogramas (Figura 28) e na Tabela 3.

Figura 28: Histogramas de D_h em função de distribuição de intensidade da luz espalhada sobreposta pela distribuição cumulativa da intensidade espalhada para o ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se). (A-B) $1,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de C8Se, (C-D) $8,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de C8Se e (E-F) $16,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de C8Se. Dados obtidos a 25°C .



Na menor concentração, como evidenciado na Figura 28A ($1,84 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), observa-se uma distribuição bem definida de intensidade em torno de 260 nm, indicando a presença de agregados com distribuição relativamente estreita. A análise em escala ampliada (Figura 28B) mostra um perfil típico de agregados organizados, o que é reforçado pelos baixos

valores de PDI ($\sim 0,05$) na Tabela 3. Mesmo abaixo dessa concentração (vide dados da tabela a partir de $0,0031 \text{ mol L}^{-1}$), já são observados Dh elevados, com valores variando de 160 a 970 nm, e até acima de 4000 nm em $0,0123 \text{ mol L}^{-1}$, sugerindo a formação de grandes agregados. Esse comportamento é atípico e aponta para uma tendência intrínseca do C8Se à agregação espontânea, mesmo em concentrações muito baixas.

Essa forte propensão à autoassociação pode ser atribuída às características estruturais do C8Se. A presença de cadeia alquílica (octil) ligada ao átomo de selênio confere uma natureza ligeiramente hidrofóbica à molécula, promovendo interações intermoleculares intensas entre as porções apolares. Adicionalmente, o selênio, sendo mais polarizável e volumoso que átomos como enxofre ou oxigênio, pode favorecer interações de van der Waals mais expressivas, contribuindo para a estabilização de agregados.

À medida que a concentração do surfactante aumenta, há uma reorganização nas estruturas formadas. Em $86,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Figuras 28C e 28D), os agregados mostram tamanhos médios menores ($\sim 170 \text{ nm}$). Em concentrações ainda maiores, como $162,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Figuras 28E e 28F), observa-se um novo aumento no diâmetro ($\sim 253 \text{ nm}$) e na dispersão dos tamanhos.

A análise do potencial Zeta ao longo das concentrações também fornece pistas importantes sobre a estabilidade dessas estruturas. Em concentrações mais baixas, os valores de ζ são próximos de zero, o que reflete partículas eletricamente neutras e, portanto, menos estáveis. A partir de $0,0304 \text{ mol L}^{-1}$, há uma mudança para valores negativos, atingindo -40 mV em $0,0593 \text{ mol L}^{-1}$, o que indica uma ionização mais efetiva dos grupos carboxílicos e, conseqüentemente, maior repulsão eletrostática entre as partículas, favorecendo a estabilização das dispersões. Essa mudança no potencial zeta coincide com a faixa de concentração em que Dh torna-se mais consistente e os sistemas apresentam menor polidispersidade, apontando para a existência de uma zona de agregação estável, embora não claramente delimitada por uma CMC tradicional.

Dessa forma, os dados sugerem que o C8Se não apresenta um ponto de CMC definido, mas sim um processo contínuo e complexo de agregação, com formação de agregados desde concentrações muito baixas. A estrutura molecular peculiar do surfactante, aliada à sua elevada hidrofobicidade e ao comportamento do selênio, fomenta essa agregação precoce. Assim, em vez de uma CMC pontual, os resultados apontam para uma zona de organização supramolecular progressiva, que se estabiliza a partir de aproximadamente $0,03 \text{ mol L}^{-1}$, faixa na qual os agregados passam a apresentar maior uniformidade, estabilidade coloidal e potencial zeta mais negativo.

Tabela 3. Valores de Diâmetro hidrodinâmico (Dh), índice de polidispersidade (PDI) e Potencial Zeta (ζ) para o ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) em diferentes concentrações em meio aquoso.

[C8Se] (10^{-6} mol L $^{-1}$)	Dh (nm)	PDI	ζ (mV s $^{-1}$)
3,1	360,2	0,05	0
6,2	165,8	0,05	0
9,3	970,2	0,05	0
12,3	4963,6	0,05	0
18,4	260,6	0,05	0,23
24,4	194,7	0,05	0
30,4	199,8	0,05	-7,25
36,3	162,9	0,32	0
59,3	140,0	0,20	-40,18
86,9	169,7	0,05	0
113,2	217,0	0,05	-0,08
162,4	253,1	0,22	-30,91

De modo semelhante, procedeu-se com a análise do ácido 3-(dodecilseleno)propanoico (C12Se) por DLS em diferentes concentrações. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 29 e Tabela 4.

Figura 29: Histogramas de Dh em função da distribuição de intensidade da luz espalhada sobreposta pela distribuição cumulativa da intensidade espalhada para o ácido 3-(dodecilselena)propanoico (C12Se). (A) $17,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (B) $82,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (C) $346,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Dados obtidos a 25°C .

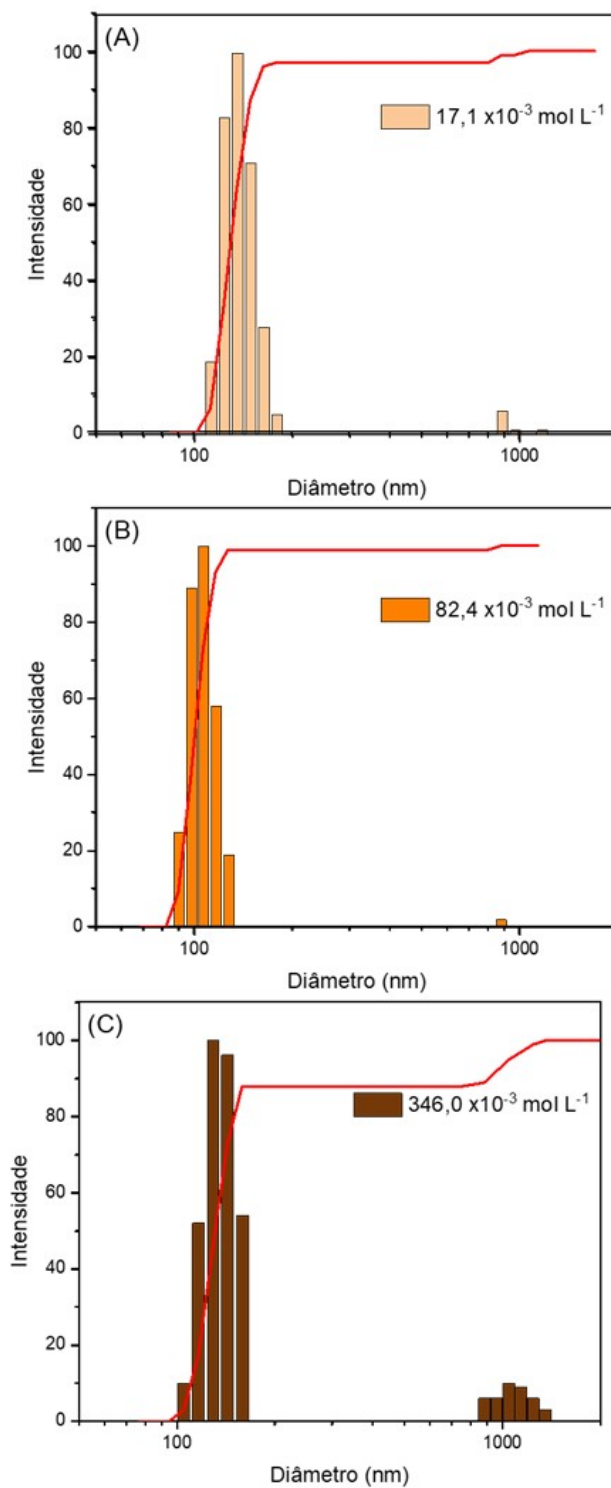


Tabela 4. Valores de diâmetro hidrodinâmico (D_h), índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta (ζ) para o C12Se em diferentes concentrações em meio aquoso.

[C12Se] (10^{-6} mol L $^{-1}$)	D_h (nm)	PDI	ζ (mV s $^{-1}$)
17,4	101,7	0,05	-15,34
25,6	159,0	0,47	-33,97
33,9	129,2	0,02	-20,81
42,2	96,9	0,01	-36,05
50,4	72,5	0,33	-31,26
82,4	112,0	0,33	4,38
157,3	91,2	0,35	-35,10
225,7	236,0	0,46	-37,30
346,1	251,2	0,10	-35,90

A avaliação do comportamento de agregação do C12Se em meio aquoso por DLS revelou a formação de agregados já em concentrações bastante baixas, embora com características distintas daquelas observadas para o C8Se. Os histogramas (Figuras 29A–C) mostram a distribuição de tamanho por intensidade de luz espalhada em três concentrações crescentes, com sobreposição das curvas cumulativas, evidenciando a presença de populações principais bem definidas e, em alguns casos, subpopulações de tamanhos maiores.

Na menor concentração avaliada ($17,4 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ – Figura 29A), o C12Se apresenta um perfil de agregação relativamente monodisperso, com D_h médio em torno de 100 nm e PDI baixo (0,05), o que sugere a formação de agregados já organizados e estáveis. Essa agregação precoce, mesmo abaixo de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, pode ser atribuída à longa cadeia hidrofóbica dodecânica (C12), que intensifica interações intermoleculares e o efeito hidrofóbico, favorecendo a autoassociação mesmo em meio diluído. Adicionalmente, o átomo de selênio, como já discutido para o C8Se, contribui com sua elevada polarizabilidade para interações não covalentes adicionais entre as moléculas.

Ao aumentar a concentração para $82,4 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ (Figura 29B), observa-se um discreto aumento no D_h (~ 112 nm) e a presença de uma subpopulação minoritária abaixo de 1000 nm, compatível com a formação de agregados maiores ou coalescência dos mesmos em

estruturas mais complexas. Essa heterogeneidade também é refletida no PDI elevado (0,33) e no valor inesperadamente positivo de potencial zeta (+4,38 mV), ainda que próximo a zero.

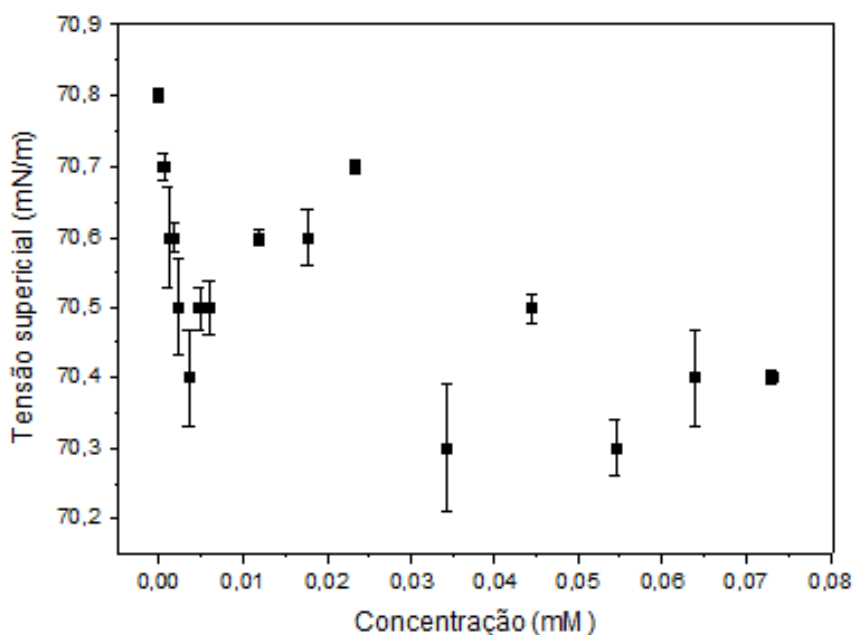
Na maior concentração investigada ($346 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ - Figura 29C), a amostra mostra uma clara bimodalidade: uma população principal entre 100 e 200 nm e uma secundária acima de 1000 nm. O Dh médio atinge 251,2 nm, com PDI reduzido para 0,10, o que indica que, embora haja uma segunda população, as partículas de ambas as populações apresentam distribuições estreitas dentro de seus limites. O potencial Zeta em torno de -36 mV confirma a estabilidade eletrostática da dispersão, sendo suficiente para evitar a floculação das partículas.

Os dados da Tabela 4 mostram uma dependência do Dh do aumento da concentração, atingindo valores de PDI de até 0,46, evidenciando possíveis fusões de agregados ou coexistência de diferentes morfologias. No entanto, em concentrações menores, observa-se um caráter monodisperso, com $\text{PDI} < 0,05$ e tamanhos menores.

5.4 TENSÃO SUPERFICIAL

No caso do composto C8Se tentou-se como última alternativa a sua CMC por meio da medida da tensão superficial em função da concentração. Esse método baseia-se na propriedade dos surfactantes de reduzir a tensão superficial da água à medida que suas moléculas se adsorvem na interface ar/água. Como supracitado na revisão, quando a interface atinge a saturação, as moléculas excedentes começam a se auto-organizar no meio aquoso, formando micelas, ponto em que a tensão superficial deixa de diminuir significativamente, caracterizando a CMC. Os resultados obtidos para o surfactante C8 são apresentados na Figura 30.

Figura 30. Valores de tensão superficial mensurados para diferentes concentrações do composto C8Se.



Em geral, os dados experimentais obtidos (Figura 30) mostraram uma variação bastante sutil da tensão superficial, com valores oscilando de aproximadamente 70,8 mN/m nas concentrações mais baixas para cerca de 70,3 mN/m nas concentrações mais elevadas. A diferença de apenas 0,5 mN/m ao longo de toda a curva está consideravelmente abaixo do comportamento esperado para surfactantes com boa atividade superficial, os quais frequentemente promovem quedas superiores a 20 mN/m. Além disso, não foi observada uma inflexão clara ou um patamar que caracterize de forma inequívoca a formação de micelas.

Essa resposta atenuada pode ser explicada por diversos fatores. Em primeiro lugar, é possível que o surfactante C8Se apresente baixa atividade superficial intrínseca, seja por possuir uma cadeia hidrofóbica curta, seja por apresentar uma estrutura química que dificulte sua adsorção eficiente na interface. Outra possibilidade é que a faixa de concentração estudada ainda esteja abaixo da real CMC, de modo que a adsorção observada represente apenas um regime inicial, sem que a saturação interfacial tenha sido atingida. A ausência de um ponto de inflexão bem definido reforça essa hipótese.

Adicionalmente, impurezas residuais ou mesmo pequenas variações experimentais (como flutuações de temperatura, tempo de estabilização ou qualidade da água utilizada) podem contribuir para oscilações nos dados e mascaramento de efeitos mais sutis. Um outro aspecto relevante já citado anteriormente é a possibilidade do composto apresentar tendência à formação de agregados precoces, mesmo em concentrações baixas, reduzindo a disponibilidade

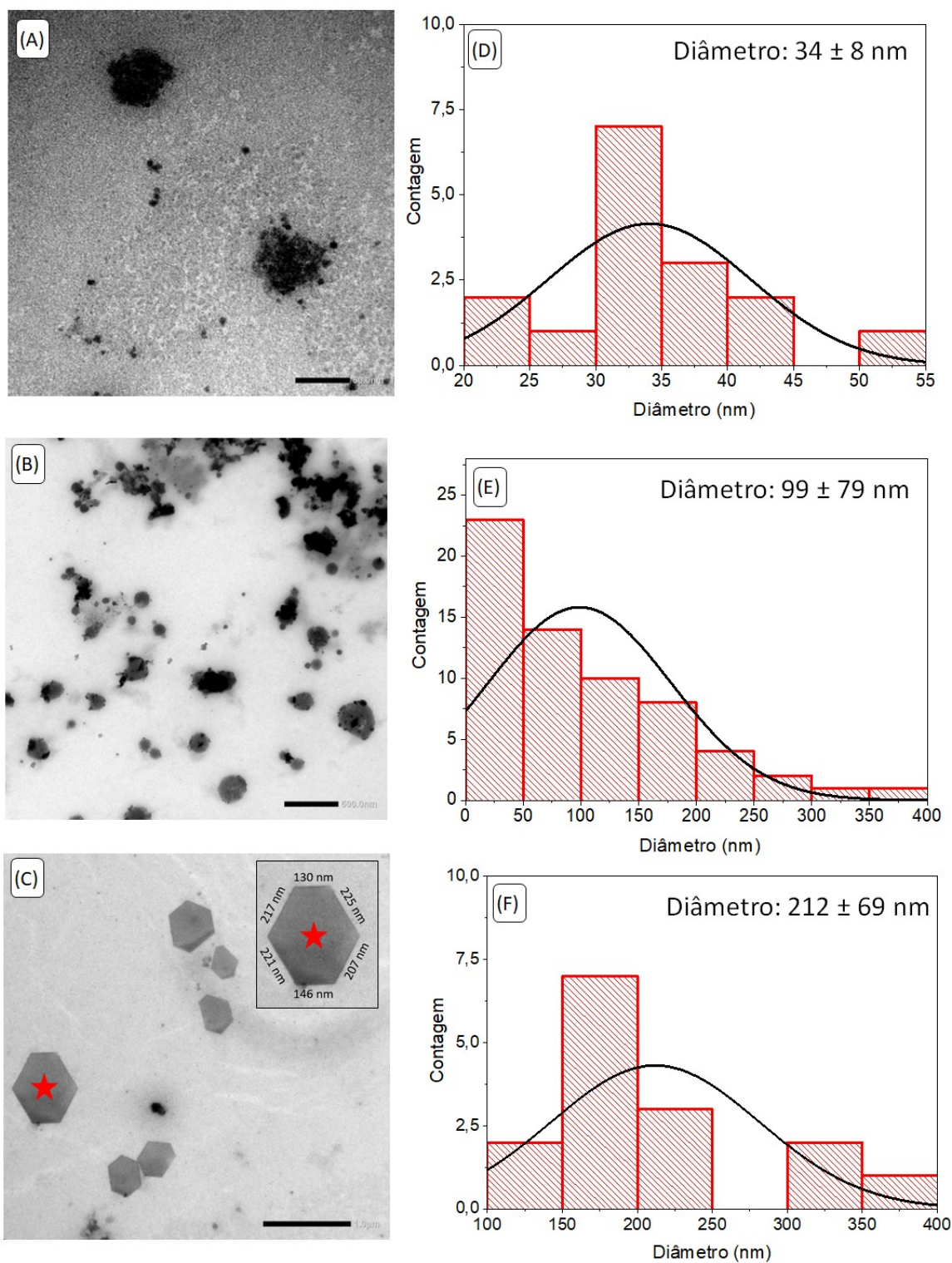
de monômeros livres para adsorção na interface e, conseqüentemente, minimizando o impacto na tensão superficial.

Diante desses resultados, conclui-se que a técnica de tensão superficial, embora clássica, pode não ser suficientemente sensível para determinar a CMC do surfactante C8Se de forma isolada. Além disso, análises morfológicas como TEM e Cryo-TEM, podem oferecer evidências diretas da formação de agregados, sendo especialmente úteis para sistemas com baixa atividade interfacial ou comportamento não convencional.

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

A Figura 31 exibe micrografias de transmissão e suas respectivas distribuições de tamanho para as partículas obtidas para a dispersão coloidal do surfactante C8Se. A amostra foi analisada em diferentes regiões do grid de cobre com suporte de carbono, a fim de avaliar a morfologia e a distribuição de tamanho das estruturas formadas.

Figura 31. (A-B-C) Micrografias de transmissão da dispersão coloidal do composto C8Se, (D-E-F) Distribuição de tamanho das partículas contadas. $[C8Se] = 0,08 \text{ mmolL}^{-1}$



Na micrografia representada na Figura 31A, observa-se uma população de partículas predominantemente esféricas com distribuição relativamente homogênea de tamanho, com diâmetro médio estimado em 34 ± 8 nm (Figura 31D). Essa população é compatível com a formação de agregados esféricos, estruturas supramoleculares características de surfactantes

anfífilicos em concentrações acima da CMC. Ressalta-se, contudo, a presença de dois aglomerados maiores com morfologia irregular, não incluídos na contagem estatística, que aparentam ser a fusão dos agregados menores. Essas estruturas maiores podem resultar de interações intermicelares conduzidas por interações intermoleculares ou presença de impurezas. Aqui vale destacar que os menores valores encontrados no MET em relação ao DLS se devem ao fato da última técnica considerar também a camada de hidratação ao redor das nanopartículas.¹⁴⁴

A Figura 31B revela uma região do grid com elevado grau de polidispersão, como indicado pela ampla distribuição de tamanhos observada na Figura 31E. Os diâmetros variam de aproximadamente 20 até 400 nm, com a maior frequência concentrada abaixo de 50 nm. O diâmetro médio, no entanto, encontra-se em 99 ± 79 nm, o que reflete a assimetria da distribuição e reforça a predominância de uma população de partículas menores (possivelmente micelas) concomitante com a presença significativa de estruturas maiores, provavelmente formadas por eventos de agregação.

Na Figura 31C, observa-se uma morfologia distintamente diferente. Estruturas com geometria hexagonal dispersas sobre o grid, com tamanhos variando entre 120 e 370 nm. Além disso, como destacado no detalhe ampliado, as dimensões da estrutura de fato condizem com um hexágono em crescimento. A ocorrência dessas formas geométricas regulares sugere a possível formação de cristalitos líquidos ou fases ordenadas hexagonais, que podem surgir por auto-organização dos surfactantes sob determinadas condições de concentração e temperatura.⁷³ Alternativamente, essas estruturas podem corresponder a partículas cristalinas do próprio surfactante ou de subprodutos presentes no sistema. A forma hexagonal também pode estar relacionada a processos de empacotamento anisotrópico de micelas cilíndricas ou à formação de domínios ordenados no estado sólido, induzidos durante a secagem da amostra sobre o grid.¹³⁸

A formação de agregados observada nas diferentes regiões pode ser atribuída a duas principais possibilidades: (i) agregação intrínseca ao sistema coloidal, ainda que recém-preparado, resultado de instabilidades termodinâmicas ou cinéticas, ou (ii) agregação induzida durante o preparo da amostra, em especial durante a etapa de secagem do solvente sobre o grid, quando forças capilares e de interação com a superfície do suporte podem promover a coalescência ou reorganização das partículas. Nesse contexto, três estratégias são propostas como perspectiva para análises futuras com o objetivo de esclarecer a origem dessas agregações: (i) filtração da amostra recém-preparada com filtro de seringa (por exemplo, PVDF ou PTFE de poro 0,22 μm), o que permitiria a separação de possíveis agregados já presentes na

dispersão; (ii) diminuição da concentração da amostra coloidal, favorecendo a observação de partículas isoladas e minimizando a probabilidade de agregação induzida por excesso de material sobre o grid e (iii) análise por microscopia eletrônica de transmissão em criogenia (Cryo-TEM).

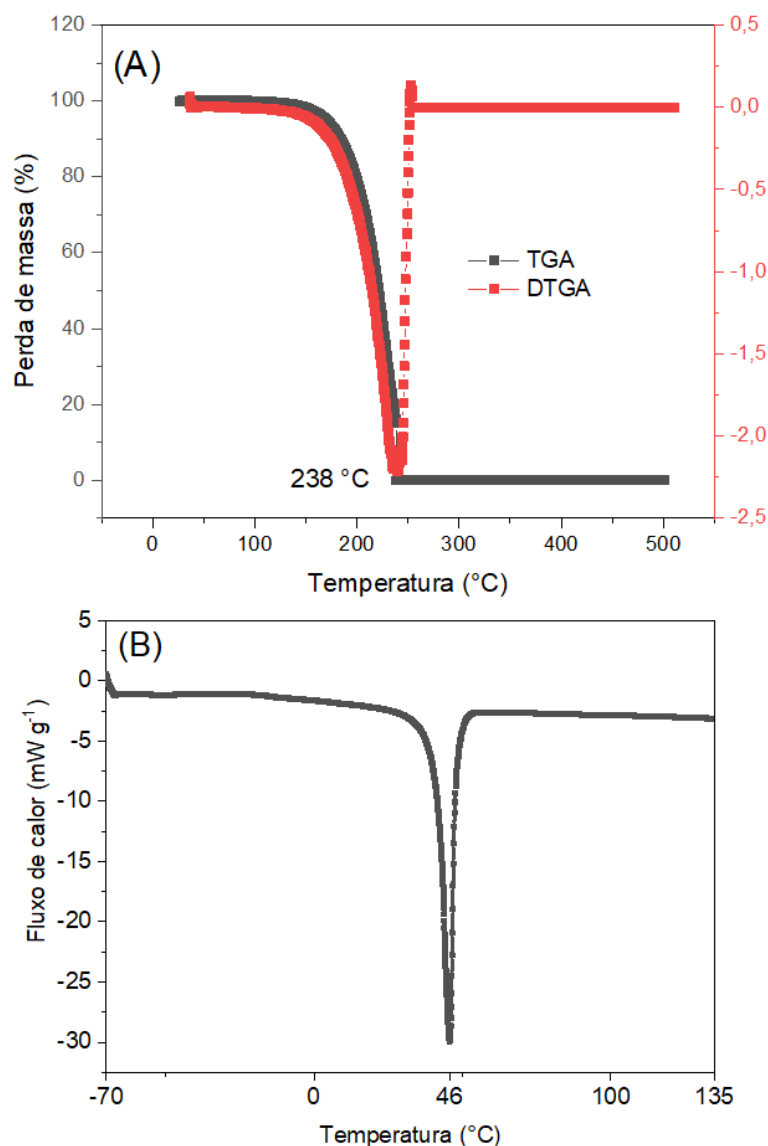
A técnica de Cryo-TEM consiste na vitrificação ultrarrápida da amostra aquosa por imersão em etano líquido mantido próximo ao ponto de fusão do nitrogênio líquido.¹³⁸ Essa vitrificação permite preservar a dispersão coloidal em seu estado nativo, sem a necessidade de secagem, o que minimiza artefatos relacionados à agregação induzida por evaporação. Além disso, o Cryo-TEM permite a visualização direta das estruturas em ambiente aquoso, com resolução nanométrica, o que é particularmente vantajoso para sistemas de surfactantes, micelas, vesículas ou fases líquidas ordenadas. Essa técnica também evita deformações ou colapsos de estruturas ocas, comuns em amostras secas. Portanto, a aplicação de Cryo-TEM representa uma abordagem altamente recomendada para a caracterização morfológica fidedigna de sistemas coloidais baseados em surfactantes, como o C8Se.

Apesar da possível instabilidade da dispersão coloidal, a análise foi efetiva na confirmação da existência de partículas em escala nanométrica para o C8Se.

5.6 ANÁLISE TÉRMICA

O ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) foi ainda caracterizado quanto às suas propriedades e estabilidade térmica. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 32A e 32B.

Figura 32. Perfis térmicos do composto C8Se. (A) Curvas de TGA e DTGA, evidenciando os eventos de perda de massa e suas respectivas taxas de decomposição. (B) Curva de DSC, indicando a transição de fusão e o comportamento térmico do composto.



A curva de TGA mostra que o C8Se permanece termicamente estável até aproximadamente 200 °C, a partir de quando se inicia uma perda de massa acentuada, que se encerra por volta de 260 °C. O evento principal de decomposição ocorre em 238 °C, conforme indicado pelo pico da curva de DTGA, que marca a temperatura de máxima taxa de degradação. Essa degradação em uma única etapa bem definida indica que o composto se decompõe de forma relativamente limpa, sem múltiplos processos térmicos sobrepostos. Considerando a estrutura do C8Se, que apresenta uma longa cadeia alquílica (C8) e uma extremidade contendo grupo carboxílico, além da presença do selênio na cadeia lateral, é provável que a decomposição envolva inicialmente a quebra de ligações mais frágeis, como aquelas envolvendo a cadeia apolar e o grupamento funcional seleno-carboxílico, seguida da degradação oxidativa das cadeias hidrocarbonadas. A presença do átomo de selênio, que é mais instável e suscetível à

oxidação comparado ao oxigênio ou enxofre, pode também contribuir para uma decomposição mais abrupta em torno dessa faixa de temperatura. De qualquer maneira, o resultado obtido deixa claro que o composto se mantém termicamente estável até 200 °C. Essa estabilidade é bastante importante em suas futuras aplicações, possibilitando a sua aplicação em diferentes processos.

A análise de DSC do ácido 3-(octilseleno)propanoico (C8Se) (Figura 32B) revelou um evento endotérmico intenso e bem definido, característico de uma transição de fusão (transição primária). A transição tem início em 42,1 °C e atinge seu pico máximo a 45,7 °C, com uma entalpia de fusão (ΔH) de 161,4 J·g⁻¹. Essa combinação de faixa de transição estreita e alto valor de ΔH indica que o composto apresenta alto grau de pureza e possivelmente um empacotamento cristalino bem ordenado no estado sólido. A magnitude da entalpia de fusão sugere a presença de interações intermoleculares relevantes, principalmente entre as cadeias alquílicas (C8) que favorecem empacotamento eficiente, além de possíveis efeitos da polarizabilidade do átomo de selênio, que pode contribuir para a coesão no estado sólido. A presença de um único evento térmico bem definido e simétrico também indica ausência de transições intermediárias, como cristalização parcial ou rearranjos estruturais, apontando para uma fusão direta e completa.

A temperatura de fusão relativamente baixa (próxima de 46 °C) posiciona o C8Se como um material potencialmente interessante para aplicações que requerem fusão próxima à temperatura fisiológica, como sistemas de liberação controlada ou carreadores termo-sensíveis. Essa característica também é coerente com o comportamento típico de compostos anfifílicos, que tendem a formar estruturas supramoleculares ordenadas no estado sólido e desorganizadas rapidamente ao atingir a temperatura de fusão.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram sintetizadas e caracterizadas duas moléculas anfifílicas redox-responsivas contendo selênio: os ácidos 3-(octilselênio)propanóico (C8Se) e 3-(dodecilselênio)propanóico (C12Se), sendo o primeiro um composto inédito. A caracterização estrutural por RMN de ^1H , ^{13}C , ^{77}Se e espectrometria de massas confirmou a identidade dos surfactantes. Além disso, o C8Se foi caracterizado por análises térmicas (TGA e DSC), mostrando-se estável até 200 graus, e temperatura de fusão de 45,7 °C.

Os estudos de auto-organização em meio aquoso revelaram comportamentos distintos entre as duas moléculas, evidenciando a influência do comprimento da cadeia hidrofóbica na formação de agregados supramoleculares. As análises com pireno indicaram que, embora não se tenha observado formação clara de microambientes micelares, houve supressão significativa da fluorescência, atribuída à presença do selênio na parte hidrofóbica. A aplicação do modelo de Stern-Volmer reforçou a existência de heterogeneidade nos sistemas para o C8Se, com implicações sobre a acessibilidade da sonda fluorescente aos surfactantes.

Técnicas complementares, como a tensão superficial, o espalhamento ressonante de luz (RLS) e o espalhamento dinâmico de luz (DLS), permitiram elucidar aspectos importantes dos mecanismos de agregação. Para o C8Se, os dados sugerem um processo contínuo de agregação, sem um ponto de CMC bem definido, com tendência à formação de grandes agregados mesmo em concentrações muito baixas. Complementando esses resultados, a análise por microscopia eletrônica de transmissão (MET) revelou uma população majoritária de partículas esféricas com diâmetro médio de 34 ± 8 nm, compatível com estruturas micelares. A presença de estruturas maiores, com morfologia irregular, foi atribuída à possível fusão de agregados menores, possivelmente ocasionada por instabilidades coloidais intrínsecas ou induzidas durante o preparo da amostra para MET. A discrepância entre os tamanhos observados por DLS e MET é coerente com a natureza das técnicas, sendo que o DLS considera também a camada de hidratação.

Em conjunto, os resultados obtidos demonstram que pequenas variações na estrutura molecular dos surfactantes influenciam significativamente seus comportamentos em solução, destacando a relevância do comprimento da cadeia e da presença do selênio para a auto-organização e potencial aplicação em sistemas de liberação redox-responsivos.

7 PERSPECTIVAS

Diante do potencial os surfactantes anfífilicos redox-responsivos contendo selênio sintetizados nesse trabalho, para aplicação em plataformas em sistemas de liberação controlada de fármacos antitumorais, caracterizações adicionais e estudos futuros podem ser realizados:

1. Avaliação das propriedades eletroquímicas dos materiais sintetizados, como a determinação dos potenciais redox.
2. Incorporação de princípios ativos e/ou moléculas fotoativas aos sistemas nanoestruturados obtidos, visando o desenvolvimento de sistemas de liberação redox-responsivo. Por exemplo: i) avaliar a incorporação de diferentes fotossensibilizadores (FS neutros, aniônicos e catiônicos); ii) estudar a interação de FS com os surfactantes por espectroscopia de fluorescência e determinação da constante de ligação; investigar a cinética de incorporação dos FS ao sistema de liberação nanoestruturado; e avaliar a localização dos FS nos sistemas nanoestruturados por experimentos de supressão de fluorescência e modelos de acessibilidade do supressor aos FS.
3. Desenvolvimento de sistemas de liberação redox-responsivos baseados nos surfactantes sintetizados, especialmente pela exploração da química de oxidação do selênio em ambientes tumorais. Estudos *in vitro* e *in vivo* poderão ser realizados para avaliar a biocompatibilidade, internalização celular, e eficácia antitumoral dos sistemas à base de C8Se e C12Se, com foco em linhagens celulares que apresentam condições de hipóxia ou resistência redox.
4. Exploração do ácido selenínico como gatilho de liberação, mediante presença de FS ou sistemas capazes de gerar espécies reativas de oxigênio, possibilitando a formação de ácido selenínico sob condições oxidativas controladas, promovendo a liberação de fármacos encapsulados; e investigação mecanística da liberação de ácido selenínico e selenônico em meios oxidantes, por espectrometria de massas e RMN.

8 REFERÊNCIAS

- 1 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: [s. n.], 2022.
- 2 DAMODHARAN, Jaishree. Nanomaterials in medicine – An overview. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 37, p. 383–385, 2021. ISSN 2214-7853. DOI 10.1016/j.matpr.2020.05.380.3 SUNG, Hyuna et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. ISSN 1542-4863. DOI 10.3322/caac.21660.
- 4 FERLAY, Jacques et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 149, n. 4, p. 778–789, 2021. ISSN 1097-0215. DOI 10.1002/ijc.33588.
- 5 OSTROM, Quinn T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016. **Neuro-Oncology**, [s. l.], v. 21, n. Supplement_5, p. v1–v100, 1 nov. 2019. ISSN 1522-8517. DOI 10.1093/neuonc/noz150.
- 6 GARRAWAY, Levi A.; LANDER, Eric S. Lessons from the Cancer Genome. **Cell**, [s. l.], v. 153, n. 1, p. 17–37, 28 mar. 2013. ISSN 0092-8674. DOI 10.1016/j.cell.2013.03.002.
- 7 DAGOGO-JACK, Ibiayi; SHAW, Alice T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 81–94, fev. 2018. ISSN 1759-4782. DOI 10.1038/nrclinonc.2017.166.
- 8 ARAFEH, Rand; SHIBUE, Tsukasa; DEMPSTER, Joshua M.; HAHN, William C.; VAZQUEZ, Francisca. The present and future of the Cancer Dependency Map. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 59–73, jan. 2025. ISSN 1474-1768. DOI 10.1038/s41568-024-00763-x.
- 9 MONTERO, Alberto J.; JASSEM, Jacek. Cellular Redox Pathways as a Therapeutic Target in the Treatment of Cancer. **Drugs**, [s. l.], v. 71, n. 11, p. 1385–1396, jul. 2011. ISSN 0012-6667. DOI 10.2165/11592590-000000000-00000.
- 10 NAKAMURA, Hajime; TAKADA, Kohichi. Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions. **Cancer Science**, [s. l.], v. 112, n. 10, p. 3945–3952, out. 2021. ISSN 1347-9032, 1349-7006. DOI 10.1111/cas.15068.
- 11 RATAAN, Aseel O.; GEARY, Sean M.; ZAKHARIA, Yousef; RUSTUM, Youcef M.; SALEM, Aliasger K. Potential Role of Selenium in the Treatment of Cancer and Viral Infections. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 2215, 17 fev. 2022. ISSN 1422-0067. DOI 10.3390/ijms23042215.
- 12 ANJUM, Sumaira et al. Selenium Nanoparticles in Cancer Therapy: Unveiling Cytotoxic Mechanisms and Therapeutic Potential. **Cancer Reports**, [s. l.], v. 8, n. 6, jun. 2025. ISSN 2573-8348, 2573-8348. DOI 10.1002/cnr2.70210.

- 13 WANG, Haiyang et al. Selenium-Containing Type-I Organic Photosensitizers with Dual Reactive Oxygen Species of Superoxide and Hydroxyl Radicals as Switch-Hitter for Photodynamic Therapy. **Advanced Science**, [s. l.], v. 10, n. 24, p. 2301902, 2023. ISSN 2198-3844. DOI 10.1002/advs.202301902.
- 14 WEI, Ziyu et al. Selenopeptide Nanomedicine Activates Natural Killer Cells for Enhanced Tumor Chemoimmunotherapy. **Advanced Materials**, [s. l.], v. 34, n. 17, p. 2108167, 2022. ISSN 1521-4095. DOI 10.1002/adma.202108167.
- 15 LUO, Zhen et al. Selenopeptide nanomedicine ameliorates atherosclerosis by reducing monocyte adhesions and inflammations. **Nano Research**, [s. l.], v. 17, n. 7, p. 6332–6341, 1 jul. 2024. ISSN 1998-0000. DOI 10.1007/s12274-024-6547-z.
- 16 SUN, Chenxing; GAO, Shiqian; TAN, Yizheng; ZHANG, Zhiheng; XU, Huaping. Side-Chain Selenium-Grafted Polymers Combining Antiangiogenesis Treatment with Photodynamic Therapy and Chemotherapy. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 3201–3208, 12 jul. 2021. DOI 10.1021/acsbiomaterials.1c00254.
- 17 ESTABROOK, Daniel A.; DAY, Rachael A.; SLETTEN, Ellen M. Redox-Responsive Gene Delivery from Perfluorocarbon Nanoemulsions through Cleavable Poly(2-oxazoline) Surfactants. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 60, n. 32, p. 17362–17367, 2 ago. 2021. ISSN 1433-7851, 1521-3773. DOI 10.1002/anie.202102413.
- 18 GALLUP, Donald G.; TALLEDO, O. Eduardo. Benign and Malignant Tumors. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 662, set. 1987. ISSN 0009-9201.
- 19 SIEGEL, Rebecca L.; KRATZER, Tyler B.; GIAQUINTO, Angela N.; SUNG, Hyuna; JEMAL, Ahmedin. Cancer statistics, 2025. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 10–45, jan. 2025. ISSN 0007-9235, 1542-4863. DOI 10.3322/caac.21871.
- 20 HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, [s. l.], v. 144, n. 5, p. 646–674, 4 mar. 2011. ISSN 0092-8674, 1097-4172. DOI 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- 21 MCGRANAHAN, Nicholas; SWANTON, Charles. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future. **Cell**, [s. l.], v. 168, n. 4, p. 613–628, 9 fev. 2017. ISSN 0092-8674. DOI 10.1016/j.cell.2017.01.018.
- 22 GREAVES, Mel; MALEY, Carlo C. Clonal evolution in cancer. **Nature**, [s. l.], v. 481, n. 7381, p. 306–313, jan. 2012. ISSN 1476-4687. DOI 10.1038/nature10762.
- 23 VOGELSTEIN, Bert; PAPADOPOULOS, Nickolas; VELCULESCU, Victor E.; ZHOU, Shibin; DIAZ, Luis A.; KINZLER, Kenneth W. Cancer Genome Landscapes. **Science**, [s. l.], v. 339, n. 6127, p. 1546–1558, 29 mar. 2013. DOI 10.1126/science.1235122.
- 24 SERRANO, Manuel; LIN, Athena W.; MCCURRACH, Mila E.; BEACH, David; LOWE, Scott W. Oncogenic *ras* Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16INK4a. **Cell**, [s. l.], v. 88, n. 5, p. 593–602, 7 mar. 1997. ISSN 0092-8674. DOI 10.1016/S0092-8674(00)81902-9.
- 25 PREVARSKAYA, Natalia; SKRYMA, Roman; SHUBA, Yaroslav. Ion channels and the hallmarks of cancer. **Trends in Molecular Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 107–121, 1 mar.

2010. ISSN 1471-4914. DOI 10.1016/j.molmed.2010.01.005.

26 VANDER HEIDEN, Matthew G.; CANTLEY, Lewis C.; THOMPSON, Craig B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. **Science**, [s. l.], v. 324, n. 5930, p. 1029–1033, 22 maio 2009. DOI 10.1126/science.1160809.

27 ZONG, Wei-Xing; RABINOWITZ, Joshua D.; WHITE, Eileen. Mitochondria and Cancer. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 667–676, 3 mar. 2016. ISSN 1097-2765. DOI 10.1016/j.molcel.2016.02.011.

28 ELMORE, Susan. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 495–516, 1 jun. 2007. ISSN 0192-6233. DOI 10.1080/01926230701320337.

29 GRIVENNIKOV, Sergei I.; GRETEN, Florian R.; KARIN, Michael. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, [s. l.], v. 140, n. 6, p. 883–899, 19 mar. 2010. ISSN 0092-8674. DOI 10.1016/j.cell.2010.01.025.

30 WEINBERG, Robert A. **The Biology of Cancer**. 2. ed. New York: W.W. Norton & Company, 14 maio 2013. 960 p. ISBN 978-0-429-25879-4. DOI 10.1201/9780429258794.

31 JING, Xinming et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 157, 11 nov. 2019. ISSN 1476-4598. DOI 10.1186/s12943-019-1089-9.

32 BAE, Taegeun; HALLIS, Steffanus Pranoto; KWAK, Mi-Kyoung. Hypoxia, oxidative stress, and the interplay of HIFs and NRF2 signaling in cancer. **Experimental & Molecular Medicine**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 501–514, mar. 2024. ISSN 2092-6413. DOI 10.1038/s12276-024-01180-8.

33 CHEN, Gengshi et al. Immunomodulatory roles of selenium nanoparticles: Novel arts for potential immunotherapy strategy development. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 13, 26 jul. 2022. ISSN 1664-3224. DOI 10.3389/fimmu.2022.956181..

34 MADDIKA, Subbareddy et al. Cell survival, cell death and cell cycle pathways are interconnected: Implications for cancer therapy. **Drug Resistance Updates**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 13–29, 1 fev. 2007. ISSN 1368-7646. DOI 10.1016/j.drug.2007.01.003.

35 ZHOU, Zhaohui S.; JIANG, Ning; HILVERT, Donald. An Antibody-Catalyzed Selenoxide Elimination. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 119, n. 15, p. 3623–3624, 1 abr. 1997. ISSN 0002-7863. DOI 10.1021/ja963748j.

36 UCUZIAN, Areck A.; GREISLER, Howard P. In Vitro Models of Angiogenesis. **World Journal of Surgery**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 690, 2007. ISSN 1432-2323. DOI 10.1007/s00268-006-0763-4.

37 ZHANG, Run; YAO, Yutong; GAO, Hanwei; HU, Xin. Mechanisms of angiogenesis in tumour. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 14, 25 mar. 2024. ISSN 2234-943X. DOI 10.3389/fonc.2024.1359069.

38 KIM, Hei Jung; JI, Young Rae; LEE, You Mie. Crosstalk between angiogenesis and immune regulation in the tumor microenvironment. **Archives of Pharmacal Research**, [s. l.],

v. 45, n. 6, p. 401–416, 1 jun. 2022. ISSN 1976-3786. DOI 10.1007/s12272-022-01389-z.

39 MONACI, Sara; COPPOLA, Federica; FILIPPI, Irene; FALSINI, Alessandro; CARRARO, Fabio; NALDINI, Antonella. Targeting hypoxia signaling pathways in angiogenesis. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 15, 25 abr. 2024. ISSN 1664-042X. DOI 10.3389/fphys.2024.1408750.

40 VIMALRAJ, Selvaraj. A concise review of VEGF, PDGF, FGF, Notch, angiopoietin, and HGF signalling in tumor angiogenesis with a focus on alternative approaches and future directions. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 221, p. 1428–1438, 30 nov. 2022. ISSN 0141-8130. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2022.09.129.

41 POTENTE, Michael; GERHARDT, Holger; CARMELIET, Peter. Basic and Therapeutic Aspects of Angiogenesis. **Cell**, [s. l.], v. 146, n. 6, p. 873–887, 16 set. 2011. ISSN 0092-8674. DOI 10.1016/j.cell.2011.08.039.

42 EGEBLAD, Mikala; WERB, Zena. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 161–174, mar. 2002. ISSN 1474-1768. DOI 10.1038/nrc745.

43 SHAW, Pallab; DWIVEDI, Shailendra Kumar Dhar; BHATTACHARYA, Resham; MUKHERJEE, Priyabrata; RAO, Geeta. VEGF signaling: Role in angiogenesis and beyond. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1879, n. 2, p. 189079, 1 mar. 2024. ISSN 0304-419X. DOI 10.1016/j.bbcan.2024.189079.

44 PROVANCE, Olivia K. et al. Vascular mimicry as a facilitator of melanoma brain metastasis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [s. l.], v. 81, n. 1, p. 188, 18 abr. 2024. ISSN 1420-9071. DOI 10.1007/s00018-024-05217-z.

45 RIBATTI, Domenico; ANNESE, Tiziana; TAMMA, Roberto. Vascular co-option in resistance to anti-angiogenic therapy. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 13, 11 dez. 2023. ISSN 2234-943X. DOI 10.3389/fonc.2023.1323350.

46 DING, Yanping; SONG, Nan; LUO, Yongzhang. Role of Bone Marrow-Derived Cells in Angiogenesis: Focus on Macrophages and Pericytes. **Cancer Microenvironment**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 225–236, 1 dez. 2012. ISSN 1875-2284. DOI 10.1007/s12307-012-0106-y.

47 SHAKED, Yuval; VOEST, Emile E. Bone marrow derived cells in tumor angiogenesis and growth: are they the good, the bad or the evil? **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1796, n. 1, p. 1–4, 1 ago. 2009. ISSN 0304-419X. DOI 10.1016/j.bbcan.2009.07.002.

48 PING, Yi-Fang; BIAN, Xiu-Wu. Concise Review: Contribution of Cancer Stem Cells to Neovascularization. **STEM CELLS**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 888–894, 2011. ISSN 1549-4918. DOI 10.1002/stem.650.

49 LV, Shuai; LIU, Yufei; XIE, Changheng; XUE, Chenyang; DU, Shi; YAO, Jing. Emerging role of interactions between tumor angiogenesis and cancer stem cells. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 360, p. 468–481, 1 ago. 2023. ISSN 0168-3659. DOI 10.1016/j.jconrel.2023.06.036.

50 MAEDA, Hiroshi; NAKAMURA, Hideaki; FANG, Jun. The EPR effect for

macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 71–79, jan. 2013. ISSN 0169-409X. DOI 10.1016/j.addr.2012.10.002.

51 BELYAEV, Iaroslav B.; GRIAZNOVA, Olga Yu.; YAREMENKO, Alexey V.; DEYEV, Sergey M.; ZELEPUKIN, Ivan V. Beyond the EPR effect: Intravital microscopy analysis of nanoparticle drug delivery to tumors. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 219, p. 115550, abr. 2025. ISSN 0169-409X. DOI 10.1016/j.addr.2025.115550.

52 KWON, Glen S. Polymeric Micelles for Delivery of Poorly Water-Soluble Compounds. **Critical Reviews & Trade in Therapeutic Drug Carrier Systems**, [s. l.], v. 20, n. 5, 2003. ISSN 0743-4863, 2162-660X. DOI 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v20.i5.20.

53 DANHIER, Fabienne; ANSORENA, Eduardo; SILVA, Joana M.; COCO, Régis; LE BRETON, Aude; PRÉAT, Véronique. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 161, n. 2, p. 505–522, 20 jul. 2012. ISSN 0168-3659. DOI 10.1016/j.jconrel.2012.01.043.

54 WANG, Andrew Z.; LANGER, Robert; FAROKHZAD, Omid C. Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs. **Annual Review of Medicine**, [s. l.], v. 63, n. Volume 63, 2012, p. 185–198, 18 fev. 2012. ISSN 0066-4219, 1545-326X. DOI 10.1146/annurev-med-040210-162544.

55 YHEE, Ji Young; SON, Sejin; SON, Sohee; JOO, Min Kyung; KWON, Ick Chan. The EPR Effect in Cancer Therapy. *Em*: BAE, You Han; MRSNY, Randall J.; PARK, Kinam. **Cancer Targeted Drug Delivery: An Elusive Dream**. New York, NY: Springer, 2013. p. 621–632. ISBN 978-1-4614-7876-8. DOI 10.1007/978-1-4614-7876-8_23. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7876-8_23. Acesso em: 14 jul. 2025.

56 WU, Jun. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application. **Journal of Personalized Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 771, 6 ago. 2021. ISSN 2075-4426. DOI 10.3390/jpm11080771.

57 IKEDA-IMAFUKU, Mayumi; WANG, Lily Li-Wen; RODRIGUES, Danika; SHAHA, Suyog; ZHAO, Zongmin; MITRAGOTRI, Samir. Strategies to improve the EPR effect: A mechanistic perspective and clinical translation. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 345, p. 512–536, 1 maio 2022. ISSN 0168-3659. DOI 10.1016/j.jconrel.2022.03.043.

58 VAGENA, Ioanna-Aglaia; MALAPANI, Christina; GATOU, Maria-Anna; LAGOPATI, Nefeli; PAVLATOU, Evangelia A. Enhancement of EPR Effect for Passive Tumor Targeting: Current Status and Future Perspectives. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 3189, jan. 2025. ISSN 2076-3417. DOI 10.3390/app15063189.

59 KIM, Jinseong; CHO, Hanhee; LIM, Dong-Kwon; JOO, Min Kyung; KIM, Kwangmeyung. Perspectives for Improving the Tumor Targeting of Nanomedicine via the EPR Effect in Clinical Tumors. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 10082, jan. 2023. ISSN 1422-0067. DOI 10.3390/ijms241210082.

60 PEER, Dan; KARP, Jeffrey M.; HONG, Seungpyo; FAROKHZAD, Omid C.; MARGALIT, Rimona; LANGER, Robert. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. **Nature Nanotechnology**, [s. l.], v. 2, n. 12, p. 751–760, dez. 2007. ISSN 1748-3395. DOI 10.1038/nnano.2007.387.

- 61 BAE, You Han; PARK, Kinam. Targeted drug delivery to tumors: Myths, reality and possibility. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 153, n. 3, p. 198–205, 10 ago. 2011. ISSN 0168-3659. DOI 10.1016/j.jconrel.2011.06.001.
- 62 SUN, Yuzhe; DAVIS, Edward. Nanoplatfroms for Targeted Stimuli-Responsive Drug Delivery: A Review of Platform Materials and Stimuli-Responsive Release and Targeting Mechanisms. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 746, mar. 2021. ISSN 2079-4991. DOI 10.3390/nano11030746.
- 63 LUONG, T. T. et al. Magnetothermal release of payload from iron oxide/silica drug delivery agents. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, [s. l.], v. 416, p. 194–199, 15 out. 2016. ISSN 0304-8853. DOI 10.1016/j.jmmm.2016.04.081.
- 64 MODY, Vicky V.; SIWALE, Rodney; SINGH, Ajay; MODY, Hardik R. Introduction to metallic nanoparticles. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 282, dez. 2010. ISSN 0976-4879. DOI 10.4103/0975-7406.72127.
- 65 BIANCO, Alberto; KOSTARELOS, Kostas; PRATO, Maurizio. Applications of carbon nanotubes in drug delivery. **Current Opinion in Chemical Biology**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 674–679, 1 dez. 2005. ISSN 1367-5931. DOI 10.1016/j.cbpa.2005.10.005.
- 66 KUMARI, Avnesh; YADAV, Sudesh Kumar; YADAV, Subhash C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 1–18, 1 jan. 2010. ISSN 0927-7765. DOI 10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
- 67 ARSENE, Melania-Liliana; RĂUT, Iuliana; CĂLIN, Mariana; JECU, Maria-Luiza; DONI, Mihaela; GURBAN, Ana-Maria. Versatility of Reverse Micelles: From Biomimetic Models to Nano (Bio)Sensor Design. **Processes**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 345, fev. 2021. ISSN 2227-9717. DOI 10.3390/pr9020345.
- 68 KATAOKA, Kazunori; HARADA, Atsushi; NAGASAKI, Yukio. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 113–131, 23 mar. 2001. ISSN 0169-409X. DOI 10.1016/S0169-409X(00)00124-1.
- 69 SERCOMBE, Lisa; VEERATI, Tejaswi; MOHEIMANI, Fatemeh; WU, Sherry Y.; SOOD, Anil K.; HUA, Susan. Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 6, 1 dez. 2015. ISSN 1663-9812. DOI 10.3389/fphar.2015.00286.
- 70 HUANG, Yiming; GUI, Shuangying. Factors affecting the structure of lyotropic liquid crystals and the correlation between structure and drug diffusion. **RSC Advances**, [s. l.], v. 8, n. 13, p. 6978–6987, 9 fev. 2018. ISSN 2046-2069. DOI 10.1039/C7RA12008G.
- 71 CUI, Xiaohong; MAO, Shizhen; LIU, Maili; YUAN, Hanzhen; DU, Youru. Mechanism of Surfactant Micelle Formation. **Langmuir**, [s. l.], v. 24, n. 19, p. 10771–10775, 7 out. 2008. ISSN 0743-7463. DOI 10.1021/la801705y.
- 72 PERUMAL, Suguna; ATCHUDAN, Raji; LEE, Wonmok. A Review of Polymeric Micelles and Their Applications. **Polymers**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 2510, jan. 2022. ISSN 2073-4360. DOI 10.3390/polym14122510.

- 73 KIM, Dong-Hwan; JAHN, Alexander; CHO, Sung-Joon; KIM, Jung Sun; KI, Min-Hyo; KIM, Dae-Duk. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery: a review. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 1–11, 1 fev. 2015. ISSN 2093-6214. DOI 10.1007/s40005-014-0165-9.
- 74 CORTÉS, Hernán et al. Non-Ionic Surfactants for Stabilization of Polymeric Nanoparticles for Biomedical Uses. **Materials**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 3197, 10 jun. 2021. ISSN 1996-1944. DOI 10.3390/ma14123197.
- 75 KUME, Gustavo; GALLOTTI, Manlio; NUNES, George. Review on Anionic/Cationic Surfactant Mixtures. **Journal of Surfactants and Detergents**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–11, 1 mar. 2008. ISSN 1558-9293. DOI 10.1007/s11743-007-1047-1.
- 76 GBADAMOSI, Afeez et al. Evaluating the Potential of Zwitterionic Surfactants for Enhanced Oil Recovery: Effect of Headgroups and Unsaturation. **Energy & Fuels**, [s. l.], v. 37, n. 7, p. 5078–5086, 6 abr. 2023. ISSN 0887-0624. DOI 10.1021/acs.energyfuels.3c00093.
- 77 MUKHERJEE, Bedachhanda; DAR, Aijaz Ahmad; BHAT, Parvaiz Ahmad; MOULIK, Satya Priya; DAS, Akhil Ranjan. Micellization and adsorption behaviour of bile salt systems. **RSC Advances**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 1769–1781, 24 dez. 2015. ISSN 2046-2069. DOI 10.1039/C5RA20909A.
- 78 DANTAS, T. N. C.; Santanna, V. C.; Souza, T. T. C.; Lucas, C. R. S.; Dantas Neto, A. A.; Aum, P. T. P. Microemulsions and nanoemulsions applied to well stimulation and enhanced oil recovery (eor). **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 251–265, 10 jan. 2019. ISSN 1982-0593. DOI 10.5419/bjpg2018-0023.
- 79 FISICARO, E.; COMPARI, C.; DUCE, E.; BIEMMI, M.; PERONI, M.; BRAIBANTI, A. Thermodynamics of micelle formation in water, hydrophobic processes and surfactant self-assemblies. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 10, n. 26, p. 3903–3914, 26 jun. 2008. ISSN 1463-9084. DOI 10.1039/B719630J.
- 80 MYERS, Drew. **Surfactant Science and Technology**. [S. l.]: John Wiley & Sons, 28 out. 2005. 398 p. Google-Books-ID: gkRTelz2Q6UC. ISBN 978-0-471-74606-5.
- 81 VAFAKISH, Bahareh; WILSON, Lee D. A Review on Recent Progress of Glycan-Based Surfactant Micelles as Nanoreactor Systems for Chemical Synthesis Applications. **Polysaccharides**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 168–186, 7 mar. 2021. ISSN 2673-4176. DOI 10.3390/polysaccharides2010012.
- 82 LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. [S. l.]: Springer Science & Business Media, 5 dez. 2007. 961 p. ISBN 978-0-387-46312-4.
- 83 AHMED, Kumkum; AUNI, Anika; ARA, Gulshan; RAHMAN, Mm; MOLLAH, M. Yousuf Aa; SUSAN, Md. Abu Bin Hasan. Solvatochromic And Fluorescence Spectroscopic Studies On Polarity Of Ionic Liquid And Ionic Liquid-Based Binary Systems. **Journal of the Bangladesh Chemical Society**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 146–158, 23 maio 2013. ISSN 2408-8692, 1022-016X. DOI 10.3329/jbcs.v25i2.15067.
- 84 SIU, Howard; DUHAMEL, Jean. Molar Absorption Coefficient of Pyrene Aggregates in Water. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 112, n. 48, p. 15301–15312, 4 dez. 2008. ISSN 1520-6106. DOI 10.1021/jp801105q.

- 85 YAO, Chunxiang; KRAATZ, Heinz-Bernhard; STEER, Ronald P. Photophysics of pyrene-labelled compounds of biophysical interest. **Photochemical & Photobiological Sciences**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 191–199, 1 fev. 2005. ISSN 1474-9092. DOI 10.1039/b414577c.
- 86 DONG, Dao Cong; WINNIK, Mitchell A. The py scale of solvent polarities. solvent effects on the vibronic fine structure of pyrene fluorescence and empirical correlations with E_t and y values. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 17–21, jan. 1982. ISSN 0031-8655, 1751-1097. DOI 10.1111/j.1751-1097.1982.tb03805.x.
- 87 DONG, Dao Cong; WINNIK, Mitchell A. THE Py SCALE OF SOLVENT POLARITIES. SOLVENT EFFECTS ON THE VIBRONIC FINE STRUCTURE OF PYRENE FLUORESCENCE and EMPIRICAL CORRELATIONS WITH E_T and Y VALUES. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 17–21, jan. 1982. ISSN 0031-8655, 1751-1097. DOI 10.1111/j.1751-1097.1982.tb03805.x.
- 88 AGUIAR, J.; CARPENA, P.; MOLINA-BOLÍVAR, J. A.; CARNERO RUIZ, C. On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 258, n. 1, p. 116–122, fev. 2003. ISSN 0021-9797. DOI 10.1016/s0021-9797(02)00082-6.
- 89 AGUIAR, J.; CARPENA, P.; MOLINA-BOLÍVAR, J. A.; CARNERO RUIZ, C. On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 258, n. 1, p. 116–122, fev. 2003. ISSN 0021-9797. DOI 10.1016/s0021-9797(02)00082-6.
- 90 PASTERNAK, Robert F.; COLLINGS, Peter J. Resonance Light Scattering: A New Technique for Studying Chromophore Aggregation. **Science**, [s. l.], v. 269, n. 5226, p. 935–939, 18 ago. 1995. ISSN 0036-8075, 1095-9203. DOI 10.1126/science.7638615.
- 91 LI, Nianbing; LIU, Shaopu; LUO, Hongqun. A NEW METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE FIRST AND SECOND CMC IN CTAB SOLUTION BY RESONANCE RAYLEIGH SCATTERING TECHNOLOGY. **Analytical Letters**, [s. l.], v. 35, n. 7, p. 1229–1238, 22 jul. 2002. ISSN 0003-2719, 1532-236X. DOI 10.1081/al-120005975.
- 92 DONG, Chaoqing; REN, Jicun. Resonance Light-Scattering Correlation Spectroscopy and Its Application in Analytical Chemistry for Life Science. **Accounts of Chemical Research**, [s. l.], v. 56, n. 19, p. 2582–2594, 3 out. 2023. ISSN 0001-4842, 1520-4898. DOI 10.1021/acs.accounts.3c00306.
- 93 SHI, Yan; LUO, Hong Qun; LI, Nian Bing. Determination of the critical premicelle concentration, first critical micelle concentration and second critical micelle concentration of surfactants by resonance Rayleigh scattering method without any probe. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 78, n. 5, p. 1403–1407, maio 2011. ISSN 1386-1425. DOI 10.1016/j.saa.2011.01.018.
- 94 GOLDBURG, W. I. Dynamic light scattering. **American Journal of Physics**, [s. l.], v. 67, n. 12, p. 1152–1160, 1 dez. 1999. ISSN 0002-9505, 1943-2909. DOI 10.1119/1.19101.
- 95 DEGRAND, Laure; GARCIA, Rebeca; CROUVISIER URION, Kevin; GUIGA, Wafa. Dynamic light scattering for the determination of linoleic acid critical micelle concentration. Effect of pH, ionic strength, and ethanol. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 388, p. 122670, out. 2023. ISSN 0167-7322. DOI 10.1016/j.molliq.2023.122670.

- 96 DANAELI, M. et al. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 57, jun. 2018. ISSN 1999-4923. DOI 10.3390/pharmaceutics10020057.
- 97 BHATTACHARJEE, Sourav et al. Cytotoxicity of surface-functionalized silicon and germanium nanoparticles: the dominant role of surface charges. **Nanoscale**, [s. l.], v. 5, n. 11, p. 4870–4883, 16 maio 2013. ISSN 2040-3372. DOI 10.1039/C3NR34266B.
- 98 ALBANESE, Alexandre; TANG, Peter S.; CHAN, Warren C. W. The Effect of Nanoparticle Size, Shape, and Surface Chemistry on Biological Systems. **Annual Review of Biomedical Engineering**, [s. l.], v. 14, n. Volume 14, 2012, p. 1–16, 15 ago. 2012. ISSN 1523-9829, 1545-4274. DOI 10.1146/annurev-bioeng-071811-150124.
- 99 PETROS, Robby A.; DESIMONE, Joseph M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 615–627, ago. 2010. ISSN 1474-1784. DOI 10.1038/nrd2591.
- 100 SANTOS, Tiago DOS; VARELA, Juan; LYNCH, Iseult; SALVATI, Anna; DAWSON, Kenneth A. Quantitative Assessment of the Comparative Nanoparticle-Uptake Efficiency of a Range of Cell Lines. **Small**, [s. l.], v. 7, n. 23, p. 3341–3349, 2011. ISSN 1613-6829. DOI 10.1002/sml.201101076.
- 101 REICH, Hans J.; HONDAL, Robert J. Why Nature Chose Selenium. **ACS Chemical Biology**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 821–841, 15 abr. 2016. ISSN 1554-8929. DOI 10.1021/acscchembio.6b00031.
- 102 ARNÉR, Elias S. J. Selenoproteins—What unique properties can arise with selenocysteine in place of cysteine? **Experimental Cell Research**, [s. l.], v. 316, n. 8, p. 1296–1303, 1 maio 2010. ISSN 0014-4827. DOI 10.1016/j.yexcr.2010.02.032.
- 103 SHAHIDIN et al. Selenium and Selenoproteins: Mechanisms, Health Functions, and Emerging Applications. **Molecules**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 437, jan. 2025. ISSN 1420-3049. DOI 10.3390/molecules30030437.
- 104 GIRLING, C. A. Selenium in agriculture and the environment. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 37–65, 1 abr. 1984. ISSN 0167-8809. DOI 10.1016/0167-8809(84)90047-1.
- 105 AKASHI, Hiroshi; GOJOBORI, Takashi. Metabolic efficiency and amino acid composition in the proteomes of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 3695–3700, 19 mar. 2002. DOI 10.1073/pnas.062526999.
- 106 UNGATI, Harinarayana; GOVINDARAJ, Vijayakumar; NARAYANAN, Megha; MUGESH, Govindasamy. Probing the Formation of a Seleninic Acid in Living Cells by the Fluorescence Switching of a Glutathione Peroxidase Mimetic. **Angewandte Chemie**, [s. l.], v. 131, n. 24, p. 8240–8244, 2019. ISSN 1521-3757. DOI 10.1002/ange.201903958.
- 107 IP, Clement; THOMPSON, Henry J.; ZHU, Zongjian; GANTHER, Howard E. In Vitro and in Vivo Studies of Methylseleninic Acid: Evidence That a Monomethylated Selenium Metabolite Is Critical for Cancer Chemoprevention1. **Cancer Research**, [s. l.], v. 60, n. 11, p. 2882–2886, 1 jun. 2000. ISSN 0008-5472.

- 108 KNOCK, Frances E. Protein-Sulfhydryl Groups in Cancer and Gene Control. **JAMA**, [s. l.], v. 197, n. 2, p. 151, 11 jul. 1966. ISSN 0098-7484. DOI 10.1001/jama.1966.03110020139050.
- 109 CLARK, Larry C. et al. Effects of Selenium Supplementation for Cancer Prevention in Patients With Carcinoma of the Skin: A Randomized Controlled Trial. **JAMA**, [s. l.], v. 276, n. 24, p. 1957–1963, 25 dez. 1996. ISSN 0098-7484. DOI 10.1001/jama.1996.03540240035027.
- 110 ACCIOLY, Maria T. et al. Lipid Bodies Are Reservoirs of Cyclooxygenase-2 and Sites of Prostaglandin-E2 Synthesis in Colon Cancer Cells. **Cancer Research**, [s. l.], v. 68, n. 6, p. 1732–1740, 13 mar. 2008. ISSN 0008-5472. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-07-1999.
- 111 YUE, Shuhua et al. Cholesteryl Ester Accumulation Induced by PTEN Loss and PI3K/AKT Activation Underlies Human Prostate Cancer Aggressiveness. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 393–406, 4 mar. 2014. ISSN 1550-4131. DOI 10.1016/j.cmet.2014.01.019.
- 112 SCHWARZ, Dianne S.; BLOWER, Michael D. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 79–94, 1 jan. 2016. ISSN 1420-9071. DOI 10.1007/s00018-015-2052-6.
- 113 GOLTYAEV, M. V.; VARLAMOVA, E. G.; NOVOSELOV, S. V.; FESENKO, E. E. Activation of Signal Pathways of Apoptosis under Conditions of Prolonged ER-Stress Caused by Exposure of Mouse Testicular Teratoma Cells to Selenium-Containing Compounds. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 490, n. 1, p. 9–11, 1 jan. 2020. ISSN 1608-3091. DOI 10.1134/S160767292001007X.
- 114 GOLTYAEV, M. V.; MAL'TSEVA, V. N.; VARLAMOVA, E. G. Expression of ER-resident selenoproteins and activation of cancer cells apoptosis mechanisms under ER-stress conditions caused by methylseleninic acid. **Gene**, [s. l.], v. 755, p. 144884, 10 set. 2020. ISSN 0378-1119. DOI 10.1016/j.gene.2020.144884.
- 115 SHIGEMI, Zenpei et al. Methylseleninic acid and sodium selenite induce severe ER stress and subsequent apoptosis through UPR activation in PEL cells. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 266, p. 28–37, 25 mar. 2017. ISSN 0009-2797. DOI 10.1016/j.cbi.2017.01.027.
- 116 ZU, K.; BIHANI, T.; LIN, A.; PARK, Y. M.; MORI, K.; IP, C. Enhanced selenium effect on growth arrest by BiP/GRP78 knockdown in p53-null human prostate cancer cells. **Oncogene**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 546–554, jan. 2006. ISSN 1476-5594. DOI 10.1038/sj.onc.1209071.
- 117 VARLAMOVA, Elena Gennadyevna. Participation of selenoproteins localized in the ER in the processes occurring in this organelle and in the regulation of carcinogenesis-associated processes. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [s. l.], v. 48, p. 172–180, 1 jul. 2018. ISSN 0946-672X. DOI 10.1016/j.jtemb.2018.04.005.
- 118 VARLAMOVA, Elena G.; TUROVSKY, Egor A. THE MAIN CYTOTOXIC EFFECTS OF METHYLSELENINIC ACID ON VARIOUS CANCER CELLS. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 6614, jan. 2021. ISSN 1422-0067. DOI 10.3390/ijms22126614.

- 119 CAI, Zhihui et al. Methylseleninic Acid Provided at Nutritional Selenium Levels Inhibits Angiogenesis by Down-regulating Integrin $\beta 3$ Signaling. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 9445, 25 ago. 2017. ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/s41598-017-09568-5.
- 120 CHINTALA, Sreenivasulu et al. Se-methylselenocysteine sensitizes hypoxic tumor cells to irinotecan by targeting hypoxia-inducible factor 1 α . **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 899–911, 1 out. 2010. ISSN 1432-0843. DOI 10.1007/s00280-009-1238-8.
- 121 SINHA, Indu et al. Methylseleninic acid downregulates hypoxia-inducible factor-1 α in invasive prostate cancer. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 130, n. 6, p. 1430–1439, 2012. ISSN 1097-0215. DOI 10.1002/ijc.26141.
- 122 FINLEY, Lydia W. S. et al. SIRT3 Opposes Reprogramming of Cancer Cell Metabolism through HIF1 α Destabilization. **Cancer Cell**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 416–428, 8 mar. 2011. ISSN 1535-6108. DOI 10.1016/j.ccr.2011.02.014.
- 123 CHINTALA, Sreenivasulu et al. Prolyl hydroxylase 2 dependent and Von-Hippel-Lindau independent degradation of Hypoxia-inducible factor 1 and 2 alpha by selenium in clear cell renal cell carcinoma leads to tumor growth inhibition. **BMC Cancer**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 293, 17 jul. 2012. ISSN 1471-2407. DOI 10.1186/1471-2407-12-293.
- 124 XIAO, Xiang et al. Selenium nanoparticles: Properties, preparation methods, and therapeutic applications. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 378, p. 110483, 1 jun. 2023. ISSN 0009-2797. DOI 10.1016/j.cbi.2023.110483.
- 125 WADHWANI, Sweetly A.; SHEDBALKAR, Utkarsha U.; SINGH, Richa; CHOPADE, Balu A. Biogenic selenium nanoparticles: current status and future prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 100, n. 6, p. 2555–2566, 1 mar. 2016. ISSN 1432-0614. DOI 10.1007/s00253-016-7300-7.
- 126 GE, Chenglong; ZHU, Junliang; WU, Guangqi; YE, Huan; LU, Hua; YIN, Lichen. ROS-Responsive Selenopolypeptide Micelles: Preparation, Characterization, and Controlled Drug Release. **Biomacromolecules**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 2647–2654, 13 jun. 2022. ISSN 1525-7797. DOI 10.1021/acs.biomac.2c00399.
- 127 AHMED, Wajiha; LI, Shifen; LIANG, Min; KANG, Yongyuan; LIU, Xiaoqing; GAO, Changyou. Multifunctional Drug- and AuNRs-Loaded ROS-Responsive Selenium-Containing Polyurethane Nanofibers for Smart Wound Healing. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 3946–3957, 10 jun. 2024. DOI 10.1021/acsbiomaterials.4c00363.
- 128 BI, Jiacheng; TIAN, Zhigang. NK Cell Exhaustion. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 8, 28 jun. 2017. ISSN 1664-3224. DOI 10.3389/fimmu.2017.00760.
- 129 PAN, Shuojiong; LI, Tianyu; TAN, Yizheng; XU, Huaping. Selenium-containing nanoparticles synergistically enhance Pemetrexed&NK cell-based chemoimmunotherapy. **Biomaterials**, [s. l.], v. 280, p. 121321, 1 jan. 2022. ISSN 0142-9612. DOI 10.1016/j.biomaterials.2021.121321.
- 130 PAN, Shuojiong; GUAN, Jun; XIANYU, Banruo; TAN, Yizheng; LI, Tianyu; XU, Huaping. A Nanotherapeutic Strategy to Reverse NK Cell Exhaustion. **Advanced Materials**,

[s. l.], v. 35, n. 23, p. 2211370, 2023. ISSN 1521-4095. DOI 10.1002/adma.202211370.

131 DOUDIN, Khaled I.; BERGE, Rolf K.; FRØYSTEIN, Nils Åge; SONGSTAD, Jon. Preparation and NMR studies of 3-selenaheptadecanoic and 4-selenaoctadecanoic acid, $\text{RSe}(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ($\text{R} = \text{C}_{14}\text{H}_{29}$, $n = 1$ and 2), and their methyl esters. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, [s. l.], n. 5, p. 723–729, 1 jan. 2000. ISSN 1364-5463. DOI 10.1039/A909142D.

132 DOUDIN, Khaled I.; BERGE, Rolf K.; FRØYSTEIN, Nils Åge; SONGSTAD, Jon. Preparation and NMR studies of 3-selenaheptadecanoic and 4-selenaoctadecanoic acid, $\text{RSe}(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ($\text{R} = \text{C}_{14}\text{H}_{29}$, $n = 1$ and 2), and their methyl esters. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, [s. l.], n. 5, p. 723–729, 1 jan. 2000. ISSN 1364-5463. DOI 10.1039/A909142D.

133 JÖRG, Gerhard et al. Preparation of radiochemically pure ^{79}Se and highly precise determination of its half-life. **Applied Radiation and Isotopes**, [s. l.], v. 68, n. 12, p. 2339–2351, 1 dez. 2010. ISSN 0969-8043. DOI 10.1016/j.apradiso.2010.05.006.

134 MAZOR, Shirley; VANOUNOU, Sharon; FISHOV, Itzhak. Pyrene as a membrane depth gauge: Wavelength selective fluorescence approach to monitor pyrene localizations in the membrane. **Chemistry and Physics of Lipids**, [s. l.], v. 165, n. 1, p. 125–131, 1 jan. 2012. ISSN 0009-3084. DOI 10.1016/j.chemphyslip.2011.11.009.

135 AGUIAR, J.; CARPENA, P.; MOLINA-BOLÍVAR, J. A.; CARNERO RUIZ, C. On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 258, n. 1, p. 116–122, fev. 2003. ISSN 0021-9797. DOI 10.1016/s0021-9797(02)00082-6.

136 WILHELM, Manfred et al. Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study. **Macromolecules**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 1033–1040, mar. 1991. ISSN 0024-9297, 1520-5835. DOI 10.1021/ma00005a010.

137 BALES, Barney L.; ALMGREN, Mats. Fluorescence Quenching of Pyrene by Copper(II) in Sodium Dodecyl Sulfate Micelles. Effect of Micelle Size as Controlled by Surfactant Concentration. **The Journal of Physical Chemistry**, [s. l.], v. 99, n. 41, p. 15153–15162, out. 1995. ISSN 0022-3654, 1541-5740. DOI 10.1021/j100041a035.

138 BOZZOLA, John J.; RUSSELL, Lonnie Dee. **Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists**. [S. l.]: Jones & Bartlett Learning, 1999. 702 p. Google-Books-ID: zMkBApACbEkC. ISBN 978-0-7637-0192-5.

139 WOJTKOWIAK, Jonathan W.; VERDUZCO, Daniel; SCHRAMM, Karla J.; GILLIES, Robert J. Drug Resistance and Cellular Adaptation to Tumor Acidic pH Microenvironment. **Molecular Pharmaceutics**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 2032–2038, 5 dez. 2011. ISSN 1543-8384. DOI 10.1021/mp200292c.

140 CAS 129-00-0 Pyrene - Environmental Governance / Alfa Chemistry.

141 Pyrene (Benzo[def]phenanthrene) | Biochemical Assay Reagent | MedChemExpresses <<https://www.medchemexpress.com/pyrene.html>>

142 PUBCHEM. Electronegativity | Periodic Table of Elements. Disponível em:

<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/periodic-table/electronegativity>>

143 WANG, L. et. al. ROS-triggered degradation of selenide-containing polymers based on selenoxide elimination. **Polymer Chemistry**, v. 10, n. 16, p. 2039-2046, 2019.

144 FILIPPOV, S. K. et. al. Dynamic light scattering and transmission electron microscopy in drug delivery: a roadmap for correct characterization of nanoparticles and interpretation of results. **Material Horizons**, V. 10, N.12, p. 5354-5370, 2023.