

## **Compostos de coordenação para materiais antibacterianos biopoliméricos para impressão 3D**

**CRISTIANA ROSADO MACHADO**  
(Licenciada em Biotecnologia)

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica, na Área de Especialização em Processos Químicos

Orientadores:

Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa  
Doutor Tiago Adriano Fernandes

Júri:

Presidente: Doutor José Augusto Paixão Coelho

Vogais:

Doutora Marina Kirillova  
Doutora Elisabete Clara Bastos do Amaral Alegria  
Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa

**Setembro 2025**



# **Compostos de coordenação para materiais antibacterianos biopoliméricos para impressão 3D**

**CRISTIANA ROSADO MACHADO**  
(Licenciada em Biotecnologia)

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica, na Área de Especialização em Processos Químicos

**Orientadores:**

Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa (ISEL/IPL)  
Doutor Tiago Adriano Fernandes (ISEL/UL)

**Júri:**

Presidente: Doutor José Augusto Paixão Coelho (ISEL/IPL)

**Vogais:**

Doutora Marina Kirillova (CQE/IST-ID)  
Doutora Elisabete Clara Bastos do Amaral Alegria (ISEL/IPL)  
Doutora Ana Catarina Cardoso de Sousa (ISEL/IPL)

**Setembro 2025**



# Agradecimentos

Chegar ao fim desta jornada foi um desafio repleto de aprendizagens e superações que não teriam sido possíveis sem o apoio fundamental de determinadas pessoas e instituições. Desta forma, demonstro o mais sincero agradecimento aos mesmos.

À minha orientadora Doutora Ana Catarina Sousa, pela maravilhosa receção nesta fase tão importante do meu percurso, pela paciência, orientação e simpatia e ao meu coorientador Doutor Tiago Fernandes por estar sempre disposto a ajudar durante a elaboração do projeto e pela partilha do seu conhecimento.

Aos meus colegas de laboratório por compartilharem esta experiência comigo, por toda a motivação, paciência e por me animarem em momentos menos bons.

Ao Instituto Superior de Engenharia de Lisboa e ao Centro de Química Estrutural do Instituto Superior Técnico, pelo acesso aos laboratórios e equipamentos necessários para a elaboração deste trabalho.

Ao Instituto Politécnico de Lisboa expresso o meu sincero agradecimento pelo apoio financeiro prestado através do projeto IPL/IDI&CA2024/Gel2Heal\_ISEL.

Ao doutor Chris H. J. Franco do Centro de Química Estrutura do Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, pela realização dos ensaios de Raio X de cristal único e interpretação e elucidação das estruturas.

À doutora Paula Jorge do Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, pela realização dos ensaios antimicrobianos.

À professora doutora Cecília Calado, do Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, por disponibilizar o acesso aos ensaios de citotoxicidade.

À minha família e namorado por estarem sempre do meu lado, pelo incentivo constante e pela compreensão em todos os momentos da minha vida.



## Declaração de integridade

Declaro que esta(e) dissertação é o resultado da minha investigação pessoal e independente. O seu conteúdo é original e todas as fontes listadas nas referências bibliográficas foram consultadas e estão devidamente mencionadas no texto. Mais declaro que todas as referências científicas e técnicas relevantes para o desenvolvimento do trabalho estão devidamente citadas e constam das referências bibliográficas.

O autor

Crishiana Machado  
Lisboa, 23. de Junho... de 2025



# Compostos de coordenação para materiais antibacterianos biopoliméricos para impressão 3D

## Resumo

Os compostos e polímeros de coordenação, são uma classe diversificada de materiais com inúmeras aplicações, que se apresentam, também, como materiais promissores no desenvolvimento de novos compostos com atividade antibacteriana.

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar novos compostos de coordenação, com potenciais propriedades antimicrobianas, para incorporação em polímeros biocompatíveis e posterior produção de filmes e peças 3D, através de um processo de cura por fotopolimerização.

Foram sintetizados três compostos, dois compostos de coordenação (CC1 e CC2), com centros metálicos de Cu(II) e Zn(II), respectivamente, e um polímero de coordenação (CP3), com centro metálico de Ag(I), utilizando o ligando orgânico, ácido 2-furóico.

Os compostos CC1, CC2 e CP3 foram obtidos com rendimentos de 46%, 45% e 24%, respectivamente, e as suas caracterizações e fórmulas foram propostas com base nos resultados obtidos por técnicas espectroscópicas e difração de raios X.

Estes compostos foram incorporados em matrizes de polietileno glicol/ polietileno glicol diacrilato: PEG/PEGDA, 10:90 (m/m), com o objetivo de produzir filmes e peças 3D de materiais biocompatíveis e com propriedades antibacterianas.

As características físico-químicas foram determinadas e, posteriormente, foram avaliados relativamente à sua capacidade antimicrobiana face a duas estirpes de bactérias Gram-positivas (*S.aureus* e *S.epidermidis*) e Gram-negativas (*E. coli* e *P.aeruginosa*) e potencial citotoxicidade num ensaio em células humanas de fibroblastos da linha celular L929.

No geral, foi possível confirmar que a mistura PEG/PEGDA, 10:90 (m/m), proposta, pode ser dopada com compostos bioativos e utilizada para a produção de filmes e peças 3D, através do processo de cura por fotopolimerização.

O material com o CP3 mostrou ser o mais eficiente, no que se refere a uma ação antibacteriana mais abrangente. No entanto, os resultados obtidos para o material com CC2 também se revelaram promissores, no que se refere à ação antimicrobiana contra estirpes de bactérias Gram-positivas.

**Palavras-chave:** Compostos de coordenação; Polímeros de coordenação; Materiais antimicrobianos; Polietileno glicol diacrilato; Inibição antibacteriana.



# Coordination compounds for biopolymeric antibacterial materials for 3D printing

## Abstract

Coordination compounds and polymers are a diverse class of materials with numerous applications, also presenting promising potential for the development of new compounds with antibacterial activity.

The present work aimed to synthesize new coordination compounds with potential antimicrobial properties for incorporation into biocompatible polymers and subsequent production of films and 3D parts through a photopolymerization curing process.

Three compounds were synthesized: two coordination compounds (CC1 and CC2) with Cu(II) and Zn(II) metal centers, respectively, and one coordination polymer (CP3) with Ag(I) metal center, using the organic ligand 2-furoic acid.

Compounds CC1, CC2, and CP3 were obtained in yields of 46%, 45%, and 24%, respectively, and their characterizations and formulas were proposed based on the results obtained by spectroscopic techniques and X-ray diffraction.

These compounds were incorporated into polyethylene glycol/polyethylene glycol diacrylate:PEG/PEGDA matrices, 10:90 (w/w), to produce films and 3D parts made of biocompatible materials with antibacterial properties.

Their physicochemical characteristics were determined, and they were subsequently evaluated for their antimicrobial capacity against two strains of Gram-positive bacteria (*S. aureus* and *S. epidermidis*) and Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*), as well as their potential cytotoxicity in an assay using human fibroblast cells of the L929 cell line.

Overall, it was possible to confirm that the proposed PEG/PEGDA blend, 10:90 (w/w), can be doped with bioactive compounds and used for the production of 3D films and parts through the photopolymerization curing process.

The material with CP3 proved to be the most efficient, with regard to a more comprehensive antibacterial action. However, the results obtained for the material with CC2 also proved promising, with regard to antimicrobial action against Gram-positive bacterial strains.

**Keywords:** Coordination compounds; Coordination polymers; Antimicrobial materials; Polyethylene glycol diacrylate; Antibacterial inhibition.



## Lista de abreviaturas

**3D** – Tridimensional

**BioCPs** – Polímeros de coordenação biológicos

**CCs** – Complexos de coordenação

**CPs** – Polímeros de coordenação

**FTIR-ATR** – Espetroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier de Reflexão Total Atenuada

**MOFs** – Estruturas metal-orgânicas

**PBS** – Solução salina tamponada com fosfato

**PEG** – Polietileno glicol

**PEGDA** – Polietileno glicol diacrilato

**PXRD** – Difração de raios X de pós

**RAM** – Resistência antimicrobiana

**RMN** – Ressonância Magnética Nuclear

**SCXRD** – Difração de raios X de cristal único

**SEM** – Microscopia Eletrônica de Varrimento

**UV** – Ultra-violeta



# Índice

<b>1.</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>1</b>
1.1.	Antibióticos no combate às bactérias .....	1
1.2.	Resistência a antibióticos e o papel dos biofilmes .....	2
1.3.	Importância dos metais no combate às bactérias .....	4
1.4.	Polímeros de coordenação .....	5
1.4.1.	Métodos de síntese de polímeros de coordenação .....	5
1.4.2.	Metais .....	6
1.4.3.	Ligando .....	8
1.5.	Materiais híbridos para sistemas de libertação .....	9
1.5.1.	Polietileno glicol e derivados .....	11
1.6.	Modo de libertação de compostos metálicos .....	12
1.7.	Impressão 3D .....	14
<b>2.</b>	<b>Parte experimental</b> .....	<b>16</b>
2.1.	Reagentes .....	16
2.2.	Métodos .....	16
2.2.1.	Síntese dos complexos e polímero de coordenação .....	17
2.2.2.	Produção de filmes de PEG/PEGDA .....	18
2.2.3.	Produção de filmes PEG/PEGDA dopados com sais dos metais precursores .....	19
2.2.4.	Produção de peças 3D dopadas com sais dos metais precursores .....	20
2.2.5.	Produção de filmes e peças 3D dopadas com os compostos sintetizados .....	21
2.3.	Técnicas de caracterização dos compostos sintetizados .....	22
2.3.1.	Difração de raios X de cristal único .....	22
2.3.2.	Difração de raios X de pós .....	23
2.3.3.	Espetroscopia de Infravermelho com Transformada de <i>Fourier</i> .....	23
2.3.4.	Análise elementar .....	24
2.3.5.	Ressonância Magnética Nuclear .....	24
2.4.	Técnicas de caracterização dos filmes .....	25
2.4.1.	Ensaio de absorção .....	25
2.4.2.	Ensaio de dureza .....	25
2.4.3.	Ensaio microbiológicos .....	26
2.4.4.	Ensaio citotóxicos .....	27
2.4.5.	Análise termogravimétrica .....	29
2.4.6.	Microscopia Eletrônica de Varrimento .....	29
<b>3.</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>32</b>
3.2.	Caracterização dos compostos sintetizados .....	32
3.2.1.	Descrição estrutural para o complexo de coordenação CC1 .....	32
3.2.2.	Descrição estrutural para o polímero de coordenação CP3 .....	34
3.2.3.	Descrição estrutural para o complexo de coordenação CC2 .....	36
3.2.4.	Análise FTIR-ATR .....	36
3.2.5.	Ressonância Magnética Nuclear .....	39
3.2.6.	Análise Elementar .....	40
3.3.	Caracterização dos filmes produzidos .....	41
3.3.1.	Análise FTIR-ATR .....	45
3.3.2.	Ensaio de absorção de solução tampão .....	47
3.3.3.	Ensaio de dureza .....	50
3.3.4.	Ensaio microbiológicos .....	52
3.3.5.	Ensaio citotóxicos .....	57
3.3.6.	Análise termogravimétrica .....	58
3.3.7.	Análise SEM .....	60
3.4.	Peças 3D dopadas com sais dos metais precursores e com CP3 .....	63
<b>4.</b>	<b>Conclusões e trabalho futuro</b> .....	<b>66</b>
4.2.	Conclusões .....	66
4.3.	Trabalho futuro .....	67
<b>5.</b>	<b>Referências bibliográficas</b> .....	<b>70</b>



# Índice de figuras

FIGURA 1.1 - ESQUEMA DAS PRINCIPAIS CAUSAS DO AUMENTO DA RAM. ....	2
FIGURA 1.2 - ETAPAS DE FORMAÇÃO DE UM BIOFILME. (ADAPTADO DE 6) .....	3
FIGURA 1.3 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO 2-FURÓICO.....	9
FIGURA 1.4 - ESTRUTURA MOLECULAR DE POLIETILENO GLICOL (PEG). ....	11
FIGURA 1.5 - ESTRUTURA QUÍMICA DO POLIETILENO GLICOL DIACRILATO (PEGDA). ....	12
FIGURA 2.1 - ESQUEMA GERAL DO TRABALHO EXPERIMENTAL. ....	16
FIGURA 2.2 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DA SÍNTESE DOS COMPLEXOS E POLÍMERO DE COORDENAÇÃO CC1, CC2 E CP3 E RESPECTIVOS RENDIMENTOS. ....	17
FIGURA 2.3 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DA SÍNTESE DOS COMPLEXOS E POLÍMERO DE COORDENAÇÃO CC1, CC2 E CP3. ....	18
FIGURA 2.4 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DA PRODUÇÃO DE FILMES DA MATRIZ PEG/PEGDA. ....	19
FIGURA 2.5 – IMPRESSORA 3D ANYCUBIC PHOTON MONO E DESCRIÇÃO ESQUEMÁTICA DA MESMA.....	21
FIGURA 2.6 – MEDIÇÃO DE DUREZA DE A) PEÇA 3D DOPADA COM CP3; B) FILME MATRIZ.....	26
FIGURA 3.1 – (A) ESTRUTURA CRISTALINA DO CC1, MOSTRANDO AS UNIDADES DINUCLEARES EM FORMA DE RODA DE PÁS (PADDLEWHEEL). (B) E (C) REDE SUPRAMOLECULAR BIDIMENSIONAL (2D) FORMADA POR LIGAÇÕES DE HIDROGÉNIO E INTERAÇÕES DE EMPILHAMENTO $\pi$ - $\pi$ , VISUALIZADA AO LONGO DO PLANO BC E DO EIXO A, RESPECTIVAMENTE. (D) INTERAÇÕES DE EMPILHAMENTO $\pi$ - $\pi$ ENTRE ANÉIS DE FURANO, DESTACADAS COMO ESFERAS AZUIS. OS ÁTOMOS DE HIDROGÉNIO E ALGUNS ÁTOMOS NÃO ESSENCIAIS FORAM OMITIDOS PARA MAIOR CLAREZA. ....	33
FIGURA 3.2 – ESPETROS DE DIFRAÇÃO RAIOS X PÓS DE CC1 E TEÓRICO (CC1T).....	33
FIGURA 3.3 - A) ESTRUTURA CRISTALINA DO CP3, DESTACANDO AS INTERAÇÕES Ag- $\pi$ ENTRE OS CENTROS DE PRATA E OS ANÉIS DE FURANO. B) AS CAMADAS BIDIMENSIONAIS APRESENTAM UMA TOPOLOGIA DE REDE EM FAVO DE MEL, FORMANDO MOTIVOS REGULARES DE ANÉIS DE SEIS MEMBROS. C) EMPILHAMENTO DAS CAMADAS 2D AO LONGO DO EIXO CRISTALOGRAFICO B. INSERÇÃO: VISTA DETALHADA DAS INTERAÇÕES Ag- $\pi$ ENTRE AS UNIDADES Ag(NO <sub>3</sub> ) E OS ANÉIS DE FURANO. ALGUNS ÁTOMOS FORAM OMITIDOS PARA MAIOR CLAREZA. ....	35
FIGURA 3.4 - ESPETROS DE DIFRAÇÃO RAIOS X PÓS DE CP3 E TEÓRICO (CP3T).....	35
FIGURA 3.5 - ESPETROS DE DIFRAÇÃO RAIOS X PÓS DE CC2.....	36
FIGURA 3.6 - ESPETROS DE FTIR-ATR OBTIDOS NA R1 E R2. ....	37
FIGURA 3.7 - ESPETROS DE FTIR-ATR OBTIDOS NA R3 E R4. ....	38
FIGURA 3.8 - ESPETROS DE FTIR-ATR OBTIDOS NA R5. ....	38
FIGURA 3.9 – ESPETROS DE <sup>1</sup> H-RMN DO HFA E COMPOSTOS DE ZINCO OBTIDOS NAS REAÇÕES 3 E 4.....	39
FIGURA 3.10 – AMOSTRAS DO FILME F@PEG/PEGDA (10/90) % (M/M) .....	42
FIGURA 3.11 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@1Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O; F@2Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O E F@5Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O. ....	42
FIGURA 3.12 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@1ZnCl <sub>2</sub> ; B) F@2ZnCl <sub>2</sub> ; C) F@5ZnCl <sub>2</sub> .....	43
FIGURA 3.13 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@1Ag(NO <sub>3</sub> ); B) F@2Ag(NO <sub>3</sub> ); C) F@5Ag(NO <sub>3</sub> ).....	43
FIGURA 3.14 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@2,5CC1; B) F@2,5Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O, C) F@2,5HFA. ....	44
FIGURA 3.15 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@2,5CC2; B) F@2,5ZnCl <sub>2</sub> ; C) F@2,5HFA. ....	45
FIGURA 3.16 – AMOSTRAS DOS FILMES A) F@0,25CP3, B) F@0,25Ag(NO <sub>3</sub> ) E C) F@0,25HFA. ....	45
FIGURA 3.17 - ESPETROS DE ANÁLISE FTIR-ATR OBTIDOS DE F@2,5CC1 vs F@PEG/PEGDA. ....	46
FIGURA 3.18 - ESPETROS DE ANÁLISE FTIR-ATR OBTIDOS DE F@2,5CC2 vs F@PEG/PEGDA. ....	46
FIGURA 3.19- ESPETROS DE ANÁLISE FTIR-ATR OBTIDOS DE F@0,25CP3 vs F@PEG/PEGDA. ....	47
FIGURA 3.20 – ASPETO FINAL DOS TRIPLICADOS DOS ENSAIOS DE ABSORÇÃO DE AMOSTRAS DE FILMES DE MATRIZ E DE COMPLEXOS E POLÍMERO DE COORDENAÇÃO INCORPORADOS, APÓS 24 HORAS. ....	48
FIGURA 3.21 - ENSAIOS DE ABSORÇÃO DE AMOSTRAS DE FILMES DE SAIS DE METAIS INCORPORADOS, APÓS 24 HORAS. ....	49
FIGURA 3.22 - ENSAIOS DE ABSORÇÃO DE AMOSTRAS DE FILMES F@2,5HFA E F@0,25HFA INCORPORADOS, APÓS 24 HORAS. ....	49
FIGURA 3.23 – HALOS BACTERIANOS OBSERVADOS NA ESTIRPE <i>P. AERUGINOSA</i> PA14. ....	53
FIGURA 3.24 – HALOS BACTERIANOS OBSERVADOS NA ESTIRPE <i>E. COLI</i> ATCC 25922.....	53
FIGURA 3.25 – HALOS BACTERIANOS OBSERVADOS NA ESTIRPE <i>S. AUREUS</i> ATCC 25923. ....	53
FIGURA 3.26 – HALOS BACTERIANOS OBSERVADOS NA ESTIRPE <i>S. EPIDERMIDIS</i> RP62A. ....	54
FIGURA 3.27 - RESULTADOS INIBITÓRIOS DOS FILMES PRODUZIDOS NA ESTIRPE <i>P. AERUGINOSA</i> . ....	54
FIGURA 3.28 - RESULTADOS INIBITÓRIOS DOS FILMES PRODUZIDOS NA ESTIRPE <i>E. COLI</i> . ....	55
FIGURA 3.29 - RESULTADOS INIBITÓRIOS DOS FILMES PRODUZIDOS NA ESTIRPE <i>S. AUREUS</i> . ....	55
FIGURA 3.30 - RESULTADOS INIBITÓRIOS DOS FILMES PRODUZIDOS NA ESTIRPE <i>S. EPIDERMIDIS</i> . ....	56
FIGURA 3.31 - RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS CITOTÓXICOS. ....	57

FIGURA 3.32 - ESPETRO TERMOGRAVIMÉTRICO OBTIDO NOS FILMES DOPADOS E MATRIZ. ....	59
FIGURA 3.33 – MICROGRAFIA DA ANÁLISE MORFOLÓGICA SUPERFICIAL DE F@2,5CC1. ....	60
FIGURA 3.34 - ESPETRO EDS DE F@2,5CC1. ....	60
FIGURA 3.35 – MICROGRAFIA DA ANÁLISE MORFOLÓGICA SUPERFICIAL DE F@2,5CC2. ....	61
FIGURA 3.36 - ESPETRO EDS DE F@2,5CC2. ....	61
FIGURA 3.37 – MICROGRAFIA DA ANÁLISE MORFOLÓGICA SUPERFICIAL DE F@0,25CP3. ....	62
FIGURA 3.38 - ESPETRO EDS DE F@0,25CP3. ....	62
FIGURA 3.39 – PEÇAS 3D DOPADAS COM A) P@5Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O, B) P@5ZnCl <sub>2</sub> , C) P@5Ag(NO <sub>3</sub> ). ....	63
FIGURA 3.40 - P@0,25CP3 .....	64

## Índice de tabelas

TABELA 2.1 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A SÍNTESE DE CC1, CC2 E CP3.....	17
TABELA 2.2 – MASSAS DE SAIS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE FILMES DOPADOS.....	20
TABELA 2.3 – MASSA DE COMPOSTO E VOLUME DE SOLVENTE UTILIZADO NA PRODUÇÃO DOS FILMES DE Cu(II). ....	21
TABELA 2.4 – MASSA DE COMPOSTO E VOLUME DE SOLVENTE UTILIZADO NA PRODUÇÃO DOS FILMES DE Zn(II).....	22
TABELA 2.5 – MASSA DE COMPOSTO E VOLUME DE SOLVENTE UTILIZADO NA PRODUÇÃO DOS FILMES DE Ag(I). ....	22
TABELA 3.1 - VALORES EXPERIMENTAIS (E) E TEÓRICOS (T) DO TEOR DE C, H, N, S PRESENTES EM CC1, CC2 E CP3.....	40
TABELA 3.2 - COMPOSIÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS DOPADOS.....	41
TABELA 3.3 - VALORES DE DUREZA <i>SHORE A</i> PARA OS FILMES PRODUZIDOS. ....	51
TABELA 3.4 - VALORES DE DUREZA <i>SHORE A</i> PARA AS PEÇAS 3D PRODUZIDAS.....	52



# 1. Introdução

## 1.1. Antibióticos no combate às bactérias

Até meados do século passado (séc. XX) a intervenção médica para infecções bacterianas não apresentava a mesma praticidade dos dias de hoje, afetando tanto a morbidade como a mortalidade da população. Em 1928, Alexander Fleming fez uma das descobertas mais marcantes na história da medicina: a penicilina.<sup>1</sup>

Foi com a Segunda Guerra Mundial que ocorreu o impulsionamento do desenvolvimento e produção deste antibiótico, devido à elevada ocorrência de feridas infetadas e doenças entre os soldados, demonstrando uma necessidade urgente de tratamentos antibacterianos eficazes. No final da guerra, a penicilina tornou-se amplamente disponível para uso tanto militar como civil, proporcionando uma redução drástica na taxa de mortalidade por infecções bacterianas, tais como, a pneumonia, a febre reumática e a sífilis. Este acontecimento promoveu também a descoberta e o desenvolvimento de outros antibióticos, revolucionando o tratamento de infecções bacterianas e melhorando significativamente os resultados da saúde pública.<sup>2</sup>

Até à atualidade, os antibióticos têm desempenhado um papel crucial mundialmente, tanto na redução de infecções e mortes, como no aumento da esperança média de vida mundial. Estes auxiliam diversos processos médicos, tais como, tratamentos de quimioterapia, transplante de órgãos, infecções bacterianas, entre outros. Existem centenas de antibióticos no mercado, que estão divididos em mais de 15 classes, de acordo com a sua estrutura química e o modo como atuam contra as bactérias. Dentro destas classes existem os aminoglicosídeos, as cefalosporinas, os macrólidos, as quinolonas, as tetraciclina, entre outros, que dependendo da classe, utilizam diferentes mecanismos no combate às bactérias.<sup>2,3</sup>

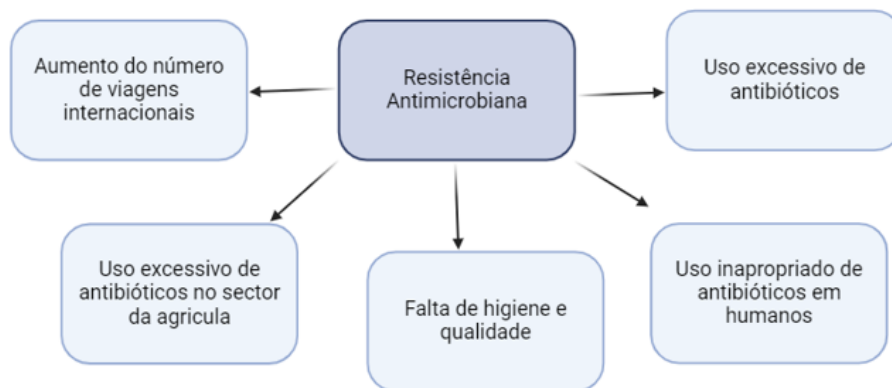
De forma a danificar ou matar bactérias, os antibióticos podem atuar através de mecanismos que interrompem a formação da parede celular das bactérias (penicilinas, cefalosporinas), podem interferir na síntese do DNA das bactérias (fluoroquinolonas), inibir a síntese de proteínas bacterianas (tetraciclina) ou mesmo destruir a síntese de proteínas (macrólidos, aminoglicosídeos).<sup>4</sup> A penicilina, mais especificamente, apresenta atividade antimicrobiana devido à presença de um anel beta-lactâmico (grupo beta-lactâmicos) na sua composição química. Este é responsável por atuar na inibição da síntese completa de peptidoglicano. O peptidoglicano é essencial para o crescimento e sobrevivência de muitas espécies bacterianas e possui uma estrutura química que não está presente nos hospedeiros

mamíferos infetados. A inibição da síntese deste componente leva a que as bactérias acabem por morrer.<sup>5</sup>

## 1.2. Resistência a antibióticos e o papel dos biofilmes

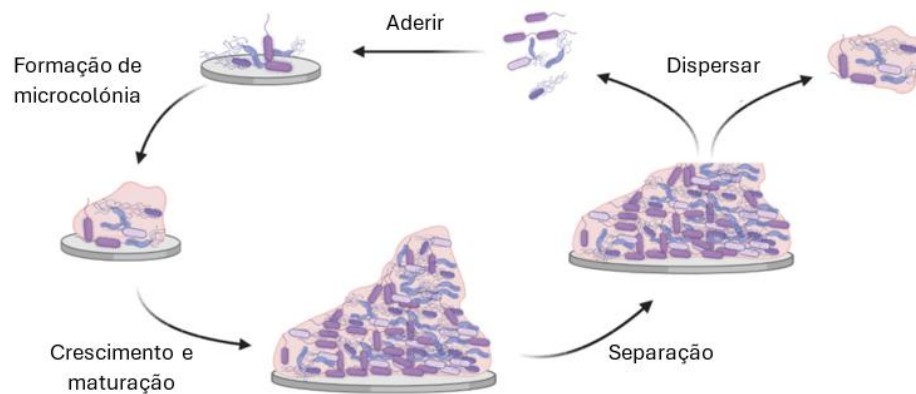
Em 2019, devido ao seu impacto na saúde humana, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a resistência antimicrobiana (RAM) como uma das dez principais ameaças à saúde global.<sup>6</sup>

Embora a RAM seja principalmente devida ao uso excessivo de antibióticos, existem outros fatores responsáveis pelo aumento da sua prevalência. Estes fatores são denominados de determinantes socioeconómicos e incluem maus hábitos de higiene e qualidade, segurança alimentar, deficiência no controlo de infeções hospitalares e clínicas, acumulação de antibióticos no ambiente e uso indevido destes na indústria animal e alimentar, representado na Figura 1.1.<sup>6</sup>



**Figura 1.1 - Esquema das principais causas do aumento da RAM.**

Outro dos fatores que contribuem significativamente para a resistência das bactérias aos efeitos da terapia antibiótica é a formação de biofilmes.<sup>7</sup> Parte das bactérias existentes apresentam uma estrutura que lhes permite o deslocamento. No entanto, grande parte do tempo, estes microrganismos encontram-se associados a uma superfície. Quando aderidas nesta superfície, as bactérias criam uma matriz protetora, como podemos ver na Figura 1.2, que as mantém unidas e possibilita a ligação química entre as mesmas. À medida que a matriz aumenta, é formado um filme que protege estes microrganismos, cobrindo-os e fornecendo um ecossistema protetivo, denominado de biofilme.<sup>7</sup>



**Figura 1.2 - Etapas de formação de um biofilme. (Adaptado de 6)**

Uma vez que a matriz pode ser composta por diversas espécies de bactérias, estas desenvolveram mecanismos que conferem a transferência de informação genética entre si. Quando comparado à mesma espécie de bactérias planctônicas (livres) e inseridas no biofilme, é possível concluir que as bactérias no biofilme apresentam uma resistência muito superior a um determinado antibiótico. Esta matriz atua ainda como uma barreira protetora para estes microrganismos, fornecendo proteção tanto para ambientes agressivos, como para ataques por parte de antibióticos.<sup>7</sup>

Os biofilmes são bastante prejudiciais em diversas áreas, tais como, na área industrial (contaminações, corrosão de materiais e tubagens e entupimento de tubagens) e na área hospitalar (contaminação de maçanetas, próteses, cateteres e instrumentos cirúrgicos) onde grande parte das bactérias que proporcionam doenças crônicas e infecciosas atuam em biofilmes.<sup>8</sup>

Visto que, a associação entre biofilmes e a resistência antimicrobiana apresenta um impacto significativo na saúde pública, é necessário um estudo constante de novas estratégias através de diferentes fontes, na busca por novos agentes antibacterianos.<sup>8</sup>

O desenvolvimento de novos antibióticos implica a criação de estudos que caracterizam o seu mecanismo de ação e avaliam detalhadamente a sua segurança e eficácia tanto em humanos como em outros animais. Este processo pode demorar mais de oito anos a finalizar representando um grande investimento por parte de empresas farmacêuticas, sendo que, os novos antibióticos podem ser eficazes apenas durante um período limitado.<sup>9</sup> Considerando este investimento e o ambiente competitivo atual, com a comercialização de inúmeros agentes antibacterianos, é essencial a procura por novos agentes que demonstrem vantagens distintas em relação aos tratamentos antibióticos já existentes.<sup>10</sup>

### 1.3. Importância dos metais no combate às bactérias

A história dos metais e os seus sais é primitiva, data das antigas civilizações do Egito, Mesopotâmia, China e Índia, onde recipientes de água em cobre eram usados para esterilização e a prata coloidal e o zinco eram utilizados no tratamento de queimaduras e feridas devido às suas propriedades antissépticas. No entanto, o aparecimento dos primeiros antibióticos e a facilidade de estes serem produzidos levou à queda da aplicação destes metais. Com o aparecimento da resistência antimicrobiana e o aumento exponencial da mesma, os complexos metálicos surgiram, novamente, como uma opção no combate a bactérias resistentes.<sup>11</sup> No decorrer do século XX, os complexos metálicos desempenharam um papel crucial na área da química medicinal<sup>12</sup>, mas foi com a descoberta e aprovação do primeiro fármaco anticancerígeno à base de metal, a cisplatina, que a era moderna da química medicinal inorgânica surgiu.<sup>13</sup> Desde então muitos complexos metálicos foram estudados para o tratamento de doenças, tais como, complexos de titânio, ferro, ruténio, gálio, paládio, prata, ouro, zinco e cobre.<sup>14</sup>

Os compostos de coordenação, também conhecidos como complexos metálicos, são moléculas formadas por um átomo central metálico, ligado a um ou mais ligandos através de ligações covalentes coordenativas. Por possuírem uma vasta variedade de possíveis combinações, centro metálico, espécies orgânicas e estruturas, os complexos metálicos têm vindo a ser estudados contra várias doenças. De entre os diferentes iões metálicos mais estudados destacam-se a platina, o paládio, o ruténio, o níquel, o crómio, o cobre, a prata e o ouro, principalmente em tratamentos anticancerígenos. Além disso, os complexos metálicos de iões de crómio, ouro e cobre mostraram excelente atividade antibacteriana e muitos outros compostos revelaram aplicações promissoras contra a malária e doenças neurodegenerativas como o Alzheimer. Recentemente, os compostos de coordenação também têm vindo a ser utilizados como medicamentos antivirais, em estudos contra o coronavírus.<sup>11</sup>

Os compostos de coordenação também desempenham papéis cruciais nos sistemas biológicos, como transporte de eletrões, transporte de oxigénio, controlo de eletrólitos e funções como cofatores em várias metalo-enzimas. Um dos exemplos bem ilustrativo é a hemoglobina, um complexo metálico de iões de Fe(II), transportadora de oxigénio no sangue, e que é vital para a vida humana.<sup>11</sup>

Contudo, a presença destes metais pode ser tóxica em concentrações elevadas, logo os organismos desenvolveram sistemas elaborados para homeostase de metais, incluindo captação, transporte, armazenamento e a sua secreção. Estes são frequentemente realizados através de proteínas.<sup>15</sup>

## 1.4. Polímeros de coordenação

Os polímeros de coordenação (CPs) são compostos de coordenação metal-ligando poliméricos, que se estendem no espaço. Estes podem formar cadeias lineares (1D), estruturas em camadas (2D) ou redes tridimensionais (3D), dependendo da organização das ligações entre os centros metálicos e espécies orgânicas coordenativas (os ligandos). A estrutura destes polímeros é composta por um centro metálico (ião metálico ou *cluster*) e ligandos que permitem a coordenação aos centros metálicos. Dentro das subclasses de CPs existem duas subclasses principais: as redes 1D, 2D e 3D e as “estruturas metal-orgânicas” (MOFs). Os MOFs são redes de coordenação com elevada porosidade e organização cristalina.<sup>16</sup>

Os polímeros de coordenação, incluindo as estruturas metal-orgânicas, são uma classe diversificada de materiais com inúmeras aplicações. No entanto, estes podem apresentar alguns riscos de saúde, riscos ambientais, baixa eficiência de custos e pouca sustentabilidade.<sup>17</sup>

### 1.4.1. Métodos de síntese de polímeros de coordenação

Uma síntese estável e rentável depende de um conjunto de fatores. A formação de CPs é influenciada por diversos fatores que determinam a sua geometria, estrutura cristalina e, conseqüentemente, as suas propriedades finais. Um dos fatores cruciais é a seleção dos íões metálicos que é crucial na geometria e estrutura cristalina obtida no CP.<sup>18</sup> Do mesmo modo, as propriedades do ligando, como o tipo, estrutura e flexibilidade são importantes na determinação da arquitetura final do CP. A presença de co-ligandos pode também influenciar a estrutura do CP, assim como, as condições de reação (temperatura, pressão, pH e escolha de solvente afeta a formação e cristalização de CP).<sup>18</sup>

Além disso, as forças intermoleculares como as forças de *Van der Waals*, interações  $\pi - \pi$  e ligações de hidrogénio fornecem estabilidade às estruturas de CPs.<sup>18</sup> Outro aspeto determinante é o número de coordenação, que influencia a dimensionalidade do CP e é afetada pelo número de ligações possíveis entre o centro metálico e os ligandos.<sup>18</sup>

Consoante todas as características de CP necessárias para a aplicação desejada dos mesmos, existem diferentes métodos que podem ser aplicados para produzir estes CPs<sup>19</sup>, tais como, a síntese *one-pot*, uma abordagem mais simples e comum na síntese de CPs que combina íões metálicos e ligandos orgânicos num recipiente (*pot*) aberto, sob condições específicas de solventes e temperatura.<sup>20</sup> A síntese hidrotermal/solvotermal é um método onde os reagentes são dissolvidos num solvente e inseridos num recipiente selado

(autoclave). É aplicada uma temperatura e pressão controladas, facilitando a formação de CPs e gerando, por norma, cristais de alta qualidade. Neste tipo de síntese os solventes comumente utilizados são a água, o etanol, o metanol e o dimetilsulfóxido (DMSO).<sup>21</sup> A síntese por micro-ondas aplica radiação micro-ondas, com o objetivo de acelerar a velocidade da reação e a formação de CPs.<sup>21,22</sup> Por outro lado, a síntese mecanoquímica é um método de moagem de reagentes em conjunto, sem envolver o uso de solventes. Trata-se de um processo ecológico e económico, visto que, não recorre à utilização de solventes e as reações ocorrem mais rapidamente.<sup>21</sup> Por fim, a síntese sonoquímica é uma técnica que utiliza ultrassom para gerar reações químicas e formar CPs. Os cristais obtidos são de menores dimensões.<sup>21</sup>

#### 1.4.2. Metais

A escolha de iões metálicos para a síntese de polímeros de coordenação é crucial, uma vez que afeta diretamente a estrutura, sendo que, o centro metálico influencia diferentes geometrias coordenativas, bem como as propriedades e potenciais aplicações. Esta seleção compromete diversos aspetos relevantes desde a obtenção às características do CP.

#### Zinco(II)

O Zn(II) trata-se de uma escolha promissora no desenvolvimento de estratégias antimicrobianas, uma vez que é um metal essencial para o nosso sistema imunológico<sup>14</sup> e tem demonstrado atividade antimicrobiana intrínseca. Quando uma bactéria invade o nosso corpo, células especializadas, denominadas de macrófagos, entram em ação para combatê-las. Estas células, manipulam a quantidade de zinco presente no seu interior de forma a enfraquecer e matar as bactérias. Esta manipulação pode ocorrer de duas formas, através da libertação de zinco para fora da bactéria, gerando um défice de zinco ou através da sua absorção no sentido de criar um ambiente tóxico para as bactérias.<sup>14</sup>

Estudos *in vitro* demonstram que o ZnCl<sub>2</sub> inibe significativamente o crescimento de bactérias associadas à halitose e doenças periodontais, como *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.<sup>23</sup> Pesquisas sobre complexos de ZnCl<sub>2</sub> com ligandos como indol-imidazil e bases de Schiff mostraram que esses compostos possuem atividade antimicrobiana contra bactérias como *Micrococcus luteus* e *Escherichia coli*, sugerindo que a coordenação com ZnCl<sub>2</sub> pode potencializar a atividade de certos ligandos.<sup>24</sup>

## Prata(I)

A prata foi um dos primeiros agentes antibacterianos usados. Atualmente, esta apresenta diversas aplicações comerciais, tais como, o uso de prata coloidal para antisepsia de feridas e o uso de nitrato de prata para tratamento de queimaduras.<sup>10</sup> Os íons de prata são altamente reativos e ligam-se às proteínas, levando a mudanças estruturais na parede celular bacteriana e na membrana nuclear, o que leva à distorção e morte celular. Estes íons têm ainda a capacidade de inibir a replicação bacteriana, ligando-se e desnaturando o DNA bacteriano.<sup>25</sup>

O potencial dos compostos de Ag(I) contra bactérias, vírus, fungos e células cancerígenas depende de diversos fatores, como a solubilidade em água, potencial *redox*, luz e estabilidade do ar, entre outros. Logo, as propriedades dos compostos de prata são afetadas diretamente pela escolha do ligando utilizado.<sup>26</sup>

O nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) tem sido amplamente estudado pelas suas propriedades antibacterianas, tornando-se um agente valioso no combate a diversas infecções.<sup>26</sup>

## Cobre(II)

O Cobre é um dos oligoelementos essenciais para o corpo humano, este participa na produção de hemoglobina, na formação de ossos e na proteção contra danos causados por substâncias tóxicas. Além disso, este metal desempenha um papel importante no sistema imunológico, auxiliando na defesa contra infecções.<sup>27</sup>

Como elemento antibacteriano importante, em comparação com o ferro e o zinco, é mais difícil para as bactérias formarem biofilme protetor na superfície de cobre. O cobre pode ainda inibir ou matar uma variedade de microrganismos patogênicos como bactérias Gram-positivas, leveduras, vírus etc.<sup>27</sup>

Os mecanismos antimicrobianos dos íons de cobre podem envolver múltiplas vias, incluindo a geração de espécies reativas de oxigênio, a ruptura das membranas celulares e a interferência em processos enzimáticos essenciais no interior das células bacterianas.<sup>24</sup>

O nitrato de cobre, Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O tem sido investigado pelas suas propriedades antimicrobianas, particularmente contra bactérias resistentes a antibióticos. Estudos indicam que o nitrato de cobre apresenta uma atividade antibacteriana significativa tanto contra bactérias Gram-positivas como Gram-negativas.<sup>28</sup>

### 1.4.3. Ligando

Os ligandos desempenham um papel crucial na atividade antimicrobiana de um polímero de coordenação, influenciando as suas propriedades químicas, físicas e biológicas.<sup>29</sup>

A atividade antibacteriana de um CP pode ser afetada por diversos fatores diretamente relacionados com a escolha de um determinado ligando.<sup>29</sup> A seletividade em relação a diferentes microrganismos pode ser afetada, sendo que o ligando pode apresentar inibição seletiva contra um certo tipo de bactéria.<sup>30</sup> A estabilidade e a solubilidade dos polímeros pode levar a um melhor desempenho antimicrobiano. Contudo o ligando pode ser usado como meio para transportar o centro metálico para o interior da bactéria. A biocompatibilidade do polímero também pode ser influenciada, comprometendo o seu potencial de utilização em aplicações médicas. A estrutura e flexibilidade dos ligandos afeta a topologia do polímero, impactando a sua interação com os microrganismos.<sup>31</sup>

Os CPs podem incorporar uma variedade de ligandos sintéticos, ou mesmo naturais. A escolha do tipo de espécie orgânica (ligando) usado depende de diversos fatores, tais como, aplicação do polímero, propriedades desejadas, considerações ambientais entre outros. Ligandos sintéticos podem ser ajustados para obter características estruturais específicas, tipos de coordenação e grupos funcionais.<sup>31</sup> Estes também permitem a criação de CPs com topologias e dimensões diversificadas (1D, 2D e 3D)<sup>32</sup> e podem ser desenvolvidos com propriedades de luminescência, magnetismo e atividade catalítica.<sup>33</sup>

Os ligandos naturais têm recebido uma atenção crescente à medida que a abordagem da química verde ganhou relevância. Os chamados “ligandos naturais” são obtidos a partir de fontes renováveis (por exemplo: biomassa), são ecológicos, sustentáveis e biodegradáveis, caso a reciclagem do CP seja viável. Os ligandos naturais são, geralmente, mais biocompatíveis, o que os torna adequados para aplicações biológicas e médicas e apresentam propriedades únicas como quiralidade e bioatividade, que podem ser uma mais-valia ao processo. Uma vez que se encontram prontamente disponíveis são, geralmente, mais económicos relativamente a ligandos sintéticos. Como principais exemplos temos os diácidos alifáticos, aminoácidos e nucleobases.<sup>16</sup>

A junção dos dois tipos de ligandos é também frequentemente utilizada, visto que, pode otimizar determinadas características desejadas no desenvolvimento do polímero e pode promover uma simbiose das peças de construção usadas para formulação do CP.

Os ligandos podem apresentar sinergia com iões metálicos, por exemplo, em polímeros de coordenação à base de prata, os ligandos orgânicos aumentam a estabilidade dos iões de prata, aumentando a atividade antibacteriana. Alguns ligandos, como os azóis e os ácidos piridinodicarboxílicos, podem aumentar a atividade antimicrobiana consoante a coordenação

com íons metálicos.<sup>31</sup> Ligandos com anéis aromáticos e grupos piridina carregados positivamente, podem também interagir com íons metálicos para romper as membranas bacterianas.<sup>31</sup>

### Ácido 2-furóico

O ácido 2-furóico é um ligando versátil que pode ser utilizado para gerar complexos de coordenação (0D ou mesmo 1D). A sua coordenação pode ocorrer através do seu grupo carboxilato ou através do seu átomo de oxigênio.<sup>34</sup>

O comportamento de coordenação deste ácido é influenciado pelo íon metálico, ligando e as condições de reação. Em complexos de Zn(II) e Cd(II), por exemplo, o ácido 2-furóico pode formar vários modos de coordenação, desde ligações por pontes de hidrogênio a ligações monodentadas.<sup>34</sup>

Este ácido é utilizado como ligando na síntese de complexos de vanádio antidiabéticos ativos por via oral e na preparação de complexos heterometálicos de elevada nuclearidade. O ácido 2-furóico também pode atuar como ligando na síntese de polímeros de coordenação 1D heterometálicos luminescentes.<sup>35</sup> A estrutura química do ácido 2-furóico encontra-se representada na Figura 1.3.

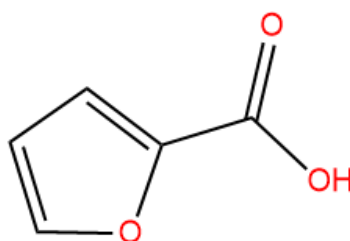


Figura 1.3 - Estrutura química do ácido 2-furóico.

## 1.5. Materiais híbridos para sistemas de libertação

De acordo com a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), um material híbrido é composto por uma mistura de componentes inorgânicos, orgânicos ou ambos os tipos de componentes, que geralmente se interpenetram em escalas inferiores a 1 µm. Esta mistura confere aos materiais propriedades únicas e melhoradas comparativamente com os seus componentes individuais.<sup>36</sup>

Os materiais híbridos oferecem uma combinação sinérgica de características poliméricas e inorgânicas. Existem diferentes tipos de matrizes utilizadas para o desenvolvimento destes materiais, entre elas as matrizes poliméricas. Nas últimas décadas, os materiais híbridos de base polimérica ganharam muita atenção, não apenas pela sua

caracterização estrutural interessante, mas também pelas suas aplicações funcionais promissoras. Assim, o progresso no design e preparação de novos materiais híbridos de base polimérica permitiu desenvolver um grande número de soluções para os desafios atuais em diversas aplicações, como adsorção, armazenamento de gás, catálise, dispositivos eletrônicos, etc. Em particular, a hibridação desses materiais pode trazer multifuncionalidades excepcionais, possibilitando a sua aplicação em catálise heterogênea, na transformação e armazenamento de energia e na saúde humana.<sup>36</sup>

Polímeros são macromoléculas compostas por unidades menores denominadas por monômeros, que se encontram ligados entre si através de ligações covalentes. Dependendo da composição química, peso molecular e estrutura podem apresentar diferentes propriedades, tais como:<sup>37</sup>

**Propriedades mecânicas:** Resistência, elasticidade, dureza e deformabilidade;<sup>37</sup>

**Propriedades térmicas:** Ponto de fusão, estabilidade e condutividade térmica;<sup>37</sup>

**Resistência química:** Determinados polímeros são resistentes a ácidos, bases e solventes;<sup>37</sup>

**Propriedades elétricas:** Certos polímeros podem servir como condutores ou isolantes elétricos;<sup>37</sup>

**Biocompatibilidade:** Dependendo do tipo de polímero, estes são utilizados na área da medicina por apresentarem compatibilidade com tecidos vivos.<sup>37</sup>

Em geral, os polímeros podem ser amplamente classificados em naturais, semi-sintéticos e sintéticos.<sup>35</sup> Os polímeros naturais e sintéticos biocompatíveis podem ser amplamente utilizados no desenvolvimento de biomateriais nas áreas da biomédica e do ambiente. Os polímeros naturais são compostos orgânicos encontrados na natureza, entre eles alginato, celulose, amido e algumas proteínas (queratina e colagênio).<sup>36</sup> Estes polímeros são considerados os futuros “materiais verdes” por apresentarem como vantagens uma grande biodegradabilidade, biocompatibilidade, rentabilidade e respeito pelo ambiente.<sup>40</sup>

Os polímeros sintéticos apresentam também eles biocompatibilidade e biodegradabilidade e são projetados e sintetizados para obter as propriedades físicas e químicas necessárias. Desta forma, apresentam diversas aplicações, tais como, cosméticos, revestimentos, curativos, imobilização de enzimas.<sup>38</sup>

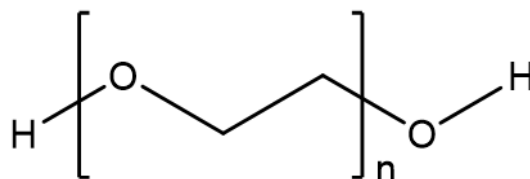
Os polímeros biodegradáveis e biocompatíveis têm sido amplamente utilizados na engenharia de tecidos e na administração de fármacos, visto que, podem ser decompostos e absorvidos pelo organismo ao longo do tempo, reduzindo o risco de efeitos adversos a longo prazo. Exemplos de polímeros biodegradáveis utilizados como biomateriais incluem o ácido polilático (PLA) e o ácido poliglicólico (PGA).<sup>38</sup>

Por outro lado, a biocompatibilidade de um polímero refere-se à sua capacidade de interagir com os tecidos vivos sem desencadear reações desfavoráveis. A biocompatibilidade é essencial para materiais utilizados em aplicações médicas, pois minimiza o risco de rejeição pelo sistema imunitário do organismo. Através da modificação da superfície química, carga e hidrofobicidade o grau de biocompatibilidade difere. Um exemplo de polímero biocompatível é o polietileno glicol (PEG).

Os polímeros podem ser desenhados e sintetizados com propriedades específicas, como a dimensão, a forma e a funcionalidade, tornando-os altamente versáteis e personalizáveis para diferentes aplicações. Os polímeros também podem ser sintetizados em diferentes formas, como filmes, fibras e hidrogéis, sendo ideais para diversas aplicações médicas.<sup>37</sup>

### 1.5.1. Polietileno glicol e derivados

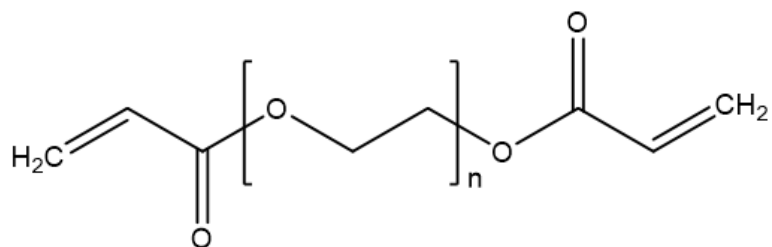
O polietileno glicol (PEG), representado na Figura 1.4, é um poliéter hidrofílico e não iônico, sintetizados por via de polimerização do óxido de etileno sob catálise alcalina. Este polímero pode apresentar-se numa vasta gama de diferentes comprimentos de cadeia e peso molecular, com uma estrutura linear ou ramificada.<sup>41</sup> Trata-se de um polímero sintético, biodegradável, biocompatível, de baixa toxicidade, baixo custo e solúvel em água e em muitos outros solventes orgânicos.<sup>42</sup>



**Figura 1.4 - Estrutura molecular de polietileno glicol (PEG).**

O PEG tem sido amplamente utilizado em diversas aplicações desde cosméticos, produtos alimentares e farmacêuticos pelas suas excelentes propriedades como solvente, plastificante, surfactante, base e lubrificante. Em aplicações farmacêuticas, o PEG apresenta diversas vantagens, tais como, aumento do tempo de circulação dos fármacos, diminuição da sua imunogenicidade e melhora da solubilidade dos fármacos.<sup>42</sup>

O polietileno glicol diacrilato (PEGDA), representado na Figura 1.5, é um hidrogel sintético e versátil derivado do polietileno glicol (PEG), onde os grupos hidroxila nas extremidades das cadeias de PEG são substituídos por acrilatos. A sua polimerização ocorre rapidamente, à temperatura ambiente, na presença de um fotoiniciador e luz, geralmente radiação UV (ultra-violeta) ou visível. Este polímero é solúvel em água e apresenta uma toxicidade muito baixa.<sup>43</sup>



**Figura 1.5 - Estrutura química do polietileno glicol diacrilato (PEGDA).**

Este derivado é biocompatível, altamente hidrofílico, de cadeia flexível, com propriedades mecânicas ajustáveis e pode ser personalizado para incluir uma variedade de moléculas biológicas. A sua capacidade de replicar a matriz extracelular de tecidos vivos proporciona a sua aplicação na área de engenharia de tecidos e medicina regenerativa, cultura de células 2D e 3D, sistemas de libertação controlada de medicamentos, cicatrização de feridas, entre outros.<sup>44</sup>

Adequados para aplicações de engenharia de tecidos e administração de fármacos, os hidrogéis podem ser sintetizados a partir de uma vasta gama de polímeros, incluindo polímeros naturais e sintéticos, como é o caso do PEGDA.<sup>44</sup>

Um hidrogel é uma rede polimérica tridimensional insolúvel em água que tem a capacidade de absorver fluidos corporais num ambiente biológico. Esta rede tridimensional pode absorver uma grande quantidade de água e aumentar de volume devido aos seus grupos hidrofílicos. Desta forma, pelo alto teor de água, estrutura macia e porosidade dos hidrogéis, estes assemelham-se muito ao tecido vivo. A sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de interagir com células e tecidos, faz com que os hidrogéis apresentem diversas aplicações na engenharia de tecidos e medicina regenerativa.<sup>45,46</sup>

A classificação dos hidrogéis depende de diversos fatores, tais como, a sua fonte, composição, carga iônica, entre outros. Dentro da fonte de polímero, os hidrogéis podem ser denominados hidrogéis naturais, sintéticos ou semi-sintéticos.<sup>45</sup>

## 1.6. Modo de libertação de compostos metálicos

Os princípios do processo de libertação controlada são essenciais para definir um processo de entrega e controlo da taxa de libertação. A libertação de compostos bioativos em filmes é um processo complexo que pode ocorrer através de vários mecanismos e ser influenciada por múltiplos fatores. Os principais mecanismos de libertação incluem:

**Dissolução:** Os complexos metálicos dissolvem-se diretamente no meio envolvente, podendo ocorrer na superfície ou depois de o composto se dissolver na matriz do biofilme.<sup>46,47</sup>

**Intumescência:** À medida que o biofilme absorve o solvente, este incha e liberta os complexos metálicos.<sup>46</sup>

**Difusão:** Os complexos metálicos difundem-se através da matriz do biofilme, impulsionados por gradientes de concentração.<sup>46</sup>

**Fragmentação/Ação mecânica:** O stress físico, químico ou enzimático faz com que a matriz do biofilme se quebre, libertando os complexos metálicos.<sup>46</sup>

**Erosão:** Há medida que o biofilme se degrada, os compostos metálicos incorporados na sua estrutura são libertados.<sup>46</sup>

**Biossorção:** Os complexos metálicos podem ser libertados através de vários mecanismos de biossorção, incluindo troca iónica, quelação, adsorção e difusão através das paredes e membranas celulares.<sup>46</sup>

Além disso, existem vários perfis de libertação. O perfil de libertação de compostos bioativos pode ser adaptado para atingir objetivos específicos, tais como:

**Libertação explosiva:** Libertação rápida num curto período.<sup>47</sup>

**Libertação sustentada:** libertação consistente durante um período prolongado.<sup>47</sup>

**Libertação controlada:** Libertação a uma taxa pré-determinada.<sup>47</sup>

**Libertação direcionada:** Libertação num determinado local do corpo humano, que pode ser estabelecido através da utilização de, por exemplo, nanopartículas.<sup>47</sup>

**Libertação de resposta a estímulos:** Libertação em resposta a alterações ambientais específicas, como humidade, pH, temperatura, força iónica, luz acidez, etc.<sup>47</sup>

São diversos os fatores que afetam a libertação de compostos bioativos, desde a composição e estrutura do filme (ex: camada única ou multicamada), natureza do composto e as suas interações com a matriz do filme e condições ambientais (ex: temperatura, pH).<sup>46</sup>

A libertação de complexos metálicos em biofilmes oferece diversas vantagens:

**Atividade antimicrobiana:** Diversos complexos metálicos apresentam propriedades antimicrobianas contra bactérias que formam biofilmes, superando potencialmente a resistência aos antibióticos.<sup>44-46</sup> Assim como todos os organismos vivos, as bactérias necessitam da presença de iões metálicos, visto que, quase metade das reações bioquímicas que ocorrem nestas são catalisadas por enzimas que contêm iões metálicos. No entanto, é necessário haver homeostase, um estado de equilíbrio na quantidade de iões presentes nas células, uma vez que, os valores devem ser suficientes para cumprir as necessidades das mesmas, mas por sua vez, não lhes causar danos (toxicidade).<sup>14</sup>

**Múltiplos mecanismos de ação:** Estes complexos podem afetar os biofilmes através de vários mecanismos, desde a inibição de enzimas essenciais, alteração da permeabilidade da membrana, entre outros.<sup>47-50</sup>

**Efeitos sinérgicos:** Os complexos metálicos podem ser combinados com outros agentes antimicrobianos ou incorporados em materiais para uma maior atividade antibiofilme.<sup>47</sup>

**Potencial para libertação controlada:** Estes complexos podem ser incorporados em vários materiais para libertação sustentada ou direcionada dentro de biofilmes.<sup>47</sup>

Estas vantagens tornam complexos metálicos em candidatos promissores para combater infeções associadas a biofilmes e aplicações ambientais.

## 1.7. Impressão 3D

A impressão 3D é um procedimento que cria objetos tridimensionais a partir de um design digital, geralmente camada sobre camada de material. Esta tecnologia constrói objetos depositando sucessivas camadas de material, geralmente plásticos, e fundindo-as.<sup>48</sup>

Existe uma grande variedade de materiais que podem ser aplicados nesta produção, cada um com propriedades únicas adequadas a diferentes aplicações. Os materiais mais comuns utilizados na impressão 3D incluem na gama dos polímeros o PLA (Ácido Polilático), o ABS (Acrilonitrilo Butadieno Estireno), o PETG (Polietileno Tereftalato Glicol), o TPU (Poliuretano Termoplástico) e o Nylon. Na gama dos metais temos o aço inoxidável, o titânio, o alumínio e as resinas. Por fim, na gama dos polímeros compósitos existe o enchimento com fibra de carbono, a madeira preenchida e o *metal filled*. Existem ainda outros materiais que podem ser aplicados a esta tecnologia, tais como, o policarbonato, o ASA (Acrilonitrilo Estireno Acrilato) e o PVA (Álcool Polivinílico). De acordo com os requisitos de cada produto, desde resistência, flexibilidade entre outros, é escolhido o material adequado.<sup>51-53</sup>

Existem vários métodos de impressão 3D, cada um com características e aplicações únicas. Os principais métodos de impressão 3D são a Estereolitografia (SLA), Modelação por Deposição Fundida (FDM), Sinterização Seletiva a Laser (SLS), Processamento de luz digital (DLP), *Multi Jet Fusion* (MJF), *PolyJet*, Deposição de energia dirigida (DED).<sup>53</sup>

O processo de impressão 3D envolve várias etapas, o componente é concebido através do *software* Desenho Assistido por Computador (CAD), que é depois enviado para uma impressora 3D. A impressão 3D oferece um elevado grau de personalização na estrutura dos componentes e pode até imprimir componentes que não podem ser produzidos por alguns métodos de produção tradicionais. Peças com elevado grau de detalhe podem ser fabricadas com uma redução significativa do tempo de fabrico e despesa. A impressão 3D cria peças físicas a partir de uma interpretação geométrica através de uma ampliação avançada de materiais.<sup>54</sup>

A impressão 3D apresenta variadas aplicações em inúmeros setores, tais como, engenharia aeroespacial (peças de aviões) e automóvel (prototipagem em carros), medicina (implantes e próteses), moda (fabrico de calçado), construção civil (construção mais rápida e económica).<sup>52</sup>

A impressão 3D oferece múltiplas vantagens relativamente a métodos de fabrico tradicionais, tais como:

**Amplitude de configuração:** Esta tecnologia permite a criação de geometrias e designs complexos e espaços ociosos que seriam difíceis ou impossíveis de produzir utilizando tecnologias convencionais. Isto permite designs inovadores em diversas áreas.<sup>51</sup>

**Prototipagem rápida:** A impressão 3D acelera significativamente o processo de desenvolvimento de produtos ao permitir a criação rápida de protótipos. As ideias podem ser transformadas em objetos tangíveis, testadas e modificadas rapidamente.<sup>51</sup>

**Relação custo-benefício:** Apesar do investimento inicial neste tipo de equipamentos ser elevado a impressão 3D pode ser mais económica a longo prazo, especialmente para pequenas e médias tiragens de produção. Reduz o desperdício de material, os custos de mão-de-obra e elimina a necessidade de ferramentas dispendiosas.<sup>51</sup>

**Personalização:** A tecnologia permite a personalização de diversos produtos sem custos adicionais significativos. Isto é particularmente valioso em aplicações médicas, como a criação de próteses ou implantes personalizados.<sup>51</sup>

**Minimização de resíduos:** A impressão 3D utiliza apenas o material necessário na produção de uma determinada peça, reduzindo o desperdício comparativamente a outros métodos de fabrico.<sup>51</sup>

**Qualidade superior:** A tecnologia camada a camada da impressão 3D permite uma melhor consistência e uma deteção mais fácil de erros durante o processo de fabrico.<sup>51</sup>

**Sustentabilidade:** A impressão 3D pode ser mais ecológica do que os métodos de fabrico tradicionais, visto que, apresenta menos desperdício e possibilidade de utilização de materiais recicláveis.<sup>51</sup>

A impressão 3D revolucionou a área da medicina, disponibilizando inúmeras aplicações que melhoram os cuidados ao paciente e os resultados cirúrgicos. A tecnologia foi amplamente adotada na área da saúde e apresenta aplicações como planeamento cirúrgico, produção de próteses e implantes, bioimpressão (Ex: replicas de tecidos biológicos), produção de instrumentos cirúrgicos e de produtos farmacêuticos.<sup>52</sup>

## 2. Parte experimental

Tendo em conta o objetivo de produzir peças 3D, o trabalho experimental foi dividido em subetapas, resumidas no esquema da Figura 2.1:

1	Otimização das condições de síntese para produção dos compostos pretendidos
2	Caracterização físico-química e biológica dos compostos promissores (CC1, CC2 e CP3).
3	Otimização da mistura polimérica selecionada e produção de filmes, com diferentes quantidades dos sais precursores dos metais.
4	Otimização do processo de produção de peças 3D, com diferentes quantidades dos sais precursores dos metais.
5	Caracterização físico-química e seleção de condições adequadas à produção de filmes e peças 3D.
6	Produção de filmes com os compostos selecionados CC1, CC2 e CP3.
7	Ensaio antimicrobianos aos filmes produzidos.
8	Ensaio citotóxicos aos filmes produzidos.
Obj.	Produção de peças 3D com propriedades antimicrobianas.

Figura 2.1 - Esquema geral do trabalho experimental.

### 2.1. Reagentes

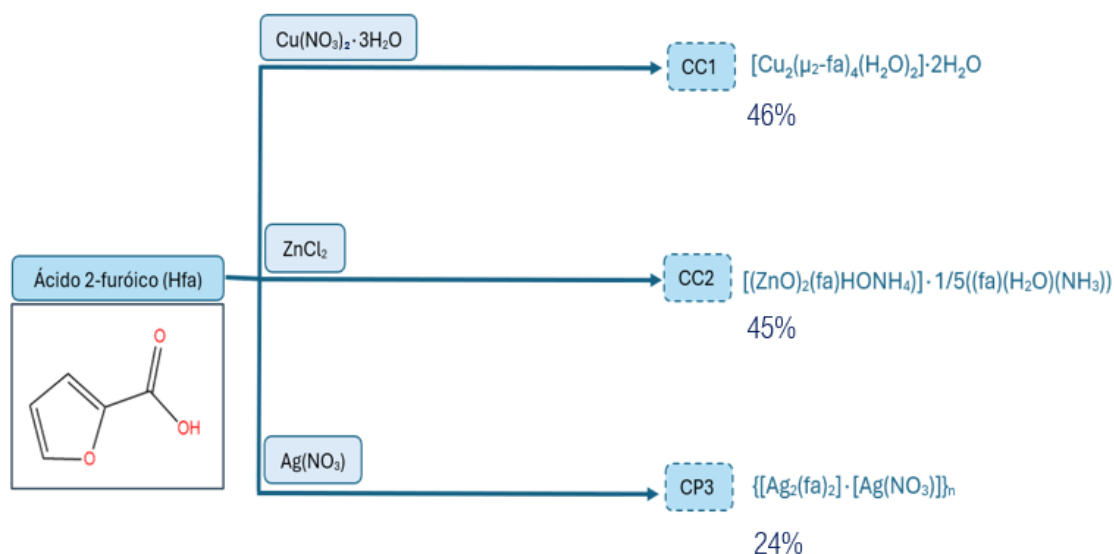
Para a síntese de complexos de cobre, prata e zinco foram usados os sais ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ ) e  $\text{ZnCl}_2$ , adquiridos à Sigma-Aldrich, o ligando ácido 2-furóico (Hfa) adquirido à Acros Organics B.V.B.A e o solvente acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) da Fisher Scientific.

Para o processo de produção de filmes e peças 3D Os polímeros selecionados foram o PEG adquirido à Thermo Scientific e o PEGDA da Sigma-Aldrich O 2,4,6-trimetilbenzofosfato, da BDLpharm, foi utilizado como fotoiniciador. Nos ensaios citotóxicos os reagentes e solventes utilizados foram, o PBS, soro fetal bovino, L-glutamina, tripsina e MTT, adquiridos à Sigma-Aldrich, o DMEM à Biowest e o Isopropanol à Merck.

### 2.2. Métodos

Nas sínteses realizadas foi utilizado o ligando ácido 2-furóico (Hfa) e como fonte de metal o  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  para cobre(II) ( $\text{Cu}^{2+}$ ), o  $\text{ZnCl}_2$  para zinco(II) ( $\text{Zn}^{2+}$ ) e o  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$  para

prata(I) ( $\text{Ag}^+$ ). Desta forma, sintetizaram-se os complexos e polímero de coordenação descritos na Figura 2.2.



**Figura 2.2 – Esquema representativo da síntese dos complexos e polímero de coordenação CC1, CC2 e CP3 e respectivos rendimentos.**

Neste trabalho foram obtidos dois complexos de coordenação (CC1 e CC2) e um polímero de coordenação (CP3). As condições de síntese foram otimizadas alterando a proporção metal: ligando, de acordo com as condições experimentais apresentadas na Tabela 2.1.

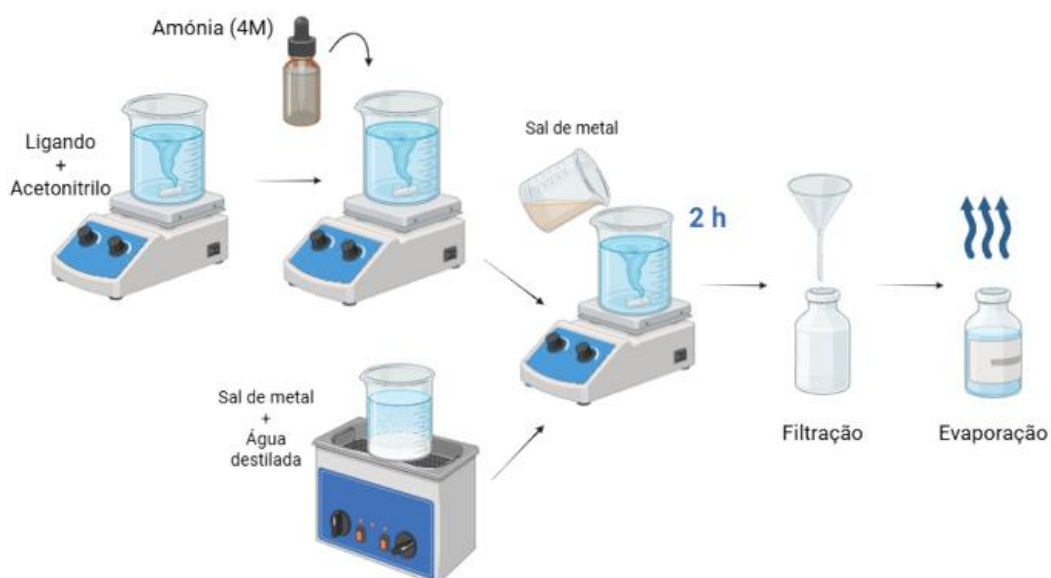
**Tabela 2.1 – Condições experimentais para a síntese de CC1, CC2 e CP3.**

		Metal	Ligando	Proporção	Metal (mg)	Ligando (mg)	Acetonitrilo (mL)	Amônia ( $\mu\text{L}$ )	Água (mL)
CC1	R1	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Ácido 2-furóico	1:2	242	224	10	500	10
	R2	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Ácido 2-furóico	1:1	242	112	10	250	10
CC2	R3	$\text{ZnCl}_2$	Ácido 2-furóico	1:2	136	224	10	500	10
	R4	$\text{ZnCl}_2$	Ácido 2-furóico	1:1	136	112	10	250	10
CP3	R5	$\text{Ag}(\text{NO}_3)$	Ácido 2-furóico	2:1	340	112	10	250	10

### 2.2.1. Síntese dos complexos e polímero de coordenação

Inicialmente dissolveu-se o ligando em 10 mL de acetonitrilo, sob agitação, até à sua completa dissolução. Em paralelo, dissolveu-se o sal do metal em 10 mL de água destilada, com auxílio de ultra-sons, durante 2 a 5 minutos, até à sua dissolução completa.

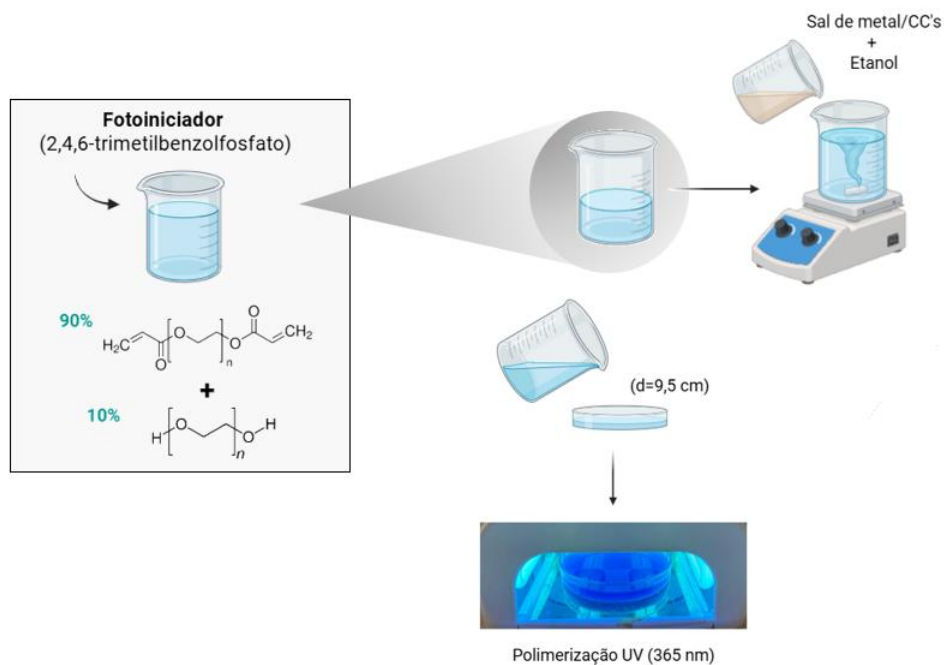
Após a dissolução adicionou-se hidróxido de amónia (4 M) à mistura de ligando, mantendo-a em agitação contínua. De seguida, adicionou-se a solução com sal do metal à mistura do ligando, deixando-a sob agitação durante aproximadamente duas horas, à temperatura ambiente. Decorrido este período, o conteúdo foi filtrado (papel de filtro) para frascos devidamente identificados. O filtrado obtido foi evaporado, lentamente, na *hotte* ou na estufa a 30 °C. Na Figura 2.3 encontra-se representados os passos para a síntese dos complexos e polímero de coordenação (CC1, CC2 e CP3).



**Figura 2.3 – Esquema representativo da síntese dos complexos e polímero de coordenação CC1, CC2 e CP3.**

### 2.2.2. Produção de filmes de PEG/PEGDA

Os diferentes filmes foram produzidos com uma mistura previamente selecionada em trabalhos anteriores, de 10:90 PEG/PEGDA (m/m), com 1% de 2,4,6-trimetilbenzolfosfato utilizado como fotoiniciador. Assim, para a produção de cada filme de PEG/PEGDA, pesaram-se 14,4 g de PEGDA, ao qual se adicionaram 1,6 g de PEG. A mistura foi então aquecida a 100 °C, sob agitação constante, até se obter uma mistura gelificada e homogénea dos componentes. Em paralelo, pesaram-se 0,16 g de fotoiniciador, que foi dissolvido em 1,6 mL de etanol e adicionado à mistura de PEG/PEGDA. A mistura resultante foi transferida para uma caixa de Petri, com diâmetro de 9,5 cm, e submetida a cura, sob uma lâmpada de luz UV (365 nm), durante aproximadamente 2 minutos. Na Figura 2.4 encontra-se representado o esquema da produção de filmes da matriz PEG/PEGDA.



**Figura 2.4 – Esquema representativo da produção de filmes da matriz PEG/PEGDA.**

### 2.2.3. Produção de filmes PEG/PEGDA dopados com sais dos metais precusores

De forma a testar a integridade e robustez do material com adição dos compostos sintetizados, começou-se por produzir filmes dopados com diferentes quantidades dos três sais dos metais  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  e  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$  selecionados como fontes de metal para os CC e CP. O procedimento segue o anteriormente descrito no ponto 2.2.2. para a produção da mistura de PEG/PEGDA e em paralelo pesaram-se os sais dos metais ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  ou  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ ) nas três percentagens 1%, 2% e 5%, relativas à massa de sal de metal, que foram dissolvidas em 500  $\mu\text{L}$  de etanol num banho de ultra-sons até à dissolução completa. Para o sal de prata(I) só foi utilizada a quantidade mais baixa (1%), devido à sua elevada ação antimicrobiana.

As massas pesadas de cada sal respetivo a cada percentagem, assim como o volume de solvente adicionado na preparação encontram-se descritas na Tabela 2.2.

**Tabela 2.2 – Massas de sais utilizados na produção de filmes dopados.**

	Sais precursores						
	(Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O)			ZnCl <sub>2</sub>			Ag(NO <sub>3</sub> )
	1	2	5	1	2	5	1
(%)							
Massa (g)	0,0951	0,1902	0,4756	0,0521	0,1042	0,2606	0,0394

Adicionou-se a dissolução à mistura de PEG/PEGDA (10:90%), preparada, anteriormente, e colocou-se sob agitação até a mistura estar homogênea. Por fim, transferiu-se a mistura para uma caixa de Petri (d= 9,5 cm) e aplicou-se luz UV (365 nm) até o filme polimerizar.

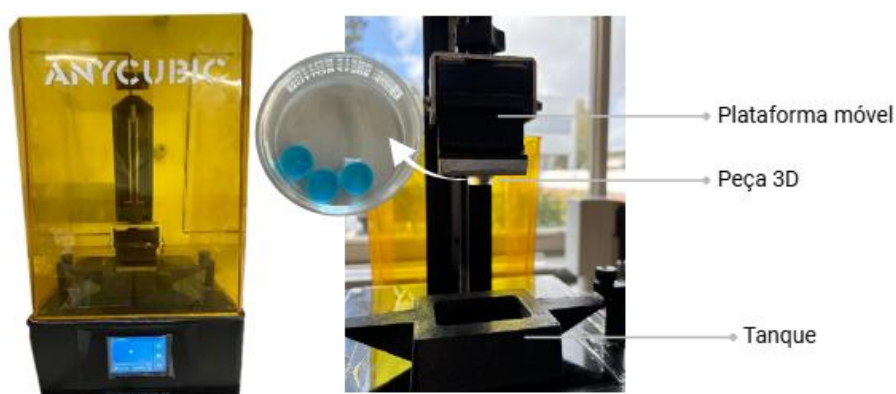
#### 2.2.4. Produção de peças 3D dopadas com sais dos metais precursores

Após a produção de filmes dopados com os sais dos metais precursores, procedeu-se à otimização dos parâmetros de produção de peças tridimensionais. Este passo teve como objetivo avaliar a estabilidade estrutural e química das peças 3D. Pretendeu-se, com esta abordagem, verificar a viabilidade da aplicação dos compostos sintetizados em estruturas 3D, com vista à sua utilização futura em dispositivos ou aplicações práticas.

As peças para impressão 3D foram desenhadas no *software* de modelação 3D *SolidWorks*®. A impressora utilizada foi a *Anycubic Photon Mono*, apresentada na Figura 2.5 e equipada com um tanque previamente adaptado em trabalhos anteriores, permitindo a utilização de menores volumes de matriz e, conseqüentemente, uma menor quantidade de compostos incorporados.

Para cada processo de impressão foram preparadas 10 g desde mistura da matriz de PEG/PEGDA (10:90), com adição de fotoiniciador, na qual foram incorporados os sais em concentrações de 1%, 2% e 5% (m/m).

A mistura foi colocada diretamente no tanque da impressora, tendo sido selecionados os modelos pretendidos no *software* de controlo da impressora. Foram desenhados três modelos distintos com geometria cilíndrica, variando o diâmetro (mm) e altura (mm), diferindo o tempo de preparação consoante a peça impressa. A plataforma de construção mergulha no tanque e executa movimentos verticais repetitivos durante o processo de fotopolimerização, permitindo a formação sequencial das camadas da peça, até à formação estar completa. Após a impressão, as peças foram removidas cuidadosamente da plataforma.



**Figura 2.5 – Impressora 3D Anycubic Photon Mono e descrição esquemática da mesma.**

### 2.2.5. Produção de filmes e peças 3D dopadas com os compostos sintetizados

Após a otimização do processo de produção de filmes e peças 3D com os sais dos metais precursores, nos quais os resultados confirmaram a estabilidade dos materiais, procedeu-se à produção de filmes dopados com os compostos obtidos CC1, CC2 e CP3.

Os resultados experimentais sugeriram que fossem utilizadas as percentagens de 2,5% para os filmes de Cu(II) e Zn(II) e 0,25% para os filmes de Ag(I).

Assim, foram produzidos filmes controlo e com os compostos obtidos de acordo com o apresentado nas Tabelas 2.3, 2.4 e 2.5.

De forma a obter o material controlo com ligando, foi também produzido o filme incorporado com este.

**Tabela 2.3 – Massa de composto e volume de solvente utilizado na produção dos filmes de Cu(II).**

	Massa de composto (g)	Volume de etanol (µL)
$[\text{Cu}_2(\mu_2\text{-fa})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2,5%)	0,08984	1500
Hfa (2,5%)	0,31416	1500
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (2,5%)	0,34161	500

**Tabela 2.4 – Massa de composto e volume de solvente utilizado na produção dos filmes de Zn(II).**

	Massa de composto (g)	Volume de etanol (µL)
$[(\text{ZnO})_2(\text{fa})\text{HONH}_4] \cdot 1/5((\text{fa})(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3))$ (2,5%)	0,09185	1000
Hfa (2,5%)	0,31215	500
ZnCl <sub>2</sub> (2,5%)	0,19148	1500

**Tabela 2.5 – Massa de composto e volume de solvente utilizado na produção dos filmes de Ag(I).**

	Massa de composto (g)	Volume de água (µL)
$\{[\text{Ag}_2(\text{fa})_2] \cdot [\text{Ag}(\text{NO}_3)]\}_n$ (0,25%)	0,02395	500
Hfa (0,25%)	0,01644	500
Ag(NO <sub>3</sub> ) (0,25%)	0,03772	500

## 2.3. Técnicas de caracterização dos compostos sintetizados

### 2.3.1. Difração de raios X de cristal único

A difração de raios X de cristal único (SCXRD) é uma técnica analítica fundamental na caracterização estrutural de materiais cristalinos, particularmente, no estudo de complexos e polímeros de coordenação. Esta técnica depende da obtenção de cristais com uma qualidade adequada. Após a cristalização, o cristal selecionado, recorrendo a um microscópio, é introduzido num suporte apropriado (*loop*) e colocado no goniómetro de um difratómetro. A recolha de dados ocorre com a rotação do cristal.

Esta técnica baseia-se na interação dos raios X com os eletrões presentes no cristal. O padrão de difração obtido apresenta informações tridimensionais sobre a densidade eletrónica no interior do cristal. Através desta análise é possível determinar a posição dos átomos, geometria de coordenação de centros metálicos, tal como, tipos de ligações entre o ligando e os iões metálicos. No final, obtêm-se um modelo detalhado da estrutura cristalina.

Os monocristais obtidos adequados para SCXRD são montados com *Fomblin* num *crioloop*. Os dados de difração foram recolhidos no difratómetro *Bruker D8 Venture* equipado com um detetor *Photon II* (radiação monocromada, Mo K $\alpha$ ,  $\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$ , 298 K). O programa utilizado para monitorizar a recolha de dados de raios X é o APEX4. Todos os dados foram corrigidos para os efeitos de Lorentz, polarização e absorção utilizando os programas SAINT e SADABS. O SHELXT é usado para a solução de estrutura, e o SHELXL-2014/737 é utilizado

para refinamento da estrutura. Estes programas estão incluídos no pacote de programas, WINGX-Version 2023.1. Com exceção dos átomos de hidrogénio, todos os átomos foram refinados anisotropicamente, utilizando o refinamento de mínimos quadrados de matriz completa para átomos de hidrogénio com parâmetros térmicos anisotrópicos. Todos os átomos de hidrogénio ligados a átomos de carbono foram colocados geometricamente e refinados nos átomos de carbono originais. No caso de grupos OH em ácidos carboxílicos e moléculas de água, os átomos de hidrogénio foram inseridos de acordo com um mapa de densidade eletrónica e corrigidos na maioria dos casos.

### 2.3.2. Difração de raios X de pós

A difração de raios X de pós (PXRD) é outra das técnicas fundamentais na caracterização de complexos e polímeros de coordenação. O procedimento para a caracterização inicia-se com a preparação da amostra, aplicando uma moagem suave sobre a mesma, garantindo homogeneidade. De seguida, a amostra é colocada num suporte adequado e inicia-se a difração. Esta técnica baseia-se no bombardeamento de um feixe de raios X sobre uma amostra policristalina. A difração ocorre em diversas direções formando-se um padrão de difração característico com picos de intensidade a ângulos específicos, correspondentes à distância entre planos atómicos.

Por fim, o padrão obtido é comparado a bases de dados permitindo a identificação de fases conhecidas. Neste caso, utilizámos o padrão obtido como método de confirmação da estrutura cristalina obtida, previamente, através de SCXRD.

Os dados relativos à caracterização através do método de raios X de pós, dos CCs e CPs sintetizados, foram obtidos num difratómetro *ADVANCE Bruker* AXS D8 ( $\theta$ - $2\theta$ ), equipado com um detetador LYNXEYE-XE, fonte de radiação de cobre (Cu  $K\alpha$ ,  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ), atuando a 40 kV e 40 mA. O software utilizado para calcular os padrões de difração através de dados de cristal único foi o *MERCURY* 2020.2.039.

### 2.3.3. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de *Fourier*

A espectroscopia de infravermelho com a transformada de *Fourier* (FTIR) é uma técnica analítica utilizada para identificar grupos funcionais e caracterizar ligações químicas com base na absorção de radiação infravermelha pela amostra. A técnica baseia-se na absorção seletiva da radiação infravermelha por grupos funcionais presentes em cada molécula. Cada ligação química apresenta uma frequência característica que pode ser detetada através de um pico, representado num espectro de transmitância ou absorvância.

Com a acoplação do modo Reflexão Total Atenuada (ATR), a técnica é adaptada para permitir a análise direta de amostras sólidas, líquidas ou pastosas. A amostra é colocada em

contacto com um cristal de elevado índice de refração (*i.e.* diamante, ZnSe) e a radiação infravermelha atravessa o cristal e sofre reflexão. Parte da radiação é absorvida pela amostra e a restante é detetada e convertida em um espectro.

Os espectros de FTIR-ATR foram adquiridos num aparelho *Shimadzu IRAffinity-1S* equipado com um acessório ATR ZnSe Performance Crystal Plate. Os espectros de absorvância foram coletados na faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  com uma resolução de 2,0  $\text{cm}^{-1}$  usando 64 varrimentos.

#### 2.3.4. Análise elementar

A técnica de análise elementar (CHN) é uma técnica complementar na caracterização de complexos e polímeros de coordenação, permitindo determinar a percentagem de carbono (C), hidrogénio (H) e azoto (N) presentes na amostra. Este método baseia-se na combustão completa da amostra, sob atmosfera controlada, convertendo os elementos em produtos gasosos ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$ ).

No caso dos complexos e polímeros de coordenação sintetizados, a análise elementar é essencial para confirmar a composição química da estrutura obtida ou proposta, auxiliando na confirmação da presença e proporção de ligando e de centros metálicos. Este método também confirma a pureza da amostra através da presença de possíveis contaminações, como por exemplo, por parte de solvente.

Quando a estrutura cristalina é determinada por SCXRD, em CC1 e CP3, a análise elementar atua como uma técnica complementar permitindo validar a composição empírica do composto. No entanto, na ausência de dados cristalográficos, como no caso de CC2, a análise elementar pode assumir um papel crucial na proposta de uma estrutura química plausível, fornecendo informações quantitativas sobre a composição elementar do material.

A análise elementar foi realizada num equipamento *Perkin Elmer PE 2400 Series II*.

#### 2.3.5. Ressonância Magnética Nuclear

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica amplamente utilizada para obter informações sobre a estrutura e composição de compostos. Esta técnica baseia-se nas propriedades magnéticas de núcleos atômicos específicos como o hidrogénio ( $^1\text{H}$ ), carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), fósforo-31 ( $^{31}\text{P}$ ), entre outros. Através da presença de *spin* nuclear, estes atuam como ímanes. Ao aplicar uma onda de radiofrequência com a energia adequada, os núcleos absorvem esta radiação e transitam para um estado de energia superior. Regressando ao estado fundamental, emitem sinais detetados pela sonda do aparelho. O espectro de RMN é obtido através da análise dos sinais emitidos.

Esta técnica foi utilizada como técnica complementar no caso do CC2. Como não foi possível obter uma comparação conclusiva dos FTIRs de CC2 nas diferentes proporções, comparamos em RMN os espectros dos mesmos.

## 2.4. Técnicas de caracterização dos filmes

### 2.4.1. Ensaios de absorção

Os ensaios de absorção permitem avaliar a capacidade de absorção e retenção de líquidos dos hidrogéis produzidos. Estes ensaios ajudam a perceber o comportamento do material quando este entra em contacto com soluções aquosas, neste caso, solução tampão de fosfatos (PBS - *Phosphate Buffered Saline*). Esta característica assume particular relevância, em aplicações biomédicas, pois permite manter níveis de humidade e pode promover uma maior eficiência no processo de libertação de compostos ativos.

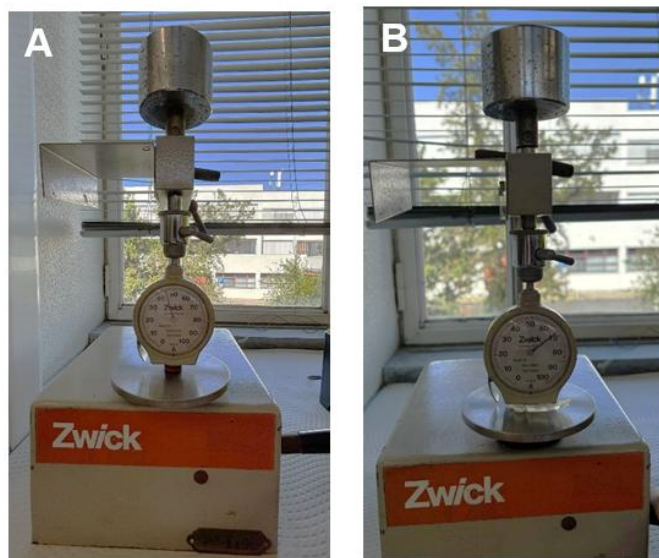
Para a realização destes ensaios, foram preparadas amostras circulares com cerca de 1 cm, obtidas através dos filmes da matriz PEG/PEGDA e dos filmes dopados. Para cada tipo de filme são realizados triplicados. Inicialmente, as amostras são pesadas (massa inicial,  $m_i$ ) e colocadas em frascos contendo 5 mL de solução tampão PBS (pH = 7,4). A imersão é realizada à temperatura ambiente, num período de 24 horas.

Após as 24 horas, as amostras são cuidadosamente removidas da solução, secas com papel absorvente até à eliminação de excesso de solução e pesadas novamente (massa final,  $m_f$ ). A taxa de absorção é então determinada com base no aumento dos valores de massa, utilizando a expressão (2.1).

$$\text{taxa de absorção}(\%) = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (2.1)$$

### 2.4.2. Ensaios de dureza

O ensaio de dureza, com durómetro manual é um método utilizado para avaliar a resistência à deformação superficial de materiais poliméricos, desde filmes a peças 3D. Esta técnica baseia-se na aplicação controlada de uma força vertical sobre um indentador (parte que aplica força), que gera uma força mecânica na superfície da amostra, como representados na Figura 2.6. A profundidade resultante é convertida numa escala de dureza específica. Esta medição foi realizada num equipamento manual *Zwick*.



**Figura 2.6 – Medição de dureza de A) Peça 3D dopada com CP3; B) Filme matriz.**

Nos durómetros manuais, a força é aplicada manualmente e a leitura é realizada após um tempo de contacto de aproximadamente 1 a 3 segundos. Na análise de filmes e peças 3D devemos garantir que estes apresentam uma base rígida e estável evitando a rotura quando aplicada força sobre estes, assim como uma superfície plana sem rugosidades, garantindo assim uma leitura mais precisa.

Neste ensaio foram analisadas quatro categorias de amostras: filmes dopados com CC1, CC2 e CP3, filmes dopados com sais, filmes dopados com ligando e peças 3D obtidas por dopagem com o CP3. Para cada tipo de amostra, foram realizadas cinco medições independentes, com o objetivo de assegurar a reprodutibilidade e viabilidade dos resultados obtidos.

### 2.4.3. Ensaio microbiológicos

#### Atividade antibacteriana e de inibição de biofilmes

Os filmes de PEG/PEGDA produzidos foram testados em diferentes espécies bacterianas em concentrações de dopagens de 2,5% e 0,25% (m/m). As propriedades antibacterianas dos filmes dopados com os  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  e  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ , com os complexos e polímero de coordenação sintetizados CC1, CC2 e CP3 e com o ligando foram avaliadas através de um ensaio de sobreposição em ágar mole (*soft agar overlay assay*). Duas estirpes de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* RP62A) e duas estirpes Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* PA14) foram cultivadas durante a noite em caldo *Mueller-Hinton* (MHB) ajustado com catiões e depois transferidas para ágar *Mueller-Hinton* mole

(MHA) (0,5% de ágar), numa concentração final de  $1 \times 10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. De seguida, 3 mL do MHA mole inoculado foram colocados sobre 10 mL de MHA sólido já solidificado (1,7% de ágar) numa placa de Petri de 9 cm de diâmetro. As amostras de filmes dopados foram colocadas sobre o MHA mole e incubadas a 37 °C, em condições aeróbias durante 20 horas. A atividade antibacteriana foi analisada medindo o raio mínimo de inibição de crescimento dos halos formados.

Para os ensaios de inibição da formação de biofilme, as mesmas estirpes bacterianas foram cultivadas na presença dos filmes, com o objetivo de testar a adesão bacteriana e a formação de biofilmes, conforme previamente descrito. Resumidamente, as bactérias cultivadas durante a noite, como descrito anteriormente, foram transferidas para meio MHB fresco, numa concentração final de  $1 \times 10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. As amostras e 1 mL da suspensão bacteriana foram colocadas em placas de microtitulação de 24 poços e incubadas durante 24 horas. Após este período, a suspensão bacteriana contendo as bactérias não aderidas foi removida, e as amostras foram transferidas para poços limpos e lavadas duas vezes com uma solução de NaCl a 0,9% para remover as células que não aderiram. Para quantificar as bactérias aderidas, estas foram destacadas submergindo-se as amostras em 1 mL de solução de NaCl a 0,9% e submetendo-as a um banho de ultra-sons (220 V, 50/60 Hz) durante 15 minutos, seguido de 30 segundos de agitação em vórtex. Por fim, as bactérias destacadas foram diluídas em série em solução de NaCl a 0,9%, semeadas em placas de MHA sólido, incubadas durante 20 horas, quantificadas por contagem de UFC e apresentadas como a redução logarítmica do número de bactérias por cm<sup>2</sup> de biopolímero, em comparação com o filme de controlo (apenas [AGR]<sub>n</sub> ou [PS]<sub>n</sub>). O limite de deteção deste método foi de 2log(UFC cm<sup>-2</sup>).

#### 2.4.4. Ensaios citotóxicos

Os ensaios de citotoxicidade constituem uma etapa fundamental na avaliação da biocompatibilidade, permitindo aferir o potencial tóxico dos filmes relativamente às culturas celulares. Esta avaliação é particularmente relevante quando os filmes se destinam a aplicações biomédicas ou a futuro contacto direto com tecidos vivos. Desta forma, foi realizada uma análise citotóxica dos filmes obtidos previamente, com o objetivo de validar a segurança em aplicações futuras dos mesmos.

O protocolo foi executado ao longo de quatro dias e necessitou da preparação e esterilização prévia de todo o material laboratorial necessário, nomeadamente, pontas de micropipeta de 1 mL, microtubos (*eppendorfs*) e pinças metálicas. Posteriormente, os materiais foram colocados numa câmara de fluxo laminar, de modo a garantir um ambiente de trabalho estéril, assegurado por um fluxo de ar unidirecional, que atua como uma barreira

física contra potenciais contaminantes do exterior. No primeiro dia procedeu-se à lavagem das dez amostras de filmes previamente obtidas, utilizando água destilada, seguida de secagem à temperatura ambiente. A esterilização das amostras foi realizada por exposição à radiação UV, sobre papel alumínio. Para garantir a esterilização de ambas as faces dos filmes, as amostras foram viradas cuidadosamente e transferidas para um segundo papel de alumínio previamente esterilizado por UV.

De seguida, os filmes esterilizados foram introduzidos em *ependorfs* contendo 1 mL de meio de cultura completo, composto por DMEM (Meio de *Eagle* modificado por *Dulbecco*), 10% de SFB (Soro Fetal Bovino) e 1% de antibiótico. Foram também preparados controlos negativos, consistindo em *ependorfs* contendo apenas o meio de cultura completo (DMEM + SFB), denominados de branco 2, sem contacto com os filmes.

Todas as amostras foram posteriormente incubadas durante sete dias numa estufa de CO<sub>2</sub> a 37 °C, de forma a permitir a libertação de eventuais compostos dos filmes para o meio de cultura.

No dia seguinte, procedeu-se à sementeira de fibroblastos da linha celular L929 passagem 7 em duas placas de 96 poços. As células foram distribuídas de modo a obter uma densidade de 5000 células por poço, utilizando meio de cultura adequado. Após a sementeira, as placas foram incubadas durante aproximadamente 24 horas numa estufa de CO<sub>2</sub> a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub>, até se atingir uma confluência celular estimada em cerca de 80%.

No terceiro dia, iniciou-se o ensaio de citotoxicidade, foi removido o meio de cultura dos poços das duas placas de 96 poços, contendo fibroblastos L929. Em seguida, foram adicionados a cada um dos oito poços correspondentes a cada amostra de filme, 50 µL do extrato (meio recolhido dos *ependorfs* onde os filmes estiveram incubados) e 50 µL de meio novo completo (DMEM + 10% SFB + 1% antibiótico). Nos poços de controlo (controlo negativo) foi adicionado unicamente 100 µL de meio novo completo. Para os poços correspondentes ao branco 2 (extrato de *ependorfs* com meio incubado, mas sem contacto com os materiais), foram adicionados 50 µL desse extrato e 50 µL de meio novo completo.

Após a distribuição dos extratos e meios nas placas, estas foram incubadas durante 24 horas na estufa de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Paralelamente, foi preparada a solução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo), para ser utilizada no dia seguinte na avaliação da viabilidade celular.

Foi preparada a solução de MTT (A+B), dissolvendo 0,01 g do reagente A (MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo) em 2 mL da solução B (PBS, pH 7,4), com base na proporção indicada para 1000 ensaios (0,05 g em 10 mL). A solução foi homogeneizada, protegida da luz e armazenada a 4 °C. Caso se verifique a formação de cristais ou dificuldade na dissolução, é recomendada a adição de 1-2 gotas de HCl para auxiliar a solubilização. A solução MTT A+B é estável entre 2-8 °C por até duas semanas.

Após 24 horas de incubação com os extratos dos filmes, procedeu-se à avaliação da viabilidade celular utilizando o ensaio colorimétrico de MTT, de acordo com o protocolo da Millipore. Adicionou-se 10 UI da solução MTT(A+B) a cada poço das placas de 96 poços. A mistura foi homogeneizada suavemente, batendo lateralmente na placa, e as placas foram colocadas na estufa de CO<sub>2</sub> durante um período de incubação de 4 horas. Após este período, foi adicionado a cada poço 100 µL de isopropanol acidificado (isopropanol 0,4 N HCl) para dissolver os cristais de formazan formados pelas células viáveis. A mistura foi cuidadosamente homogeneizada em cada poço com recurso a micropipeta.

No espaço de uma hora, meça a absorbância num leitor de placas ELISA com um comprimento de onda de teste de 570 nm e um comprimento de onda de referência de 630 nm. Após algumas horas à temperatura ambiente, as proteínas séricas podem começar a precipitar devido ao ácido/álcool. O arrefecimento das placas acelera a precipitação. Se as placas necessitarem de ser armazenadas antes da medição, mantenha-as a 4 °C antes de adicionar o ácido/álcool, depois aqueça à temperatura ambiente e adicione o ácido/álcool antes da leitura.

#### 2.4.5. Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) é uma técnica térmica, amplamente utilizada na caracterização de materiais poliméricos, que permite avaliar a estabilidade térmica, comportamento de decomposição e conteúdo volátil ou residual dos materiais.

Os ensaios foram realizados num equipamento térmico NETZSCH STA 409 PC, que permite medições simultâneas de TGA e DSC (calorimetria diferencial de varrimento) oferecendo elevada sensibilidade e resolução térmica. Sendo que, para este tipo de análise apenas foi considerada a análise TGA.

A preparação da amostra consiste no corte de pequenas secções de filme, com massa compreendida entre 5 e 10 mg. As amostras foram pesadas diretamente num cadinho de alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), previamente limpo e seco. Os ensaios decorreram sob atmosfera inerte (azoto) com um fluxo de 45 mL/min, de modo a minimizar processos de oxidação. O aquecimento foi realizado até 600 °C, a partir da temperatura ambiente, com um incremento de 40 °C/min.

#### 2.4.6. Microscopia Eletrónica de Varrimento

O Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM) utiliza um feixe de eletrões que varre a superfície da amostra, produzindo imagens altamente ampliadas e detalhadas da sua morfologia.

Os espectros de SEM foram obtidos pelo equipamento Hitachi S24000 com voltagem acelerado de 20.0 kV e equipado com um detetor SDD EDS para elementos leves da Bruker. A análise de tamanho de partículas dos complexos e polímeros de coordenação obtidos foi realizada em Matersizer.



## 3. Resultados e discussão

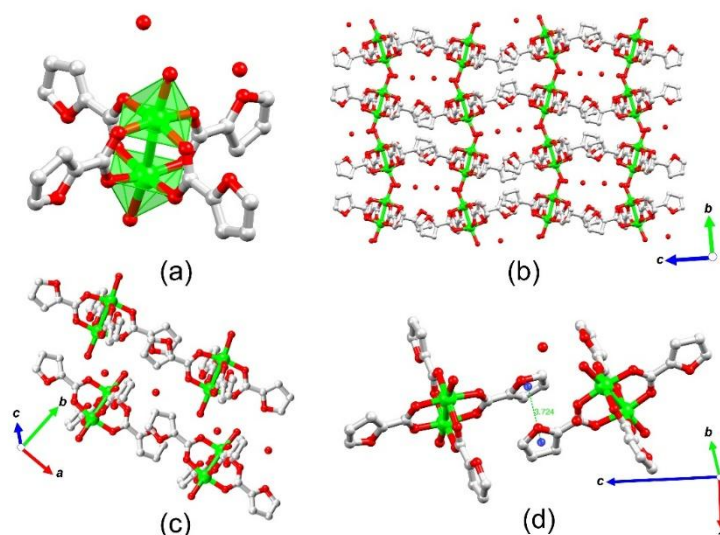
Após a síntese dos compostos  $[\text{Cu}_2(\text{fa})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $[(\text{ZnO})_2(\text{fa})\text{HONH}_4] \cdot 1/5((\text{fa})(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3))$  e  $[\text{Ag}_3(\text{fa})_2\text{NO}_3] \cdot 1/3\text{MeCN}$ , designados por CC1, CC2 e CP3, respetivamente, de acordo com o procedimento descrito, estes foram caracterizados e as suas estruturas propostas com base nos resultados obtidos pelas diferentes técnicas utilizadas, designadamente análise elementar, espectroscopia de FTIR, RMN e métodos de cristalografia de difração de raios X de cristal único e de pó.

### 3.2. Caracterização dos compostos sintetizados

#### 3.2.1. Descrição estrutural para o complexo de coordenação CC1

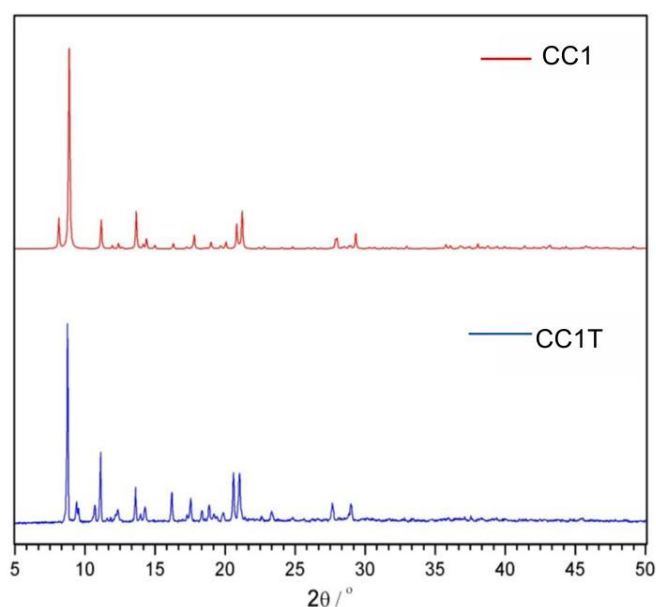
De acordo com os dados de difração de raios X de cristal único, o complexo CC1 cristaliza no grupo espacial monoclinico  $P2_1/c$  e a sua estrutura cristalina é constituída por unidades dinucleares de cobre(II),  $\{\text{Cu}_2\text{O}_{10}\}$ , com a fórmula molecular  $[\text{Cu}_2(\mu_2\text{-fa})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Neste complexo, quatro grupos carboxilato ligam dois centros de Cu(II) através de um modo de coordenação  $\text{sin, sin-}\eta^1:\eta^1:\mu_2$ . Cada centro de Cu(II) adota uma geometria piramidal quadrada distorcida ( $\tau_5 = 0,02$ ), com o plano basal formado por átomos de oxigénio dos ligandos carboxilato em ponte, e a posição apical ocupada por uma molécula de água [ $\text{Cu1-O}_{\text{água}} = 2,152(2) \text{ \AA}$ ;  $\text{Cu2-O}_{\text{água}} = 2,127(2) \text{ \AA}$ ]. Além disso, estão presentes moléculas de água de rede cristalina na sua estrutura, de acordo com as observações de análises térmicas e de infravermelhos. Os comprimentos das ligações Cu-O basais variam entre 1,960(4) e 2,002(3) Å, enquanto as ligações Cu-O apicais são maiores: 2,152(4) Å para o Cu1 e 2,127(4) Å para o Cu2. A distância Cu...Cu na estrutura da roda de pás é de 2,642(3) Å. A estrutura cristalina CC1 exhibe o mesmo motivo estrutural que compostos relacionados, anteriormente reportados na literatura.<sup>55-57</sup> As unidades dinucleares da roda de pás estão ligadas através de ligações de hidrogénio envolvendo moléculas de água coordenadas e os aniões 2-furanocarboxilato ao longo do eixo cristalográfico b (Figura 3.1b), e através de interações de empilhamento  $\pi-\pi$  entre anéis furânicos ao longo do eixo c (Figura 3.1d), resultando numa arquitetura supramolecular bidimensional (Figura 3.1). Formam-se ligações de hidrogénio entre moléculas de água coordenadas e átomos de oxigénio do ligando 2-furanocarboxilato, com distâncias O...O que variam entre 2,791(6) e 2,956(3) Å. Além disso, uma molécula de água de rede cristalina contribui para a estabilidade do empacotamento cristalino ao formar ligações de hidrogénio clássicas com os átomos de oxigénio dos grupos carboxilato [ $\text{O}\cdots\text{O} = 2,976(14) \text{ \AA}$ ] e com o átomo de oxigénio de uma molécula de água coordenada [ $\text{O}\cdots\text{O} = 2,990(19) \text{ \AA}$ ]. Também ocorrem interações por pontes de hidrogénio não

clássicas com o grupo C–H do ligando 2-furanocarboxilato [ $O \cdots C = 3,261(15) \text{ \AA}$ ]. Além disso, as interações de empilhamento  $\pi$ – $\pi$  entre anéis furânicos adjacentes estabilizam ainda mais a estrutura, com distâncias de centróide a centróide de aproximadamente  $3,724 \text{ \AA}$ .



**Figura 3.1 – (a) Estrutura cristalina do CC1, mostrando as unidades dinucleares em forma de roda de pás (paddlewheel). (b) e (c) Rede supramolecular bidimensional (2D) formada por ligações de hidrogénio e interações de empilhamento  $\pi$ – $\pi$ , visualizada ao longo do plano bc e do eixo a, respetivamente. (d) Interações de empilhamento  $\pi$ – $\pi$  entre anéis de furano, destacadas como esferas azuis. Os átomos de hidrogénio e alguns átomos não essenciais foram omitidos para maior clareza.**

Os padrões experimentais de difração de raios X por policristais foram comparados com o difratograma teórico simulado a partir de dados do monocristal para o CC1. A análise comparativa dos picos de difração (Figura 3.2) confirma a estrutura cristalina sendo possível notar uma boa cristalinidade, e maioritariamente na mesma fase cristalina.



**Figura 3.2 – Espectros de difração raios X pós de CC1 e teórico (CC1T).**

### 3.2.2. Descrição estrutural para o polímero de coordenação CP3

Em contraste com o complexo de coordenação CC1, o polímero de coordenação CP3 cristaliza no grupo espacial monoclinico  $P2_1/m$ .

A sua estrutura cristalina apresenta polímeros de coordenação bidimensionais (2D) com fórmula molecular  $\{[Ag_2(fa)_2][Ag(NO_3)]\}_n$  (Figura 3.3). Nesta disposição, o grupo carboxilato do ligando ácido 2-furóico liga os centros de prata(I) de um modo de coordenação bidentado em ponte ( $\eta^2:\eta^2:\mu_2$ ), conectando os centros metálicos em camadas bidimensionais estendidas. Estas camadas 2D estão empilhadas ao longo do eixo cristalográfico b. A análise topológica revela que estas camadas bidimensionais adotam uma rede do tipo favo de mel (*honeycomb*), na qual cada centro de prata(I) atua como um nó ligado por ligandos em ponte, formando motivos regulares de anéis de seis membros (Figura 3.3b). Os centros de prata exibem uma geometria de coordenação tetraédrica distorcida, coordenados por átomos de oxigénio provenientes de grupos carboxilato e nitrato. As distâncias de ligações Ag-O são relativamente longas e fracas, variando entre 2,201(2) e 2,674(2) Å, refletindo o ambiente de ligação flexível típico dos complexos de prata(I).

Adicionalmente, observam-se contactos curtos Ag...Ag de 2,896 Å entre centros de prata vizinhos. Estes contactos são indicativos de interações argentofílicas, conhecidas como atrações metalofílicas fracas características de sistemas de prata(I) com configuração  $d^{10}$ . Tais interações argentofílicas podem contribuir significativamente para a estabilidade do polímero de coordenação, ajudando a manter a integridade estrutural da rede. Esta estabilidade aumentada, proporcionada pelos contactos argentofílicos, pode também influenciar o comportamento térmico do composto, tornando a estrutura mais resistente ao colapso sob exposição à luz. Além disso, as unidades  $Ag(NO_3)$  participam em interações Ag- $\pi$  com os anéis de furano, contribuindo ainda mais para a estabilização e organização espacial da estrutura estendida (Figura 3.3c).

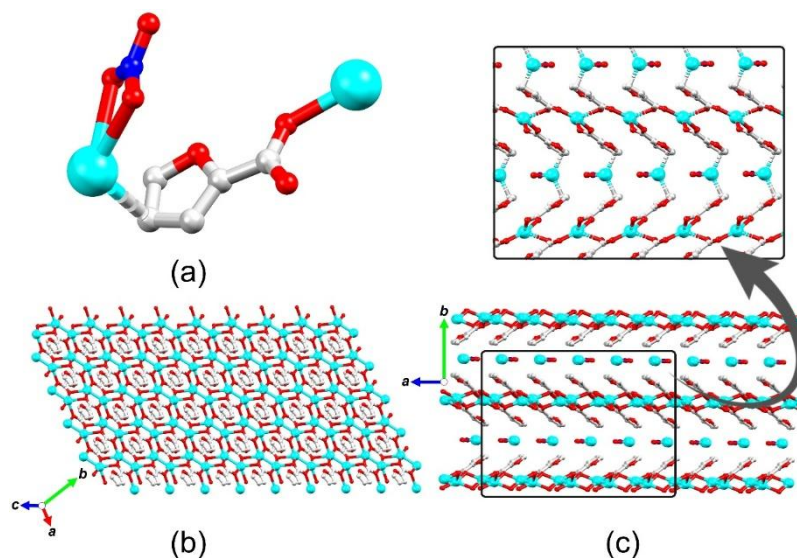


Figura 3.3 - a) Estrutura cristalina do CP3, destacando as interações Ag- $\pi$  entre os centros de prata e os anéis de furano. b) As camadas bidimensionais apresentam uma topologia de rede em favo de mel, formando motivos regulares de anéis de seis membros. c) Empilhamento das camadas 2D ao longo do eixo cristalográfico b. Inserção: vista detalhada das interações Ag- $\pi$  entre as unidades Ag(NO<sub>3</sub>) e os anéis de furano. Alguns átomos foram omitidos para maior clareza.

A análise comparativa dos dados obtidos por PXRD para o CP3 (Figura 3.4) permite verificar que existem bastantes picos derivados de impurezas ou uma diferente fase, indicando que ainda é necessária uma otimização do processo de síntese, para garantir qualidade e pureza na mesma fase cristalina do cristal único obtido.

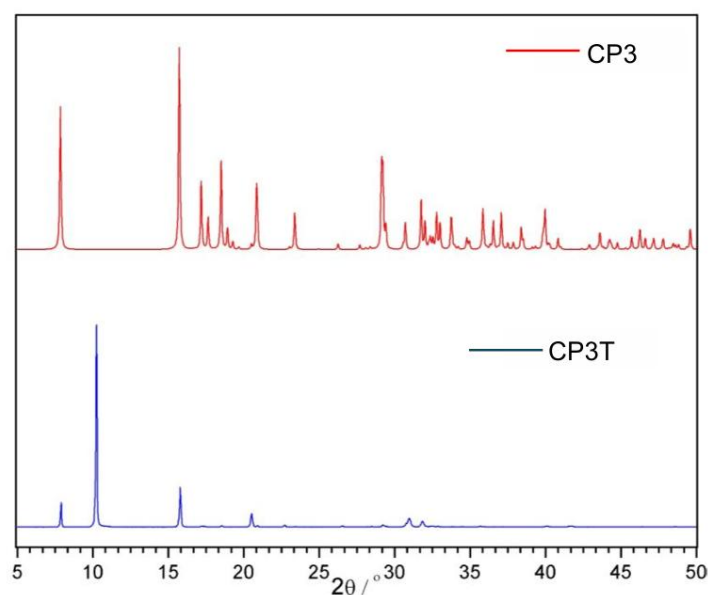
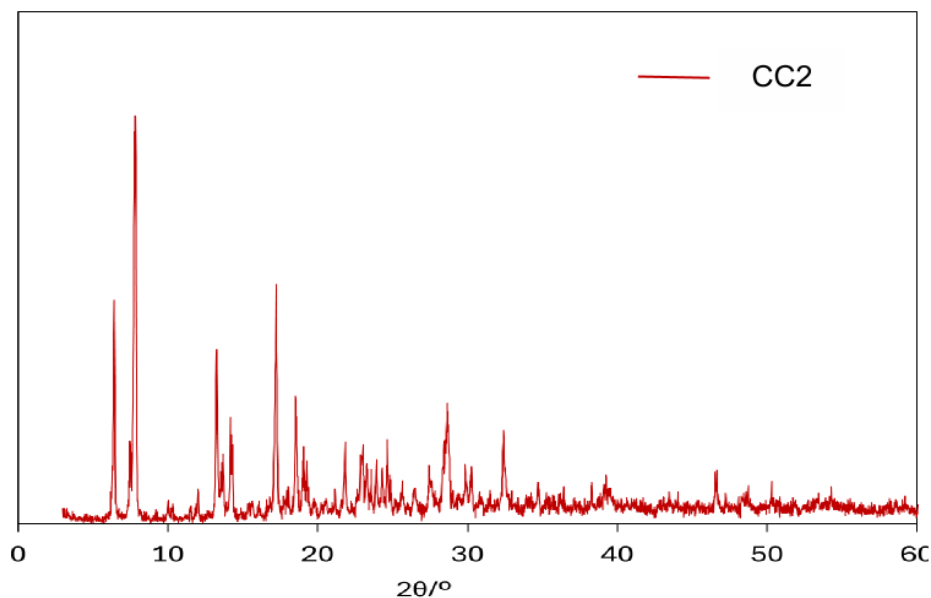


Figura 3.4 - Espetros de difração raios X pós de CP3 e teórico (CP3T).

### 3.2.3. Descrição estrutural para o complexo de coordenação CC2

Relativamente, ao composto de coordenação CC2, apesar das diferentes tentativas para obter cristais adequados para análise, tal não foi possível inviabilizando a aplicação da técnica de SCXR. No entanto, foi realizada um espectro de difração de raios X de pós experimental, os resultados obtidos encontram-se representados na figura 3.5.

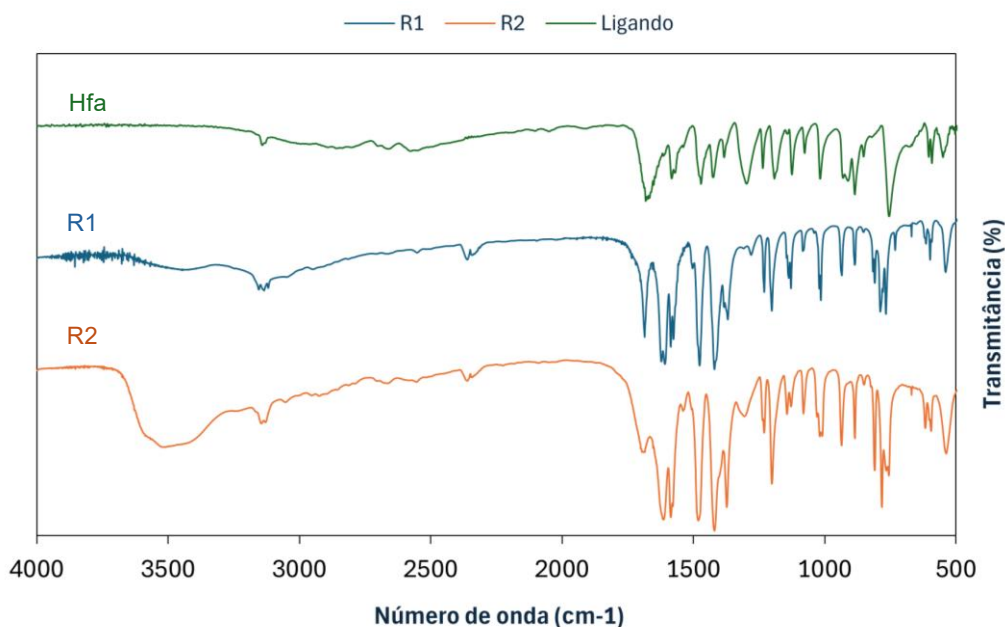


**Figura 3.5 - Espectros de difração raios X pós de CC2.**

### 3.2.4. Análise FTIR-ATR

A análise de FTIR-ATR foi utilizada para garantir que os compostos obtidos nas diferentes condições reacionais testadas, apresentavam a mesma estrutura, com coordenação do ligando ao respetivo centro metálico.

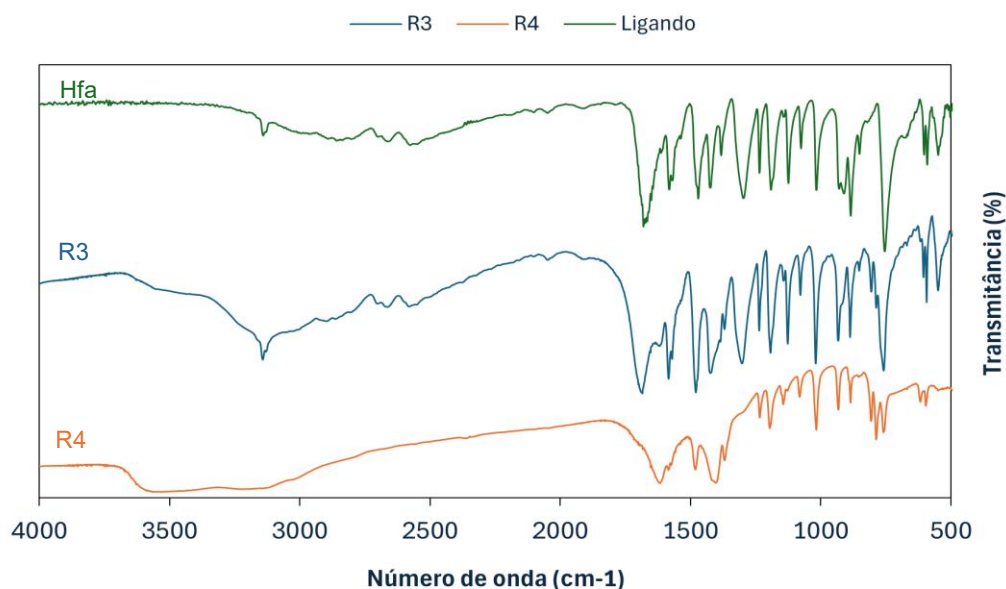
Conforme pode ser observado na Figura 3.6, onde se apresentam os espectros de FTIR-ATR do ácido 2-furóico e do complexo CC1, obtido na reação 1 (R1) e na reação 2 (R2), realizadas com proporções diferentes, é possível observar que o espectro do ligando apresenta os sinais correspondentes à sua estrutura, que contém um anel furano e um grupo carboxílico ligado na posição 2 do anel. Assim, é possível identificar as bandas características do anel furano no intervalo entre 1600-1400  $\text{cm}^{-1}$  e a banda característica do grupo carbonilo (C=O) a 1682  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 3.6 - Espectros de FTIR-ATR obtidos na R1 e R2.**

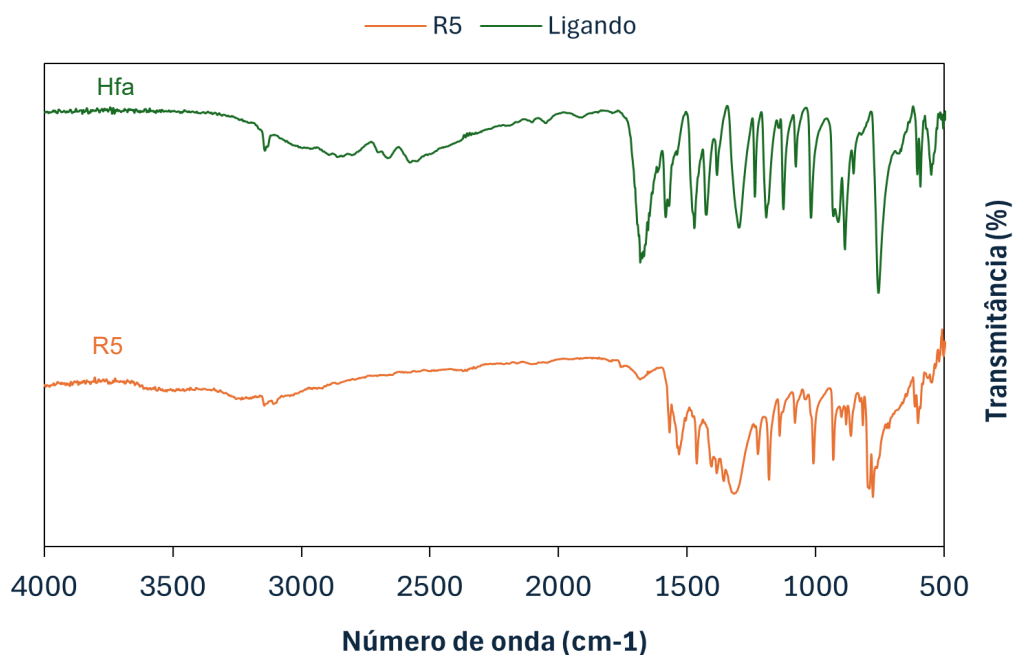
A análise dos espectros de FTIR-ATR do complexo CC1, obtidos nas reações R1 e R2, permitiu verificar que o composto obtido, em ambas as reações, apresentava a mesma estrutura pois as bandas sobrepõem-se. A análise comparativa dos espectros do ligando com os do complexo, permitiu perceber que existiu coordenação do ligando ao centro metálico pela ligeira alteração da frequência da banda atribuída ao sinal do grupo carbonilo (C=O), que se desvia ligeiramente, nos complexos, para valores de  $1686\text{ cm}^{-1}$ , afetado pela coordenação ao centro metálico, através do oxigénio do grupo carboxílico. Outra evidência é a presença, nos espectros do CC1, das bandas afiadas a  $781\text{ cm}^{-1}$  e  $809\text{ cm}^{-1}$ , que traduzem as alterações no plano do anel aromático por se apresentar em posição geométrica diferente do ligando livre.

Para o complexo CC2, composto com Zn(II) como centro metálico, cujos espectros se apresentam na Figura 3.7, a análise é semelhante à anterior. O desvio observado na banda do grupo carbonilo (C=O) é também muito ligeiro para valores a  $1685\text{ cm}^{-1}$ , no espectro do composto. Neste caso, não foi possível obter um espectro com resolução para a reação R4 pois o excesso de água tornou os sinais pouco nítidos.



**Figura 3.7 - Espectros de FTIR-ATR obtidos na R3 e R4.**

Para o polímero de coordenação CP3, cujos espectros se apresentam na Figura 3.8, a coordenação ao centro metálico é corroborada pelo desvio do grupo carbonilo do ligando livre, a  $1682\text{ cm}^{-1}$ , para um valor mais baixo de número de onda, neste caso a  $1568\text{ cm}^{-1}$  no composto de coordenação. Este desvio indica que o grupo carbonilo está a doar densidade eletrônica ao metal, enfraquecendo a ligação dupla  $\text{C}=\text{O}$ . É também possível observar as bandas afiadas a  $781\text{ cm}^{-1}$  e  $816\text{ cm}^{-1}$ , que traduzem as alterações no plano do anel aromático por se apresentar em posição geométrica diferente do ligando livre.

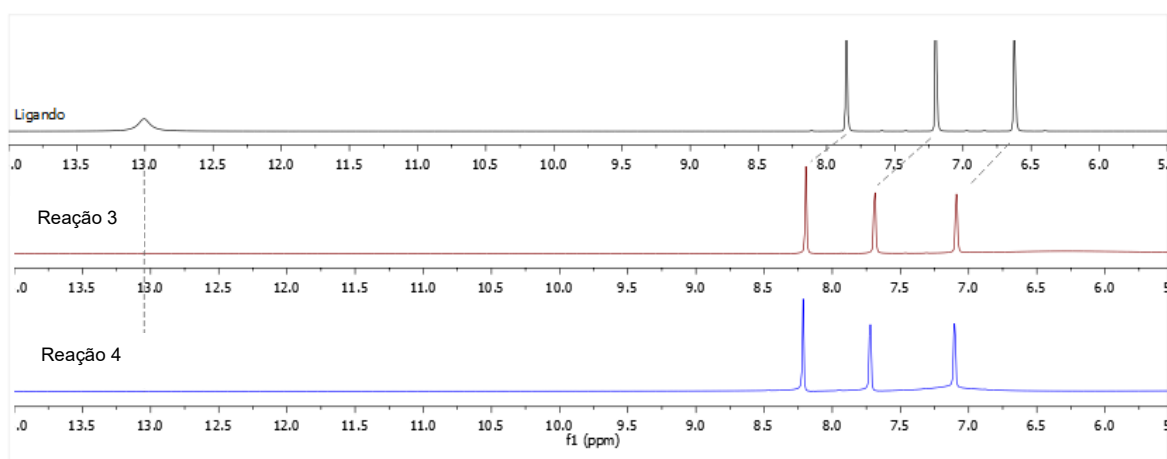


**Figura 3.8 - Espectros de FTIR-ATR obtidos na R5.**

A análise de FTIR permitiu verificar que o centro metálico tem influência na “força” da ligação de coordenação estabelecida, verificando que os compostos CC1 e CC2, de Cu(II) e Zn(II), respectivamente, apresentam uma ligação de coordenação semelhante, não retirando densidade eletrônica ao grupo carbonilo do ligando, tornando estes complexos mais lábeis. Para o composto CP3, de Ag(I), estabelece-se uma ligação de coordenação que retira densidade eletrônica ao grupo carbonilo do ligando, tornando a ligação de coordenação mais forte.

### 3.2.5. Ressonância Magnética Nuclear

Para os produtos obtidos nas reações R3 e R4, de síntese do CC2 foi ainda realizada uma análise por RMN, por forma a garantir a semelhança do produto obtido. Desta forma, a evidência de coordenação do ligando ao centro metálico foi assegurada através da análise dos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN do ligando e dos compostos obtidos na reação 3 e 4 (Figura 3.9).



**Figura 3.9 – Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN do Hfa e compostos de zinco obtidos nas reações 3 e 4.**

A análise dos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN permitiu verificar que o sinal característico do próton do grupo carboxílico a  $\delta = 13,0$  ppm, no espectro do ligando (Hfa), não surge nos espectros dos compostos obtidos nas reações 3 e 4, sugerindo a sua desprotonação promovida em meio básico e a coordenação do ligando ao centro metálico de zinco através do átomo de oxigénio.

Verificou-se, também, um descolamento, dos três sinais de próton do anel furano do ligando de  $\delta = 7,85, 7,19$  e  $6,63$  ppm, para valores mais elevados ( $\delta = 8,18, 7,69$  e  $7,10$  ppm, respetivamente) nos espectros dos compostos obtidos nas reações 3 e 4, indicando que esses prótons passaram a estar mais desblindados por coordenação do ligando ao centro metálico de zinco e formação do novo composto.

Uma vez que os sinais nos compostos obtidos nas reações 3 e 4 se sobrepõem, considerou-se que eram estruturalmente semelhantes.

### 3.2.6. Análise Elementar

Os valores teóricos e experimentais obtidos do teor de carbono (C), hidrogênio (H), azoto (N) e enxofre (S) presentes nos complexos e polímero de coordenação sintetizados (CC1, CC2 e CP3) encontram-se representados na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1 - Valores experimentais (E) e teóricos (T) do teor de C, H, N, S presentes em CC1, CC2 e CP3.**

Amostra	%N	%C	%H	%S
CC1 (E)	1,56	36,3	2,96	<0,30
CC1 (T)	1,08	36,96	3,02	<0,30
CC2 (E)	5,03	21,87	3,1	<0,30
CC2 (T)	4,97	21,3	2,92	<0,30
CP3 (E)	3,1	20,95	1,22	<0,30
CP3 (T)	3,01	20,62	1,14	<0,30

A técnica de análise elementar permitiu propor uma composição química para o composto CC2, através dos teores principais de C, N, H presentes na sua composição. Inicialmente, foi considerada uma estrutura base teórica com uma composição química específica, de seguida, em comparação com os resultados experimentais obtidos estes valores foram ajustados, tendo em consideração a possível presença de moléculas de solvente ou de água, no decorrer da síntese. Estes ajustes permitiram uma correspondência mais precisa entre os dados experimentais e teóricos obtidos, conferindo uma fórmula molecular mais viável para os compostos sintetizados.

Em resumo, a caracterização dos complexos e polímero de coordenação sintetizados revelou resultados consistentes com as estruturas esperadas, apresentando, no entanto, algumas limitações experimentais, tal como a ausência de cristais adequados para difração de raios X de cristal único em CC2, impedindo a confirmação de uma estrutura definida.

Relativamente ao rendimento das reações de síntese, obtiveram-se valores de 46% para o CC1, 45% para o CC2 e 24% para o CP3, o que indica uma eficiência razoável para o CC1 e CC2, comparativamente ao valor obtido em CP3. Este valor inferior pode estar associado a diversos fatores como menor estabilidade do composto, perda durante o processo, formação de subprodutos ou possíveis contaminações.

### 3.3. Caracterização dos filmes produzidos

Com o objetivo de desenvolver materiais funcionais com potencial atividade antibacteriana, foram preparados filmes poliméricos, de acordo com o descrito no ponto 2– Materiais e Métodos. Estes foram dopados com diferentes agentes ativos, nomeadamente, sais de metais ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  e  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ ), ligando, complexos e polímero de coordenação CC1, CC2 e CP3. Foi ainda preparado um filme polimérico da matriz PEG/PEGDA (10:90)(%m/m). A dopagem foi realizada de forma a incorporar uniformemente os aditivos na matriz polimérica, mantendo a integridade estrutural dos filmes. Todos os filmes incluíram na sua composição 1% de fotoiniciador (2,4,6-trimetilbenzofosfato).

Os filmes poliméricos foram dopados com diferentes concentrações, assim como diferentes agentes ativos, de acordo com as referências representadas na Tabela 3.2.

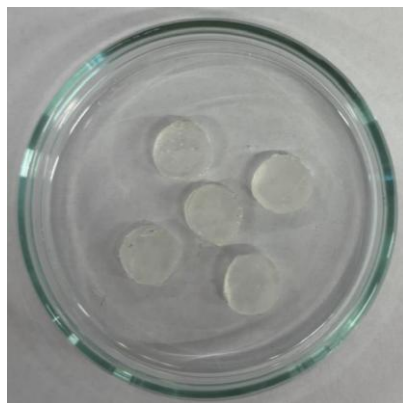
**Tabela 3.2 - Composição dos filmes poliméricos dopados.**

Base polimérica	Agente ativo	Percentagem (%)
PEG/PEGDA	---	---
PEG/PEGDA	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	(5%,2%,2,5% e 1%)
PEG/PEGDA	$\text{ZnCl}_2$	(5%,2%,2,5% e 1%)
PEG/PEGDA	$\text{Ag}(\text{NO}_3)$	(5%,2%,1% e 0,25%)
PEG/PEGDA	ácido 2-furóico	(2,5% e 0,25%)
PEG/PEGDA	CC1	(2,5%)
PEG/PEGDA	CC2	(2,5%)
PEG/PEGDA	CP3	(0,25%)

Os filmes serão referenciados pela designação genérica F@concentraçãocompostoativo, como por exemplo, F@5 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , sendo o filme controlo designado de F@PEG/PEGDA.

Após o processo de cura, de aproximadamente 5 minutos, os filmes obtidos (d = 9,5 cm e e = 2 mm) os filmes foram limpos com etanol.

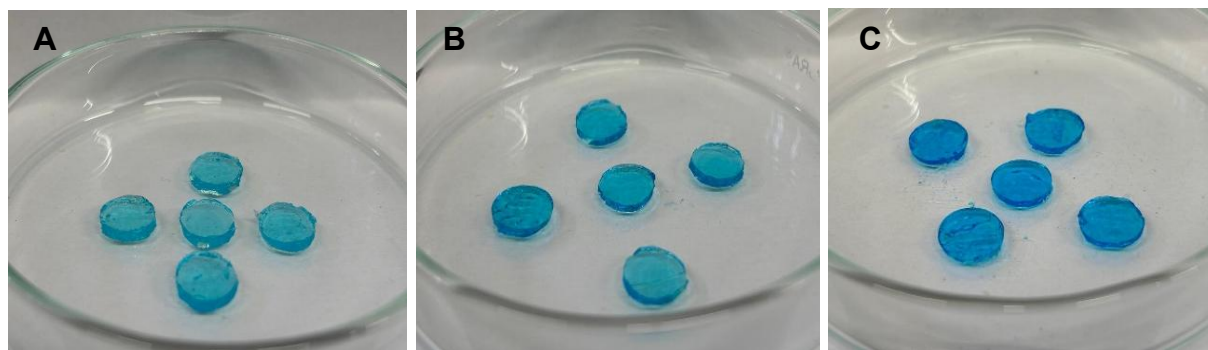
O filme controlo de base polimérica estável e robusta, composta por (10:90) %(m/m) de PEG/PEGDA (F@PEG/PEGDA) apresenta uma coloração um pouco esbranquiçada, alguma transparência e ligeira robustez como podemos verificar na Figura 3.10.



**Figura 3.10 – Amostras do filme F@PEG/PEGDA (10/90) %(m/m)**

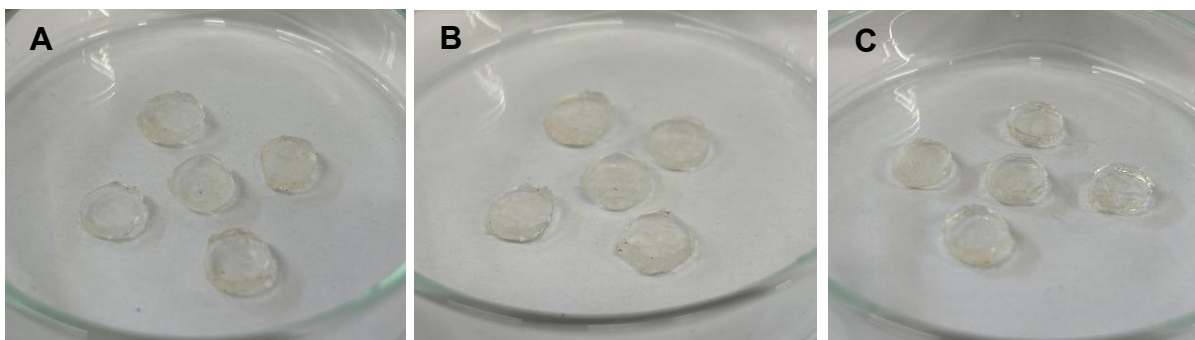
De seguida, foram preparados filmes com três concentrações (5%, 2% e 1%) dos sais de metais  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  e  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$  com o objetivo de verificar a viabilidade da utilização dos complexos e polímero de coordenação sintetizados a partir destes centros metálicos, na formação de filmes.

Os filmes F@ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  exibiram uma coloração azul característica do sal de cobre em todas as amostras, sendo esta mais intensa na formulação com 5% e diminuindo progressivamente com a redução da concentração (Figura 3.11). Todos os filmes demonstraram algum grau de transparência. Observou-se ainda que o filme correspondente à menor percentagem apresentou uma maior robustez mecânica em comparação com os demais.



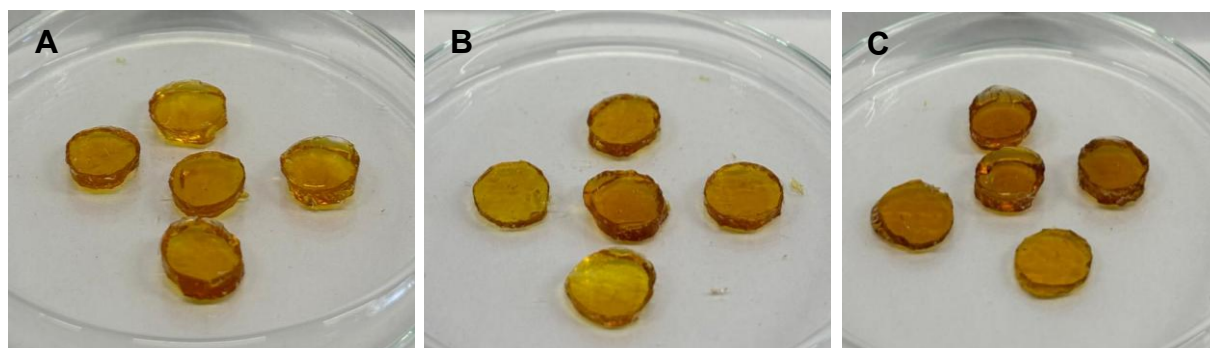
**Figura 3.11 – Amostras dos filmes A) F@1 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; B) F@2 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  e C) F@5 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .**

Os filmes F@ $\text{ZnCl}_2$  apresentaram uma coloração predominantemente esbranquiçada, com ligeiras tonalidades amareladas, independentemente da concentração aplicada. Todos os filmes evidenciaram elevada transparência (Figura 3.12). Em comparação com os F@ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , observou-se uma menor robustez mecânica, manifestando-se uma textura gelatinosa e até viscosa, fenómeno que poderá ser atribuído à elevada higroscopicidade do  $\text{ZnCl}_2$ .



**Figura 3.12 – Amostras dos filmes A) F@1ZnCl<sub>2</sub>; B) F@2ZnCl<sub>2</sub>; C) F@5ZnCl<sub>2</sub>.**

Os filmes de F@Ag(NO<sub>3</sub>) apresentaram uma coloração âmbar, atribuída à oxidação da prata, com maior intensidade na formulação de 5% decrescendo gradualmente com a diminuição da concentração (Figura 3.13). Verificou-se uma boa robustez mecânica, consistente entre todas as concentrações testadas, e superior em comparação com filmes obtidos com outros sais de metais.



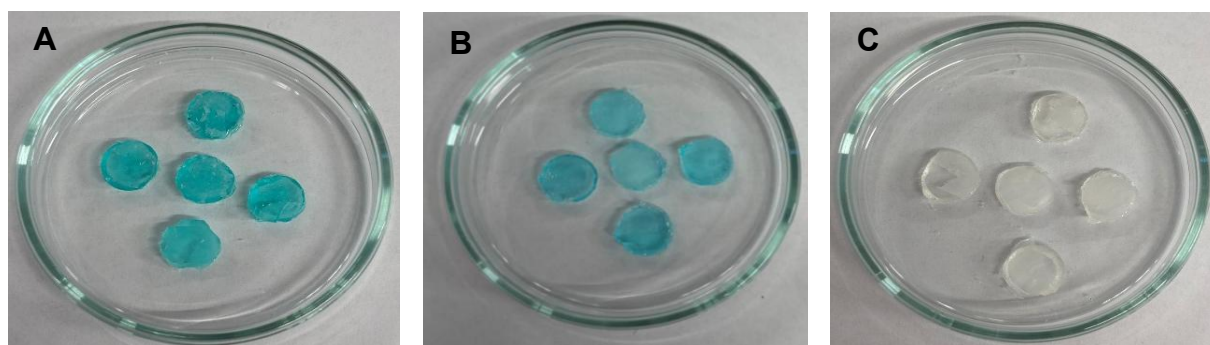
**Figura 3.13 – Amostras dos filmes A) F@1Ag(NO<sub>3</sub>); B) F@2Ag(NO<sub>3</sub>); C) F@5Ag(NO<sub>3</sub>).**

A produção de filmes dopados com os sais precursores permitiu admitir que o comportamento dos filmes dopados com complexos e polímero de coordenação seria, à partida, viável, devido à sua estabilidade e robustez. Assim, procedeu-se à dopagem em concentrações específicas.

Considerando que o filme contendo 5% de Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O apresentou alguma instabilidade, optou-se por uma concentração intermédia entre 2% e 5%, definindo-se a concentração de 2,5% para o complexo CC1 (F@2,5CC1). Relativamente ao complexo CC2, seguiu-se o mesmo raciocínio, dado que o aumento da concentração do sal precursor comprometia a estabilidade do filme, fixou-se igualmente uma concentração de 2,5% (F@2,5CC2). Por fim, para os filmes dopados com o polímero de coordenação, CP3, foi selecionada uma concentração significativamente inferior, de 0,25%, considerando que a prata apresenta uma elevada atividade antibacteriana, sendo, teoricamente, eficaz em concentrações reduzidas (F@0,25CP3).

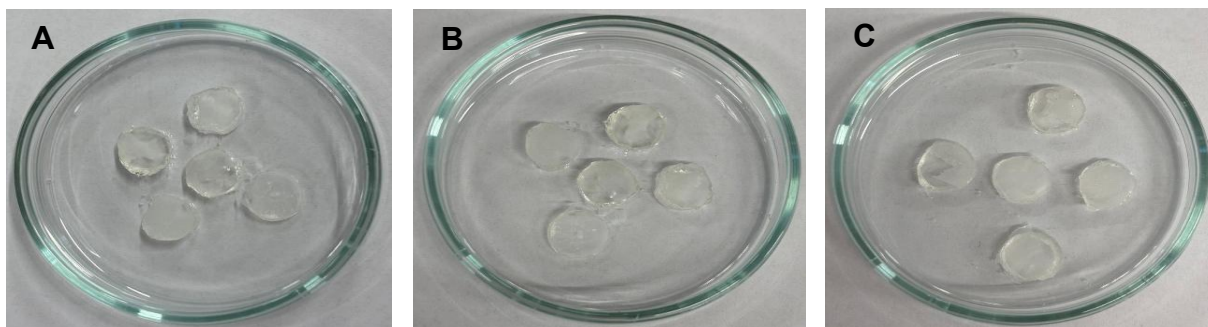
Neste conjunto de ensaios prepararam-se novamente filmes contendo os mesmos sais de metais, ajustados às concentrações definidas para a dopagem dos complexos e polímero de coordenação. Paralelamente, foram também preparados filmes dopados exclusivamente com o ligando utilizado na síntese dos complexos e polímero de coordenação, nas mesmas concentrações. O objetivo destes filmes é possibilitar, em estudos futuros, a avaliação isolada da atividade antibacteriana de cada componente individual envolvido na síntese dos compostos obtidos.

A análise dos filmes dopados permitiu observar que F@2,5CC1 apresenta uma tonalidade azul mais intensa em comparação com o filme dopado apenas com o sal do metal correspondente. Por outro lado, o filme dopado com o ligando exibe uma aparência translúcida, com regiões esbranquiçadas. Verificou-se ainda que o que F@2,5CC1 não apresenta uma homogeneização completa do CC1 na matriz polimérica, o que era expectável, dado que este tipo de compostos não se dissolve integralmente no meio. Em contraste, F@2,5Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O evidenciou uma boa homogeneização. Relativamente ao F@2,5Hfa, observou-se também uma falta de homogeneidade, caracterizada pela formação de uma película esbranquiçada na superfície da matriz, sugerindo que o ligando não foi totalmente incorporado. Todos os filmes apresentaram boa robustez mecânica e uma ligeira transparência, conforme ilustrado na Figura 3.14.



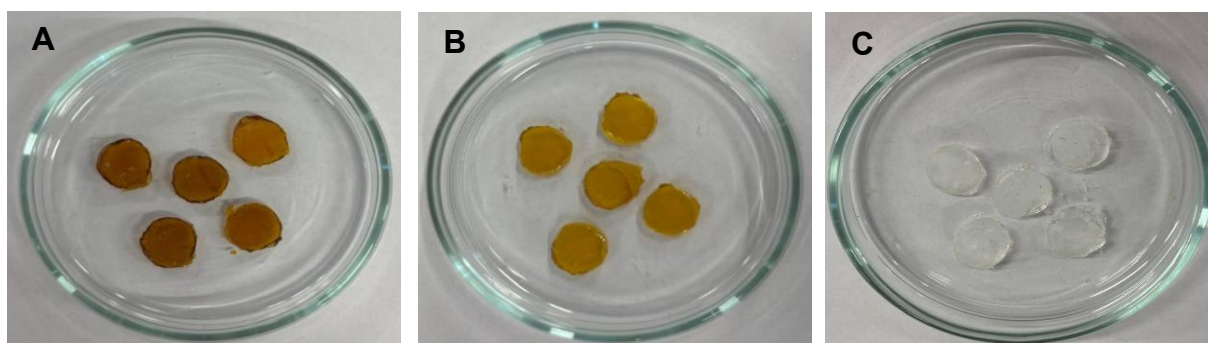
**Figura 3.14 – Amostras dos filmes A) F@2,5CC1; B) F@2,5Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O, C) F@2,5Hfa.**

Relativamente a F@CC2, F@2,5ZnCl<sub>2</sub> e F@2,5Hfa estes evidenciaram uma fraca homogeneização, manifestada pela formação de finas películas esbranquiçadas, em volta da matriz. Apesar desta limitação, todos os filmes apresentaram boa estabilidade e um grau moderado de transparência, como representado na Figura 3.15.



**Figura 3.15 – Amostras dos filmes A) F@2,5CC2; B) F@2,5ZnCl<sub>2</sub>; C) F@2,5Hfa.**

F@0,25CP3, F@0,25Ag(NO<sub>3</sub>) e F@0,25Hfa, observou-se uma dissolução homogênea tanto no filme A como no filme B. Contudo, o filme C, tal como nos ensaios anteriores, apresentou a formação de uma película esbranquiçada, sugerindo uma possível má dissolução do ligando na matriz polimérica. Em relação à coloração, os filmes A e B exibiram uma tonalidade âmbar, conforme esperado nos ensaios preliminares, com uma tonalidade mais escura no filme dopado com o composto metálico. Todos os filmes demonstraram uma certa robustez mecânica, sendo o filme A o mais resistente. Quanto à transparência, todos os filmes apresentaram um nível normal de transparência, como é possível ver na Figura 3.16.



**Figura 3.16 – Amostras dos filmes A) F@0,25CP3, B) F@0,25Ag(NO<sub>3</sub>) e C) F@0,25Hfa.**

### 3.3.1. Análise FTIR-ATR

De forma a caracterizar os filmes produzidos foram realizados os espectros de FTIR-ATR a todos os materiais utilizados e produzidos.

As Figuras 3.17, 3.18, 3.19, mostram os espectros obtidos para F@PEG/PEGDA comparativamente aos espectros obtidos para F@2,5CC1, F@2,5CC2 e F@0,25CP3 respetivamente.

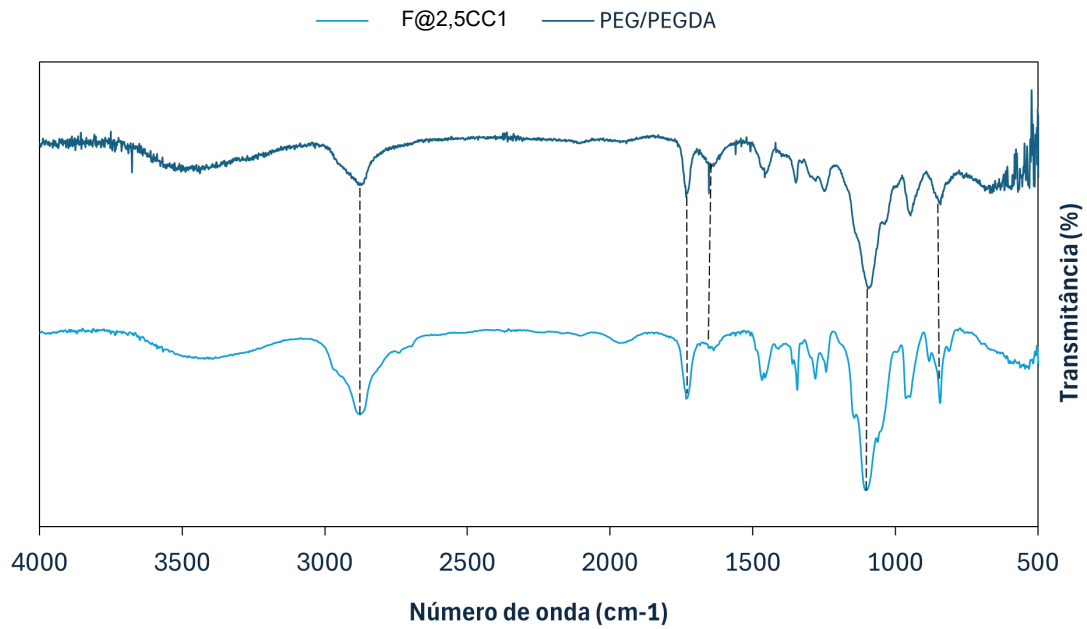


Figura 3.17 - Espectros de análise FTIR-ATR obtidos de F@2,5CC1 vs F@PEG/PEGDA.

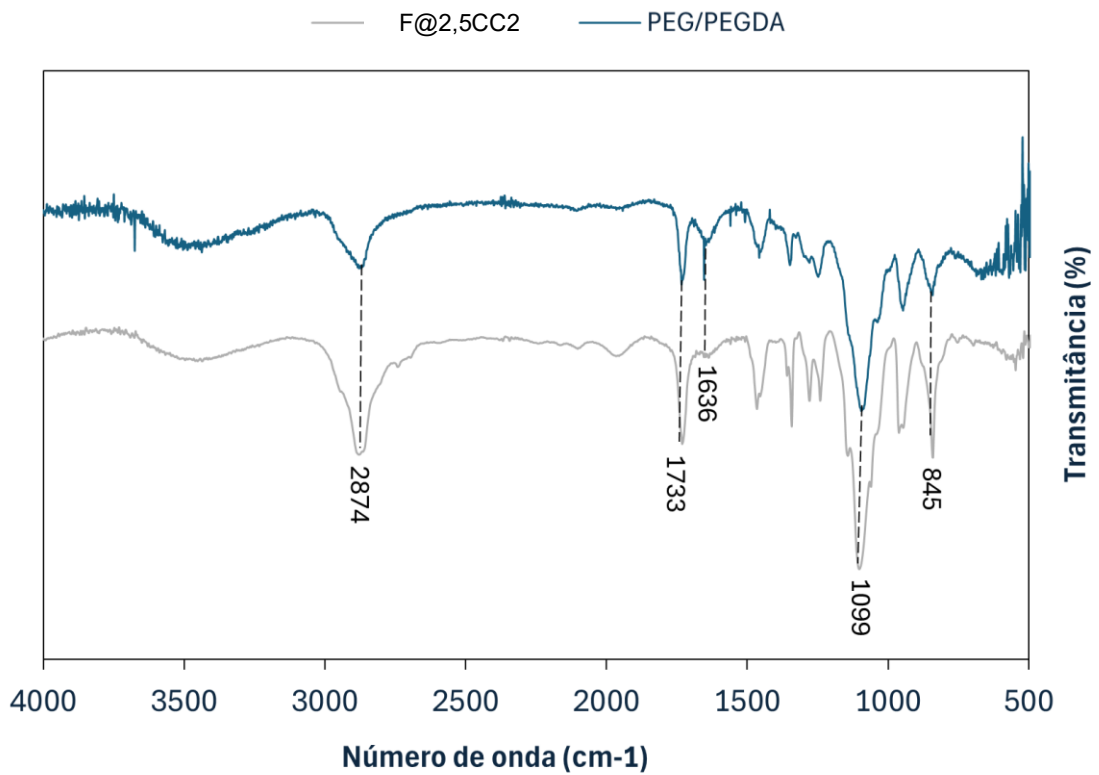
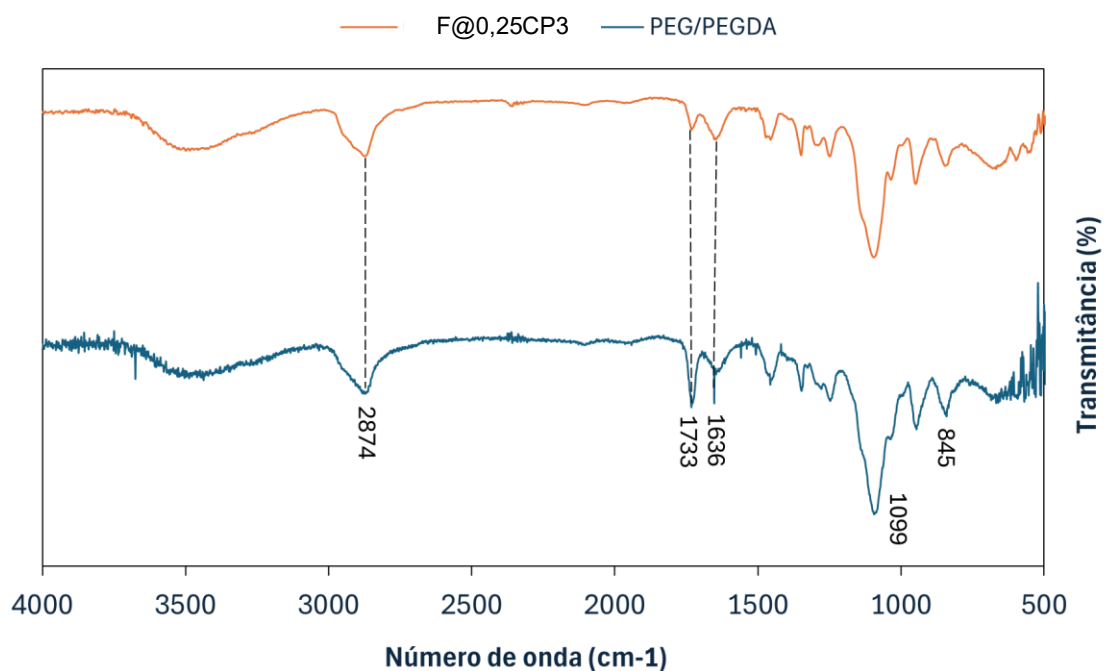


Figura 3.18 - Espectros de análise FTIR-ATR obtidos de F@2,5CC2 vs F@PEG/PEGDA.







**Figura 3.19- Espectros de análise FTIR-ATR obtidos de F@0,25CP3 vs F@PEG/PEGDA.**

A análise global dos resultados permite verificar que o espectro de FTIR-ATR do filme de PEG/PEGDA apresenta o perfil característico esperado para a sua estrutura. É possível observar a presença de uma banda intensa a  $2874\text{ cm}^{-1}$  atribuída à vibração de estiramento alifático dos grupos  $\text{CH}_2$  das cadeias poliméricas, presentes nos dois polímeros. O grupo acrilato ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COO}-$ ), presente no PEGDA pode ser identificado pela presença das bandas a  $1733\text{ cm}^{-1}$  e  $1636\text{ cm}^{-1}$ , características da vibração do grupo éster ( $\text{C}=\text{O}$ ) e ligação dupla ( $\text{C}=\text{C}$ ) do grupo acrilato. Identifica-se ainda a banda forte a  $1099\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento da ligação  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  dos grupos éter presentes na estrutura do PEG.

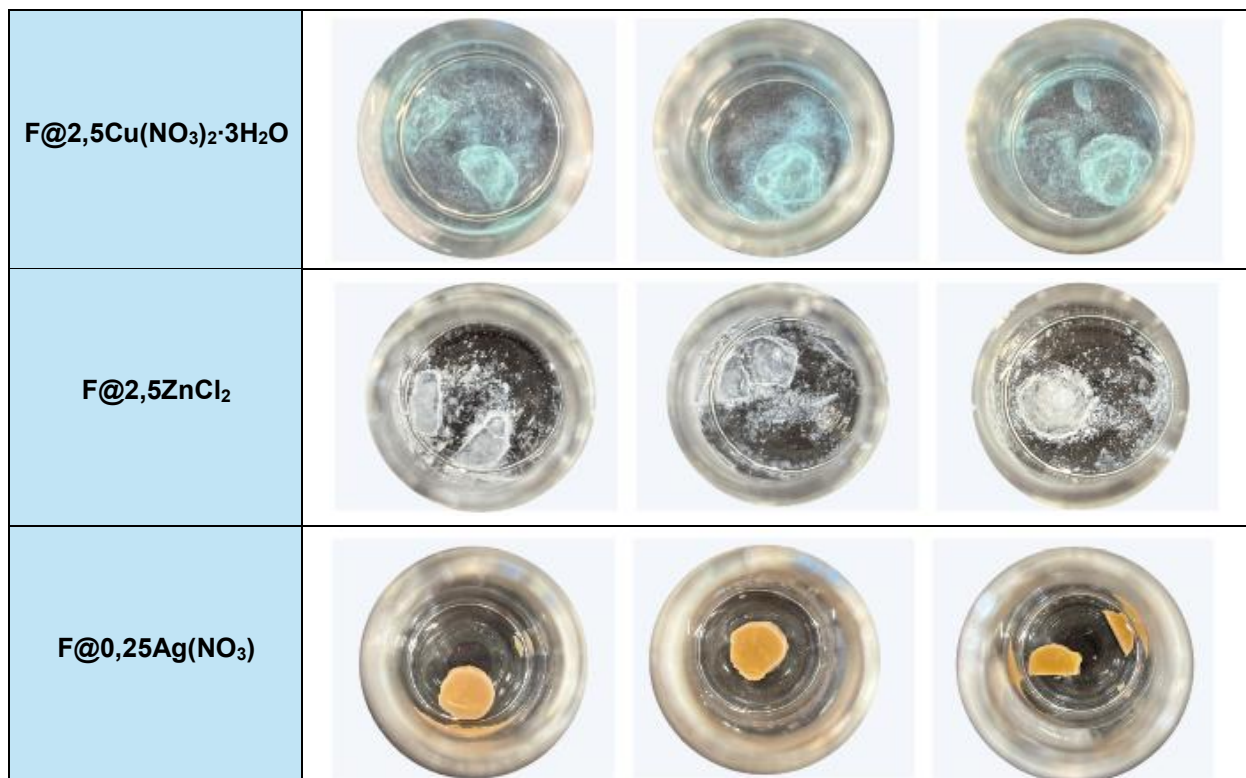
A presença dos compostos nos espectros dos materiais dopados, torna-se difícil de identificar pois estes estão presentes em pequenas quantidades, comparativamente, à matriz, fazendo com que os seus sinais fiquem encobertos pelos sinais do controlo.

### 3.3.2. Ensaios de absorção de solução tampão

As amostras em cupão foram preparadas e imersas em 5 mL de solução tampão PBS ( $\text{pH} = 7,4$ ), à temperatura ambiente. Após 24 horas de imersão, algumas apresentaram sinais de fragmentação. Os resultados visuais, no final de 24 horas de ensaio, apresentam-se nas figuras 3.20, 3.21 e 3.22.

F@PEG/PEGDA			
F@2,5CC1			
F@2,5CC2			
F@0,25CP3			

**Figura 3.20 – Aspeto final dos triplicados dos ensaios de absorção de amostras de filmes de matriz e de complexos e polímero de coordenação incorporados, após 24 horas.**



**Figura 3.21 - Ensaio de absorção de amostras de filmes de sais de metais incorporados, após 24 horas.**



**Figura 3.22 - Ensaio de absorção de amostras de filmes F@2,5Hfa e F@0,25Hfa incorporados, após 24 horas.**

Efetivamente o comportamento observado indica que a matriz de PEG/PEGDA, tal como formulada, apresenta estabilidade ligeiramente frágil em meio aquoso, para períodos superiores a 24 horas. A degradação observada não deverá ser unicamente atribuída à presença dos agentes dopantes, uma vez que a matriz base também fragmentou sob as mesmas condições.

Esta instabilidade poderá estar relacionada com a mistura de PEG/PEGDA. Estes resultados sugerem que a reticulação conseguida na matriz polimérica base definida, poderá não ser adequada para aplicações superiores a 24 horas, em ambientes aquosos, se for necessário manter a integridade da matriz. Nesse caso, poderá ser necessário proceder a alterações na sua composição ou condições de polimerização.

A taxa de absorção de solução tampão foi determinada com base nos resultados obtidos, para ensaios em triplicado, de acordo com a expressão 3.1.

$$\text{taxa de absorção(\%)} = \frac{0,2257-0,1357}{0,1357} \times 100 = 66,32\% \quad (3.1)$$

O filme de F@PEG/PEGDA apresentou uma taxa de absorção de 66%, após 24 horas de imersão. Este resultado indica uma capacidade moderada a elevada de absorção de solução tampão, demonstrando que o material consegue reter uma quantidade significativa de fluido, sem sofrer degradação total, embora tenha sido observada alguma fragilidade estrutural e leve fragmentação.

Este valor de absorção pode ser relevante para aplicações em contextos biológicos ou biomédicos, como sistemas de *control delivery* ou tratamento de feridas, onde o material deve contactar com fluidos corporais sem comprometer a sua integridade física.

### 3.3.3. Ensaios de dureza

A dureza dos materiais obtidos, sob forma de filmes e peças tridimensionais, foi avaliada com o objetivo de caracterizar a sua resistência à deformação superficial. Os ensaios foram realizados utilizando um durómetro manual, segundo a escala de *Shore A*, adequada para materiais poliméricos com propriedades elásticas ou semi-rígidas. Para cada amostra foram efetuadas cinco medições independentes, permitindo obter uma média representativa e minimizar a influência de eventuais variações locais na superfície do material. Esta análise é fundamental para compreender o comportamento mecânico dos materiais desenvolvidos e a influência da sua composição e morfologia na resistência ao impacto e compressão.

#### 3.3.3.1. Ensaios de dureza aos filmes produzidos

Os resultados obtidos para os valores de dureza (*Shore A*) para os diversos filmes produzidos apresentam-se resumidos na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3 - Valores de dureza Shore A para os filmes produzidos.**

	Dureza (Shore A)
F@PEG/PEGDA	68±2
F@0,25Hfa	77±2
F@2,5Hfa	71±4
F@2,5Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O	59±4
F@2,5ZnCl <sub>2</sub>	78±2
F@0,25Ag(NO <sub>3</sub> )	57±4
F@2,5CC1	50±10
F@2,5CC2	68±3
F@0,25CP3	48±3

A análise dos resultados permite verificar que o F@PEG/PEGDA, de matriz (10/90%) apresentou um valor médio de 68,4±1,8 Shore A, esperado para materiais poliméricos, maioritariamente, de polietileno glicol diacrilato. A maioria das formulações de PEGDA puras ou com baixo teor de PEG tendem a apresentar durezas entre 50-80 Shore A, dependendo do peso molecular e da densidade de reticulação.

Quando se faz a comparação para a introdução de ligando, filmes F@0,25Hfa e F@2,5Hfa, verifica-se que, independentemente da concentração incorporada, os valores de dureza aumentam relativamente ao filme de matriz. Este fato sugere que o ligando Hfa, poderá ter influência no processo de reticulação, dando origem a materiais ligeiramente mais rígidos que o material base.

Quando se analisam os resultados obtidos para os filmes dopados com os sais dos metais precursores F@2,5(Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O, F@2,5 ZnCl<sub>2</sub> e F@0,25Ag(NO<sub>3</sub>) verifica-se que a incorporação do sal de Cu(II) e Ag(I) diminuíram a dureza dos filmes produzidos, para 59±4 e 57±4 Shore A, respetivamente, relativamente ao valor obtidos para o filme de matriz, enquanto que a incorporação do sal de Zn(II) fez aumentar o valor para 78±2 Shore A.

Este comportamento foi também observado para os filmes com os compostos CC1, CC2 e CP3 produzidos, com o filme F@2,5CC2 a apresentar valores de dureza superior aos registados para os filmes F@2,5CC1 e F@0,25CP3, de Cu(II) e Ag(I), respetivamente.

Esta semelhança sugere que o íon Zn(II) poderá ter influência no processo de reticulação, uma vez que estes filmes apresentam uma dureza maior ou semelhante à do filme matriz.

### 3.3.3.2. Ensaio de dureza às peças 3D

Os resultados obtidos para os valores de dureza (*Shore A*) para as peças produzidas apresentam-se resumidos na Tabela 3.4.

**Tabela 3.4 - Valores de dureza *Shore A* para as peças 3D produzidas.**

	Dureza ( <i>Shore A</i> )
P@PEG/PEGDA_10mm	85±2
P@0,25CP3_10mm	78±2
P@0,25CP3_5mm	80±4

A análise de resultados permite verificar que à semelhança do que se observou para os filmes incorporados com compostos de Ag(I), os valores de dureza das peças P@0,25CP3\_10mm e P@0,25CP3\_5mm diminuiram ligeiramente, relativamente ao valor obtido para a peça matriz P@PEG/PEGDA\_10mm.

No que se refere à comparação da espessura das peças P@0,25CP3\_10mm e P@0,25CP3\_5mm verifica-se que a peça mais baixa apresenta um valor médio ligeiramente superior ao obtido para a peça mais alta. Este fato pode sugerir que ao aumentar a espessura o processo de cura pode tornar-se menos eficiente, tornando as peças mais altas menos rígidas.

### 3.3.4. Ensaio microbiológicos

As propriedades antibacterianas dos filmes de matriz e dopados com ligando, sais precursores ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  e  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ ) e CC1, CC2 e CP3 foram avaliadas através de um ensaio de sobreposição em ágar mole. Através dos ensaios microbiológicos realizados foi permitido avaliar a eficácia dos filmes de produzidos contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*). Os resultados dos halos bacterianos obtidos encontram-se apresentados nas Figuras 3.23 a 3.26.

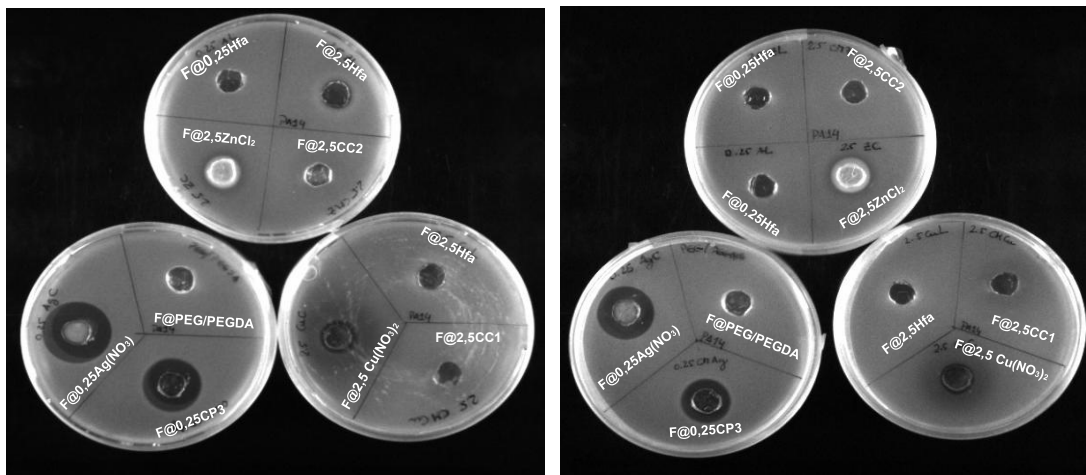


Figura 3.23 – Halos bacterianos observados na estirpe *P.aeruginosa* PA14.

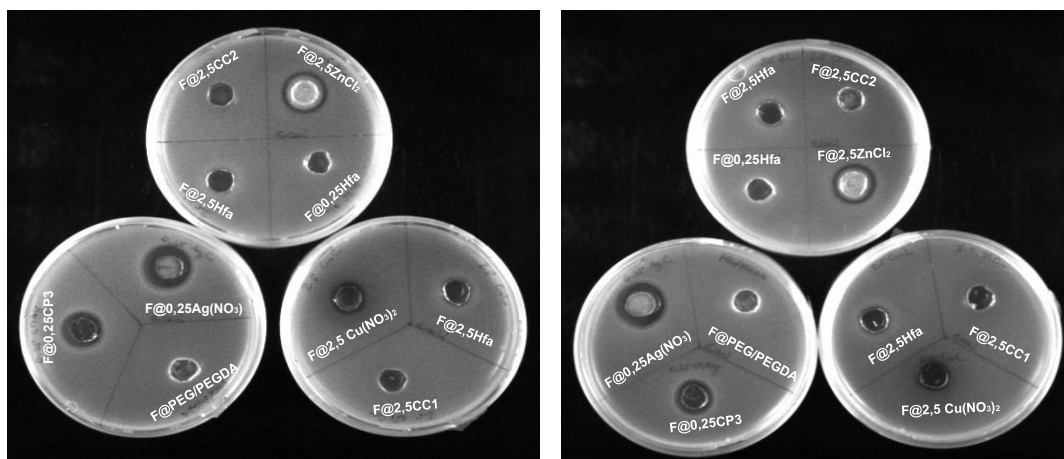


Figura 3.24 – Halos bacterianos observados na estirpe *E.coli* ATCC 25922.



Figura 3.25 – Halos bacterianos observados na estirpe *S.aureus* ATCC 25923.



Figura 3.26 – Halos bacterianos observados na estirpe *S.epidermidis* RP62A.

Relativamente aos resultados dos espetros de inibição antimicrobiana obtidos, estes encontram-se apresentados nas Figuras 3.27 a 3.30.

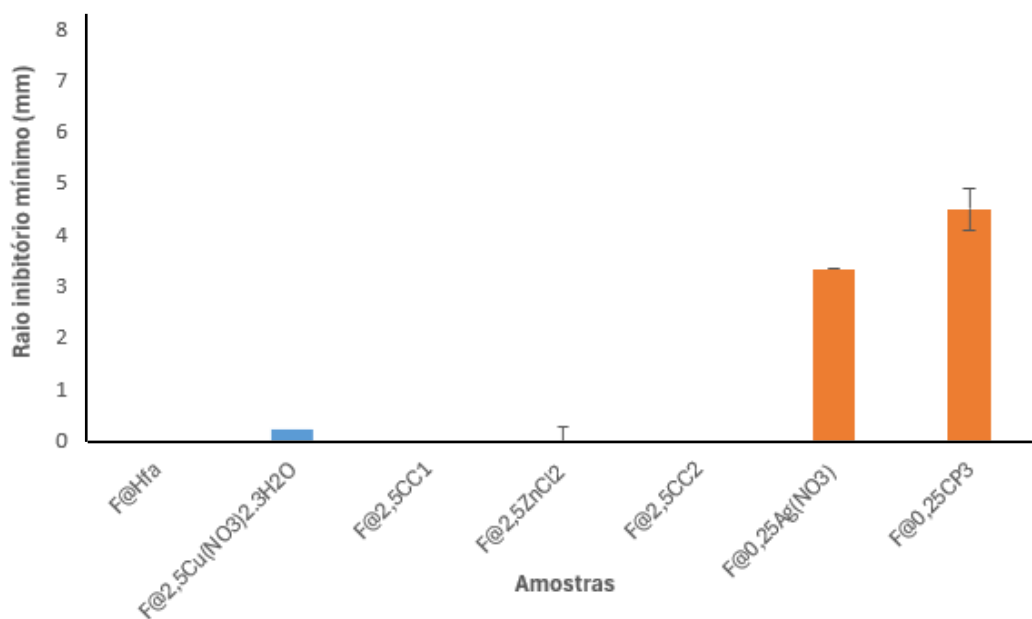


Figura 3.27 - Resultados inibitórios dos filmes produzidos na estirpe *P.aeruginosa*.

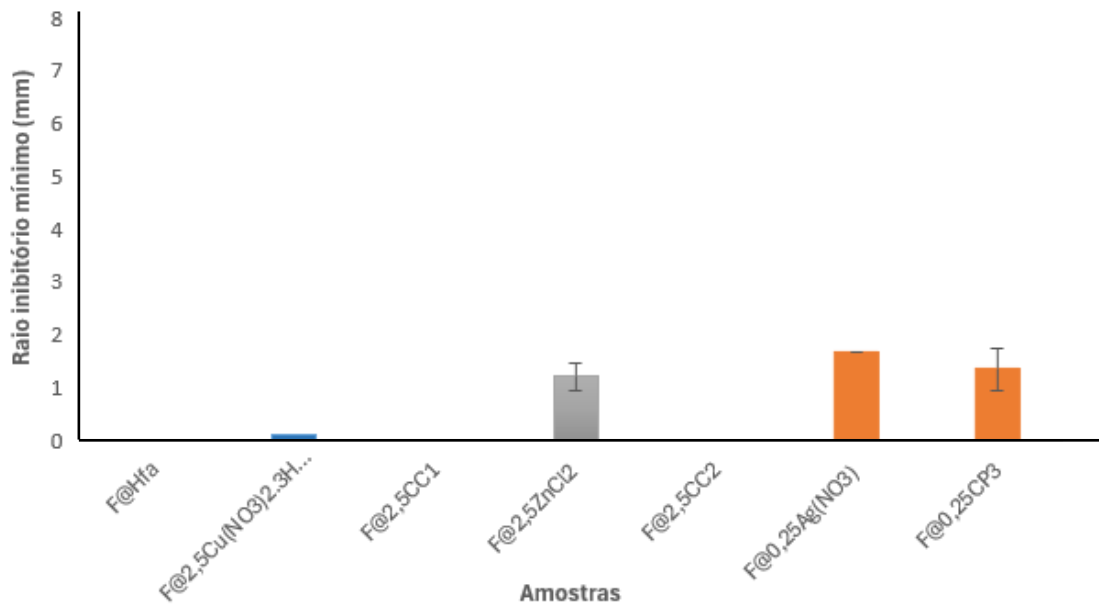


Figura 3.28 - Resultados inibitórios dos filmes produzidos na estirpe *E.coli*.

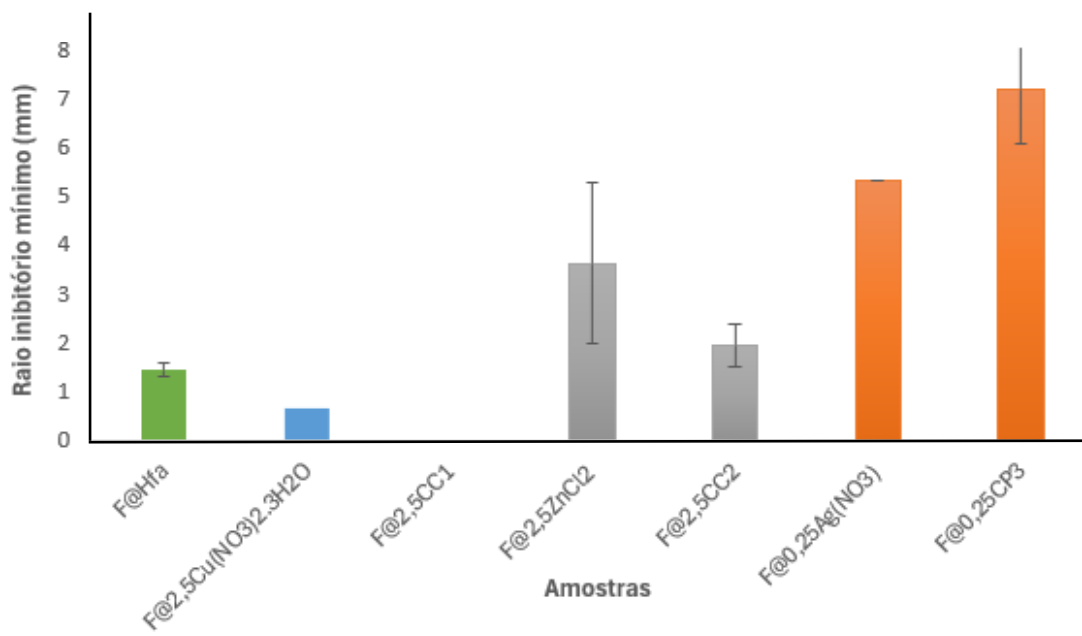
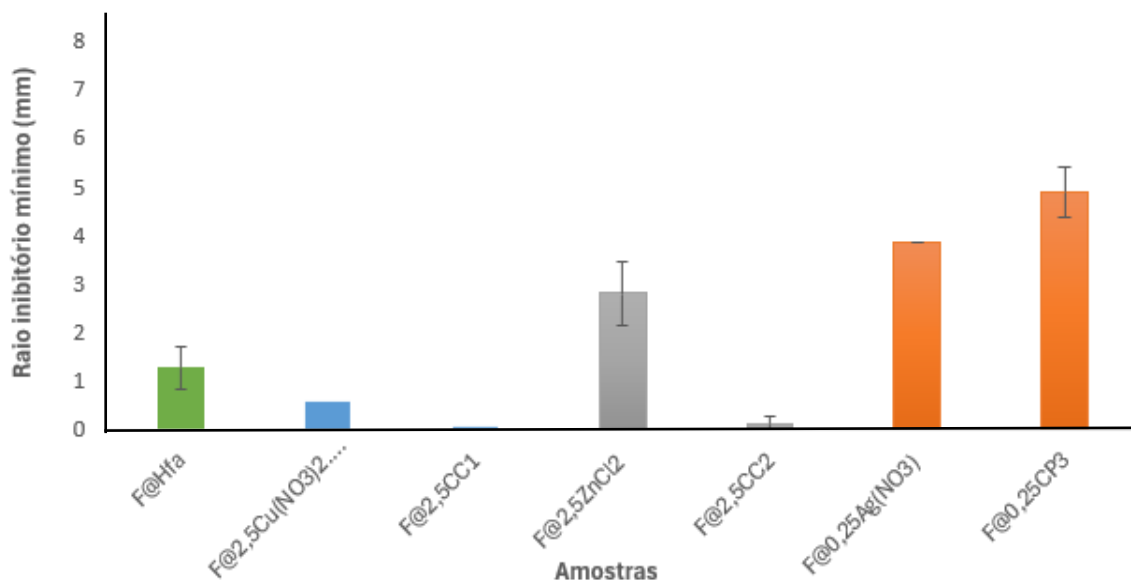


Figura 3.29 - Resultados inibitórios dos filmes produzidos na estirpe *S.aureus*.



**Figura 3.30 - Resultados inibitórios dos filmes produzidos na estirpe *S.epidermidis*.**

A atividade antibacteriana do filme controlo F@PEG/PEGDA apresentou resultados nulos de atividade antimicrobiana para todas as estirpes testadas. Desta forma, pode-se concluir que a matriz utilizada, nas condições testadas, não apresenta inibição antimicrobiana. A ausência desta atividade reflete a biocompatibilidade da mistura base selecionada e garante que todos os resultados de inibição dos filmes dopados produzidos resultarão da incorporação de agentes dopantes ativos. Relativamente ao F@2,5Hfa, este revelou atividade antibacteriana exclusiva contra as bactérias Gram-positivas, não apresentando qualquer efeito inibitório sobre as bactérias Gram-negativas testadas. As estirpes *S.aureus* e *S.epidermidis* demonstraram valores de inibição semelhantes, sugerindo que o Hfa atua de forma constante sobre estas estirpes.

O F@2,5Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O, apresentou uma baixa atividade para as bactérias Gram-negativas, enquanto, o F@2,5CC1 não apresentou qualquer atividade para essa estirpe.

Relativamente às bactérias Gram-positivas o F@2,5Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O apresentou inibição, no entanto este valor é muito baixo comparativamente aos restantes sais precursores testados. O F@2,5CC1 não apresentou inibição para a estirpe *S.epidermidis* e apresentou um valor bastante reduzido para a estirpe *S.aureus*.

Em relação ao F@2,5ZnCl<sub>2</sub> e F@2,5CC2, estes exibiram maior inibição do crescimento bacteriano contra bactérias Gram-positivas. Ambos demonstraram atividade inibitória contra *S.epidermidis* e *S.aureus*, sendo que, o F@2,5ZnCl<sub>2</sub> apresentou halos de inibição semelhantes em ambas as estirpes. No entanto, F@2,5CC2 evidenciou maior atividade inibitória contra *S.epidermidis*. Relativamente às bactérias Gram-negativas, não foi observada qualquer inibição do crescimento de *P.aeruginosa* por nenhum dos compostos. No caso da

*E.coli*, apenas o F@2,5ZnCl<sub>2</sub> apresentou alguma atividade inibitória, embora menos pronunciada do que nas Gram-positivas.

No caso dos F@0,25AgNO<sub>3</sub> e F@0,25CP3 ambos demonstraram atividade antibacteriana contra todas as estirpes testadas. Este amplo espectro de ação está em consonância com o que é amplamente reportado na literatura para compostos de prata, cuja eficácia se deve à capacidade de libertar íons Ag<sup>+</sup> que interagem com proteínas celulares, ácidos nucleicos e a membrana bacteriana.

De forma geral, o F@0,25CP3, apresentou melhores resultados, comparativamente ao F@0,25AgNO<sub>3</sub> sugerindo que a estrutura do polímero potencia a ação antimicrobiana da prata.

O melhor resultado de inibição foi observado em *S.epidermidis*, indicando uma particular eficácia de F@0,25CP3 contra esta estirpe. Este comportamento pode estar associado à estrutura da parede celular de *S.epidermidis*, que poderá permitir uma maior interação com os íons metálicos libertados pelo polímero. Os dados obtidos reforçam o potencial do polímero de coordenação de prata como agente antimicrobiano de largo espectro, com resultados promissores especialmente no combate a infeções causadas por bactérias Gram-positivas.

### 3.3.5. Ensaios citotóxicos

A avaliação citotóxica é fundamental para determinar a biocompatibilidade de novos materiais, especialmente os que apresentam potencial aplicação biomédica. Neste contexto, foram realizados ensaios *in vitro* com o objetivo de compreender os efeitos citotóxicos da matriz de PEG/PEGDA e dos filmes dopados com os complexos e polímeros de coordenação (CC1, CC2 e CP3), além dos respetivos sais de metais e do ligando isolado. Os resultados dos ensaios de citotoxicidade obtidos encontram-se representados na Figura 3.31.

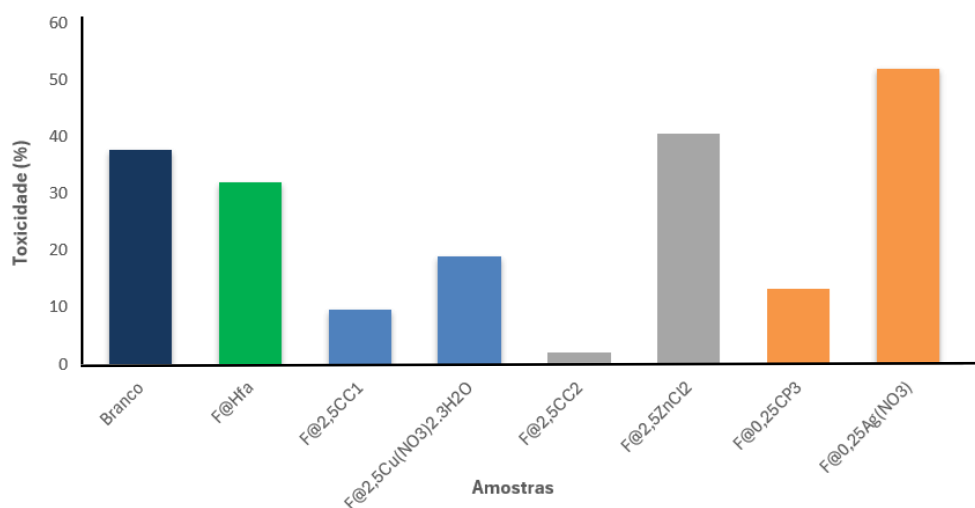


Figura 3.31 - Resultados obtidos nos ensaios citotóxicos.

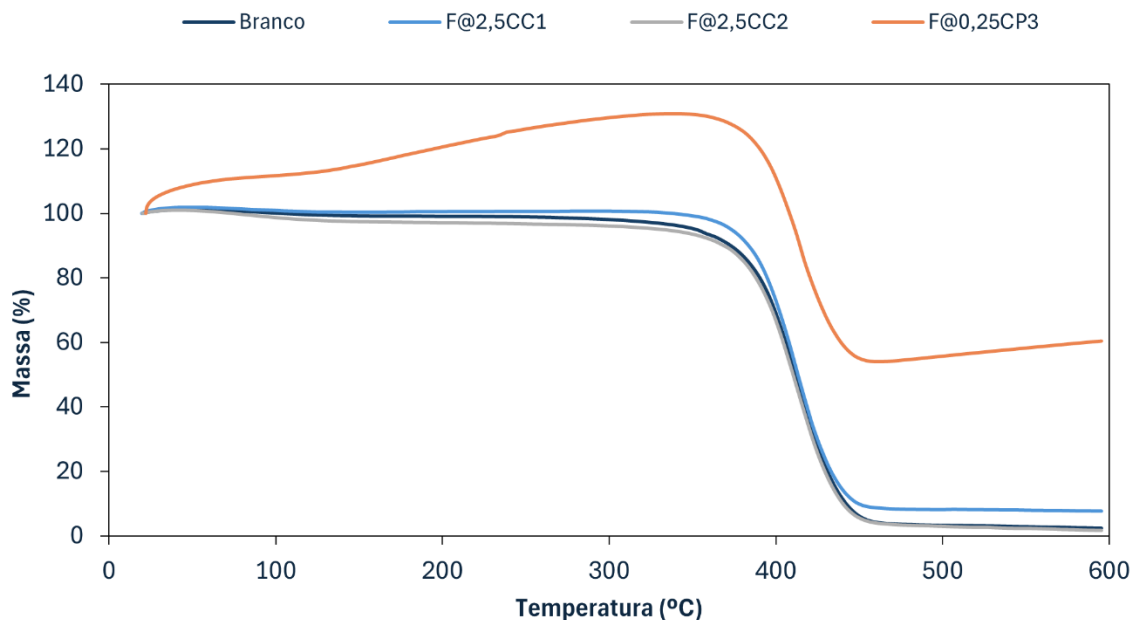
Através dos resultados obtidos podemos concluir que o controlo negativo (branco) apresenta uma toxicidade relativamente alta, de 38%, o que pode indicar problemas na preparação do mesmo, presença de possível contaminação durante o ensaio ou até sensibilidade das células ao meio ou às condições do ensaio. O ligando, por sua vez, também apresenta um valor ligeiramente elevado de toxicidade, de 32%, o que pode indicar que a sua presença pode contribuir para o aumento da toxicidade.

Relativamente a  $\text{Ag}(\text{NO}_3)$  e  $\text{ZnCl}_2$ , estes apresentaram valores elevados de citotoxicidade, de 52% e 41%, respetivamente. Isto pode dever-se à presença dos iões  $\text{Ag}^+$  e  $\text{Zn}^{2+}$  que por si são citotóxicos. Comparativamente, o  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  apresentou um valor de toxicidade moderada, de 20%, valor inferior aos restantes sais.

Os filmes dopados com os complexos e polímeros de coordenação sintetizados anteriormente reduziram a toxicidade dos respetivos iões metálicos. O  $\text{F}@2,5\text{CC1}$  e  $\text{F}@0,25\text{CP3}$  apresentaram uma toxicidade reduzida, de 10% e 13% respetivamente. No caso do  $\text{F}@2,5\text{CC2}$  o valor torna-se quase nulo, com 2% de toxicidade obtida. Desta forma, podemos concluir que a presença do ligando pode contribuir com alguma toxicidade, no entanto, não é um fator determinante. O  $\text{F}@2,5\text{CC2}$  é o mais biocompatível, comparativamente aos restantes. A ligação metal-ligando formada mostra ser uma opção promissora na redução da toxicidade dos iões metálicos livres selecionados, principalmente, na síntese do CP3.

### 3.3.6. Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada de forma a perceber a estabilidade térmica e o comportamento de decomposição da matriz polimérica de PEG/PEGDA 10/90 (%m/m) e dos filmes dopados com os complexos e polímeros de coordenação sintetizados (CC1, CC2 e CP3). Os termogramas obtidos permitiram comparar a influência da incorporação dos complexos e polímeros de coordenação no perfil da matriz. Os resultados obtidos encontram-se representados na Figura 3.32.



**Figura 3.32 - Espectro termogravimétrico obtido nos filmes dopados e matriz.**

Através dos resultados obtidos é possível concluir que F@PEG/PEGDA apresenta uma grande perda de massa a partir dos 350 °C até 450 °C, chegando a quase 0% de massa residual (2%), o que indica a degradação completa do polímero.

No caso dos F@2,5CC1 e F@2,5CC2 estes apresentam um comportamento semelhante entre eles, apresentando uma perda de massa dos 350 °C aos 400 °C. No entanto, F@2,5CC1 mostrou uma massa residual significativamente superior à matriz (8%), enquanto, o F@2,5CC2 apresentou uma massa semelhante à matriz de 2%. Estes resultados podem indicar que o complexo de coordenação de cobre está presente e deixa resíduos metálicos ou complexos mais estáveis após a decomposição, contrariamente ao complexo de coordenação de zinco.

Por outro lado, o F@0,25CP3 apresenta um comportamento anômalo em relação aos restantes, sugerindo um possível erro no eixo da massa, uma vez que, a linha de massa cresce em vez de decrescer. No entanto, é possível ver que o padrão de degradação ocorre numa faixa semelhante às amostras restantes, entre os 350 °C e os 450 °C. Desta forma, a massa final residual obtida foi superior, com 60%, indicando uma estabilidade maior por parte deste polímero de coordenação, considerando ainda, que este foi dopado em menor percentagem comparativamente com os restantes complexos de coordenação.

### 3.3.7. Análise SEM

A análise SEM foi realizada aos filmes dopados com CC1, CC2 e CP3, de forma a compreender a composição elementar das amostras, obtendo micrografias da análise morfológica superficial. As figuras obtidas por SEM para cada uma das amostras dopadas com CC1, CC2 e CP3, juntamente, com os respetivos espectros de dispersão de energia de raios X (EDS), encontram-se representados nas Figuras 3.33 a 3.38.

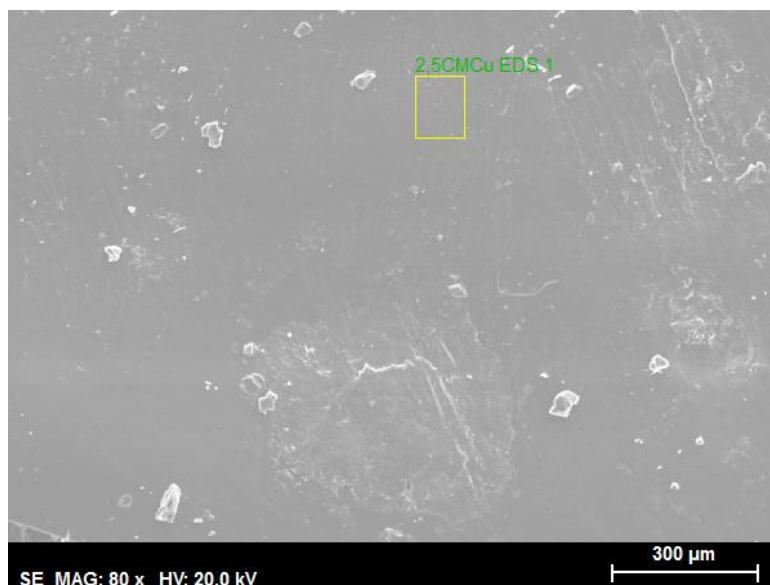


Figura 3.33 – Micrografia da análise morfológica superficial de F@2,5CC1.

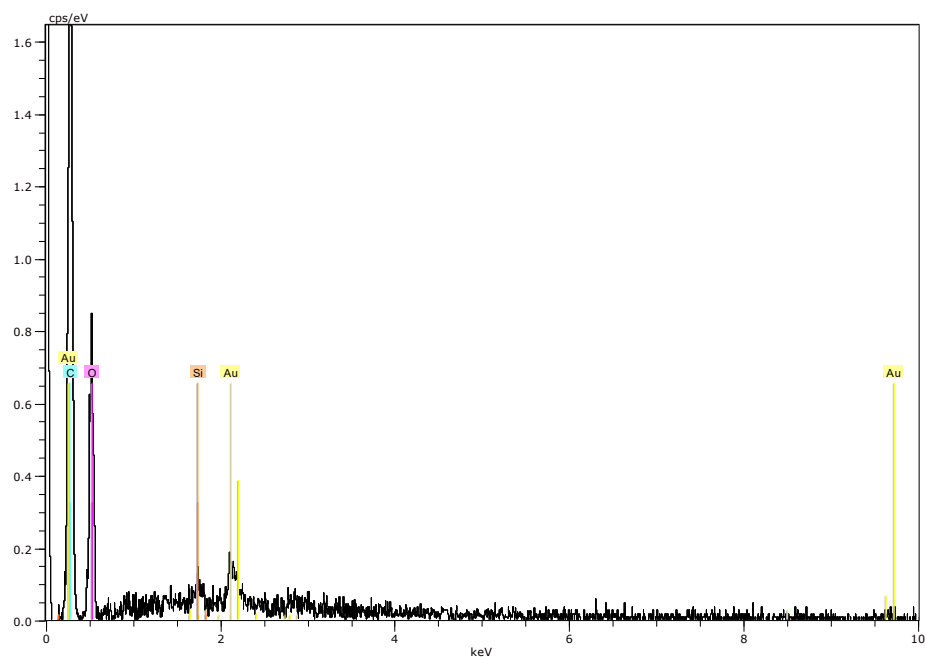


Figura 3.34 - Espectro EDS de F@2,5CC1.

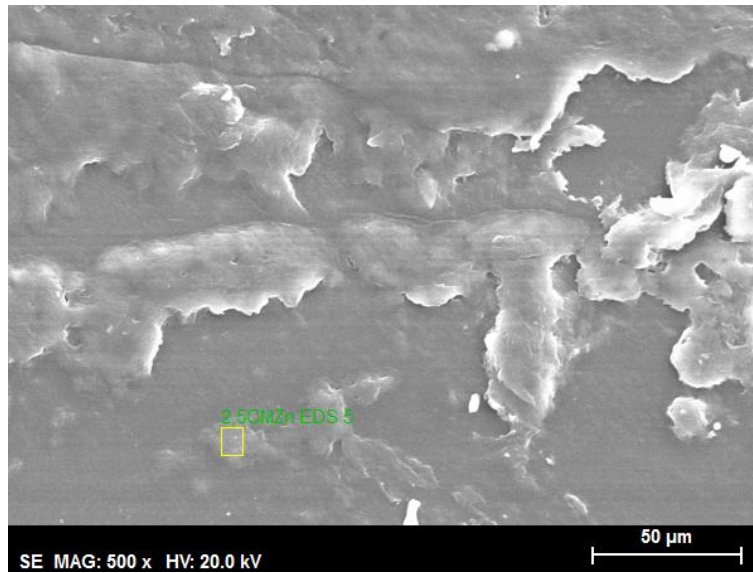


Figura 3.35 – Micrografia da análise morfológica superficial de F@2,5CC2.

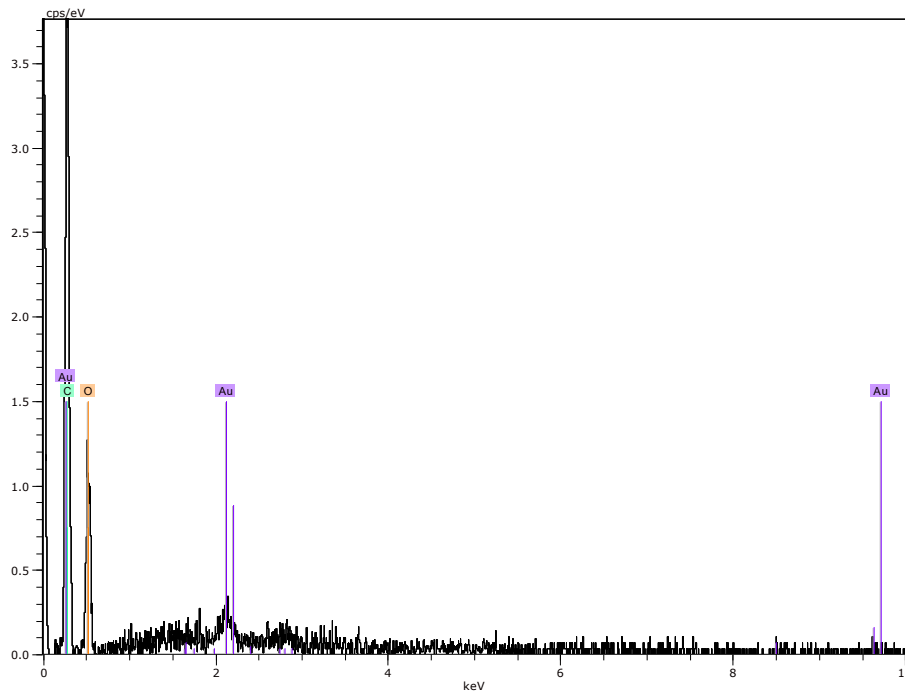


Figura 3.36 - Espectro EDS de F@2,5CC2.

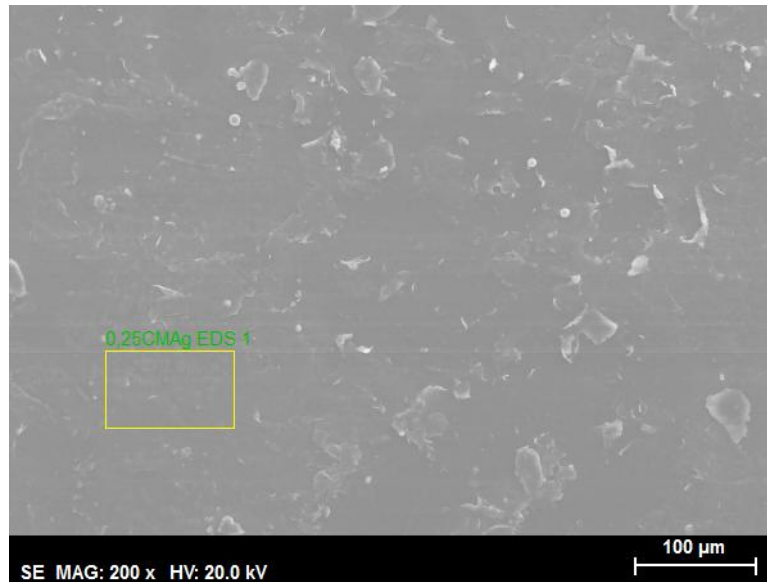


Figura 3.37 – Micrografia da análise morfológica superficial de F@0,25CP3.

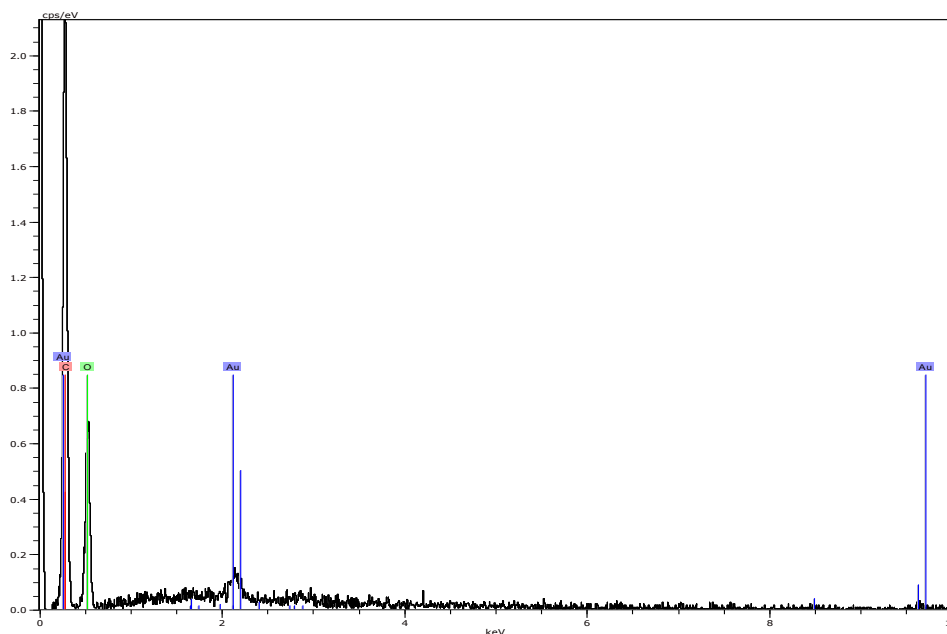


Figura 3.38 - Espectro EDS de F@0,25CP3.

A análise morfológica das amostras de filmes dopados com CC1, CC2 e CP3, através de microscopia eletrônica de varrimento, não revelou a presença visível de partículas metálicas na superfície das amostras. Esta ausência de sinal metálico pode indicar que os metais incorporados, maioritariamente, se alojaram no interior da amostra, visto que, esta técnica é de caracterização morfológica superficial.

De seguida, foi analisada uma secção de cada amostra, obtida através do corte das mesmas. Os resultados obtidos mostraram, novamente, a ausência de metais, no entanto,

não sendo esta amostra representativa, não podemos concluir que exista ausência total do metal na mesma. Desta forma, a ausência de metal nas imagens obtidas por SEM não indica a ausência total, mas sim a limitação da análise relativamente à profundidade de detecção e à representatividade da área observada.

A presença de ouro (Au) nos espectros EDS deve-se ao revestimento metálico aplicado durante a preparação das amostras, utilizado para melhorar a condutividade elétrica e a qualidade de imagem no decorrer da análise.

No entanto, a presença de sílica (Si) pode ser causada pela presença de contaminação, na obtenção ou preparação da amostra.

### 3.4. Peças 3D dopadas com sais dos metais precursores e com CP3

Assim como na produção de filmes dopados, os metais, complexos e polímeros de coordenação podem conferir às peças 3D propriedades adicionais. Desta forma, foram ainda realizados ensaios teste para peças 3D com os sais de metais utilizados anteriormente, com o objetivo de estudar se esta produção seria viável e estável. Nestes ensaios foram incorporados, primeiramente, os sais de metais numa concentração de 5% na matriz base e inseriu-se 10 mL desta mistura na impressora 3D formando peças com diferentes dimensões. As peças obtidas encontram-se representadas na Figura 3.39.

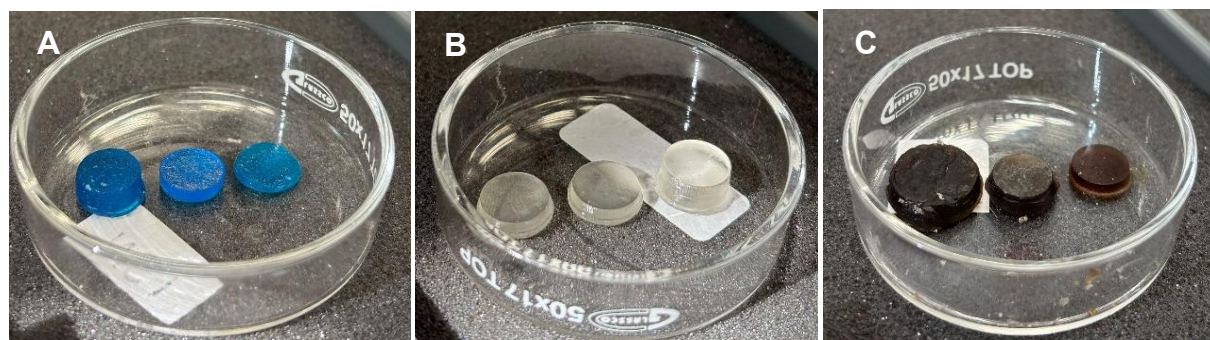


Figura 3.39 – Peças 3D dopadas com A)  $P@5Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ , B)  $P@5ZnCl_2$ , C)  $P@5Ag(NO_3)$ .

Visto que, os resultados obtidos foram positivos, produzindo-se peças estáveis à temperatura ambiente para os diferentes sais decidiu-se testar a formação de peças 3D com as percentagens finais determinadas anteriormente, nomeadamente, 0,25% e 2,5%. No entanto, como os resultados de atividade antimicrobiana demonstraram que a utilização destas percentagens para o CC1 e CC2 não seria promissora no combate às estirpes selecionadas, decidimos avançar apenas com a produção de peças 3D para o CP3. As peças obtidas encontram-se representadas na Figura 3.40.



**Figura 3.40 - P@0,25CP3**



## 4. Conclusões e trabalho futuro

### 4.2. Conclusões

O presente trabalho teve como objetivo a síntese de compostos e polímeros de coordenação, com centros de Cu(II), Zn(II) e Ag(I), potencialmente bioativos, aplicando-os numa matriz de PEG/PEGDA (10:90 m/m) biocompatível, para produzir novos materiais compósitos, em forma de filmes e peças 3D, com propriedades antimicrobianas.

Após a otimização das condições de síntese, os compostos produzidos foram isolados, com rendimentos de 46% (CC1), 45% (CC2) e 24% (CP3), e as suas estruturas foram propostas com base nos resultados obtidos pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia de FTIR e RMN, e métodos de cristalográficos, designadamente difração de raios X de cristal único e de pó.

Os dados obtidos permitiram definir a estrutura do CC1 e CP3 definidas pelas fórmulas  $[\text{Cu}_2(\mu_2\text{-fa})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\{[\text{Ag}_2(\text{fa})_2] \cdot [\text{Ag}(\text{NO}_3)]\}_n$ , respetivamente. Para o composto de Zn(II) os dados obtidos foram insuficientes para definir a sua estrutura molecular, no entanto, permitiram propor a fórmula  $[(\text{ZnO})_2(\text{fa})\text{HONH}_4] \cdot 1/5((\text{fa})(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3))$ . Os compostos foram testados relativamente à sua capacidade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas (*S. epidermidis* e *S. aureus*) e Gram-negativas (*P. aeruginosa* e *E. coli*).

De forma a testar o processo de cura por UV, essencial para a produção de peças 3D pelo método selecionado neste trabalho, foram produzidos diversos filmes, a partir da matriz PEG/PEGDA (10:90% m/m), incorporados com os sais dos metais precursores F@0,25Ag(NO<sub>3</sub>), F@2,5ZnCl<sub>2</sub> e F@2,5Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O. Foram ainda produzidos filmes dopados com os compostos sintetizados, os quais se designaram F@2,5CC1, F@2,5CC2 e F@0,25CP3. Para validação dos resultados foi também produzido o filme incorporado com o ligando de trabalho, F@Hfa.

Todos os materiais produzidos foram avaliados relativamente às suas propriedades físico-químicas, morfológicas e biológicas. Após a sua formação, num processo rápido (2 a 5 minutos) de fotopolimerização (365 nm), todos se revelaram filmes estruturados, de superfície homogênea, com rigidez suficiente e ligeira flexibilidade. O F@PEG/PEGDA revelou-se transparente e todos os outros, apesar de translúcidos, adquiriram a tonalidade dos metais incorporados, com maior ou menor intensidade em função das concentrações utilizadas. Os ensaios de absorção de água, revelaram que os materiais produzidos são altamente hidrofílicos, o que os torna adequados para a produção de hidrogéis ao serem hidratados.

Os resultados obtidos nos ensaios microbiológicos confirmaram a biocompatibilidade da mistura selecionada para base (F@PEG/PEGDA) e permitiram verificar que esta matriz permite a difusão dos compostos ativos incorporados.

Como esperado, foi possível verificar que os novos materiais produzidos apresentam potenciais antimicrobianos distintos, perante diferentes bactérias. Os materiais com os novos compostos de Cu(II) e Zn(II), F@2,5CC1 e F@2,5CC2, apresentaram, unicamente, uma ligeira inibição face às espécies Gram positivas, com o filme F@2,5CC2 a apresentar inibição face às duas estirpes estudadas, sugerindo que este último material poderá ser considerado, mais eficaz que o material F@2,5CC1.

Relativamente ao material F@0,25CP3, com o novo composto de Ag(I) sintetizado, este apresentou inibição relativamente a todas as estirpes de bactérias estudada, quer Gram positivas, quer Gram negativas. Este resultado demonstra, e confirma, o poder antimicrobiano dos iões  $Ag^+$  e justifica o contínuo investimento no desenvolvimento de novos materiais.

Relativamente à citotoxicidade destes novos materiais, os testes preliminares realizados com células L929 apontam para um elevado potencial destes materiais. Os resultados sugerem que os novos materiais F@2,5CC1, e F@0,25CP3 apresentam um valor muito ligeiro de citotoxicidade e o material F@2,5CC2 um valor nulo, sugerindo uma boa biocompatibilidade. O facto do material F@Hfa apresentar um valor elevado, sugere que a coordenação metal-ligando formada pode ser uma opção promissora na redução da toxicidade dos iões metálicos livres selecionados e do ligando sozinho. Este fato pode ser particularmente interessante para os materiais de Ag(I) a serem desenvolvidos, pois é este o ião metálico com maior citotoxicidade dos três estudados neste trabalho.

A produção de peças 3D, por fotopolimerização, revelou-se eficaz para os materiais produzidos com os sais precursores dos três metais em estudo, tendo sido possível propor as condições de impressão para a produção de peças circulares, com dois tamanhos de altura para os três materiais. Uma vez que os resultados mais promissores, relativamente aos ensaios biológicos, foram obtidos para o material utilizado para a produção do filme F@0,25CP3, essa foi a mistura utilizada para testar a produção de peças 3D.

Os resultados foram positivos e foi possível obter peças 3D, através de um processo de fotopolimerização, utilizando uma impressora 3D, verificando-se desta forma o potencial desta técnica para a produção de objetos com materiais com propriedades antimicrobianas.

### 4.3. Trabalho futuro

Como perspectivas futuras, sugere-se a utilização de outro ligando para a síntese dos complexos e polímeros de coordenação, como por exemplo o ácido 2,5-difuróico onde a ponte formada seria de ácido-prata. Este ligando poderia levar à formação de polímeros de geometria 3D, proporcionando, possivelmente, uma melhor libertação dos compostos da matriz polimérica.

Sugere-se ainda o estudo de outro tipo de matriz base para os filmes produzidos, ou a alteração das proporções utilizadas, visto que, os resultados obtidos para a mesma, não apresentam estabilidade a nível fisiológico a longo prazo.

Outra sugestão para trabalho futuro será aumentar o espectro de estirpes de bactérias estudadas, verificando assim se os filmes produzidos apresentam atividade antimicrobiana com outras estirpes, permitindo direcionar estes materiais para outras aplicações.



## 5. Referências bibliográficas

1. Lobanovska, M., & Pilla, G. (2017). Penicillin's discovery and antibiotic resistance: Lessons for the future? *Yale Journal of Biology and Medicine*, 90(1).
2. Aldridge, S., Parascandola, J., & Sturchio, J. L. (1999). The Discovery and Development of Penicillin 1928-1945. In *American Chemical Society and Royal Society of Chemistry*.
3. Coates, A. R., Halls, G., & Hu, Y. (2011). Novel classes of antibiotics or more of the same? In *British Journal of Pharmacology* (Vol. 163, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01250.x>
4. Adzitey, F. (2015). Antibiotic Classes and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Selected Poultry; A Mini Review. *World s Veterinary Journal*, 6(1). <https://doi.org/10.5455/wvj.20150853>
5. Lawani-Luwaji, E. (2024). The Antibiotic Era: A Golden Age and Its Challenges. *British Journal of Multidisciplinary and Advanced Studies*, 5(2), 57–68. <https://doi.org/10.37745/bjmas.2022.0474>
6. Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. In *Pathogens* (Vol. 10, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
7. Shree, P., Singh, C. K., Sodhi, K. K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023). Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. In *Medicine in Microecology* (Vol. 16). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>
8. Mattila-Sandholm, T., & Wirtanen, G. (1992). Biofilm Formation in the Industry: A review. In *Food Reviews International* (Vol. 8, Issue 4). <https://doi.org/10.1080/87559129209540953>
9. Talon, D. (1999). The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. In *Journal of Hospital Infection* (Vol. 43, Issue 1). <https://doi.org/10.1053/jhin.1999.0613>
10. Gootz, T. D. (1990). Discovery and development of new antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(1). <https://doi.org/10.1128/CMR.3.1.13>
11. Kumar Singh, V., Kumar Singh, V., Mishra, A., Varsha, Abha Singh, A., Prasad, G., & Kumar Singh, A. (2023). Recent advancements in coordination compounds and their potential clinical application in the management of diseases: An up-to-date review. In *Polyhedron* (Vol. 241). <https://doi.org/10.1016/j.poly.2023.116485>
12. Gasser, G. (2015). Metal complexes and medicine: A successful combination. In *Chimia* (Vol. 69, Issues 7–8). <https://doi.org/10.2533/chimia.2015.442>
13. Frei, A. (2020). Metal complexes, an untapped source of antibiotic potential? *Antibiotics*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020090>
14. Frei, A., Verderosa, A. D., Elliott, A. G., Zuegg, J., & Blaskovich, M. A. T. (2023). Metals to combat antimicrobial resistance. In *Nature Reviews Chemistry* (Vol. 7, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/s41570-023-00463-4>
15. Wang, Y., Li, H., & Sun, H. (2019). Metalloproteomics for Unveiling the Mechanism of Action of Metallodrugs. In *Inorganic Chemistry* (Vol. 58, Issue 20). <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b01199>

16. Engel, E. R., Engel, E. R., & Scott, J. L. (2020). Advances in the green chemistry of coordination polymer materials. In *Green Chemistry* (Vol. 22, Issue 12). <https://doi.org/10.1039/d0gc01074j>
17. Omidian, H., Wilson, R. L., & Babanejad, N. (2023). Bioinspired Polymers: Transformative Applications in Biomedicine and Regenerative Medicine. In *Life* (Vol. 13, Issue 8). <https://doi.org/10.3390/life13081673>
18. Sunday, N. F. (2018). Emerging Trends in Coordination Polymers and Metal-Organic Frameworks: Perspectives, Synthesis, Properties and Applications. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*, 1(2). <https://doi.org/10.32474/aoics.2018.01.000106>
19. Cheng, F. J., Wang, K. M., Lee, C. Y., Wang, S. W., Thapa, K. B., Govindaraj, M., & Chen, J. der. (2024). Influence of Metal Ions on the Structural Complexity of Mixed-Ligand Divalent Coordination Polymers. *Chemistry (Switzerland)*, 6(5), 1020–1038. <https://doi.org/10.3390/chemistry6050059>
20. Sun, Y., Ma, J., Ahmad, F., Xiao, Y., Guan, J., Shu, T., & Zhang, X. (2024). Bimetallic Coordination Polymers: Synthesis and Applications in Biosensing and Biomedicine. In *Biosensors* (Vol. 14, Issue 3). <https://doi.org/10.3390/bios14030117>
21. Dzhardimalieva, G. I., & Uflyand, I. E. (2017). Design and synthesis of coordination polymers with chelated units and their application in nanomaterials science. In *RSC Advances* (Vol. 7, Issue 67). <https://doi.org/10.1039/c7ra05302a>
22. Lin, Z., Richardson, J. J., Zhou, J., & Caruso, F. (2023). Direct synthesis of amorphous coordination polymers and metal–organic frameworks. In *Nature Reviews Chemistry* (Vol. 7, Issue 4). <https://doi.org/10.1038/s41570-023-00474-1>
23. Kang, Jeong Hyun, et al. "Antimicrobial Effectiveness of Cetylpyridinium Chloride and Zinc Chloride-Containing Mouthrinses on Bacteria of Halitosis and Peri-Implant Disease." *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, vol. 30, no. 6, 2015, pp. 1341–1347, [pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26478974/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26478974/), <https://doi.org/10.11607/jomi.3824>.
24. Evans, Andris, and Kevin A. Kavanagh. "Evaluation of Metal-Based Antimicrobial Compounds for the Treatment of Bacterial Pathogens." *Journal of Medical Microbiology*, vol. 70, no. 5, 7 May 2021, <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001363>.
25. Rai, M. K., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012). Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 112, Issue 5). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x>
26. Munawar, A., Abubakar, M., Altaf, M., & Ashraf, R. S. (2022). Scientific Investigation into Silver(I) Coordination Complexes and Their Antibacterial Studies with Asima Munawar. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4073646>
27. Yimeng, S., Huilun, X., Ziming, L., Kejun, L., Chaima, M., Xiangyu, Z., Yinchun, H., Yan, W., & Di, H. (2023). Copper-Based Nanoparticles as Antibacterial Agents. In *European Journal of Inorganic Chemistry* (Vol. 26, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/ejic.202200614>
28. Febré, Naldy, et al. "Comportamiento Antibacteriano de Partículas de Cobre Frente a Microorganismos Obtenidos de Úlceras Crónicas Infetadas Y Su Relación Con La Resistencia a Antimicrobianos de Uso Común." *Revista Médica de Chile*, vol. 144, no. 12, Dec. 2016, pp. 1523–1530, [europepmc.org/abstract/MED/28393986](https://europepmc.org/abstract/MED/28393986), <https://doi.org/10.4067/s0034-98872016001200003>.

29. Yang, Y., Zhang, C., Zhang, C., Shi, Y., Li, J., Johannessen, B., Liang, Y., Zhang, S., Song, Q., Zhang, H., Huang, J., Ke, J., Zhang, L., Song, Q., Zeng, J., Zhang, Y., Geng, Z., Wang, P. S., Wang, Z., ... Li, F. (2024). Ligand-tuning copper in coordination polymers for efficient electrochemical C–C coupling. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50791-2>
30. Wang, Z., Zhao, L., Jing, H., Song, G., & Li, J. (2024). Synthesis, Structure and Antibacterial Activity of Two Novel Coordination Polymers Based on N,N'-bis(4-carbozvlbenzvl)-4-aminotoluene and Heterocyclic Ligand against *S. aureus*. *Molecules*, 29(9). <https://doi.org/10.3390/molecules29091990>
31. Zhang, W., Ye, G., Liao, D., Chen, X., Lu, C., Nezamzadeh-Ejhieh, A., Khan, M. S., Liu, J., Pan, Y., & Dai, Z. (2022). Recent Advances of Silver-Based Coordination Polymers on Antibacterial Applications. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217166>
32. Sánchez-Serratos, M., Álvarez, J. R., González-Zamora, E., & Ibarra, I. A. (2016). Porous coordination polymers (Pcps): New platforms for gas storage. In *Journal of the Mexican Chemical Society* (Vol. 60, Issue 2). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v60i2.72>
33. Kuznetsova, A., Matveevskaya, V., Pavlov, D., Yakunenkov, A., & Potapov, A. (2020). Coordination polymers based on highly emissive ligands: Synthesis and functional properties. *Materials*, 13(12), 1–67. <https://doi.org/10.3390/ma13122699>
34. Ejarque, D., Sánchez-Férez, F., Félez-Guerrero, N., Calvet, T., Font-Bardia, M., & Pons, J. (2023). Pyridine-driven assembly of Zn(ii) and Cd(ii) complexes with 2-furoic acid. The role of water in a structural transformation. *CrystEngComm*, 25(18), 2739–2754. <https://doi.org/10.1039/d3ce00104k>
35. Zahirović, A., Hadžalić, S., Višnjevac, A., Fočak, M., Tüzün, B., Žilić, D., Roca, S., Jurec, J., Topčagić, A., & Osmanković, I. (2023). Vanadium(IV) complexes of salicylaldehyde-based furoic acid hydrazones: Synthesis, BSA binding and in vivo antidiabetic potential. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 244. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112232>
36. Aboudzadeh, M. A., & Hamzehlou, S. (n.d.). *Multifunctional Hybrid Materials Based on Polymers Design and Performance*. [www.mdpi.com/journal/processes](http://www.mdpi.com/journal/processes)
37. GROWING USE OF POLYMERS AS BIOMATERIALS. (2023). *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science*. <https://doi.org/10.56726/irjmets39253>
38. Samir, A., Ashour, F. H., Hakim, A. A. A., & Bassyouni, M. (2022). Recent advances in biodegradable polymers for sustainable applications. In *npj Materials Degradation* (Vol. 6, Issue 1). <https://doi.org/10.1038/s41529-022-00277-7>
39. Satchanska, G., Davidova, S., & Petrov, P. D. (2024). Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications. In *Polymers* (Vol. 16, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/polym16081159>
40. Chifiriuc, M., Grumezescu, A., Grumezescu, V., Bezirtzoglou, E., Lazar, V., & Bolocan, A. (2014). Biomedical Applications of Natural Polymers for Drug Delivery. *Current Organic Chemistry*, 18(2). <https://doi.org/10.2174/138527281802140129104525>
41. Padín-González, E., Lancaster, P., Bottini, M., Gasco, P., Tran, L., Fadeel, B., Wilkins, T., & Monopoli, M. P. (2022). Understanding the Role and Impact of Poly (Ethylene Glycol) (PEG) on Nanoparticle Formulation: Implications for COVID-19 Vaccines. In

*Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.882363>

42. Kong, X. bin, Tang, Q. Y., Chen, X. Y., Tu, Y., Sun, S. Z., & Sun, Z. L. (2017). Polyethylene glycol as a promising synthetic material for repair of spinal cord injury. In *Neural Regeneration Research* (Vol. 12, Issue 6, pp. 1003–1008). Wolters Kluwer Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.208597>
43. Myat, Y. Y., Ngawhirunpat, T., Rojanarata, T., Opanasopit, P., Bradley, M., Patrojanasophon, P., & Pornpitchanarong, C. (2022). Synthesis of Polyethylene Glycol Diacrylate/Acrylic Acid Nanoparticles as Nanocarriers for the Controlled Delivery of Doxorubicin to Colorectal Cancer Cells. *Pharmaceutics*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030479>
44. Gonella, S., Domingues, M. F., Miguel, F., Moura, C. S., Rodrigues, C. A. V., Ferreira, F. C., & Silva, J. C. (2024). Fabrication and Characterization of Porous PEGDA Hydrogels for Articular Cartilage Regeneration. *Gels*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/gels10070422>
45. Chen, B., Huang, L., Ma, R., & Luo, Y. (2023). 3D printed hollow channeled hydrogel scaffolds with antibacterial and wound healing activities. *Biomedical Materials (Bristol)*, 18(4). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/acd977>
46. Chaudhary, V., Thakur, N., Kajla, P., Thakur, S., & Punia, S. (2021). Application of Encapsulation Technology in Edible Films: Carrier of Bioactive Compounds. In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.734921>
47. Olar, R., Badea, M., & Chifiriuc, M. C. (2022). Metal Complexes—A Promising Approach to Target Biofilm Associated Infections. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27030758>
48. Van Hullebusch, E. D., Zandvoort, M. H., & Lens, P. N. L. (2003). Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 2, Issue 1, pp. 9–33). <https://doi.org/10.1023/B:RESB.0000022995.48330.55>
49. Gugala, N., Lemire, J. A., & Turner, R. J. (2017). The efficacy of different anti-microbial metals at preventing the formation of, and eradicating bacterial biofilms of pathogenic indicator strains. *Journal of Antibiotics*, 70(6), 775–780. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.10>
50. Haque, M. M., Mosharaf, M. K., Haque, M. A., Tanvir, M. Z. H., & Alam, M. K. (2021). Biofilm Formation, Production of Matrix Compounds and Biosorption of Copper, Nickel and Lead by Different Bacterial Strains. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.615113>
51. Subramani, R., Mustafa, M. A., Ghadir, G. K., Al-Tmimi, H. M., Alani, Z. K., Rusho, M. A., Rajeswari, N., Haridas, D., Rajan, A. J., & Kumar, A. P. (2024). Advancements in 3D printing materials: A comparative analysis of performance and applications. *Applied Chemical Engineering*, 7(2). <https://doi.org/10.59429/ace.v7i2.3867>
52. Parupelli, S. K., & Desai, S. (2019). A Comprehensive Review of Additive Manufacturing (3D Printing): Processes, Applications and Future Potential. *American Journal of Applied Sciences*, 16(8), 244–272. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2019.244.272>
53. Prabhakar, M. M., Saravanan, A. K., Lenin, A. H., Leno, I. J., Mayandi, K., & Ramalingam, P. S. (2020). A short review on 3D printing methods, process parameters

and materials. *Materials Today: Proceedings*, 45, 6108–6114.  
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.225>

54. Srinivasan, D., Meignanamoorthy, M., Ravichandran, M., Mohanavel, V., Alagarsamy, S. v., Chanakyan, C., Sakthivelu, S., Karthick, A., Prabhu, T. R., & Rajkumar, S. (2021). 3D Printing Manufacturing Techniques, Materials, and Applications: An Overview. In *Advances in Materials Science and Engineering* (Vol. 2021).  
<https://doi.org/10.1155/2021/5756563>
55. J.Svorec, P.Polakovicova, Jan Moncol, V.Kuchtanin, M.Breza, S.Soralova, Z.Padelkova, J.Mrozinski, Tadeusz Lis, P.Segla, *Polyhedron* (2014), 81, 216, doi:10.1016/j.poly.2014.05.071
56. F.Charbonnier, M.Petit-Ramel, R.Faure, H.Loiseleur, *Rev.Chim.Miner.* (1984), 21, 601
57. M.V.Marinho, L.F.Marques, D.S.Maia, N.L.Speziali, M.I.Yoshida, Jan Janczak, M.Horner, C.C.Correa, R.Diniz, F.C.Machado, *Z.Anorg.Allg.Chem.* (2015), 641, 2333, doi:10.1002/zaac.201500244