



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCARREADORES PERFLUORADOS
ALMEJANDO SUPERAR A HIPÓXIA EM APLICAÇÕES DE TERAPIA
FOTODINÂMICA**

ARTHUR BOESING DA SILVA

Florianópolis
Junho/2026

Arthur Boesing da Silva

DESENVOLVIMENTO DE NANOCARREADORES PERFLUORADOS ALMEJANDO
SUPERAR A HIPÓXIA EM APLICAÇÕES DE TERAPIA FOTODINÂMICA

Relatório apresentado ao Departamento
de Química da Universidade federal de
Santa Catarina, como requisito parcial
da disciplina de Estágio II (QMC 5532)

Orientadora: PROF^a DR^a CAMILA FABIANO DE FREITAS MARIN

Coorientadora: DR^a ELOAH LATOCHESKI

Florianópolis
Junho/2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora, Prof.^a Camila, que aceitou me orientar nesse caminho, mesmo durante a feliz espera da chegada do Pedro Henrique. Sua paciência, determinação e carinho serão sempre vistas por mim como exemplo tanto na vida profissional quanto na vida pessoal, minha admiração por você me orienta também ao tipo de pessoa que quero ser.

Também agradeço à Dr.^a Eloah, que me acompanhou durante toda minha trajetória sempre com muita paciência (muita mesmo) e nunca deixou de ensinar tudo que podia. Ao longo desse caminho, seu companheirismo e bom humor fizeram não só eu te admirar como também me inspirar a ser alguém melhor.

Agradeço à minha família, Alceu, Roseli e meu irmão Matheus, por sempre me apoiarem e ajudarem da maneira que podiam, entendendo também a luta diária das viagens de ônibus de quatro horas quando não havia fila.

À minha companheira de vida, Marina, por sempre me apoiar e acreditar que, não importando as dificuldades, eu conseguiria resolver e seguir adiante. Seu amor, carinho e amizade são combustíveis que me dão força e determinação, meu amor e admiração pela pessoa que você é crescem a cada dia.

À doutoranda Yara, agradeço também pela paciência e explicações de todas as dúvidas, assim como as chamadas de atenção (que não foram poucas) sempre que eu deixava passar algo ou errava por estar desatento. A competência tanto sua quanto da Eloah é algo surpreendente e admirável, sempre levarei a imagem de vocês como exemplos no que fazem.

Aos grupos de amizades criados durante esse tempo na graduação (não vou citar nome por nome porque não quero deixar ninguém de fora), agradeço por todo apoio e companhia nos altos e baixos dos semestres. Aos amigos de infância que acompanharam essa trajetória desde o começo.

A todo o grupo do PhotoN, agradeço pela convivência, conversas, contribuições e apoio. À UFSC e o Departamento de Química pela formação acadêmica e pelas oportunidades de aprendizado ao longo da graduação e aos órgãos de fomento científico CNPq e CAPES, pelo auxílio financeiro. Agradeço aos professores, técnicos e funcionários que contribuíram para a minha trajetória durante o curso.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, estiveram presentes durante essa etapa e contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Câncer e o microambiente tumoral	13
2.1.1 Hipóxia tumoral	14
2.2 Terapia fotodinâmica	15
2.3 Fotossensibilizadores	18
2.3.1 Corantes xantênicos e Rosa de Bengala	18
2.4 Sistemas de entrega de fármacos	21
2.4.1 Micelas poliméricas	21
2.5 Polímeros biocompatíveis: Pluronic® F127	22
2.6 Perfluorocarbonos	23
3. OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo Geral	26
3.2 Objetivos Específicos	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Materiais e Reagentes	27
4.2 Síntese do Copolímero Fluorado (F127-PFC)	27
4.3 Síntese do Copolímero Não Fluorado (F127-OA)	28
4.4 Caracterização dos Copolímeros Sintetizados	29
4.4.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	29
4.4.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	29
4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)	29
4.4.4 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)	30
4.5 Concentração Micelar Crítica (CMC)	30
4.6 Preparação das Micelas Poliméricas	30
4.7 Preparação das Micelas Carregadas com RB	31
4.8 Caracterização Físico-Química das Micelas	31
4.8.1 Tamanho Hidrodinâmico e Potencial Zeta	31
4.8.2 Eficiência de Encapsulação (EE%)	31
4.9 Caracterização espectroscópica das micelas contendo RB	32
4.9.1 Espectroscopia de absorção no UV-vis	32

4.9.2 Espectroscopia de fluorescência	32
4.9.3 Rendimento quântico de fluorescência	32
4.9.4 Rendimento quântico de oxigênio singleto	33
4.10 Medidas de oxigênio molecular dissolvido nas amostras	34
4.11 Segurança no Laboratório e Tratamento de Resíduos.....	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Caracterização estrutural dos copolímeros F127-OA e F127-PFC	36
5.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR	36
5.1.2 Ressonância magnética nuclear.....	37
5.2 Caracterização térmica dos copolímeros	41
5.2.1 Análise termogravimétrica	41
5.2.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	43
5.3 Formação das micelas	44
5.3.1 Concentração micelar crítica	44
5.3.2 Análises de DLS	45
5.4 Caracterização espectroscópica - UV-vis.....	50
5.5 Eficiência de encapsulamento.....	51
5.6 Propriedades fotofísicas	53
5.6.1 Cinética de degradação do ABDA: Rendimento Quântico de oxigênio singleto e rendimento quântico de fluorescência	53
5.7 Oxigênio dissolvido.....	57
6. CONCLUSÃO	60
7. REFERÊNCIAS.....	62
APÊNDICE.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da hipóxia em um tumor sólido, evidenciando regiões centrais com menor disponibilidade de O ₂ .	14
Figura 2. Diagrama de Jablonski.	16
Figura 3. Representação esquemática para alguns xantenos em pH fisiológico.	19
Figura 4. Espécies protolíticas e equilíbrios tautoméricos propostos para a Rosa de Bengala. Onde: CAT (catiônica); NEZ (zwitteriônica); NEQ (quinóide); NEL (lactona); MAC (monoaniônica carboxilato); MAF (monoaniônica fenolato); DA (dianiônica). As constantes KZ-Q , KQ-L e KM representam, respectivamente, os equilíbrios tautoméricos NEZ $\rightleftharpoons$ NEQ , NEQ $\rightleftharpoons$ NEL e MAC $\rightleftharpoons$ MAF .	20
Figura 5. Estrutura do polímero Pluronic® F127 com as cadeias de PEO e PPO.	22
Figura 6. Representação esquemática da micelização do copolímero Pluronic® F127 em meio aquoso após atingir a CMC a uma dada condição de temperatura.	23
Figura 7. Transporte de oxigênio por perfluorocarbonos e pela hemoglobina. No caso do PFC, o O ₂ é transportado por dissolução física e interações intermoleculares fracas, enquanto na hemoglobina o O ₂ é coordenado reversivelmente ao ferro do grupo heme.	24
Figura 8. Representação conceitual das micelas de F127 modificadas com cadeias perfluoradas, capazes de carrear simultaneamente O ₂ dissolvido e RB para o ambiente hipóxico tumoral. A RB encapsulada é fotoativada após irradiação e pode interagir com o oxigênio molecular, gerando as espécies citotóxicas, especialmente ¹ O ₂ .	25
Figura 9. Rota sintética para obtenção do polímero modificado F127-PFC.	27
Figura 10. Reação de Diels-Alder entre ABDA e ¹ O ₂ .	33
Figura 11. Espectros de FTIR dos copolímeros F127-PFC e F127-OA normalizados.	36
Figura 12. Análise de RMN de ¹ H do copolímero de F127-OA em CDCl ₃ .	38
Figura 13. Espectro de ¹ H RMN do copolímero F127-PFC em CDCl ₃ .	39
Figura 14. Espectro de ¹⁹ F RMN do copolímero F127-PFC em CDCl ₃ .	40
Figura 15. Análise termogravimétrica dos copolímeros F127-OA e F127-PFC e suas derivadas.	41
Figura 16. Curvas de DSC dos copolímeros F127-OA e F127-PFC.	43

Figura 17. Variação da tensão superficial de soluções do copolímero F127-PFC em função da concentração, a 25 °C, utilizada para a estimativa da CMC.....	44
Figura 18. Correlogramas obtidos das formulações com RB incorporada. (A) F127-OA-RB e (B) F127-PFC-RB.....	48
Figura 19. Análise de estabilidade em gradientes de temperatura variando de 20, 25, 30, 35, 37 e 42 °C das amostras F127-OA Branco, F127-OA-RB, F127-PFC Branco e F127-PFC-RB. (A) DH das formulações. (B) PDI das formulações. (C) ζ das formulações.....	48
Figura 20. Espectros UV-Vis das formulações micelares. (A) Espectros de absorbância das formulações contendo RB. (B) Espectros normalizados das formulações e da RB livre em PBS.	50
Figura 21. Cinética na presença de luz para a análise da sonda ABDA com (A) PBS-RB (B) F127-OA-RB (C) F127-PFC-RB.	53
Figura 22. Espectros de emissão de fluorescência da RB livre em PBS e das formulações micelares F127-OA-RB e F127-PFC-RB. (A) Espectros de emissão das formulações micelares contendo RB. (B) Espectros normalizados da RB livre em PBS e das formulações micelares. [RB] = 5 μ M.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação dos deslocamentos químicos obtidos do polímero modificado.	41
Tabela 2. Parâmetros térmicos dos copolímeros modificados.	43
Tabela 3. Diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI) e potencial zeta (ζ) das formulações preparadas.	46
Tabela 4. Eficiência de encapsulamento da RB nas formulações preparadas.	52
Tabela 5. Parâmetros cinéticos e fotofísicos obtidos para PBS-RB, F127-OA-RB e F127-PFC-RB.	54
Tabela 6. Valores do rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) para RB em PBS e as formulações micelares.	57
Tabela 7. Concentração de oxigênio dissolvido antes e após um minuto para água ultrapura e formulações micelares.	58
Tabela 8. Concentração de oxigênio dissolvido antes e após um minuto para água ultrapura e formulações micelares após cinco minutos em agitação no vórtex.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABDA	Ácido 9,10-antracenodiil-bis(metileno)dimalônico
CIS	Cruzamento intersistemas
CMC	Concentração micelar crítica
CMT	Temperatura micelar crítica
DCM	Diclorometano
DH	Diâmetro hidrodinâmico
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
DTG	Termogravimetria derivada
EE%	Eficiência de encapsulamento
EPR	Efeito de permeabilidade e retenção aumentadas
FDA	Food and Drug Administration
FS	Fotossensibilizador
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
HIF-1	Fator induzido por hipóxia 1
OA	Cadeia octanoíla
PDI	Índice de polidispersividade
RB	Rosa de bengala
RMN	Ressonância magnética nuclear
TFD	Terapia fotodinâmica
TGA	Análise termogravimétrica
UV-vis	Espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível
$\lambda_{\max}$	Comprimento de onda de máxima absorção
Φ_F	Rendimento quântico de fluorescência
$\Phi_{\Delta^1O_2}$	Rendimento quântico de oxigênio singleto
γ_{Δ}	Eficiência de geração de oxigênio singleto normalizada pelo número de fótons absorvidos
1H RMN	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
^{19}F RMN	Ressonância magnética nuclear de flúor
3O_2	Oxigênio molecular no estado tripleto
1O_2	Oxigênio singleto
$^3FS^*$	Fotossensibilizador no estado tripleto excitado

RESUMO

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma estratégia terapêutica baseada na associação entre fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio molecular, resultando na formação de espécies reativas capazes de induzir danos celulares. Entretanto, sua eficiência pode ser limitada em tumores sólidos devido à hipóxia, caracterizada pela baixa disponibilidade de O₂ no microambiente tumoral. Nesse contexto, nanocarreadores contendo segmentos perfluorados constituem uma estratégia promissora, devido à capacidade desses domínios de dissolver gases e modular a disponibilidade local de oxigênio. Neste trabalho, foram desenvolvidos e caracterizados sistemas micelares à base de Pluronic® F127 modificado com cadeias perfluoradas (F127-PFC), visando à incorporação de rosa de bengala (RB) como FS. Para comparação, foi avaliado o copolímero análogo não fluorado F127-OA. Os copolímeros foram caracterizados por FTIR, RMN, TGA/DTG e DSC, enquanto as formulações micelares foram avaliadas quanto às propriedades coloidais, interação com a RB, eficiência de encapsulamento, geração indireta de oxigênio singlete e oxigênio dissolvido. As caracterizações estruturais indicaram a preservação da matriz do Pluronic® F127 e corroboraram a presença dos grupos introduzidos nos copolímeros modificados. As análises térmicas mostraram comportamento semelhante entre F127-OA e F127-PFC. As formulações apresentaram agregados nanométricos em meio aquoso, embora com ampla distribuição de tamanhos, e elevada eficiência de encapsulamento da RB, superior a 90%. Os estudos espectroscópicos e fotofísicos indicaram que a RB permaneceu incorporada e fotoquimicamente ativa nos sistemas micelares, mantendo a capacidade de gerar oxigênio singlete no ensaio indireto com ABDA. O sistema perfluorado apresentou menor fotodegradação do FS e tendência à maior incorporação de oxigênio dissolvido após agitação. Assim, os resultados indicam que o F127-PFC modifica o microambiente micelar e apresenta potencial como plataforma a ser otimizada para aplicações em TFD, especialmente em condições hipóxicas.

Palavras-chave: terapia fotodinâmica, hipóxia tumoral, Pluronic® F127, perfluorocarbonos, rosa de bengala, oxigênio singlete.

1. INTRODUÇÃO

O câncer permanece como um dos principais desafios clínicos, sociais e científicos da atualidade, tanto pela elevada incidência quanto pela complexidade dos mecanismos envolvidos na progressão tumoral e na resposta terapêutica. Em escala global, as estimativas indicam aproximadamente 35,3 milhões de novos casos e cerca de 18,5 milhões de mortes por câncer até o ano de 2050 em razão do crescimento populacional, envelhecimento e desigualdades no acesso à prevenção, ao diagnóstico e ao tratamento.¹ No Brasil, a estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o triênio de 2026-2028 aponta aproximadamente 781 mil novos casos por ano, ou cerca de 518 mil quando excluídos os tumores de pele não melanoma, evidenciando que a busca por estratégias terapêuticas complementares, mais seletivas e menos invasivas continua sendo uma pauta atual e relevante para a saúde pública.²

Apesar dos avanços nos tratamentos atuais, como radioterapia, quimioterapia, imunoterapia e terapias-alvo, os tumores sólidos ainda apresentam limitações importantes relacionadas à heterogeneidade celular, à distribuição irregular de fármacos, à toxicidade e ao surgimento de resistência ao tratamento. A compreensão atual do câncer não considera apenas a célula tumoral isolada, mas também o microambiente no qual ela se desenvolve, incluindo a matriz extracelular, os vasos sanguíneos anômalos, os fibroblastos associados ao câncer, as células imunes, a disponibilidade de nutrientes, a acidez e a concentração de oxigênio.³ Nessa conjuntura, a redução da disponibilidade de O₂ no microambiente tumoral se destaca como um fator crítico, uma vez que essa condição favorece a adaptação metabólica, a angiogênese descontrolada, invasão e a resistência frente a terapias dependentes de oxigênio.⁴

Entre as abordagens investigadas, destaca-se a terapia fotodinâmica (TFD), que surge nesse cenário como um tratamento localizado, baseado na combinação entre um fotossensibilizador (FS), luz em um comprimento de onda compatível com a absorção do FS e oxigênio molecular (³O₂). Após a absorção da luz, o FS pode alcançar estados eletronicamente excitados que participam de processos de transferência de energia, elétrons ou prótons, formando espécies reativas de oxigênio (EROs) capazes de oxidar lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e outros componentes celulares.⁵ A possibilidade de controlar espacialmente a irradiação de luz confere à TFD uma vantagem relevante em relação a outros tratamentos convencionais. Não

obstante, a dependência de oxigênio também representa uma limitação da terapia frente a tumores hipóxicos, especialmente quando a resposta fotodinâmica depende majoritariamente da formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$).⁶

A eficiência da TFD resulta da integração entre as propriedades fotofísicas do FS, sua localização, a disponibilidade de oxigênio, a penetração da luz e as características do microambiente em que o sistema se encontra. Por isso, nanocarreadores têm sido amplamente investigados como plataformas capazes de modular parâmetros associados à eficiência terapêutica, visando melhorar a solubilidade, a estabilidade e a distribuição do FS.⁷ Entre os sistemas, as micelas formadas por copolímeros anfifílicos são de particular interesse, já que podem incorporar as moléculas orgânicas em domínios menos polares e, ao mesmo tempo, manter as dispersões coloidais em meio aquoso.⁸

O Pluronic® F127, também comercializado como poloxâmero 407, é um copolímero tribloco do tipo PEO-PPO-PEO (poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno)) amplamente empregado em sistemas de entrega por apresentar caráter anfifílico e baixa toxicidade.⁸ Modificações em sua estrutura permitem ajustar a estabilidade das micelas, a interação com as moléculas incorporadas e, no caso de segmentos fluorados, podem influenciar na disponibilidade local de O_2 . No caso da TFD em ambientes hipóxicos, a introdução de segmentos perfluorados é uma estratégia de interesse, porquanto perfluorocarbonos (PFCs) apresentam elevada capacidade de dissolução física de gases e podem atuar como reservatórios de O_2 em estruturas adequadas.⁹

No contexto do presente trabalho, o Pluronic® F127 foi utilizado como base para a obtenção de dois copolímeros modificados, o F127-OA, contendo a cadeia octanoíla não fluorada como controle, e o F127-PFC, contendo o segmento perfluorado. A presença do análogo não fluorado permite avaliar, de forma comparativa, os efeitos associados à introdução do domínio fluorado. A RB foi selecionada como FS, sendo um corante xantênico halogenado com absorção intensa na região do visível ($\lambda_{\text{max}} \approx 550 \text{ nm}$ em meio aquoso),¹⁰ característica compatível com processos de fotoativação na TFD.¹¹ Desse modo, o presente trabalho propõe sintetizar, caracterizar e avaliar sistemas micelares baseados em F127-OA e F127-PFC contendo RB para comparar como a natureza da modificação influencia as propriedades estruturais, coloidais, espectroscópicas e fotodinâmicas em meio aquoso, atentando-se principalmente à dissolução de oxigênio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Câncer e o microambiente tumoral

O câncer corresponde a um conjunto de mais de cem doenças caracterizadas por proliferação celular desregulada, evasão de mecanismos de controle, capacidade de invasão e, em muitos casos, metástase.³ As capacidades funcionais do câncer constituem um conjunto de características adquiridas ao longo da transformação neoplásica, permitindo que células tumorais sustentem proliferação, resistam a mecanismos supressores, evitem morte celular, promovam angiogênese, invadam tecidos e interajam de maneira dinâmica com o microambiente tumoral.¹² Esse conjunto de características evidencia que, na prática, o tumor é um tecido dinâmico, heterogêneo e com um microambiente distinto daquele observado em tecidos normais.

No contexto do microambiente tumoral, a progressão da doença envolve uma interação contínua entre células neoplásicas, matriz extracelular, fibroblastos associados ao câncer, células endoteliais, pericitos e outros componentes celulares e não celulares.¹² Essa rede de interações provoca alterações na disponibilidade de oxigênio, pH, nutrientes e pressão intersticial e, como consequência, diferentes regiões de um mesmo tumor podem apresentar ambientes distintos. Uma região próxima aos vasos sanguíneos pode receber maior aporte de oxigênio e nutrientes, enquanto áreas mais distantes de vasos funcionais ou sujeitas à compressão vascular podem apresentar menor aporte de oxigênio e nutrientes, acúmulo de metabólitos ácidos e hipóxia.^{4,13}

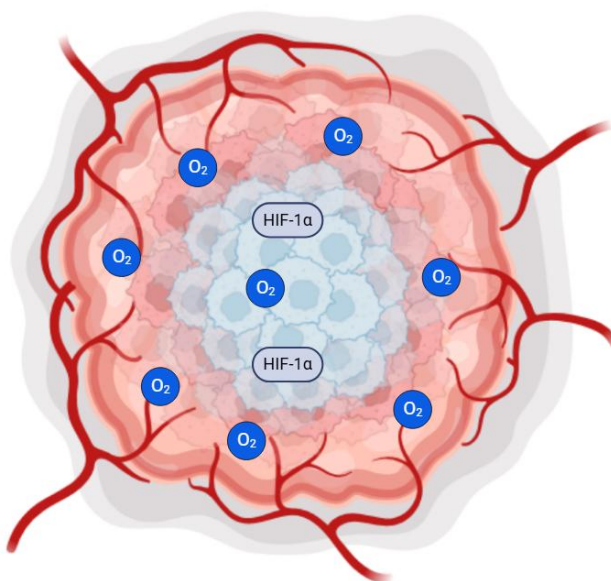
A angiogênese, que é a formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos existentes, pode ser induzida pelo tumor, o que resulta em vasos tortuosos, permeáveis e dilatados. Essa vasculatura hiperpermeável pode favorecer a extravasação e retenção de macromoléculas no tecido tumoral, fenômeno conhecido como efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (Efeito EPR).¹⁴ Todavia, essa arquitetura anômala também está associada ao fluxo sanguíneo irregular, ao aumento da pressão intersticial, às regiões de estase e compressão vascular, reduzindo o fornecimento homogêneo de oxigênio. Desse modo, o tumor pode simultaneamente ser mais permissivo à extravasação de macromoléculas e menos eficiente na distribuição uniforme de oxigênio.¹⁵

2.1.1 Hipóxia tumoral

A hipóxia é uma condição na qual a disponibilidade de oxigênio em um tecido é inferior à demanda necessária para manter o metabolismo local. Nos tumores sólidos, essa condição está associada à redução da pressão parcial de oxigênio (pO_2) em relação a tecidos normais. Embora os valores possam variar conforme o tipo tumoral, o método de medida e a região analisada, a hipóxia tumoral é frequentemente associada a valores de pO_2 inferiores a aproximadamente 10 mmHg, enquanto muitos tecidos normais apresentam valores médios mais elevados, geralmente na faixa de 40 a 60 mmHg. Tal redução pode ocorrer por difusão limitada, quando as células estão afastadas de vasos sanguíneos funcionais, ou por limitação da perfusão, quando o fluxo sanguíneo é irregular ou insuficiente. Em ambos os casos, a distribuição de O_2 torna-se heterogênea, formando gradientes espaciais e temporais no interior da massa tumoral.¹⁶

A resposta celular à hipóxia é mediada principalmente por fatores induzidos por hipóxia, especialmente o fator HIF-1, conforme representado na Figura 1. O HIF-1 é um fator de transcrição heterodimérico composto por duas subunidades: HIF-1 α , cuja estabilidade é regulada pela disponibilidade de oxigênio, e HIF-1 β (também denominado ARNT - *Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator*), que é expressa de forma contínua na célula independente dos níveis de oxigênio. Em condições normóxicas, a subunidade HIF-1 α é hidroxilada por enzimas prolin-hidroxilases dependentes de O_2 , favorecendo seu reconhecimento pelo complexo associado à proteína de von Hippel-Lindau e sua posterior degradação proteossomal. Já em hipóxia, a redução da disponibilidade de oxigênio limita esse processo de hidroxilação, permitindo a estabilização do HIF-1 α , sua translocação para o núcleo, dimerização com HIF-1 β e ativação de genes associados à adaptação celular, incluindo angiogênese, metabolismo glicolítico, sobrevivência e regulação do pH. Dessa forma, a hipóxia atua como uma pressão seletiva no microambiente tumoral, favorecendo fenótipos mais agressivos, invasivos e resistentes à terapia.^{17,18}

Figura 1. Representação esquemática da hipóxia em um tumor sólido, evidenciando regiões centrais com menor disponibilidade de O_2 .



Fonte: Elaborado a partir dos conceitos de Basheeruddin e Qausain.¹⁷ Criado utilizando BioRender.com

A acidez também é uma característica relevante de muitos tumores sólidos, já que o metabolismo favorece a atividade glicolítica mesmo na presença de oxigênio, fenômeno conhecido como efeito Warburg.¹⁹ A produção de lactato contribui para reduzir o pH extracelular tumoral, que frequentemente se encontra em valores mais ácidos, aproximadamente na faixa de 6,5 a 6,9, enquanto tecidos normais apresentam pH extracelular mais próximo da neutralidade fisiológica, em torno de 7,2 a 7,4.²⁰ A acidez e a hipóxia estão frequentemente associadas, já que a baixa disponibilidade de oxigênio estimula rotas glicolíticas e aumenta a produção de lactato, portanto, tais fatores influenciam diretamente a permeabilidade e principalmente a resposta terapêutica. Para a TFD, principalmente para os casos em que a geração de 1O_2 é a rota principal de atuação (mecanismo do tipo II) tais condições se encontram como fatores limitantes. Dessa forma, mesmo que o FS absorva luz adequadamente, nesse microambiente tumoral a eficiência fotodinâmica pode ser reduzida.²¹

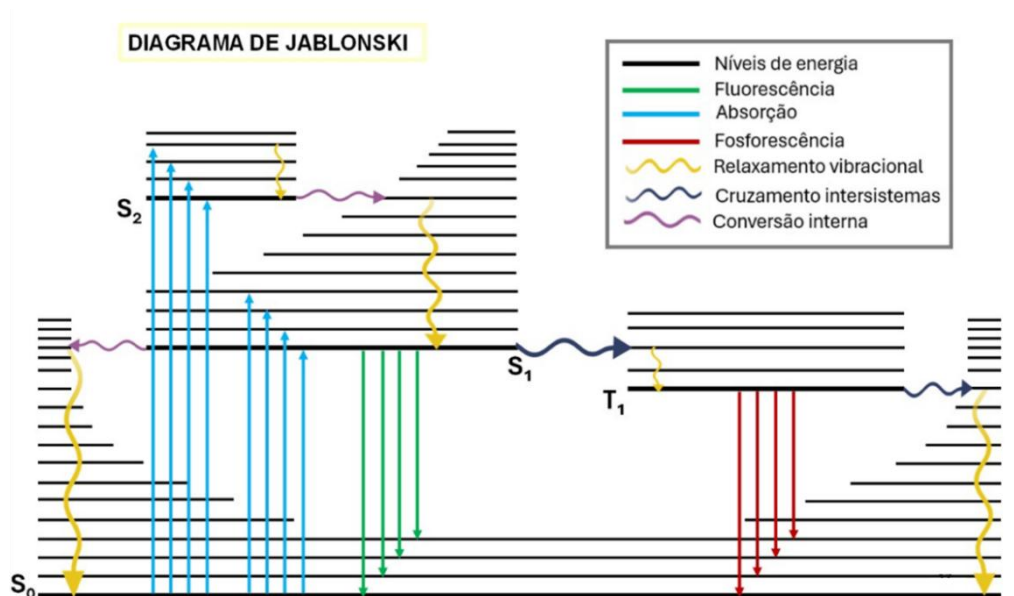
2.2 Terapia fotodinâmica

A TFD é uma modalidade terapêutica baseada na associação entre um FS, luz e oxigênio molecular. A etapa inicial é a absorção da radiação eletromagnética pelo FS. Essa absorção acontece quando a energia do fóton coincide com a diferença de

energia entre estados eletrônicos permitidos dessa molécula. Geralmente, os cromóforos apresentam sistemas de ligações duplas conjugadas. Esses sistemas permitem transições eletrônicas tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \pi^*$. A conjugação reduz a diferença energética entre orbitais ocupados e desocupados. Como consequência, a absorção é deslocada para maiores comprimentos de onda, frequentemente na região do visível, essa característica torna esses compostos FS desejáveis por fontes de luz visível e adequados para a TFD.²²

As transições $n-\pi^*$ são relevantes em moléculas que possuem heteroátomos com pares de elétrons não ligantes, como oxigênio, nitrogênio e/ou halogênios. Nessas moléculas, a absorção de luz pode envolver a promoção de elétrons de orbitais não ligantes para orbitais π^* do sistema conjugado. A posição e a intensidade das bandas de absorção, entretanto, não dependem apenas da estrutura do cromóforo, mas também do solvente, do pH, da polaridade do microambiente e de interações específicas, incluindo a agregação molecular ou associação com sistemas organizados, como micelas. Após a absorção da luz, o FS é promovido de um estado fundamental singleto (S_0) para um estado excitado singleto (S_1). Esse estado é formado por um período extremamente curto e pode liberar a energia absorvida por diferentes meios. A Figura 2 representa o diagrama de Jablonski, apontando as possíveis transições eletrônicas em uma mesma molécula, sendo por meios não radiativos, sofrendo conversão interna (CI) e relaxamento vibracional (RV), ou por meios radiativos, como fluorescência ou, e em casos de cruzamento intersistemas (CIS), fosforescência.^{22,23}

Figura 2. Diagrama de Jablonski.



Fonte: Elaborado a partir dos conceitos de Frackowiak.²⁴

O CIS é uma transição isoenergética entre estados eletrônicos de multiplicidades diferentes, ocorrendo, por exemplo, de um estado singlete excitado S₁ para um estado tripleto T₁. Essa transição de multiplicidade envolve a inversão de spin e é proibida por regras de seleção. Contudo, há algumas moléculas nas quais ocorre o acoplamento spin-órbita devido à presença de átomos de maior número atômico, tal comportamento “mistura” parcialmente o caráter dos estados eletrônicos, o que faz com que nessas moléculas o CIS se torne possível.²⁵ Tal efeito também pode ser chamado de efeito do átomo pesado devido à presença de átomos de maior número atômico. Para cromóforos halogenados, a presença do halogênio pode também servir como átomo pesado para a CIS da molécula, favorecendo o aumento da população do estado tripleto.^{26,27}

A partir do estado tripleto, o FS pode seguir dois mecanismos. No mecanismo tipo I, ocorre a transferência de elétrons entre o FS e substratos próximos, gerando assim espécies radicalares, esses radicais podem reagir com o oxigênio formando espécies como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila.²⁸ Já no mecanismo tipo II, a energia é transferida diretamente do FS no estado T₁ para o ³O₂, gerando oxigênio singlete, ¹O₂, uma espécie altamente reativa e citotóxica.²³ Ambos os mecanismos podem ocorrer simultaneamente, entretanto o ¹O₂ apresenta curto tempo de vida por ser tão reativo e, conseqüentemente, possui uma distância de difusão bastante limitada, o que torna a localização de sua geração de suma

importância, pois para a TFD é necessário avaliar se o FS está localizado onde o $^3\text{O}_2$ consegue acessá-lo de maneira eficiente.^{22,23}

A TFD é vantajosa em relação ao tratamento de câncer, pois pode apresentar seletividade espacial e temporal, já que a ativação depende da iluminação localizada do FS.²⁹ Apesar disso, ela também apresenta desafios para sua eficácia, sendo uma delas a penetração da luz no tecido, já que comprimentos de onda na região do azul e do verde são mais absorvidos e espalhados por componentes biológicos, enquanto a região do vermelho tende a apresentar maior penetração.²⁹ Por conseguinte, FSs de menor penetração podem ser adequados para aplicações mais superficiais, enquanto para tumores profundos é ideal a absorção próxima da janela terapêutica (600-800 nm).^{22,29} Outros fatores também devem ser observados, como o fotobranqueamento, resultado de reações não desejáveis do FS excitado que acarretam na perda da eficiência fotodinâmica³⁰. Em alguns sistemas a agregação das moléculas de FS pode favorecer a desativação não radiativa e reduzir o tempo de vida de estados excitados.^{28,31} E, por fim, a disponibilidade de O_2 , já que a terapia necessita do consumo dessa espécie para a ocorrência do mecanismo tipo II, desejável para o tratamento. Nesse cenário, em ambientes hipóxicos esse se torna o maior desafio a ser enfrentado para a eficiência terapêutica.²⁸

2.3 Fotossensibilizadores

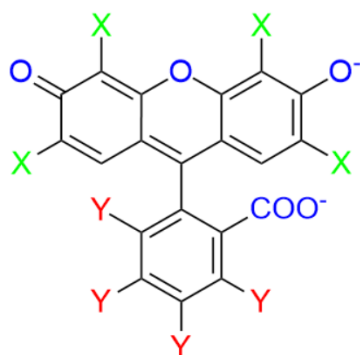
Um FS adequado para a TFD deve apresentar baixa toxicidade no escuro, absorção eficiente em um comprimento de onda apropriado, boa rendimento quântico do estado tripleto e uma capacidade de gerar EROs após fotoativação.²³ FS de primeira geração, como os derivados hematoporfirínicos, foram fundamentais para consolidar a TFD, porém apresentavam absorção limitada, enquanto os de segunda geração buscaram estruturas e propriedades fotoquímicas e fotofísicas mais favoráveis.³² Já os de terceira geração envolvem FSs associados a sistemas capazes de aumentar a seletividade e melhorar o controle do microambiente.³³ Dentre as diferentes classes investigadas, destacam-se os corantes xantênicos.

2.3.1 Corantes xantênicos e Rosa de Bengala

Os corantes xantênicos constituem uma classe de cromóforos que inclui fluoresceína, eosina, eritrosina e a rosa de bengala são representados na Figura 3. O núcleo xantênico fornece o sistema π conjugado capaz de absorver luz na região do visível. Substituintes halogenados modulam as propriedades eletrônicas, com o favorecimento do CIS por motivos previamente abordados. Tais características justificam o interesse dos xantenos como FS.^{34,35}

A RB (2,4,5,7-tetraiodo-3,4',5',6'-tetraclorofluoresceína) é um desses corantes xantênicos halogenados, usualmente empregado como sal dissódico¹¹, vista na Figura 3, que contém átomos de iodo no núcleo xantênico e átomos de cloro no anel benzoico. Dessarte, a RB é reconhecida por sua capacidade de geração de $^1\text{O}_2$.¹¹ Além do uso para a TFD, a RB também possui histórico de aplicação oftalmológica, sendo aprovada como corante para a avaliação de alterações na superfície ocular, o que reforça sua relevância clínica.^{36,37} A RB apresenta absorção na região do verde, com máxima absorção aproximadamente em 560 nm.³⁸ Embora essa região apresente menor penetração tecidual da luz do que comprimentos de onda no vermelho, ela é adequada para sistemas em que a localização do FS é favorecida.

Figura 3. Representação esquemática para alguns xantenos em pH fisiológico.



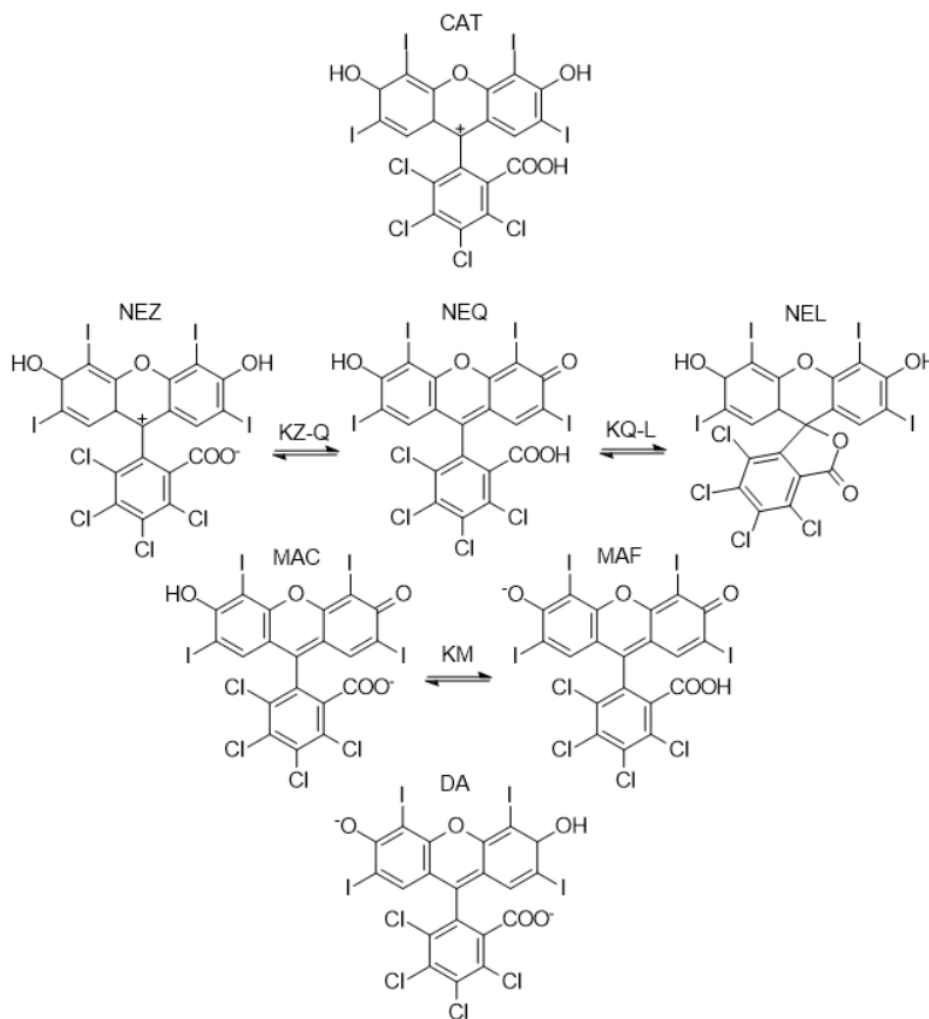
Corante	X	Y
Fluoresceína	H	H
Eosina	Br	H
Eritrosina	I	H
Rosa de Bengala	I	Cl

Fonte: Adaptado de Mchedlov-Petrosyan *et al.*³⁹ e Doring.⁴⁰

As propriedades da RB dependem de sua forma protolítica e tautomérica, Figura 4. Na literatura são descritos equilíbrios entre espécies catiônicas (CAT), neutras, monoaniônicas e dianiônicas (DA). Para a forma neutra existem três possíveis formas tautôméricas, sendo elas: lactona (NEL), quinóide (NEQ) e zwitteriônica (NEZ). De forma semelhante, a espécie monoaniônica pode existir na forma de dois tautômeros: carboxilato (MAC) ou fenolato (MAF). Em pH fisiológico, a

forma dianiônica tende a predominar, enquanto em meios ácidos, a distribuição de espécies se altera, modificando assim os possíveis comportamentos fotossensíveis.¹¹

Figura 4. Espécies protolíticas e equilíbrios tautoméricos propostos para a Rosa de Bengala. Onde: **CAT** (catiônica); **NEZ** (zwitteriônica); **NEQ** (quinóide); **NEL** (lactona); **MAC** (monoaniônica carboxilato); **MAF** (monoaniônica fenolato); **DA** (dianiônica). As constantes **KZ-Q**, **KQ-L** e **KM** representam, respectivamente, os equilíbrios tautoméricos **NEZ** $\rightleftharpoons$ **NEQ**, **NEQ** $\rightleftharpoons$ **NEL** e **MAC** $\rightleftharpoons$ **MAF**.



Fonte: Adaptado de Mchedlov-Petrosyan *et al*³⁹ e Doring.⁴⁰ Criado utilizando ChemDraw Ultra.

Esse ponto é particularmente importante, pois, para alguns sistemas de entrega de fármacos, '*verbi gratia*', micelas poliméricas, já que a RB por ser aniônica, pode permanecer no meio aquoso e interagir com a parte da corona micelar.^{34,35}

2.4 Sistemas de entrega de fármacos

Sistemas de entrega de fármacos são empregados para modificar a forma como uma molécula interage com o meio biológico. Para a TFD, esses sistemas são essenciais, pois muitos FS apresentam baixa solubilidade em meio aquoso, tendência à agregação, dentre outros fatores conflituosos.⁴¹ Entre as plataformas mais investigadas estão lipossomas, nanopartículas inorgânicas, dendrímeros, nanoemulsões, hidrogéis e micelas poliméricas.⁴² Lipossomas são vesículas formadas por bicamadas lipídicas e são úteis para incorporar moléculas hidrofílicas no compartimento aquoso e moléculas hidrofóbicas na bicamada.^{43,44} Nanopartículas inorgânicas podem introduzir propriedades ópticas, magnéticas e catalíticas.³⁵ Nanoemulsões permitem carregar fases oleosas dispersas em água.⁴⁵ E micelas poliméricas, por sua vez, incorporam moléculas orgânicas em domínios hidrofóbicos, mantendo a dispersão coloidal em meio aquoso.⁴⁶

A escolha do sistema de entrega deve considerar os componentes envolvidos, no caso de FSs, o objetivo é tanto carregar a molécula quanto preservar suas atividades fotofísicas. Assim, o nanocarreador deve reduzir a agregação indesejada, manter a estabilidade e oferecer proteção contra o fotobranqueamento em diluição, permitindo proximidade adequada entre FS e O₂. Destarte, as micelas poliméricas se destacam e tornam-se um sistema de interesse para o sistema proposto.

2.4.1 Micelas poliméricas

Micelas poliméricas são formadas pela auto-organização de moléculas anfifílicas em meio aquoso, a força motriz envolve a redução do contato de segmentos hidrofóbicos com a água, acompanhada pela hidratação de segmentos hidrofílicos expostos ao meio.⁴⁷ Para polímeros, a formação das micelas é uma consequência do equilíbrio entre contribuições entálpicas e entrópicas, incluindo hidratação, desidratação, interações entre o polímero e o solvente e o empacotamento de cadeias.⁴⁸

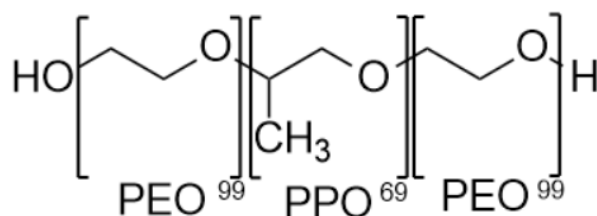
Para a formação das micelas no meio aquoso, é necessário que o polímero atinja uma concentração micelar crítica (CMC). Abaixo da CMC, predominam cadeias isoladas ou agregados pouco definidos, acima dela, a formação de micelas passa a

ser significativa. No caso de copolímeros, a transição pode ser menos abrupta do que em surfactantes de baixa massa molar, ocorrendo em uma faixa de concentração e temperatura, por isso, a CMC deve ser interpretada como uma estimativa operacional dependente do método empregado.⁴⁹ A escolha do copolímero também deve atender aos critérios desejáveis para a formação das micelas, carregamento do FS e também possuir biocompatibilidade.

2.5 Polímeros biocompatíveis: Pluronic® F127

O Pluronic® F127, ou poloxâmero 407, é um copolímero tribloco não iônico do tipo PEO-PPO-PEO. Os blocos de PEO (poli(óxido de etileno)) apresentam caráter mais hidrofílico enquanto o bloco de PPO (poli(óxido de propileno)) possui caráter mais hidrofóbico. Tal assimetria de afinidade em meio aquoso permite a formação de micelas com núcleo rico em PPO e uma corona hidratada de PEO.⁴⁸

Figura 5. Estrutura do polímero Pluronic® F127 com as cadeias de PEO e PPO.

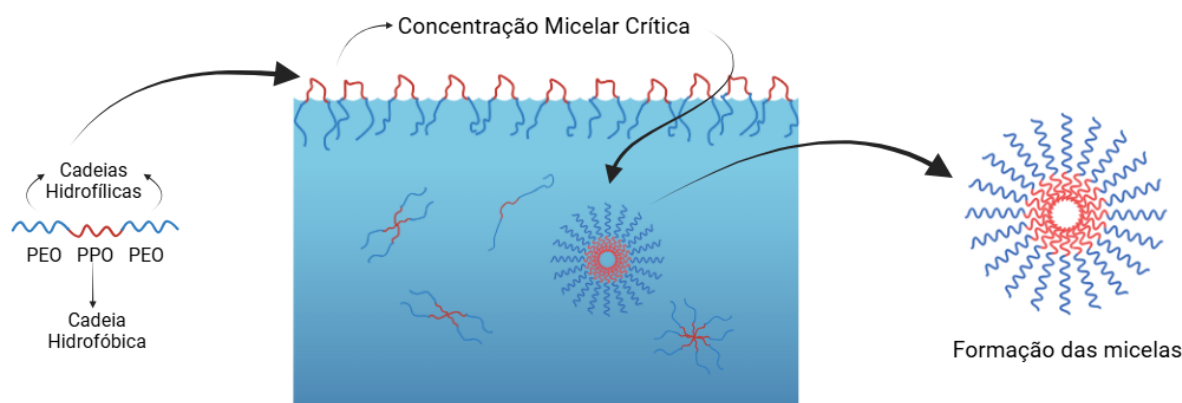


Fonte: Adaptado de De Freitas *et al.*⁵⁰

Em baixas concentrações e/ou temperaturas, as cadeias tendem a permanecer mais dispersas. Com o aumento da concentração, ocorre a desidratação do bloco PPO, o que favorece a associação entre segmentos hidrofóbicos e, por consequência, a formação de micelas.^{48,50} Em concentrações suficientemente elevadas, podem ocorrer até a formação de géis físicos.⁵¹ O F127 também consta em bases regulatórias de ingredientes inativos da FDA (*Food and Drug Administration*) e aparece na literatura como polímero biocompatível empregado em diferentes formas de administração.^{35,46,52} Outra vantagem desse copolímero está relacionada à sua arquitetura tribloco, na qual as cadeias PEO podem se organizar na interface micela/água, estabilizando a estrutura micelar. Essa organização favorece a formação

de micelas em solução aquosa e contribui para que a micelização ocorra em concentrações relativamente baixas do copolímero.⁵³

Figura 6. Representação esquemática da micelização do copolímero Pluronic® F127 em meio aquoso após atingir a CMC a uma dada condição de temperatura.

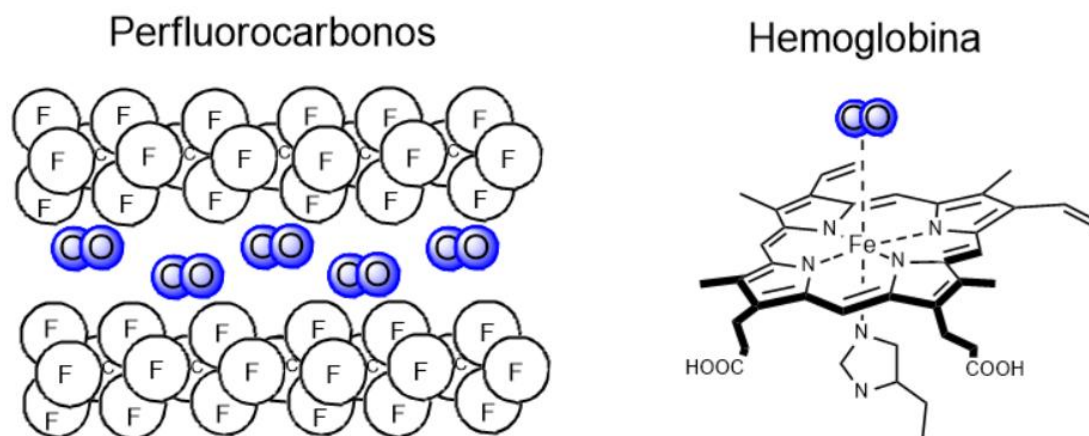


Fonte: Adaptado de Aguilar-Ramirez *et al.*⁵⁴ Criado utilizando BioRender.com

2.6 Perfluorocarbonos

Os PFCs são compostos em que os átomos de hidrogênio das cadeias orgânicas foram substituídos por flúor, a ligação C-F apresenta elevada energia de ligação (~488 kJ/mol), baixa polarizabilidade e contribui para a estabilidade química desses compostos.⁵⁵ A superfície fluorada apresenta interações fracas com a água e com cadeias orgânicas hidrocarbonadas, tal característica concede um caráter tanto hidrofóbico quanto lipofóbico para os PFCs.⁵⁶ Em contrapartida, sua elevada solubilidade física de gases não decorre de ligações químicas específicas, como é o caso da coordenação do O₂ na hemoglobina, mas de uma dissolução molecular por pressão parcial e fracas interações intermoleculares. Em situações onde há diferentes gradientes de oxigênio, sua liberação ocorre onde o ambiente ao redor está empobrecido em O₂, o gás dissolvido tende a se difundir para essa região.⁵⁷ Tal princípio é relacionado à Lei de Henry, em que a concentração dissolvida depende da pressão parcial do gás e da constante característica do sistema entre o solvente e o gás.⁵⁸

Figura 7. Transporte de oxigênio por perfluorocarbonos e pela hemoglobina. No caso do PFC, o O_2 é transportado por dissolução física e interações intermoleculares fracas, enquanto na hemoglobina o O_2 é coordenado reversivelmente ao ferro do grupo heme.



Fonte: Adaptado de Riess.⁵⁷ Criado utilizando ChemDraw Ultra.

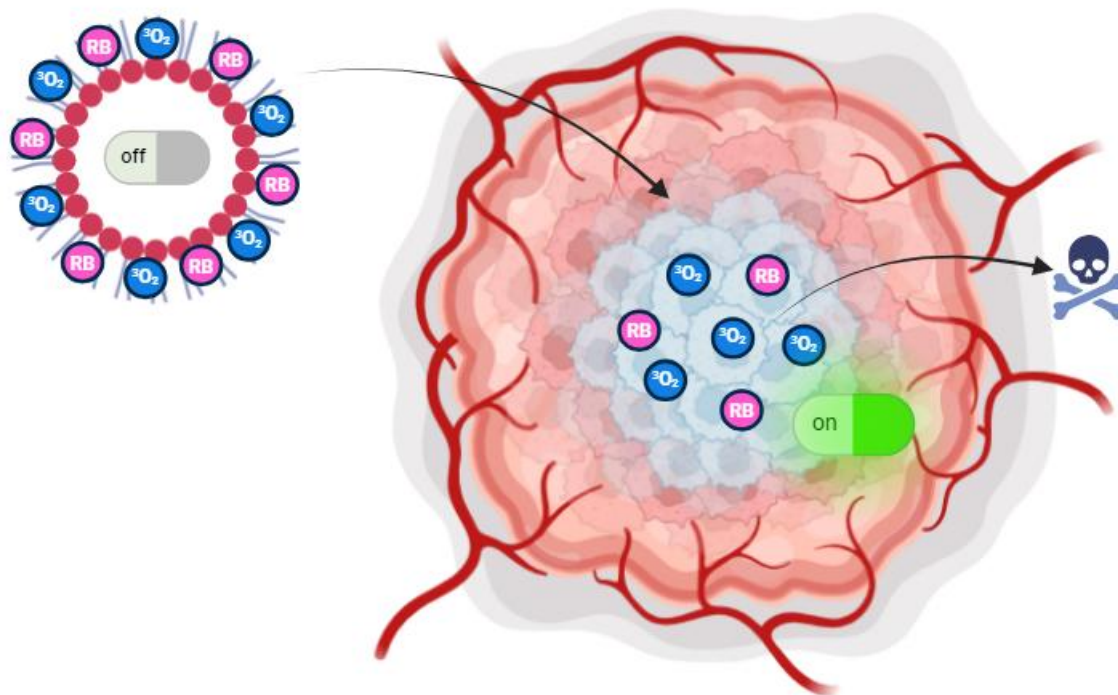
Historicamente, PFCs foram investigados como substitutos sanguíneos e transportadores artificiais de gases.^{59–61} Com usos clínicos como o Fluosol®⁶², consequentemente, nas últimas décadas, o interesse deslocou-se para o uso em nanomedicina, com a fase fluorada podendo ser incorporadas para aplicações em imagem, radioterapia e na TFD para contornar o revés da hipóxia tumoral.⁶³

Estudos com nanogotas, nanoemulsões e micelas fluoradas demonstram que PFCs podem contribuir para melhorar respostas fotodinâmicas em condições hipóxicas. Hu *et al.*⁶³ analisaram o uso de nanopartículas perfluoradas capazes de aumentar níveis de espécies reativas e inibir o crescimento tumoral sob irradiação. Também há outros casos diretamente alinhados ao presente trabalho, com o desenvolvimento de micelas poliméricas fluoradas para superar a hipóxia e aumentar a eficácia da TFD, mostrando que a incorporação de grupos perfluoroalquílicos em copolímeros anfifílicos pode gerar plataformas para entrega de FS e transporte de oxigênio.⁶⁴

Na Figura 8 são representados de forma esquemática os principais conceitos discutidos previamente, destacando que o sistema é dependente da proximidade entre o FS e O_2 em um microambiente organizado, uma vez que a geração de espécies reativas após irradiação é limitada pela disponibilidade local de oxigênio.⁶⁵ Outro entrave é o curto tempo de vida que o 1O_2 apresenta após sua geração por

transferência de energia do FS em T₁ para o $^3\text{O}_2$.^{66,67} Além de contribuir para o carregamento de O₂, o ambiente fluorado dos PFCs pode reduzir a desativação do $^1\text{O}_2$ para o estado fundamental, favorecendo sua persistência local e consequentemente, sua citotoxicidade frente às células tumorais. Day e Sletten⁶⁸ reportaram que o tempo de vida do oxigênio singleto em ambientes perfluorados pode ser até 1000 vezes maior do que em água.

Figura 8. Representação conceitual das micelas de F127 modificadas com cadeias perfluoradas, capazes de carrear simultaneamente O₂ dissolvido e RB para o ambiente hipóxico tumoral. A RB encapsulada é fotoativada após irradiação e pode interagir com o oxigênio molecular, gerando as espécies citotóxicas, especialmente $^1\text{O}_2$.



Fonte: Autor, criado utilizando BioRender.com

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar nanocarreadores micelares à base de Pluronic® F127 funcionalizado com cadeias perfluoradas, visando à incorporação da rosa de bengala e ao aumento da disponibilidade de oxigênio molecular em sistemas com potencial aplicação em terapia fotodinâmica.

3.2 Objetivos Específicos

- I. Obter derivados do Pluronic® F127 contendo cadeias octanoíla e perfluoradas, empregando o análogo não fluorado como sistema de comparação;
- II. Avaliar as evidências de funcionalização química e a influência das cadeias introduzidas sobre as propriedades dos copolímeros;
- III. Desenvolver formulações micelares contendo rosa de bengala e investigar sua associação aos sistemas preparados;
- IV. Comparar a influência das cadeias octanoíla e perfluoradas sobre as propriedades coloidais e o comportamento espectroscópico e fotofísico das formulações;
- V. Investigar a influência do segmento perfluorado sobre a disponibilidade de oxigênio dissolvido e sobre a geração aparente de oxigênio singleto nas condições avaliadas;
- VI. Estabelecer procedimentos de segurança e descarte adequados aos reagentes e resíduos gerados no trabalho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

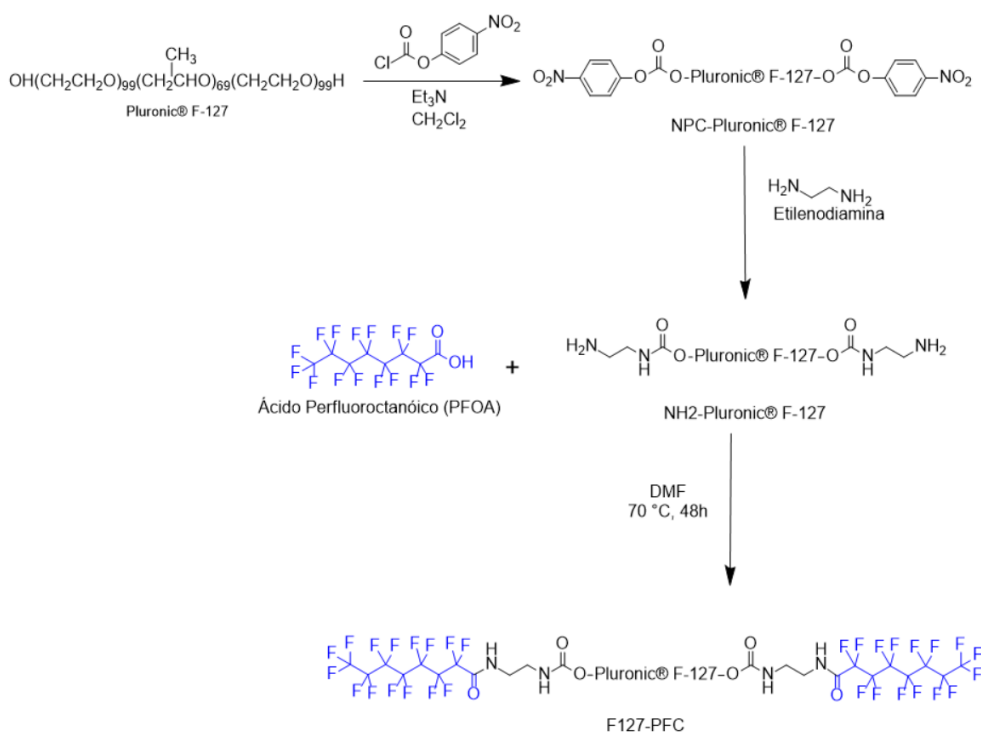
4.1 Materiais e Reagentes

Pluronic® F127, cloroformato de 4-nitrofenila (NPC), etilenodiamina, trietilamina (TEA), diclorometano (DCM), N,N-dimetilformamida (DMF), clorofórmio, etanol, tampão fosfato salino (PBS, pH 7,4), sal dissódico de Rosa de Bengala (RB), ácido octanóico, ácido perfluorooctanóico (PFOA), água ultrapura e ácido 9,10-antracenodiil-bis(metileno)dimalônico (ABDA) foram empregados nas etapas de síntese, preparo das micelas e ensaios fotofísicos. Todos os reagentes e solventes possuem grau analítico, fornecidos pelo Grupo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos e Nanotecnologia (Photon) e adquiridos dos fornecedores Sigma-Aldrich/Merck.

4.2 Síntese do Copolímero Fluorado (F127-PFC)

A modificação do copolímero tribloco F127 segue uma sequência de reações representadas na Figura 9.

Figura 9. Rota sintética para obtenção do polímero modificado F127-PFC.



Fonte: Autor, criado utilizando ChemDraw Ultra 12.0.

Inicialmente, o Pluronic® F127 foi funcionalizado com cloroformato de nitrofenila (NPC) para obtenção do intermediário NPC-F127. Para isso, o F127 foi solubilizado em diclorometano, na presença de TEA, e reagido com NPC sob agitação. Após a reação, o produto foi purificado por diálise para remoção de reagentes não reagidos e subprodutos de baixa massa molar. Em seguida, o NPC-F127 foi dissolvido em CH_2Cl_2 e reagido com etilenodiamina, visando à substituição do grupo nitrofenil carbonato e à obtenção do intermediário aminado NH_2 -F127. Após nova etapa de purificação, o intermediário NH_2 -F127 foi empregado na etapa de modificação com cloreto de perfluorooctanoíla, derivado ativado do ácido perfluorooctanoico.

A etapa seguinte consistiu na obtenção do produto final F127-PFC, a partir da reação entre o NH_2 -F127 e o cloreto de perfluorooctanoíla. Para isso, 1 mmol de NH_2 -F127 e 2 mmol de TEA foram solubilizados em 15 mL de DMF anidro. Em seguida, foi adicionada, gota a gota, uma solução contendo 2 mmol de cloreto de perfluorooctanoíla em 5 mL de DMF anidro. A mistura foi mantida sob agitação a 70 °C por 48 h. Após esse período, a solução foi transferida para uma membrana de diálise com MWCO de 3500 Da e dialisada contra água pura, à temperatura ambiente, por 48 h. O produto final, F127-PFC, foi obtido por liofilização.

O cloreto de perfluorooctanoíla corresponde à forma ativada do ácido perfluorooctanoico, uma vez que a substituição do grupo hidroxila do ácido pelo cloreto origina um derivado de acila mais reativo. Seu carbono carbonílico apresenta elevada suscetibilidade ao ataque nucleofílico da amina terminal do NH_2 -F127. A reação ocorre por substituição nucleofílica acílica, envolvendo a formação de um intermediário tetraédrico e a posterior eliminação do íon cloreto, resultando na formação da ligação amida. A trietilamina atua como base e sequestrante do HCl formado durante a reação, reduzindo a protonação da amina nucleofílica e favorecendo a obtenção do produto funcionalizado.

4.3 Síntese do Copolímero Não Fluorado (F127-OA)

O copolímero F127-OA foi preparado de forma análoga ao F127-PFC, utilizando-se uma cadeia octanoíla como substituinte hidrofóbico não fluorado. Dessa

forma, o F127-OA foi empregado como controle estrutural para diferenciar efeitos associados à hidrofobização do polímero daqueles especificamente relacionados à presença de segmentos perfluorados. Após a reação, o produto foi purificado por diálise e obtido na forma sólida por liofilização.

4.4 Caracterização dos Copolímeros Sintetizados

4.4.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de IV do F127-OA e F127-PFC foram obtidos no equipamento Alpha - Bruker, disponível na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. As amostras sólidas foram analisadas diretamente, e os espectros foram utilizados para investigar bandas associadas à matriz do Pluronic® F127, às carbonilas introduzidas durante a funcionalização e, no caso do F127-PFC, às regiões compatíveis com estiramentos C-F.

4.4.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As amostras de F127-OA e F127-PFC foram dissolvidas em CDCl_3 e transferidas para tubos de RMN de 5 mm. Os espectros foram obtidos em espectrômetro de 400 MHz disponível na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. Para o F127-PFC, além do ^1H RMN, o ^{19}F RMN foi avaliado para detectar presença do segmento perfluorado. Os dados foram processados pelo software MestReNova.

4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica dos copolímeros F127-OA e F127-PFC foi avaliada por análise termogravimétrica (TGA) e sua primeira derivada (DTG) no Laboratório de Análises Térmica do Departamento de Química da UFSC utilizando o equipamento DTG-60H - Shimadzu. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min, taxa de aquecimento de 10 °C/min e aquecimento de 25 °C até 700 °C. Os parâmetros extraídos incluíram temperaturas de perda de massa de 2, 5, 10 e 50%, temperatura de máxima taxa de degradação e o resíduo final.

4.4.4 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

As propriedades térmicas dos copolímeros F127-OA e F127-PFC foram avaliadas por DSC em equipamento da TA Instruments Q2000, disponível no Laboratório de Análises Térmica do Departamento de Química da UFSC. As amostras sólidas foram acondicionadas em células de alumínio, em atmosfera de nitrogênio 50 mL/min e submetidas ao programa de aquecimento de 10 °C/min de 0 °C a 200 °C. Os termogramas foram utilizados para avaliar eventos endotérmicos associados à matriz polimérica e verificar se a modificação química alterou de maneira relevante o comportamento térmico dos copolímeros.

4.5 Concentração Micelar Crítica (CMC)

A CMC foi determinada por medidas de tensão superficial pelo método da gota na Central de Análises da Engenharia Química de Alimentos, UFSC utilizando um goniômetro da marca ramé-Hart 250. Soluções aquosas dos copolímeros foram preparadas em concentrações de $5,0 \times 10^{-7}$ mg mL⁻¹ até 4,0 mg mL⁻¹. A tensão superficial foi medida para cada concentração, e os dados foram representados em função do logaritmo da concentração do polímero. A CMC foi estimada pela interseção entre duas regiões lineares da curva, com a primeira associada à redução da tensão superficial com o aumento da concentração do copolímero e a segunda associada à região de menor variação após a formação de micelas.

Para as formulações micelares foram utilizados 20 mg de F127 não modificado e 5 mg do copolímero modificado, resultando em uma concentração de 5 mg mL⁻¹, sendo 1 mg mL⁻¹ correspondente ao copolímero funcionalizado. Essa condição foi empregada para favorecer a formação de micelas em meio aquoso e permitir a incorporação do FS ao sistema.

4.6 Preparação das Micelas Poliméricas

As micelas poliméricas de F127-OA e F127-PFC foram preparadas pelo método de dispersão sólida/filme fino, adaptado de metodologias empregadas para incorporação de FSs em micelas de Pluronic®.⁴⁶ Inicialmente, 20 mg do copolímero não modificado e 5 mg do copolímero modificado foram solubilizados em 5 mL de

clorofórmio em balão de fundo redondo. O solvente foi removido por evaporação rotacional sob pressão reduzida, formando um filme polimérico fino nas paredes do balão. O filme foi mantido em dessecador sob vácuo por 24 h para remoção de solvente residual. Após a secagem, o filme foi hidratado com 5 mL de PBS (pH 7,4), sob aquecimento e sonicação por aproximadamente 20 min, promovendo a autoassociação do copolímero em dispersão micelar. As formulações obtidas foram identificadas como F127-OA branco e F127-PFC branco.

4.7 Preparação das Micelas Carregadas com RB

As micelas contendo RB foram preparadas pelo mesmo método de filme fino. Após a dissolução do copolímero em clorofórmio, uma alíquota (25 μL) da solução estoque de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol foi adicionada ao balão antes da evaporação do solvente para uma concentração final de $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, o solvente foi removido por evaporação rotacional, o filme foi mantido em dessecador sob vácuo e posteriormente hidratado com PBS (pH 7,4) sob aquecimento e sonicação. Foram preparadas formulações contendo F127-OA + RB e F127-PFC + RB.

4.8 Caracterização Físico-Química das Micelas

4.8.1 Tamanho Hidrodinâmico e Potencial Zeta

O diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI) das micelas e as curvas de correlação foram determinados por espalhamento dinâmico de luz (DLS), utilizando equipamento Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments), disponível no laboratório 201 do Departamento de Química da UFSC. O potencial zeta das formulações foi determinado no mesmo equipamento. Foram analisadas micelas brancas e micelas carregadas com RB, incluindo F127-OA branco, F127-OA + RB, F127-PFC branco e F127-PFC + RB. Também foram conduzidas rampas de temperatura variando de 20, 25, 30, 35, 37 e 42 °C para avaliar a influência do aquecimento sobre o tamanho hidrodinâmico e a distribuição das formulações.

4.8.2 Eficiência de Encapsulação (EE%)

A eficiência de encapsulamento do F127-OA-RB e do F127-PFC-RB foi quantificada utilizando filtros de centrifugação Microcon-10KDa. Foram adicionados 500 µL das formulações com concentrações de 100 µM ao microtubo contendo o filtro. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 30 minutos. O FS livre foi quantificado por absorção no UV-vis. As análises foram realizadas em triplicata e o cálculo para a concentração livre foi feito utilizando a lei de Lambert-Beer para então ser calculada a eficiência de encapsulamento (Equação 1).

$$EE\% = \frac{C_{total} - C_{livre}}{C_{total}} \times 100 \quad (1)$$

4.9 Caracterização espectroscópica das micelas contendo RB

4.9.1 Espectroscopia de absorção no UV-vis

Os espectros de absorção UV-Vis foram obtidos para a RB em meio de referência e para as formulações micelares contendo RB. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo de 1 cm, no equipamento UV- Vis Varian Cary® 50, presente no laboratório de pesquisa Photon, Departamento de Química, UFSC. Os espectros foram registrados na região de absorção da RB, com correção de linha de base. Foram avaliadas as bandas características da RB na região do visível.

4.9.2 Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos para RB livre e para as formulações F127-OA + RB e F127-PFC + RB no Espectrofotômetro Cary Eclipse, presente no laboratório 201 do Departamento de Química, UFSC. As amostras foram excitadas no comprimento de onda de 490 nm com faixa de leitura de 500-800 nm. Para comparação entre as formulações, foram avaliados o máximo de emissão, a intensidade máxima e a área espectral integrada.

4.9.3 Rendimento quântico de fluorescência

O rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) das formulações foi calculado utilizando RB em PBS como referência, com rendimento quântico de fluorescência padrão (Φ_P) de 0,018.⁶⁹ Para cada amostra, a área integrada de emissão foi corrigida pela absorbância no comprimento de onda de excitação. O cálculo foi realizado de acordo com a Equação 2:

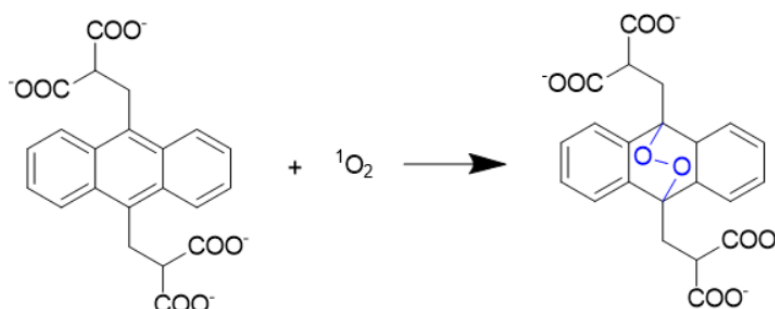
$$\Phi_F = \frac{Abs_p A_{FS} n^2}{Abs_{FS} A_p n_{FS}^2} \Phi_P \quad (2)$$

Onde Φ_F é o rendimento quântico de fluorescência da amostra, Abs_P é a absorbância do padrão e Abs_{FS} é a absorbância do FS no comprimento de onda de excitação, n é índice de refração do meio, A_P e A_{FS} são respectivamente a área do espectro de emissão de fluorescência do padrão e do FS e Φ_P é o rendimento de fluorescência do padrão.

4.9.4 Rendimento quântico de oxigênio singleto

A geração de oxigênio singleto foi avaliada por método indireto utilizando ABDA como sonda química. As amostras contendo RB foram misturadas à solução de ABDA e irradiadas sob condições controladas. A degradação da sonda foi monitorada por espectroscopia UV-Vis ao longo do tempo, acompanhando a redução da absorbância característica do ABDA. O ABDA é um derivado do antraceno que pode ser convertido em seu endoperóxido (Figura 10) correspondente após reação com o 1O_2 , o que pode ser acompanhado pela redução na absorbância nos comprimentos de onda de 340, 355, 378 e 401 nm.⁷⁰ A partir do decaimento da absorbância, foram obtidas constantes aparentes de degradação para a sonda na presença das diferentes formulações.

Figura 10. Reação de Diels-Alder entre ABDA e 1O_2 .



Fonte: Adaptado de Ricken.⁷¹

A partir do decaimento da absorbância do ABDA, foram obtidas constantes de degradação da sonda na presença de diferentes formulações. Para isso, a absorbância do ABDA foi normalizada em relação ao valor inicial e ajustada considerando o comportamento de pseudo-primeira ordem, conforme a equação 3.

$$\ln \left(\frac{Abs_{ABDA_t}}{Abs_{ABDA_0}} \right) = -k_{ABDA} t \quad (3)$$

De forma complementar, a fotodegradação da RB também foi acompanhada pela redução de sua absorbância no seu $\lambda_{m\acute{a}x}$, permitindo obter a constante K_{RB} .

Como as formulações podem absorver quantidades diferentes de luz, a geração de 1O_2 foi normalizada pelo número de fótons absorvidos por cada sistema (N_{Abs}), calculado conforme descrito na literatura.^{50,72} O cálculo é obtido por meio da equação 4.

$$N_{Abs} = \frac{1}{hcN_a} \int_0^t \int_{\lambda_i}^{\lambda_f} P_e(\lambda) (1 - 10^{-Abs(\lambda)}) e^{-k_{FS} t} \lambda d\lambda dt \quad (4)$$

Onde h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz, N_a é o número de Avogadro, I é a irradiância da fonte de luz ($mW\ cm^{-2}$), e λ_f e λ_i são os comprimentos de onda final e inicial, respectivamente. A partir desses valores, é obtida a Eficiência Fotodinâmica (γ_{Δ}), conforme a equação 5.

$$\gamma_{\Delta} = \frac{k_{ABDA}}{N_{Abs}} \quad (5)$$

Por fim, o rendimento quântico de oxigênio singleto ($\Phi_{\Delta} ^1O_2$) foi calculado utilizando a RB em PBS como padrão, considerando $\Phi_{\Delta} ^1O_2$ padrão igual a 0,8.⁷³ O resultado do $\Phi_{\Delta} ^1O_2$ é obtido a partir da equação 6.

$$\Phi_{\Delta} ^1O_2 = \frac{\Phi_{\Delta}^{Padr\tilde{a}o}}{\gamma_{\Delta}^{Padr\tilde{a}o}} \gamma_{\Delta}^{Amostra} \quad (6)$$

4.10 Medidas de oxigênio molecular dissolvido nas amostras

A disponibilidade de oxigênio dissolvido nas formulações foi avaliada por meio de medidor de oxigênio dissolvido, com resultados expressos em $mg\ L^{-1}$. Foram

analisadas as formulações F127-OA branco, F127-OA + RB, F127-PFC branco e F127-PFC + RB. As leituras foram realizadas antes e após agitação por vórtex, com o objetivo de verificar a influência da aeração/agitação sobre a quantidade de O₂ dissolvido nas dispersões.

4.11 Segurança no Laboratório e Tratamento de Resíduos

Todas as etapas envolvendo solventes orgânicos, reagentes fluorados, DMF, DCM, clorofórmio e TEA foram realizadas em capela de exaustão, utilizando jaleco, luvas adequadas e óculos de proteção. Os resíduos orgânicos halogenados, fluorados e não halogenados foram segregados em frascos apropriados, conforme as normas de descarte do laboratório. Soluções aquosas contendo corantes e sondas fotossensíveis foram armazenadas em frascos identificados e protegidas da luz até o descarte adequado. A RB e o ABDA foram manuseados evitando exposição desnecessária à luz, uma vez que se tratam de compostos fotossensíveis. As etapas de irradiação foram conduzidas com cuidado para evitar exposição direta dos olhos à fonte luminosa, sendo recomendável o uso de barreiras físicas ou óculos de proteção compatíveis com o comprimento de onda empregado.

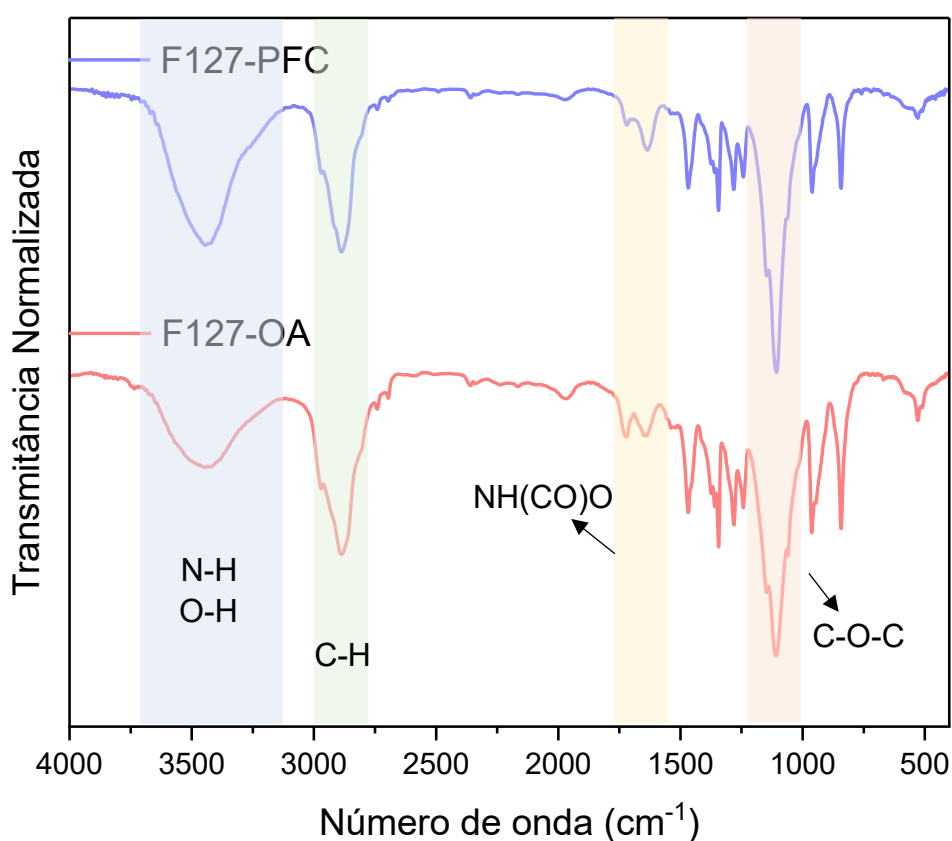
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização estrutural dos copolímeros F127-OA e F127-PFC

5.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR

A Figura 11 apresenta os espectros normalizados de FTIR dos copolímeros F127-OA e F127-PFC. De modo geral, ambos os espectros apresentam bandas características da matriz do Pluronic® F127.⁷⁴ Isso indica que a estrutura polimérica principal foi preservada após as modificações. Observa-se uma banda intensa na região de aproximadamente 2885 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C-H dos grupos alifáticos, compatível com as unidades de PEO/PPO do copolímero. Também são observadas bandas na região de $1150\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$, associadas principalmente ao estiramento C-O-C das unidades éter presentes no F127. A presença de sinais na região de carbonila ($1700\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$) também é relevante, pois pode estar associada aos grupos carbamato e/ou amida formados nas etapas de modificação do F127.

Figura 11. Espectros de FTIR dos copolímeros F127-PFC e F127-OA normalizados.



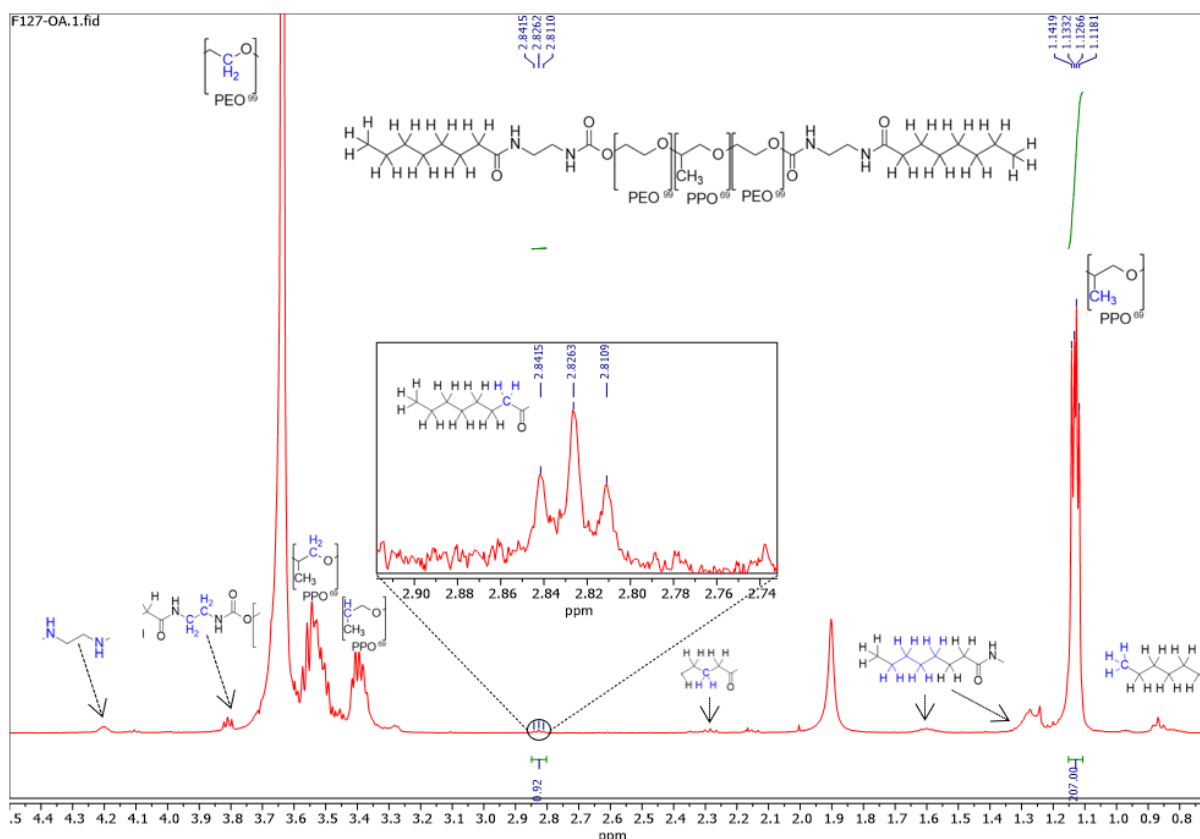
Além das bandas da matriz polimérica, os espectros apresentam contribuição na região de 3550-3200 cm^{-1} , que pode ser atribuída a estiramentos N-H e/ou O-H residuais, compatíveis com grupos introduzidos durante a rota de funcionalização e com interações por ligação de hidrogênio. Comparativamente, o espectro do F127-PFC apresenta diferenças mais pronunciadas na região entre 1400 e 1000 cm^{-1} . Essa faixa contém contribuições de estiramentos C-F, esperados para segmentos perfluorados, embora também ocorra sobreposição com bandas C-O-C do próprio F127.⁷⁵ Assim, o aumento e a alteração do perfil nessa região para o F127-PFC são compatíveis com a introdução dos grupos fluorados, porém a análise deve ser interpretada em conjunto com os dados de RMN, especialmente ^{19}F , para a confirmação estrutural mais direta. Os espectros de FTIR individuais do F127-OA e F127-PFC podem ser vistos nos apêndices A e B, respectivamente.

5.1.2 Ressonância magnética nuclear

A caracterização por RMN foi realizada com o objetivo de complementar os dados de FTIR e fornecer evidências mais específicas das modificações realizadas nos copolímeros. A Figura 12 apresenta o espectro de ^1H RMN do F127-OA, no qual são observados sinais intensos na região de aproximadamente 3,4-3,7 ppm, atribuídos aos hidrogênios das unidades PEO/PPO da matriz do F127. Também é observado um sinal intenso em torno de 1,1 ppm, associado aos grupos metila do bloco PPO. Esses sinais são esperados para copolímeros do tipo PEO-PPO-PEO e indicam a manutenção da estrutura principal do F127 após a modificação.⁷⁶

Além dos sinais da matriz polimérica, o espectro apresenta contribuições de menor intensidade compatíveis com a presença da cadeia octanoíla. Na região entre 0,8 e 0,9 ppm, observam-se sinais atribuídos aos hidrogênios do grupo metila terminal da cadeia alifática. Entre aproximadamente 1,2 e 1,6 ppm, aparecem sinais relacionados aos grupos metileno internos da cadeia octanoíla, embora essa região apresente sobreposição parcial com o sinal dos grupos metila do bloco PPO. Esses sinais são coerentes com a introdução da cadeia dos hidrocarbonetos do ácido octanóico no copolímero.

Figura 12. Análise de RMN de ^1H do copolímero de F127-OA em CDCl_3 .



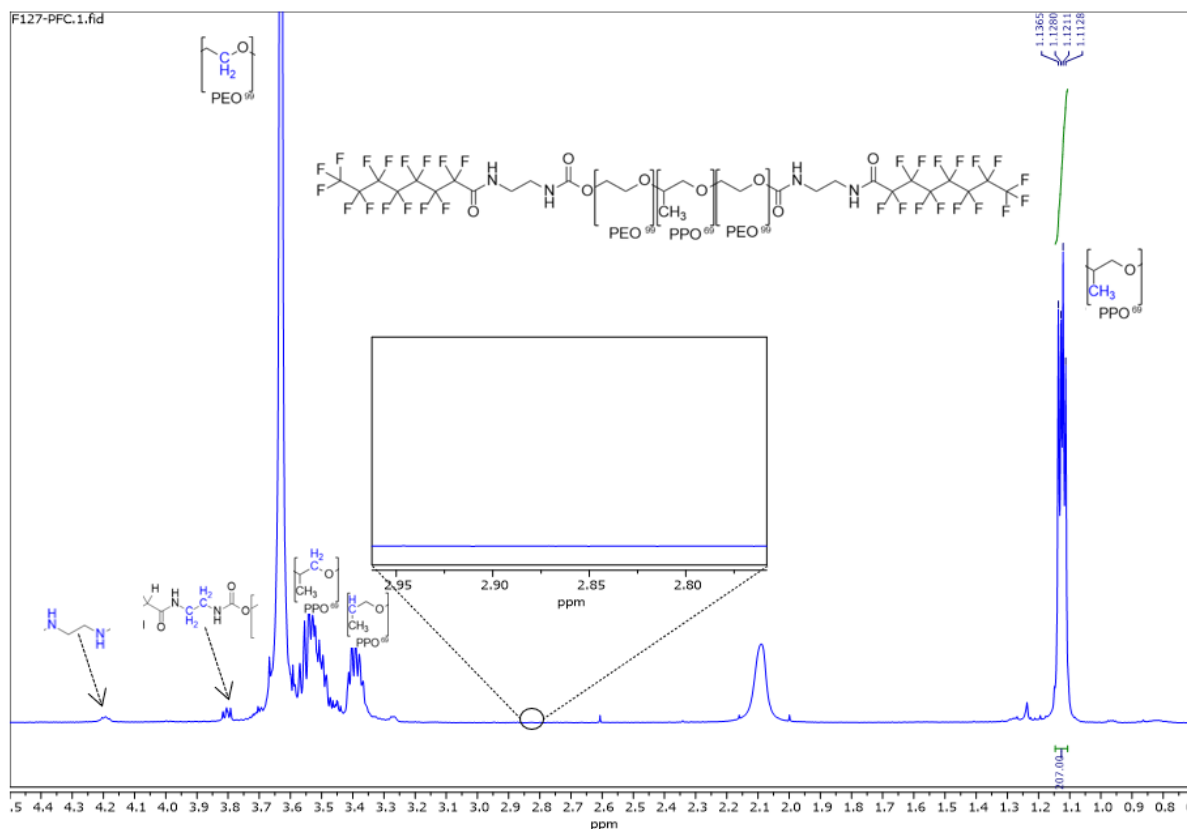
Outro sinal relevante está na região de 2,8 ppm, sendo compatível com os hidrogênios em ambiente desblindado próximo ao carbamato. Essa atribuição é coerente, pois esses hidrogênios se encontram em ambiente mais desblindados do que os metilenos internos da cadeia, devido à proximidade com a carbonila. Os sinais entre 3,7 e 4,2 ppm podem estar associados aos hidrogênios próximos à etilenodiamina ou ao carbamato introduzido durante a síntese. Dessa forma, o espectro de ^1H RMN do F127-OA evidencia sinais coerentes com a estrutura esperada para o copolímero controle. O RMN de ^{19}F do F127-OA não apresentou sinais relevantes, como esperado para o copolímero controle não fluorado, seu espectro pode ser observado no apêndice C.

A Figura 11 representa o espectro de ^1H RMN do copolímero F127-PFC, assim como observado para o F127-OA, o espectro é dominado pelos sinais característicos da matriz PEO-PPO-PEO do F127. Diferentemente do F127-OA, o espectro do F127-PFC não apresenta contribuições alifáticas intensas atribuíveis a uma cadeia hidrocarbonada terminal, uma vez que o segmento perfluorado introduzido apresenta substituição majoritária dos hidrogênios por flúor. Dessa forma, a ausência e baixa

intensidade de sinais na região típicas dessas cadeias de hidrocarbonetos, especialmente entre 0,8 e 2,4 ppm, é compatível com a presença de uma cadeia perfluorada em vez de uma cadeia octanoíla hidrocarbonada.

Sinais de baixa intensidade próximos a 3,7-4,2 ppm podem estar relacionados a hidrogênios do grupo do carbamato e a grupos próximos à extremidade modificada do polímero. Não obstante, essas regiões apresentam sobreposição parcial com os sinais da matriz PEO/PPO, o que torna a atribuição individual precisa por ^1H RMN limitada.

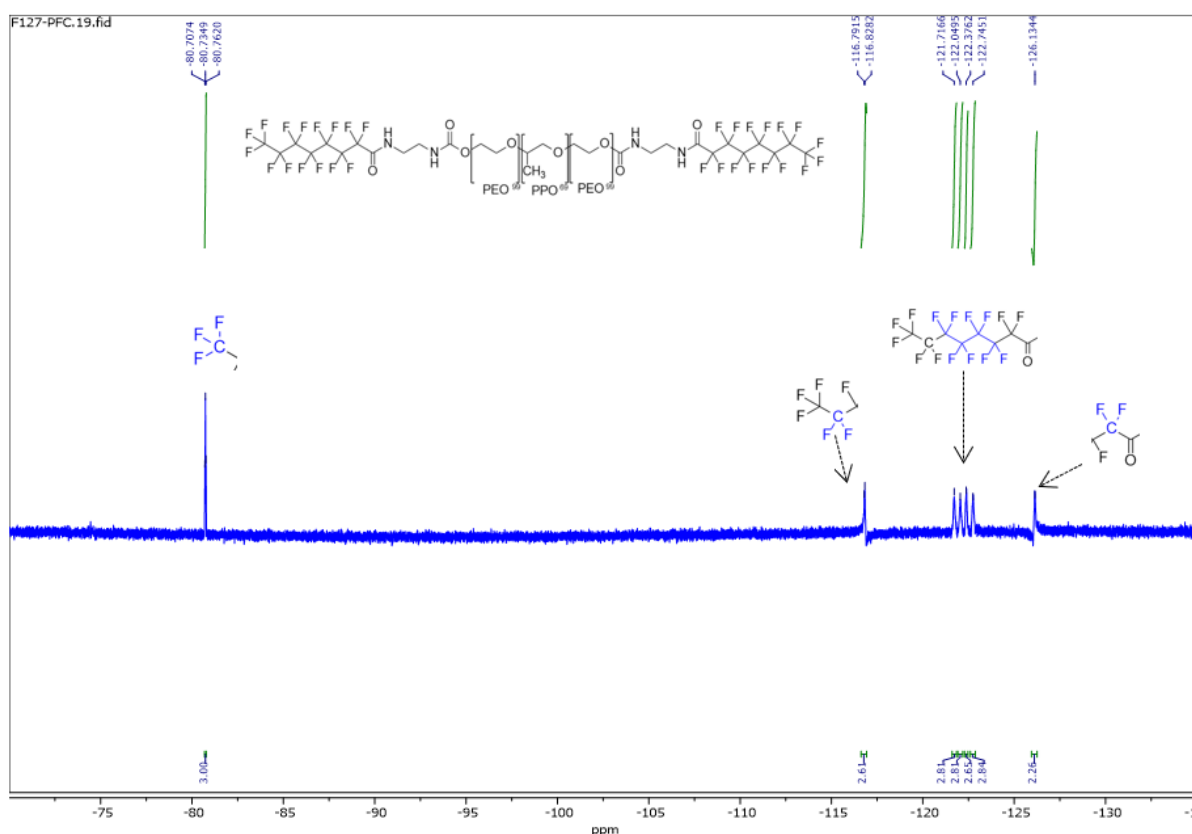
Figura 13. Espectro de ^1H RMN do copolímero F127-PFC em CDCl_3 .



O espectro de ^{19}F RMN do copolímero F127-PFC, Figura 14, diferentemente do F127-OA que não apresentou sinais relevantes, exibiu múltiplos sinais na região característica de núcleos de flúor em cadeias perfluoroadas, os sinais observados são compatíveis com a presença de grupos perfluorados na amostra. Observam-se sinais aproximadamente em -81, -116, -121 a -124 e -126 ppm, atribuídos a diferentes ambientes químicos de átomos de flúor presentes na cadeia perfluorada. O sinal em torno de -81 ppm é compatível com grupos CF_3 terminais, enquanto os sinais entre

aproximadamente -121 e -126 ppm são atribuídos a grupos CF_2 em diferentes posições da cadeia perfluoradas. Destacando-se a multiplicidade de sinais na região entre -121 e -124 ppm que é coerente com a presença das unidades CF_2 internas e o sinal em -126 condiz com a unidade CF_2 próxima ao carbamato. É importante ressaltar que como não foi empregado um padrão específico para a determinação absoluta dos deslocamentos químicos de ^{19}F , os valores de δ devem ser interpretados com cautela. Entretanto, a distribuição relativa dos sinais e sua concordância com as regiões descritas na literatura para a cadeia perfluorooctanoíla sustentam a presença dos diferentes ambientes de flúor no material. Lewis *et al.*⁷⁷ chegaram a um resultado muito próximo ao analisarem o espectro do ácido perfluorooctanóico.

Figura 14. Espectro de ^{19}F RMN do copolímero F127-PFC em CDCl_3 .



Dessa forma, o espectro de ^{19}F RMN fornece a evidência mais direta da modificação esperada do F127 com os segmentos perfluorados.

Tabela 1. Comparação dos deslocamentos químicos obtidos do polímero modificado.

Grupo	δ esperado	δ observado
CH ₃ PPO	1,05	1,10
CH ₂ PEO	3,50 - 3,70	3,55
NHCOCH ₂	2,7 - 3,2	2,8
CF ₃	-81	-81
CF ₂ α C=O	-116	-116

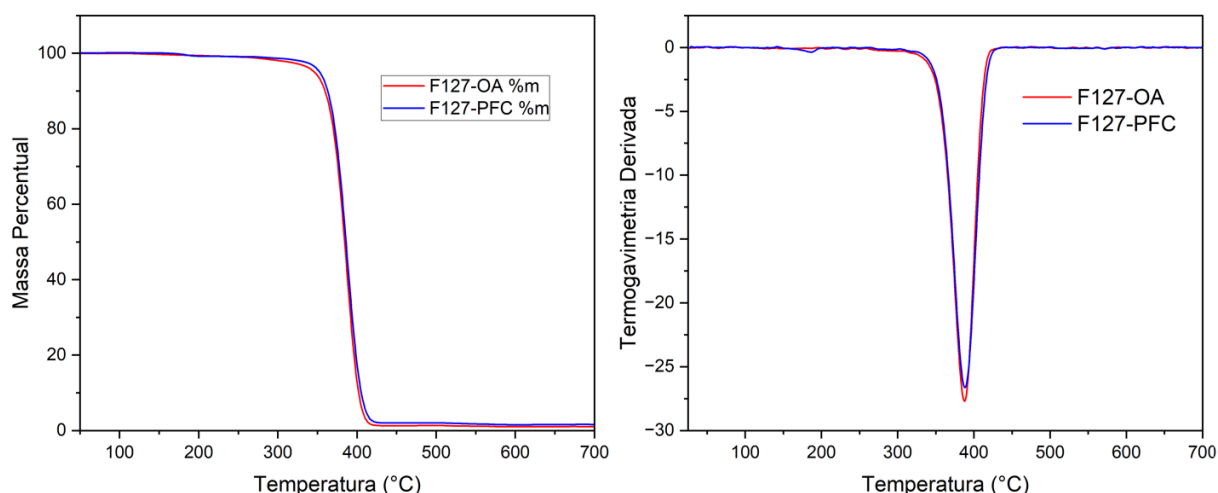
Em conjunto com os resultados de FTIR, que mostraram alterações na região dos estiramentos C-F, os dados de RMN sustentam a obtenção do copolímero F127-PFC. Enquanto as análises de ¹H RMN evidenciam a preservação da matriz PEO-PPO-PEO do F127 assim como a modificação esperada do F127-OA.

5.2 Caracterização térmica dos copolímeros

5.2.1 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos copolímeros F127-OA e F127-PFC foi avaliada por TGA/DTG em atmosfera de nitrogênio. A Figura 15 apresenta as curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas, nas quais se observa que ambos os copolímeros apresentam comportamento térmico semelhante, com um evento principal de degradação em temperaturas superiores a 350 °C.

Figura 15. Análise termogravimétrica dos copolímeros F127-OA e F127-PFC e suas derivadas.



Para o F127-OA, a principal perda de massa ocorre entre 366 e 403 °C, com pico máximo de degradação em torno de 388 °C, correspondendo a uma perda de massa próxima de 99%. Esse comportamento indica que o copolímero apresenta elevada estabilidade térmica até a faixa de degradação da matriz polimérica, sendo a perda de massa associada majoritariamente à decomposição do esqueleto PEO-PPO-PEO e dos grupos orgânicos introduzidos na modificação.

De maneira semelhante, o F127-PFC apresenta evento principal de degradação entre 367 e 407 °C, com o pico máximo também próximo de 388 °C. A proximidade entre as temperaturas de degradação dos dois copolímeros indica que a introdução do segmento perfluorado não promoveu redução ou aumento expressivo da estabilidade térmica em relação ao copolímero de controle negativo. Para o F127-PFC, observa-se ainda uma pequena perda de massa entre aproximadamente 172 e 195 °C, correspondente a cerca de 0,86%, essa perda pode estar associada à eliminação de resíduos voláteis ou solventes remanescentes do processo de síntese e purificação.

A semelhança entre os gráficos de TGA reforça que as modificações realizadas nas extremidades do F127 não comprometeram de forma significativa a estabilidade térmica da matriz polimérica. Além disso, o baixo teor de resíduo ao final da análise é compatível com a natureza predominantemente orgânica dos copolímeros avaliados. Esse resultado é relevante porque segmentos perfluorados são frequentemente associados à elevada estabilidade química e térmica, o que pode dificultar processos de degradação.⁷⁸ No entanto, nas condições avaliadas, a introdução do PFC não deslocou a degradação principal para temperaturas muito mais elevadas nem resultou

em aumento expressivo de resíduo final, o que pode ser considerado um aspecto positivo para o desenvolvimento do sistema.

5.2.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A caracterização térmica dos copolímeros também foi avaliada por DSC, com o objetivo de investigar possíveis alterações nas transições térmicas da matriz polimérica após as modificações estruturais. A Figura 16 apresenta as curvas de DSC dos copolímeros F127-OA e F127-PFC, enquanto a Tabela 1 resume os principais parâmetros térmicos obtidos.

Figura 16. Curvas de DSC dos copolímeros F127-OA e F127-PFC.

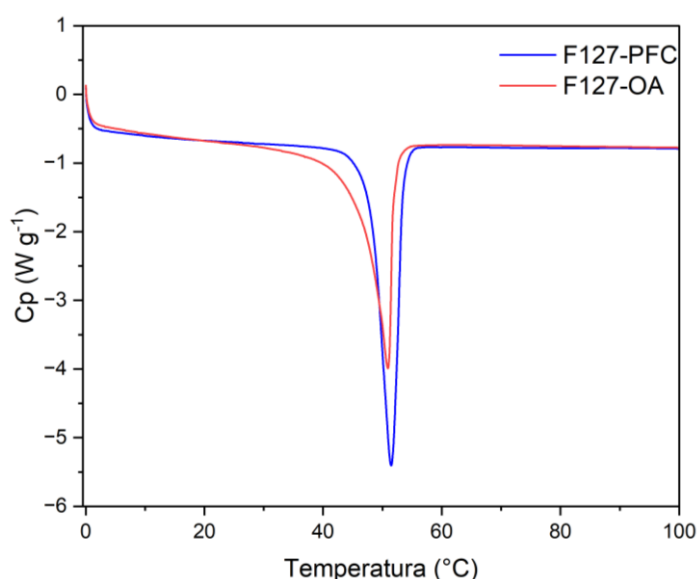


Tabela 2. Parâmetros térmicos dos copolímeros modificados.

Amostra	1º Evento (°C)	$\Delta J g^{-1}$
F127-OA	46,43 – 50,88	113,3
F127-PFC	47,81 – 51,46	112,1

Ambos os copolímeros apresentaram um evento endotérmico que pode ser atribuído à fusão dos domínios semicristalinos associados principalmente aos segmentos de PEO do F127.⁷⁹ A proximidade entre as faixas de temperatura e os valores de entalpia indica que a introdução das cadeias octanoíla e perfluoradas não promoveu alteração expressiva na transição térmica principal da matriz polimérica.

Dessa forma, as modificações realizadas nas extremidades do F127 não parecem comprometer a organização semicristalina característica do copolímero PEO-PPO-PEO.

Assim, os dados de DSC reforçam que os copolímeros modificados mantêm comportamento térmico semelhante, em conjunto com os dados de TGA, esses resultados indicam que as modificações estruturais não comprometeram de forma significativa o comportamento térmico geral dos copolímeros.

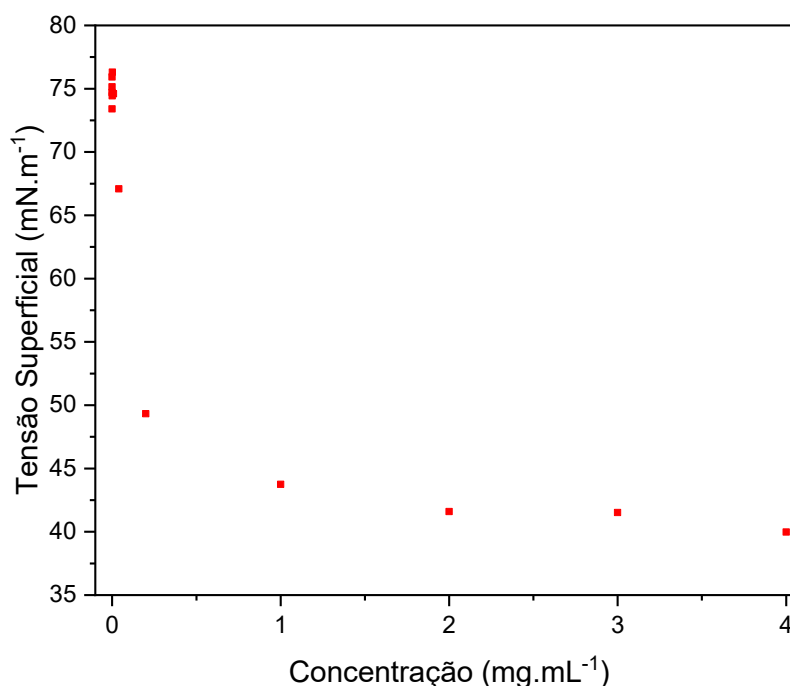
5.3 Formação das micelas

5.3.1 Concentração micelar crítica

A formação micelar dos copolímeros foi avaliada por meio da determinação da CMC, utilizando medidas de tensão superficial (γ) em função da concentração. A CMC é um parâmetro importante para sistemas anfifílicos, pois representa a faixa de concentração a partir da qual a formação das micelas passa a ser favorecida no meio aquoso. No caso de copolímeros em bloco, essa transição pode ocorrer de forma menos abrupta do que em surfactantes de baixa massa molar, sendo comum a estimativa da CMC a partir da mudança de inclinação em curvas de tensão superficial.

A Figura 17 apresenta a variação da tensão superficial em função da concentração do copolímero. Observa-se que, nas menores concentrações, entre $5,0 \times 10^{-7}$ e $8,0 \times 10^{-3} \text{ mg mL}^{-1}$, a tensão superficial permaneceu próxima de $73\text{-}76 \text{ mN m}^{-1}$, indicando baixa alteração da interface da água nessa faixa. A partir de $0,04 \text{ mg mL}^{-1}$ ocorre a redução mais acentuada da tensão superficial, atingindo aproximadamente $49,33 \text{ mN m}^{-1}$ em concentração igual a $0,20 \text{ mg mL}^{-1}$. Em concentrações acima dessa, a variação da γ deixa de ser acentuada e seu valor permanece próximo a 40 mN m^{-1} .

Figura 17. Variação da tensão superficial de soluções do copolímero F127-PFC em função da concentração, a 25°C , utilizada para a estimativa da CMC.



Esse perfil é compatível com o comportamento esperado para copolímeros anfifílicos em solução aquosa. Em baixas concentrações, as moléculas tendem a se distribuir na solução e/ou adsorver na interface entre ar e água, promovendo pouca alteração da tensão superficial. Com o aumento da concentração, ocorre maior ocupação da interface e redução progressiva da tensão superficial. Após a saturação na interface entre ar e água, o excesso de polímero passa a se organizar preferencialmente no volume da solução, formando micelas, o que resulta em menos variação da tensão superficial.

É importante ressaltar que para a obtenção do valor da CMC é necessário calcular a tensão superficial versus o log da concentração, gráfico esse que pode ser encontrado no Apêndice D. A partir da interseção aproximada entre a região de queda da tensão superficial e a região de estabilização, a CMC foi estimada em torno de 0,66 mg mL⁻¹. Dessa forma, os dados de CMC indicam que o copolímero é capaz de formar micelas em condições aquosas. A formação dessas micelas é particularmente importante para o presente trabalho, uma vez que fornece a base estrutural para a incorporação da RB e para a organização dos domínios hidrofóbicos/perfluorados visando o carreamento de oxigênio.

5.3.2 Análises de DLS

A caracterização coloidal das formulações foi realizada por DLS e potencial zeta, com o objetivo de avaliar o diâmetro hidrodinâmico (DH), a distribuição do tamanho e as características superficiais dos agregados formados em meio aquoso. O DLS é uma técnica amplamente utilizada para a análise de sistemas coloidais, pois permite estimar o DH das partículas a partir do movimento browniano. Esse diâmetro não corresponde apenas ao tamanho físico do núcleo micelar, mas inclui também a camada de solvatação e a contribuição das cadeias poliméricas hidratadas na interface com o meio. Dessa forma, em sistemas baseados em F127, o valor obtido por DLS reflete a dimensão aparente das micelas em solução, incluindo a contribuição da corona hidratada de PEO.

Além do DH, o PDI fornece uma estimativa da amplitude da distribuição de tamanhos. Valores mais baixos de PDI indicam distribuições mais homogêneas, enquanto valores elevados sugerem a presença de populações de diferentes tamanhos ou agregados com maior heterogeneidade. O potencial zeta (ζ), por sua vez, fornece informações sobre a carga superficial aparente das partículas e sobre possíveis contribuições eletrostáticas para a estabilidade coloidal. No caso de copolímeros não iônicos, a estabilização nem sempre depende majoritariamente de repulsão eletrostática, podendo ocorrer principalmente por estabilização estérica gerada pelas cadeias hidratadas de PEO.

A Tabela 2 apresenta os valores de DH, PDI e ζ das formulações F127-OA e F127-PFC, na ausência e na presença de RB. As formulações apresentaram DHs na faixa nanométrica, variando de 151 a 363 nm. A diminuição observada do F127-OA Branco para o F127-OA-RB sugere que a presença do FS pode influenciar o empacotamento das cadeias poliméricas e favorecer a formação de agregados ligeiramente menores ou mais compactos.

Tabela 3. Diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI) e potencial zeta (ζ) das formulações preparadas.

Amostra	DH $\pm$ DP (nm)	PDI $\pm$ DP	$\zeta \pm$ DP (mV)
F127-OA Branco	174,16 $\pm$ 8,16	0,482 $\pm$ 0,009	-1,25 $\pm$ 0,49
F127-OA-RB	151,36 $\pm$ 22,83	0,655 $\pm$ 0,034	-3,28 $\pm$ 1,03

F127-PFC Branco	362,86 ± 24,38	0,548 ± 0,087	-2,69 ± 0,36
F127-PFC-RB	187,66 ± 5,86	0,637 ± 0,032	-3,34 ± 0,39

Para o sistema perfluorado, observou-se comportamento semelhante, porém mais pronunciado. O F127-PFC branco apresentou o maior DH entre as formulações. Esse resultado pode estar associado à presença das cadeias perfluoradas, que aumentam o caráter hidrofóbico das extremidades do copolímero e podem favorecer a formação de agregados maiores ou interações intermoleculares mais extensas no meio aquoso. Após a incorporação da RB, observou-se uma diminuição significativa de aproximadamente 52% do DH, indicando uma reorganização considerável do sistema. Tal redução pode estar relacionada à interação a RB com a estrutura micelar, possivelmente modificando o empacotamento das cadeias, o número de agregação e a CMC do sistema, reduzindo a presença de agregados maiores.

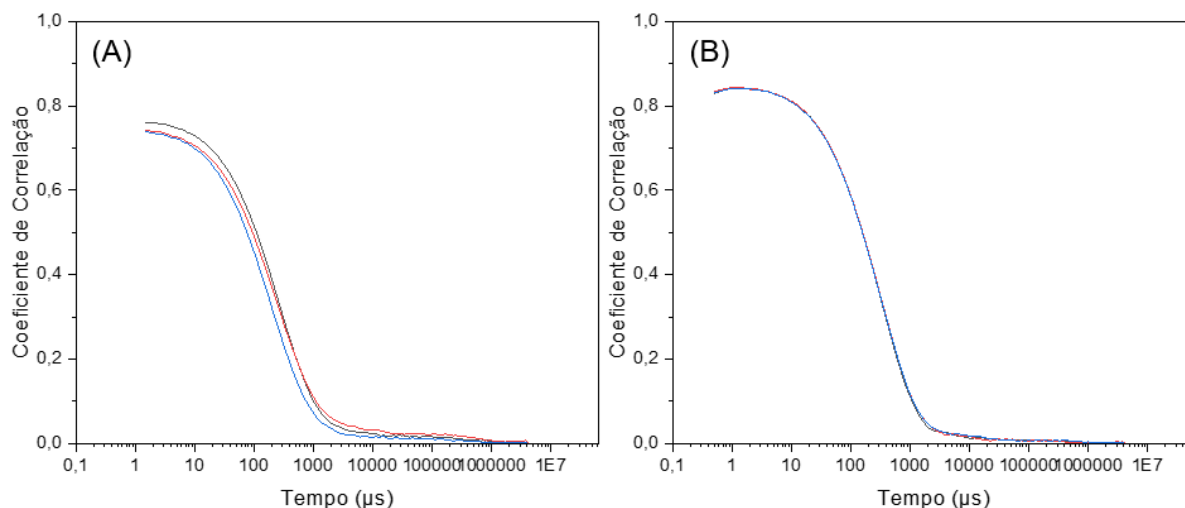
Apesar da formação de partículas nanométricas, os valores de PDI indicam distribuições relativamente amplas. O aumento do PDI nas amostras de F127-OA após a adição da RB indica que as formulações não podem ser descritas como monodispersas, sendo provável a presença de populações de agregados com tamanhos distintos. O aumento do PDI após a incorporação da RB sugere que o FS pode contribuir para uma maior heterogeneidade estrutural, possivelmente pela coexistência de micelas carregadas, não carregadas, agregados com diferentes tamanhos e estruturas reorganizadas após a adição da molécula de FS.

Em relação ao potencial zeta, todas as formulações apresentaram valores próximos da neutralidade, a incorporação da RB tornou os valores de ζ ligeiramente mais negativos. Esse comportamento é coerente com a presença de RB, que pode contribuir com grupos ionizáveis expostos ou parcialmente acessíveis na interface dos agregados. Todavia, a baixa magnitude dos valores de potencial zeta indica que a estabilização eletrostática não é o principal mecanismo de estabilidade dessas formulações.

Os correlogramas obtidos para as formulações contendo RB também auxiliam na avaliação da qualidade das medidas de DLS. Para o F127-OA-RB, observou-se menor correlação entre as medidas, compatível com o valor indicado no PDI. Para o F127-PFC-RB, as curvas de correlação apresentaram um perfil de autocorrelação

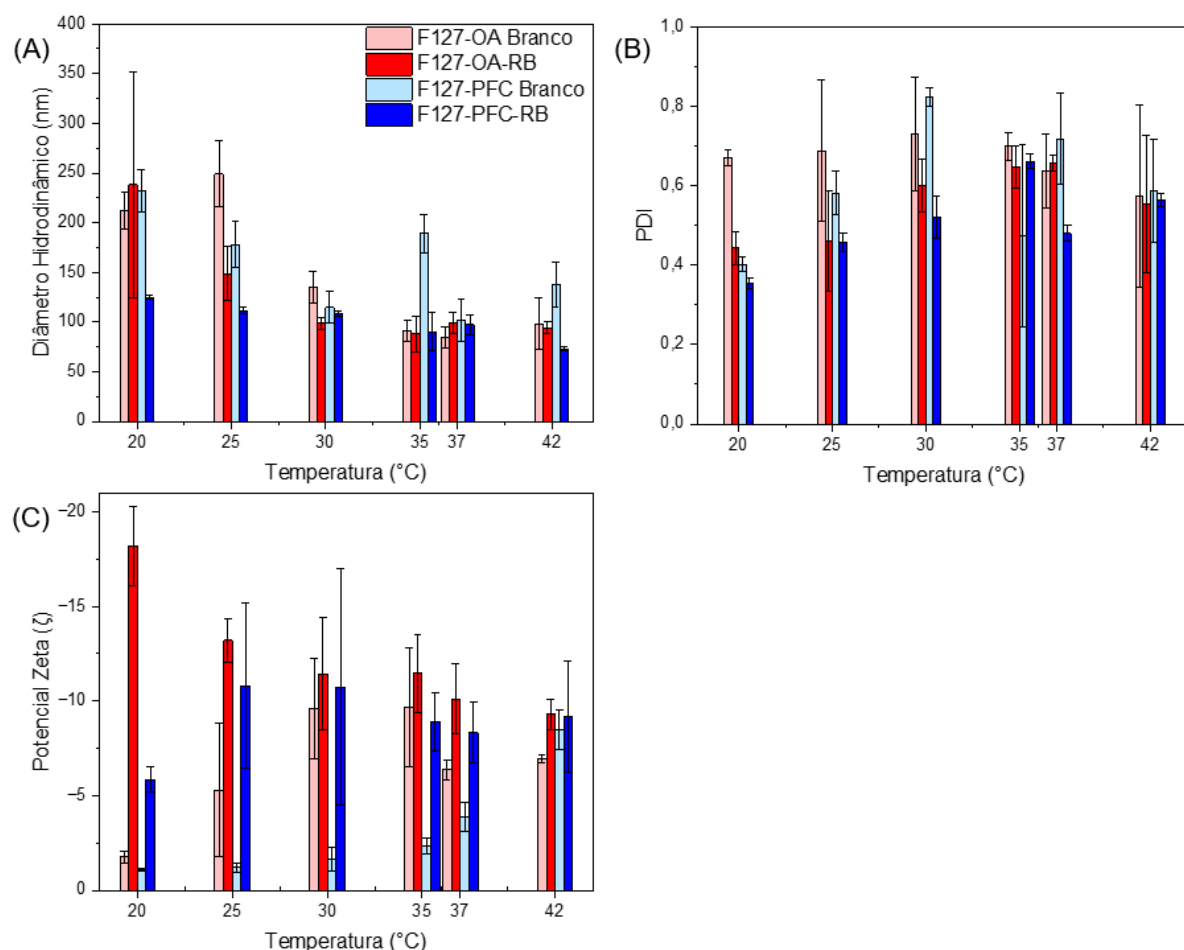
bem definido, sugerindo uma boa confiabilidade das análises. Tal análise sustenta a obtenção de partículas dispersas em solução.

Figura 18. Correlogramas obtidos das formulações com RB incorporada. (A) F127-OA-RB e (B) F127-PFC-RB.



A avaliação das formulações em função da temperatura mostrou que os sistemas mantiveram valores de DH na faixa nanométrica ao longo da faixa avaliada. De modo geral, observou-se tendência de redução ou estabilização do DH em temperaturas mais elevadas, comportamento que pode ser associado à aproximação ou superação da temperatura micelar crítica (CMT) do sistema. Em copolímeros do tipo Pluronic®, a micelização também depende da temperatura, com o aumento da temperatura, ocorre a desidratação progressiva dos blocos PPO, favorecendo as interações hidrofóbicas entre esses segmentos e a organização de um núcleo micelar mais compacto, enquanto os blocos PEO permanecem mais hidratados e contribuem para a estabilização da corona micelar. Dessa forma, a redução do DH em algumas formulações pode estar relacionada à reorganização das cadeias PEO/PPO e à compactação das micelas acima da faixa de transição micelar.

Figura 19. Análise de estabilidade em gradientes de temperatura variando de 20, 25, 30, 35, 37 e 42 °C das amostras F127-OA Branco, F127-OA-RB, F127-PFC Branco e F127-PFC-RB. (A) DH das formulações. (B) PDI das formulações. (C) ζ das formulações.



Os valores de PDI também ajudam a interpretar o comportamento discutido anteriormente. O aumento do PDI observado até aproximadamente 30 °C sugere maior heterogeneidade do sistema nessa faixa, possivelmente devido à coexistência de diferentes populações, como cadeias poliméricas menos organizadas, agregados intermediários e micelas em processo de reorganização. Já a diminuição do PDI nas temperaturas próximas à faixa fisiológica indica uma distribuição de tamanho relativamente mais homogênea, compatível com a formação de estruturas micelares mais definidas após a reorganização térmica do copolímero. Entretanto, os valores de PDI ainda indicam distribuição ampla de tamanhos, de modo que essa estabilização deve ser interpretada como uma tendência, e não como evidência de um sistema monodisperso. Sugerindo assim que o aumento da temperatura favorece a reorganização e compactação das micelas, mas que as formulações ainda apresentam heterogeneidade coloidal relevante.

A incorporação da RB resultou em valores de ζ mais negativos quando comparados às formulações sem FS, sugerindo uma realocação na estrutura micelar,

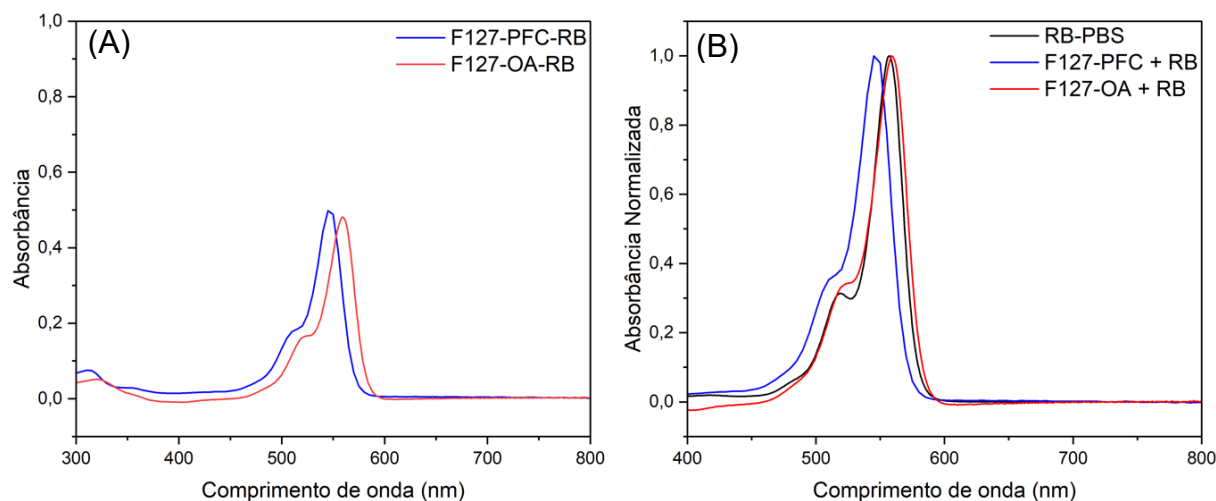
possivelmente aproximando-se da corona/interface micelar. Embora os valores tenham sido relativamente baixos, a estabilidade coloidal dessas formulações pode ser mais atribuída à estabilização estérica promovida pelas cadeias de PEO, característica típica dos sistemas baseados em F127.

5.4 Caracterização espectroscópica - UV-vis

A caracterização por espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis foi realizada com o objetivo de verificar a presença da RB nas formulações e avaliar possíveis alterações no perfil espectral do FS após a incorporação nos sistemas micelares. A RB apresenta bandas de absorção intensas na região do visível, associadas às transições eletrônicas do sistema xantênico conjugado. Dessa forma, alterações na intensidade, largura ou posição do $\lambda_{\text{máx}}$ podem indicar mudanças no microambiente ao redor do FS, como interação com os domínios micelares modificados, ou agregação.

A Figura 20 apresenta os espectros de absorção das formulações contendo RB. A presença da banda característica da RB na região do visível confirma que o FS permaneceu presente e opticamente ativo após o preparo das formulações. A comparação entre os espectros permite avaliar se a incorporação aos sistemas micelares promoveu alterações na banda de absorção.

Figura 20. Espectros UV-Vis das formulações micelares. (A) Espectros de absorbância das formulações contendo RB. (B) Espectros normalizados das formulações e da RB livre em PBS.



Em todos os sistemas, observa-se a banda característica da RB na região do visível, associada às transições π - π^* do sistema xantênico conjugado. A comparação dos espectros normalizados mostra que o perfil do F127-OA-RB permanece mais próximo ao da RB livre em PBS, enquanto o F127-PFC-RB apresenta deslocamento em relação aos outros dois sistemas. O F127-OA-RB apresentou um $\lambda_{\text{máx}}$ em 559 nm, enquanto o F127-PFC-RB apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ em 545 nm. Esse deslocamento hipsocrômico do $\lambda_{\text{máx}}$, acompanhado de um pequeno efeito hipercrômico, sugere que a RB pode estar submetida a microambientes distintos nos dois sistemas. O deslocamento para menores comprimentos de onda podem estar relacionado à interação da RB com regiões menos polares ou mais restritas da micela perfluorada.

No F127-OA, a RB interage com uma região hidrofóbica predominantemente hidrocarbonada, enquanto no F127-PFC a presença de segmentos perfluorados pode modificar a polaridade local, o empacotamento da micela e a distribuição do FS no agregado micelar. Dessa forma, as alterações espectrais observadas indicam que a incorporação da RB nos sistemas distintos também pode refletir o microambiente em que ela se encontra em cada formulação. Entretanto, a análise por UV-vis isoladamente não permite determinar a localização da RB nas micelas ou a eficiência de encapsulamento.

5.5 Eficiência de encapsulamento

A eficiência de encapsulamento da RB nas formulações foi determinada com o objetivo de avaliar a capacidade dos sistemas em incorporar o FS após o preparo das micelas. Esse parâmetro é importante para sistemas de entrega de FS, pois indica a fração da molécula efetivamente associada às micelas em relação à quantidade total adicionada inicialmente. Para isso, após o preparo das formulações e centrifugação, a concentração de RB livre foi determinada por espectroscopia UV-vis, utilizando a absorptividade molar da RB em PBS.

Tabela 4. Eficiência de encapsulamento da RB nas formulações preparadas.

Amostra	Eficiência de Encapsulamento (% $\pm$ DP)
F127-OA-RB	97,32 $\pm$ 0,88
F127-PFC-RB	92,72 $\pm$ 0,24

Os valores indicam elevada capacidade de incorporação da RB em ambos os sistemas micelares, com mais de 90% do FS associado às formulações micelares.

A maior eficiência observada para o F127-OA-RB sugere maior afinidade da RB pelo ambiente micelar formado pelo copolímero contendo a cadeia octanoíla. Essa interpretação, entretanto, deve considerar as características moleculares da RB. Embora a molécula apresente núcleo xantênico halogenado e logP calculado elevado, indicando contribuição hidrofóbica da estrutura aromática, em meio aquoso e pH próximo ao fisiológico a RB tende a predominar na sua forma dianiônica.

Nesse contexto, a elevada EE% do F127-OA-RB pode estar associada à combinação entre interações hidrofóbicas do núcleo xantênico com domínios menos polares da micela e interações da forma dianiônica da RB com regiões mais hidratadas ou interfaciais da micela. Por outro lado, embora o F127-PFC-RB também tenha apresentada alta EE%, o valor ligeiramente menor pode estar relacionado à natureza do segmento perfluorado. Diferentemente da cadeia octanoíla, que possui maior compatibilidade com regiões hidrocarbonadas, o domínio perfluorado apresenta caráter hidrofóbico e lipofóbico, podendo interagir de forma menos favorável com a estrutura aromática e dianiônica da RB. Dessa forma, parte da RB pode permanecer mais associada à interface micelar ou ao meio aquoso, resultando em uma retenção ligeiramente menor no sistema F127-PFC-RB.

Apesar dessa diferença, os resultados demonstram que ambos os sistemas foram eficientes na incorporação da RB, sustentando sua aplicação como nanocarreadores para a TFD. A elevada eficiência de encapsulamento é particularmente relevante, pois indica que a maior parte do FS esteja associada às formulações durante as caracterizações fotofísicas.

5.6 Propriedades fotofísicas

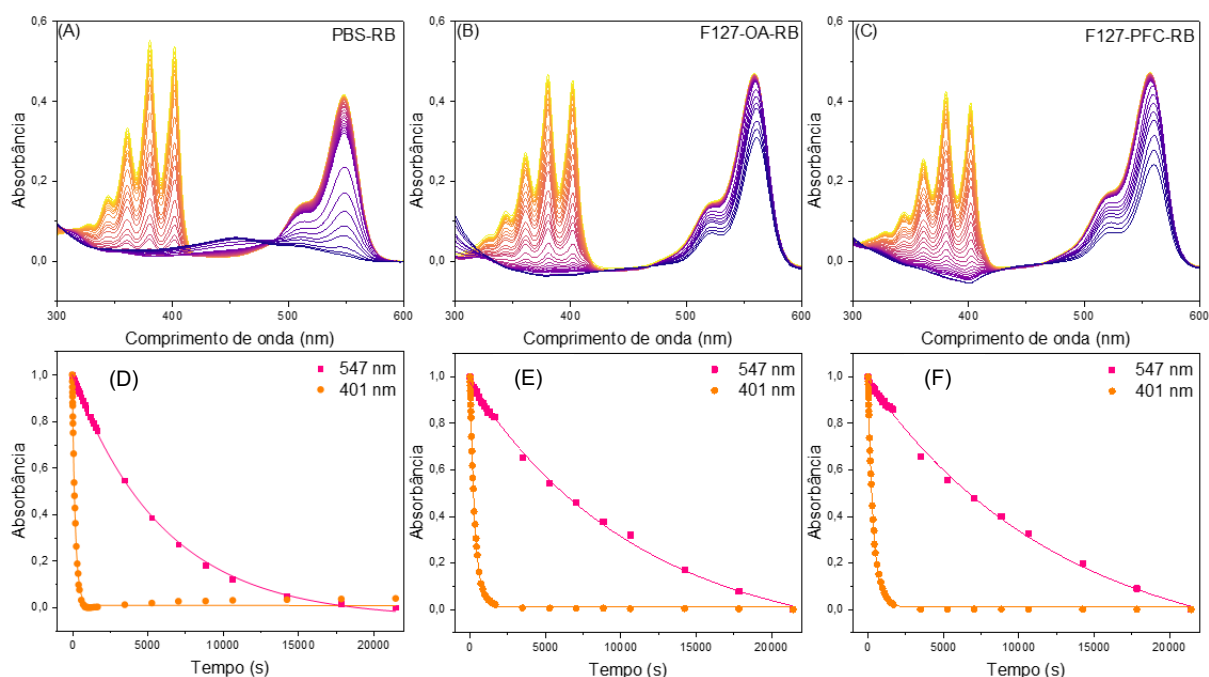
5.6.1 Cinética de degradação do ABDA: Rendimento Quântico de oxigênio singlete e rendimento quântico de fluorescência

A avaliação das propriedades fotofísicas das formulações contendo RB foi realizada com o objetivo de investigar a capacidade dos sistemas micelares em manter a atividade fotoquímica do FS e gerar oxigênio singlete após irradiação. Na TFD, a geração de $^1\text{O}_2$ depende da absorção de luz pelo FS, da formação do estado excitado tripleto e da transferência de energia para o oxigênio molecular no estado fundamental. Dessa forma, além da presença do FS no sistema, é necessário avaliar se o microambiente micelar favorece a conversão da energia absorvida em espécies reativas.

A geração de $^1\text{O}_2$ foi avaliada por método indireto utilizando ABDA como sonda química. O ABDA é um derivado solúvel em meio aquoso que reage com o $^1\text{O}_2$ formando o correspondente endoperóxido, resultando na diminuição progressiva de suas bandas de absorção na região do UV-vis. Assim, a redução da absorbância do ABDA ao longo do tempo de irradiação pode ser utilizada como indicativo da formação de $^1\text{O}_2$ no meio. A análise da degradação do ABDA foi acompanhada simultaneamente com a variação da banda de RB, permitindo avaliar tanto a geração de $^1\text{O}_2$ quanto a estabilidade relativa do FS durante a irradiação.

A Figura 19 apresenta os espectros de absorção obtidos ao longo da irradiação para os sistemas PBS-RB, F127-OA-RB e F127-PFC-RB, bem como os respectivos perfis cinéticos monitorados nas bandas características do ABDA e da RB. Em todos os sistemas contendo RB, observa-se diminuição da absorbância do ABDA com o tempo de irradiação, indicando a geração de oxigênio singlete. Entretanto, a intensidade e a velocidade dessa degradação diferiram entre os sistemas, evidenciando que o microambiente em torno da RB alterou a sua resposta fotodinâmica.

Figura 21. Cinética na presença de luz para a análise da sonda ABDA com (A) PBS-RB (B) F127-OA-RB (C) F127-PFC-RB com seus respectivos perfis cinéticos (D) PBS-RB (E) F127-OA-RB e (F) F127-PFC-RB.



O sistema PBS-RB apresentou a maior constante de degradação do ABDA, comportamento esse é esperado para a RB em meio aquoso, uma vez que o FS se encontra mais diretamente acessível ao oxigênio dissolvido e à sonda ABDA no meio.

Tabela 5. Parâmetros cinéticos e fotofísicos obtidos para PBS-RB, F127-OA-RB e F127-PFC-RB.

Amostra	k_{ABDA} (10^{-3} min^{-1})	k_{RB} (10^{-5} min^{-1})	N_{Abs} (Einstein 10^{-4})	γ_{Δ}	$\Phi_{\Delta} {}^1O_2$
PBS-RB	5,10	16,5	2,05	24,9	0,8*
F127-OA-RB	3,14	8,79	2,86	11,0	0,35
F127-PFC-RB	2,91	7,74	3,56	8,19	0,26

* Valor obtido a partir da referência Redmond e Gamlin.⁷³

Para as formulações micelares, observou-se redução do $\Phi_{\Delta} {}^1O_2$ em relação ao sistema PBS-RB. Indicando que, embora ambas as formulações mantenham a capacidade de gerar 1O_2 , a incorporação da RB aos sistemas micelares modifica o acesso entre o FS, oxigênio molecular e ABDA, reduzindo a eficiência aparente detectada pelo método indireto.

O ABDA é uma sonda hidrossolúvel e sua degradação depende do contato efetivo com o 1O_2 gerado. Como o 1O_2 apresenta curto tempo de vida e baixa distância

de difusão, a resposta do ensaio pode ser influenciada pela acessibilidade da sonda ao local onde o $^1\text{O}_2$ é formado. Assim, em sistemas micelares, a degradação do ABDA pode não refletir apenas a quantidade de $^1\text{O}_2$ gerada, mas também a organização espacial entre a RB, o O_2 dissolvido e a sonda em meio aquoso.

Nesse sentido, embora o F127-OA-RB tenha apresentado maior $\Phi_{\Delta} \text{ } ^1\text{O}_2$ que o F127-PFC-RB, essa diferença deve ser interpretada como uma tendência dentro das condições avaliadas, e não como evidência conclusiva de maior eficiência fotodinâmica intrínseca. No sistema F127-PFC-RB, a presença dos segmentos perfluorados pode modificar a organização micelar e a distribuição da RB na micela, o que pode afetar a acessibilidade do ABDA ao $^1\text{O}_2$ formado. Dessa forma, mesmo que domínios perfluorados apresentem afinidade por O_2 , a eficiência detectada pelo método indireto depende também da proximidade espacial entre o O_2 , o estado tripleto da RB e a sonda utilizada no ensaio. A quantificação direta da fosforescência do $^1\text{O}_2$ em 1270 nm seria uma abordagem mais adequada para confirmar a geração dessa espécie em sistemas micelares, uma vez que reduziria as limitações associadas à acessibilidade da sonda ao local de formação do $^1\text{O}_2$.

Além da organização micelar, deve-se considerar que a eficiência de encapsulamento foi diferente entre os sistemas F127-OA-RB e F127-PFC-RB. Dessa forma, a concentração efetiva de RB associada às micelas pode não ser exatamente a mesma nas duas formulações. Como o F127-PFC-RB apresentou menor EE%, é possível que a menor quantidade relativa de RB incorporada ao sistema também contribua para os menores valores aparentes na geração de $^1\text{O}_2$ observados no ensaio com ABDA. Assim, uma análise futura poderia considerar a normalização da geração de oxigênio singlete pela concentração real de RB encapsulada, permitindo uma comparação mais precisa da γ_{Δ} intrínseca de cada nanocarreador.

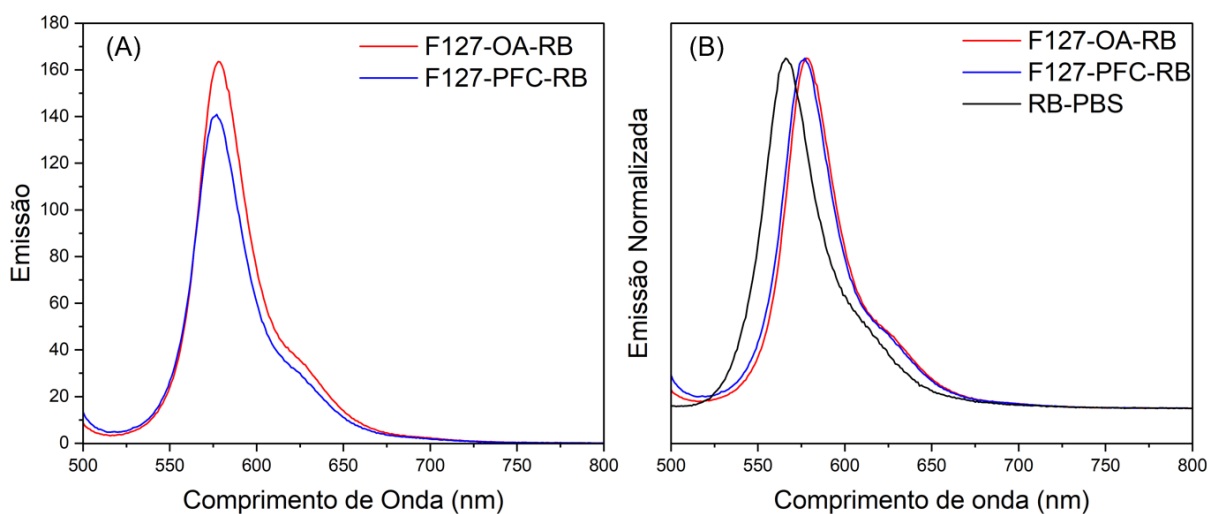
Essa interpretação é reforçada pelos valores de N_{Abs} pois o F127-PFC apresentou o maior número de fótons absorvidos. Entretanto, a γ_{Δ} foi menor para o F127-PFC-RB, indicando que a maior absorção de luz pelo sistema perfluorado não se traduziu diretamente em maior degradação do ABDA. Portanto, a limitação da análise parece estar relacionada à interação com a sonda.

A fotodegradação da RB também sugere que a incorporação da RB às micelas pode conferir maior proteção ao FS durante a irradiação, reduzindo sua degradação direta em comparação com a RB livre em PBS. O F127-PFC-RB apresentou menor K_{RB} , indicando maior estabilidade relativa da RB frente à fotodegradação, embora

essa maior estabilidade não tenha sido acompanhada por uma maior geração de Φ_{Δ} $^1\text{O}_2$ no ensaio com o ABDA.

Além da geração de oxigênio singleto, foi avaliado também o rendimento quântico de fluorescência das formulações. O aumento do rendimento quântico de fluorescência nas formulações indicou que o microambiente formado pelos copolímeros influencia o comportamento emissivo da RB. Esse aumento pode ser atribuído à incorporação da RB ao sistema micelar, uma vez que o FS passa a se encontrar em um microambiente mais protegido das colisões com moléculas do solvente, reduzindo processos de supressão colisional da fluorescência. Dessa forma o aumento do Φ_F atua como um indicativo da associação do FS às micelas. O maior valor observado para F127-OA-RB sugere que a RB encontra nesse sistema um ambiente mais favorável à emissão fluorescente do que no F127-PFC-RB. A comparação dos espectros normalizados com a RB livre em PBS, apresentada na Figura 22B, também evidencia que a incorporação da RB às formulações altera seu perfil espectral, reforçando a influência do microambiente micelar sobre o comportamento emissivo da RB. O espectro de emissão de RB em PBS utilizado para o cálculo do Φ_F pode ser visto no Apêndice E.

Figura 22. Espectros de emissão de fluorescência da RB livre em PBS e das formulações micelares F127-OA-RB e F127-PFC-RB. (A) Espectros de emissão das formulações micelares contendo RB. (B) Espectros normalizados da RB livre em PBS e das formulações micelares. [RB] = 5 μM .



A diferença entre a fluorescência e a geração de oxigênio singleto mostra que os processos fotofísicos da RB são sensíveis ao microambiente fornecido por cada formulação. Embora o F127-OA-RB tenha apresentado maior Φ_F e maior $\Phi_{\Delta} {}^1O_2$ que o F127-PFC-RB, o PBS-RB apresentou menor Φ_F e maior $\Phi_{\Delta} {}^1O_2$. Isso demonstra que o aumento da fluorescência não está diretamente relacionado, de forma simples, ao aumento da geração de oxigênio singleto.

Tabela 6. Valores do rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) para RB em PBS e as formulações micelares.

Amostra	Φ_F
PBS-RB	0,018*
F127-OA-RB	0,113
F127-PFC-RB	0,047

* Valor obtido a partir da referência Zhang *et al.*⁶⁹

A resposta final depende do balanço entre emissão fluorescente, conversão interna, CIS, formação do estado tripleto, disponibilidade de O_2 e acessibilidade da sonda por esse método indireto. Entretanto, os dados obtidos não permitem atribuir a menor emissão observada para F127-PFC-RB a uma maior eficiência de formação do estado tripleto, especialmente porque essa formulação também apresentou menor $\Phi_{\Delta} {}^1O_2$ no ensaio com ABDA.

Ainda assim, a formação de um microambiente distinto no F127-PFC-RB permanece relevante para sistemas biológicos hipóxicos, nos quais a capacidade de carrear oxigênio pode desempenhar um papel diferente daquele observado em solução homogênea.

5.7 Oxigênio dissolvido

A disponibilidade de oxigênio dissolvido nas formulações foi avaliada com o objetivo de investigar se a presença de segmentos perfluorados poderia favorecer a incorporação ou manutenção de O_2 em meio aquoso. Esse parâmetro é particularmente relevante no contexto da TFD, uma vez que a geração de oxigênio

singleto depende diretamente da presença de oxigênio molecular próximo ao FS excitado. Assim, embora a concentração de O₂ dissolvido não determine sozinha a eficiência fotodinâmica, ela fornece uma indicação importante sobre a capacidade do sistema de disponibilizar oxigênio no meio.

A Tabela 6 apresenta os valores de oxigênio dissolvido antes e após um minuto de repouso para água ultrapura e para as formulações e seus respectivos brancos. Inicialmente, os valores de O₂ dissolvido ficaram próximos entre as amostras. Após um minuto, observou-se redução do teor de oxigênio em todos os sistemas avaliados

Tabela 7. Concentração de oxigênio dissolvido antes e após um minuto para água ultrapura e formulações micelares.

Amostra	O₂ (mg L⁻¹)	O₂ após 1 min (mg L⁻¹)	↓ΔO₂
Água Ultra Pura	8,3	7,6	0,7
F127-OA Branco	7,6	6,9	0,7
F127-OA-RB	7,9	7,6	0,3
F127-PFC Branco	7,9	7,6	0,3
F127-PFC-RB	8,0	7,6	0,4

Esse comportamento sugere que a presença das formulações pode influenciar a manutenção do oxigênio dissolvido no meio, embora as diferenças iniciais entre os sistemas sejam relativamente pequenas. Para analisar a capacidade das amostras de reter oxigênio dissolvido, foi realizada a aeração por vórtex durante aproximadamente cinco minutos. Após o vórtex, observou-se aumento mais evidente da concentração de O₂ dissolvido nos sistemas contendo F127-PFC. Esses resultados indicam que, após agitação, os sistemas contendo segmentos perfluorados apresentaram maior teor inicial de oxigênio dissolvido em comparação aos respectivos sistemas não fluorados.

Tabela 8. Concentração de oxigênio dissolvido antes e após um minuto para água ultrapura e formulações micelares após cinco minutos em agitação no vórtex.

Amostra	O₂ (mg L⁻¹)	O₂ após 1 min (mg L⁻¹)	↓ΔO₂
F127-OA Branco	7,8	6,9	0,9
F127-OA-RB	8,0	7,6	0,4
F127-PFC Branco	8,6	8,0	0,6
F127-PFC-RB	8,2	7,8	0,4

Dessa forma, os dados de oxigênio dissolvido indicam que as formulações perfluoradas apresentam tendência de maior incorporação de O₂ após agitação. No entanto, essa incorporação foi limitada nas condições avaliadas, uma vez que o experimento foi realizado apenas após agitação por vórtex, sem uma etapa controlada de purga com O₂. Assim, os resultados devem ser interpretados como uma evidência preliminar de que o segmento perfluorado pode modificar a dinâmica de incorporação de oxigênio no sistema. Para a TFD esse conjunto de dados em relação ao PFC ainda o mantém em uma região de interesse para estudos.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanocarreadores micelares à base de Pluronic® F127 modificado com cadeias perfluoradas, utilizando a RB como FS. Para isso, o sistema de F127-PFC foi comparado ao análogo não fluorado F127-OA, permitindo avaliar os efeitos associados à presença do segmento perfluorado sobre propriedades estruturais, coloidais, fotofísicas e sobre a disponibilidade de oxigênio molecular.

As caracterizações por FTIR e RMN indicaram a preservação da matriz polimérica e sustentaram a presença dos grupos introduzidos nos copolímeros modificados. As análises térmicas mostraram comportamento semelhante entre o F127-OA e o F127-PFC, indicando que as modificações não comprometeram de maneira expressiva a estabilidade térmica geral nem a transição endotérmica principal da matriz polimérica. As formulações obtidas apresentaram formação de micelas em meio aquoso, com DHs na faixa de 100-200 nm. Contudo, os valores de PDI indicaram distribuições amplas, evidenciando sistemas heterogêneos. Os potenciais zeta próximos do zero sugerem que a estabilidade das dispersões está mais associada à estabilização estérica das cadeias do que por repulsão eletrostática. A incorporação da RB foi evidenciada por UV-vis e pela alta eficiência de encapsulamento, superior a 90% para ambas as formulações.

As avaliações fotofísicas demonstraram que a RB manteve atividade fotoquímica após a incorporação às micelas, uma vez que foi observada a degradação do ABDA sob irradiação. O sistema F127-OA-RB apresentou maior $\Phi_{\Delta} \text{ } ^1\text{O}_2$ do que a formulação fluorada, sugerindo que, nas condições do ensaio, a organização do sistema fluorado não favoreceu mais a interação entre RB, O_2 e ABDA. Por outro lado, o F127-PFC-RB apresentou menor fotodegradação da RB e tendência a uma maior incorporação de oxigênio dissolvido após agitação, indicando que o domínio perfluorado modifica o microambiente da formulação e pode favorecer a disponibilidade de O_2 .

Embora o F127-PFC-RB não tenha apresentado maior $\Phi_{\Delta} \text{ } ^1\text{O}_2$ no ensaio indireto com ABDA, esse resultado deve ser interpretado considerando as limitações da análise. A determinação por ABDA depende da acessibilidade da sonda ao local de formação do $^1\text{O}_2$ e pode ser influenciada pela organização micelar, pela distribuição da RB na micela, pelo curto tempo de vida e pela baixa distância de difusão do $^1\text{O}_2$.

Além disso, a ausência de detecção direta por fosforescência em 1270 nm limita a confirmação quantitativa da geração de $^1\text{O}_2$ no sistema micelar. Ainda assim, o comportamento do F127-PFC-RB frente ao oxigênio dissolvido e à maior estabilidade da RB durante a irradiação reforça seu potencial como plataforma a ser otimizada para aplicações na TFD. Estudos futuros devem investigar a organização interna dessas micelas, a localização relativa entre RB e O_2 , estratégias para melhorar a incorporação de oxigênio, como purga, e o desempenho dos sistemas em modelos biológicos hipóxicos, em colaboração com o LabCancer e/ou grupos da área de farmacologia da UFSC.

7. REFERÊNCIAS

- (1) Bizuayehu, H. M.; Ahmed, K. Y.; Kibret, G. D.; Dadi, A. F.; Belachew, S. A.; Bagade, T.; Tegegne, T. K.; Venchiarutti, R. L.; Kibret, K. T.; Hailegebireal, A. H.; Assefa, Y.; Khan, M. N.; Abajobir, A.; Alene, K. A.; Mengesha, Z.; Erku, D.; Enquobahrie, D. A.; Minas, T. Z.; Misgan, E.; Ross, A. G. Global Disparities of Cancer and Its Projected Burden in 2050. *JAMA Netw Open* **2024**, 7 (11), e2443198. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.43198>.
- (2) Instituto Nacional de Câncer - INCA, P. em 04/02/2026 12h31 A. *INCA estima 781 mil novos casos de câncer por ano no Brasil entre 2026 e 2028*. Instituto Nacional de Câncer - INCA. <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2026/inca-estima-781-mil-novos-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-entre-2026-e-2028> (accessed 2026-06-08).
- (3) Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* **2011**, 144 (5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
- (4) Semenza, G. L. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. *Cell* **2012**, 148 (3), 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.021>.
- (5) Cui, S.; Guo, X.; Wang, S.; Wei, Z.; Huang, D.; Zhang, X.; Zhu, T. C.; Huang, Z. Singlet Oxygen in Photodynamic Therapy. *Pharmaceuticals* **2024**, 17 (10), 1274. <https://doi.org/10.3390/ph17101274>.
- (6) Gunaydin, G.; Gedik, M. E.; Ayan, S. Photodynamic Therapy—Current Limitations and Novel Approaches. *Front. Chem.* **2021**, 9, 691697. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.691697>.
- (7) Wang, Y.; Li, T.; Zhou, H.; Liu, C. Advancements in Nanocarrier Delivery Systems for Photodynamic Therapy in Lung Cancer. *IJN* **2025**, Volume 20, 6853–6874. <https://doi.org/10.2147/IJN.S521444>.
- (8) Popovici, C.; Popa, M.; Sunel, V.; Atanase, L. I.; Ichim, D. L. Drug Delivery Systems Based on Pluronic Micelles with Antimicrobial Activity. *Polymers* **2022**, 14 (15), 3007. <https://doi.org/10.3390/polym14153007>.
- (9) Riess, J. G. Understanding the Fundamentals of Perfluorocarbons and Perfluorocarbon Emulsions Relevant to *In Vivo* Oxygen Delivery. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology* **2005**, 33 (1), 47–63. <https://doi.org/10.1081/BIO-200046659>.
- (10) Rauf, M. A.; Graham, J. P.; Bukallah, S. B.; Al-Saedi, M. A. S. Solvatochromic Behavior on the Absorption and Fluorescence Spectra of Rose Bengal Dye in Various Solvents. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2009**, 72 (1), 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2008.08.018>.
- (11) Neckers, D. C. Rose Bengal. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1989**, 47 (1), 1–29. [https://doi.org/10.1016/1010-6030\(89\)85002-6](https://doi.org/10.1016/1010-6030(89)85002-6).

- (12) Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery* **2022**, *12* (1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>.
- (13) Jing, X.; Yang, F.; Shao, C.; Wei, K.; Xie, M.; Shen, H.; Shu, Y. Role of Hypoxia in Cancer Therapy by Regulating the Tumor Microenvironment. *Mol Cancer* **2019**, *18* (1), 157. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1089-9>.
- (14) Maeda, H.; Nakamura, H.; Fang, J. 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* **2013**, *65* (1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.10.002>.
- (15) Maeda, H. The 35th Anniversary of the Discovery of EPR Effect: A New Wave of Nanomedicines for Tumor-Targeted Drug Delivery—Personal Remarks and Future Prospects. *JPM* **2021**, *11* (3), 229. <https://doi.org/10.3390/jpm11030229>.
- (16) Chen, Z.; Han, F.; Du, Y.; Shi, H.; Zhou, W. Hypoxic Microenvironment in Cancer: Molecular Mechanisms and Therapeutic Interventions. *Sig Transduct Target Ther* **2023**, *8* (1), 70. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01332-8>.
- (17) Basheeruddin, M.; Qausain, S. Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha (HIF-1 α) and Cancer: Mechanisms of Tumor Hypoxia and Therapeutic Targeting. *Cureus* **2024**. <https://doi.org/10.7759/cureus.70700>.
- (18) Weidemann, A.; Johnson, R. S. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ* **2008**, *15* (4), 621–627. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.12>.
- (19) Liberti, M. V.; Locasale, J. W. The Warburg Effect: How Does It Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences* **2016**, *41* (3), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.12.001>.
- (20) Ciepla, J.; Smolarczyk, R. Tumor Hypoxia Unveiled: Insights into Microenvironment, Detection Tools and Emerging Therapies. *Clin Exp Med* **2024**, *24* (1), 235. <https://doi.org/10.1007/s10238-024-01501-1>.
- (21) Moloudi, K.; Abrahamse, H.; George, B. P. Nanotechnology-mediated Photodynamic Therapy: Focus on Overcoming Tumor Hypoxia. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol* **2024**, *16* (1), e1937. <https://doi.org/10.1002/wnan.1937>.
- (22) Cui, S.; Guo, X.; Wang, S.; Wei, Z.; Huang, D.; Zhang, X.; Zhu, T. C.; Huang, Z. Singlet Oxygen in Photodynamic Therapy. *Pharmaceuticals* **2024**, *17* (10), 1274. <https://doi.org/10.3390/ph17101274>.
- (23) Płaskonka, D. M.; Barczyk, D.; Repetowski, P.; Warszyńska, M.; Dąbrowski, J. M. Biomolecule–Photosensitizer Conjugates: A Strategy to Enhance Selectivity and Therapeutic Efficacy in Photodynamic Therapy. *Pharmaceuticals* **2025**, *19* (1), 65. <https://doi.org/10.3390/ph19010065>.
- (24) Frackowiak, D. The Jablonski Diagram. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **1988**, *2* (3), 399. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(88\)85060-7](https://doi.org/10.1016/1011-1344(88)85060-7).

- (25) Xiao, X.; Zhao, X.; Chen, X.; Zhao, J. Heavy Atom-Free Triplet Photosensitizers: Molecular Structure Design, Photophysical Properties and Application in Photodynamic Therapy. *Molecules* **2023**, *28* (5), 2170. <https://doi.org/10.3390/molecules28052170>.
- (26) Khrootkaew, T.; Wangngae, S.; Chansaenpak, K.; Rueantong, K.; Wattanathana, W.; Pinyou, P.; Panajapo, P.; Promarak, V.; Sagarik, K.; Kamkaew, A. Heavy Atom Effect on the Intersystem Crossing of a Boron Difluoride Formazanate Complex-Based Photosensitizer: Experimental and Theoretical Studies. *Chemistry An Asian Journal* **2024**, *19* (1), e202300808. <https://doi.org/10.1002/asia.202300808>.
- (27) Malinge, A.; Kumar, S.; Chen, D.; Zysman-Colman, E.; Kéna-Cohen, S. Heavy Atom Effect in Halogenated mCP and Its Influence on the Efficiency of the Thermally Activated Delayed Fluorescence of Dopant Molecules. *J. Phys. Chem. C* **2024**, *128* (3), 1122–1130. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c05567>.
- (28) Wang, X.; Peng, J.; Meng, C.; Feng, F. Recent Advances for Enhanced Photodynamic Therapy: From New Mechanisms to Innovative Strategies. *Chem. Sci.* **2024**, *15* (31), 12234–12257. <https://doi.org/10.1039/D3SC07006A>.
- (29) Aebisher, D.; Serafin, I.; Batóg-Szczęch, K.; Dynarowicz, K.; Chodurek, E.; Kawczyk-Krupka, A.; Bartusik-Aebisher, D. Photodynamic Therapy in the Treatment of Cancer—The Selection of Synthetic Photosensitizers. *Pharmaceuticals* **2024**, *17* (7), 932. <https://doi.org/10.3390/ph17070932>.
- (30) Robinson, D. J.; De Bruijn, H. S.; Van Der Veen, N.; Stringer, M. R.; Brown, S. B.; Star, W. M. Fluorescence Photobleaching of ALA-induced Protoporphyrin IX during Photodynamic Therapy of Normal Hairless Mouse Skin: The Effect of Light Dose and Irradiance and the Resulting Biological Effect. *Photochem & Photobiology* **1998**, *67* (1), 140–149. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1998.tb05177.x>.
- (31) Bacellar, I.; Tsubone, T.; Pavani, C.; Baptista, M. Photodynamic Efficiency: From Molecular Photochemistry to Cell Death. *IJMS* **2015**, *16* (9), 20523–20559. <https://doi.org/10.3390/ijms160920523>.
- (32) Correia, J. H.; Rodrigues, J. A.; Pimenta, S.; Dong, T.; Yang, Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (9), 1332. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>.
- (33) Mfouo-Tynga, I. S.; Dias, L. D.; Inada, N. M.; Kurachi, C. Features of Third Generation Photosensitizers Used in Anticancer Photodynamic Therapy: Review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2021**, *34*, 102091. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102091>.
- (34) Pedrozo Da Silva, A. C.; Fabiano De Freitas, C.; Saatkamp, R. H.; Bergmann, E. V.; Caetano, W.; Malacarne, L. C.; Samulewski, R. B.; Pereira Scacchetti, F. A.; Hioka, N.; Tessaro, A. L. Liposomal Rose Bengal and Its Butyl Ester Derivative Formulations for Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Journal of Drug Delivery*

Science and Technology **2024**, *100*, 106085.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106085>.

- (35) Doring, H. D.; Ricken, Y. S.; Latocheski, E.; Herrerias, T.; Muniz, E. C.; De Freitas, C. F. Boosting Photodynamic Efficiency: Nanoformulations of Rose Bengal and Silver Nanoparticles against Resistant Microorganisms. *Journal of Molecular Liquids* **2025**, *439*, 128869. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.128869>.
- (36) Demartis, S.; Obinu, A.; Gavini, E.; Giunchedi, P.; Rassu, G. Nanotechnology-Based Rose Bengal: A Broad-Spectrum Biomedical Tool. *Dyes and Pigments* **2021**, *188*, 109236. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109236>.
- (37) Amescua, G.; Arboleda, A.; Nikpoor, N.; Durkee, H.; Relhan, N.; Aguilar, M. C.; Flynn, H. W.; Miller, D.; Parel, J.-M. Rose Bengal Photodynamic Antimicrobial Therapy: A Novel Treatment for Resistant Fusarium Keratitis. *Cornea* **2017**, *36* (9), 1141–1144. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001265>.
- (38) Ludvíková, L.; Friš, P.; Heger, D.; Šebej, P.; Wirz, J.; Klán, P. Photochemistry of Rose Bengal in Water and Acetonitrile: A Comprehensive Kinetic Analysis. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18* (24), 16266–16273. <https://doi.org/10.1039/C6CP01710J>.
- (39) Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Kleshchevnikova, V. N. Influence of the Cetyltrimethylammonium Chloride Micellar Pseudophase on the Protolytic Equilibria of Oxyxanthene Dyes at High Bulk Phase Ionic Strength. *Faraday Trans.* **1994**, *90* (4), 629. <https://doi.org/10.1039/ft9949000629>.
- (40) Doring, H. D. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. **2024**.
- (41) Paulina Romero, M.; Alexandra González, M. Drug-Delivery Based on Encapsulation for Photodynamic Therapy and Photothermal Therapy. In *Biomaterials in Microencapsulation*; Sharma, A., Ed.; IntechOpen, 2024. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005277>.
- (42) Mesquita, M. Q.; Dias, C. J.; Gamelas, S.; Fardilha, M.; Neves, M. G. P. M. S.; Faustino, M. A. F. An Insight on the Role of Photosensitizer Nanocarriers for Photodynamic Therapy. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2018**, *90* (1 suppl 2), 1101–1130. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170800>.
- (43) Ricken, Y. S.; Latocheski, E.; Doring, H. D.; Porto, D. S.; Agnes, J. P.; Dos Santos, B.; Borges, D. L. G.; Caon, T.; Zanotto-Filho, A.; De Freitas, C. F. Polymeric-Lipid Hybrid Liposomes Co-Loaded with Curcumin and Silver Nanoparticles: A Strategy for Photodynamic Therapy in Skin Cancer. *Biomaterials Advances* **2026**, *184*, 214816. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2026.214816>.
- (44) Cunha, J.; Latocheski, E.; Fidalgo, A. C. D.; Gerola, A. P.; Marin, C. F. D. F.; Ribeiro, A. J. Core-Shell Hybrid Liposomes: Transforming Imaging Diagnostics and Therapeutic Strategies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2025**, *251*, 114597. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2025.114597>.

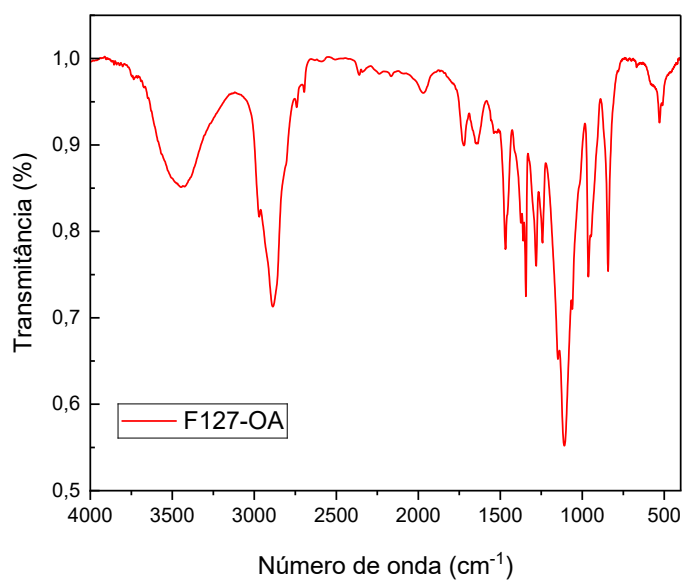
- (45) Borges, H. S.; Gusmão, L. A.; Tedesco, A. C. Multi-Charged Nanoemulsion for Photodynamic Treatment of Glioblastoma Cell Line in 2D and 3D in Vitro Models. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2023**, *43*, 103723. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103723>.
- (46) De Andrade, C. R.; Ricken, Y. S.; Doring, H. D.; Latocheski, E.; De Freitas, C. F. Co-Encapsulation of Erythrosine B and Curcumin in PEO-PPO-PEO Micelles for Photodynamic Therapy Applications. *Journal of Molecular Liquids* **2025**, *428*, 127471. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.127471>.
- (47) Perumal, S.; Atchudan, R.; Lee, W. A Review of Polymeric Micelles and Their Applications. *Polymers* **2022**, *14* (12), 2510. <https://doi.org/10.3390/polym14122510>.
- (48) Jia, L.; Guo, C.; Yang, L.; Xiang, J.; Tang, Y.; Liu, C.; Liu, H. Mechanism of PEO–PPO–PEO Micellization in Aqueous Solutions Studied by Two-Dimensional Correlation FTIR Spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *345* (2), 332–337. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.01.060>.
- (49) Turnovská, A.; Etrych, T. Polymeric Micelles in Advanced Photodynamic Therapy: Design, Delivery and Translational Prospects. *International Journal of Pharmaceutics: X* **2025**, *10*, 100439. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2025.100439>.
- (50) De Freitas, C. F.; Da Rocha, N. L.; Pereverzieff, I. S.; Batistela, V. R.; Malacarne, L. C.; Hioka, N.; Caetano, W. Potential of Triblock Copolymers Pluronic® P-84 and F-108 with Erythrosine B and Its Synthetic Ester Derivatives for Photodynamic Applications. *Journal of Molecular Liquids* **2021**, *322*, 114904. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114904>.
- (51) Balan, G.-A.; Precupas, A.; Matei, I. Gelation Behaviour of Pluronic F127/Polysaccharide Systems Revealed via Thioflavin T Fluorescence. *Gels* **2023**, *9* (12), 939. <https://doi.org/10.3390/gels9120939>.
- (52) Khaliq, N. U.; Lee, J.; Kim, S.; Sung, D.; Kim, H. Pluronic F-68 and F-127 Based Nanomedicines for Advancing Combination Cancer Therapy. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (8), 2102. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082102>.
- (53) Rey-Rico, A.; Cucchiaroni, M. PEO-PPO-PEO Tri-Block Copolymers for Gene Delivery Applications in Human Regenerative Medicine—An Overview. *IJMS* **2018**, *19* (3), 775. <https://doi.org/10.3390/ijms19030775>.
- (54) Aguilar-Ramírez, A.; Machado-Cervantes, C. A.; Ortega-Córdova, R.; Fernández-Escamilla, V. V. A.; Rharbi, Y.; Landázuri-Gómez, G.; Macías-Balleza, E. R.; Soltero-Martínez, J. F. A. Effect of PPO/PEO Ratio on the Phase Behavior of Reverse Pluronics. *Polymers* **2025**, *17* (15), 2061. <https://doi.org/10.3390/polym17152061>.
- (55) Yang, Y.; Liu, Y.; Jiang, Y. Recent Advances in Perfluorocarbon-Based Delivery Systems for Cancer Theranostics. *Mol. Pharmaceutics* **2023**, *20* (7), 3254–3277. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.3c00116>.

- (56) Miller, M. A.; Sletten, E. M. Perfluorocarbons in Chemical Biology. *ChemBioChem* **2020**, 21 (24), 3451–3462. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000297>.
- (57) Riess, J. G. Perfluorocarbon-Based Oxygen Delivery. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology* **2006**, 34 (6), 567–580. <https://doi.org/10.1080/10731190600973824>.
- (58) Jägers, J.; Wrobeln, A.; Ferenz, K. B. Perfluorocarbon-Based Oxygen Carriers: From Physics to Physiology. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* **2021**, 473 (2), 139–150. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02482-2>.
- (59) Waxman, K. Perfluorocarbons as Blood Substitutes. *Annals of Emergency Medicine* **1986**, 15 (12), 1423–1424. [https://doi.org/10.1016/S0196-0644\(86\)80933-7](https://doi.org/10.1016/S0196-0644(86)80933-7).
- (60) Lowe, K. C. Perfluorinated Blood Substitutes and Artificial Oxygen Carriers. *Blood Reviews* **1999**, 13 (3), 171–184. <https://doi.org/10.1054/blre.1999.0113>.
- (61) Zhao, M.; Liu, H.; Jahr, J. S. Perfluorocarbon-Based Oxygen Carriers: What Is New in 2024? *Journal of Anesthesia and Translational Medicine* **2024**, 3 (1), 10–13. <https://doi.org/10.1016/j.jatmed.2024.02.003>.
- (62) Lowe, K. C. Fluosol®: The First Commercial Injectable Perfluorocarbon Oxygen Carrier. In *Blood Substitutes*; Elsevier, 2006; pp 276–287. <https://doi.org/10.1016/B978-012759760-7/50034-2>.
- (63) Hu, H.; Yan, X.; Wang, H.; Tanaka, J.; Wang, M.; You, W.; Li, Z. Perfluorocarbon-Based O₂ Nanocarrier for Efficient Photodynamic Therapy. *J. Mater. Chem. B* **2019**, 7 (7), 1116–1123. <https://doi.org/10.1039/C8TB01844H>.
- (64) Wang, Q.; Li, J.-M.; Yu, H.; Deng, K.; Zhou, W.; Wang, C.-X.; Zhang, Y.; Li, K.-H.; Zhuo, R.-X.; Huang, S.-W. Fluorinated Polymeric Micelles to Overcome Hypoxia and Enhance Photodynamic Cancer Therapy. *Biomater. Sci.* **2018**, 6 (11), 3096–3107. <https://doi.org/10.1039/C8BM00852C>.
- (65) Ming, L.; Cheng, K.; Chen, Y.; Yang, R.; Chen, D. Enhancement of Tumor Lethality of ROS in Photodynamic Therapy. *Cancer Medicine* **2021**, 10 (1), 257–268. <https://doi.org/10.1002/cam4.3592>.
- (66) Maisch, T.; Baier, J.; Franz, B.; Maier, M.; Landthaler, M.; Szeimies, R.-M.; Bäuml, W. The Role of Singlet Oxygen and Oxygen Concentration in Photodynamic Inactivation of Bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, 104 (17), 7223–7228. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611328104>.
- (67) Kuimova, M. K.; Yahioglu, G.; Ogilby, P. R. Singlet Oxygen in a Cell: Spatially Dependent Lifetimes and Quenching Rate Constants. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131 (1), 332–340. <https://doi.org/10.1021/ja807484b>.
- (68) Day, R. A.; Sletten, E. M. Perfluorocarbon Nanomaterials for Photodynamic Therapy. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2021**, 54, 101454. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101454>.

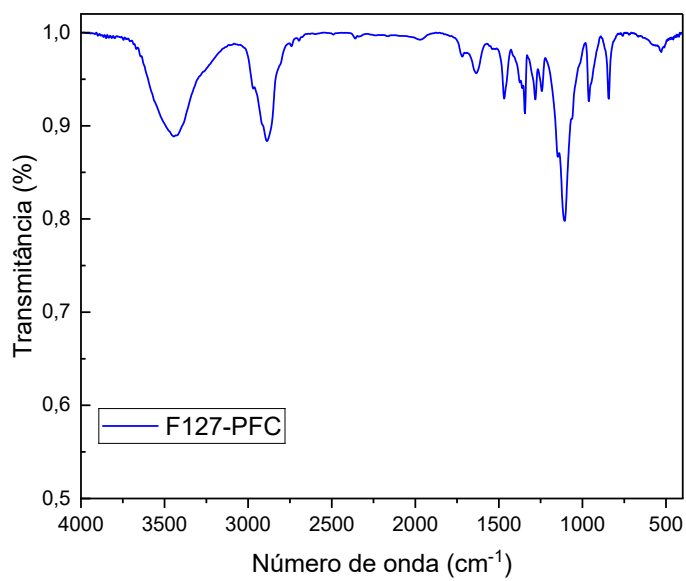
- (69) Zhang, X.-F.; Zhang, J.; Liu, L. Fluorescence Properties of Twenty Fluorescein Derivatives: Lifetime, Quantum Yield, Absorption and Emission Spectra. *J Fluoresc* **2014**, *24* (3), 819–826. <https://doi.org/10.1007/s10895-014-1356-5>.
- (70) Kwan, A. T. H. Developing Activatable Photosensitizers for Fluorescence- Guided Photodynamic Therapy.
- (71) Ricken, Y. S. Lipossomas Híbridos Polimérico-Lipídicos de Longa Circulação para a Incorporação de Curcumina e Nanopartículas de Prata Almejando a Aplicação em Terapia Fotodinâmica.
- (72) Rabello, B. R.; Gerola, A. P.; Pellosi, D. S.; Tessaro, A. L.; Aparício, J. L.; Caetano, W.; Hioka, N. Singlet Oxygen Dosimetry Using Uric Acid as a Chemical Probe: Systematic Evaluation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2012**, *238*, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2012.04.012>.
- (73) Redmond, R. W.; Gamlin, J. N. A Compilation of Singlet Oxygen Yields from Biologically Relevant Molecules. *Photochem & Photobiology* **1999**, *70* (4), 391–475. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1999.tb08240.x>.
- (74) Dmitrenko, M. E.; Penkova, A. V.; Atta, R. R.; Zolotarev, A. A.; Plisko, T. V.; Mazur, A. S.; Solovyev, N. D.; Ermakov, S. S. The Development and Study of Novel Membrane Materials Based on Polyphenylene Isophthalamide - Pluronic F127 Composite. *Materials & Design* **2019**, *165*, 107596. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107596>.
- (75) *Infrared Spectroscopy Absorption Table*. Chemistry LibreTexts. https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Reference/Reference_Tables/Spectroscopic_Reference_Tables/Infrared_Spectroscopy_Absorption_Table (accessed 2026-06-10).
- (76) Shaikhullina, M.; Khaliullina, A.; Gimatdinov, R.; Butakov, A.; Chernov, V.; Filippov, A. NMR Relaxation and Self-Diffusion in Aqueous Micellar Gels of Pluronic F-127. *Journal of Molecular Liquids* **2020**, *306*, 112898. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112898>.
- (77) Lewis, R. E.; Huang, C.-H.; White, J. C.; Haynes, C. L. Using¹⁹F NMR to Investigate Cationic Carbon Dot Association with Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). *ACS Nanosci. Au* **2023**, *3* (5), 408–417. <https://doi.org/10.1021/acsnanoscienceau.3c00022>.
- (78) Jovicic, V.; Khan, M. J.; Zbogor-Rasic, A.; Fedorova, N.; Poser, A.; Swoboda, P.; Delgado, A. Degradation of Low Concentrated Perfluorinated Compounds (PFCs) from Water Samples Using Non-Thermal Atmospheric Plasma (NTAP). *Energies* **2018**, *11* (5), 1290. <https://doi.org/10.3390/en11051290>.
- (79) Saadat, Y.; Kim, K.; Foudazi, R. Two-Step Thermoresponsive Ultrafiltration Membranes from Polymerization of Lyotropic Liquid Crystals. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2022**, *4* (11), 8156–8165. <https://doi.org/10.1021/acsapm.2c01095>.

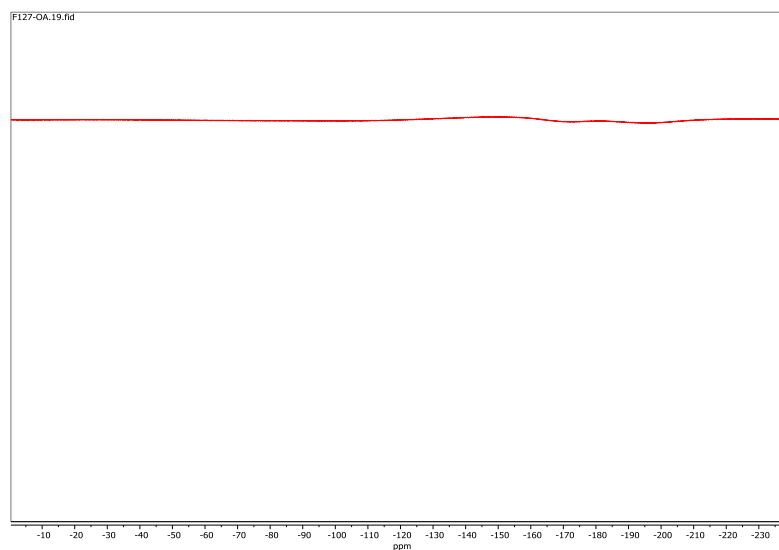
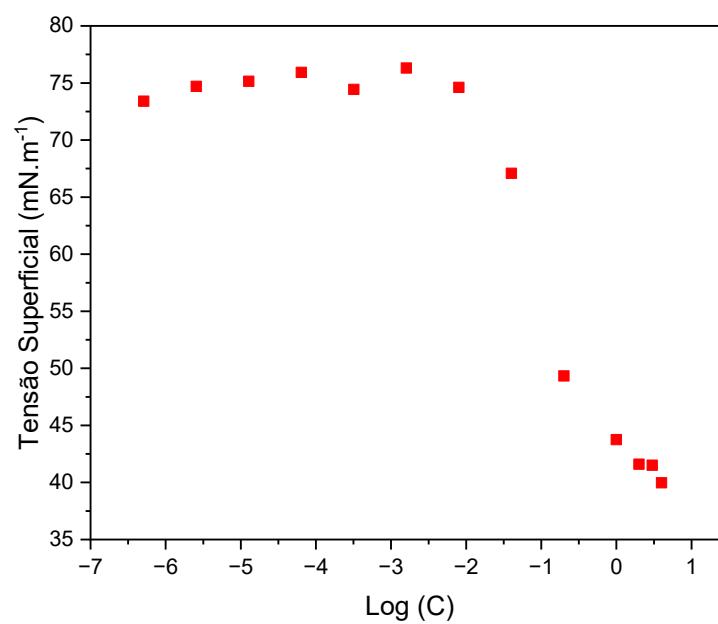
APÊNDICE

Apêndice A. FTIR do copolímero F127-OA.



Apêndice B. FTIR do copolímero F127-PFC.



Apêndice C. Espectro de ^1F RMN da formulação F127-OA.**Apêndice D.** Gráfico da tensão superficial versus log da concentração para o cálculo da CMC.

Apêndice E. Espectro de emissão da RB em PBS em diferentes quantidades.

