



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA**

**DENDRISSOMAS MAGNÉTICOS COM
PROPRIEDADES TERANÓSTICAS**

Vinícius Fortes de Castro

Itajubá, Dezembro de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

TESE DE DOUTORADO

DENDRISSOMAS MAGNÉTICOS COM
PROPRIEDADES TERANÓSTICAS

Vinícius Fortes de Castro

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia como requisito à obtenção do título de ***Doutor em Materiais para Engenharia.***

Orientador: **Prof Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz**

Co – orientador: **Prof Dr. Carlos Roberto Rocha**

Curso: **Materiais para Engenharia**

Área de Concentração: **Não-Metals**

Itajubá, Dezembro de 2016

M.G. – Brasil

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – APLICAÇÕES DA NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA NO TRATAMENTO E DIAGNÓSTICO DO CÂNCER	29
1.1. Introdução	29
1.2. A necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento do câncer no Brasil	35
1.3. A utilização de nanopartículas magnéticas no tratamento do câncer	40
CAPÍTULO 2 – O EFEITO DA DISSIPAÇÃO DE CALOR NOS TECIDOS TUMORAIS	43
2.1. Introdução	43
2.2. Avanços no desenvolvimento de materiais para aplicações em magnetohipertermia: nanopartículas magnéticas e superparamagnéticas	48
2.3. O fenômeno do Superparamagnetismo	56
2.4. O superparamagnetismo e a Função de Langevin	63
2.5. O Modelo Stoner-Wohlfarth	64
2.6. Os efeitos de superfície no magnetismo dos materiais	71
2.7. O fenômeno de interação entre partículas magnéticas	73
2.8. Os mecanismos da histerese magnética e a dissipação de calor	77
2.9. Mediadores magnéticos baseados em ferritas: estrutura das ferritas, composição.	92
2.10. Propriedades magnéticas extrínsecas das ferritas	93
2.11. Propriedades magnéticas intrínsecas de ferritas	97

CAPÍTULO 3 – TÉCNICAS DE REVESTIMENTO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA A BIOCAMPATIBILIDADE	106
3.1. Introdução	106
3.2. Encapsulamento por micelas reversas	107
3.3. Revestimento da Superfície por Proteína	111
3.4. Dendrímeros	113
3.5. Síntese Dendrimérica	116
3.6. Dendrímeros como sistemas transportadores de materiais magnéticos	117
CAPÍTULO 4 – GENESIS DA TESE E SEUS OBJETIVOS	121
4.1. Introdução	121
4.2. Objetivos Gerais	132
4.2.1. Objetivos Específicos	133
CAPÍTULO 5 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL	134
5.1. Síntese dos precursores acetilacetatos metálicos	134
5.2. Síntese do poliglicerol de estrutura arborescente (PGA)	136
5.3. Síntese das nanopartículas metálicas de YFeAl dispersas em PGA em uma única etapa	139
5.4. Funcionalização do sistema PGA_{g4} -YFeAl com o fluorofóro cianina Cy5	140
5.5. Incorporação do CXB na estrutura PGA_{g4} -YFeAl	141
5.6. Obtenção do dendrissoma magnético (MDS)	142
5.7. Técnicas de Caracterização	143
5.7.1. Difractometria de raios X (DRX)	143
5.7.2. Espectroscopia de Fluorescência de raios X (XRF)	143

5.7.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	143
5.7.4. Espectroscopia Mössbauer	144
5.7.5. Caracterização da magnetização do DDM	144
5.7.6. Microscopia ótica de fluorescência	145
5.7.7. Avaliação da hipertermia magnética dos DDM	145
5.7.7.1. Sistema de geração de campo magnético na bobina	145
5.7.7.2. Tratamento Térmico	146
5.7.7.3. Nanoesferas e o Campo Magnético Oscilante	149
CAPÍTULO 6 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	156
6.1. Síntese e caracterização <i>in-situ</i> de YFeAl em PGA	156
6.2. Caracterização físico-química do híbrido PGA-YFeAl	174
6.3. Produção de dendrissomas magnéticos e caracterização biológica <i>in-vitro</i>	198
CAPÍTULO 7 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	206
7.1. Conclusões	206
7.2. Perspectivas Futuras	209
CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	211

A Deus: pela vida, pelo amor e pela presença...

*Aos meus pais (Dalva e Benedito), pessoas a quem dedico toda
minha gratidão, respeito e amor.*

*E ao meu filho Davi que está por vir, a quem lhe dei a vida e em
troca ele devolveu a minha.*

AGRADECIMENTOS

Todas as pessoas que passam em nossas vidas nos deixam muito mais do que lembranças e significados, deixam conhecimentos que transpassam qualquer teoria e por isso somos gratos mesmo na ausência de palavras certas para expressar nossos agradecimentos...

Alvaro Antonio Alencar de Queiroz – incansável na luta pela ciência.

Agenor Pina da Silva – pela amizade.

André Silva Chaves – pelo companheirismo de um irmão.

João Batista Viana – pelo exemplo de professoralidade.

Maria Elena Leyva González – pelos sorrisos amigos.

Tamires Aparecida Fortes de Castro – obrigado por existir.

Talice Conceição Fortes de Castro – pelos laços de irmandade.

João Pedro de Castro Rodrigues – ‘Meu Pequeno’ grande Homem.

Laryssa Ribeiro Fortes de Castro – meu grande Amor.

ESPÍRITOS GRANDIOSOS...

Há alguns anos, nas Olimpíadas especiais de Seattle, nove participantes, todos com deficiência mental, alinharam-se para a largada da corrida dos 100 metros rasos. Ao sinal, todos partiram não exatamente em disparada, mas com vontade de dar o melhor de si, terminar a corrida e ganhar. Um dos garotos tropeçou no asfalto, caiu e começou a chorar. Os outros oito ouviram o choro, diminuíram o passo e olharam para trás. Então viraram e voltaram. Todos eles. Uma das meninas com Síndrome de Down ajoelhou, deu um beijo no garoto e disse:

- Pronto, agora vai sarar!

E todos os nove competidores deram os braços e andaram juntos até a linha de chegada. O estádio inteiro levantou e os aplausos duraram muitos minutos...Talvez os atletas fossem deficientes mentais...Mas com certeza, não eram deficientes espirituais...

"Isso porque, lá no fundo, todos nós sabemos, que o que importa nesta vida, mais do que ganhar sozinho é ajudar os outros a vencer, mesmo que isso signifique diminuir nossos passos...".

Albert Einstein

Ao meu "espírito grandioso", TERESA MARIA DE CASTRO.

"A doença impossível precisa de uma cura impossível."

Akrit Jaswal

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A/m	Ampère por metro
A/m ²	Ampère por metro quadrado
Al	Alumínio
AAS	Ácido Acetil Salicílico
APTES	Aminopropiltriétoxissilano
Cy-5	Fluoróforo
CH	Colesterol
CXB	Celecoxibe
C	Carbono
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Tecnológicas
CMO	Campo Magnético Oscilante
CHO	Chinese Hamster Ovary Cells
Cu	Cobre
C/m	Coulomb por metro
C	Coulomb
Co	Cobalto
DataSUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
D _{crit}	Diâmetro Crítico
D	Diâmetro
<i>D</i>	Energia Dipolar
DNA	Ácido Desoxirribonucleico

DMF	Dimetilformamida
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DCC	N,N-Diciclo-hexilcarbodiimida
DMAP	Dimethylaminopyridine
DOPE	1,2-Dioleoil-sn-Glicero-3-Fosfoetanolamina
DOTAP	1,2-Dioleoil-3-Trimetilamônio-Propano
DDM	Dendrímeros
DTG	Termogravimetria Derivada
DSPC	Fosfatidilcolina de Diasteroíla
eV	Elétron-Volt
EPC	Fosfatidilcolina de Ovo
EUA	Estados Unidos da América
Fe	Ferro
F/m	Faraday por metro
FTIR	Espectroscopia do Infravermelho
GMNC	Nanocapturador Genomagnético
HPV	Papilomavírus humano
H	Campo Magnético Aplicado
HRTEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução
Hc	Campo Coercivo
Hz	Hertz
HSA	Albumina
HFB	Fibrinogênio

G0-G4	Gerações de 0-4
IR	Infravermelho
ILP	Perda de Energia Intrínseca
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IARC	International Agency for Research on Cancer
K	Kelvin
kT	Energia Térmica
K	Constante de Anisotropia Efetiva
Log	Logaritmo
MTS	3-(4,5-dimetiltiazol-2-y)5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil-2H tetrazolio
MFRX	Microanálise por Fluorescência de Raios X
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
mL	Mililitro
MDS	Magnetodendrissomas
MG3	Osteosarcoma Humano
mg	Miligrama
mm/s	Milímetro por segundo
Mg	Magnésio
Mn	Manganês

M(r)	Magnetização local
MPOG	Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão
NSF	Fundação Nacional da Ciência dos Estados Unidos
NPM	Nanopartículas Magnéticas
Ni	Níquel
nm	Nanometro
N	Nitrogênio
NA	Abertura Numérica
<i>n</i>	Número Quântico Vibracional
OHS	Movimento Harmônico Simples
OH	Grupo Hidroxila
O	Oxigênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Vetor Polarização
Pd	Potência dissipada por Efeito Joule
PMPI	Isocianato de p-Maleimidafenil
pH	Potencial Hidrogeniônico
PG	Sítios Protegidos
PGLD	Polímero de Poliglicerol
PEG	Polietilenoglicol
RDH	Relatório do Desenvolvimento Humano
RMM	Massa Molar Relativa
RNA	Ácido Ribonucleico

RCBP	Registros de Câncer de Base Populacional
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
S	Vetor de Poynting
SUS	Sistema Único de Saúde
SAR	Specific Absorption Rate
SQUID	Equipamento de Interferência de Supercondutores Quânticos
TGA	Análise Termogravimétrica
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
T	Tesla
TT	Terapias Térmicas
Tc	Temperatura de Curie
UF	Unidade de Federação
UHWPE	Polietileno de Massa Molar Elevada
UV	Raios Ultravioleta
VSM	Magnetometria de Amostras Vibrante
W	Energia Eletromagnética
XRF	Espectroscopia de Fluorescência de raios X
XRD	Difração de Raios-X
χ	Susceptibilidade Magnética
YFeAl	Ítria-Ferro-Alumínio
Zn	Zinco

ÍNDICE DE SÍMBOLOS (COLOCAR EM ORDEM ALFABÉTICA)

Al – ALUMÍNIO	
A° - ANGSTRON	-
θ – ÂNGULO DE DIFRAÇÃO	[rad]
A – AMPLITUDE	[m]
B – BORO	
\vec{E} – CAMPO ELÉTRICO	[V/m]
Q – CARGA ENVOLTA	[C]
\vec{H} – CAMPO MAGNÉTICO	[T]
κ - CONSTANTE DIELETRICA	-
l – COMPRIMENTO	[m]
Hc – CAMPO COERCIVO	[T]
h – CONSTANTE DE PLANCK	6,626069311x10 ⁻³⁴ [J.s]
λ – COMPRIMENTO DE ONDA DO FEIXE	[m]
ρ – DENSIDADE VOLUMÉTRICA DE CARGA	[C/m ³]
\vec{J} – DENSIDADE DE CORRENTE	[A.m ⁻²]
dV – DENSIDADE INFINITESIMAL DE VOLUME	-
dS – DENSIDADE INFINITESIMAL DE SUPERFÍCIE	-
dA – DENSIDADE INFINITESIMAL DE CORRENTE	-
$\vec{\nabla} \cdot$ - DIVERGENTE	-
∂ - DERIVADA PARCIAL	-
E – ENERGIA	[J]

Fe – FERRO		
Φ – FLUXO DO CAMPO VETORIAL		-
\vec{F} – FORÇA COULOMBIANA		[N]
G – FUNÇÃO DA GEOMETRIA DAS BOBINAS DE DETECÇÃO		-
n – ÍNDICE DE REFRAÇÃO		-
\vec{B} – INTENSIDADE DO CAMPO MAGNÉTICO		[T.m ²]
Y – ÍTRIO		-
\int_a^b - INTEGRAL DEFINIDA DE a até b		-
lim – LIMITE		-
Li – LÍTIO		-
$m_1; m_2$ – MASSAS		[Kg]
M_r – MAGNETIZAÇÃO REVERSA		[H/m]
μ – MOMENTO DE DIPOLO MAGNÉTICO		[A/m ²]
\vec{M} – MAGNETIZAÇÃO		[H/m]
m' – ORDEM DE DIFRAÇÃO		-
ϵ_0 – PERMISSIVIDADE DO VÁCUO	8,8541878176x10 ⁻¹²	[F/m]
μ_0 – PERMEABILIDADE MAGNÉTICA DO VÁCUO	$4\pi \times 10^{-7}$	[N·A ⁻²]
m – PÓLO MAGNÉTICO		-
r – RAIO DA ESFERA		[m]
$\vec{\nabla} \times$ - ROTACIONAL		-
Σ – SOMATÓRIO		-
χ – SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA		[emu/g]

χ_{cw} – SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA DE CURIE-WEISS	[emu/g]
δ – SOLUBILIDADE DE HILDEBRAND	[J/m ³]
T – TEMPERATURA DE MAGNETIZAÇÃO ESPONTÂNEA	[°C]
t – TEMPO	[s]
Wb – TRABALHO	[J]
\vec{D} – VETOR DESLOCAMENTO	-
v – VELOCIDADE	[m/s]
c – VELOCIDADE DA LUZ NO VÁCUO	2,99792458x10 ⁸ [m/s]
\vec{S} – VETOR DE POYNTING	[W/m ²]
\vec{P} – VETOR POLARIZAÇÃO	[C/m ²]

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Efeitos térmicos em tecidos biológicos vivos	45
Tabela 2 – Diâmetro de nanopartículas e tempos de relaxação a temperatura ambiente. Note a enorme variação de τ para uma mudança de menos de 50% do diâmetro	57
Tabela 3 – Temperatura $T^* = T_a - T$ que caracteriza a intensidade da interação entre grãos no sistema $\text{Co}_{90}\text{Cu}_{10}$, e raio equivalente dos grãos. T_a é a temperatura aparente	76
Tabela 4: Equações de Maxwell na forma diferencial e integral	82
Tabela 5 - Constantes de interação de troca entre as redes da estrutura do espinélio, juntamente com o ângulo de ligação	101
Tabela 6 - Valores dos raios médios dos sítios A e B (r_{tet} e r_{oct} , respectivamente), para diferentes ferritas, além dos raios médios dos íons bivalente e trivalente (r_{bi} e r_{tri}) das respectivas ferritas	103
Tabela 7 – Ocupação dos cátions metálicos nos sítios tetraédricos e octaédricos para diferentes ferritas, assim como os valores do momento magnético por molécula e os respectivos valores de magnetização de saturação	104
Tabela 8 – Valores de primeira ordem da densidade volumétrica de energia de anisotropia (K_1) para diferentes ferritas	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Estudos clínicos com nanopartículas em andamento ao redor do mundo de acordo com as aplicações.	33
Figura 2- Estudos clínicos com nanopartículas atualmente em andamento para o tratamento de diferentes tipos de câncer.	34
Figura 3- Estudos clínicos com lipossomas em andamento no Brasil	35
Figura 4: Diagrama descrevendo as faixas em que se aplicam as terapias térmicas	44
Figura 5: Escala nanométrica de sistemas biológicos naturais e das nanoesferas magnéticas sintetizadas na UNIFEI	50
Figura 6 – Temperaturas de ordem magnética versus inverso do diâmetro de partículas esféricas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), obtidas por simulação Monte Carlo. A linha contínua é dada pela equação $(T_c(d) - T_c(\infty))/(T_c(\infty)) = \pm(d/d_0)^{-1/\nu}$	52
Figura 7 – Energia de uma partícula magnética monodomínio com anisotropia em presença de um campo H aplicado, em função do ângulo θ do campo com o eixo de anisotropia, para diferentes valores do campo. Note a mudança da forma da curva em função da intensidade de H	52
Figura 8 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura de uma partícula de cobalto de 3 nm	54
Figura 9 – Curva esquemática de coercividade versus tamanho da partícula magnética, mostrando dois regimes: a) monodomínio superparamagnético para $0 < D < D_{crit}$, b) monodomínio e multidomínio ferromagnéticos para $D > D_{crit}$	54
Figura 10 – Dependência da coercividade magnética com o tamanho da partícula	55
Figura 11 – Tempo de relaxação versus inverso da temperatura de bloqueio para nanopartículas de Fe_3O_4 de diâmetro médio de 5 nm	58
Figura 12 – Efeito de escala da magnetização para partículas de FeC versus $T \ln(t/\tau_0)$	59
Figura 13 – Distribuição log-normal, para dois valores do desvio médio quadrático σ	60
Figura 14– Probabilidade de que uma partícula de Co a 0,5 K de 20 nm de diâmetro	61

não tenha invertido sua magnetização M após um tempo t , versus t . As linhas são ajustes de mínimos quadrados a função, $P(t)$, para diferentes valores do tempo de relaxação τ

Figura 15– Decaimento da magnetização de nanopartículas de FePt em função de $\ln t$, para diferentes temperaturas **62**

Figura 16 – Distribuição aparente de barreiras de energia dada pelo gráfico de S/kT versus kT para partículas de FePt com peso dado por sua magnetização **63**

Figura 17 – Variação experimental da magnetização reduzida (M_T/M_0) de partículas superparamagnéticas obtida a diferentes temperaturas, versus B/T ; a linha contínua é a função de Langevin **65**

Figura 18 – Curvas de magnetização para uma superparamagneto obtidas a duas temperaturas diferentes, mostrando que as curvas coincidem quando desenhadas versus HxT . **65**

Figura 19 – Partícula monodomínio elipsoidal em um campo magnético \mathbf{H} , mostrando os ângulos relevantes entre o campo, o eixo de anisotropia e a magnetização **67**

Figura 20 – Curvas de histerese da magnetização reduzida (M/M_s) de elipsoides homoganeamente magnetizados, versus campo magnético reduzido, para diferentes ângulos θ (α na figura), no modelo Stoner-Wohlfarth **67**

Figura 21 – Curva de histerese de Stoner-Wohlfarth para um conjunto de partículas com todos os valores possíveis de θ e curva para $\theta = 0^\circ$ **68**

Figura 22 – Dependência angular do campo coercivo H_c no modelo Stoner-Wohlfarth. O gráfico mostra que H_c é máximo para $\theta = 0$ e $\theta = \pi$, isto é, ao longo do eixo fácil de magnetização **69**

Figura 23 – Curvas de campo de comutação versus ângulo (astróides), para uma nanopartícula de Co a diferentes temperaturas **70**

Figura 24 – Imagem de microscopia de força magnética (MFM) de quatro discos de Co (001) de 200 nm de diâmetro, a) como monodomínios, e d b) como vórtices. c) e d) são os gráficos de vetores da magnetização obtidos por simulação micromagnética tridimensional de um único disco de Co **71**

Figura 25 – Configuração calculada de spins em nanopartícula de 400 nm de NiFe_2O_4 , mostrando a desordem de spins na superfície da partícula	71
Figura 26 – Representação esquemática da anisotropia na superfície de uma partícula da forma S^2 em dois casos: a) $K < 0$ (radial) e b) $K > 0$ (tangencial)	72
Figura 27 – Gráfico de $\log_{10}\tau$ versus inverso da temperatura de bloqueio para partículas de Fe em uma matriz de alumina. As diferentes curvas correspondem a amostras com diferentes intensidades da interação entre as partículas	75
Figura 28: Lei de Gauss – distribuição esquemática	79
Figura 29: Curva de Histerese de um material ferromagnético e sua magnetização	90
Figura 30: Ciclo de Histerese	92
Figura 31 – Representação dos íons metálicos nos sítios tetraédricos (A) e octaédricos (B) da estrutura do espinélio AB_2O_4	99
Figura 32 - Esquema dos orbitais p e d envolvidos na interação de super-troca	102
Figura 33: Representação esquemática de uma micela reversa e de uma também de surfactante contendo uma cabeça polar e duas cadeias hidrocarbônicas	108
Figura 34: Representação esquemática do princípio de nanopartículas em micelas reversas usando duas microemulsões (a), posteriormente misturadas (b) e formando as nanopartículas (c)	109
Figura 35: Esquema ilustrativo das etapas envolvidas na extração de biomoléculas de uma amostra usando agentes magnéticos de separação	112
Figura 36: Estrutura dendrítica ramificada	113
Figura 37: Representação esquemática do crescimento dendrimérico	114
Figura 38: Representação esquemática de uma síntese dendrimérica convergente	117
Figura 39: Estrutura do PGLD de segunda geração	118
Figura 40: Crescimento de dendrímeros de acordo com o seu número de geração	119
Figura 41- A estrutura globular do PGLD (A) apresenta similaridades significativas com o resíduo 585 da albumina humana (B)	128

- Figura 42- Estrutura idealizada do DDM objeto dessa Tese. A estrutura DDM deve ser observada como nanocápsulas de terceira geração, uma vez que incorpora em uma única estrutura nanopartículas magnéticas, quimioterápicos e marcadores tumorais fluorescentes. Nesse caso, encontra-se ilustrado na Fig. 1(A) através de uma imagem idealizada a natureza anfifílica do DDM onde os filamentos representam as cadeias do PGLD. Em (B) representa-se a estrutura vesicular do lipossoma. A estrutura (C) representa o núcleo arborescente de PGLD contendo nanopartículas magnéticas e o agente quimioterápico. Em (D) estão representados os receptores tumorais e marcadores luminescentes **132**
- Figura 43- Ilustração das estruturas dos acetilacetatos preparados nesse trabalho **135**
- Figura 44- Ilustração de uma montagem típica para a síntese de acetilacetatos metálicos, obtidos nesse trabalho: (A) Funil para adição da solução de acetilacetona, (B) dessecante ($\text{CaCl}_2/\text{sílica}$), (C) balão de fundo redondo contendo a solução amoniacal imerso em banho de gelo ou óleo térmico (no caso de aquecimento), amoniacal, (D) condensador de refluxo **136**
- Figura 45 – Ilustração da reação de obtenção do núcleo oligomérico de decaglicerol **137**
- Figura 46 – Ilustração do reator utilizado no processo de síntese do núcleo oligomérico de PGL_{10} , PGA e do conjugado PGA-HLP: (1) Balão de três bocas, (2) Manta aquecedora, (3) Termopar, (4) Aquecedor, (5) Trap do condensador, (6) Condensador, (7) Trap fria, (8) Cilindro de nitrogênio gasoso, (9) Bomba de vácuo. TIC = controlador de potência (TRIAC). **138**
- Figura 47- Espectros de RMN do PGA_{g4} utilizado nesse trabalho. A análise foi efetuada à temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$), utilizando-se como solvente D_2O . A análise foi efetuada no ICTP-CSIC/Madri-Espanha **139**
- Figura 48- Conjugação do fluoróforo Cy-5 (B) na estrutura do $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$ (A) para obtenção do $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl-Cy5}$ (C) **141**
- Figura 49- Curva de calibração do padrão para quantificação de CXB. A equação da reta é dada por: $A_{251\text{nm}} = 0,071.C + 0,020$ ($r^2 = 0,9948$). Cada ponto foi analisado em triplicata ($n=3$). **142**

Figura 50: Esquema magnético para aquecimento de solução com nanopartículas	146
Figura 51: Nanopartículas cujo eixo paralelo à direção do campo é um eixo de fácil magnetização	152
Figura 52: Soluções periódicas são admitidas por partículas cuja direção ao campo aplicado não é um eixo fácil	153
Figura 53: Energia liberada pela nanopartícula esferoidal em função da frequência de oscilação do campo externo para vários valores da constante de amortecimento α , a diferentes amplitudes	154
Figura 54: Energia liberada em função da frequência de oscilação do campo externo de uma nanopartícula	155
Figura 55- Ilustração do processo de crescimento de nanopartículas uniformes baseado no modelo de Lamer.. C_s , C_{\min}^{nu} e C_{\max}^{nu} significam concentração saturada, concentração mínima para nucleação e concentração máxima para nucleação, respectivamente	157
Figura 56- Ilustração das partes que compõe um equipamento de análise termogravimétrica	159
Figura 57- Ilustração dos componentes principais de um equipamento DSC: a Referência e a Amostra referem-se a cadinhos de alumínio colocados lado a lado sobre uma base de platina, permitindo assim o fluxo de calor entre a amostra e a referência. O fluxo de calor é medido com o auxílio de termopares, colocados logo abaixo de cada cadinho	159
Figura 58- Curvas termogravimétricas (TGA) para $Y(acac)_3$, $Al(acac)_3$, $Fe(acac)_3$ e a mistura dos acetilacetatos em PGA (A) e do PGA (B). A análise foi efetuada em atmosfera de nitrogênio ($25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e na velocidade de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. A estequiometria de $Me(acac)_3$ corresponde à apresentada na parte experimental	162
Figura 59- Ilustração do possível mecanismo de decomposição térmica de um $Me(acac)_3$. Adaptado de [154-155]. $Me = Y^{3+}$, Al^{3+} ou Fe^{3+} .	163

- Figura 60- Curvas de DSC para os compostos $\text{Al}(\text{acac})_3$ (A), $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (C), $\text{Y}(\text{acac})_3$ (D) e a mistura ternária eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (B). **164**
- Figura 61- Diagramas de fase binário das misturas $\text{Fe}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (A), $\text{Y}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (B) e $\text{Y}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{acac})_3$ (C). S e L representam as fases sólida e líquida, respectivamente. Os pontos A e B representam o ponto de fusão dos componentes puros. A linha DD' representa a linha S-S. O ponto eutético ocorre na fração 0,5 (em mol%). **165**
- Figura 62- Ilustração do processo de participação do PGA (a) na formação de um composto de coordenação (c) com o íon metálico Me (b). $\text{Me} = \text{Y}^{3+}, \text{Fe}^{3+}$ e Al^{3+} . **166**
- Figura 63- Ilustração do processo de crescimento de nanopartículas de YFeAl nas cavidades do PGA e estabilização das nanopartículas formadas. **167**
- Figura 64- Curvas termogravimétricas (TGA) de: PGA (A) e do sistema ternário eutético $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (B). **172**
- Figura 65- Gráficos de Ozawa (A,C) e Kissinger (B,D) para o processo de preparação de nanopartículas de YFeAl encapsuladas pelo PGA a partir da decomposição da mistura eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (C,D) no PGA (A,B). **173**
- Figura 66- Ilustração comparativa dos microscópios ótico (MO) de transmissão (MET) e eletrônico de varredura (MEV). **176**
- Figura 67- Microscopia MEV das nanopartículas de YFeAl utilizando-se as rampas de aquecimento de $5\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (a), $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (b), $20\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (c) e $30\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (d). O patamar de reação foi de 120 min em atmosfera de gás nitrogênio ($50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). **177**
- Figura 68- Sinais emitidos por uma amostra como resultado de sua interação com **178**

um feixe eletrônico primário do MEV.

Figura 69- Micrografia MEV (a) e (b) e, mapeamento elementar para Y/Fe/Al para análise da distribuição das nanopartículas de YFeAl por espectroscopia de raios X em dispersão de energia (EDS). **179**

Figura 70- Distribuição do tamanho médio das partículas híbridas de YFeAl calculado a partir da segmentação das imagens MEV com o auxílio do software ImageJ versão 1.48. **180**

Figura 71- Interação das radiações eletromagnéticas UV, V, IR e micro-ondas com moléculas e sua relação com os níveis energéticos. **182**

Figura 72- Modos vibracionais da molécula de CO₂. **183**

Figura 73- Funções de potencial para o oscilador harmônico ideal (lei de Hooke) (A) e oscilador harmônico corrigido com o potencial de Morse (B) de uma molécula diatómica. **185**

Figura 74- Princípio de funcionamento de um espectrômetro FTIR **186**

Figura 75- Espectro FTIR para o híbrido PGA-YFeAl (A) e PGA (B). **187**

Figura 76- Ilustração simplificada da existência de domínios magnéticos em diferentes escalas de tamanho. **188**

Figura 77- Ilustração dos componentes básicos de um magnetômetro de amostra vibrante (MAV) (A) e disposição das bobinas de detecção (B). O arranjo das bobinas de detecção é feito de tal modo que maximize o sinal induzido e que este seja pouco

sensível à posição da amostra	191
Figura 78- Curvas de magnetização para amostras de PGA-YFeAl.	191
Figura 79- Ilustração dos componentes principais de um espectrômetro Mössbauer.	192
Figura 80- Bandas de emissão e absorção de fótons gama (γ) de um núcleo em uma transição de energia $\varepsilon_\gamma = E_1 - E_0$: Núcleo estático (a), Núcleo livre (gás) com recuo (b), Núcleo com recuo pertencente à uma rede cristalina (c) e, emissão e absorção ressonante sem recuo (efeito Mössbauer) (d).	194
Figura 81- Níveis de energia do núcleo de ^{57}Fe mostrando as interações nucleares do efeito Mössbauer.	195
Figura 82- Níveis hiperfinos do estado fundamental E_0 e excitado E_1 do núcleo de ^{57}Fe ilustrando as transições detectadas no espectro Mössbauer (A). Em (B) está representado o espectro Mössbauer típico de uma amostra	196
Figura - 83- Figura 83- Espectro Mossbauer do híbrido YFeAl medido a 298 K (A), 85 K (B) e 125 K (C).	197
Figura 84- Variação da fração de nanopartículas de YFeAl superparamagnéticas com a temperatura calculado a partir do espectro Mossbauer.	198
Figura 85- Estrutura idealizada do DDM sintetizado nesse trabalho. A estrutura DDM deve ser observada como nanocápsulas de terceira geração, uma vez que incorpora em uma única estrutura nanopartículas de YFeAl, quimioterápicos (CXB) e marcadores/receptores tumorais. Nesse caso, encontra-se demonstrado na Fig. 1(A) os filamentos que representam as cadeias do PGA. Em (B) representa-se a estrutura vesicular do lipossoma. A estrutura (C) representa o núcleo arborescente de PGA contendo YFeAl e o agente quimioterápico CXB. Em (D) estão representados os	200

receptores tumorais (folatos) e marcadores luminescentes (Cy-5).

Figura 86- Dispositivo de microfluídica para a obtenção de DDM. Adaptado de **201** [225]. Na ilustração foi omitido o sonicador. A velocidade da fase contínua foi mantido em $5,0 \text{ mL.h}^{-1}$ e da fase dispersa em $0,1 \text{ mL.h}^{-1}$. O diâmetro interno do capilar foi de 0,1 mm.

Figura 87- Micrografia MET (A,B), espectroscopia de fluorescência (C) e **202** distribuição de tamanhos (D) dos DDM's obtido nesse trabalho.

Figura 88- Imagem térmica de uma suspensão de DDM na concentração de 100 **203** mg.mL^{-1} em PGA. A densidade da suspensão foi de $1,26 \text{ g.cm}^{-3}$. O campo magnético oscilante aplicado nas bobinas foi de 1.10 kA.m^{-1} com frequência de 200 kHz. A imagem térmica foi obtida com uma câmera de infravermelho (E30, FLIR) colocada a 50 cm dos tubos de eppendorf que continha a suspensão.

Figura 89- Ensaio de citotoxicidade de DDM contra células de mamíferos (CHO). O **206** material utilizado como controle positivo, solução de fenol a 0,02%, apresentou atividade citotóxica extremamente elevada, como já era esperado. Por outro lado, a utilização do polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) demonstrou ser um material não citotóxico, o que justifica sua utilização como controle negativo. As amostras de DDM mostraram comportamento semelhante ao controle negativo (polietileno), com viabilidade celular superior a 90%, indicando possuir boas propriedades biocompatíveis para utilização na medicina teranóstica.

Figura 90- Liberação in-vitro de CXB de DDM sem enrijecimento da lamella **207** lipídica (A) e com enrijecimento da lamela lipídica (B). Os ensaios foram efetuados em solução tampão PBS, pH 7,4 a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Os pontos no gráfico representam a média (n) \pm desvio padrão. Nos experimentos n=3.

RESUMO

A nanotecnologia, associada a agentes antiinflamatórios não esteroidais (AINES) e nanopartículas magnéticas (NPM) parece ser uma alternativa promissora para a melhora da efetividade dos fármacos antineoplásicos atualmente utilizados em oncologia. Neste contexto, este trabalho apresenta os resultados dos estudos físico-químico e biológico de magneto-dendrissoma de poliglicerol (MDS) para aplicações multimodais na terapia clínica e diagnóstica do câncer. O sistema transportador de NPM e AINES selecionado para esse estudo foi o dendrissoma magnético (DDM) de poliglicerol arborescente (PGA). Utilizando a técnica de dispersão molecular e redução *in situ* de íons metálicos coordenados, nanopartículas magnéticas (NPM) de YFeAl foram encapsulada pelo PGA juntamente com o celecoxibe (CXB), um AINES com propriedade antitumoral. A fim de se modular a biodistribuição nas células tumorais para a terapia clínica multimodal, o sistema PGA-YFeAl/CXB foi marcado com o fluoróforo cianina 5 (CY5) e encapsulado em lipossomas utilizando um dispositivo de microfluídica. O dendrissoma magnético obtido (DDM) e seu precursor (PGA-YFeAl) foram caracterizados por técnicas espectroscópicas (Mössbauer e vibracional-FTIR), térmicas (análise termogravimétrica-TGA, calorimetria exploratória diferencial-DSC), microscópicas (microscopia eletrônica de varredura-MEV, microscopia eletrônica de transmissão-MET e microscopia de fluorescência) e mapeamento térmico por infravermelho. A microscopia MEV evidenciou a obtenção de nanopartículas do híbrido PGA-YFeAl com morfologia esférica e distribuição de tamanho médio entre 50 e 70 nm. A espectroscopia EDS evidenciou uma distribuição homogênea dos elementos Y, Fe e Al no híbrido YFeAl e a espectroscopia FTIR indicou a presença de PGA na superfície das nanopartículas de YFeAl. Os resultados da espectroscopia Mössbauer permitem inferir que o sistema PGA-YFeAl possui elevada fração de nanopartículas superparamagnéticas. A imagem infravermelha das nanopartículas excitadas por campo magnético oscilante indica que os DDM's preparados possuem características térmicas promissoras para aplicação na hipertemia magnética. Os ensaios de citotoxicidade indicaram que o DDM possui propriedades de biocompatibilidade adequadas para utilização *in vivo*. O perfil de liberação do CXB dos DDM's mostrou-se modulável através do enrijecimento das lamelas do dendrissoma. Os resultados da caracterização físico-química e biológica indicam que os DDM's obtidos nesse trabalho podem ser considerados como um sistema modelo com potencial aplicação na medicina teranóstica.

PALAVRAS-CHAVE: Dendrissoma Magnético, Poliglicerol Arborescente, Câncer.

ABSTRACT

Nanotechnology, associated with nonsteroidal anti-inflammatory agents (NSAIDs) and magnetic nanoparticles (MPN), appears to be a promising alternative for improving the effectiveness of antineoplastic drugs currently used in oncology. In this context, this paper presents the results of the physical-chemical and biological studies of polyglycerol magneto-dendrissoma (MDS) for multimodal applications in clinical and diagnostic cancer therapy. The NPM and NSAID transporter system selected for this study was the dendrissome magnetic (DDM) of arborescent polyglycerol (PGA). Using the technique of molecular dispersion and in situ reduction of coordinated metal ions, magnetic nanoparticles (NPM) of YFeAl were encapsulated by PGA together with celecoxib (CXB), an anti-tumor-bearing NSAID. In order to modulate biodistribution in tumor cells for multimodal clinical therapy, the PGA-YFeAl / CXB system was labeled with the fluorophore cyanine 5 (CY5) and encapsulated in liposomes using a microfluidic device. The obtained magnetic dendrissome (DDM) and its precursor (PGA-YFeAl) were characterized by spectroscopic (Mössbauer and vibrational-FTIR), thermal (thermogravimetric-TGA, differential scanning calorimetry-DSC), microscopic (scanning electron microscopy-SEM, Transmission electron microscopy (TEM) and fluorescence microscopy) and infrared thermal mapping. SEM microscopy showed the obtaining of nanoparticles of the hybrid PGA-YFeAl with spherical morphology and distribution of average size between 50 and 70 nm. EDS spectroscopy evidenced a homogeneous distribution of Y, Fe and Al elements in the YFeAl hybrid and FTIR spectroscopy indicated the presence of PGA on the surface of YFeAl nanoparticles. The results of the Mössbauer spectroscopy allow to infer that the PGA-YFeAl system has a high fraction of superparamagnetic nanoparticles. The infrared image of nanoparticles excited by oscillating magnetic field indicates that the prepared DDMs have promising thermal characteristics for application in magnetic hyperthermia. Cytotoxicity assays indicated that DDM has suitable biocompatibility properties for in vivo use. The CXB release profile of the DDMs was shown to be modulable by stiffening of the dendrissome lamellae. The results of the physico-chemical and biological characterization indicate that the DDM's obtained in this work can be considered as a model system with potential application in the teranostica medicine.

KEYWORDS: Magnetic Dendrissoma, Arborescent Poliglicerol, Cancer.

APLICAÇÕES DA NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA NO TRATAMENTO E DIAGNÓSTICO DO CÂNCER

1.1. Introdução

Com base no documento *World cancer report 2014* da International Agency for Research on Cancer (IARC), da Organização Mundial da Saúde (OMS), é inquestionável que o câncer é um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento, onde é esperado que, nas próximas décadas, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025 [1].

No Brasil, os Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP) fornecem informações sobre o impacto do câncer nas comunidades, configurando-se uma condição necessária para o planejamento e a avaliação das ações de prevenção e controle de câncer. Em conjunto com os Registros Hospitalares de Câncer (RHC) e com o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DataSUS), formam o eixo estruturante para a vigilância de câncer e para o desenvolvimento de pesquisas em áreas afins.

A estimativa mundial, realizada em 2012, pelo projeto Globocan/Iarc, apontou que, dos 14 milhões de casos novos estimados, mais de 60% ocorreram em países em desenvolvimento. Para a mortalidade, a situação agrava-se quando se constata que, dos 8 milhões de óbitos previstos, 70% ocorreram nesses mesmos países [1].

Os tipos de câncer mais incidentes no mundo foram pulmão (1,8 milhão), mama (1,7 milhão), intestino (1,4 milhão) e próstata (1,1 milhão). Nos homens, os mais frequentes foram pulmão (16,7%), próstata (15,0%), intestino (10,0%), estômago (8,5%) e fígado

(7,5%). Em mulheres, as maiores frequências encontradas foram mama (25,2%), intestino (9,2%), pulmão (8,7%), colo do útero (7,9%) e estômago (4,8%) [1].

Ainda com base nas informações do projeto Globocan, na região da América Latina e do Caribe, estimou-se, para 2012, a ocorrência de 1,1 milhão de casos novos de câncer, sendo os tipos de câncer mais incidentes os de próstata (152 mil) em homens e mama (152 mil) em mulheres. Entretanto, o câncer do colo do útero ainda contribui de forma importante para a carga da doença em mulheres, figurando como o segundo mais incidente e como a segunda causa de morte por câncer em mulheres. Dos cerca de 530 mil casos novos de câncer estimados para os homens, o câncer de próstata foi o mais frequente (28,6%), seguido pelos cânceres de pulmão (9,8%), intestino (8,0%), estômago (6,8%) e bexiga (3,3%). Para as mulheres, os 560 mil casos novos, aproximadamente, foram assim distribuídos: mama (27%), colo do útero (12,2%), intestino (7,9%), pulmão (5,7%) e estômago (4,3%) [1].

É possível observar a existência de um perfil da magnitude de determinados tipos de câncer em países em desenvolvimento que se assemelha ao perfil em países desenvolvidos, principalmente com relação aos cânceres de próstata, mama e intestino; entretanto, ainda persistem os cânceres relacionados com condições socioeconômicas menos favoráveis, como o do colo do útero e o do estômago.

A estimativa para o Brasil, biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma (aproximadamente 180 mil casos novos), ocorrerão cerca de 420 mil casos novos de câncer. O perfil epidemiológico observado assemelha-se ao da América Latina e do Caribe, onde os cânceres de próstata (61 mil) em homens e mama (58 mil) em mulheres serão os mais frequentes. Sem contar os casos de câncer de pele não melanoma, os tipos mais frequentes em homens serão próstata (28,6%), pulmão (8,1%), intestino (7,8%), estômago (6,0%) e cavidade oral (5,2%). Nas mulheres, os cânceres de mama (28,1%), intestino (8,6%), colo do útero (7,9%), pulmão (5,3%) e estômago (3,7%) figurarão entre os principais [1].

É fundamental que o monitoramento da morbimortalidade por câncer incorpore-se na rotina da gestão da saúde de modo a tornar-se instrumento essencial para o

estabelecimento de ações de prevenção e controle do câncer e de seus fatores de risco. Esse monitoramento engloba a supervisão e a avaliação de programas de saúde adequados, como ações necessárias para o conhecimento da situação e do impacto no perfil de morbimortalidade da população, bem como a manutenção de um sistema de vigilância com informações oportunas e de qualidade que subsidie análises epidemiológicas para as tomadas de decisões do sistema de saúde brasileiro [1].

O câncer é observado atualmente como doenças complexas, que envolvem diferentes tipos de células a exemplo das células de defesa, de vasos sanguíneos e de suporte dos tecidos. Essa nova perspectiva de visão do câncer levou ao desenvolvimento de outros alvos para a terapia oncológica. À medida que as interações entre as diferentes unidades das células biológicas são mais bem compreendidas torna-se possível desenvolver novas tecnologias de tratamento.

A quimioterapia é um dos principais tipos de tratamento oferecido a pacientes com câncer. Embora a eficácia do tratamento seja comprovada a cada dia e novos fármacos e protocolos clínicos sejam desenvolvidos, os quimioterápicos ainda representam um risco considerável ao paciente devido às lesões estruturais e modificações da fisiologia e bioquímica do ser humano, algumas irreversíveis, que limitam o próprio tratamento de pacientes em tratamento de neoplasias malignas.

É evidente que o aumento de enfermidades graves a exemplo do câncer, diabetes ou mesmo as cardiovasculares impulsiona o ser humano na busca de novas tecnologias terapêuticas e diagnósticas mais rápidas e eficazes promovendo-se o tratamento personalizado e a qualidade de vida do paciente.

A incidência progressiva do câncer em países desenvolvidos e em desenvolvimento e a grande dificuldade de se estabelecer um tratamento para um tumor cancerígeno, sem comprometer os tecidos saudáveis, é que motivou os cientistas de todo o mundo a buscar na nanotecnologia novas alternativas para o tratamento e diagnóstico do câncer.

Atualmente é fato consolidado que aplicação da nanotecnologia na área da saúde é um dos maiores progressos da ciência em relação à manutenção da qualidade de vida do ser humano. Nesse contexto, a nanotecnologia tem permitido o desenvolvimento de

nanopartículas que possibilitam tratamentos quimioterápicos vetorizados uma vez que atingem somente a célula tumoral protegendo as células sadias e preservando assim, a imunidade do paciente. No presente século, a nanotecnologia desempenha um importante papel na medicina; tão importante quanto foram no século XX os antibióticos, os circuitos integrados, a microeletrônica e os polímeros.

A Fundação Nacional da Ciência dos Estados Unidos (*NSF- National Science Foundation*) é uma agência governamental dos Estados Unidos independente que promove a pesquisa e educação fundamental em todos os campos da ciência e engenharia norte americana. Com um orçamento anual de cerca de US\$5,91 bilhões (ano fiscal de 2007), a NSF financia aproximadamente 20% de toda a pesquisa básica subsidiada federalmente nos institutos e universidades dos Estados Unidos.

A NSF define nanotecnologia de forma ampla: menciona a integração de nanodispositivos em materiais, sistemas e arquiteturas macroscópicas sem perda das propriedades derivadas da nanoestruturação. Em alguns casos, a dimensão crítica para as novas propriedades e fenômenos pode-se encontrar abaixo de 1 nm (ex: a manipulação de átomos aproximadamente a 0,1 nm) ou acima de 100 nm (ex: nanopartículas poliméricas que têm características únicas entre 200 e 300 nm) [2]. Entretanto, deve ser observado que não há uma definição internacional consensual do que seja uma nanopartícula. Um resumo do novo documento PAS71 [3], desenvolvido no Reino Unido, menciona: "Uma nanopartícula é um corpo tendo uma dimensão da ordem de 100 nm ou menor". Uma observação deve ser associada a essa definição: "Propriedades únicas que diferenciam as nanopartículas dos materiais de origem (sólido "bulk" [3] ou sólido estendido), tipicamente desenvolvidos em uma escala crítica de 100 nm".

As nanopartículas apresentam dimensões comparáveis ao da célula de mamíferos (10 – 100 μm), vírus (20 - 450 nm), proteína (5 - 50 nm) ou mesmo de um gene (2 nm de largura e 10 - 100 nm de comprimento) [4-5]. Essa escala comparativa de dimensões indica que as nanopartículas podem ser empregadas como uma entidade biológica.

Utilizando o conceito de que tumores possuem uma alta permeabilidade vascular que o alimenta e garante seu rápido crescimento, um grande número de nanopartículas foi

desenvolvido como sistemas transportadores de fármacos para que se acumulem na região tumoral e liberem localmente os quimioterápicos [6]. No entanto, esse efeito é observado apenas em macromoléculas com massa molar acima de 45 kDa, que apresentam um tempo de circulação prolongado. Por essa razão, as nanopartículas revestidas com polímeros podem ser acumuladas mais eficientemente em tumores [7].

O rápido avanço da medicina contemporânea no tratamento de uma doença heterogênea como o câncer está intimamente relacionado com algumas propriedades das nanopartículas as quais permitem suas aplicações em diagnósticos e terapias. Quando as duas propriedades atuarem simultaneamente as nanopartículas são chamadas teranósticas. Assim, uma nanopartícula que combina um teste de diagnóstico com uma terapia específica representa um primeiro passo para a medicina personalizada uma vez que torna-se possíveis o diagnóstico, a entrega do quimioterápico no alvo e ao mesmo tempo, monitora a resposta à terapia [8].

Atualmente, vários estudos clínicos com nanopartículas onde a principal doença-alvo é o câncer estão sendo realizados ao redor do mundo. A principal doença-alvo é o câncer (Figura 1) sendo as nanopartículas mais estudadas as de albumina e o fármaco mais recorrente é o paclitaxel [9].



Figura 1- Estudos clínicos com nanopartículas em andamento ao redor do mundo de acordo com as aplicações [9].

As nanopartículas já se encontram em ensaios de fase clínica, ou seja, a fase de testes em seres humanos. Os ensaios de fase clínica são formados por quatro fases sucessivas e somente depois de concluídas todas as fases, o medicamento poderá ser liberado para comercialização e disponibilizado para uso da população. As sucessivas fases de ensaio clínico são [10]: Fase I onde o objetivo principal é avaliar a segurança do produto investigado. Nesta fase a medicação é testada em pequenos grupos (10 – 30 pessoas), geralmente, de voluntários saudáveis. Nos estudos de Fase II o número de pacientes que participam é maior (70 - 100). O objetivo principal da Fase II é avaliar a eficácia da medicação, isto é, se ela funciona para tratar determinada doença, e também obter informações mais detalhadas sobre sua biosegurança (toxicidade). Uma vez que os resultados sejam satisfatórios o medicamento poderá ser estudado em um ensaio clínico de Fase III.

É observado ainda que, dos ensaios clínicos com nanopartículas, 13 são de fase I, 23 de fase II, 2 de fase III (nanopartículas de paclitaxel para o tratamento de câncer de mama metastático e nanoagregados para uso odontológico) e 1 de fase IV (cateter revestido com nanopartículas de prata para prevenção da bacteremia) [9]. Nenhum desses estudos vem sendo realizado no Brasil e quase a metade dos ensaios clínicos para o tratamento do câncer é destinada ao câncer de mama (Figura 2).

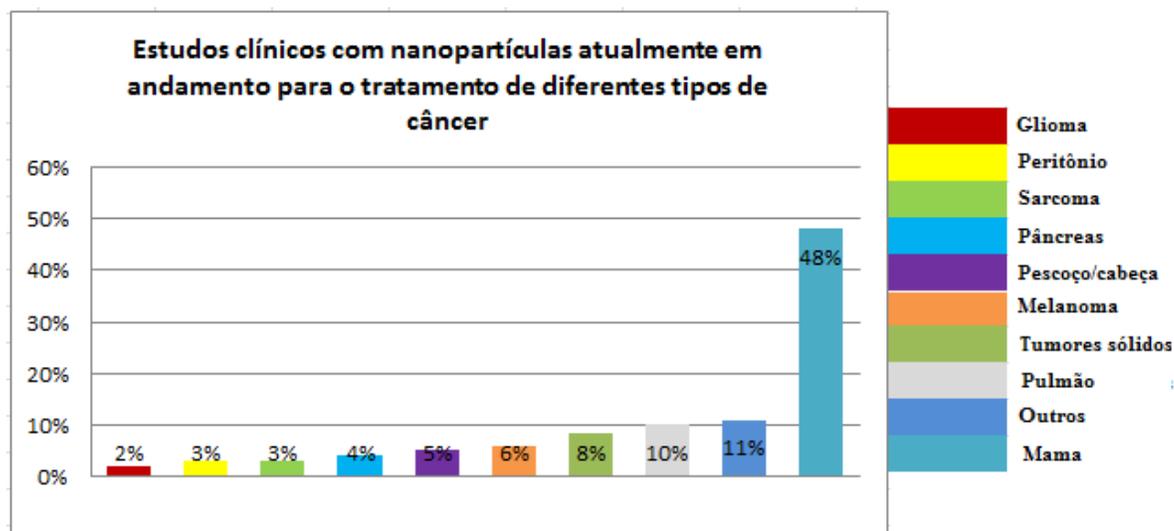


Figura 2- Estudos clínicos com nanopartículas atualmente em andamento para o tratamento de diferentes tipos de câncer [9].

É no estudo da fase clínica com nanopartículas denominadas de lipossomas que o Brasil se destaca. Dos estudos com lipossomas, 13 deles estão sendo realizados no Brasil (Figura 3). Um número expressivo de ensaios clínicos com esses nanomateriais encontra-se registrado ao redor do mundo. Do total de 576 ensaios de fase clínica com lipossomas, 184 encontram-se em fase I, 293 em fase II, 107 em fase III e 28 em fase IV. A maioria dos estudos está relacionada ao tratamento do câncer (437), dos quais 84 para câncer de mama metastático. Salienta-se que dos estudos relacionados ao tratamento do câncer, 2 são destinados a tratamento de câncer de ovário, 1 de câncer de mama, 1 para câncer de pulmão e 1 para sarcoma.

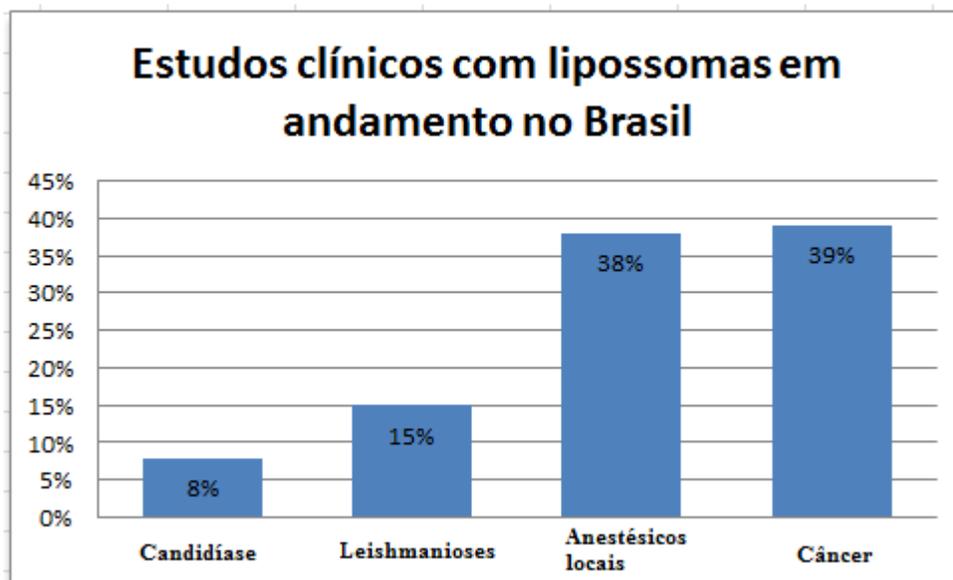


Figura 3- Estudos clínicos com lipossomas em andamento no Brasil [9].

1.2. A Necessidade do Desenvolvimento de Novas Tecnologias para o Tratamento do Câncer no Brasil

O número de casos de câncer em todo o mundo deve duplicar nos próximos 20 anos. Essa é a expectativa apontada pela Organização Mundial de Saúde (OMS). O Relatório Mundial do Câncer 2014 estima que o número de novos casos aumente de 14

milhões em 2012 para 22 milhões em 2030. O trabalho foi feito com a ajuda de 250 especialistas de 40 países, e divulgados pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer, parte da OMS [11]. Devido ao crescimento e envelhecimento da população, os países em desenvolvimento são desproporcionalmente os mais afetados pelo câncer e impactos econômicos consideráveis são esperados nesses países.

O Brasil vem sofrendo mudanças em seu perfil demográfico, consequência, entre outros fatores, do processo de urbanização populacional, da industrialização e dos avanços da ciência e da tecnologia. A essas novas características da sociedade brasileira, unem-se os novos estilos de vida e a exposição, ainda mais intensa, a fatores de risco próprios do mundo contemporâneo.

Esse processo de mudança demográfica, denominado de “envelhecimento” da população, associado à transformação nas relações entre as pessoas e seu ambiente, trouxe uma alteração importante no perfil de morbimortalidade, diminuindo a ocorrência das doenças infectocontagiosas e colocando as doenças crônico-degenerativas como novo centro de atenção dos problemas de doença e morte da população brasileira.

Assim como a transição epidemiológica, também a vigilância foi reformulada, para ampliar o seu objeto, incluindo hoje o grupo de doenças crônico-degenerativas, que, pela importância crescente na morbimortalidade do país, vem, progressivamente, sendo acrescentado ao repertório tradicional da vigilância epidemiológica.

A vigilância de câncer destina-se, como em qualquer sistema de vigilância, a produzir informações para a tomada de decisões. Essas informações provêm dos registros de câncer, dos grandes sistemas de informação em saúde, de análises e estimativas, bem como de pesquisas e estudos epidemiológicos.

A enfermidade câncer é o nome dado a um grande conjunto de diferentes tipos de doenças que têm em comum o crescimento celular desordenado com potencial invasivo nas células biológicas [11]. Além disso, sua origem, ainda não totalmente determinada, se dá por uma série de fatores que podem agir em conjunto ou sequencialmente de forma a se iniciar ou promover o que denomina-se de câncer (carcinogênese).

O desenvolvimento da maioria dos cânceres requer múltiplas etapas que ocorrem ao longo de muitos anos. Assim, alguns tipos de câncer podem ser evitados pela eliminação da exposição aos fatores determinantes. Se o potencial de malignidade for detectado antes de as células tornarem-se malignas, ou numa fase inicial da doença, tem-se uma condição mais favorável para seu tratamento e, conseqüentemente, para sua cura.

A prevenção e o controle do câncer precisam adquirir o mesmo foco e a mesma atenção que a área de serviços assistenciais, pois o crescente aumento do número de casos novos fará com que não haja recursos suficientes para atender as necessidades de diagnóstico, tratamento e acompanhamento. Assim, medidas preventivas devem ser tomadas para reduzir o impacto do câncer, como as estratégias para o controle do tabagismo, relacionado ao câncer de pulmão, entre outros; a promoção da alimentação saudável, para a prevenção dos cânceres de estômago e intestino, entre outros; a vacinação para Papilomavírus humano (HPV) e hepatite, contra o câncer do colo do útero e de fígado. De igual modo, a adoção de estilos de vida mais saudáveis, como uma alimentação adequada e a prática de atividade física, permitirá um melhor controle dos cânceres de mama, próstata e intestino. Essas medidas crescem em importância, principalmente em países como o Brasil, que se encontra em um processo de transição econômica, o que o faz ganhar, progressivamente, o ônus global do câncer observado em países considerados desenvolvidos [11].

De acordo com estimativas mundiais do projeto Globocan 2012, da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (Iarc, do inglês International Agency for Research on Cancer), da Organização Mundial da Saúde (OMS), houve 14,1 milhões de casos novos de câncer e um total de 8,2 milhões de mortes por câncer, em todo o mundo, em 2012 [11]. A carga do câncer continuará aumentando nos países em desenvolvimento e crescerá ainda mais em países desenvolvidos se medidas preventivas não forem amplamente aplicadas. Nesses, os tipos de câncer mais frequentes na população masculina foram próstata, pulmão e cólon e reto; e mama, cólon e reto e pulmão entre as mulheres. Nos países em desenvolvimento, os três cânceres mais frequentes em homens foram pulmão, estômago e fígado; e mama, colo do útero e pulmão nas mulheres.

Em 2030, a carga global será de 21,4 milhões de casos novos de câncer e 13,2 milhões de mortes por câncer, em consequência do crescimento e do envelhecimento da população, bem como da redução na mortalidade infantil e nas mortes por doenças infecciosas em países em desenvolvimento [12].

É com base nas informações de 23 Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP), alimentados por uma rede de 282 Registros Hospitalares de Câncer (RHC), que se consolida o sistema de morbidade por câncer – com informações oportunas e de qualidade (padronizadas, atualizadas e representativas da população brasileira). A esse sistema, agrega-se o Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) para a elaboração da estimativa de 19 tipos de câncer, apresentada para o território nacional, estados e capitais, por gênero [12].

No Brasil [12], a estimativa para o ano de 2014, que será válida também para o ano de 2015, aponta para a ocorrência de aproximadamente 576 mil casos novos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país. O câncer de pele do tipo não melanoma (182 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata (69 mil), mama feminina (57 mil), cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo do útero (15 mil).

Sem considerar os casos de câncer de pele não melanoma, estimam-se 395 mil casos novos de câncer, 204 mil para o sexo masculino e 190 mil para sexo feminino. Em homens, os tipos mais incidentes serão os cânceres de próstata, pulmão, cólon e reto, estômago e cavidade oral; e, nas mulheres, os de mama, cólon e reto, colo do útero, pulmão e glândula tireoide. É incontestável que o câncer é hoje, no Brasil, um problema de saúde pública, cujo controle e prevenção deverão ser priorizados em todas as regiões, desde as mais desenvolvidas – cultural, social e economicamente – até às mais desiguais. As abordagens orientadas para enfrentar esse problema de saúde são, necessariamente, múltiplas, incluindo: ações de educação para saúde em todos os níveis da sociedade; prevenção orientada para indivíduos e grupos; geração de opinião pública; apoio e estímulo à

formulação de legislação específica para o enfrentamento de fatores de risco relacionados à doença; e fortalecimento de ações em escolas e ambientes de trabalho.

Para o cálculo, segundo o INCA [12] a concordância segue o raciocínio abaixo. Estimou-se o número de casos novos de câncer para todas as unidades da federação (UF) e respectivas capitais para o biênio 2014/2015 pelo método proposto por Black et al. (1997). Esse método permite obter a taxa de incidência de câncer para uma determinada região, multiplicando-se a taxa observada de mortalidade da região pela razão entre os valores de incidência e mortalidade da localidade onde exista RCBP. Para a presente análise, optou-se pela utilização da razão entre as taxas de incidência e mortalidade (I/M), obtida pelo quociente entre a taxa bruta da incidência e a taxa bruta da mortalidade. O período de referência utilizado foi aquele compreendido entre 2002 e 2011 (período de maior concentração de informações sobre a incidência).

Para cada região geográfica, utilizou-se a mediana da razão I/M dos registros correspondentes àquela região, exceto para a região Norte, para a qual se considerou a mediana da razão I/M obtida para o Brasil. As respectivas razões foram aplicadas às taxas de mortalidade estimadas por regressão linear para o ano de 2014 por Unidade Federal (UF) e respectivas capitais. Quando o modelo linear não se mostrou aplicável, utilizou-se como alternativa a taxa média dos últimos cinco anos. Obtiveram-se, assim, as estimativas das taxas de incidência e o número de casos novos para o biênio 2014/2015. Ou seja:

$$T_{IL} = TM_L \left(\frac{I_R}{M_o} \right) \quad [1]$$

T_{IL} = Taxa de incidência estimada para a UF ou capital

TM_L = Taxa de mortalidade estimada pela série histórica de mortalidade para UF ou capital.

I_R = Taxa de incidência das localidades (período de 2002 e 2011);

M_o = Taxa de mortalidade das localidades onde existem Registro de Câncer de Base Populacional (RCBP);

A estimativa de casos novos para as cinco regiões geográficas e para o Brasil foi obtida pela soma dos valores absolutos por UF. As taxas correspondentes foram obtidas dividindo-se os valores de casos novos das regiões geográficas ou do Brasil pelas suas respectivas populações.

Todos os valores absolutos estimados foram arredondados para dez ou múltiplos de dez. As taxas de incidência apresentadas referem-se aos valores obtidos antes do arredondamento. A fim de descrever o padrão geográfico da ocorrência de câncer, as taxas de incidência obtidas para as UF e Distrito Federal foram representadas espacialmente baseadas nas distribuições das taxas por quartil.

As populações utilizadas como denominador para o cálculo das taxas apresentadas na presente publicação, censitárias (1980, 1991, 1996, 2000 e 2010) e intercensitárias, foram obtidas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), do Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão (MPOG). Para o ano 2014, a população utilizada foi a da projeção populacional para 2014 obtida do IBGE. Como a informação populacional não estava desagregada por sexo, ela foi obtida tomando-se como base a distribuição proporcional por sexo da população do censo 2010.

Os critérios gerais para a seleção das localizações de câncer que constam na presente publicação incluíram a magnitude da mortalidade ou da incidência (por exemplo: câncer de mama, próstata, pulmão e pele não melanoma), assim como aspectos ligados ao custo e a efetividade de programas de prevenção (por exemplo: câncer de mama, colo do útero e cavidade oral).

De outro lado, atividade fundamental é o monitoramento continuado dos programas de prevenção e controle implementados para combater o câncer e seus fatores de risco. Esse monitoramento incorpora a supervisão e a avaliação dos programas como atividades necessárias para o conhecimento do andamento e do impacto no perfil de morbimortalidade da população, bem como a manutenção de um sistema de informações oportuno e de qualidade, que subsidie análises epidemiológicas como produto dos sistemas de vigilância.

1.3. A utilização de Nanopartículas Magnéticas no Tratamento do Câncer

Uma classe de nanomaterial que tem se destacado no projeto de nanopartículas teranósticas para o tratamento do câncer são as nanopartículas magnéticas (NPMs) [13-18]. As propriedades magnéticas das NPMs surgem devido a uma combinação da sua composição atômica, da sua estrutura cristalina e do efeito do seu tamanho. As NPMs podem ser formadas por diferentes tipos de ferritas cúbicas que apresentam a expressão geral $M^{2+}Fe_2O_4$, na qual M^{2+} é um metal que pode ser Mg, Co, Zn, Fe (Fe_3O_4 – magnetita), ou então maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$).

Uma propriedade particularmente interessante das NPMs de óxido de ferro é a sua capacidade para gerar calor quando submetidas a um campo magnético alternado. Este fenômeno térmico, denominado magnetohipertermia parece ser devido à perda de energia durante o processo de desmagnetização. Esta propriedade é crucial para as aplicações das NPMs no tratamento do câncer através da hipertermia magnética [6], nas quais o tumor é susceptível ao calor [19]. O calor transferido às células neoplásicas, por sua vez inibe a recombinação dos radicais livres no interior da célula, lesionando as enzimas relacionadas com a regulação do crescimento, afetando a concentração de cálcio no meio celular e modulando a expressão gênica da mesma [20]. A possibilidade da vetorização de nanopartículas magnéticas através de gradientes de campos magnéticos levou ao desenvolvimento de várias técnicas de encapsulamento de partículas magnéticas de forma que os sistemas obtidos se tornassem efetivos carreadores de drogas com especificidade tumoral para a liberação controlada de agentes quimioterápicos.

A hipertermia pertence à lista dos tratamentos convencionais aceitos pela “American Cancer Society” e continua sendo uma das mais poderosas modalidades terapêuticas para melhorar a evolução dos pacientes com câncer [21]. Também é um dos melhores coadjuvantes que aumenta a eficácia da radioterapia e da quimioterapia. Neste sentido, os experimentos clínicos de Fase III comprovam que quando a hipertermia foi associada com a radioterapia, ela melhorou o controle local do melanoma de 28% para 46% em 2 anos de acompanhamento; provocou aumento da remissão total do câncer recorrente de mama de 38% para 60%, aumentou o índice de remissão total do câncer avançado

cervical de 57% para 82% e no glioblastoma multiforme aumentou a sobrevida de 2 anos de 15% para 31% [17].

Um pré-requisito importante para a utilização clínica da magneto-hipertermia é que as nanopartículas devem apresentar baixos níveis de toxicidade, assim como um elevado momento de saturação que permita minimizar as doses requeridas.

É no contexto de aplicação da hipertermia magnética que cerâmicas com composição do tipo Ítria-Ferro-Alumínio (YFeAl) aparecem como um candidato promissor na terapia do cancer, visto que possuem uma alta Temperatura de Curie (T_C) e elevado momento de saturação [6]. Entretanto, tais partículas possuem elevada citotoxicidade, sendo necessário desenvolverem-se técnicas de encapsulamento que imputem às nanopartículas ferromagnéticas as propriedades biocompatíveis necessárias para uma aplicação da magneto-hipertermia de modo clinicamente seguro.

O EFEITO DA DISSIPACÃO DE CALOR NOS TECIDOS TUMORAIS

2.1. Introdução

As Terapias Térmicas (TT) são aquelas em que se utilizam temperaturas diferentes das consideradas fisiologicamente normais para o corpo humano (entre 33 e 37° C) [21], durante um período pré-especificado, para induzir respostas físicas, biológicas e fisiológicas desejadas. As terapias térmicas podem ser subdivididas de acordo com as temperaturas utilizadas (Figura 4) em Hipertermia, quando utiliza temperaturas acima de 37°C, e em Hipotermia, quando utiliza temperaturas abaixo de 33°C [22]. Tanto a terapia por hipertermia quanto a por hipotermia podem, por sua vez, ser classificadas em fisiologicamente curativas ($0^{\circ}\text{C} < T < 33^{\circ}\text{C}$ para hipotermia e $37^{\circ}\text{C} < T < 43^{\circ}\text{C}$ para hipertermia), quando os objetivos são a reparação acelerada de danos físicos aos tecidos (por meio de alteração de taxas metabólicas e de vazões sanguíneas) e o tratamento de dores, ou seja, vislumbra-se um resultado sem causar danos a tecidos normais; e em destrutivas ($< 0^{\circ}\text{C}$ para hipotermia e $> 43^{\circ}\text{C}$ para hipertermia), quando os objetivos são a destruição imediata e irreversível de tecidos malignos (e.g., tumores) ou disfuncionais e a tentativa de evitar respostas fisiológicas tais como um aumento na vazão sanguínea. Neste último, a extensão da necrose do tecido é determinada pela potência térmica aplicada ao tecido. As terapias fisiologicamente curativas podem durar de alguns minutos até algumas horas, dependendo da temperatura utilizada, ao passo que as destrutivas duram de algumas frações de segundos a poucos minutos, também dependendo da temperatura utilizada [22].

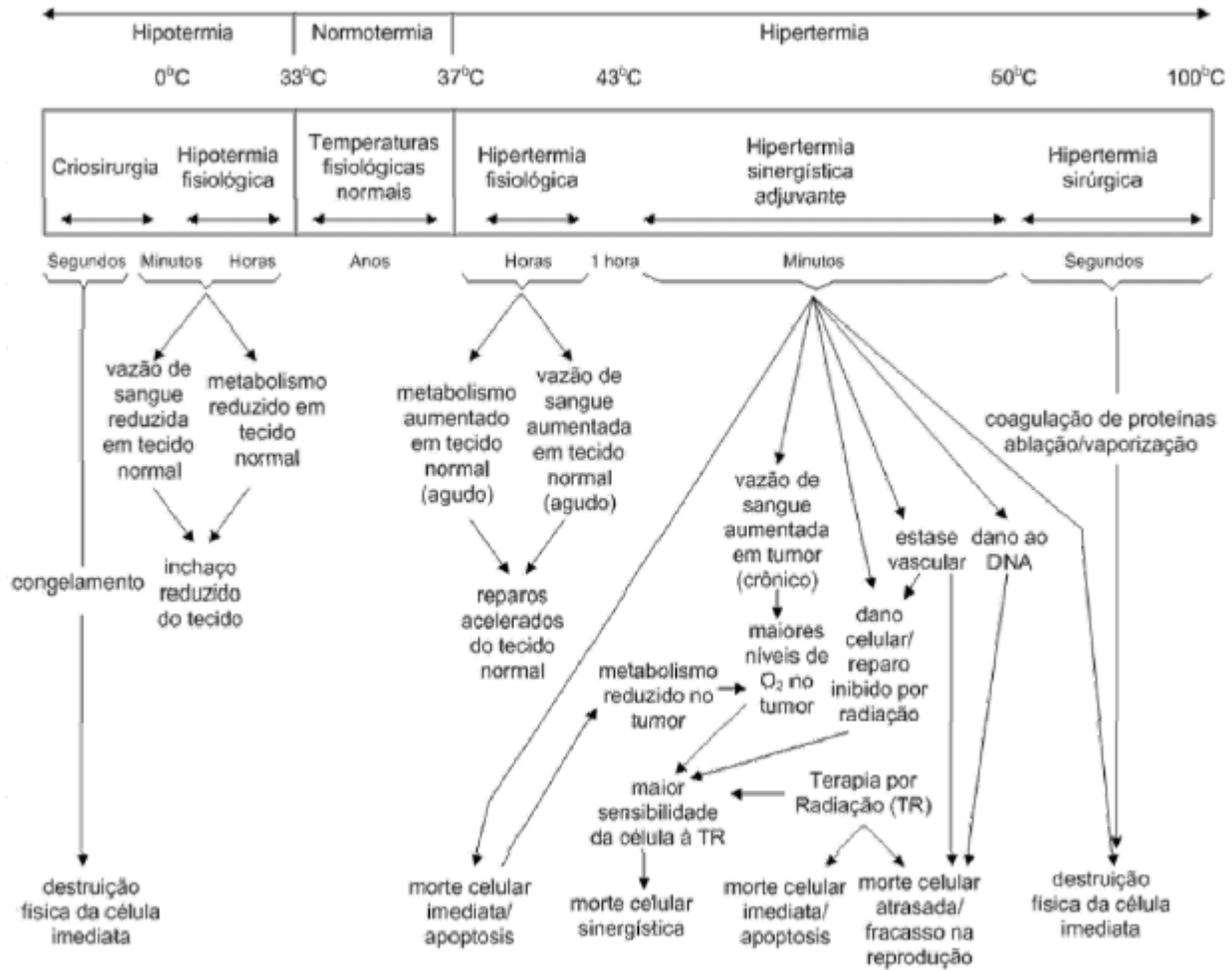


Figura 4: Diagrama descrevendo as faixas em que se aplicam as terapias térmicas [22].

Os efeitos térmicos em tecidos biológicos vivos podem ser sumarizados em função da temperatura alcançada no tecido e do tempo em que o tecido permanece nesta temperatura, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1: Efeitos térmicos em tecidos biológicos vivos [24].

Faixa de temperatura (°C)	Requerimento de tempo	Efeitos físicos	Efeitos biológicos
< -50	> 10 min	Congelamento	Completa destruição celular
0 – 25		Permeabilidade reduzida	Perfusão de sangue reduzida, metabolismo celular reduzido, morte hipotérmica
30 – 39	Sem limite	Nenhuma variação	Crescimento
40 – 46	30 – 60 min	Mudanças em propriedades óticas	Perfusão aumentada, indução à termotolerância, morte hipertérmica
47 – 50	> 10 min	Necrose, coagulação	Desnaturação de proteínas, nenhum efeito sutil
> 50	> 2 min	Necrose, coagulação	Morte celular
60 – 140	Segundos	Coagulação, ablação	Desnaturação de proteínas, ruptura de membrana, encolhimento de células
100 – 300	Segundos	Vaporização	Encolhimento de células e vacúolos de vapor extracelulares
> 300	Frações de segundos	Carbonização, geração de fumaça	Carbonização

Os mecanismos biológicos e fisiológicos pelos quais as terapias térmicas funcionam não foram ainda completamente elucidados [23]. Entretanto, diversos mecanismos foram propostos, incluindo a citotoxicidade hipertérmica direta, a qual pode ocorrer imediatamente (como no caso de danos à membrana celular ou ao citoesqueleto) ou com maior delonga (como no caso da interrupção do ciclo reprodutivo da célula); e os efeitos hipertérmicos indiretos, os quais são iniciados (a) por fatores puramente térmicos (danos térmicos ao suprimento vascular do tumor e, portanto, interrompendo o metabolismo celular e levando, eventualmente, à morte celular) ou (b) por efeitos sinérgicos, seja por inibição mediada por danos térmicos diretos aos mecanismos de reparação celular por radioterapia subletal ou potencialmente letal, ou por meio da indução de um aumento dos

níveis de concentração de oxigênio no tumor em radioterapia subsequente como potencialmente causada tanto por uma redução no consumo de oxigênio pelo tumor como por um aumento no fornecimento de oxigênio para o tumor via um aumento na vazão de sangue [23].

O desenvolvimento de uma resistência celular e vascular à terapia térmica, denominada termotolerância, em células inicialmente submetidas a baixas doses térmicas, bem como a ação de níveis de pH extracelular agudamente reduzidos no sentido de intensificar os efeitos da hipertermia foram observados somente em situações *in vitro*, não sendo, portanto, considerados clinicamente relevantes. A principal propriedade da célula que aparentemente é modificada pela temperatura é a taxa de crescimento, a qual aumenta com o aumento da temperatura (acima de 37° C) até uma temperatura máxima acima da qual o crescimento é abruptamente inibido. Na região hipertérmica, acima da temperatura de crescimento máximo, há três tipos de respostas celulares significativas para a terapia térmica: citotoxicidade, radiosensibilização, e termotolerância.

Estas mudanças no nível celular são devido a alterações induzidas por temperatura nas rotas moleculares, isto é, no metabolismo. Embora o mecanismo preciso pelo qual o calor destrói as células não tenha sido completamente elucidado, independentemente dos interesses pelas comunidades científicas, médica e comercial durante as últimas décadas, há, entretanto, um consenso de que a morte celular é causada pela desnaturação térmica de alvos críticos nas células. A morte celular na faixa de temperaturas abaixo de 8° C aumenta significativamente com o decréscimo da temperatura, e este processo é denominado de morte hipotérmica.

A hipertermia clássica (convencional) se fundamenta no alcance de temperaturas de 42 a 45° C por períodos de 30 a 60 minutos para causar danos celulares irreversíveis. O aumento de temperatura para 50° C reduz o tempo requerido para promover danos celulares irreversíveis decresce exponencialmente. O processo de aquecimento do tecido enfermo leva à desnaturação proteica causando morte da célula tumoral.

O dano causado ao tecido por calor ocorre em duas etapas distintas. A etapa inicial é o dano direto por calor que é predominantemente determinado pela energia total aplicada à região de tratamento (tumor) [24].

Os mecanismos de danos térmicos diretos e de termosensibilidade envolvem interações complexas em níveis celulares e subcelulares. A membrana celular parece ser o componente celular mais vulnerável aos danos por calor. Diversos estudos demonstraram que as células de tumores são destruídas a temperaturas mais baixas em relação as células normais. A segunda etapa de dano por calor é o dano indireto após a aplicação de hipertermia focalizada, que produz uma progressão no dano ao tecido [24].

Estes danos progressivos podem envolver um balanço de vários fatores, incluindo dano microvascular, dano por esquiemia, reperfusão, indução de apoptose, ativação celular de Kupffer [24], expressão de citocina, e modulação da resposta imune. Os efeitos do calor dependem das temperaturas alcançadas, determinadas pela energia térmica total aplicada, pela taxa de remoção de calor, e pela sensibilidade térmica específica do tecido em tratamento.

O calor causa mudanças significativas na fisiologia dos tecidos biológicos, destacando-se o aumento na perfusão de sangue, permeabilidade vascular e da atividade metabólica da célula [24]. Entretanto, a variável fisiológica mais importante na elevação da temperatura do tecido biológico é a vazão de sangue. A vascularização é também um dos principais veículos pelos quais o calor é dissipado nos tecidos biológicos [24]. Nesse sentido, quanto mais baixo o fluxo de sangue, mais fácil será o aquecimento local do tecido biológico. Embora tumores sólidos possam apresentar valores de vazões de sangue que podem ser maiores que a de certos tecidos normais, o suprimento de sangue para os tumores são geralmente primitivos e caóticos por natureza, o que pode resultar em áreas que são destituídas de nutrientes, de baixas concentrações de oxigênio e pH inferior ao fisiológico (pH 7,4). A experiência da medicina clínica indica que as células tumorais são em geral mais sensíveis ao efeito térmico nas condições biológicas adversas citadas anteriormente.

2.2. Avanços no Desenvolvimento de Materiais para aplicações em Magnetohipertermia: Nanopartículas Magnéticas e Superparamagnéticas

É fato observável neste mundo que um país só cresce se investir em ciência, o que gera um impacto marcante em tecnologia. Deve ser observado inicialmente que a ciência é o conjunto de conhecimentos adquiridos ou produzidos que visam compreender e orientar a natureza e as atividades humanas, enquanto a tecnologia é o conjunto de conhecimentos, especialmente, princípios científicos, que se aplicam a um determinado ramo de atividade, geralmente com fins industriais, isto é, a aplicação do conhecimento científico adquirido de forma prática, técnica e economicamente viável [25].

Neste novo século, a nanotecnologia é a engrenagem da ciência contemporânea e representa a habilidade de se manipular átomos e moléculas individualmente para produzir materiais nanoestruturados e micro objetos com aplicações no mundo real. Deve ser observado que a nanotecnologia não é uma tecnologia específica, mas todo um conjunto de técnicas baseadas na Física, Química, Biologia, na Ciência e Engenharia de Materiais e na Computação, que visam estender a capacidade humana de manipular a matéria até os limites do átomo.

Dentro do contexto da nanotecnologia, as nanoesferas com propriedades magnéticas e óticas têm um grande potencial para aplicações em diversas vertentes biotecnológicas. De maneira geral, as aplicações biomédicas das nanopartículas magnéticas compreendem as que envolvem sua administração dentro do organismo (*in vivo*) e as externas ao organismo (aplicações *in vitro*). As aplicações *in vivo* ainda podem ser classificadas em terapêuticas (hipertermia e transporte de drogas) e diagnósticas (imagens de ressonância magnética nuclear). As aplicações *in vitro* compreendem essencialmente as diagnósticas (separação/seleção celular). Para sua utilização na área biomédica, as nanopartículas magnéticas devem atravessar a barreira endotelial e se acumular especificamente nas células-alvo, sem dano às células normais. Estas características podem ser atingidas por meio do recobrimento das partículas com um material biologicamente ativo, do controle de seus

parâmetros físicos, tais como o tamanho da partícula, a susceptibilidade magnética da solução e o conhecimento do seu comportamento no organismo.

As pesquisas em torno do nanoencapsulamento de materiais de interesse da medicina, particularmente da nanomedicina, foram embasadas pelo trabalho de Würster no século passado com o processo patenteado de encapsulamento de finas partículas sólidas em leite fluidizado [26]. Em seguida veio o processo de coacervação, uma técnica inicialmente utilizada para o encapsulamento de líquidos e posteriormente adaptado para o preparo de nanopartículas.

Na grande maioria dos trabalhos observados na literatura, os sistemas que se mostraram particularmente interessantes para o encapsulamento de nanopartículas foram os polímeros biodegradáveis. Trata-se de um sistema na qual o direcionamento do fármaco a sítios-alvo específicos do organismo é claramente identificável, sendo também significativamente estável, não sendo reconhecido pelo sistema imunológico. Trata-se, portanto, de um mecanismo para investigar o comportamento de carregadores coloidais em organismos vivos, estritamente ligados à liberação controlada de fármacos e que contribui diretamente para a terapia do câncer [26].

Recentemente nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido novos nanobiomateriais magneticamente ativos para o diagnóstico e terapia do câncer [21]. Os novos nanobiomateriais obtidos são capazes de destruir apenas as células neoplásicas do organismo, preservando as sadias o que poderá permitir a redução dos graves efeitos colaterais associados à quimioterapia. Simultaneamente, poderá também haver uma melhora significativa na qualidade de vida do paciente.

O fundamento da terapia clínica com os novos nanobiomateriais é a utilização de nanopartículas com propriedades magnéticas e óticas projetadas para o diagnóstico e a terapia do câncer [27]. Devido à sua toxicidade para o organismo humano, o transporte das nanopartículas é efetuado por nanoesferas que contém em sua superfície um agente capaz de distinguir e destruir as células cancerosas [27]. Nano é um prefixo grego que significa “anão”. Um nanômetro é igual a 1 (um) bilionésimo de metro. Para termos uma ideia desta escala de comprimento, um fio de cabelo possui o diâmetro de 100.000 nm. Dessa forma, a

nanobiotecnologia está relacionada à manipulação da matéria ao nível molecular, visando à criação de novos materiais para a área da saúde, tais como, substâncias e produtos aplicados em processos biológicos, isótopos radioativos e compostos fluorescentes com aplicações que vão desde carregadores de quimioterápicos até sistemas fotônicos. A utilização de nanoesferas bioativas em medicina implica na obtenção de dispositivos dirigidos a alvos específicos no organismo humano, no combate as células tumorais [28].

Uma ilustração comparativa da escala comparativa de tamanho entre os sistemas biológicos e nanopartículas sintéticas é ilustrado pelas micrografias do microscópio eletrônico de varredura, conforme Figura 5 abaixo.

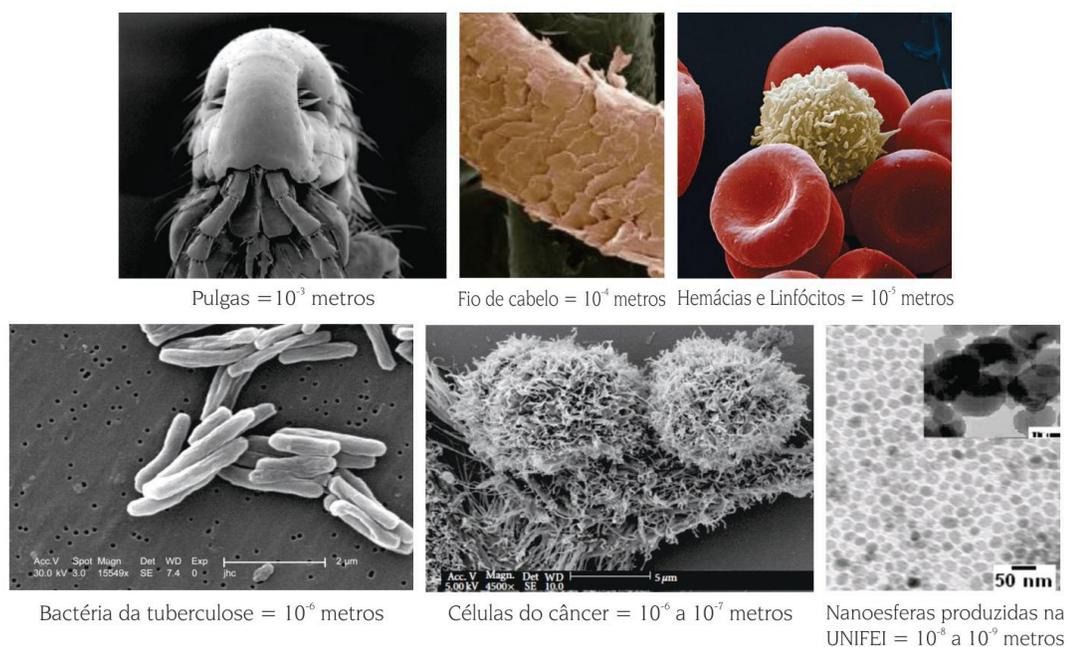


Figura 5: Escala nanométrica de sistemas biológicos naturais e das nanoesferas magnéticas sintetizadas na UNIFEI [28].

As nanoesferas magnéticas têm recebido atenção especial para a utilização no tratamento do câncer pela técnica hipertêmica por poderem ser guiadas ou localizadas em um alvo específico por campos magnéticos externos. A possibilidade da vetorização de nanoesferas magnéticas através de gradientes de campos magnéticos levou ao desenvolvimento de várias técnicas de encapsulamento de partículas magnéticas de forma

que os sistemas obtidos se tornassem efetivos carregadores de drogas com especificidade tumoral para a liberação controlada de agentes quimioterápicos.

A Magnetohipertermia é um procedimento terapêutico empregado para proporcionar aumento de temperatura em uma região do corpo que esteja afetada por uma neoplasia, com o objetivo de causar a lise das células cancerosas. Seu princípio de funcionamento se baseia no fato de que a temperatura de 41°C a 42°C tem o efeito de destruir diretamente as células tumorais, uma vez que estas são menos resistentes a aumentos bruscos de temperatura do que as células normais circunvizinhas [29]. A técnica magnetohipertêmica também é um dos melhores coadjuvantes que aumenta a eficácia da radioterapia e da quimioterapia [5].

Biomateriais podem ser classificados como àqueles materiais utilizados na fabricação de dispositivos médicos e que estarão em contato com os tecidos biológicos. Portanto, um biomaterial é parte de um sistema que trata, aumenta ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo humano. Grande parte dos materiais sintéticos de uso em saúde é classificada como biomateriais: próteses, lentes, enxertos, stents, cateteres, tubos de circulação extra-corpórea e arcabouços (scaffolds) empregados na engenharia de tecidos, entre outros [30].

O comportamento magnético das partículas é, em geral, fortemente dependente das suas dimensões. Por exemplo, as partículas menores que se ordenam magneticamente tendem a ser monodomínios, e as maiores (acima de certo diâmetro crítico D_{crit}) serão multidomínios. As partículas também têm outras propriedades que dependem das suas dimensões. Por exemplo, a temperatura de ordenamento magnético de nanopartículas depende de certa maneira regular com o diâmetro. Isso pode ser visto no comportamento de nanopartículas de maghemita ($Y-Fe_2-O_3$), vide Figura 6.

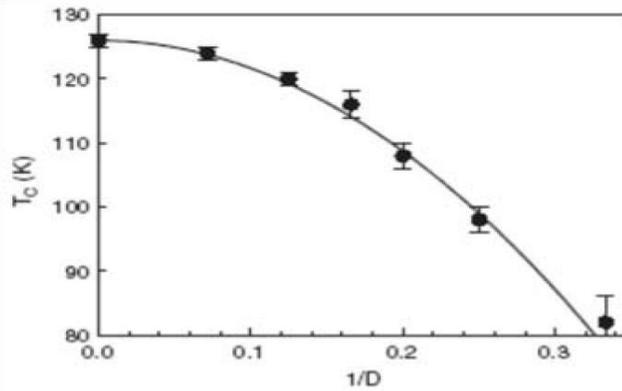


Figura 6 – Temperaturas de ordem magnética versus inverso do diâmetro de partículas esféricas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), obtidas por simulação Monte Carlo. A linha contínua é dada pela equação $(T_c(d) - T_c(\infty))/(T_c(\infty)) = \pm(d/d_0)^{-1/\nu}$ [31].

Considerando-se um conjunto de pequenas partículas magnéticas sob a influência de um campo magnético aplicado antiparalelo a direção inicial de magnetização. A magnetização aponta originalmente ao longo do eixo de anisotropia ($\theta = 0$) e neste caso a energia de anisotropia é mínima. Existe outro mínimo da energia de anisotropia na configuração em que a magnetização aponta no sentido oposto ($\theta = \pi$); esses dois mínimos são separados por uma barreira de potencial. Para $H = 0$, a altura da barreira é $E_B = KV$, onde K é a constante de anisotropia efetiva e V é o volume da partícula [32], conforme a Figura 7 ilustra abaixo.

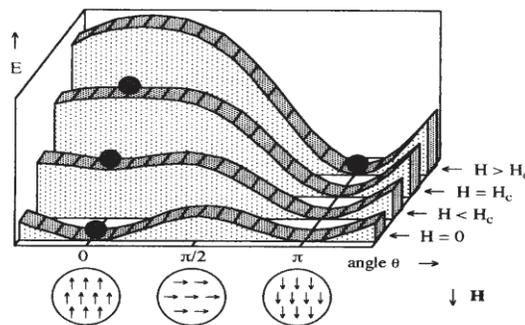


Figura 7 – Energia de uma partícula magnética monodomínio com anisotropia em presença de um campo H aplicado, em função do ângulo θ do campo com o eixo de anisotropia, para diferentes valores do campo. Note a mudança da forma da curva em função da intensidade de H [32].

Se as partículas monodomínio tiverem um volume menor do que um dado volume crítico V_{crit} a energia térmica (kT) será maior do que altura da barreira de potencial E_B . Neste caso as partículas irão se comportar como superparamagnetos, a orientação dos seus momentos magnéticos não será estável e o seu comportamento magnético será descrito pela função de Langevin, o limite clássico da função de Brillouin.

As partículas com volumes muito maiores do que V_{crit} (mas ainda monodômios) terão uma magnetização com orientação estável, ou estacionária, e sua curva de magnetização será descrita pelo modelo Stoner-Wohlfarth. No regime Stoner-Wohlfarth, os momentos atômicos individuais giram de forma homogênea ou coerente, sob a ação do campo aplicado \mathbf{H} , de tal modo que os momentos locais permanecem paralelos durante a rotação. Essa rotação normal da magnetização é chamada rotação de Neel [32]. Por outro lado, em pequenas partículas que têm liberdade para girar como um todo, podemos observar rotação mecânica, no que se chama frequentemente de rotação de Brown. Este último fenômeno é importante, por exemplo, em sistemas de partículas magnéticas em suspensão, os ferrofluidos [32].

À medida que o tamanho das partículas aumenta a inversão da sua magnetização não pode mais ser homogênea, e sua rotação se dá através de processos conhecidos como enrolamento ('curling'), dobramento ('buckling') [33]. Cada um desses processos exhibe uma configuração característica de spins individuais, ou da magnetização local $\mathbf{M}(\mathbf{r})$. Outro mecanismo de rotação é um comportamento coletivo envolvendo várias partículas homogeneamente magnetizadas que se chama acoplamento em leque (em inglês 'fanning').

As partículas maiores, por sua vez, são multidomínios e mudam sua magnetização rearranjando sua estrutura de domínios; em outras palavras, a magnetização varia devido ao movimento das paredes de domínios, ou por mudanças na topologia dos domínios [33]. Uma grandeza importante no magnetismo e que varia com o tamanho das partículas é o campo coercivo \mathbf{H}_c , que pode portanto ser usado para caracterizar os diferentes regimes magnéticos, na qual \mathbf{H}_c está desenhado em função do diâmetro da partícula. Campo coercivo e coercividade são sinônimos. Também se emprega a expressão força coerciva, para à medida que se obtém quando se tenta medir o campo coercivo a partir de uma curva

de magnetização na qual não se atinge a saturação [34]. O campo coercivo é usualmente definido como o campo na direção oposta à magnetização, para o qual $M = 0$. Em uma definição mais precisa seria o campo magnético para o qual a maioria das partículas inverte a sua magnetização [35]. O campo nesta condição é equivalente ao campo para o qual se verifica $dM^{irr}/dH = \chi^{irr} = max$, onde M^{irr} e χ^{irr} são as partes irreversíveis da magnetização e da suscetibilidade. Vide Figura 8.

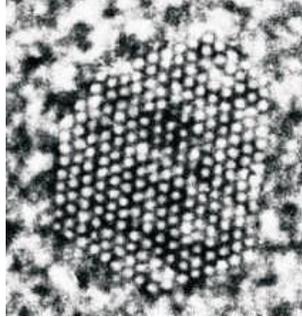


Figura 8 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura de uma partícula de cobalto de 3 nm [36].

Como foi dito acima, a coercividade ou o campo coercivo variam em função do tamanho das partículas magnéticas. Esta dependência está mostrada de forma esquemática na Figura 9.

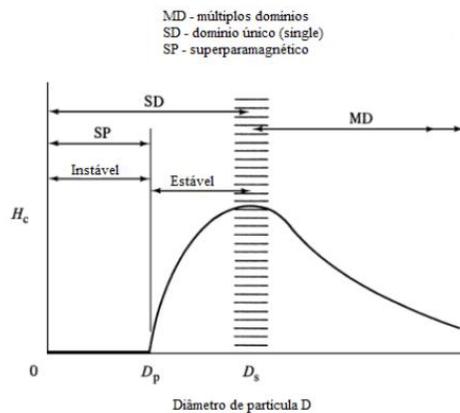


Figura 9 – Curva esquemática de coercividade versus tamanho da partícula magnética, mostrando dois regimes: a) monodomínio superparamagnético para $0 < D < D_{crit}$, b) monodomínio e multidomínio ferromagnéticos para $D > D_{crit}$ [33].

Três regiões podem ser identificadas: 1) para diâmetros muito pequenos, o momento magnético não é estável, e, portanto $H_c = 0$ (tipicamente abaixo de $D \approx 3$ nm); 2) para um diâmetro intermediário (tipicamente para $3 \text{ nm} < D < 10 \text{ nm}$), o momento é estável e a coercividade cresce com D , e finalmente, 3) para diâmetros maiores, (tipicamente acima de vários μm), o regime é de multidomínio e a coercividade cai com o aumento de D . Um exemplo de dependência do campo coercivo com o tamanho é dado pelo comportamento magnético das partículas de Fe, Co, e CoOFe_2O_3 mostrado na Fig. 10 [37]. A coercividade de um elipsóide de um material magnético homogêneo de volume V é limitada, e este limite foi derivado por Brown [38]:

$$H_c \geq \frac{2K_1V}{\mu_0 M_s} - NM_s \quad [2]$$

Sendo que μ_0 é a permeabilidade do vácuo, K_1 é a constante de anisotropia, M_s é a magnetização de saturação e N é o fator de desmagnetização.

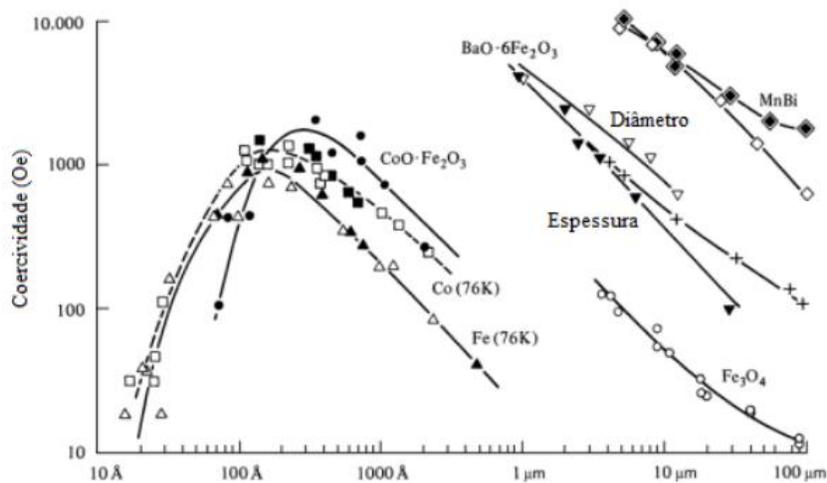


Figura 10 – Dependência da coercividade magnética com o tamanho da partícula [37].

O termo mais importante na Equação (2) é o campo de anisotropia (o primeiro termo); o termo NMs , o campo de desmagnetização, é menor, pois o fator de desmagnetização N é um número igual ou menor que um, e $\mu_0 Ms \sim 1/T$. Esta expressão, portanto, prevê que a coercividade deve ser comparável ao campo de anisotropia. Essa relação não é observada experimentalmente e essa discrepância (conhecida na literatura como o paradoxo de Brown) tem uma explicação simples: em amostras magnéticas reais existem sempre imperfeições que favorecem a nucleação de domínios de magnetização oposta, reduzindo em consequência a coercividade [37].

Supondo que se aplique a uma partícula um campo magnético que é suficiente para saturá-la magneticamente; reduzindo-se a amplitude do campo até que este começa a crescer no sentido oposto, existirá certo ponto além do qual a magnetização salta para um valor não saturado. O campo magnético neste ponto é o campo de nucleação. O campo de inversão é o campo para o qual a magnetização satura com o campo no sentido oposto (negativo) [37].

2.3. O Fenômeno do Superparamagnetismo

Como visto acima, uma partícula magnética com energia de anisotropia KV tem dois mínimos de energia, Separados por uma barreira de altura igual a $E_B = KV$. A transição de um mínimo para outro pode ser ativada termicamente, se a energia térmica kT for comparável ou maior do que KV [38].

Considerando um conjunto de partículas magnetizadas e sendo $H = 0$ para $t = 0$, a magnetização evolui, na medida em que as transições são ativadas termicamente entre os dois mínimos, da forma:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{1}{\tau_0} M e^{-\frac{E_B}{kT}} = \frac{1}{\tau_0} M e^{-\frac{KV}{kT}} \frac{M}{\tau} \quad [3]$$

O tempo de relaxação τ_0 é usualmente tomado como igual a 10^{-9} s. A frequência de inversão da magnetização (ou chaveamento) é dada por:

$$\nu = \tau^{-1} e^{-\frac{KV}{kT}} \quad [4]$$

O tempo de relaxação é dado por uma equação da forma:

$$T = \tau_0 e^{EB/kT} \quad [5]$$

A Equação (5) é conhecida como lei de Néel-Arrhenius [38]. No caso em discussão, $E_B = KV$; note que τ depende exponencialmente tanto de V como de T .

O comportamento magnético observado de uma partícula magnética depende da escala de tempo da medida. Para técnicas espectroscópicas o tempo de medida é tomado como $t_m = 100$ s. Se o tempo de relaxação τ for mais curto do que t_m a magnetização medida é zero, e diz-se que a partícula está no regime superparamagnético. Se o oposto acontece (isto é, $\tau > t_m$) a partícula está num regime bloqueado, e uma magnetização não nula é observada [36]. Portanto, dependendo da relação entre o tempo de relaxação τ e o tempo de medida t_m temos:

Tabela 2 – Diâmetro de nanopartículas e tempos de relaxação a temperatura ambiente. Note a enorme variação de τ para uma mudança de menos de 50% do diâmetro [33].

Diâmetro (nm)	τ (s)
6,8	10^{-1}
9,0	$3,2 \times 10^9 = 100$ anos

Para $\tau > t_m \rightarrow$ regime bloqueado (ferromagnético). Como, da Eq [5] [36],

$$\ln \tau = \ln \tau_0 + \frac{KV}{kT} \quad [6]$$

pode-se obter o volume crítico V_{crit} para uma temperatura T , usando $t_m = 100$ s e $\tau_0 = 10^{-9}$ s:

$$V_{crit} \approx \frac{25kT}{K} \quad [7]$$

Por sua vez, o diâmetro crítico é dado por:

$$D_{crit} = \left(\frac{6}{\pi} V_{crit} \right)^{1/3} \quad [8]$$

O volume crítico V_{crit} representa o volume abaixo do qual, a uma dada temperatura, detecta a amostra em regime superparamagnético. A temperatura de bloqueio é dada (de Eq. 8) [38] por:

$$T_B \approx \frac{KV}{25K} \quad [9]$$

Usando a Eq. [6] e notando que $KV = E$ é a altura da barreira (Figura 11), obtém-se:

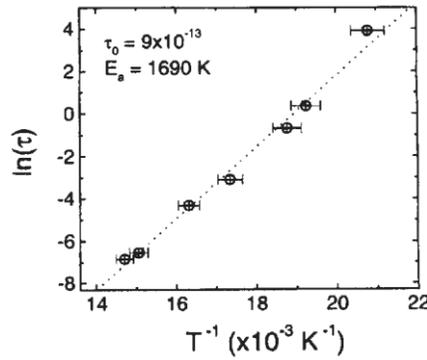


Figura 11 – Tempo de relaxação versus inverso da temperatura de bloqueio para nanopartículas de Fe_3O_4 de diâmetro médio de 5 nm [38].

$$E(t, T) = \kappa T \ln \frac{t}{\tau_0} \quad [10]$$

Da Equação (10) segue-se que as inversões da magnetização que ocorrem com barreiras de energia em torno de E_c podem ser induzidas ou pela variação da temperatura ou do tempo. Portanto, uma medida da relaxação a uma dada temperatura é equivalente a um experimento realizado a uma temperatura diferente T , com a janela de tempo deslocada de acordo com a relação acima. Isto pode ser ilustrado fazendo o gráfico da magnetização medida a diferentes temperaturas em função da variável $T \ln (t/\tau_0)$, com $\tau_0 = 3.5 \times 10^{-11}$ s (Figura 12 abaixo) [38].

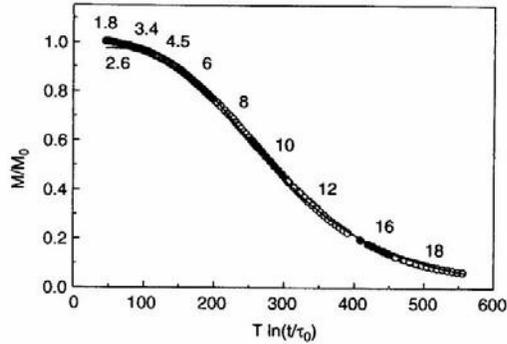


Figura 12 – Efeito de escala da magnetização para partículas de FeC versus $T \ln(t/\tau_0)$ [39].

À temperatura muito baixa a probabilidade de inversão se afasta da dependência implícita na Eq. 10. Este efeito surge do fato de que existe uma probabilidade finita de tunelamento através da barreira de potencial, ou tunelamento quântico macroscópico (TQM). Quando isto acontece, a partícula salta espontaneamente de uma configuração para outra. Este processo não requer excitação térmica.

A taxa ou frequência de inversão da magnetização via tunelamento é [40]:

$$\nu = A(T)e^{\frac{E_B}{KT_{esc}(T)}} \quad [11]$$

onde E_B é altura da barreira e $T_{esc}(T)$ é a temperatura de ‘escape’. As altas temperaturas $T_{esc}(T) = T$ e recaímos na frequência de excitação térmica clássica (Eq.3).

A uma temperatura T os dois mecanismos de inversão, a ativação térmica e o tunelamento, são igualmente prováveis. Em amostras polidispersivas, isto é, formadas de partículas com uma distribuição de tamanhos, podem existir a uma dada temperatura partículas que estão bloqueadas e partículas que estão no regime superparamagnético. Uma distribuição de tamanhos de partícula que é comum é a distribuição log-normal (Fig. 13), definida por:

$$f(V) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma V}} e^{\left[-\ln^2\left(\frac{V}{V_0}\right) \right]} \quad [12]$$

onde σ é o desvio médio quadrático de V e V_0 é o volume médio.

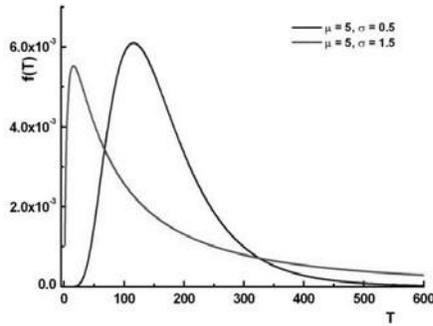


Figura 13 – Distribuição log-normal, para dois valores do desvio médio quadrático σ [40].

Se for considerado um conjunto de partículas magnetizadas até a saturação e aplicarmos em um dado instante um campo no sentido oposto, a fração de partículas que permanecem sem inverter a magnetização depois de um tempo t , ou, o que é equivalente, a probabilidade de que uma partícula não inverta a sua magnetização é [40]:

$$P(t) = e^{-t/\tau} \quad [13]$$

Se as barreiras de energia das diferentes partículas não tiverem a mesma altura, a relaxação da magnetização fora do equilíbrio neste caso pode ser caracterizada pela dependência de τ com a energia (Figura 14):

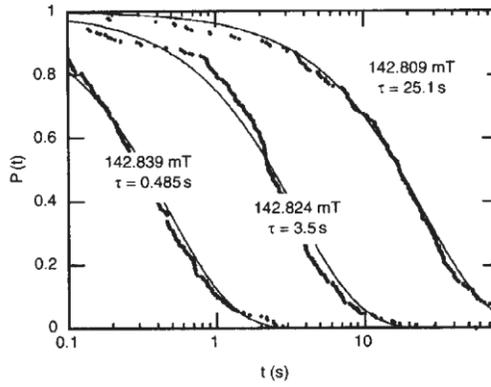


Figura 14– Probabilidade de que uma partícula de Co a 0,5 K de 20 nm de diâmetro não tenha invertido sua magnetização M após um tempo t , versus t . As linhas são ajustes de mínimos quadrados a função, $P(t)$, para diferentes valores do tempo de relaxação τ [39].

$$\tau = \tau(E) \quad [14]$$

A relaxação da magnetização total é dada por uma soma feita sobre as diferentes regiões com diferentes $\tau(E)$ [39]:

$$M(t) = M_1(0)e^{-\frac{t}{\tau(E_1)}} + M_2(0)e^{-\frac{t}{\tau(E_2)}} + \dots = \sum M_i(0)e^{-\frac{t}{\tau(E_i)}} = M(0) \sum f(E_i)e^{-\frac{t}{\tau(E_i)}} \quad [15]$$

onde $f(E_i)$ é a fração da magnetização que corresponde a uma barreira de energia E_i :

$$f(E_i) = \frac{M_i(0)}{M(0)} \quad [16]$$

No limite contínuo [39],

$$M(t) = M(0) \int_0^{\infty} f(E)e^{-\frac{t}{\tau(E)}} dE \quad [17]$$

A integral acima pode ser aproximada [39] por:

$$M(t) \approx M(0) \left[1 - kTf(E_c) \ln \left(\frac{t}{\tau_0} \right) \right] \quad [18]$$

onde E_C é a energia de barreira média relevante para a janela experimental.

O fenômeno da viscosidade magnética consiste na variação da magnetização, sob a ação de um campo magnético constante. A grandeza viscosidade magnética S é definida como:

$$S = - \frac{1}{M(0)} \frac{\partial M}{\partial (\ln t)} \quad [19]$$

A viscosidade magnética é medida magnetizando-se o sistema que está sendo estudado, mantendo-se o campo magnético constante e observando-se o decaimento da magnetização (ex. Figura 15).

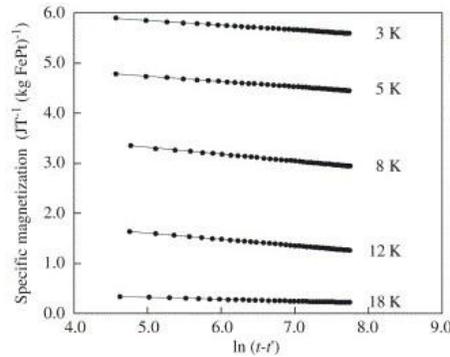


Figura 15– Decaimento da magnetização de nanopartículas de FePt em função de $\ln t$, para diferentes temperaturas [41].

Da definição de S e da expressão aproximada para $M(t)$ obtém-se [41]:

$$S = -\frac{1}{M(0)} \frac{\partial M}{\partial(\ln t)} = f(E_c)kT \quad [20]$$

A Equação (20) descreve o fato de que à medida que E_c varia, a medida da viscosidade magnética mapeia a distribuição de barreiras de energia, conforme ilustra a Figura 16.

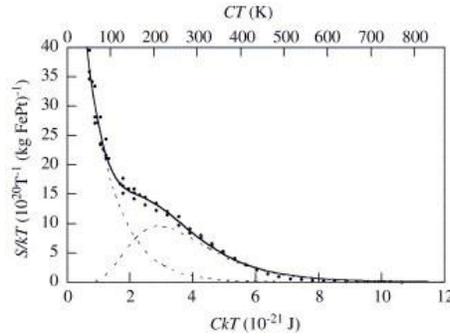


Figura 16 – Distribuição aparente de barreiras de energia dada pelo gráfico de S/kT versus kT para partículas de FePt com peso dado por sua magnetização [41].

2.4. O Superparamagnetismo e a Função de Langevin

A dependência com a temperatura da magnetização de um conjunto de partículas no regime superparamagnético é dada pela função de Langevin. Sua derivação segue os mesmos passos usados para obter a expressão da magnetização de um conjunto de átomos [34]. Diferentemente do caso da magnetização dos átomos, em cuja derivação tem que ser levada em consideração a quantização do momento angular, aqui esta grandeza não é quantizada. Se, diferentemente do caso quântico, os momentos angulares puderem variar continuamente, qualquer valor de μ^z entre 0 e μ será permitido, e os momentos magnéticos poderão apontar para qualquer direção em relação a direção do campo magnético externo \mathbf{B} [34].

A projeção do momento magnético ao longo da direção z no caso clássico é dada por:

$$\mu^z = \mu \cdot \mathbf{k} = \mu \cos \theta \quad [21]$$

onde θ pode tomar qualquer valor entre 0 e π .

Fazendo a média sobre θ , chega-se, a expressão para a projeção na direção z do momento magnético:

$$\langle \mu^z \rangle_T = \mu L(x) \quad [22]$$

onde $x = \mu B/kT$ e $L(x)$ é a função de Langevin, dada por:

$$L(x) = \frac{1}{x} \operatorname{tgh} x - \frac{1}{x^3} \quad [23]$$

A função de Langevin $L(x)$ é, portanto o análogo clássico da função de Brillouin. Esta função descreve bem a magnetização de pequenas partículas formadas de grandes agregados de átomos, em sistemas superparamagnéticos. Nos superparamagnetos os momentos efetivos são muito grandes comparados com um momento atômico, com $10^3 - 10^5$ magnetons de Bohr, por exemplo, e por esta razão, sua magnetização é bem descrita por um modelo clássico com o de Langevin (Figura. 17) [41].

2.5. O Modelo de Stoner-Wohlfarth

O primeiro modelo empregado para descrever o magnetismo de pequenas partículas foi desenvolvido por Stoner e Wohlfarth [42], sendo utilizado nas pesquisas atuais. Neste tratamento, as partículas são consideradas elipsóides, com monodomínio homogêneo. O modelo de Stoner-Wohlfarth corresponde à abordagem micromagnética mais simples, que despreza o termo de troca na função energia total.

Consideremos uma partícula monodomínio com a forma de um elipsoide alongado, com magnetização homogênea e eixo fácil de magnetização na direção z . Sua energia na presença de um campo magnético H cuja direção forma um ângulo ψ com a direção de magnetização fácil (Figura 18) [34].

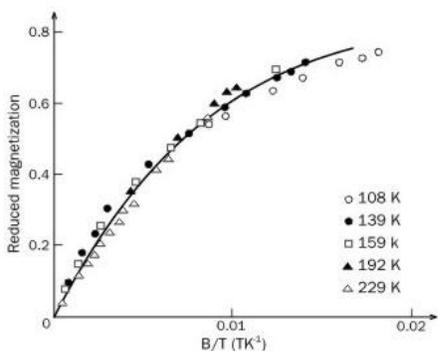


Figura 17 – Variação experimental da magnetização reduzida (M_T/M_0) de partículas superparamagnéticas obtida a diferentes temperaturas, versus B/T ; a linha contínua é a função de Langevin [34].

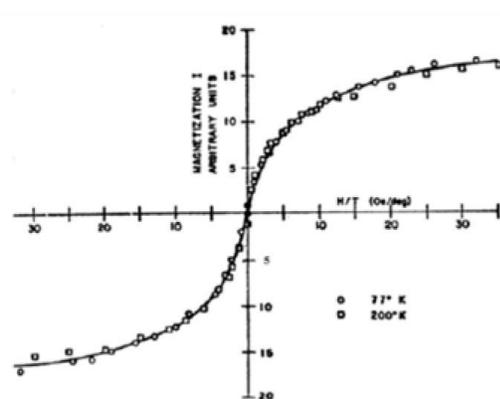


Figura 18 – Curvas de magnetização para uma superparamagneto obtidas a duas temperaturas diferentes, mostrando que as curvas coincidem quando desenhadas versus HxT [40].

e um ângulo θ (com a magnetização com \mathbf{H} no plano yz e \mathbf{M} não no mesmo plano, Figura 19 e 20) é dada por:

$$E = K_1 V \sin^2 \theta - \mu_0 M_s H (\cos \theta \cos \psi + \sin \theta \sin \psi \cos \phi) \quad [24]$$

onde K_1 é a primeira constante de anisotropia, V é o volume da partícula e M_s é a magnetização de saturação. O eixo de anisotropia aqui coincide com o eixo maior do elipsóide. O mecanismo físico que dá origem a anisotropia pode ser a interação dipolar

(anisotropia de forma) ou um efeito combinado da anisotropia cristalina e a anisotropia de forma, ao longo do mesmo eixo, ϕ é o ângulo que a projeção de \mathbf{M} forma com o eixo y.

Com $H = 0$, a magnetização aponta ao longo do eixo de anisotropia; com um campo magnético não-nulo, a magnetização gira e o problema é reduzido a uma configuração planar ($\phi = \pi/2$) [41]:

$$E = K_1 V \text{sen}^2 \theta - \mu_0 M_s H (\cos \theta \cos \psi + \text{sen} \theta \text{sen} \psi) = K_1 V \text{sen}^2 \theta - \mu_0 M_s H (\cos (\psi - \theta)) \quad [25]$$

Minimizando a energia em função de θ , obtemos a magnetização em função de H , para cada valor de θ . Isto é mostrado na Figura 15, para diferentes valores de θ .

Stoner e Wohlfarth [42] também consideraram um conjunto de tais partículas com todos os valores do ângulo; somando as magnetizações dessas partículas, obtém-se uma curva de histerese que tem (a $T = 0$ K) uma remanência magnética de $\frac{1}{2}M_s$ e uma coercividade $H_c = 0,48 h$, onde h é o campo magnético reduzido $h = H/H_a = \mu_0 H M_s / 2K_1 V$ (Fig. 2.17). Para minimizar a energia, calculamos $\partial E(\theta)/\partial \theta = 0$:

$$2K_1 V \text{sen} \theta \cos \theta - \mu_0 M_s H (\text{sen} (\psi - \theta)) = 0 \quad [26]$$

$$\text{sen} 2\theta = (-\mu_0 M_s H / K_1 V) \text{sen} (\theta - \psi) \quad [27]$$

No caso mais simples, no qual o campo magnético \mathbf{H} é aplicado ao longo do eixo de anisotropia (portanto $\psi = 0$), temos dois mínimos no gráfico de energia total versus ângulo, para campos menores do que:

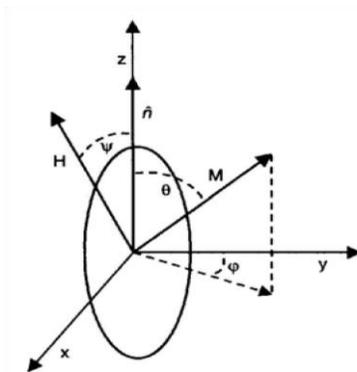


Figura 19 – Partícula monodomínio elipsoidal em um campo magnético \mathbf{H} , mostrando os ângulos relevantes entre o campo, o eixo de anisotropia e a magnetização [39].

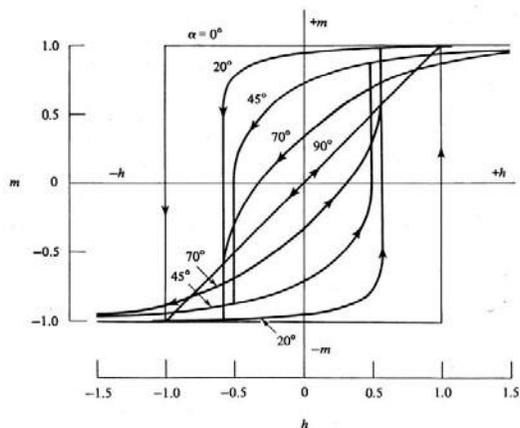


Figura 20 – Curvas de histerese da magnetização reduzida (M/M_s) de elipsoides homogeneamente magnetizados, versus campo magnético reduzido, para diferentes ângulos θ (α na figura), no modelo Stoner-Wohlfarth [33].

$$H_k = \frac{2K_1V}{\mu_0 M_s} \quad [28]$$

Um campo magnético que tem exatamente este valor é apenas suficiente para girar a magnetização, e, portanto é igual ao campo coercivo.

Se incluirmos o campo de desmagnetização, a expressão acima se torna (Figura 21):

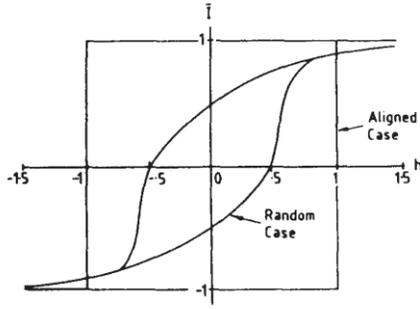


Figura 21 – Curva de histerese de Stoner-Wohlfarth para um conjunto de partículas com todos os valores possíveis de θ e curva para $\theta = 0^\circ$ [42].

$$H_k = \frac{2K_1V}{\mu_0 M_s} - N_{ef} M_s \quad [29]$$

onde N_{ef} é o fator de desmagnetização efetivo da partícula na direção de \mathbf{M} .

A altura da barreira pode ser calculada resolvendo $\partial E(\theta)/\partial\theta = 0$. Para $\psi = 0$, existem três soluções: $\theta = 0$, $\theta = \arccos(-\mu_0 M_s H / (2K_1 V))$ e $\theta = \pi$. A segunda solução corresponde à posição do máximo da barreira, com energia E_{max} . Como $\cos(\mu_0 M_s H / (2K_1 V)) \leq 1$, esta expressão dá o campo mínimo que permite (a $T = 0$ K) a inversão da magnetização, que é H_k na ausência do campo de desmagnetização:

$$H_k = \frac{2K_1V}{\mu_0 M_s} \quad [30]$$

A partir da posição dos mínimos pode-se derivar a altura da barreira, que corresponde a $\Delta E = E_{max} - E(\theta = 0)$. Depois de algumas manipulações algébricas chegamos a:

$$\Delta E = k_1 V \left(1 - \frac{H}{H_k} \right)^2 \quad [31]$$

O campo de comutação ou chaveamento (em inglês 'switching') é o campo que produz uma inversão na direção de magnetização da partícula. Quando um campo de intensidade dada pela expressão acima (Eq. 30) [35] é aplicado no sentido oposto ao da magnetização (ainda ao longo do eixo de anisotropia), \mathbf{M} gira, e neste caso o campo de comutação H_{com} é igual ao campo de anisotropia H_k .

A anisotropia da partícula pode ser caracterizada através da curva de H_{com} versus ângulo ψ entre \mathbf{H} e o eixo de anisotropia. A condição de equilíbrio estável é obtida calculando $\partial^2 E(\theta)/\partial \theta^2$ e igualando a zero (Figura 22):

$$2K_1V \cos 2\theta + \mu_0 M_s H (\cos(\psi - \theta)) = 0 \quad [32]$$

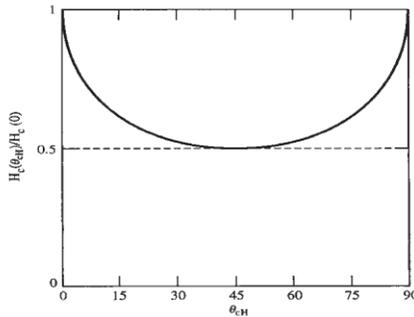


Figura 22 – Dependência angular do campo coercivo H_c no modelo Stoner-Wohlfarth. O gráfico mostra que H_c é máximo para $\theta = 0$ e $\theta = \pi$, isto é, ao longo do eixo fácil de magnetização [35].

$$\cos 2\theta = \frac{2M_s H}{2K_1 V} \cos(\theta - \psi) \quad [33]$$

Dividindo a Eq. 27 pela Eq. 33 obtemos:

$$\tan 2\theta = 2 \tan(\theta - \psi) \quad [34]$$

O que leva a:

$$\tan \theta = -2 \tan^{1/3} \psi \quad [35]$$

Elevando ao quadrado e somando a Eq. 27 e a Eq. 33, obtemos após uma breve operação o campo magnético H com que satisfaz a condição de comutação da magnetização. Este é descrito por uma curva conhecida como astróide, dada por:

$$H_{com} = \frac{H_k}{(\sin^{2/3} \psi + \cos^{2/3} \psi)^{3/2}} \quad [36]$$

Com

$$H_k = \frac{2K_1V}{\mu_0 M_s} \quad [37]$$

o campo de anisotropia.

A curva de H_{com}/H_k , para os valores do ângulo ψ de 0 a 2π é obtida medindo-se o campo de comutação em função do ângulo para uma única partícula. Medidas de campos de comutação com uma única partícula usando micro-SQUIDS dão esta forma de dependência, como mostrado na Figura 23 e 24 [43].

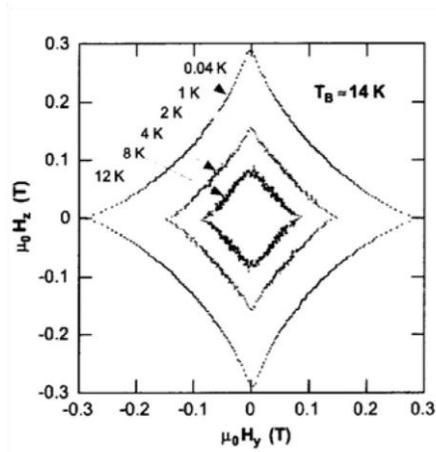


Figura 23 – Curvas de campo de comutação versus ângulo (astróides), para uma nanopartícula de Co a diferentes temperaturas [43].

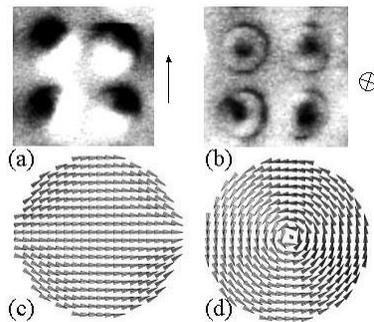


Figura 24 – Imagem de microscopia de força magnética (MFM) de quatro discos de Co (001) de 200 nm de diâmetro, a) como monodomínios, e d b) como vórtices. c) e d) são os gráficos de vetores da magnetização obtidos por simulação micromagnética tridimensional de um único disco de Co [40].

2.6. Os Efeitos de Superfície no Magnetismo dos Materiais

A quebra de simetria de translação que se observa na superfície de pequenas partículas ou agregados ('clusters') magnéticos conduz a uma complexa distribuição de direções dos spins. A imagem que se tem da superfície das partículas é uma região com desordem de spins, semelhante a um vidro de spins, acoplada magneticamente ao caroço ordenado da partícula. Estão associados a essa desordem na superfície comportamentos irreversíveis, fenômenos dependentes do tempo e uma dureza magnética aumentada [44].

A estrutura desordenada de spins na superfície de uma partícula magnética pode ser ilustrada com uma configuração de spins calculada usando o método de Monte Carlo, aplicado a uma partícula de NiFe_2O_4 com 400 nm de diâmetro (Figura 25).

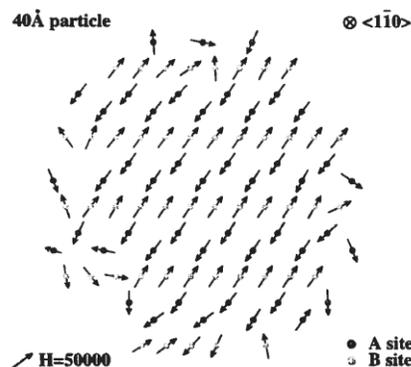


Figura 25 – Configuração calculada de spins em nanopartícula de 400 nm de NiFe_2O_4 , mostrando a desordem de spins na superfície da partícula [44].

Usualmente o efeito de quebra de simetria na superfície de um sólido magnético leva ao surgimento de um termo a mais na anisotropia, da forma:

$$H = K_s S_{\perp}^2 \quad [38]$$

onde S é a componente perpendicular do spin. A constante de anisotropia K_s pode ser positiva ou negativa: no primeiro caso a superfície se torna um plano fácil, no segundo sua normal torna-se uma direção fácil. Este termo de anisotropia pode ser dominante para os átomos superficiais (Figura 26) [44].

A anisotropia efetiva para pequenas partículas esféricas usualmente apresenta a seguinte dependência com o diâmetro d das partículas [45]:

$$K_{ef} = K_{vol} + \frac{6}{d} K_s \quad [39]$$

onde K_{vol} é a constante de anisotropia de uma amostra macroscópica, e K_s é dada em unidades de energia por área. A rigor, tomar na equação K_{vol} como idêntica a constante de anisotropia de um sistema macroscópico é uma aproximação.

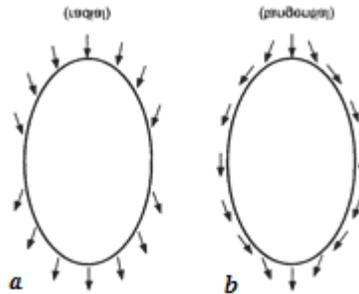


Figura 26 – Representação esquemática da anisotropia na superfície de uma partícula da forma S^2 em dois casos: a) $K < 0$ (radial) e b) $K > 0$ (tangencial) [39].

2.7. O Fenômeno de Interação entre Partículas Magnéticas

Um conjunto de nanopartículas magnéticas pode interagir, dependendo da distância entre elas, através da interação dipolar, da interação de troca, e da interação RKKY, no caso de partículas em um meio condutor. Essas interações modificam o magnetismo do sistema, e a descrição de suas propriedades magnéticas, como por exemplo, os parâmetros que caracterizam sua curva de histerese, não pode mais ser feita com um modelo simples como o modelo Stoner Wohlfarth [47].

Um sistema de partículas magnéticas pode ser desmagnetizado por um processo que conduz a uma configuração na qual a probabilidade de uma partícula ter magnetização ao longo de qualquer direção é igual a probabilidade da magnetização na direção oposta. Isto leva a que em um sistema sem interações, a curva de magnetização virgem m_{vir} fique exatamente na média entre o ramo superior da curva de histerese m_{sup} e o ramo inferior m_{inf} [46]:

$$\Delta m = m_{vir} - \frac{1}{2}(m_{sup} - m_{inf}) \quad [40]$$

Quando estão presentes interações, por outro lado, há um desvio na magnetização, e este desvio é uma medida da intensidade das interações:

$$\Delta m_{exp} = (m_{vir})_{exp} - \frac{1}{2}(m_{sup} - m_{inf})_{exp} \quad [41]$$

Outro aspecto importante do magnetismo de um sistema de partículas é a dependência da sua magnetização com o campo magnético aplicado. Como vimos acima, um sistema de partículas idênticas supermagnéticas tem a sua magnetização versus \mathbf{H} bem descrita por uma função de Langevin:

$$M = N\mu L\left(\frac{\mu B}{kT}\right) \quad [42]$$

Simulações numéricas mostram que o efeito das interações dipolares sobre a magnetização pode ser estimado mantendo a magnetização sob a forma acima, apenas introduzindo uma temperatura aparente $T_a > T$, que substitui T no denominador do argumento da função de Langevin [47]. Isto pode ser justificado se pensarmos que um campo dipolar aleatório, devido às outras partículas, variando com uma frequência elevada ($\approx 10^9$ Hz), tem o efeito de reduzir a ordem devida a um campo externo.

A temperatura T_a se relaciona a T através da relação $T_a = T + T^*$, onde T^* é dada pela relação com a energia dipolar \mathbf{D} :

$$kT^* = \varepsilon_D = \frac{\alpha\mu^2}{d^3} \quad [43]$$

onde d é a distância média entre as partículas e α é uma constante de proporcionalidade que resulta da soma dipolar.

Alguns resultados experimentais para a grandeza T^* que mede a intensidade da interação entre partículas são mostrados na Tabela 2.6.

Os processos de relaxação das pequenas partículas magnéticas também são afetados pela interação entre elas. Na presença de interações, a imagem de uma única barreira de energia entre duas configurações ($\theta = 0$, $\theta = \pi$), e o processo de inversão da magnetização passa a envolver uma paisagem complexa com muitos mínimos locais, analogamente ao caso dos vidros de spin. A inversão da magnetização de uma única partícula modifica toda essa paisagem.

No modelo mais simples, a temperatura de bloqueio e o tempo de relaxação são relacionados através de uma equação tipo Vogel-Fulcher [48], na Figura 27.

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E_B}{k(T_B - T_0)}\right) \quad [44]$$

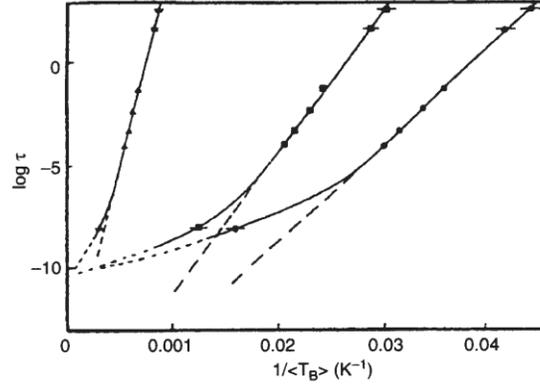


Figura 27 – Gráfico de $\log_{10}\tau$ versus inverso da temperatura de bloqueio para partículas de Fe em uma matriz de alumina. As diferentes curvas correspondem a amostras com diferentes intensidades da interação entre as partículas [49].

Na equação acima, T_0 é uma medida da intensidade da interação, e tem dimensão de temperatura. O efeito das interações dipolares pode ser visto no gráfico da Fig. 23 no qual se representa $\ln \tau$ versus $1/T_B$. As diferentes curvas correspondem a diferentes intensidades de interação entre as partículas (obtidas variando as distâncias inter-partículas); cada curva corresponde a um valor de T_0 [49].

Um estudo realizado em um sistema formado por grãos magnéticos monodomínio de diferentes diâmetros (polidispersivo) mostrou que as interações entre estes levam, a baixas temperaturas, a uma redução da coercividade e da remanência [50]. Neste estudo, realizado por simulações utilizando a técnica de Monte Carlo, foram consideradas interações dipolares e de troca entre as partículas. Dependendo do seu diâmetro, as partículas se encontram ou bloqueadas ou no estado superparamagnético. O campo agindo sobre cada partícula é dado por:

$$H_T = H_a + \sum_{i \neq j} \left(\frac{3(\mu_i \cdot r_{ij})r_{ij}}{d_{ij}^3} - \frac{\mu_j}{d_{ij}^3} \right) + C * \sum_{i \neq j} \mu_j \quad [45]$$

Nesta expressão, H_a é o campo aplicado; o segundo termo é o campo dipolar e o terceiro termo o campo de troca. O campo dipolar é tomado como resultante da interação de partículas compreendidas a uma distância de até três vezes o diâmetro mediano das partículas, e o campo de troca devido apenas às partículas mais próximas. C^* é um parâmetro que mede a intensidade do campo de troca.

A energia total é a soma da energia de anisotropia com a energia de interação com o campo H_T :

$$E_T = KV \operatorname{sen} 2\alpha - \mu_0 \mu H_T \cos \beta \quad [46]$$

Um estudo supondo apenas interação dipolar entre as partículas, também realizado com a técnica de simulação Monte Carlo, encontrou um máximo para a coercividade em função da concentração de partículas, ou em função do inverso da distância entre elas [51]. Esse máximo é nítido no caso de anisotropia zero, e desaparece quando a anisotropia aumenta (Tabela 3).

Tabela 3 – Temperatura $T^* = T_a - T$ que caracteriza a intensidade da interação entre grãos no sistema $\text{Co}_{90}\text{Cu}_{10}$, e raio equivalente dos grãos. T_a é a temperatura aparente [47].

$\langle R \rangle$ (nm)	T^* [300 K]
4,2	3310
5,3	5960
2,6	1170
1,4	210 ^a
1,5	55 ^b
2,2	215
2,4	270
2,4	325

a: $T=251$ K; b: $T=244$ K.

2.8. Os Mecanismos da Histerese Magnética e a Dissipação de Calor

A susceptibilidade magnética em fluidos magnéticos retrata a resposta ao campo magnético com respeito à dispersão e absorção de energia. A susceptibilidade diminui à medida que decresce o tamanho da partícula, o mesmo ocorrendo com a magnetização do sistema [52].

Considerando um fluido magnético com uma polidispersão de nanopartículas submetido ao campo magnético \mathbf{H} , a energia do sistema resultará da população de momentos magnéticos alinhados com o campo e contrário ao campo magnético. Ao retirarmos o campo magnético o momento magnético da nanopartícula terá basicamente dois mecanismos de relaxação: a relaxação Browniana e relaxação de Néel. Tais processos de relaxação dependem da relação entre a energia térmica e a energia de anisotropia, com dois casos limites [52]:

$\frac{KV}{kT} \gg 1$: Neste caso, temos a possibilidade de relaxação Browniana (rotação extrínseca), pois o momento magnético da nanopartícula está bloqueado na direção do eixo de fácil magnetização. A relaxação ocorre devido à rotação das nanopartículas. O tempo de relaxação tem origem hidrodinâmica sendo dado por [53]: $\tau_B \frac{3V_H \eta}{kT}$ em que (V_H) é o volume hidrodinâmico da partícula, (η) a viscosidade do líquido carreador, k a constante de Boltzmann e (T) a temperatura absoluta. No caso onde o fluido magnético é congelado este mecanismo desaparece não possibilitando o movimento de rotação mecânica da nanopartícula.

$\frac{KV}{kT} \ll 1$: Neste caso, temos a possibilidade de relaxação de Néel (rotação intrínseca). O momento magnético não está preso ao eixo de fácil magnetização e, portanto, gira em relação ao mesmo, sendo dependente de parâmetros tais como volume (V), anisotropia magnética (k) e temperatura (T). A energia térmica é suficientemente grande para introduzir flutuações da magnetização da partícula dentro de um tempo (τ_N), tempo de

relaxação de Néel, dado por [54]: $\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{KV}{kT}\right)$, sendo τ_0 é uma constante com valor típico de 10^{-9} segundos. Em geral, ambos os mecanismos contribuem para a relaxação, com

um tempo de relaxação efetivo dado por [54]: $\tau_{eff} = \frac{\tau_N \tau_B}{\tau_N + \tau_B}$. O processo é determinado

pelo menor tempo característico. Se $\tau_N \gg \tau_B$, então $\tau_{eff} = \tau_B$. Se $\tau_N \ll \tau_B$, então $\tau_{eff} = \tau_N$.

O valor crítico do volume da partícula ocorre quando $\tau_B = \tau_N$. Os tempos de relaxação (τ_B, τ_N) podem ser obtidos a partir do máximo da componente imaginária da susceptibilidade magnética χ do fluido magnético [55].

As Equações de Maxwell descrevem o comportamento do campo elétrico e do campo magnético (através do divergente e do rotacional), bem como suas interações com a matéria, assim chamado em homenagem ao físico James Clerk Maxwell. Estas equações expressam como as cargas elétricas produzem campos elétricos (Lei de Gauss), como corrente elétrica produz campo magnético (Lei de Ampère) e como variações do campo magnético produz campo elétrico (Lei de Faraday) e corrente, induzida, em um material condutor, quando sujeito a um fluxo magnético variável (Correntes de Foucault). Tais leis, devido à sua importância no nosso contexto, serão discutidas abaixo e apresentadas suas formulações matemáticas.

Na Física, a Lei de Gauss estabelece a relação entre o fluxo elétrico que passa através de uma superfície fechada e a quantidade de carga elétrica que existe dentro do volume limitado por esta superfície, ou seja, cargas elétricas produzem campos elétricos. A Lei de Gauss é uma das quatro Equações de Maxwell tendo sido elaborada por Carl Friedrich Gauss no século XIX.

Matematicamente a Lei de Gauss pode ser escrita como (Figura 28):

$$\oint_r \vec{E}.ds = \frac{Q_r}{\epsilon_o} \quad [47]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \quad [48]$$

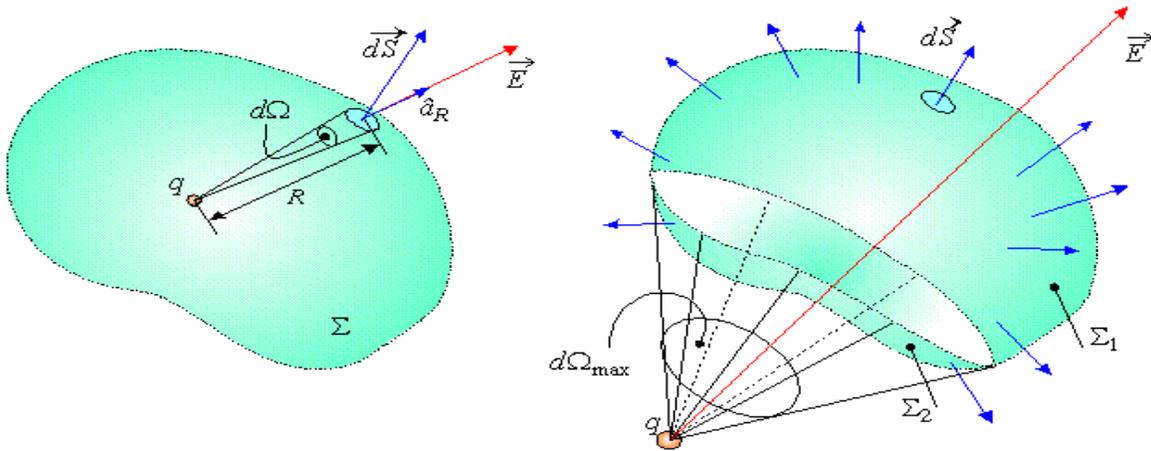


Figura 28: Lei de Gauss – distribuição esquemática [55].

Sendo:

\vec{E} - campo elétrico [V/m];

Σ - superfície;

Q_r - carga envolta por Γ [C];

Ω - densidade volumétrica de carga [C/m];

ϵ_0 - permissividade do vácuo [F/m].

Do eletromagnetismo clássico, é sabido que corrente elétrica produz campo magnético [54] fato este relacionado matematicamente na equação abaixo, conhecida como Lei de Ampère. Esta está relacionada com uma importante propriedade geral dos campos magnéticos e é expressa por:

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_0 \left(i + \epsilon_0 \frac{d\Phi_E}{dt} \right) \quad [49]$$

A Equação (3) mostra que um campo magnético \vec{B} pode ser produzido por uma corrente elétrica i ou pela variação (temporal) do fluxo do campo elétrico \vec{E} , Φ_E . Quando não se consideram campos elétricos variáveis com o tempo a Equação (3) se reduz a:

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_o \cdot i \quad [50]$$

Além da forma integral a Lei de Ampère se expressa matematicamente também pela forma diferencial:

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_o \cdot j \quad [51]$$

onde $\vec{\nabla}$ é chamado de rotacional.

A Lei de Ampère só é útil para calcular campos magnéticos criados por correntes que apresentem uma simetria suficientemente adequada para permitir uma fácil determinação da integral de linha.

De particular interesse neste trabalho é a distribuição do tamanho das esferas, sendo que estas possivelmente percorrerão os capilares sanguíneos e os diâmetros destes capilares são consideravelmente pequenos. A Lei de Ampère nos auxilia no cálculo de campos magnéticos em superfícies adequadas para permitir uma fácil determinação da integral de linha, porém, o valor do campo magnético na superfície da esfera possui uma relação com o raio da mesma e este fato é fundamental, já que estamos preocupados em obter campos magnéticos máximos num aspecto morfológico mais propício possível. Assim sendo, temos que o campo magnético na superfície da esfera é dado por:

$$\vec{B} = \mu_o i_o \cdot \frac{1}{2\pi r} \cdot \hat{n} \quad [52]$$

A Lei de Faraday-Neumann-Lenz, ou lei da indução eletromagnética, quantifica a indução eletromagnética, sendo o efeito da produção de corrente elétrica em um circuito

colocado sob efeito de um campo magnético variável ou por um circuito em movimento em um campo magnético constante.

A Lei da indução de Faraday, elaborada por Michael Faraday em 1831, afirma que a corrente elétrica induzida em um circuito fechado por um campo magnético, é proporcional ao número de linhas do fluxo que atravessa a área envolvida do circuito, na unidade de tempo [54]:

$$\oint_r \vec{E}.d\vec{r} = -\frac{d\Phi_B}{dt} \quad [53]$$

sendo \vec{E} o campo elétrico induzido, ds o um elemento infinitesimal do circuito e $d\Phi_B/dt$ é a variação do fluxo magnético. Uma maneira alternativa de se representar é na forma da diferença na função do campo magnético \vec{B} :

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [54]$$

Portanto:

$$V_i = \oint_r \vec{E}.d\vec{S} \quad [55]$$

A lei, expressa matematicamente na forma elaborada por Franz Ernst Neumann [55] em 1845 em termos da força eletromotriz, é dada por:

$$V_i = -\frac{\Delta\Phi}{\Delta t} \quad [56]$$

A Lei de Faraday-Lenz enuncia que a força eletromotriz induzida num circuito elétrico é igual a variação do fluxo magnético conectado ao circuito. É importante notar que um campo magnético constante não dá origem ao fenômeno da indução. A contribuição fundamental de Heinrich Lenz foi à direção da força eletromotriz (o sinal negativo na fórmula). A corrente induzida no circuito é de fato gerada por um campo magnético, e a lei

de Lenz afirma que o sentido da corrente é o oposto da variação do campo magnético que a gera [55].

Se o campo magnético do circuito está diminuindo, o campo magnético induzido pela corrente induzida irá à mesma direção do campo original (se opõem a diminuição), se, o campo magnético está aumentando, o campo magnético induzido irá em direção oposta ao original (se opõem ao aumento). Esta última análise é compatível com o princípio da conservação de energia, se o circuito é aberto e não há fluxo de corrente, não há dissipação de energia pelo efeito Joule. Por este motivo, não há uma força de reação à variação do campo magnético e o movimento do magneto ou do circuito não realiza trabalho (força nula x movimento = zero). Se ao contrário, existir corrente circulando no circuito (com dissipação de energia), a variação do campo magnético resultará numa resistência que demandará a realização de trabalho. Com base neste princípio um gerador consome tanto mais energia mecânica quanto mais energia elétrica ele produz (sem considerar a energia perdida por atrito e pelo efeito Joule) [55].

Na Tabela 4 abaixo, em forma de síntese, mostramos as Leis acima enunciadas, tanto na forma diferencial parcial, quanto na forma integral.

Tabela 4: Equações de Maxwell na forma diferencial e integral [55].

Nome	Diferencial Parcial	Forma Integral
Lei de Gauss	$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho_v$ [57]	$\oint_S \vec{D} \cdot d\vec{S} = Q_{englobado} = \int_V \rho_v dV$ [60]
Lei de Gauss para o magnetismo	$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0$ [58]	$\oint_S \vec{B} \cdot d\vec{S} = 0$ [61]
Lei da Indução de Faraday	$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}$ [59]	$\oint_L \vec{E} \cdot d\vec{l} = -\int_S \frac{d\vec{B}}{dt} \cdot d\vec{S}$ [62]

Lei de Ampère	$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$ [63]	$\oint_L \vec{H} \cdot d\vec{l} = I_{englobado} + \frac{d\Phi_{\vec{B}}}{dt}$ [64]
---------------	------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------

Sendo que:

∇ - operador gradiente que em coordenadas cartesianas pode ser escrito

$$\frac{\partial}{\partial x} \hat{x} + \frac{\partial}{\partial y} \hat{y} + \frac{\partial}{\partial z} \hat{z}$$

$\vec{\nabla} \cdot$ - divergente do campo vetorial

$\vec{\nabla} \times$ - rotacional do campo vetorial

\vec{J} - densidade de corrente através da superfície S englobada pelo contorno C - [A.m⁻²]

\vec{D} - vetor deslocamento elétrico.

Para materiais lineares, os campos \vec{D} e \vec{H} são relacionados a \vec{E} e \vec{B} por [55]:

$$\vec{D} = \epsilon \vec{E} \quad [65]$$

$$\vec{B} = \mu \vec{H} \quad [66]$$

Sendo:

ϵ - constante dielétrica ou permissividade elétrica [F/m];

μ - permeabilidade magnética [H/m].

Em meios isotrópicos e não dispersivos, ϵ e μ são escalares independentes do tempo, e sendo assim as equações de Maxwell se reduzem a:

$$\vec{\nabla} \cdot \epsilon \vec{E} = \rho \quad [67]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad [68]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [69]$$

$$\vec{\nabla} \times \frac{\vec{B}}{\mu} = \vec{J} + \varepsilon \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad [70]$$

No vácuo, sem cargas ou correntes, sendo este um meio linear, homogêneo e isotrópico, com suas constantes designadas por ε_0 e μ_0 . Portanto [55]:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0 \quad [71]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad [72]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [73]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad [74]$$

Estas equações têm uma solução simples em termos de ondas progressivas planas senoidais, com direções dos campos elétricos e magnéticos ortogonais um ao outro e à direção do deslocamento, e com os dois em fase [56]:

$$\vec{\nabla} \times \vec{\nabla} \times \vec{E} = \vec{\nabla}(\vec{\nabla} \cdot \vec{E}) - \vec{\nabla}^2 \vec{E} = \vec{\nabla} \times \left(\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \right) = -\frac{\partial \vec{\nabla} \times \vec{B}}{\partial t} \quad [75]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{\nabla} \times \vec{B} = \vec{\nabla}(\vec{\nabla} \cdot \vec{B}) - \vec{\nabla}^2 \vec{B} = \vec{\nabla} \times \left(\mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \right) = \mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{\nabla} \times \vec{E}}{\partial t} \quad [76]$$

Mas:

$$0 - \vec{\nabla}^2 \vec{E} = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \right) \quad [77]$$

$$0 - \vec{\nabla}^2 \vec{B} = \mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial}{\partial t} \left(-\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \right) \quad [78]$$

Com os resultados acima mostrados, podemos obter a equação da onda eletromagnética:

$$\vec{\nabla}^2 \vec{E} = \left(\mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} \right) \quad [79]$$

$$\vec{\nabla}^2 \vec{B} = \left(\mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial^2 \vec{B}}{\partial t^2} \right) \quad [80]$$

De onde obtemos a velocidade da onda eletromagnética (c):

$$c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \varepsilon_0}} \quad [81]$$

Maxwell percebeu com os cálculos acima mostrados que essa quantidade “c” é simplesmente a velocidade da luz no vácuo e concluiu que a luz é uma forma de radiação eletromagnética. Assim, Maxwell investigou campos elétricos em meios materiais observando que o campo elétrico é afetado pela presença dos dipolos elétricos do meio (no nosso trabalho, o meio refere-se ao DGEBA – éter diglicídilico do bisfenol A). Tanto no caso de meios constituídos por moléculas polares, quanto em meios constituídos por moléculas apolares, o vetor polarização (\vec{P}) tende a se alinhar opostamente ao campo elétrico externo, enfraquecendo-o de acordo com a expressão [56]:

$$\varepsilon_0 \vec{E} = \vec{D} - \vec{P} \quad [82]$$

O campo elétrico é função de todas as cargas, \vec{D} (vetor deslocamento elétrico) é função apenas das cargas livres q, ao qual satisfaz a Lei de Gauss, e o vetor polarização (\vec{P}) é função apenas das cargas ligadas.

$$\oint \vec{D} \cdot dA = q \quad [83]$$

Além disso, no vácuo ou no ar, $\vec{P} = 0$, de modo que:

$$\vec{D} = \epsilon_0 \vec{E} \quad [84]$$

Em um meio de constante dielétrica κ , a relação se torna:

$$\vec{D} = \kappa \cdot \epsilon_0 \cdot \vec{E} = \epsilon \cdot \vec{E} \quad [85]$$

Maxwell mostrou que a constante dielétrica κ está ligada ao índice de refração n do dielétrico, ao qual a velocidade V de propagação de um distúrbio eletromagnético através de um meio transparente uniforme qualquer é dada por:

$$V = (\mu \cdot \kappa)^{-\frac{1}{2}} \quad [86]$$

Sendo μ a permissividade magnética. De um modo geral, os meios transparentes têm $\mu \sim 1$, assim sendo:

$$V = (\kappa)^{-\frac{1}{2}} \quad [87]$$

Por outro lado, de acordo com a Teoria Ondulatória da Luz [56]:

$$V = \frac{c}{n} \quad [88]$$

Em que c é a velocidade da luz no vácuo e n , o índice de refração dos materiais transparentes. Assim, para o vácuo, teremos: $c = \kappa_0^{-1/2}$ e portanto a constante dielétrica κ' relaciona-se com o índice de refração do meio através da relação:

$$\kappa' = \frac{\kappa}{\kappa_0} = \frac{v^2}{c^2} = n^2 \quad [89]$$

De face da apresentação do cálculo da constante dielétrica κ' , pode-se entender a conversão da energia magnética em calor, visto que as nanoesferas são transportadoras de calor, ou seja, convertem energia magnética absorvida pela influência do campo magnético em energias em trânsito.

A força magnética criada por um polo magnético pode ser definida através do equivalente da Lei de Coulomb, pela força (\vec{F}) entre dois polos m_1 e m_2 , que ocorrem entre dois magnetos cilíndricos:

$$\vec{F} = k \frac{m_1 m_2}{r^2} \quad [90]$$

sendo $k = 10^{-7}$ [N.A⁻²].

De posse do exposto, afirma-se que um polo magnético cria ao seu redor um campo, responsável por exercer a força em outro polo que esteja ao seu redor, ou nas proximidades deste. Esta força existente é proporcional ao campo ou à intensidade do campo magnético \vec{H} através da expressão:

$$\vec{F} = m\vec{H} \quad [91]$$

sendo m o polo magnético e \vec{H} medido em A/m no SI ou em Oe no CGS.

Considerando o sistema com geometria cilíndrica, o momento de dipolo magnético μ pode ser definido por:

$$\mu = m \cdot l \quad [92]$$

sendo l o comprimento do cilindro de área de seção transversal A .

O momento magnético quando exposto a um campo magnético \vec{H} fica sujeito a um torque, sendo a energia potencial (U) associada dada por [55]:

$$U = -\mu \cdot \vec{H} \quad [93]$$

Define-se assim, a magnetização (\vec{M}), como sendo a soma de todos os momentos magnéticos elementares divididos pelo volume que este ocupa (grandeza intensiva).

Matematicamente tem-se que [57]:

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum \mu_i \quad [94]$$

A magnetização possui dimensões tanto de momento do dipolo magnético por unidade de volume, como de intensidade do pólo magnético por área ($IL^2 / L^3 = I/L$). É expressa em ampére por metro (Am⁻¹).

O valor da magnetização (\vec{M}) aqui observado é uma média do volume V . Para definir \vec{M} num ponto é conveniente supor que uma determinada barra de ferro qualquer tenha uma distribuição contínua de dipolos magnéticos infinitesimais, ou, uma magnetização contínua. Limitemos nossa atenção a volumes que contenham muitos dipolos magnéticos, supondo que a magnetização seja contínua, o valor de \vec{M} num ponto pode ser definido como o momento resultante do dipolo m de um pequeno volume ΔV dividido pelo volume, com o limite tomado quando ΔV tende para zero em torno do ponto [57].

Considerando-se as linhas de indução magnética, o campo magnético representado pelas linhas de força de indução (\vec{B}), ou densidade de fluxo magnético, é dado por:

$$\vec{B} = \mu_0(\vec{H} + \vec{M}) \quad [95]$$

sendo que:

\vec{B} = densidade de fluxo magnético [T.m²]

\vec{H} = campo magnético [T]

\vec{M} = magnetização, [Am⁻¹].

Pode-se definir também a susceptibilidade magnética (χ) como sendo uma grandeza que caracteriza um material magnético segundo suas respostas a um campo magnético aplicado. Assim:

$$\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} \quad [96]$$

Muitas vezes, os materiais apresentam uma resposta não linear, de modo que se deve tomar o limite nulo da excitação do campo aplicado:

$$\chi = \lim_{\vec{H} \rightarrow 0} \frac{\vec{M}}{\vec{H}} = \frac{\partial \vec{M}}{\partial \vec{H}} \quad [97]$$

Como foco principal desse trabalho, serão analisados os materiais ferromagnéticos, sendo que estes materiais caracterizam-se por exibirem a magnetização de saturação $M_s(T)$ dependente da temperatura. Um ferromagneto torna-se espontaneamente magnetizado abaixo de certa temperatura crítica, chamada de Temperatura de Curie (T_C). A fase ferromagnética é caracterizada pelo alinhamento dos momentos magnéticos dos átomos constituintes do material. Os ferromagnetos são compostos por materiais puros como Fe, Ni e Co, e suas ligas [53].

A equação proposta para a magnetização (\vec{M}) e o campo magnético aplicado (\vec{B}) em função da temperatura é definida como sendo a susceptibilidade magnética de Curie-Weiss (χ_{cw}):

$$\chi_{cw} = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} = \frac{C}{(T - C\lambda)} = \frac{C}{(T - T_c)} \quad [98]$$

Sendo:

T - Temperatura de magnetização espontânea [K];

C - Constante de Curie;

λ = constante do campo médio;

T_c = temperatura de Curie [K].

No caso desse trabalho, o ferromagnetismo é caracterizado em um material quando temos $\lambda > 0$. As curvas de magnetização ou de Indução são parâmetros de apoio na caracterização macroscópica dos materiais ferromagnéticos, ao qual normalmente apresentam uma histerese como resposta, fato este que são conhecidas por curvas de histerese.

Partindo das origens dos eixos no plano cartesiano, ao aplicarmos um campo magnético externo, verificamos que, se o campo não ultrapassar algum limite, que depende da amostra em particular, ocorrem variações reversíveis na magnetização (região de fácil magnetização). A Figura 29 representa a região I. Nesta região, o processo de magnetização

ocorre, em grande escala, por deslocamentos reversíveis das paredes de domínios bem como, em menor intensidade, por rotações, também reversíveis, da magnetização [56]. Para campos maiores, o processo de magnetização se torna irreversível e predominam os movimentos irreversíveis de parede de domínio e rotações irreversíveis da magnetização. Esta região II é a chamada região de magnetização irreversível. Se o campo aplicado for posteriormente aumentado (região III), predominantemente teremos rotação da magnetização, o que define a região de aproximação da saturação. A partir deste ponto, o material entra na região de saturação técnica onde o aumento do campo produzirá variações muito pequenas da magnetização. Ao ser diminuindo o valor do campo aplicado, a partir da saturação, a magnetização retorna ao valor de remanência M_r . Invertendo o sentido do campo e aumentando sua intensidade, a magnetização continua a diminuir de valor a partir de M_r , passando por zero em um campo chamado de campo coercivo H_c , e, finalmente, atingindo o seu valor de saturação na direção oposta à original para campos suficientemente altos. Diminuindo-se a intensidade do campo a zero a partir deste ponto, a magnetização atinge a remanência negativa. Aumentando-se o campo no sentido positivo a magnetização passa por zero, em $+H_c$, e atinge o valor de saturação na direção de saturação original, fechando o ciclo completo de histerese.

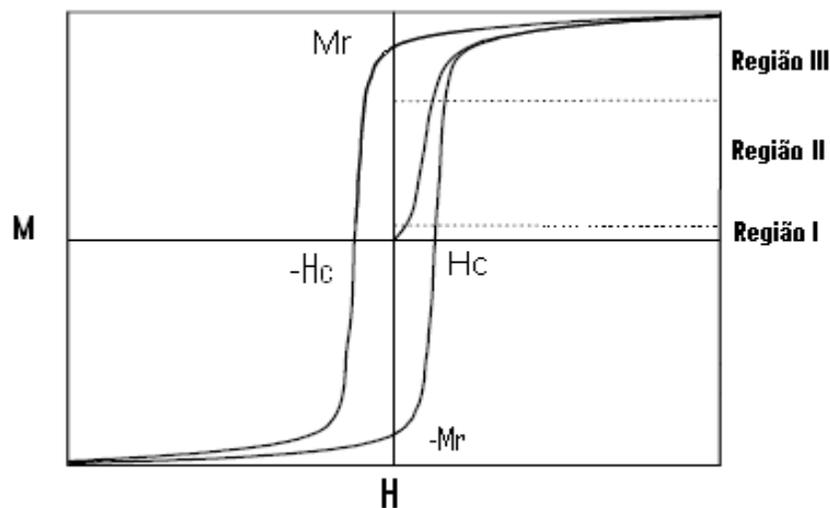


Figura 29: Curva de Histerese de um material ferromagnético e sua magnetização [33].

A área obtida sob a curva acima é o trabalho magnético (W_H) relacionado ao alinhamento/desalinhamento dos polos magnéticos no material. Obtém-se a energia magnética, pelo cálculo da integral da histerese magnética, ou seja:

$$W_H = \oint \vec{H} \cdot d\vec{B} \quad [99]$$

O fluxo de energia existente na superfície da nanoesfera pode ser também definido em função do vetor de Poynting (\vec{S}), ou seja, um vetor cujo módulo representa a densidade superficial instantânea de energia eletromagnética que se propaga por unidade de tempo na direção e sentido da onda eletromagnética associada, e por definição na direção e sentido do vetor de Poyntig em si.

A diminuição de energia eletromagnética na região da nanoesfera se deve à dissipação de potência em forma de calor (por Efeito Joule) e ao fluxo em direção ao exterior do Vetor de Poynting. Relaciona a derivada temporal da densidade de energia eletromagnética com o fluxo de energia e a taxa em que o campo realiza um trabalho, no sistema de trabalho, ou seja, na região das nanoesferas. Pode ser representada mediante a fórmula:

$$\frac{\partial U}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot \vec{S} = -\vec{J} \cdot \vec{E} \quad [100]$$

Dado que o campo magnético não realiza trabalho, a parte direita da equação inclui todo o trabalho realizado pelo campo eletromagnético. Na forma de um integral, pode-se expressar como:

$$P_d + \oint_A \vec{S} \cdot d\vec{A} = -\frac{d}{dt} \iiint_V \frac{1}{2} (\vec{E} \cdot \vec{D} + \vec{H} \cdot \vec{B}) dV = -\frac{d\vec{W}}{dt} \quad [101]$$

Sendo P_d = potência dissipada por efeito Joule [W]; \vec{W} = energia eletromagnética [J];

Pode-se ainda, entender o ciclo da histerese pela curva abaixo (Figura 30), ao qual explica de maneira detalhada como se procede a sua análise física.

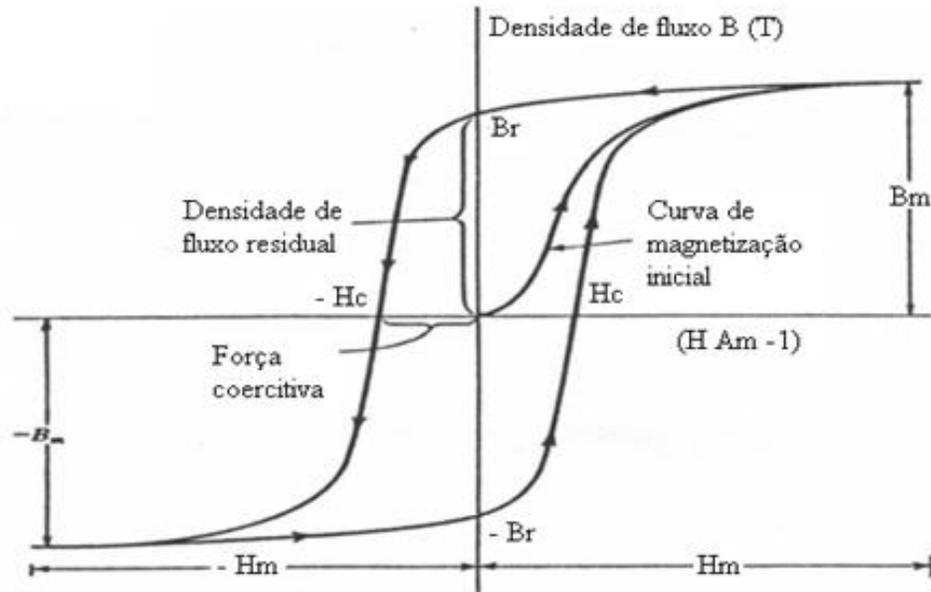


Figura 30: Ciclo de Histerese [33].

2.9. Mediadores Magnéticos baseados em Ferritas: Estrutura das Ferritas, Composição.

Ferritas são materiais cerâmicos compostos por uma mistura de óxidos metálicos, que apresentam propriedades magnéticas muito úteis para a indústria de materiais eletrônicos de alta tecnologia [57]. Estes materiais vêm sendo estudados desde a década de 30 do século passado, quando pesquisadores japoneses Kato e Takey [58] mostraram as vantagens das ferritas na substituição do ferro puro em núcleos de transformadores.

A estrutura das ferritas a classifica em quatro grupos: espinélio, hexagonal, granada e ortoferritas [59], esse último como subdivisão da granada. Essas são classificadas quanto ao seu desempenho magnético em: moles, duras e ferritas de microondas.

As ferritas com estrutura espinélio apresentam como componentes secundários metais de transição bivalentes ou trivalentes e fórmula geral MFe_2O_4 , onde M pode ser íons bivalentes como Mn, Ni, Co, Zn, Fe, Mg, e Cu. Essas ferritas cristalizam com 8 átomos por célula unitária, sendo ferrimagnéticas [60]. A estrutura oferece muitas possíveis combinações de cátions que poderão balancear as cargas -8 dos íons de oxigênio. As mais importantes são as (+2, +3) ferro-espinélios, em que o Fe_2O_3 é o maior componente.

As propriedades magnéticas das ferritas estão relacionadas com os elétrons da camada incompleta dos íons de metal de transição. Nessas camadas, os números quânticos orbitais e de spin dos elétrons desemparelhados se combinam com os momentos magnéticos dos demais elétrons. A soma desses momentos dará o momento magnético do átomo [61]. As propriedades magnéticas e elétricas das ferritas Ni-Zn permitem um amplo campo de aplicações deste tipo de material em componentes elétricos e eletrônicos, tais como em núcleos de transformadores, cabeçotes de gravação de fitas magnéticas, isoladores, circuladores e outros dispositivos que operam em alta frequência.

A literatura também aponta a possibilidade da aplicação deste tipo de ferrita como transdutores magnetoelásticos para a medição de forças e de tensões de compressão [62]. Com o intuito de minimizar as dificuldades apresentadas pelo método de mistura de óxidos, diversos métodos químicos de síntese [63] têm sido utilizados em escala de laboratório para a obtenção de ferritas visando, principalmente, o controle da microestrutura e das propriedades magnéticas e elétricas por meio do controle das características dos pós (pureza, homogeneidade química, forma e tamanho médio das partículas).

2.10. Propriedades Magnéticas Extrínsecas das Ferritas

Particularizamos nosso estudo para ferritas de óxido. Vargas *et al* [64] sintetizaram nanopartículas de óxido de ferro, pelo método de decomposição do $Fe(acac)_3$ em altas temperaturas, utilizando $r = 40:1$ ($d \sim 4$ nm). Em seguida, esta amostra recebeu um tratamento térmico de duas temperaturas diferentes a 573 K e a 823 K. As três amostras produzidas são facetadas e não há uma superfície amorfa aparente, demonstrando alta

crystalinidade. O tratamento térmico a 573 K induz um crescimento das partículas de 4,8 para 6 nm e possivelmente uma diminuição de defeitos internos, porém sem maiores mudanças na estrutura da magnetita, observada por difração de raios-x. Após o tratamento térmico a 873 K, acima da temperatura de decomposição do recobrimento orgânico, a amostra apresentou uma distribuição de tamanhos bimodal, um conjunto de partículas manteve o tamanho de $\langle D \rangle = 6$ nm e outro teve um crescimento induzido onde $\langle D \rangle$ saltou para 17 nm.

Medidas MxT para as duas primeiras amostras mostram o típico comportamento de partículas monodomínio indicando um processo de bloqueio dos momentos superparamagnéticos. Este comportamento desaparece na terceira amostra que permanece no estado bloqueado (irreversível) mesmo à temperatura ambiente e possui uma T_B estimada em um valor alto de 640 K devido ao comportamento dominado pelas partículas maiores. Medidas de MxH também mostram que as duas primeiras amostras apresentam o mesmo comportamento, com HC inferior a 2,5 kOe e um $K = 6 \times 10^4$ erg/cm³, estimado pelo modelo de Stoner-Wolfarth.

Contudo estas amostras apresentam valores diferentes para a magnetização em altos campos, 12 emu/g em 10 kOe para a amostra de 6 nm e aproximadamente 3 emu/g em 50 kOe para 4 nm, esta última estando muito longe da saturação neste valor de campo. Vale ressaltar que mesmo o valor da amostra de 6 nm é muito inferior ao esperado para o material *bulk*. Já para a amostra bimodal, observamos alta coercividade como resultado do predomínio das partículas maiores na faixa de baixos campos e um campo de irreversibilidade maior que 10 kOe, com uma magnetização neste campo de apenas 20 emu/g.

Duas amostras produzidas pelo mesmo método químico descrito acima, porém sem o tratamento térmico, foram estudadas por Lee *et al* [61]. As amostras com $\langle D \rangle = 4$ e 6 nm, respectivamente, apresentaram pequena distribuição de diâmetros, forma esférica e pouca aglomeração vistas por HRTEM (microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução). As estruturas foram confirmadas como a da ferrita por difração de raios-x, porém não foi possível a distinção entre as fases $\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e Fe_3O_4 .

Ambos os sistemas apresentaram um comportamento superparamagnético em temperatura ambiente, como mostram os espectros Mössbauer, com a presença de dubletos sem ordem magnética. Em espectros coletados a 4,2 K mostram ordem magnética, característica do estado bloqueado, sendo ajustados com dois sextetos magnéticos com valores de campo hiperfino B_{hf} de 51,7 e 48,3 T e deslocamento isomérico (IS) de 0,33 e 0,73 mm/s, respectivamente, para a amostra com $\langle D \rangle = 4$ nm e B_{hfp} de 51,6 e 48,9 T e IS de 0,33 e 0,62 mm/s, respectivamente, para a amostra com $\langle D \rangle = 6$ nm.

Os valores elevados de IS para um dos sítios mostram a presença de Fe^{2+} na amostra, confirmando a fase como magnetita. Ciclos de histerese, obtidos a temperatura ambiente e com campo magnético aplicado de 10 kOe, confirmam o comportamento superparamagnético. Além disso, os valores de M_S foram praticamente os mesmos para as duas amostras, aproximadamente 59,5 emu/g, muito maior que os obtidos por Vargas *et al* [64]. Yang *et al* [65], estudaram nanopartículas de magnetita estequiométrica e com deficiência de cátions de Fe, $Fe_{3-\delta}O_4$, com diferentes valores de δ , além de $-Fe_2O_3$ produzidas através do método químico de co-precipitação hidrotérmica seguido de diferentes tratamentos térmicos. Foi observada por difração de raios-x a mudança na estrutura da rede cristalina com a diminuição do parâmetro de rede com o aumento de δ , os valores de $\langle D \rangle$ também foram estimados por esta técnica em 150-200 nm.

Medidas de difração de elétrons são similares tanto em 10 K quanto em temperatura ambiente e não indicam um ordenamento de carga abaixo de 128 K previsto pela transição de Verwey. Medidas de magnetização em função da temperatura mostram que a temperatura de transição passando de 125 K para 100 K com o aumento da deficiência de Fe^{2+} no sítio B. Espectros Mössbauer coletados a temperatura ambiente para a magnetita foram ajustados com dois sextetos magnéticos, um para o Fe^{3+} no sítio A e um para o $Fe^{2,5+}$ no sítio B. A partir da relação de área destes dois espectros foi possível determinar a estequiometria das amostras. Os valores de B_{hyp} para o sítio A estão em torno de 49,2 T, com IS em torno de 0,30 mm/s, enquanto que para o sítio B os respectivos valores são aproximadamente 46,0 T e 0,66 mm/s.

Daou *et al* [68] estudaram partículas produzidas por co-precipitação hidrotérmica seguida (39 nm) ou não (12 nm) de tratamento térmico. Para as partículas com $\langle D \rangle = 12$ nm a difração de raios-x mostra que a amostra possui a estrutura cúbica do espinélio, porém com uma possível mistura entre $\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e Fe_3O_4 , já que o valor do parâmetro de rede está entre os valores esperados para estas duas fases, com uma oxidação de 65 % do Fe^{2+} em Fe^{3+} . Após o tratamento térmico, na amostra com $\langle D \rangle = 39$ nm, a fase foi confirmada como a da magnetita praticamente estequiométrica. Espectros Mössbauer da amostra tratada, coletados a 300 K foram ajustados com apenas dois sextetos, um para cada sub-rede, mostrando que o sistema se encontra acima da temperatura de transição de Verwey (T_V). Já o espectro obtido a 77 K foi ajustado com cinco sextetos magnéticos referentes ao Fe^{3+} no sítio A e Fe^{3+} , $\text{Fe}^{2,5+}$ e Fe^{2+} no sítio B. A relação de área entre os sítios A e B é de 0,81, e como este parâmetro é sensível a estequiometria da amostra, este indica uma pequena deficiência de cátions de *Fe* na rede, resultando em $\text{Fe}_{2,94}\text{O}_4$. Os valores de IS podem indicar o estado de valência do *Fe* em cada sítio (Fe^{3+} tetra, Fe^{3+} octa e Fe^{2+} octa com 0.25, 0.40, e 1.00 mm/s a 300 K, 0.40, 0.54, e 1.15 mm/s a 77 K) [68]. As medidas de MxT da amostra de 12 nm mostram uma T_B em aproximadamente 100 K, mas com uma temperatura de irreversibilidade (T_{ir}) maior que 300 K, indicando uma grande dispersão de diâmetros. Além disso, esta medida mostrou a ausência de T_V para a amostra de 12 nm e a confirma para a amostra tratada praticamente estequiométrica, com uma temperatura de T_V em torno de 100 K.

Esta transição aparece como uma queda sutil da magnetização na curva FC e como um “cotovelo” na curva ZFC. Os autores colocam como responsáveis pela redução de T_V o desvio da estequiometria esperada para a magnetita no caso desta amostra, enquanto a ausência na amostra de 12 nm se deve ao alto grau de oxidação de Fe^{2+} . Com relação às curvas MxH , foram obtidos valores de $M_S = 59,8$ e $82,5$ emu/g para as partículas com 12 e 39 nm, respectivamente.

Nanopartículas de magnetita com $\langle D \rangle = 1,3$ a 6 nm, com baixa dispersão de diâmetros ($\sigma = 0,2$) e recobertas ou não por um surfactante foram produzidas por coprecipitação hidrotérmica em diferentes condições de síntese, segundo Kim *et al* [67].

Medidas $M \times T$ feitas para as amostras de 6 nm, com e sem recobrimento, mostram comportamento esperado para partículas superparamagnéticas com um processo de desbloqueio termicamente ativado, acima do bloqueio. Tanto T_B quanto T_{irr} são maiores para a amostra com partículas sem recobrimento, pois, além de possuir uma maior interação, a amostra apresenta aglomerados que podem ser visto em imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Em geral a magnetização total desta amostra também é maior que a amostra com partículas recobertas, indicando que o recobrimento induz um alinhamento não colinear dos spins localizados na superfície. Medidas $M \times H$ obtidas de 5 a 300 K para a amostra de 6 nm e sem recobrimento, confirmam o comportamento superparamagnético acima de T_B , com H_c quase imensuráveis. Já abaixo de T_B as curvas apresentam coercividade. A partir do ajuste desta curva obtida a temperatura ambiente com a função Langevin, onde M_S é de 42,1 emu/g, foi estimado o diâmetro magnético em 5,6 nm, menor que o $\langle D \rangle$ obtido por TEM e XRD, confirmando a presença de uma região magneticamente desordenada. O momento médio por partícula $\mu = 7011 \mu B$ também foi obtido deste ajuste.

2.11. Propriedades Magnéticas Intrínsecas de Ferritas

A ferrita Ni-Zn é uma das ferritas do tipo espinélio mais estudadas científica e tecnologicamente, principalmente devido às suas aplicações na indústria eletroeletrônica como dispositivo magnético de alta resistividade. Estes materiais apresentam configuração cúbica espinélio inverso, pertencente ao grupo espacial $Fd3m$, e são materiais cerâmicos ferrimagnéticos, cuja composição química é formada por uma solução sólida dos óxidos de NiO, ZnO e Fe_2O_3 . O óxido de ferro na forma de hematita ($\alpha-Fe_2O_3$) constitui em torno de 70% em peso de sua composição [68].

A célula unitária é representada pela fórmula $(Zn_xFe_{1-x})[Ni_{1-x}Fe_{1+x}]O_4$ [69]. Os íons oxigênio formam um sistema de empacotamento fechado de face centrada. Os íons metálicos (Fe^{3+}) na rede espinélio podem ocupar as duas posições de simetrias diferentes (sítios tetraédricos e octaédricos). Se os íons de Fe^{3+} estiverem distribuídos igualmente em

ambos os sítios, seus momentos magnéticos se cancelam e a magnetização total, portanto, deve ser resultante dos momentos magnéticos dos íons Ni^{2+} (magnético), os quais se encontram nos sítios octaédricos da rede espinélio. O momento magnético total é resultante apenas da fase inversa. Por outro lado, os íons de Fe^{3+} podem não estarem distribuídos igualmente nos sítios tetraédricos e octaédricos, e isso pode ocorrer por meio do aumento do momento magnético molecular pela adição de ferrita normal, como por exemplo, ZnFe_2O_4 . Neste caso, os íons de Zn^{2+} vão ocupar o sítio tetraédrico e forçar um número igual de íons Fe^{3+} a saírem do sítio tetraédrico para o octaédrico, o que provoca um aumento adicional de magnetização nos sítios octaédricos. Então, o momento magnético é resultante da presença das fases normal e inversa. Dessa forma, é possível produzir um grande número de ferritas Ni-Zn com magnetização intrínseca, pela substituição adequada dos íons metálicos [68].

As propriedades magnéticas extrínsecas das ferritas, tais como permeabilidade, coercividade, perdas magnéticas (perdas por histerese e corrente parasita), dependem fortemente de sua microestrutura, ou seja, do contorno de grão, do seu tamanho médio e de sua porosidade. A microestrutura pode ser controlada pela variação no processamento, isto é, preparação do pó, calcinação, moagem e condições de sinterização (temperatura, tempo e atmosfera) [69].

A avaliação do contorno de grão nas ferritas é importante, pois é por meio do controle da espessura e tamanho de contornos de grãos que é possível controlarem os mecanismos de perdas (perdas histerese e parasita) e a alta permeabilidade. O tamanho, a porosidade e a fase de fronteira do grão (contorno de grão) influenciam também a estrutura do domínio, largura da parede de domínios e mobilidades dessas paredes [69].

Várias pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de investigar o efeito de vários dopantes na rede espinélio das ferritas. Isso se dá em função das propriedades desses materiais serem bastante sensíveis à presença de impurezas (dopantes). A adição de impurezas produz mudanças nas propriedades magnéticas e elétricas, e o conhecimento dessas mudanças fornece informações do tipo e quantidade de impurezas necessárias para se obter ferritas de alta qualidade para algumas aplicações particulares.

A numerosa classe de materiais que possui a estrutura YFeAl tem sua estrutura formada pelo empacotamento de ânions bivalentes em um arranjo cúbico de face centrada. Quando este ânion é o oxigênio (O^{2-}), temos a importante classe dos óxidos espinélio, devido ao nome do material, se, além disso, o cátion trivalente for o ferro (Fe^{3+}) o material é comumente conhecido como ferrita.

As ferritas são representadas pela fórmula química $Me_{2+}Fe_2^{3+}O_4$ ou $MeOFe_2O_3$, onde Me é um metal de transição, geralmente do grupo do ferro. Os íons metálicos ocupam dois interstícios formados pelos íons de oxigênio, um denominado sítio A, que tem uma simetria tetraédrica e um segundo, sítio B, onde os oxigênios ocupam os vértices de um octaedro. Uma célula unitária possui 8 fórmulas químicas, possuindo 64 sítios tetraédricos e 32 octaédricos parcialmente ocupados por cátions metálicos, $1/8$ dos sítios A e $1/2$ dos sítios B [69]. A representação de uma célula unitária da estrutura do espinélio pode ser vista na figura 31 abaixo.

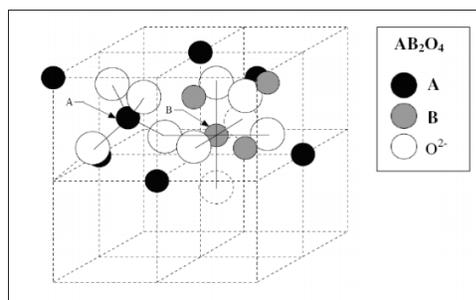
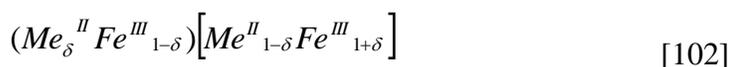


Figura 31 – Representação dos íons metálicos nos sítios tetraédricos (A) e octaédricos (B) da estrutura do espinélio AB_2O_4 [70].

Uma representação mais detalhada pode ser feita através da fórmula cristalográfica:



onde () representam o sítio A, [] o sítio B e δ é parâmetro de inversão.

Se $\delta = 1$, temos uma ferrita do tipo normal, onde todos os 8 íons metálicos bivalentes de uma fórmula ocupam o sítio A e os 16 íons de ferro trivalente, ocupam o sítio B, como é o caso da ferrita de zinco, $ZnFe_2O_4$. Em outro caso extremo, temos $\delta = 0$, em que 8 íons metálicos bivalentes ocupam o sítio B e dos 16 íons de ferro trivalente, 8

ocupam o sítio A, 8 o sítio B, este é o caso que denominamos como ferrita inversa, como exemplo temos Fe_3O_4 e $NiFe_2O_4$.

Porém estes dois casos ideais são difíceis de ocorrer, sendo mais comum acontecer uma redistribuição catiônica. Neste caso temos uma ferrita mista com $0 < \delta < 1$ e como exemplo pode citar a ferrita de manganês com parâmetro de inversão de 0,8, ou seja, 80% de Mn^{2+} ocupam o sítio A e 20% no sítio B, logo com a fórmula cristalográfica: $(Mn_{0,8}Fe_{0,2})[Mn_{0,2}Fe_{1,8}]O_4$.

Este parâmetro também nos ajuda a elucidar o porquê de certos cátions, tanto bivalentes quanto trivalentes, tendem a ser incorporados em um ou outro sítio da rede cristalina. Uma vez que δ muda para diferentes Me , podemos relacionar o tamanho do cátion em questão com o tamanho do interstício em que ele foi incorporado. Outros fatores como a configuração eletrônica e a energia eletrostática, devem ser levados em conta para entender a distribuição catiônica, porém nos fixaremos apenas na contribuição do raio do íon.

Como o sítio tetraédrico é coordenado por apenas quatro oxigênios, enquanto o octaédrico é coordenado por seis, nós esperamos que íons menores preferissem ocupar o primeiro, já que ele é ligeiramente menor. Neste contexto, vemos que ferritas inversas são favorecidas, pois, íons trivalentes são geralmente menores que os bivalentes, além disso, sabemos que a rede do oxigênio pode mudar se expandindo e contraindo para se adaptar a cada tipo de íon. Estudos estruturais de ferritas mostram que a substituição do cátion é acompanhada de uma mudança dos parâmetros de rede e uma mudança na estrutura cristalina como um todo.

Na Tabela 5, vemos alguns exemplos de valores para os raios médios dos sítios A e B, chamados de r_{tet} e r_{oct} , respectivamente. A mesma também apresenta os valores de dois íons do metal referente a cada ferrita, os bivalentes r_{bi} e os trivalentes r_{tri} , todos em angstroms (10^{-10} m) [69].

Tabela 5 - Valores dos raios médios dos sítios A e B (r_{tetr} e r_{oct} , respectivamente), para diferentes ferritas, além dos raios médios dos íons bivalente e trivalente (r_{bi} e r_{tri}) das respectivas ferritas [70].

Ferrita	r_{tetr}	r_{oct}	r_{bi}	r_{tri}
Fe_3O_4	0,55	0,75	0,80	0,67
CoFe_2O_4	0,54	0,69	0,78	0,65
MnFe_2O_4	0,61	0,69	0,83	0,67
NiFe_2O_4	0,54	0,69	0,74	-

O parâmetro δ é claramente relacionado ao método de síntese do material, uma vez que pode influenciar sua cristalinidade e distorcer a rede fazendo com que o tamanho dos sítios mude. De fato, δ pode ser reduzido em 1/3 do seu valor original quando o material é aquecido a altas temperaturas.

Também é muito comum que as ferritas não sejam estequiométricas com a proporção esperada de 2:1 entre os íons de ferro e do metal bivalente em questão nem sempre é adquirida, ou seja, existe uma deficiência na incorporação do Me^{2+} . Neste caso, se a proporção for maior que a estequiométrica, os íons de ferro estarão presentes nas duas formas, tanto trivalente quanto bivalente, o que resulta na mistura de Fe_3O_4 e $Me\text{Fe}_2\text{O}_4$, e as propriedades físicas podem mudar significativamente.

No caso em que Me é um átomo de ferro, temos uma ferrita de ferro, ou melhor, magnetita, Fe_3O_4 , mineral responsável pelo magnetismo encontrado na maioria das rochas e extensamente estudado dentre os materiais magnéticos. Outro óxido de ferro é a maghemita (γ - Fe_2O_3) que também pertence ao grupo dos materiais com a estrutura do espinélio, sendo estruturalmente diferenciada da Fe_3O_4 somente pela ausência de íons bivalentes, tendo, portanto, ambos os sítios ocupados por Fe^{3+} e é representada por $(\text{Fe}^{3+})[\text{Fe}^{3+}_{5/3}\alpha_{1/3}]\text{O}_4$, onde α são vacâncias geralmente situadas no sítio B. A distinção destas duas fases é muito difícil quando se utiliza a técnica de difração de raios-X, visto que apresentarão reflexões nos mesmos valores de ângulos, já que possuem parâmetros de rede muito próximos [69].

Na estrutura do espinélio, cátions situados nos sítios A ou B têm como primeiros vizinhos (desconsiderando-se os oxigênicos) cátions em sítios B ou A, respectivamente. Assim, podemos subdividir o conjunto de íons de transição em duas sub-redes interpenetrantes. A energia de interação de troca entre dois átomos na mesma sub-rede ou entre as sub-redes é descrita pelo hamiltoniano de Heisenberg [71]:

$$E_{troca} = -2J_{ij} \sum_{ij} \vec{S}_i \cdot \vec{S}_j \quad [103]$$

onde J_{ij} é a constante de interação de troca entre os spins situados nas posições i e j da rede cristalina. No caso dos metais de transição da família do ferro, os elétrons responsáveis pelo spin total S serão aqueles dos orbitais $3d$.

A interação de troca nas ferritas só é possível pelo fato de os primeiros vizinhos dos cátions de metal de transição ser ânions bivalentes de oxigênio, que faz a intermediação da interação entre os cátions. Isso acontece porque as funções de onda dos orbitais p do oxigênio se sobrepõem às funções de onda dos orbitais $3d$ dos cátions, como mostrado na Figura 32. Os dois elétrons da última camada do oxigênio estão desemparelhados, polarizando assim os cátions adjacentes de Fe^{3+} que se acoplarão antiparalelamente. Este é a chamada interação de supertroca e ocorre devido à simetria dos orbitais envolvidos e este comportamento também é observado para interações entre íons Me^{2+} .

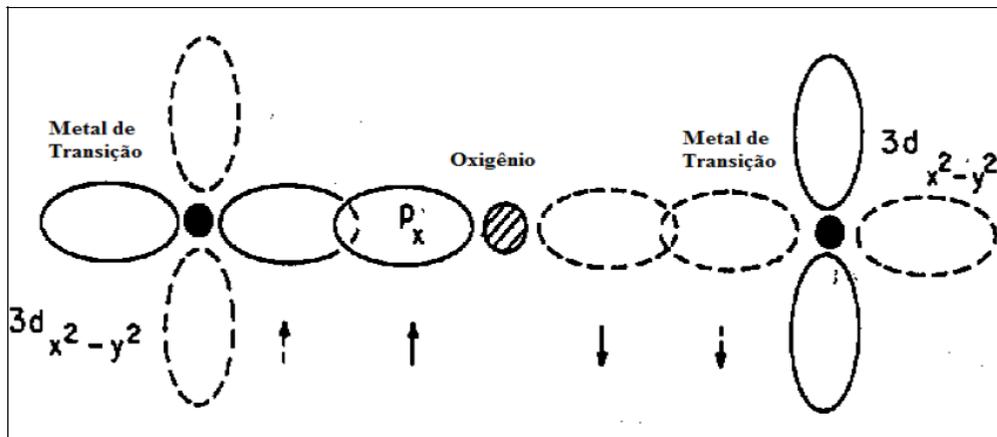


Figura 32 - Esquema dos orbitais p e d envolvidos na interação de super-troca [71].

Quando os três íons são colineares, ou seja, formando um ângulo de 180° este tipo de interação é bastante forte, principalmente quando comparada a configuração em que os íons formam ângulos de aproximadamente 90° . Na estrutura do espinélio o ângulo entre um átomo da sub-rede A ou B e o átomo de oxigênio no vértice é de 125° , favorecendo um forte acoplamento antiparalelo ($J_{AB} < 0$). Dois átomos da sub-rede B formam um ângulo reto $B-O-B$, enquanto que na rede A, a interação $A-O-A$ é muito pequena. Valores representativos da constante de troca J para cada um destes casos são dados na Tabela 6, juntamente com o respectivo ângulo da ligação química.

Tabela 6 - Constantes de interação de troca entre as redes da estrutura do espinélio, juntamente com o ângulo de ligação, [68].

J	$J(K)$	Ângulo da ligação Fe-O-Fe
J_{AB}	-28	127°
J_{AA}	-18	-
J_{BB}	+3	92°

Concluindo, uma configuração mais econômica do ponto de vista energético é aquela em que todos os momentos magnéticos atômicos da sub-rede A estão alinhados paralelamente entre si e antiparalelamente com todos os momentos magnéticos da sub-rede B, e o arranjo de spins pode ser descrito por $(Fe^{3+} \downarrow)[Fe^{3+} \uparrow Fe^{2+} \uparrow]O_4$.

A magnetização de cada sub-rede é calculada a partir do número de elétrons desemparelhados na camada incompleta dos cátions, assim os momentos magnéticos μ de cada sub-rede serão diferentes; além disso, a população de ambas é diferente, logo, a magnetização total das duas sub-redes não será compensada, resultando um ordenamento ferrimagnético.

As propriedades magnéticas mudam bruscamente nas ferritas substituídas, ou seja, quando todo, ou parte, de Fe^{2+} é substituída por outro metal de transição. Isso ocorre pelo fato de ambas sub-redes A e B possuírem íons de Fe^{3+} , com momento magnético de $5 \mu\text{B}$ e em mesma quantidade, porém com sentidos opostos, fazendo com que estes momentos se compensem. Dessa forma, o valor do momento magnético total da rede será dado pelo valor do momento magnético do cátion bivalente Me^{2+} . Na Tabela 6 apresentamos os valores do momento magnético total por molécula e a magnetização de saturação M_S para diferentes tipos de ferrita. Devido ao forte acoplamento antiferromagnético entre as sub-redes A e B, M_S se refere ao alinhamento completo do momento resultante (ferrimagnético) e não ao alinhamento paralelo de todos os momentos das sub-redes da ferrita (Tabela 7) [71].

Tabela 7 – Ocupação dos cátions metálicos nos sítios tetraédricos e octaédricos para diferentes ferritas, assim como os valores do momento magnético por molécula e os respectivos valores de magnetização de saturação. [69].

Ferrita	Íons tetraédrico	Íons Octaédrico	μ / molécula MeFe_2O_4 (μB)		$M_S(\text{emu/g})$ 0 K
			0 K	Experimental	
Fe_3O_4	Fe^{3+}	$\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$	4	4,1	98
CoFe_2O_4	Fe^{3+}	$\text{Co}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$	3	3,7	90
MnFe_2O_4	$\text{Fe}_{0,2}^{3+} + \text{Mn}_{0,8}^{2+}$	$\text{Mn}_{0,2}^{2+} + \text{Fe}_{1,8}^{3+}$	5	4,6	112
NiFe_2O_4	Fe^{3+}	$\text{Ni}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$	2	2,3	56
CuFe_2O_4	Fe^{3+}	$\text{Cu}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$	1	1,3	30

No caso das ferritas *bulk*, a anisotropia magnetocristalina é cúbica, devido à rede cristalina ter simetria cúbica. Como vemos na Tabela 8, a densidade volumétrica de energia de anisotropia K_1 muda de até duas ordens de grandeza com a mudança do íon divalente.

Tabela 8 – Valores de primeira ordem da densidade volumétrica de energia de anisotropia (K_1) para diferentes ferritas [71].

Composição	K_1 (erg/cm ³) (300 K)
Fe ₃ O ₄	$- 0,9 \times 10^5$
CoFe ₂ O ₄	$+ 2,6 \times 10^6$
NiFe ₂ O ₄	$- 0,7 \times 10^5$

Quando K_1 é negativo significa que a direção de fácil magnetização é um plano, como no caso da magnetita [111] e não um dos eixos cristalográficos como é caso da ferrita de cobalto [71].

TÉCNICAS DE REVESTIMENTO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA A BIOCMPATIBILIDADE

3.1. Introdução

As NPMs tendem a agregar e perdem as suas propriedades superparamagnéticas intrínsecas no fluido fisiológico [72]. Por si só, as NPMs não são muito estáveis nem solúveis em água. A solubilização das NPMs é essencial para prevenir a sua agregação e oxidação [72].

Na ausência de qualquer revestimento, as NPMs apresentam superfícies hidrofóbicas com uma grande área superficial em relação ao volume. Devido às interações hidrofóbicas entre as partículas, estas vão unir-se e formar grandes aglomerados, resultando no aumento do tamanho da partícula. Estes aglomerados exibem forte atração magnética dipolo-dipolo entre eles [73-74].

Quando dois grandes aglomerados se aproximam, cada um deles entra no campo magnético do vizinho. Além das forças de atração entre as partículas, cada partícula está no campo magnético vizinho e torna-se mais magnetizada. A adesão de partículas magnéticas remanescentes provoca magnetização mútua, resultando num aumento da agregação. Uma vez que as partículas são atraídas magneticamente, para além da floculação usual devido às forças de van der Waals, a modificação da superfície das nanopartículas magnéticas ou seu encapsulamento indispensável para que possam ser utilizadas com segurança nas aplicações biomédicas.

Para serem utilizadas com segurança na medicina clínica, as NPMs devem ser revestidas por materiais que satisfaçam os seguintes requisitos: prevenir a opsonização das NPMs, que conduz a uma mais rápida remoção das partículas do sangue pelo RES; evitar a aglomeração das NPMs no meio biológico; assegurar a biocompatibilidade das NPMs [75-76].

O revestimento das NPMs protege o núcleo de ferro e também proporciona um caminho para a conjugação de precursores moleculares, o que confere uma componente funcional biocompatível para as partículas. As NPMs podem ser revestidas com uma camada superficial que proporciona uma interface biocompatível entre o núcleo magnético e o microambiente biológico.

Ao mesmo tempo, deve ser enfatizado que, quando utilizado sozinho a NPM não tem um alvo específico. No entanto, se for revestido por uma monocamada superficial orgânica esta poderá estar conjugada a uma molécula específica, pode dirigir a NPM a uma área de interesse [76].

Atualmente, diversos métodos de revestimento de NPMs foram projetados por trabalhos específicos da literatura. Alguns desses métodos incluem o revestimento com micelas reversas ou com polímeros naturais ou sintéticos [75-76].

3.2. Encapsulamento por Micelas Reversas

Entende-se por Micelas Reversas (*MR's*) como sendo a estrutura globular formada por um agregado de surfactantes, ou seja, compostos que possuem características polares e apolares simultaneamente, dispersos em um líquido constituindo uma das fases de um colóide. As micelas são geralmente globulares, contudo, estas estruturas podem ser cilíndricas ou em camadas. O formato e o tamanho destas micelas e também da geometria molecular dos surfactantes bem como da concentração, temperatura, pH e força iônica da solução [77].

Essas partículas, ou seja, as nanoesferas propostas em nosso trabalho variam entre 0,1 e 0,001 micrômetros de diâmetro em soluções coloidais. As micelas se mantêm em constante e errático movimento, chamado browniano [77]. As micelas se mantêm unidas

graças a uma interação chamada Força de Van der Waals, que acontece devido à grande proximidade entre as parcelas apolares das moléculas anfipáticas, E ocorrem em qualquer concentração. Apenas a partir de uma concentração mínima chamada concentração micelar crítica, ocorre a micelização. Esta associação das moléculas de surfactantes ocorre para que haja uma diminuição da área de contato entre as cadeias hidrocarbônicas do surfactante e a água ou outro composto polar [77].

Com a formação de micelas várias propriedades físicas da solução tais como viscosidade, condutividade elétrica, tensão superficial e pressão osmótica são afetadas. As micelas podem ser formadas de fosfolipídios (lipídeos complexos), por exemplo, onde a parte polar ou hidrofílica fica rodeada de água, e a parte apolar ou hidrofóbica (caudas hidrocarbonadas), fica aprisionada no interior [77].

A utilização de micelas reversas como nanoreatores e empregada com o intuito de se obter nanopartículas com tamanho e distribuição controladas. Em um solvente não polar a exposição da parte polar não é energeticamente favorável. Neste caso os grupos hidrofóbicos tendem a ser voltados para o interior e os grupos hidrofílicos ficam expostos na superfície [77]. A formação de micelas reversas pode ser complexa, por possuírem cargas elétricas semelhantes os grupamentos polares tendem a se repelir. A Figura 33 ilustra o princípio esquemático das micelas reversas.

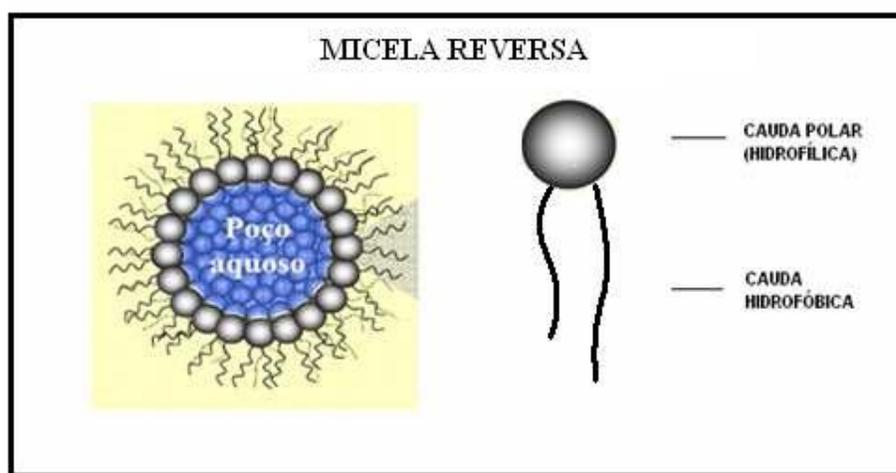


Figura 33: Representação esquemática de uma micela reversa e de uma também de surfactante contendo uma cabeça polar e duas cadeias hidrocarbônicas [77].

Conceitualmente o processo de reação química no interior de micelas reversas pode ser esquematizado na Figura 34. Ao preparar-se duas soluções de micelas reversas iguais e dissolver os reagentes A e B separadamente nas fases aquosas destas duas microemulsões (Figura 30), ao misturar-se as soluções (Figura 30b) deve ocorrer troca de reagentes entre as micelas devido as coalescências das gotículas num intervalo de tempo muito pequeno, da ordem de 10^{-9} s. Tal fenômeno possibilita a formação de um precipitado AB que ficará confinado no interior da micela reversa (Figura 34c). Este é o principal método para produzir nanopartículas em micelas reversas [77].

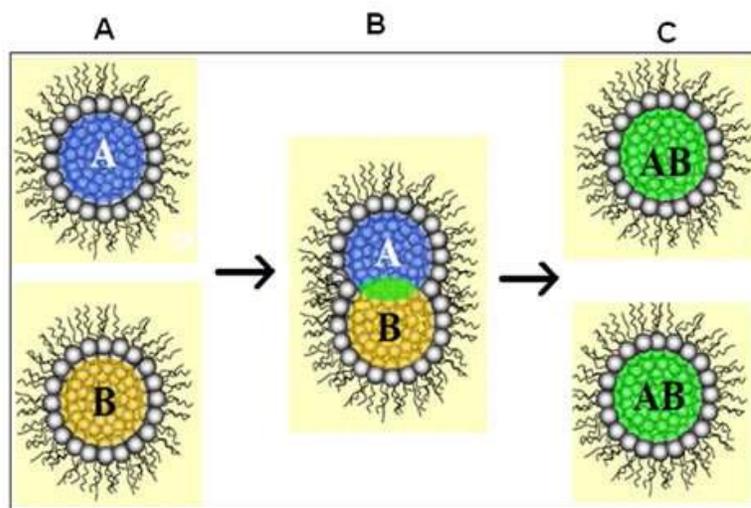


Figura 34: Representação esquemática do princípio de nanopartículas em micelas reversas usando duas microemulsões (a), posteriormente misturadas (b) e formando as nanopartículas (c) [77].

A formação de micelas reflete um balanço complexo de várias forças intermoleculares, incluindo forças de Van der Waals, interações eletrostáticas e interações hidrofóbicas [78], sendo que a formação destas são as causas da estabilidade da emulsão. As micelas, por serem susceptíveis a modificações em sua estrutura, possibilitam o controle e otimização da partição de biomoléculas pelo ajuste das suas características como tamanho e forma através da variação da temperatura, concentração do tensoativo e adição de sais.

Além disso, a seletividade da partição pode ser melhorada com a utilização de ligantes de afinidade específicos a biomolécula-alvo ou misturas de tensoativos iônicos e não iônicos [78]. O mecanismo de nanoencapsulação por micelas reversas não está

totalmente elucidado. No entanto, a teoria mais aceita descreve a formação das micelas reversas como um mecanismo cooperativo entre biomoléculas e tensoativo: a interface entre as duas fases (aquosa e micelar) se deforma em torno da biomolécula, formando a micela reversa e transferindo-a para a fase orgânica [79].

O comportamento de proteínas é dependente do pH da solução, pois este determina a rede de cargas da proteína. Usando soluções com valores de pH inferiores aos do ponto isoelétrico da proteína, esta apresentará carga líquida positiva, ao contrário, terá carga líquida negativa. Portanto, para que o não-encapsulamento da proteína ocorra, através de interações eletrostáticas, é necessário que exista diferença de cargas entre esta e o tensoativo [80], sendo possível que as extrações ocorram tanto por interações eletrostáticas quanto por forças hidrofóbicas.

A temperatura é também um fator de importância na absorção de biomoléculas por micelas reversas, pois influencia a capacidade máxima de absorção destas. Dentro de uma determinada faixa de temperatura, as micelas reversas são formações estáveis, o que favorece a absorção de moléculas. As temperaturas mais elevadas vão depender mais da sua termoestabilidade do que da capacidade de absorção da micela [81]. Outros fatores também têm sido estudados e demonstram que influencia o processo, como por exemplo: força iônica, tipo e concentração do tensoativo, emprego de aditivos, etc.

De interesse em nosso trabalho, as nanoemulsões constituem uma classe de emulsões com gotículas uniformes e de dimensões muito diminutas, na faixa entre 20 e 500 nm. Estas estão se tornando cada vez mais populares como veículos para a liberação controlada e dispersão otimizada de ingredientes ativos. As minúsculas dimensões dessas gotículas reduzem muito a força da gravidade, evitando que haja a criação de sedimentos durante o armazenamento do produto. O pequeno tamanho das gotículas também evita a floculação [81]. Evitando a floculação, o sistema mantém-se disperso, sem separação. As gotículas também evitam a coalescência por não serem deformáveis e não apresentarem alterações da superfície. Além disso, a significativa espessura da película (em relação ao diâmetro gotícula) evita qualquer afinamento ou ruptura da película de líquido entre as gotículas.

As técnicas empregadas neste trabalho são mecanismos recorridos que permitem a obtenção de nanoesferas a partir da digitalização da topologia de nanoesfera existente nas estruturas de micelas reversas, ou seja, se tomar o método das emulsões, como exemplo, e as nanoesferas obtidas são devidas ao fato de que as micelas são nanoesferas.

3.3. Revestimento da Superfície por Proteína

Em 1973, Robinson *et al* [82] usaram separação magnética pela primeira vez no contexto biotecnológico. Óxidos de ferro magnéticos revestidos com sílica e, posteriormente, com celulose foram usados para imobilizar duas enzimas: α -quimotripsina e β -galactosina para aplicações em biorreatores. Desde então, a separação magnética se tornou uma ferramenta cada vez mais comum para separação de moléculas e células.

Jin *et al* [83] modificaram a superfície de partículas de sílica comercial (Aerosil 200 – Degusa-Hüls) com biomoléculas de maleimida, que são muitas vezes empregadas na conjugação de superfícies de biomoléculas que apresentam grupos tióis na superfície. Moléculas de DNA foram imobilizadas, envolvendo: a silanização da superfície do suporte sólido com APTES (aminopropiltriétoxissilano); a reação de ligação cruzada de um ligante heterobifuncional PMPI (isocianato de p-maleimidafenil) com o grupo APTES para introduzir uma superfície de maleimida e, a reação de grupos tióis terminais no DNA com a superfície da maleimida. O grupo isocianato do PMPI formou uma ligação tipo uréia com os grupos amina da molécula de APTES. Para ser aplicado em biosseparação, este processo seria mais efetivo se as biomoléculas estivessem ligadas a um suporte magnético formado por um núcleo magnético recoberto com uma superfície altamente funcionalizável. Neste contexto, a sílica parece promissora por causa de sua estabilidade química e física, protegendo as partículas magnéticas em seu interior contra defesas naturais do corpo ou de outros ambientes, além de possuir superfície funcionalizável [83].

Se a superfície do material magnético for seletiva para uma proteína específica, a proteína será capaz de se ligar a essa superfície e sua separação do meio biológico poderá ser feita pelo uso de um ímã (Figura 35) [83].

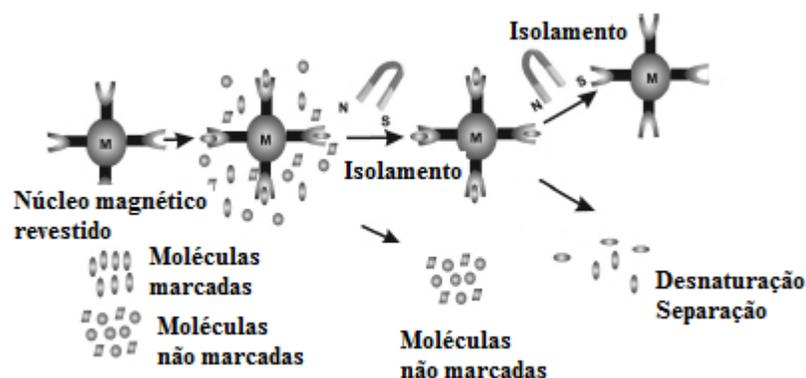


Figura 35: Esquema ilustrativo das etapas envolvidas na extração de biomoléculas de uma amostra usando agentes magnéticos de separação [83].

O primeiro trabalho de biosseparação em uma superfície de sílica funcionalizada foi realizado por Zhao *et al* [84]. Uma coleta e posterior separação de moléculas de DNA/RNA em uma matriz complexa é criticamente importante no diagnóstico de doenças humanas, estudos de expressão e proliferação de genes. Os autores desenvolveram um novo nanocapturador genômico (GMNC) para coleta, separação e detecção de quantidades traço de moléculas de DNA/mRNA que se diferenciam por uma única base. As nanopartículas magnéticas revestidas pela sílica foram sintetizadas pelo método de microemulsão reversa. A microemulsão foi preparada usando FeCl_2 e FeCl_3 como precursores das nanopartículas de óxido de ferro, tetraetilortossilicato (TEOS) como precursor da camada de sílica e o surfactante Triton X-100. O GMNC é construído pela bioconjugação de moléculas-sonda de DNA na superfície das nanopartículas magnéticas, através da ligação avidina-biotina. O método apresentou excelente habilidade para diferenciar amostras de DNA e RNA pela combinação da especificidade das moléculas-sonda e posterior separação da molécula de interesse das nanopartículas magnéticas [84].

3.4. Dendrímeros

Na química sintética, dendrímeros são considerados “intermediários” entre moléculas comuns ou convencionais e a tradicional química de polímeros. A “química dendrímica” (cascatas, arboróis e dendrímeros) está expandindo esses limites sintéticos. Essas moléculas/polímeros são fundamentadas na aplicação de progressões matemáticas para a síntese orgânica e, como tal, possuem uma topologia molecular bem definida.

Os dendrímeros são altamente ramificados [85]. Essas macromoléculas tridimensionais possuem pontos de ramificação em cada unidade monomérica que é capaz de conduzir a estruturas com definidos números de geração e grupos funcionais terminais [85]. Elas apresentam, ainda, elevado controle do peso molecular e da forma, o que proporciona a síntese de micelas unimoleculares. A Figura 36 mostra uma estrutura dendrítica altamente ramificada.

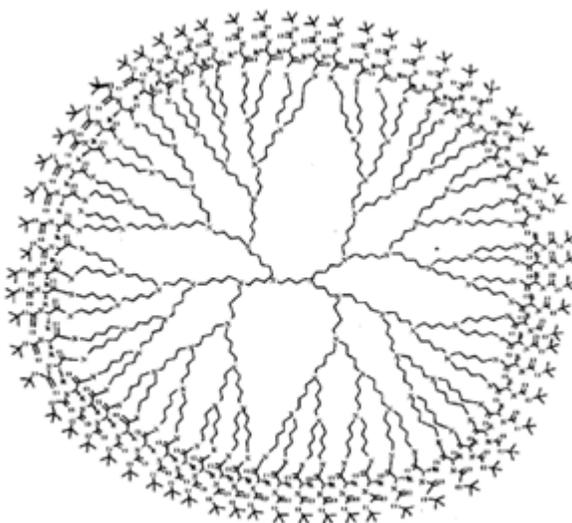


Figura 36: Estrutura dendrítica ramificada [85].

Os dendrímeros são preparados através de uma síntese tridimensional repetitiva. Como resultado desse procedimento controlado, os dendrímeros têm sido comparados

com polímeros esféricos monodispersos. Esses polímeros dendriméricos diferem dos polímeros clássicos em quatro áreas distintas: (i) simetria; (ii) grau de ramificação; (iii) funcionalização terminal e (iv) monodispersão.

As sínteses dendriméricas envolvem um núcleo a partir do qual gerações ramificadas estendem-se concentricamente. Esta ramificação dá-se através de uma progressão geométrica bem definida, Figura 37.

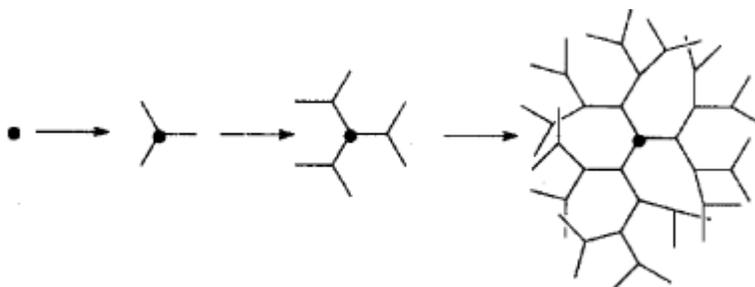


Figura 37: Representação esquemática do crescimento dendrimérico [86].

A arquitetura molecular pode adquirir o espaço tridimensional, com uma ramificação radial regular e, conduzir a uma molécula altamente simétrica. A síntese 3D envolve o uso de núcleos polifuncionais que acumulam unidades monoméricas repetitivas de modo radial e exponencial, capaz de construir “braço-sobre-braço” até que uma topologia semelhante a uma árvore seja estabelecida [86].

Os grupos terminais na síntese dendrimérica são usados no próximo estágio do “crescimento” molecular e, para cada nova geração que é formada o número de grupos terminais irá, pelo menos, dobrar. Através de um planejamento cuidadoso, a natureza e o número de grupos terminais podem ser controlados precisamente. Esta característica é importante na arquitetura dendrimérica [86], ao qual sabemos que esta propriedade é utilizada em diversas aplicações.

A síntese de dendrímeros representa um procedimento “passo-a-passo” muito bem controlado. A estratégia sintética repetitiva permite um controle do peso molecular e do tamanho, conduzindo a moléculas monodispersas. Com o “crescimento” para fora do núcleo, unidades repetitivas são adicionadas sucessivamente. A formação de camadas interiores dá-se pela adição dessas unidades repetitivas. No primeiro estágio, a adição de uma unidade de repetição ao núcleo central, produz a primeira camada interior, ou geração, G , e, neste caso $G = 1$. O ciclo sucessivo de reações (adição de mais unidades de repetição) cria gerações maiores de dendrímeros. No final do ciclo, uma nova camada externa é formada. Esta camada contém os grupos funcionais terminais. O número de grupos terminais e a massa molar relativa (RMM) podem ser facilmente obtidos através das seguintes fórmulas [87]:

$$n = N_c \times N_b^G$$

$$RMM = M_c + N_c [M_b [N_b^{G-1} / N_b - 1] + M_t \times N_b^G] \quad [104]$$

onde,

n = Número de grupos terminais;

N_b = Multiplicidade das ramificações (pontos de ramificação da unidade de repetição);

N_c = Multiplicidade do núcleo central (pontos de ramificação da unidade central);

G = Geração;

M_c , M_b e M_t = Representam a Massa Molar Relativa do núcleo, da unidade de repetição e dos grupos terminais, respectivamente;

3.5. Síntese Dendrimérica

Os dendrímeros são sintetizados através de etapas bem controladas. Entretanto, dois métodos diferentes são comuns: (i) o método divergente e (ii) o convergente.

O método divergente

O princípio deste método envolve o crescimento de um núcleo central, onde as ramificações são justapostas através de etapas sintéticas repetitivas. Este método é caracterizado por reações que ocorrem por um aumento do número de sítios, como se o dendrímero estivesse sendo construído "de dentro para fora" [88].

As camadas externas passam a constituir a estrutura interna do dendrímero. Uma característica do método divergente é que há um rápido aumento do número de grupos terminais reativos. Não obstante, quanto mais a molécula cresce, maiores imperfeições e falhas ocorrem. Isto se deve ao fato de que reações incompletas dos grupos terminais podem ser observadas.

O método convergente

A síntese começa pelo que tornar-se-á a "periferia" do dendrímero. O princípio básico do método envolve a construção de pequenas unidades fragmentais que são chamadas dendrons [87]. Esses dendrons são então unidos para a constituição do núcleo central e, conseqüentemente, para a formação final do dendrímero, Figura 38.

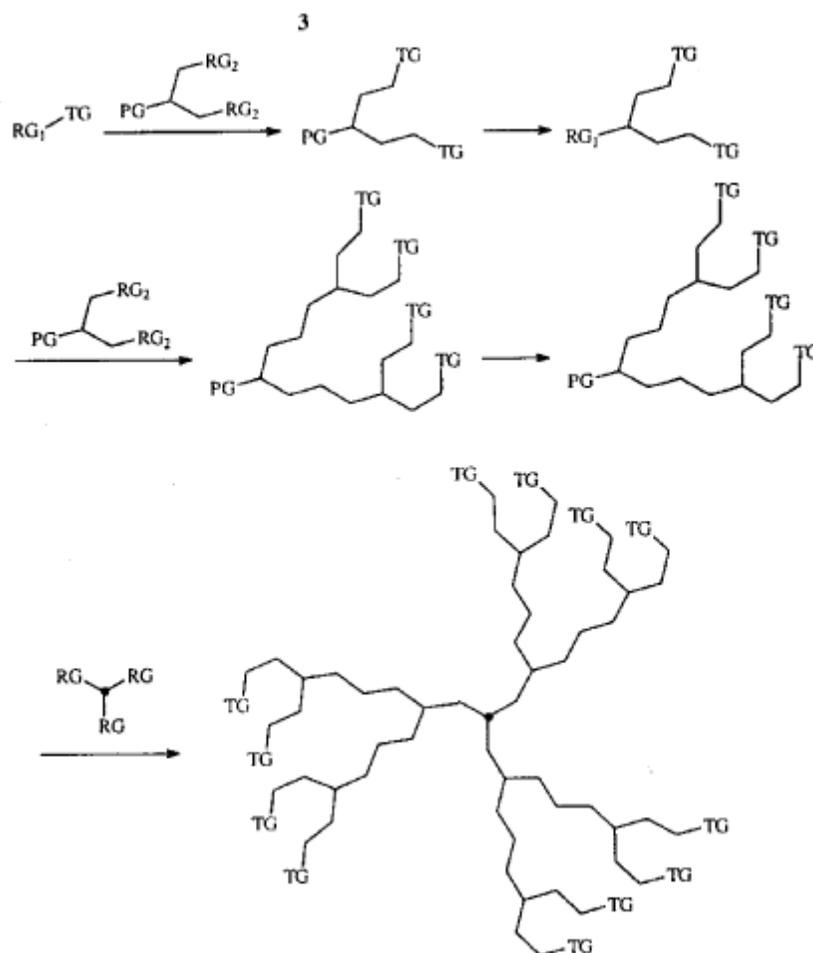


Figura 38: Representação esquemática de uma síntese dendrímica convergente [89].

O material de partida contém um grupo reativo (RG1) de um lado da subunidade estrutural e um grupo terminal (TG) na outra extremidade, que constituirá, na geração final, a camada externa do dendrímero. Esse fragmento pode, então, reagir com grupos reativos (RG2) da unidade de repetição, que também contêm sítios protegidos (PG). Depois da conversão para um novo grupo reativo (RG2) a síntese pode ser continuada por reação com uma segunda unidade de repetição [89]. A repetição do ciclo de desproteção/reação leva à construção de grandes dendrons. A reação dos dendrons desprotegidos com grupos reativos (RG) de um núcleo terminal constitui o dendrímero final.

3.6. Dendrímeros como sistemas transportadores de materiais magnéticos.

De particular interesse no nosso trabalho, o polímero de poliglicerol (PGLD) de gerações 0-4 (G0 – G4) apresenta boas propriedades hemocompatíveis, características atraentes para a sua utilização como sistema carreador de quimioterápicos para o tratamento do câncer [88]. A Figura abaixo ilustra um PGLD de geração 2 (Figura 39) [90]. As propriedades biológicas, peculiares ao PGLD, são explicadas pelos seus grupos OH terminais e OH secundários no interior da macromolécula, abrem grande leque de aplicações, que vão desde simples veículos até a exploração farmacológica no projeto de reservatórios moleculares para o transporte de quimioterápicos [89].

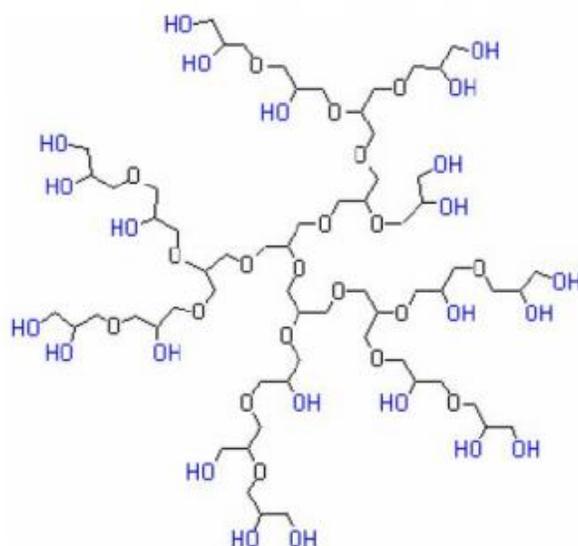


Figura 39: Estrutura do PGLD de segunda geração [90].

A função éter se caracteriza pela presença de um átomo de oxigênio ligado a dois diferentes átomos de carbono. Assim os poliéteres são formados a partir de monômeros que se unem através da ligação éter. Normalmente o acoplamento entre os monômeros de um poliéter se dá exatamente no local onde se encontra o oxigênio (normalmente sob a forma de uma hidroxila) [91]. Sendo um dendrímero um polímero altamente ramificado, a densidade de pontos de junção aumenta consideravelmente, quando comparado a seu homólogo linear.

Um poliéter arborescente é um dendrímero que apresenta uma alta densidade de grupamentos éter em sua estrutura, bem como a presença de hidroxilas em suas extremidades terminais. A geração poliéter arborescente é definida pelo número de camadas de monômeros que o compõem. A geração zero (G0) é composta apenas pelo núcleo oligomérico de poliglicerol. A geração um (G1) apresenta apenas um núcleo, uma camada do monômero e assim a geração do dendrímero aumenta de acordo com o número de camadas. Ao incluir uma nova camada de monômeros, cada ramificação recebe novas ramificações. Dessa maneira, a cada geração o número de ramificações terminais dobra, de modo que a cada geração o dendrímero se torna cada vez mais ramificado [91]. A Figura 40 ilustra este crescimento controlado dos dendrímeros a cada geração. Devido a este alto número de ramificações terminais, que aumentam a cada geração, os dendrímeros de poliéteres apresentam também uma alta densidade de hidroxilas terminais, que permitem uma reconfiguração das características físico-químicas da periferia do dendrímero através do acoplamento de novas moléculas.

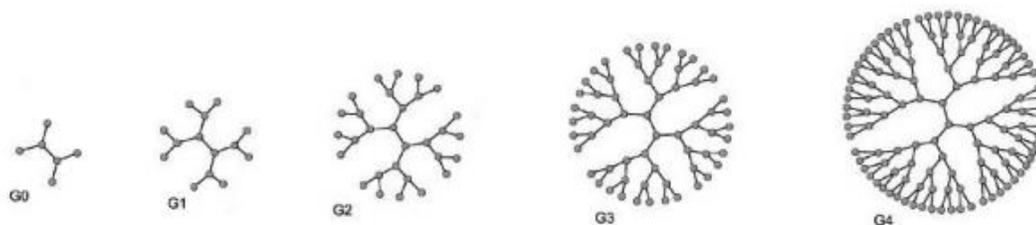


Figura 40: Crescimento de dendrímeros de acordo com o seu número de geração [92].

Com o aumento do número de geração, o diâmetro das macromoléculas arborescentes tende a aumentar de forma linear e a cada geração sua forma tende a ser mais globular, característica que favorece a biomimetização das proteínas globulares. Normalmente, a partir da quarta geração os dendrímeros são moléculas esféricas bastante densas, o que confere aos mesmos a capacidade de polidispersão, isomolecuridade e alta solubilidade, devido à sua periferia altamente polar [92-93].

Quando comparado com polímeros lineares, os dendrímeros apresentam a vantagem de possuir viscosidade intrínseca menor, que aumenta geralmente até a quarta geração,

enquanto que em polímeros lineares esta propriedade física aumenta de acordo com o aumento da massa molecular da molécula [93]. Por seu tamanho e forma, os dendrímeros possuem grande capacidade de biomimetização com enzimas e algumas organelas celulares. A princípio, pode-se dizer que como uma grande vantagem para o tratamento clínico, os dendrímeros apresentam grande capacidade de selecionar as células tumorais como um alvo preferencial para a sua acumulação, o que é determinante no nosso trabalho. Esta seleção é possível devido ao aumento da permeabilidade dos vasos do tumor ao dendrímero e da limitação da drenagem linfática [94]. Combinados, esses fatores levam à acumulação seletiva da macromolécula arborescente no tecido tumoral. Essa propriedade única dos dendrímeros, quando comparado com polímeros lineares, torna as macromoléculas arborescentes candidatas para o desenvolvimento de sistemas de entrega vetorizada de fármacos para o tratamento do câncer [95].

GENESIS DA TESE E SEUS OBJETIVOS

4.1. Introdução

Como já mencionado nos capítulos anteriores, o aumento significativo na incidência do câncer ao redor do mundo já atinge impactos econômicos intoleráveis para o sistema público de qualquer país, seja qual for sua classificação segundo o índice de Desenvolvimento Humano (IDH). Entretanto, relativamente aos países com elevado IDH, as regiões do planeta com maior desigualdade social parecem padecer mais da enfermidade.

Os dados mais recentes sobre a estatística do câncer ao redor do mundo lamentavelmente são alarmantes. Segundo estudos da IARC (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)- “*Global cancer transitions according to the human development index (2008 – 2030)*” publicado recentemente; o número de casos de câncer em 2030 deverá ser aproximadamente 75% maior que na atualidade. Nos países pobres a previsão não é muito otimista; o número de casos de câncer subirá aos níveis alarmantes de aproximadamente 93% [96].

Embora o Relatório do Desenvolvimento Humano de 2013 (RDH- “A Ascensão do Sul: Progresso Humano num Mundo Diversificado”) [97] aponte que, durante a última década, todos os países aceleraram o seu progresso nos domínios da educação, da saúde e distribuição de rendas; deve ser observado que de modo geral o desenvolvimento de tecnologias para o tratamento do câncer não tem acompanhado a evolução do IDH no globo terrestre.

A escalada do câncer no mundo também vem sendo constantemente alertado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma agência especializada das Nações Unidas, destinada às questões relativas à saúde mundial. A OMS divulgou recentemente que, em

2008 houve a incidência de cerca de 12 milhões de novos casos de câncer. A mortalidade por câncer nesse mesmo ano foi de aproximadamente 7,6 milhões de pessoas. As projeções não são otimistas para 2020. As estatísticas são cruéis e apontam que são esperados para o mesmo ano mais de 15 milhões de novos casos de câncer com um nível de mortalidade estimado de aproximadamente 13,2 milhões ao redor do mundo [98].

Neste momento, grandes dificuldades já despontam no horizonte das terapias e diagnósticos do combate ao câncer. Independente do IDH de cada país, as estimativas apontam que cinco milhões de novos pacientes a cada ano exigem radioterapia e fármacos (drogas). Entretanto, a falta de pessoal qualificado, a insuficiência de investimentos para o desenvolvimento de novas drogas, a lacuna existente quanto às técnicas de tratamento e o baixo número de unidades de equipamentos se constitui em um grande obstáculo para se tratar o câncer de forma eficaz.

As pesquisas apontam que no caso da radioterapia, seriam necessárias atualmente cerca de 5.000 máquinas para atender todos os pacientes. Entretanto, o número destas máquinas nos países em desenvolvimento ultrapassa pouco mais de 2.000. Atualmente, o Sistema Único de Saúde Brasileiro (SUS) conta com cerca de 250 equipamentos de radioterapia no país, distribuídos em 155 serviços, número insuficiente para o número de tratamentos de câncer que exigem essa terapia. Segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA), a falta de máquinas de radioterapia no SUS do Estado do Rio de Janeiro, deixa mais de 18 mil pacientes com câncer sem tratamento naquele estado [99].

No caso do Brasil, o dilema atual que o SUS parece enfrentar é a mesma do resto do mundo, ou seja; compatibilizar a restrição do orçamento com a necessidade de se incentivar as pesquisas acadêmicas com fundos e redes de pesquisa multidisciplinares adequadas e ao mesmo tempo; avaliar e incorporar as novas tecnologias criadas no próprio país.

É um fato constatado pela história da evolução humana que a ciência e a tecnologia são fundamentais para a sobrevivência. Baseado no exemplo dos trabalhos de Pasteur, Koch, Sabin e tantos outros que salvaram milhões de vidas humanas, poderiam ser afirmados que a ciência e a tecnologia servem a toda à humanidade. Quando bem administradas, ciência e tecnologia alavancam o desenvolvimento da sociedade humana,

vencendo a superstição, ignorância e imprimem maior racionalidade às ações humanas.

No Brasil, apesar das iniciativas e dos programas implantados; parte significativa da população tem sérias limitações no acesso a medicamentos. Cerca de 50% da população brasileira não tem acesso a medicamentos por falta de recursos.

Infelizmente o tratamento do câncer, qualquer que seja sua modalidade; não é barato. Considerando o tratamento com o composto Sorafenib (Nexavar), o preço de uma caixa com 112 comprimidos (200 mg/comprimido) na prateleira da farmácia é de aproximadamente US\$7.300 na China, US\$ 5.400 nos EUA, US\$ 5.000 no Brasil, € 3.562 na França, e US\$ 1.400 na Coreia [100].

Vale ressaltar que a posologia recomendada do medicamento para o tratamento de pacientes adultos é de 400 mg (dois comprimidos de 200 mg) duas vezes ao dia (equivalente a uma dose diária total de 800 mg). Se combinado com outros quimioterápicos, a exemplo da doxorubicina; o custo do tratamento será mais elevado.

Vários efeitos colaterais são observados no tratamento com Sorafenib destacando-se tromboembolismo, hipertensão arterial, toxicidade dermatológica e eventos hemorrágicos graves. A produção insuficiente de fármacos e medicamentos associada ao deslocamento da indústria nacional para produtos de menor conteúdo tecnológico tem resultado em déficits crescentes da balança comercial brasileira.

As despesas com fármacos de alta complexidade, não afetam somente as finanças pessoais dos pacientes, mas desequilibram também o caixa dos sistemas de saúde, mesmo dos gigantes da economia e tecnologia mundiais. Nos Estados Unidos (EUA), há projeção de aumento de cerca de 5-10% ao ano nas despesas com fármacos, com maior impacto em clínicas e ambulatórios. Entretanto, o Cabazitaxel (Jevtana®), um quimioterápico utilizado no tratamento do câncer de próstata apresentou no ano de 2012 um incremento de 215,2% relativamente ao ano de 2010 nos gastos pelo sistema de saúde americano [101].

Estudos tem demonstrado na escala da matemática financeira que o diagnóstico é um fator de risco para a falência pessoal do paciente oncológico, crescendo em probabilidade para os casos de câncer de pulmão, tireoide, leucemia/linfoma, útero e colorretal, seguindo aproximadamente essa ordem. Em média, as taxas de falências

aumentaram em aproximadamente quatro vezes no prazo de cinco anos após o diagnóstico de câncer [102].

Navegando ainda no terreno fértil dos números, se o crescimento dos tumores malignos pode ser representado através de equações diferenciais ordinárias [103-104], também deve ser possível se utilizar uma função que descreva o custo do tratamento utilizando um modelo no qual se considera a probabilidade de cura do tumor, o custo por fração de aplicação do quimioterápico e o custo da falha no tratamento.

A análise da distribuição de custos associados aos cuidados de um paciente com câncer de mama nos EUA indica que o custo do tratamento apresenta um comportamento exponencial, isto é; são elevados em escala logarítmica, desde o momento do diagnóstico até à morte do paciente [105].

O desenvolvimento de novas tecnologias de cunho nacional para a área da saúde é muito importante para o Brasil devido ao envelhecimento acelerado de sua população [106]. O envelhecimento é um fenômeno essencialmente biológico que atinge o ser humano na plenitude de sua existência. O organismo humano envelhece como um todo, enquanto que os seus órgãos, tecidos, células e estruturas sub-celulares tem envelhecimentos diferenciados e que parece estar associado simultaneamente a ambos, longevidade e hereditariedade [107].

As alterações genéticas ocorridas ao longo da existência podem perturbar o processo de sinalização celular perdendo-se sinais moleculares importantes para o controle de proliferação, morte e diferenciação que governam a comunidade celular causando assim o câncer. Os conhecimentos atuais dos aspectos epidemiológicos da doença mostram que a idade é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer. Ou seja, o câncer é uma doença relacionada com a idade, ocorrendo mais frequentemente em pessoas idosas [108].

O envelhecimento populacional é hoje um fenômeno universal, característico tanto dos países desenvolvidos como daqueles em desenvolvimento. O envelhecimento é comumente definido como um acúmulo de diversas mudanças deletérias nas células e

tecidos que ocorre ao longo dos anos, responsável por um aumento do risco de doenças e morte [109].

A incidência de câncer, mas também de várias doenças degenerativas como infarto, fraturas no quadril e mal de Alzheimer parecem aumentar exponencialmente com a idade [110]. Sob o olhar de perspectiva da ciência é natural que, com o aumento progressivo da expectativa de vida média das pessoas, a incidência de câncer também tende a aumentar. Mas, não se deve assombrar com a racionalidade científica e mergulhar na escuridão que parece tomar conta do mundo contemporâneo, onde explicações e procedimentos pseudocientíficos ocupam cada vez mais os espaços dos meios de comunicação.

A vela do conhecimento científico ilumina o mundo moderno e recupera os valores da racionalidade do ser humano em busca da longevidade. Para que a ciência seja efetivamente um instrumento de desenvolvimento econômico e social, devem-se dominar os pontos chave do seu próprio processo de desenvolvimento científico, processo esse conduzido segundo uma estratégia adequada, voltada para os objetivos de desenvolvimento no sentido mais amplo, econômico, social e cultural.

Devido ao longo tempo envolvido em sua busca, os elevados custos e riscos associados às pesquisas e desenvolvimentos de novos quimioterápicos ficam restritos a poucos países. Os EUA é o líder absoluto da área detendo cerca de 40% das descobertas mundiais, seguido do Japão 19%, Alemanha 10%, França 9%, Reino Unido 7% e Suíça 5% [111-112].

Embora o mercado brasileiro de medicamentos possa ser considerado expressivo, levando-se em conta o aumento do PIB e a distribuição de renda, a indústria farmacêutica de capital nacional ainda é bastante incipiente, sendo considerada uma indústria de transformação [113].

Nesse sentido, a pesquisa básica para o desenvolvimento de novas moléculas destinadas ao tratamento de patologias cujos resultados tenham impacto sobre a saúde pública deveria ser incentivada em nosso país uma vez que possibilitam a eliminação da forte dependência dos grandes conglomerados internacionais estendendo a tecnologia à população de baixa renda [114].

Ao adentrarmos na busca e investigação de novas moléculas que apresentem significativa atividade antineoplásica, nos deparamos com fatores que podem contribuir para a falha do medicamento destacando-se sua citotoxicidade para as células sadias, ausência de eficácia e baixa disponibilidade [115].

Atualmente, as metodologias utilizadas no desenvolvimento de novos fármacos antitumorais vêm sendo extensamente aprimoradas, assim como as tecnologias para o aperfeiçoamento do efeito farmacológico dos fármacos já existentes, mas que têm seu uso limitado devido aos efeitos tóxicos severos para o paciente [116]. Muitas tecnologias foram desenvolvidas na última década no intuito de aumentar a atividade terapêutica dos agentes antitumorais assim como de diminuir seus agressivos efeitos colaterais de forma a tornar viável a utilização dos fármacos já existentes.

Uma alternativa interessante em ressonância com a área de experiência do proponente dessa proposta de pesquisa é a utilização de sistemas furtivos baseados em nanopartículas poliméricas sólidas ou do tipo micelares obtidas a partir de copolímeros anfifílicos de bloco [117]. Entretanto, os sistemas micelares poliméricos são muito dinâmicos com relação à contínua troca das unidades de monômeros entre a estrutura da micela e as unidades livres em solução e geralmente não são suficientemente estáveis para alterar a farmacocinética de fármacos solubilizados, proporcionar períodos prolongados de circulação pelo organismo e liberar concentrações maiores de fármaco no tecido tumoral quando comparado com a liberação do fármaco livre [118].

Os inconvenientes apontados anteriormente para o desenvolvimento de sistemas macromoleculares micelares como sistemas transportadores de fármaco nos levou há alguns anos a selecionar o dendrímero de poliglicerol (PGLD) como sistema transportador de fármacos para o tratamento do câncer.

Por possuir estrutura globular similarmente às proteínas globulares, a estrutura do PGLD se assemelha mais a uma esfera ou a um elipsóide, e que pode ser solúvel em água dependendo de sua geração; em soluções de sais neutros ou soluções ácidas e alcalinas. O PGLD parece ser apropriado para participar de todas as reações biológicas nas quais se necessita de elevada mobilidade e, portanto, solubilidade no meio fisiológico.

Em uma primeira proposta, analisamos as características de biocompatibilidade do bioconjugado PGLD-estreptoquinase (PGLD-Sk) como protótipo a sistema transportador de quimioterápicos. Os resultados obtidos indicaram que o PGLD possui as propriedades biocompatíveis adequadas para sua utilização como sistema transportador de fármacos uma vez que o material possui baixa atividade antitrombogênica e não apresentou citotoxicidade contra células de mamíferos (CHO- *Chinese Hamster Ovary Cells*) [119].

Analisada as propriedades hemocompatíveis do PGLD voltamos a atenção para o estudo da incorporação do ácido acetil salicílico (AAS) como quimioterápico modelo e ao mesmo tempo o Gd^{3+} como agente de contraste para imagiologia por ressonância magnética nuclear. A atividade biológica do composto foi testada em três linhagens celulares: osteosarcoma humano (MG63), linhagem celular normal pulmonar humana de origem fibroblástica (MRC-5) e carcinoma de pulmão humano (A-549). Observou-se que o PGLD:AAS: Gd^{3+} apresentou a capacidade de inibir a reprodução das células neoplásicas causando a apoptose celular [120]. O sistema PGLD:AAS: Gd^{3+} demonstrou ainda a capacidade de internalização celular, característica essa promissora para o tratamento e a terapia de células neoplásicas, especialmente as linhagens celulares de carcinoma alveolar humano e osteosarcoma.

Em um projeto mais recente, foi proposto o encapsulamento de nanopartículas magnéticas (NPM) baseadas em $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ (YFeAl) no sistema PGLD:AAS: Gd^{3+} visando sua aplicação em magneto-hipertermia, técnica essa também conhecida com o nome de magnetotermocitólise [121]. A meta a ser atingida com a introdução de NPM no bioconjugado PGLD:AAS: Gd^{3+} é a de acelerar os eventos apoptóticos e/ou de necrose das células neoplásicas mediante a presença de campos magnéticos oscilantes. Os estudos da magneto-bioatividade estão sendo conduzidos atualmente em nossos laboratórios em condições *in vitro* contra a cultura de células das linhagens de osteosarcoma humano (MG63), linhagem celular pulmonar humana de origem fibroblástica (MRC-5), carcinoma de pulmão humano (A-549) e carcinoma mamário humano (MCF-7).

Observando a estrutura do PGLD ilustrada na Figura 41, é fácil perceber que se trata de uma macromolécula de estrutura tridimensional arborescente, cuja síntese foi projetada

de modo sequencial e controlada o que confere à macromolécula arborescente características isomoleculares. Analisando a estrutura do PGLD pode-se perceber que a simetria das ramificações e sua topologia parecem mimetizar as estruturas das proteínas globulares a exemplo da albumina, presente no sangue humano (Figura 41).

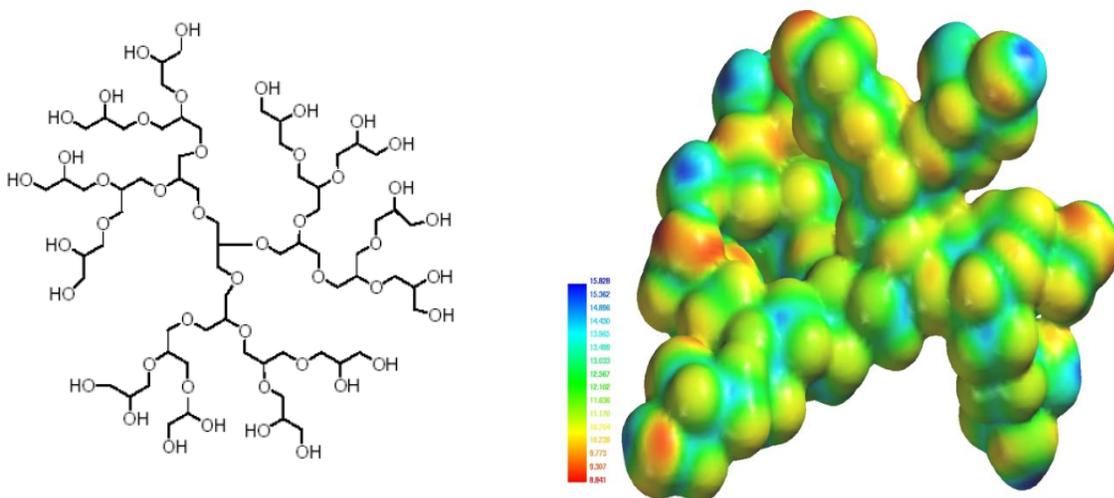


Figura 41- Ilustrações da estrutura química do PGLD G3 (A) e de sua superfície equipotencial (B) demonstrando sua estrutura globular. Adaptado de [122].

Os estudos de farmacocinética indicam que os fármacos sofrem ligação com as proteínas plasmáticas [123]. Por isso, a eficácia de um quimioterápico é profundamente afetada pelo grau em que este se liga às proteínas do plasma sanguíneo. Quanto menos ligante for o fármaco, mais eficientemente ele poderá transpor ou se difundir através das membranas celulares. As pesquisas sobre a interação entre as proteínas e os quimioterápicos constituem um dos mais importantes tópicos no campo das ciências da saúde uma vez que os sítios de ligação da biomolécula fornecem informação importante sobre o transporte e o metabolismo de moléculas no corpo humano.

Um dos fatores mais importantes que afeta a biodistribuição e a concentração ativa de muitos fármacos no organismo humano é a sua afinidade pela albumina (HSA). É bem verdade que certa afinidade do fármaco pelo HSA é desejável para sua solubilização, que

de outra forma poderiam agregar-se e ser pobremente distribuídos no organismo. Por outro lado, uma afinidade elevada poderia aumentar significativamente a dose terapêutica do composto, o que encareceria ainda mais o tratamento. Adicionalmente, a interação forte com a HSA poderia promover uma lenta distribuição do fármaco nos locais de ação desejados o que prejudicaria sua eliminação pelo organismo, elevando ainda mais a citotoxicidade do composto para as células sadias [124].

Em nossos estudos a respeito da adsorção das proteínas séricas HSA e fibrinogênio (HFB) verificamos que o PGLD possui forte afinidade por HSA e baixa por HFB. Se por um lado o processo de adsorção de BSA é favorável à hemocompatibilidade do dendrímero poderá também afetar sua biodistribuição no organismo. Ao mesmo tempo, verificamos que a incorporação do fármaco é favorecida pelo aumento do número de geração do dendrímero. Entretanto, a lipofilia (ou coeficiente de partição-logP) do PGLD aumenta, ou seja; a macromolécula arborescente se torna menos solúvel no meio fisiológico devido à sua elevada hidrofobicidade superficial.

Um dos problemas observados na literatura sobre a aplicação dos agentes transportadores de fármacos com superfície hidrofóbica é a adsorção dos fatores de complemento e anticorpos, que funcionam como opsoninas. As opsoninas agem facilitando a ligação de células fagocitárias, que removem as partículas mais rapidamente da circulação sanguínea evitando assim, que atinjam o tecido alvo.

Recentemente, em colaboração com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, estudamos a aplicação do PGLD como sistema transportador de Celecoxibe (CXB) tendo como meta sua utilização no tratamento de carcinoma de boca. Os resultados *in vitro* do ensaio de TUNEL utilizando linhagem celular de carcinoma de boca (OSCC9) indicaram que o conjugado PGLD-CXB se mostrou eficaz e sofre um processo de internalização celular na linhagem celular carcinogênica estudada.

A constatação de que a combinação de terapias multimodais no tratamento do câncer reduz a mortalidade dos pacientes com níveis aceitáveis de toxicidade, nos levou a desenvolver em nosso projeto de pesquisa anterior magnetodendrímeros (MD's) utilizando como nanoplataforma o PGLD para utilização em magnetotermocitólise [125]. Nesse caso,

a combinação da quimioterapia (AAS) com campos magnéticos oscilantes (CMO) contribuíram positivamente para a citotoxicidade do MD contra as linhagens celulares de osteosarcoma humano (MG63), carcinoma de pulmão humano (A-549) e carcinoma de mama (MCF-7). Tais resultados nos motivam para a busca por novos análogos de MD. A quimioterapia com AAS liberado pelo PGLD induz a destruição das células cancerosas. A magnetohipertermia (MH) por sua vez, proporciona o aumento de temperatura necessário em uma região do corpo que esteja afetada pela neoplasia, com o objetivo de causar a lise térmica das células cancerosas.

Embora vários transportadores baseados em polímeros, lipossomas e géis tenham sido desenvolvidos especialmente na década passada, a utilização de dendrímeros como sistemas transportadores de NPM para utilização em técnicas multimodais para o tratamento do câncer, combinando magnetohipertermia e quimioterapia, ainda é incipiente na literatura.

No Brasil, não são observados em escala clínica significativa a utilização da técnica de magnetohipertermia no tratamento do câncer. Essa lacuna parece ser inerente ao binômio associado ao desenvolvimento de campos magnéticos oscilantes e sistemas transportadores de quimioterápicos/NPM suficientemente estáveis e eficientes.

A utilização de dendrímeros do tipo PGLD conjugado a quimioterápicos e NPM tem despertado o interesse do proponente desse projeto de pesquisa pela sua capacidade de permeabilidade celular e homogeneidade quando carregado com compostos quimioterápicos ou magneticamente ativos. O sistema comporta-se assim como um fluido magnético homogêneo ideal. Por sua vez, devido à sua escala manométrica; o PGLD parece ser particularmente interessante para utilização na quimioterapia uma vez que são permeáveis às membranas celulares e seu coeficiente de partição pode ser controlado durante o processo de síntese em função de sua geração [126].

A proposta da utilização do PGLD como sistema transportador multifuncional de CXB e NPM para o CECP tem como objetivo geral tornar o quimioterápico capaz de acumular no órgão ou tecido-alvo de forma seletiva e quantitativa, independente do local e os métodos de sua administração. Em condições clínicas a vetorização do CXB no tecido

tumoral deve ser favorecida, enquanto que sua concentração nas células sadias deve estar abaixo do nível mínimo, evitando-se os efeitos colaterais agressivos para o paciente.

O PGLD deverá retardar e sustentar a liberação de CXB e/ou direcioná-lo aos locais específicos de ação (células ou órgãos). A associação do PGLD às NPM permitirá simultaneamente ao tratamento quimioterápico a deposição de energia (calor) com consequente eliminação das células tumorais residuais. Entretanto, o dilema que enfrentamos com a utilização do PGLD é o seu coeficiente de partição que aumenta com o número de geração, tornando esse sistema mais hidrofóbico para as gerações G3 e G4.

PGLD com geração superior a dois são interessantes para a clínica oncológica devido à grande capacidade de incorporação do CXB por esses materiais. A necessidade de se utilizar um PGLD de geração baixa ($G < 3$) poderá desfavorecer a concentração do CXB na macromolécula arborescente. Vale ressaltar que os dendrímeros PGLD de maior geração, devido à sua estrutura globular, ocupam um volume hidrodinâmico menor comparado aos polímeros lineares devido à sua estrutura globular. Por sua vez, comparado às proteínas; os dendrímeros apresentam um maior volume hidrodinâmico.

Uma vez que, o desenvolvimento de novos materiais pode ser citado como um setor de vanguarda na ciência pretende-se através deste projeto estabelecer uma sistemática para a produção escalonada de magneto-dendrissomas (MDS's) que atuem na terapia multimodal encapsulando simultaneamente CXB e NPM visando sua aplicação no tratamento do CECP.

A Figura 42 ilustra a estrutura idealizada de um magentodendrissoma de poliglicerol, sintetizado nesse trabalho. Nos MDS's o dendrímero PGLD transportador de NPM e CXB é envolto por uma bicamada lipídica. Nesse caso, poder-se-ia trabalhar com dendrímeros de geração elevada, aumentando-se a capacidade de incorporação do quimioterápico garantindo-se ao mesmo tempo, a biodisponibilidade do fármaco em concentrações terapêuticas e a possibilidade de modulação da energia a ser depositado no tecido alvo. Ao mesmo tempo, o DDM pode conter fluoróforos que permitem a localização da região tumoral.

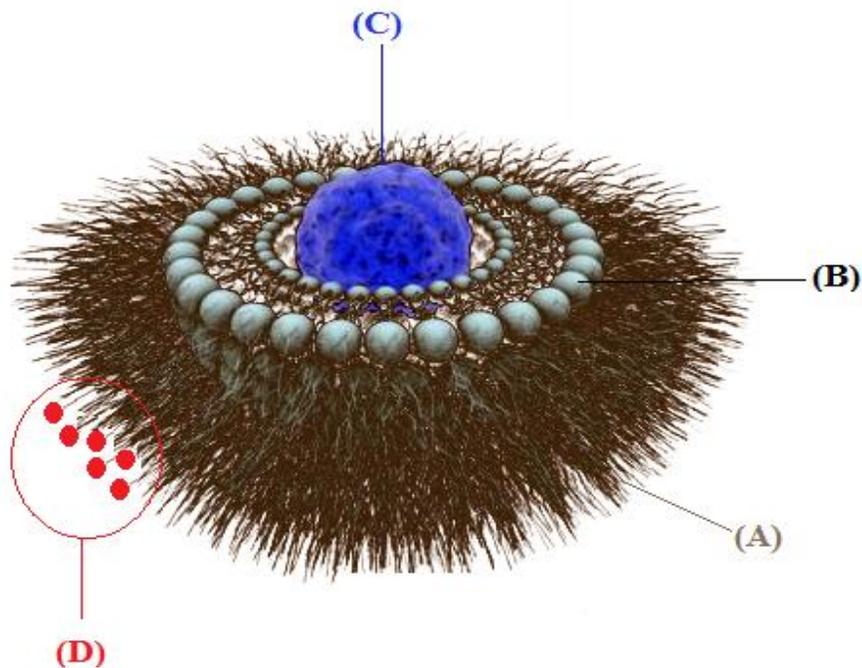


Figura 42- Estrutura idealizada do DDM objeto dessa Tese. A estrutura DDM deve ser observada como nanocápsulas de terceira geração, uma vez que incorpora em uma única estrutura nanopartículas magnéticas, quimioterápicos e marcadores tumorais fluorescentes. Nesse caso, encontra-se ilustrado na Fig. 1(A) através de uma imagem idealizada a natureza anfifílica do DDM onde os filamentos representam as cadeias do PGLD. Em (B) representa-se a estrutura vesicular do lipossoma. A estrutura (C) representa o núcleo arborescente de PGLD contendo nanopartículas magnéticas e o agente quimioterápico. Em (D) estão representados os receptores tumorais e marcadores luminescentes.

4.2. Objetivos Gerais

O principal objetivo deste trabalho é a obtenção de magnetodendrissomas (MDS's) baseados no sistema PGLD:CXB:NPM para o tratamento do câncer, particularmente o CECP. Dessa maneira, os objetivos gerais da proposta envolvem a produção de sistemas de liberação controlada com propriedades magnéticas que não sejam citotóxicos na ausência

de CXB, possuam propriedades de marcador tumoral, que tenham as dimensões adequadas e que encapsulem eficientemente o CXB.

4.2.1. Objetivos Específicos

- (a) Desenvolver técnicas da nanotecnologia do tipo *bottom-up* para a síntese de MDS's contendo NPM do tipo YFeAl e o quimioterápico CXB incorporados na cavidade do dendrímero PGLD.
- (b) Projetar sistemas microfluídicos para a obtenção de MDS's.
- (c) Estudar as propriedades de biocompatibilidade do MDS's, a saber: ativação plaquetária, atividade anticoagulante e citotoxicidade.
- (d) Investigar a distribuição de tamanho dos MDS's através da microscopia eletrônica de transmissão (MET).
- (e) Projetar campos magnéticos oscilantes (CMO) para estudo da estabilidade dos MDS's projetando-se sua utilização em oncologia térmica.
- (f) Avaliar quantitativamente a liberação de CXB do MDS sob a ação de CMO através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- (g) Analisar a estabilidade do MDS's sob a ação de CMO com vistas à utilização destes materiais em oncotermia.

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

5.1. Síntese dos precursores acetilacetonatos metálicos

A primeira parte deste trabalho abordou a síntese dos precursores acetilacetonatos (acac) de ítrio ($Y(acac)_3$), ferro ($Fe(acac)_3$) e alumínio ($Al(acac)_3$). Estes precursores são promissores para a síntese de nanopartículas de YFeAl, tendo em vista a elevada capacidade da acetilacetona (acac), 2,4-pentanediona, em formar complexos do tipo $M(acac)_n$ com metais de transição [127]. Tais complexos tendem a degradar em temperaturas relativamente baixas, formando os respectivos óxidos com boa monodispersão de tamanho no domínio nanométrico.

Para o preparo de $Al(acac)_3$, Figura 43(a), uma solução de acac (0,8 M) foi preparada em meio amoniacal (5M, NH_4OH) e gotejada continuamente em um solução 0,15 M de $Al(NO_3)_3$ até pH levemente alcalino (pH 8,0). Após a adição da solução amoniacal de acac a mistura foi mantida sob agitação constante por 30 min à temperatura ambiente (25 °C). O precipitado de $Al(acac)_3$ foi filtrado em funil buchner sob vácuo seguido de recristalização em dimetilformamida (DMF). Os cristais purificados de $Al(acac)_3$ foram mantidos em dessecador contendo $CaCl_2$ sob vácuo (745 mmHg). O rendimento da reação foi de 60,78%. O ponto de fusão do produto, determinado por calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi de 192 °C, em boa concordância com o valor reportado pela literatura [128].

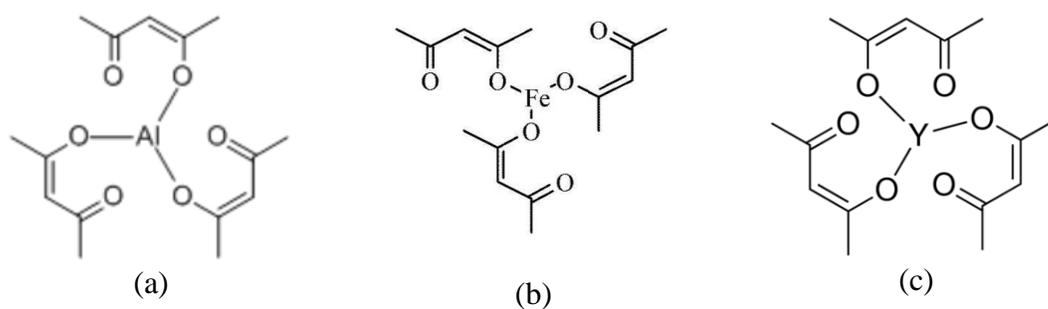


Figura 43- Ilustração das estruturas dos acetilacetatonatos preparados nesse trabalho [128].

Para o preparo de $\text{Fe}(\text{acac})_3$, uma solução de acac (29,5 mM), Figura 43(b), foi preparada em meio amoniacal (6 M, NH_4OH) e gotejada continuamente em um solução 0,017 M de $\text{Fe}(\text{Cl})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ até pH levemente alcalino (pH 8,0). A reação foi conduzida em banho de gelo devido à exotermia da reação. Após a adição da solução amoniacal de acac a mistura foi mantida sob agitação constante por 30 min em banho de gelo. O precipitado de $\text{Fe}(\text{acac})_3$ foi filtrado em funil buchner sob vácuo seguido de recristalização em etanol. Os cristais purificados de $\text{Fe}(\text{acac})_3$ foram mantidos em dessecador contendo CaCl_2 sob vácuo (745 mmHg). O rendimento da reação foi de 78,12 %. O ponto de fusão do produto, determinado por calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi de 182 °C [129].

Para o preparo de $\text{Y}(\text{acac})_3$, Figura 43(c), uma solução 8 mM de isopropóxido de ítrio ($\text{Y}(\text{OPr-i})_3$) foi gotejada lentamente em solução 4,0 M de acetilacetona sob agitação constante e fluxo de N_2 (50 mL/min). A mistura reacional foi mantida em refluxo a 80 °C por 2 h, seguido da destilação do $\text{Y}(\text{OPr-i})_3$ e acac em excesso sob vácuo. O resíduo sólido foi dissolvido em clorofórmio (20 mL) e em seguida recristalizado em uma mistura de clorofórmio-éter etílico (1:1). Os cristais purificados de $\text{Y}(\text{acac})_3$ foram mantidos em dessecador contendo CaCl_2 sob vácuo (745 mmHg). O rendimento da reação foi de 87,63%. O ponto de fusão do $\text{Y}(\text{acac})_3$, determinado por calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi de 139 °C, em boa concordância com a literatura [130]. A Figura 44 ilustra uma aparelhagem de vidro típica para a reação de obtenção dos acetilacetatonatos metálicos.

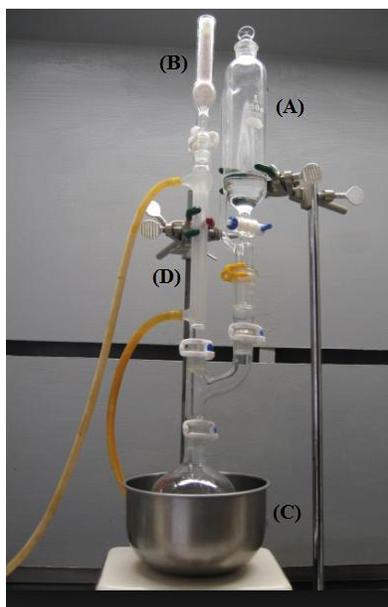


Figura 44- Ilustração de uma montagem típica para a síntese de acetilacetonatos metálicos, obtidos nesse trabalho: (A) Funil para adição da solução de acetilacetona, (B) dessecante ($\text{CaCl}_2/\text{sílica}$), (C) balão de fundo redondo contendo a solução amoniacal imerso em banho de gelo ou óleo térmico (no caso de aquecimento), amoniacal, (D) condensador de refluxo [130].

5.2. Síntese do Poliglicerol de Estrutura Arborescente (PGA)

O PGA de estrutura arborescente de geração 4 (PGA_{g4}) foi sintetizado em reator tipo batelada (Figura 45) utilizando o método divergente seguindo-se uma sequência catalítica repetitiva de alilação e di-hidroilação a partir de um núcleo de um núcleo oligomérico de decaglicerol (PGL_{10}) (Figura 45).

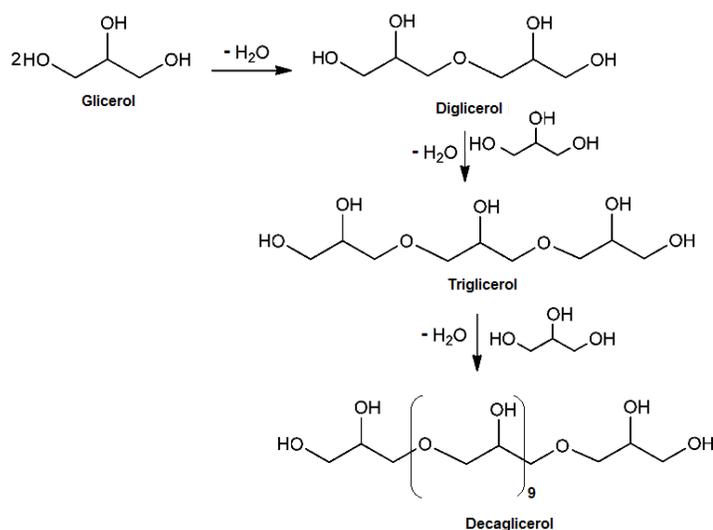


Figura 45 – Ilustração da reação de obtenção do núcleo oligomérico de decaglicerol [130].

Tanto a reação de oligomerização do glicerol (Figura 45) quanto a obtenção do PGAg_4 foram realizadas em reator em vidro boro silicato do tipo batelada com agitação, e volume útil de 100 mL trabalhando à pressão atmosférica normal e temperaturas de até 230 °C. As reações foram realizadas com agitação de 500 rpm sob atmosfera inerte por fluxo de nitrogênio de 5,0 mL/min a fim de se evitar a oxidação do glicerol e ao mesmo tempo, arrastar a água reacional com o auxílio de uma bomba de vácuo. A ilustração do equipamento de síntese utilizado nesta Tese é mostrada na Figura 46.

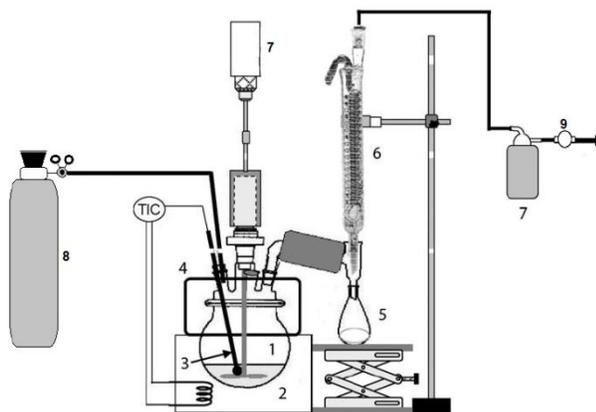


Figura 46 – Ilustração do reator utilizado no processo de síntese do núcleo oligomérico de PGL₁₀, PGA e do conjugado PGA-HLP: (1) Balão de três bocas, (2) Manta aquecedora, (3) Termopar, (4) Aquecedor, (5) Trap do condensador, (6) Condensador, (7) Trap fria, (8) Cilindro de nitrogênio gasoso, (9) Bomba de vácuo. TIC = controlador de potência (TRIAC).

É importante observar que o objetivo da presente Tese não foi a síntese do PGA_{g4} mas a obtenção de sua dendrissoma magnético. Por esse motivo, utilizou-se o PGA_{g4} produzido seguindo metodologia de trabalhos anteriores do Grupo de Pesquisa Polímeros Bioativos e Biomiméticos [131-135]. A Figura 46 ilustra parte das reações químicas envolvidas na obtenção do PGA a partir do núcleo de PGL₁₀. A estrutura do PGA_{g4} foi confirmada por ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C (¹H-NMR e ¹³C-NMR). A Figura 47 ilustra os espectros ¹H/¹³C-NMR do PGA_{g4} anteriormente já caracterizado pelo grupo de pesquisa da UNIFEI [136]. As análises foram efetuadas em espectrômetro Bruker ARX300 a 300 MHz e 75 MHz, respectivamente. As seguintes atribuições são efetuadas: ¹H-RMN (300 MHz, D₂O, δ ppm): 4,8 (OH), 4,04 (CH₂OH, CH-OH, CH₂-O-CH₂; CHO-CH₂); ¹³C-RMN (75 MHz, D₂O, δ ppm): 60-64 (CH-CH₂-O-CH₂), 70-75 (CH-OH, O-CH₂, CH₂OH) e 80 (CHO-CH₂).

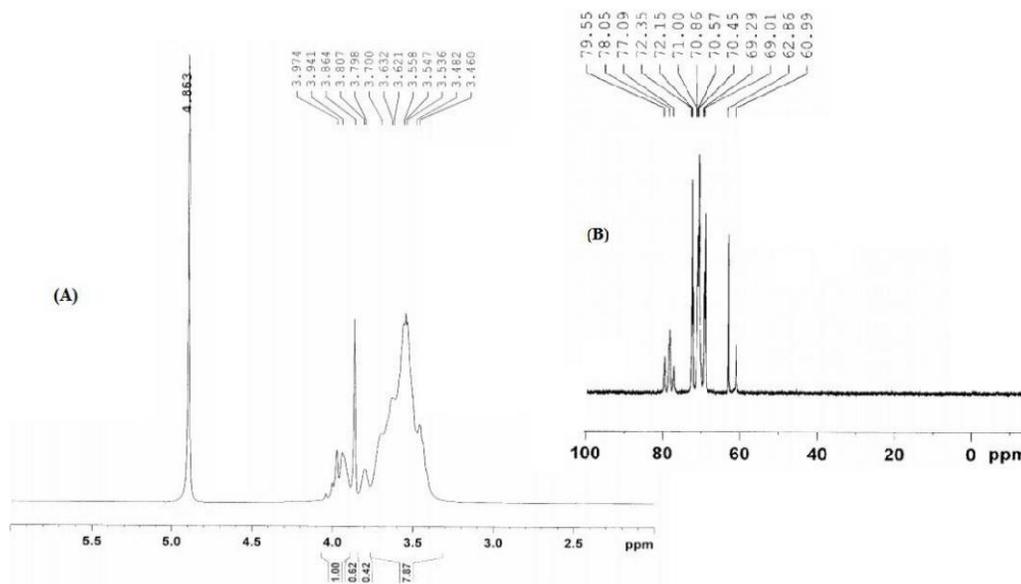


Figura 47- Espectros de RMN do PGA₄ utilizado nesse trabalho. A análise foi efetuada à temperatura ambiente (25 °C), utilizando-se como solvente D₂O. A análise foi efetuada no ICTP-CSIC/Madri-Espanha.

5.3. Síntese das Nanopartículas Metálicas de YFeAl dispersas em PGA_{g4} em uma única etapa

A síntese das Nanopartículas de YFeAl foi realizada via reações de decomposição térmica dos Me(acac)₃ (Me = Y³⁺, Fe³⁺, Al³⁺), metaestáveis, utilizando-se PGA como meio de transferência térmica. Neste caso o PGA atua simultaneamente como meio reacional ativo como, solvente e estabilizante, protegendo a superfície das NPMs, impedindo sua aglomeração e ao mesmo tempo; levando à obtenção de um sistema monodisperso, com tamanhos e formas melhor controlados. Ao mesmo tempo, o método permite a funcionalização *in-situ* e em uma única etapa do PGA com as nanopartículas magnéticas. O modelo geral de reação de decomposição térmica dos acetilacetonatos pode ser estabelecido como uma reação em solução.

As nanopartículas de Y₃Fe_{5-x}Al_xO₁₂ (YFeAl) foram sintetizadas em sistema de refluxo conforme ilustrado pela Figura 44. Em um balão de fundo redondo com três bocas, previamente flambado com secador de cabelo para eliminação da umidade, foram adicionados os precursores metálicos [Fe(acac)₃] (0,75 mmol), Al(acac)₃ (0,5 mmol),

Y(acac)₃ (0,2 mmol), PGA_{g4} (25 mL) e glicerol como solvente. A mistura reacional foi deaerada com gás N₂ por 40 minutos à temperatura ambiente (25 °C), sob agitação magnética constante. Em seguida; o sistema foi aquecido até 296 °C, sob fluxo constante de argônio (100 mL/min), e mantido nesta temperatura por 20 minutos. Passado esse tempo, a fonte de calor foi removida e o sistema resfriado sob fluxo de argônio até a temperatura ambiente (25 °C). A glicerina foi em seguida removida por destilação sob alto vácuo (0,4 mbar, ponto de ebulição 170-190 °C). O sistema PGA_{g4}-YFeAl foi lavado com solução tampão PBS pH 7,4 e liofilizado. Essa operação foi realizada por três vezes de forma a se garantir toda a remoção de impurezas.

5.4. Funcionalização do Sistema PGA_{g4}-YFeAl com o Fluorofóro Cianina Cy5

A imobilização da Cy5 no PGA_{g4}-YFeAl foi efetuada através do método de Steglich em reação de esterificação catalisada por N,N-Diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimethylaminopyridine (DMAP) [137]. A 10 mL de uma solução de PGA_{g4}-YFeAl em dimetilformamida (DMF) 0,01mM foi adicionado e N,N-Diciclo-hexilcarbodiimida (DCC, 0,64 mM) e 4-Dimethylaminopyridine (DMAP). O sistema foi mantido em agitação magnética por 24 h a -4 °C. A solução coloidal resultante foi dialisada por 3 dias contra água destilada para a remoção do DMF e impurezas em membranas de acetato de massa molar 12-14 kDa de limites de exclusão por 24 horas a -4°C. Após a diálise, as amostras foram liofilizadas e armazenadas em geladeira (-4°C). A Figura 48 ilustra as etapas utilizadas na obtenção do conjugado (PGA_{g4}-YFeAl)-Cy5.

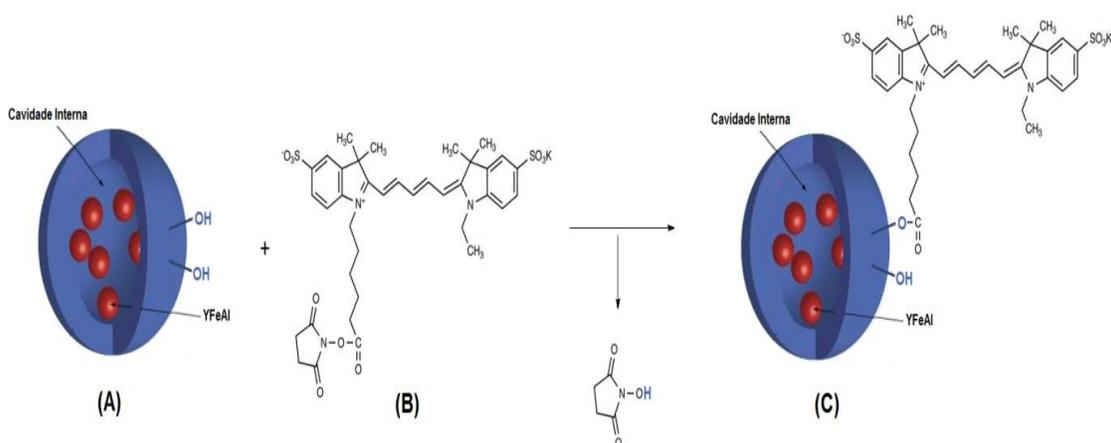


Figura 48- Conjugação do fluoróforo Cy-5 (B) na estrutura do $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$ (A) para obtenção do $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl-Cy5}$ (C).

5.5. Incorporação do CXB na Estrutura $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$

Para a incorporação do CXB no sistema $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$ foi utilizado a técnica de dispersão molecular seguido de liofilização. Um excesso de CXB foi adicionado ao $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$ em concentrações variadas correspondentes à solubilidade do fármaco em tampão PBS, pH 7,4 à temperatura ambiente (25 °C). O sistema foi submetido à agitação constante (200 rpm) sob temperatura controlada de 25°C por 48 h seguido de sonicação por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram dializadas em acetato de celulose seguidas de liofilização. Ambos, YFeAl e CXB são encapsulados nas cavidades do núcleo multifuncional do $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$.

A incorporação do CXB ao $\text{PGA}_{g4}\text{-YFeAl}$ foi acompanhada através da espectroscopia de absorção no ultravioleta (UV, Varian-Cary 50) de acordo com metodologia proposta na literatura [138].

A curva de calibração foi preparada no intervalo de concentrações de CXB no intervalo de 2 g.mL⁻¹ a 40 g.mL⁻¹ utilizando-se como diluente uma solução de acetonitrila: tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 5,6 na proporção 1:1. A leitura foi realizada a 251 nm, sendo a curva de calibração apresentada na Figura 49.

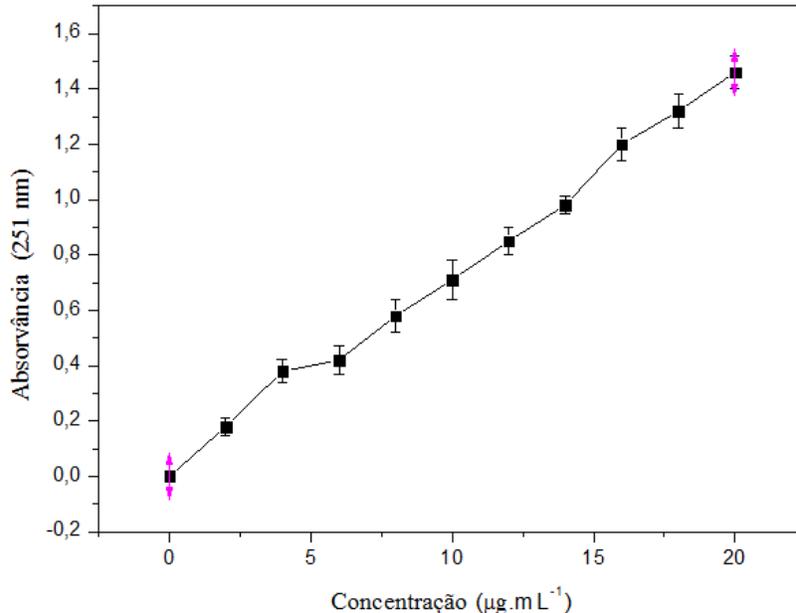


Figura 49- Curva de calibração do padrão para quantificação de CXB. A equação da reta é dada por: $A_{251\text{ nm}} = 0,071.C + 0,020$ ($r^2 = 0,9948$). Cada ponto foi analisado em triplicata (n=3). **ADICIONAR FIT**

5.6. Obtenção do Dendrissoma Magnético (MDS)

Neste trabalho utilizou-se um dispositivo microfluídico *home-made* fabricado em nossos laboratórios adaptado da literatura [139]. A técnica de preparação seguirá o protocolo “bottom-up” utilizando-se o conceito de fluidização em microcanais onde a predominância conjunta de baixa pressão e regime de escoamento laminar controlam a transferência de massa entre as fases que compõe o sistema. Os MDS’s serão obtidos através da injeção da suspensão lipídica composta de fosfatidilcolina de ovo (EPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) e 1,2-dioleoil-3-trimetilamônio-propano (DOTAP) na proporção de 60:20:20 (% molar) e PGLD(NPM)(CXB) em variadas concentrações (10-100 mM) no dispositivo microfluídico através de bomba de seringa e pressão definida.

O acompanhamento do processo será efetuado através da focalização hidrodinâmica em um microscópio estéreo. Ao final do processo, os MDS’s pré-formados serão liofilizados mediante a utilização de crioprotetor adequado. As propriedades físico-

químicas estudadas para os MDS's obtidos foram o diâmetro médio cumulativo, polidispersidade e potencial zeta.

5.7. Técnicas de Caracterização NÃO ADICIONOU DSC E TGA

5.7.1. Difractometria de raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X foram obtidos em um equipamento Shimadzu modelo XRD 6000, com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) operando a uma voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA, varredura sincronizada com o passo de $0,05^\circ$, no intervalo 2θ de 20 a 80° , exposição de 5 min com 1° e $0,3^\circ$ para a fenda incidente, divergente e programável, respectivamente. As amostras foram depositadas em um substrato de vidro. As análises foram realizadas com a colaboração da Shimadzu do Brasil.

5.7.2. Espectroscopia de Fluorescência de raios X (XRF)

A análise composicional referente aos íons metálicos presentes nas amostras foi realizada em um espectrômetro de dispersão de energia de fluorescência de raios X (EDXRF) em equipamento da Shimadzu Co, modelo Rayny 720. As análises foram realizadas com a colaboração da Shimadzu do Brasil.

5.7.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As imagens digitais de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram obtidos em um microscópio da marca Jeol, com 200 kV, modelo JEM 200C (resolução 50 Å), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-SP)/Centro de Caracterização e Tecnologia dos Materiais.

As análises por MET foram preparadas, inicialmente, pela dispersão do DDM em álcool isopropílico. As suspensões foram sonicadas em banho ultrassom para garantir a completa dispersão (tempo de 30 minutos) e, em seguida, uma gota da suspensão foi depositada sobre uma grade de cobre de 300 mesh, previamente recoberta por um filme fino de carbono (espessura de 15-25 nm) depositado por "sputtering". As grades foram armazenadas em dessecador até vaporização do solvente, à temperatura ambiente (25°C).

Os histogramas de distribuição de tamanhos de partículas foram construídos estimando-se o diâmetro de cerca de 200 nanopartículas, em uma região previamente determinada na imagem de MET, através do programa de análise de imagens.

5.7.4. Espectroscopia Mössbauer

Os espectros Mössbauer dos DDM foram obtidos em um espectrômetro de aceleração constante equipado com uma fonte de raios γ de ^{57}Co em uma matriz de Rh ($^{57}\text{Co}:\text{Rh}$) com atividade nominal de 100 mCi (em Fevereiro 2014) montada sobre um vibrador eletromagnético, cujo sinal periódico de velocidade é linear no tempo. As amostras foram prensadas entre dois discos de lucite e os espectros foram obtidos entre 4.2 K e a temperatura ambiente (298 K) a uma velocidade máxima de 10 mm/s. As amostras foram montadas em um suporte de acrílico com um orifício circular de 0,5 cm de diâmetro. Uma máscara de chumbo foi colocada na frente do suporte para colimar o feixe de radiação. Os fótons transmitidos foram detectados por uma câmara de ionização (detector) operando no modo proporcional enquanto um analisador de multi-canal foi usado para contar e definir o espectro. Os dados foram avaliados usando conjuntos de Lorentzianas através de um algoritmo de ajuste por mínimos quadrados, utilizando o programa Normos-90. Os deslocamentos isoméricos (δ) reportados são medidos com relação ao $\alpha\text{-Fe}$. As análises foram realizadas no Instituto de Química Física Rocasolano do “Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Tecnológicas” - CSIC/Madrid.

5.7.5. Caracterização da magnetização do DDM

O comportamento magnético dos DDM foi analisado por magnetometria de amostras vibrante (VSM). As análises foram conduzidas em um magnetômetro LakeShore 7307-7Inch. Inicialmente avaliaram-se as medidas de histerese magnética à temperatura ambiente (25°C). Posteriormente analisou-se a influência da temperatura nas medidas de magnetização, mantendo-se o campo magnético constante. O campo magnético aplicado nas amostras, nas medidas de histerese magnética, teve intensidade máxima de 15 kOe. Os

campos magnéticos aplicados nas medidas de magnetização como função da temperatura variara de 200 Oe e 1 k Oe. A temperatura, nas medidas de magnetização em função da temperatura, variou da ambiente a 450 °C com uma taxa de aquecimento de 5 °C/min. As medidas de MAV foram efetuadas na UNIFEI.

5.7.6. Microscopia Ótica de Fluorescência

A microscopia de fluorescência confocal dos DDM's foi feita em microscópio Leica TCS SP5, usando uma objetiva seca HC PL APO CS 0,4 10x (baixa ampliação) e uma objetiva de imersão em água HCX PL APO CS 1,20 W 63x (alta ampliação). Para excitar as amostras usou-se uma linha de He-Ne de 633 nm e a imagem foi simultaneamente detectada na região de 680 nm. As amostras foram preparadas sobre um cristal de quartzo revestido com ouro, colocando o cristal numa suspensão contendo DDM's na concentração de 0,7 mg/mL, durante 2h e a 25 °C.

5.7.7. Avaliação da Hipertermia Magnética dos DDM

5.7.7.1. Sistema de Geração de Campo Magnético na bobina para as NP's

Um gerador de sinal (também chamado de gerador de função ou de frequência) é um equipamento de teste que cria um sinal periódico para dispositivos eletrônicos de teste. A frequência desse sinal é medida em Hertz (Hz) ou ciclos por segundo. O seu aspecto pode ser selecionado a partir de várias alternativas de padrão, sendo a forma senoidal e "dente de serra" — forma de onda que tem o formato do nome — as mais comuns. Esse sinal é introduzido por meio de uma sonda e, em seguida, um osciloscópio é utilizado para procurá-lo em outros locais do equipamento que está sendo testado. Assim, o sinal do gerador, operando entre 0 e 20 MHz, numa potência de 25W será lido num pré-amplificador linear.

Pré-amplificador é o estágio de um amplificador de áudio que recebe o sinal da fonte sonora, tais como o gerador de sinal para as nanopartículas, o receptor e o toca-discos de baixo nível e corrige-o, entregando em sua saída um sinal suficientemente

elevado para excitar o amplificador de potência. O tipo de amplificador mais comum é o eletrônico, comumente usado em transmissores e receptores de rádio e televisão.

Seus componentes principais são dispositivos ativos, tais como válvulas ou transistores. Em alta fidelidade o amplificador é um aparelho eletrônico que eleva os níveis de tensão dos sinais de áudio. É muitas vezes empregado para designar o conjunto pré-amplificador e amplificador de potência ou o amplificador integrado.

Amplificador de potência é o estágio de um amplificador de áudio ou de RF (radiofrequência) que eleva o sinal de áudio ou de RF fornecido pelo pré-amplificador ou oscilador a um nível de tensão e impedância adequados para funcionar as caixas acústicas ou antenas transmissoras.

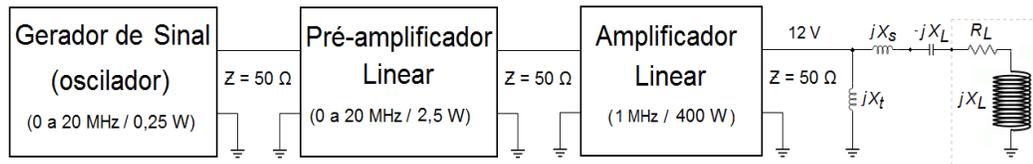


Figura 50: Esquema magnético para aquecimento de solução com nanopartículas.

5.7.7.2. Tratamento Térmico

O estudo das propriedades dos sistemas magnéticos nanoestruturados foi intensificado de maneira notável nos últimos anos. O aprimoramento no controle dos processos de produção e caracterização destes sistemas tornou possível uma excursão a um conjunto de informações físicas de um mundo até então desconhecido. Isto tem levado a inúmeros benefícios, tanto no campo tecnológico quanto no desenvolvimento da compreensão de fenômenos envolvidos nesta escala, que aumenta com o grau de controle da estrutura fina da matéria. É bem sabido que, a medida que se diminui o tamanho de uma partícula, os efeitos de superfície se tornam cada vez mais importantes, podendo até mesmo definir as propriedades magnéticas de alguns sistemas.

Por exemplo, nanopartículas de óxidos de ferro apresentam propriedades magnéticas muito interessantes, como uma altíssima dissipação de energia mediante a aplicação de campo magnético, o que as colocam como excelentes candidatos para

aplicações em hipertermia, administração de fármacos etc. Ao observar objetos macroscópicos no dia a dia, pode-se perceber que muitas vezes esses materiais não permanecem magnetizados. Isso se deve ao fato de que os materiais são compostos por átomos, que podem ser considerados como pequenos ímãs, mas que preferem se manter em estados de menor energia. Dessa forma, no interior do material observa-se a formação de regiões, chamadas de domínios magnéticos, nas quais os momentos magnéticos desses átomos se alinham, porém os diversos domínios do material possuem magnetização em direções diferentes e portanto, a magnetização total observada é nula.

Quando as dimensões do material estudado são diminuídas o suficiente, a formação dos domínios magnéticos não se torna tão interessante em termos energéticos, portanto ocorre a formação de apenas um domínio, também chamado de monodomínio magnético, gerando uma magnetização espontânea, formando um momento magnético gigante, ou supermomento. No estudo das nanopartículas magnéticas, observou-se que esse momento de monodomínio tende a se alinhar em algumas direções preferenciais, correspondentes a estados menos energéticos, formando o que se chama anisotropia uniaxial. Porém, entre esses estados existe barreiras de diferentes energias, as quais não permitem que o supermomento permaneça indefinidamente em um dos estados de menor energia.

Para temperaturas diferentes de $0K$ ($-273^{\circ}C$), o supermomento magnético dessas partículas pode mudar constantemente de direção, devido à energia térmica. Esse fenômeno ficou conhecido como superparamagnetismo, por ser semelhante ao paramagnetismo observado em materiais macroscópicos ao serem expostos a um campo magnético. As propriedades magnéticas do campo de reversão magnética foram investigadas pela primeira vez por Bean e Livingston [139] usando a probabilidade de reversão de Néel, dada por:

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{KV}{k_B T}\right)$$

Onde o tempo característico τ_0 é assumido normalmente como sendo $\sim 10^{-9}s$, k_B é a constante de Boltzmann, K é a constante de anisotropia uniaxial e V é o volume das partículas. A expressão KV representa a barreira de energia entre os dois sentidos do eixo de fácil magnetização. De acordo com Bean e Livingston num dado tempo de observação

(τ_{obs}), existe uma temperatura crítica, chamada de temperatura de bloqueio T_B , dada por [140]:

$$T_B = \frac{KV}{\kappa_B \ln\left(\frac{\tau_{obs}}{\tau_0}\right)}$$

Acima da qual a reversão da magnetização do conjunto de partículas de tamanho uniforme passa de bloqueado (possuindo histerese) para superparamagnético (sem histerese). Bean e Livingston mostraram também com a teoria de Néel que a coercividade de tais sistemas decresce com a raiz quadrada da temperatura ($\propto T^{-1/2}$) quando as partículas estão bloqueadas chegando a zero no estado superparamagnético.

As nanopartículas são obtidas em solução, por reação química, e podem ser manipuladas posteriormente para a formação de arranjos mais complexos. Nesses sistemas, é possível modificar finamente e independentemente as propriedades individuais da fase nanométrica, através dos parâmetros de síntese, e as propriedades coletivas, pela incorporação posterior das nanopartículas numa matriz ou deposição em substrato.

Com esse procedimento pode-se utilizar as nanopartículas em diversas aplicações biomédicas, como contraste magnético ou ainda como técnica de transporte de fármacos, que ao serem ligados às nanopartículas podem ser direcionados para determinadas regiões do corpo, através da aplicação de um campo magnético externo. O efeito de hipertermia é avaliado ao medir a taxa de absorção específica (SAR – Specific Absorption Rate) de um material magnético, ou seja a quantidade de energia transformada em calor por unidade de tempo. Para isso aplica-se um campo sobre a amostra são feitas medidas de temperatura no decorrer do tempo. O SAR é calculado com a seguinte expressão [140]:

$$SAR = \frac{W}{m_{Fe}} = \frac{\Delta Q}{\Delta t \cdot m_{Fe}} = C_p \frac{m_f \Delta T}{m_{Fe} \Delta t} \quad [105]$$

onde C_p é o calor específico da solução, m_f é a massa da solução, m_{Fe} é a massa do ferro e $\Delta T/\Delta t$ é medido na região em que o efeito da condução de calor ainda não se tornou importante.

O parâmetro SAR para o mesmo fluido magnético mudará quando medido em AC, com frequências diferentes e pode ser deduzido através da fórmula de dissipação de energia volumétrica:

$$P = \mu_0 \pi \chi''(f) f H^2 \quad [106]$$

Onde: μ_0 é a permissividade magnética ($4\pi \cdot 10^{-7}$ Tm/A), χ'' é a susceptibilidade magnética e H é o campo magnético aplicado.

Entretanto, para baixas frequências, tais como os utilizados atualmente para os sistemas de aquecimento (105 – 106 Hz). Rosesweig [1] previu que para uma boa aproximação χ'' é independente da frequência. Assim para frequências altas (100 – 900kHz) introduzimos o conceito da perda de energia intrínseca (ILP), dada por [140]:

$$ILP = \frac{P}{\rho H^2 f} = \frac{SAR}{H^2 f} \quad [107]$$

O ILP tem por função o cálculo com diferentes campos AC e frequências.

5.7.7.3. Nanoesferas e o Campo Magnético Oscilante

A energia de desmagnetização E_d pode ser escrita em função do tensor de desmagnetização. Utilizando a relação $\vec{H}_d = -N \cdot \vec{M}$ [108], temos [141]:

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 \vec{m} \cdot N \cdot \vec{m} \quad [109]$$

Onde N , em seu caso mais geral é dado por:

$$N = \begin{pmatrix} N_{xx} & \dots & N_{xy} & \dots & N_{xz} \\ N_{yx} & \dots & N_{yy} & \dots & N_{yz} \\ N_{zx} & \dots & N_{zy} & \dots & N_{zz} \end{pmatrix} \quad [110]$$

Considerando partículas com geometria esférica com semieixos paralelos aos eixos cartesianos, o tensor de desmagnetização será diagonal e poderemos escrevê-lo como:

$$N = \begin{pmatrix} N_x & \dots & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & N_y & \dots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & \dots & N_z \end{pmatrix} \quad [111]$$

Assim, podemos desenvolver os produtos escalares na eq. 111:

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 \vec{m} \cdot N \cdot \vec{m}$$

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 [N_x m_x^2 + N_y m_y^2 + N_z m_z^2] \quad [112]$$

Restringindo-nos ao caso de esferoides em que os semieixos iguais estão nas direções x e y , podemos definir:

$$N_x = N_y = N_p \quad [113]$$

$$N_z = N_{pp} \quad [114]$$

*Sendo a notação: N_p – paralelo e N_{pp} – perpendicular.

A equação 112 nos fornece:

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 [N_p (m_x^2 + m_y^2) + N_{pp} m_z^2]$$

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 [N_p + (N_{pp} - N_p) m_z^2] \quad [115]$$

Onde utilizamos a relação $(m_x^2 + m_y^2 + m_z^2) = 1$.

A equação da partícula submetida ao campo efetivo definido pela eq. 110 será escrita como:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = -\delta_L \vec{M} \times [\vec{H}_\alpha(t) + M_s (N_p - N_{pp}) m_z \hat{z}] +$$

$$\frac{\lambda}{M_s} \vec{M} \times [\vec{M} \times (\vec{H}_\alpha(t) + M_s (N_p - N_{pp}) m_z \hat{z})] \quad [116]$$

Sendo a derivada parcial no tempo substituída pela derivada total, pois assumimos novamente a hipótese de magnetização uniforme nas nanoesferas. A fim de escrever essa equação em termos das grandezas adimensionais, dividiremos ambos os lados por $\delta_L M_s^2$, para obter:

$$\frac{d\vec{m}}{dt} = -\vec{m} \times [\vec{h}_\alpha(t) + (N_p - N_{pp})m_z \hat{z}] + \frac{\lambda}{\delta} \vec{m} \times [\vec{M} \times (\vec{h}_\alpha(t) + M_s(N_p - N_{pp})m_z \hat{z})] \quad [117]$$

Admitindo que o tempo é medido em unidades de $\delta_L M_s^2$ e $\vec{h}(t) = \vec{H}_\alpha(t) / M_s$. Para os esferoides cujos semieixos estão nas direções y e z, teremos:

$$N_x = N_{pp} \quad [118]$$

$$N_y = N_z = N_p \quad [119]$$

E a energia de desmagnetização passará a ser escrita como:

$$E_d = \frac{1}{2} \mu_0 V M_s^2 [N_p + (N_{pp} - N_p)m_x^2] \quad [120]$$

E a equação LLG:

$$\frac{d\vec{m}}{dt} = -\vec{m} \times [\vec{h}_\alpha(t) + (N_p - N_{pp})m_x \hat{x}] + \frac{\lambda}{\delta} \vec{m} \times [\vec{M} \times (\vec{h}_\alpha(t) + M_s(N_p - N_{pp})m_x \hat{x})] \quad [121]$$

Utilizando o método de Runge-Kutta de quarta ordem para integrar as equações 117 e 121.

As Figuras 51 mostra as componentes da magnetização da nanopartícula esférica sob a ação do campo externo oscilante, sujeita a efeitos de amortecimento. É possível notar que a evolução temporal da magnetização depende fortemente da forma das nanopartículas magnéticas e da direção relativa entre o eixo fácil e o campo magnético aplicado. No caso das nanopartículas magnéticas, a magnetização oscila. Nas nanopartículas esféricas, contudo, ela decai rapidamente quando o eixo paralelo à direção de aplicação do campo é um eixo de fácil.

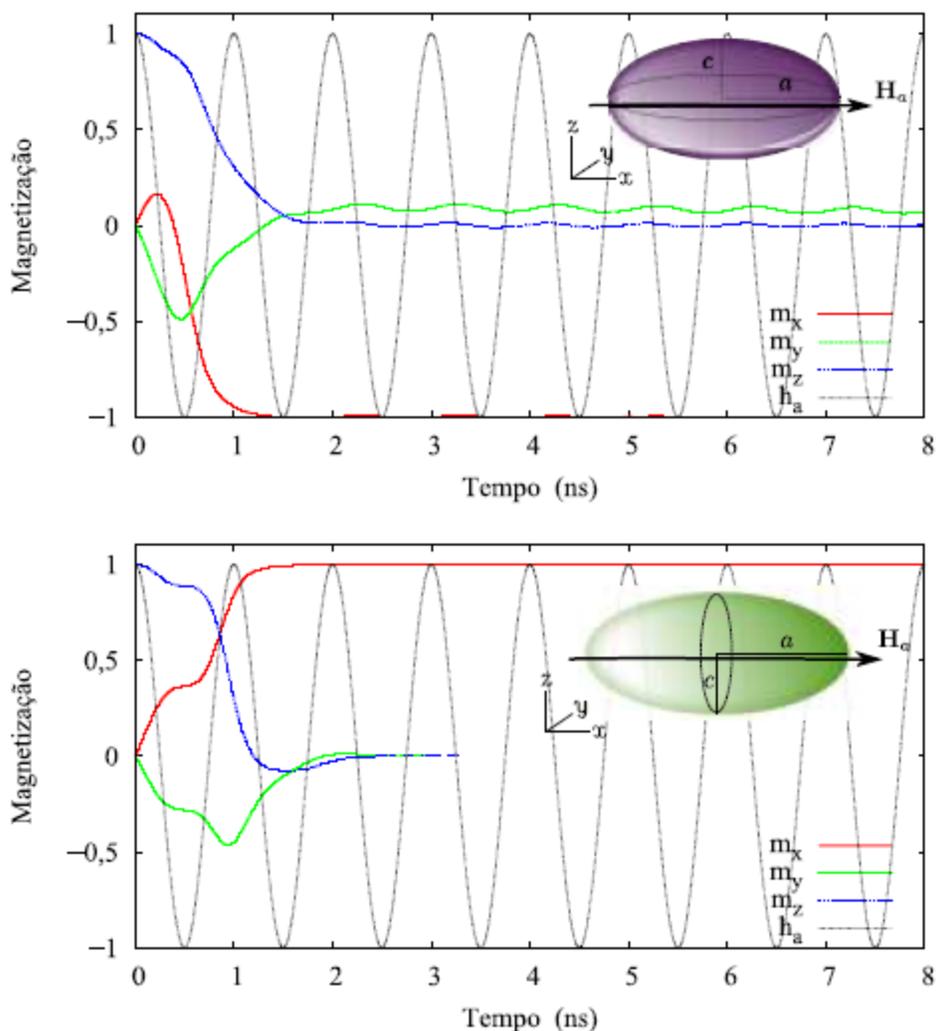


Figura 51: Nanopartículas cujo eixo paralelo à direção do campo é um eixo de fácil magnetização [141].

Esse comportamento é atribuído à anisotropia de forma, que cria um campo que favorece a magnetização a permanecer no eixo x .

Contudo, se orientarmos um eixo na direção do campo aplicado, as soluções voltam a ser oscilatório, o que é mostrado na Figura 52. Cálculos feitos para diferentes orientações iniciais para a magnetização do sistema são rapidamente desfeitos, levando a uma solução periodicamente oscilatória. Observe que em ambos os casos apresentados na Figura abaixo, as diferentes condições iniciais levam ao mesmo resultado estável. A energia liberada por ciclo pela nanopartícula, por volume de material, é calculada pela expressão:

$$\Delta\varepsilon = \mu_0 \int_{t'}^{t'+2\pi/\omega} \vec{H}_\alpha \cdot \frac{d\vec{M}}{dt} dt \quad [122]$$

Para evitar a contribuição destes efeitos no cálculo da energia liberada pela nanopartícula, escolhamos t' na eq. acima tal que os efeitos transientes não são mais relevantes.

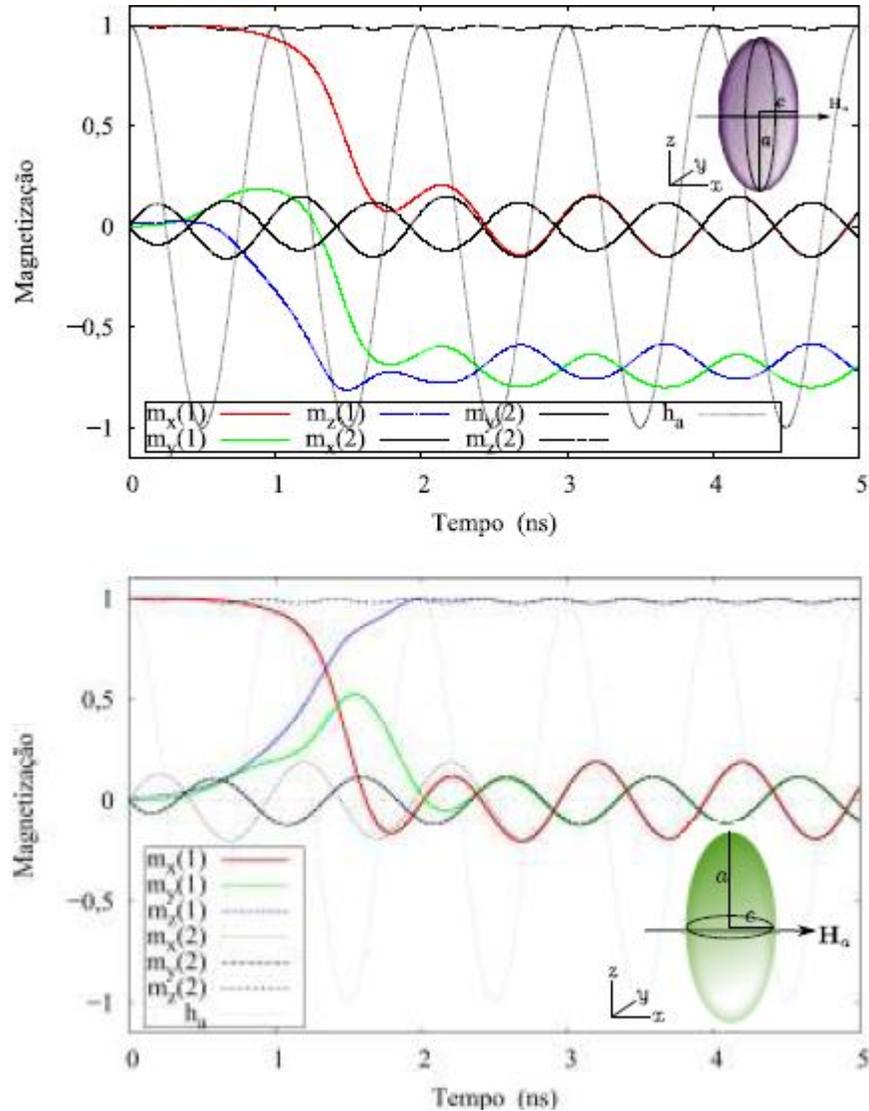


Figura 52: Soluções periódicas são admitidas por partículas cuja direção ao campo aplicado não é um eixo fácil [141].

A Figura 53 mostra a perda de energia em função da frequência de oscilação do campo para diferentes amplitudes de campo aplicado e diferentes constantes de

amortecimento. Vemos que o comportamento da curva é diferente do caso esférico mostrado na Figura 53. A origem dessa diferença é o campo de desmagnetização que, agora, desfavorece a orientação da nanopartícula na direção do campo aplicado. Como agora a direção x é um eixo duro para magnetização, é desfavorável energeticamente para a magnetização se alinhar com a direção x , por causa do termo anisotrópico. Assim, a

magnitude do termo $\vec{H}_\alpha \cdot \frac{d\vec{M}}{dt}$ também diminui, causando uma redução na quantidade de calor liberado por ciclo. É possível perceber também que esse é um efeito dependente da amplitude do campo aplicado.

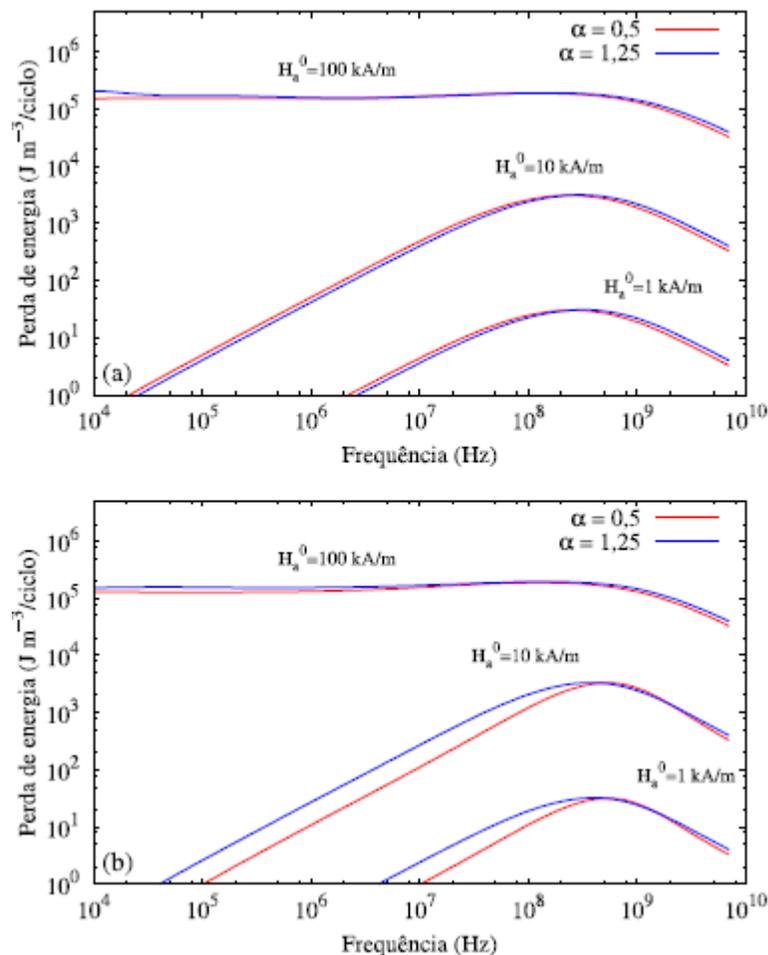


Figura 53: Energia liberada pela nanopartícula esférica em função da frequência de oscilação do campo externo para vários valores da constante de amortecimento α , a diferentes amplitudes [142].

A fim de analisar com mais riqueza de detalhes os efeitos da geometria das nanopartículas na liberação de calor devido a um campo magnético alternado, calculamos a energia liberada por partículas de diferentes razões p em função da frequência de oscilação f do campo magnético aplicado, para diferentes amplitudes $\vec{H}_a \rightarrow 0$. Os resultados teóricos para um esferoide estão na Figura 54 abaixo. Observa-se que a geometria da nanopartícula tem um papel muito importante na possibilidade de uso clínico. Amplitudes de campo aceitáveis clinicamente são $\vec{H}_a \rightarrow 0 < 15 \text{ kA/m}$. A Figura 54 também retrata que para f na ordem de MHz, nanopartículas de razão $p = 1,1$, sob campo $\vec{H}_a \rightarrow 0 = 10 \text{ kA/m}$ (linha verde) apresentam eficiência de aquecimento próxima a partículas com $p = 1,3$, sujeitas a campo três vezes maiores (linha azul pontilhada). Nanopartículas que apresentam $p = 1,5$, sujeitas ao campo de 30 kA/m são até mesmo menos eficientes que as partículas com $p = 1,1$ a 10 kA/m . Para campos da ordem de 1 kA/m , contudo, a eficiência de aquecimento é quase inapreciável.

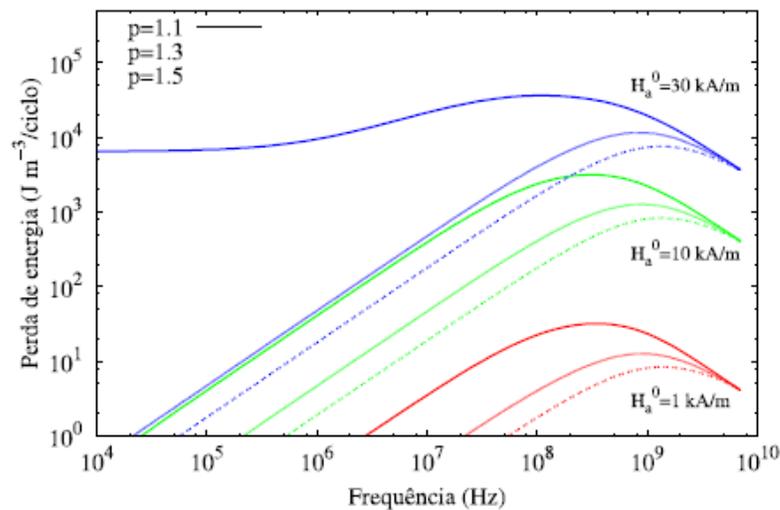


Figura 54: Energia liberada em função da frequência de oscilação do campo externo de uma nanopartícula [142].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Síntese e caracterização *in-situ* de YFeAl em PGA_{g4}

A preparação de nanopartículas com propriedades magnéticas (NPM) tem despertado interesse devido às suas possíveis aplicações na hipertermia magnética [140-141]. As NPMs podem ser sintetizadas através de vários métodos, destacando-se decomposição térmica de precursores metálicos [142], coprecipitação [143], microemulsão [144] e síntese hidrotérmica [145].

Entre os métodos anteriormente citados para a síntese de nanopartículas magnéticas, a decomposição térmica de precursores metálicos parece ser o mais adequado para o controle da distribuição de tamanhos, morfologia e monodispersão durante a síntese das NPM's [145-146].

O papel do PGA na síntese de nanopartículas de YFeAl ainda não foi apresentado na literatura de forma que é demonstrado neste trabalho o papel do poliglicerol arborescente na morfologia final das nanopartículas superparamagnéticas baseadas em YFeAl.

O papel do PGA no processo de síntese parece estar associado a um melhor controle do processo de separação das fases de nucleação e crescimento das nanopartículas. A Figura 55 ilustra alguns dos mecanismos que podem estar envolvidos no processo de crescimento de nanopartículas de YFeAl monodispersas [147-148]. Observa-se no diagrama (Figura 55) que, a formação de partículas monodispersas ocorrerá quando as etapas de nucleação e crescimento estão suficientemente separadas onde a nucleação ocorre rapidamente em um curto intervalo de tempo através de uma solução supersaturada

seguida de uma etapa de crescimento lenta sem que a nucleação ocorra novamente. Nesse caso, o tempo de síntese deve ser controlado e interrompido após a formação das nanopartículas de forma a se evitar que processos de dissolução e redeposição sobre a superfície das partículas maiores e eventos de agregação, o que levaria à polidispersividade do sistema [149].

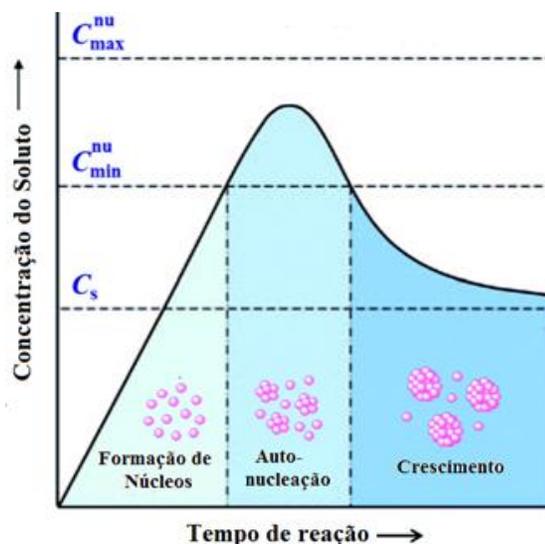


Figura 55- Ilustração do processo de crescimento de nanopartículas uniformes baseado no modelo de Lamer. Adaptado de [150]. C_s , C_{\min}^{nu} e C_{\max}^{nu} significam concentração saturada, concentração mínima para nucleação e concentração máxima para nucleação, respectivamente.

A morfologia das nanopartículas de YFeAl é desenvolvida durante a etapa de pirólise dos respectivos precursores e, portanto; deve-se estudar a influência da velocidade de aquecimento no processo de decomposição térmica da mistura de acetilacetonatos de Y, Fe e Al. Nesse caso, o estudo do comportamento térmico foi realizado para cada um dos respectivos acetilacetonatos de maneira isolada e também da mistura em solução, de modo que sejam identificadas não apenas a temperatura em que o processo de decomposição se completa, mas também se o comportamento térmico dos precursores é alterado pela presença de sua mistura de modo a se garantir a obtenção de fases cerâmicas com a estequiometria planejada.

A fim de se investigar o processo de formação de nanopartículas de YFeAl no PGA, a decomposição térmica dos respectivos acetilacetatos metálicos foi estudada utilizando-se a análise termogravimétrica (TGA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC).

No método de análise TGA são registradas curvas da variação de massa da amostra (m) em função da temperatura (T) ou do tempo (t), conforme a Equação (123):

$$m = m(T, t) \quad [123]$$

As curvas de TGA podem e devem ser derivadas (primeira) registrando-se a DTG (termogravimetria derivada) que fornece informações da derivada primeira da variação da massa em relação ao tempo (dm/dt) ou em função da temperatura (dm/dT), conforme Equação :

$$\frac{dm}{dt} = f(T, t) \quad [124]$$

A variação de m com T é medida com o auxílio de uma termobalança. Os componentes fundamentais de uma termobalança são: balança registradora, forno, suporte de amostra e sensor de temperatura, programador da temperatura do forno, sistema registrador e controle da atmosfera do forno. A Figura 56 ilustra os componentes típicos de um equipamento de análise termogravimétrica (TGA) [151].

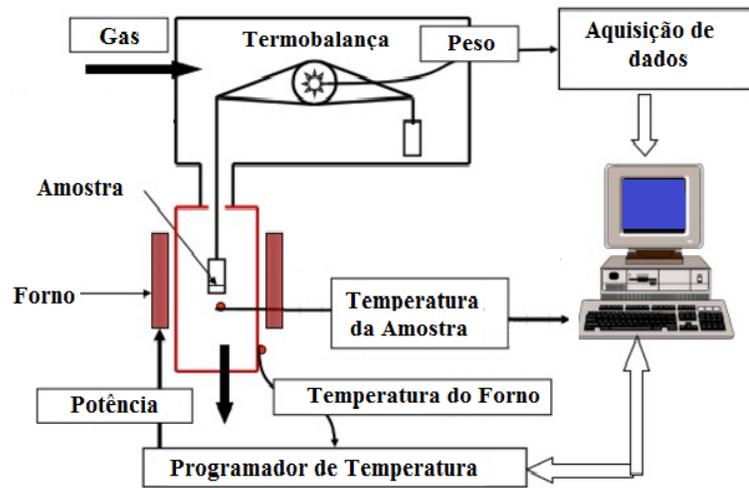


Figura 56- Ilustração das partes que compõe um equipamento de análise termogravimétrica.

Enquanto a análise TGA é uma medida direta da estabilidade térmica de um dado material, a técnica calorimetria exploratória diferencial (DSC) é capaz de medir a temperatura na qual uma dada substância sofre transição de fase de primeira ordem (fusão, sublimação, vaporização). No DSC a temperatura e o fluxo de calor associados a transições de fase de segunda ordem em materiais e são medidas como uma função do tempo e da temperatura em uma atmosfera controlada (Figura 56) [151]. A Figura 57 ilustra o fluxograma simplificado dos principais componentes de um equipamento DSC.

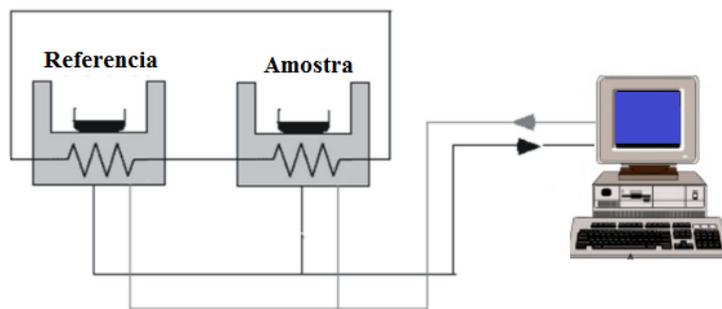


Figura 57- Ilustração dos componentes principais de um equipamento DSC: a Referência e a Amostra referem-se a cadinhos de alumínio colocados lado a lado sobre uma base de platina, permitindo assim o fluxo de calor entre a amostra e a referência. O fluxo de calor é medido com o auxílio de termopares, colocados logo abaixo de cada cadinho.

O princípio de medida da transição de temperaturas de transição de fases através do DSC está associado a equações diferenciais ordinárias que representam o fluxo de calor na amostra $\left(\frac{dQ_S}{dt}\right)$ e referência $\left(\frac{dQ_R}{dt}\right)$, respectivamente [152]:

$$\frac{dQ_S}{dt} = (C_R + C_S) \frac{dT_S}{dt} + F = K_o(T_R - T_S) \quad e \quad \frac{dQ_R}{dt} = C_R \frac{dT_R}{dt} = K_o(T_R - T_S) \quad [125]$$

sendo que K_o representa o coeficiente de transferência de calor entre os cadinhos e o ambiente externo do calorímetro, C_R é a capacidade calorífica do cadinho, C_S a capacidade calorífica da amostra e F representa a velocidade de absorção de calor pela amostra devido a algum evento físico ou químico.

Considerando a diferença de temperatura entre a amostra e referência, $\frac{dQ_S}{dt} = \frac{dQ_R}{dt}$; a Equação (125) pode ser reescrita como [152]:

$$C_R \frac{d\Delta T}{dt} + K\Delta T = C_S \frac{dT_S}{dt} + F \quad [126]$$

sendo $K = 2K_o$.

Da termodinâmica clássica, a relação entre o fluxo de calor na amostra, $\frac{dQ_S}{dt}$, e a capacidade calorífica C_p é dada por [153]:

$$dQ = mC_p dT \quad [127]$$

Assumindo que dQ independe do tempo:

$$\frac{dQ}{dt} = mC_p \frac{dT}{dt} \quad [28]$$

sendo d o operador diferencial inexata.

Considerando a primeira lei da termodinâmica, tem-se [153]:

$$(dQ)_p = dH \quad [129]$$

Logo:

$$watts = \left[\frac{J}{s} \right] = \frac{dH}{dt} = \frac{dQ}{dt} = mC_p \frac{dT}{dt} + f(t, T) \quad [130]$$

sendo que $\frac{dT}{dt}$ representa a velocidade de aquecimento utilizado no experimento e $f(t, T)$ representa os efeitos térmicos associados a uma transição de fase, transformação química ou ambos.

Na ausência de transformação química, a Equação (130) se converte em:

$$\frac{dQ}{dt} = mC_p \frac{dT}{dt} \quad [131]$$

Logo:

$$C_p = \frac{1}{m} \frac{dQ}{dt} \left(\frac{1}{dT/dt} \right) = \frac{1}{m} \frac{dQ}{dT} \quad [132]$$

sendo que C_p corresponde, nesse caso; à inclinação da curva de aquecimento no experimento DSC.

O termograma DSC corresponde à energia absorvida por unidade de massa. Logo, uma vez que C_p seja conhecida a transformação química ou transição de fase pode agora ser caracterizada através da primeira lei da termodinâmica através de [153]:

$$\frac{watts}{g} = \left[\frac{J}{s \cdot g} \right] = \frac{1}{m} \frac{dH}{dt} = \frac{1}{m} \frac{dQ}{dt} = C_p \frac{dT}{dt} + \frac{f(t, T)}{m} \quad [133]$$

Logo:

$$\frac{f(t, T)}{m} = \frac{1}{m} \frac{dQ}{dt} = C_p \frac{dT}{dt} \quad [134]$$

As curvas TGA relativas às decomposições térmicas do $\text{Fe}(\text{acac})_3$, $\text{Al}(\text{acac})_3$ e $\text{Y}(\text{acac})_3$ e da correspondente mistura dos acetylacetonatos são mostradas na Figura 58(A). O processo de degradação térmica pode ser dividido em quatro estágios. No estágio (I) todos os acetilacetonatos apresentaram boa estabilidade térmica até aproximadamente a temperatura de 175 °C. O estágio (II) é caracterizado por uma perda contínua e suave devido à decomposição térmica dos acetilacetonatos para formar acetona [154]. Em temperaturas superiores a 380 °C os ligantes (acac) sofrem pirólise total a CO , CO_2 e H_2O .

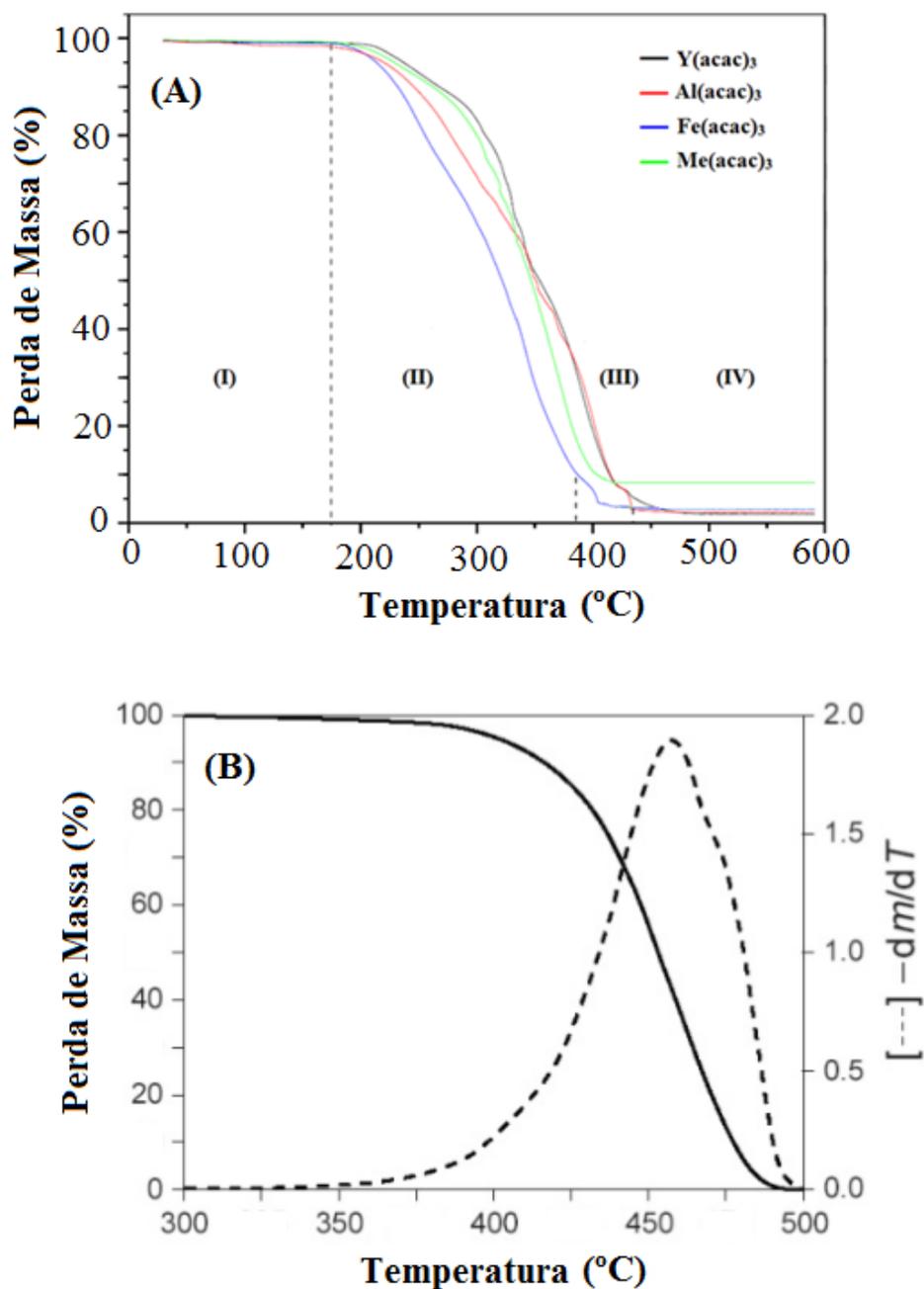


Figura 58- Curvas termogravimétricas (TGA) para $Y(acac)_3$, $Al(acac)_3$, $Fe(acac)_3$ e a mistura dos acetilacetonatos em PGA (A) e do PGA (B). A análise foi efetuada em atmosfera de nitrogênio ($25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e na velocidade de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. A estequiometria de $Me(acac)_3$ corresponde à apresentada na parte experimental.

O estágio (III) é caracterizado por uma perda total de massa de aproximadamente 98% a temperaturas acima de 400 °C, indicando que os respectivos acetilacetatos são bons precursores para o preparo de nanopartículas superparamagnéticas. Os percentuais de Fe₃O₄, Al₂O₃ e Y₂O₃ calculado a partir do TGA foram iguais a aproximadamente 3%. O possível mecanismo da decomposição térmica de Me(acac)₃, de acordo com a literatura é ilustrado na Figura 59, abaixo [155].

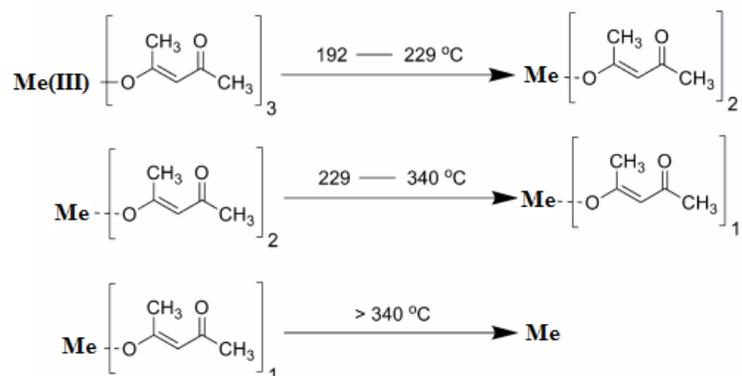


Figura 59- Ilustração do possível mecanismo de decomposição térmica de um Me(acac)₃. Adaptado de [154-155]. Me = Y³⁺, Al³⁺ ou Fe³⁺.

O percentual de YFeAl, calculado a partir do TGA da mistura de acetilacetatos foi igual a aproximadamente 9,0%. O maior percentual observado para a mistura de acetilacetatos metálicos relativamente aos acetilacetatos individuais parece estar associado à formação da mistura eutética Al(acac)₃-Fe(acac)₃-Y(acac)₃. Nesse caso, a temperatura de sublimação dos acetilacetatos pode ter sido deslocada para temperaturas menores em função da concentração dos complexos metálicos na mistura [156]. Esta observação é corroborada pelas Figuras 60 e 61 (A-C).

A Figura 60 ilustra as curvas de DSC obtidas para os compostos Y(acac)₃, Al(acac)₃, Fe(acac)₃ e sua mistura (0,5 mol%).

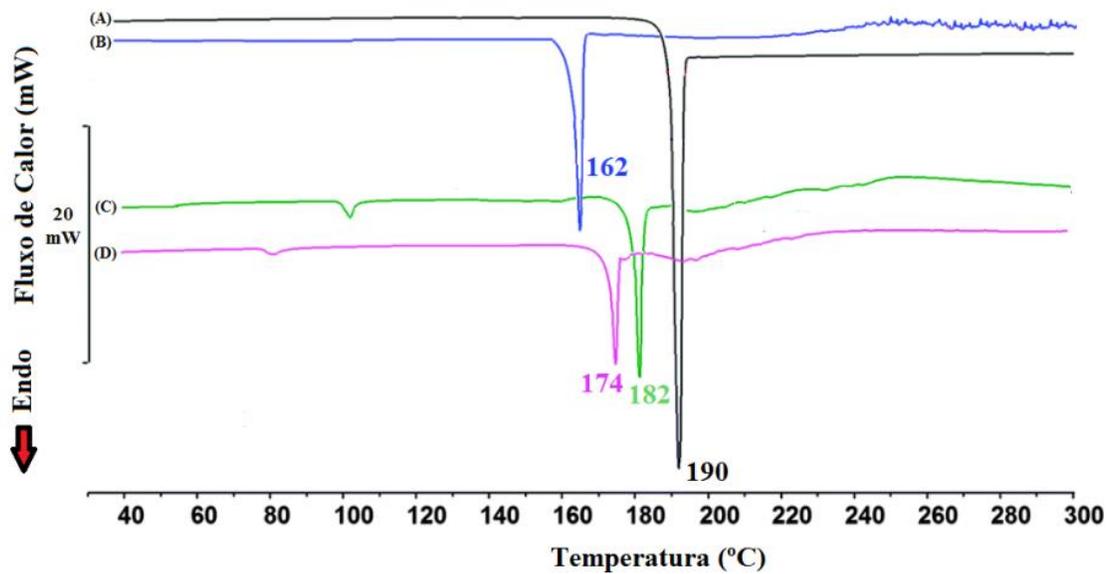


Figura 60- Curvas de DSC para os compostos $\text{Al}(\text{acac})_3$ (A), $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (C), $\text{Y}(\text{acac})_3$ (D) e a mistura ternária eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (B).

Os perfis das curvas DSC (Figura 60) são similares e apresentam picos endotérmicos com formas bem definidas, o qual é atribuído ao processo de fusão das amostras. A curva DSC na Figura 60(B) evidencia a formação de mistura eutética a partir da simples mistura dos organometálicos que nesse caso é representado pelo sistema $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$. Nesse caso, a curva DSC característica (Figura 60) indica que a mistura ternária se comporta como uma mistura homogênea única e simples, apresentando ponto de fusão menor que o dos seus constituintes isolados.

Os diagramas de fases correspondentes às curvas DSC são apresentados na Figura 61. Observa-se que os pontos eutético das misturas situam-se no ponto correspondente a 0,5 mols%. Nesse caso, o ponto de fusão das misturas eutéticas são 175 °C para o sistema $\text{Fe}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (Figura 58A), 163 °C para o sistema $\text{Y}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (Figura 58B) e 163 °C para o sistema $\text{Y}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{acac})_3$ (C). Deve-se ressaltar que as misturas eutéticas são favoráveis à formação de nanoestruturas uma vez que as temperaturas de processamento mais baixas propiciam a redução do tamanho de partículas, um dos motivos pelos quais esse sistema é motivo de estudo nesse trabalho [157].

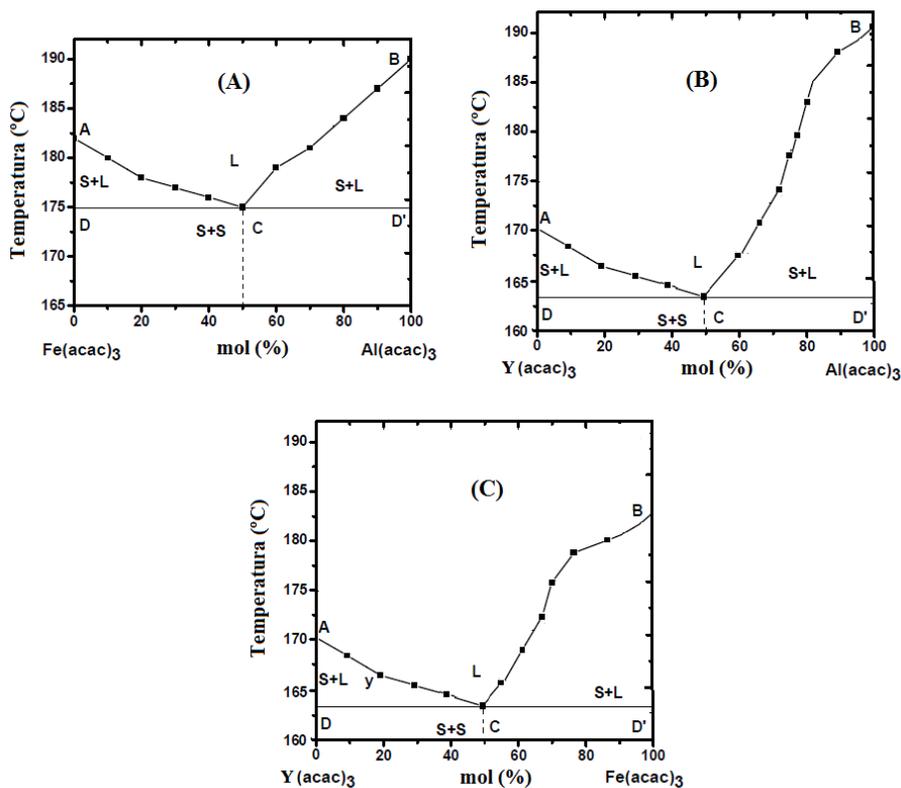


Figura 61- Diagramas de fase binário das misturas $\text{Fe}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (A), $\text{Y}_x\text{Al}_{1-x}(\text{acac})_3$ (B) e $\text{Y}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{acac})_3$ (C). S e L representam as fases sólida e líquida, respectivamente. Os pontos A e B representam o ponto de fusão dos componentes puros. A linha DD' representa a linha S-S. O ponto eutético ocorre na fração 0,5 (em mol%).

Por possuir uma densidade elevada de grupos hidroxila (OH) o PGA tende a formar complexos metálicos estabilizando dessa maneira as partículas de YFeAl evitando sua aglomeração e o crescimento descontrolado [158]. Dessa maneira, um possível mecanismo de interação entre o PGA e os íons metálicos na fase líquida, após dissolução da mistura eutética é apresentado na Figura 62.

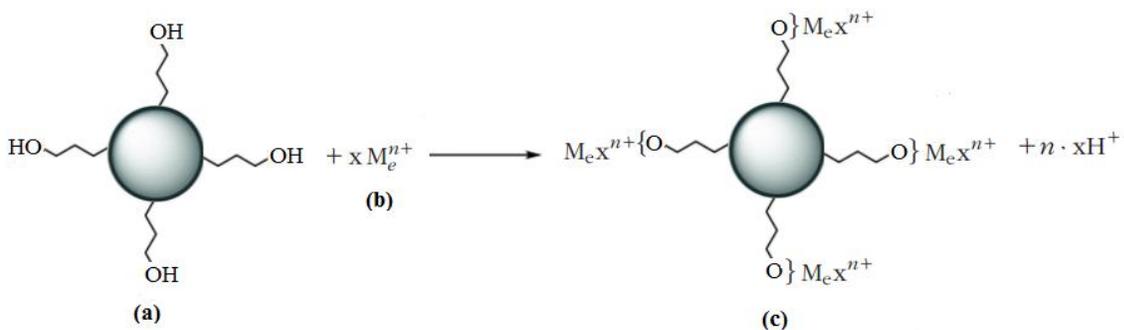


Figura 62- Ilustração do processo de participação do PGA (a) na formação de um composto de coordenação (c) com o íon metálico Me (b). Me = Y³⁺, Fe³⁺ e Al³⁺. Adaptado de [158].

Portanto, a utilização do PGA no processo de síntese *in-situ* de nanopartículas de YFeAl é do tipo ascendente (“bottom-up”), onde as nanopartículas são obtidas a partir de moléculas ou átomos que se automontam de forma a se atingir a formação de estruturas moleculares na escala nano [159]. Esse processo de crescimento *in situ* de nanopartículas no PGA é um processo complexo, ainda não abordado pela literatura. Entretanto, acredita-se que o processo é autocatalítico onde as nanopartículas de YFeAl crescem nas cavidades do PGA. Por sua vez, as cavidades do PGA favorece a formação de regiões agrupadas ricas em acetilacetonatos onde se formam os primeiros cristais de YFeAl, regiões essas denominadas de *clusters* [160]. O *cluster* formado incorpora nanopartículas do PGA, à medida que estas colidem com o poliglicerol arborescente durante sua difusão no meio. Por sua vez, a existência de ions na cavidade dendrítica estabiliza as nanopartículas de YFeAl formadas através de repulsão de Coulomb devido à existência de uma dupla camada elétrica [161]. A Figura 63 ilustra o processo de crescimento de nanopartículas YFeAl nas cavidades do PGA onde, por simplificação; a estrutura do polímero arborescente não é apresentada.

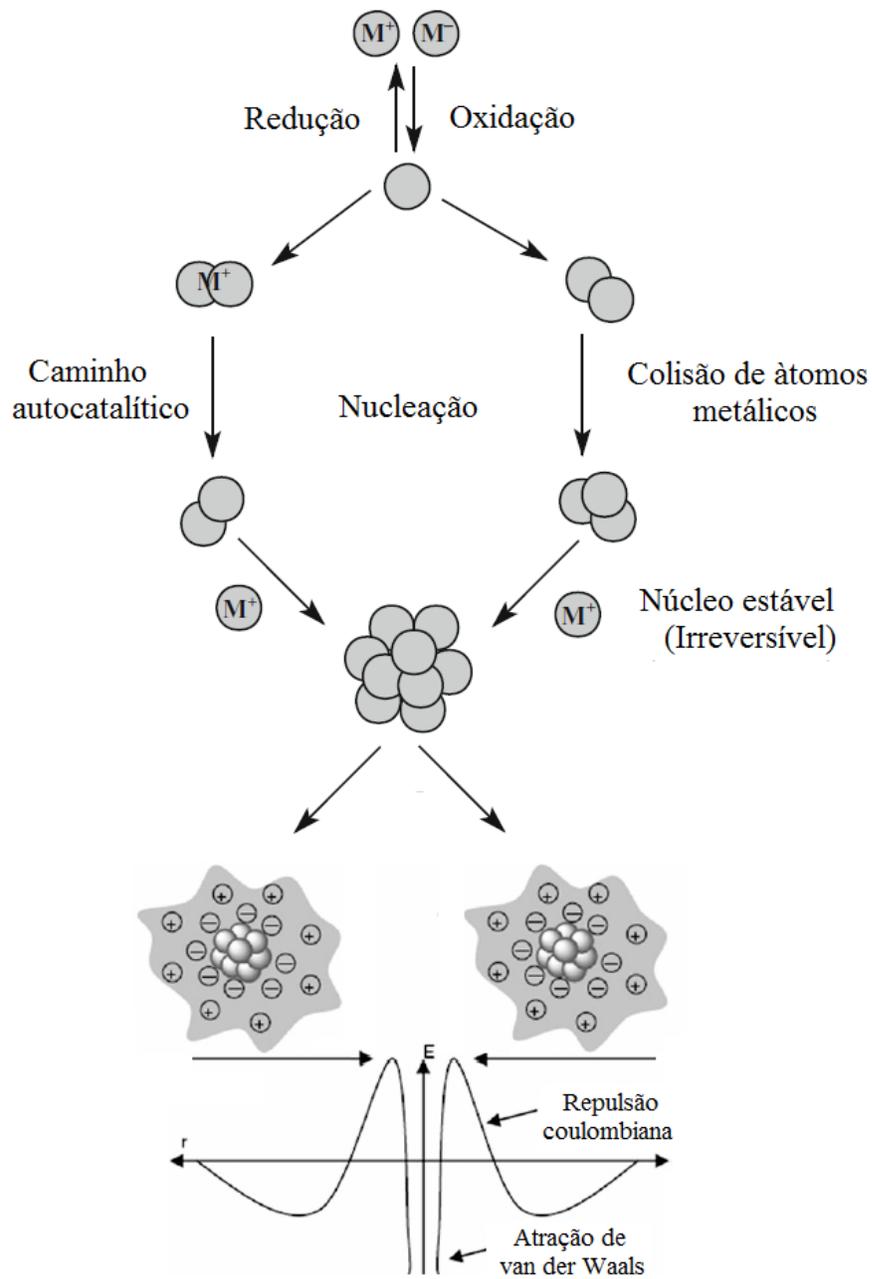


Figura 63- Ilustração do processo de crescimento de nanopartículas de YFeAl nas cavidades do PGA e estabilização das nanopartículas formadas. Adaptado de [161].

A observação de que os organometálicos acetilacetonatos formam misturas eutéticas motiva também o estudo da cinética de decomposição térmica do sistema ternário

Al(acac)₃-Fe(acac)₃-Y(acac)₃. Nesse sentido, a técnica utilizada foi a análise termogravimétrica (TGA).

A equação fundamental de decomposição do sistema ternário Al(acac)₃-Fe(acac)₃-Y(acac)₃ e formação de nanopartículas pode ser escrita como:

$$\frac{\partial \alpha}{\partial t} = k(T)f(\alpha) \quad [135]$$

sendo $\frac{\partial \alpha}{\partial t}$ é a taxa de conversão, $k(T)$ é uma constante cinética e $f(\alpha)$ uma função que depende do mecanismo de reação.

Quando a temperatura (T) for mantida constante, e Equação (125) expressa a velocidade de conversão $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial t}\right)_T$, ou seja; a redução na concentração dos organometálicos a uma taxa constante. Nesse estudo, a velocidade de conversão, α , é dada por:

$$\alpha = \frac{m_o - m_t}{m_o - m_f} \quad [136]$$

sendo m_o , m_f e m_t as massas iniciais, finais da amostra e a massa em um tempo (t), respectivamente.

A dependência da temperatura com a constante de velocidade da reação é descrita pela Equação de Arrhenius [162]:

$$\frac{\partial \alpha}{\partial t} = A e^{\frac{-E_A}{RT}} f(\alpha) \quad [137]$$

sendo A , E_A , R e T o fator pré-exponencial, energia de ativação, constante dos gases ideais e a temperatura absoluta, respectivamente.

Escrevendo a Equação (137) na sua forma dependente da temperatura em uma velocidade de aquecimento constante, tem-se:

$$\frac{\partial \alpha}{\partial T} = \frac{A}{\beta} e^{\frac{-E_A}{RT}} f(\alpha) \quad [138]$$

sendo β a velocidade de aquecimento, $\frac{\partial T}{\partial t}$.

A resolução da Equação (135) utilizando-se dados da técnica TGA requer um modelo cinético consistente. Entre os vários modelos matemáticos desenvolvidos, podem-se destacar os modelos de Kissinger e Ozawa que assumem que a cinética de decomposição térmica obedece a uma equação de primeira ordem [163-164]. Assim, a partir da obtenção das curvas TGA para várias velocidades de aquecimento é possível a determinação dos parâmetros de Arrhenius relativos à energia de ativação (E_A) e ao fator pré-exponencial (A).

O método não isotérmico diferencial de Ozawa requer três ou mais análises em diferentes velocidades de aquecimento e considera que a energia de ativação de um material em uma determinada perda de massa (conversão) é proporcional ao coeficiente $d\beta/d(1/T)$, em que uma dependência linear é observada entre o inverso da temperatura absoluta em uma determinada porcentagem de perda de massa, $1/T$, em relação ao logaritmo da razão de aquecimento, β , aplicada.

A integração da Eq. (135), a partir da temperatura inicial T_0 correspondente à conversão α_0 , até a temperatura de inflexão, T_{max} e $\alpha = \alpha_{max}$, obtém-se:

$$g(x) = \int_{\alpha_0}^{\alpha_{max}} \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T_{max}} e^{\frac{-E_A}{RT}} dT \quad [139]$$

sendo T_{max} a temperatura máxima de degradação na qual ocorre a maior velocidade da reação de decomposição do sistema ternário ou seja, o pico da termogravimetria derivada (DTG).

Em função da complexidade da reação de degradação dos organometálicos, a forma da função $f(\alpha)$ pode ser bastante complexa. Logo, considerando que a reação de degradação da mistura ternária $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ segue uma decomposição de ordem n [163-164]:

$$f(\alpha) = (1 - \alpha)^n \quad [140]$$

Logo, a Eq. (139) pode ser reescrita como:

$$g(x) = \int_{\alpha_0}^{\alpha_{\max}} \frac{d\alpha}{(1 - \alpha)^n} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^{T_{\max}} e^{-\frac{E_A}{RT}} dT \quad [141]$$

Diferentes aproximações são utilizadas para a resolução da integral de $f(\alpha)$. Dentre os métodos integrais, esse trabalho utiliza os métodos de Ozawa e Kissinger [163-164]. A aproximação de Ozawa, aplicando o logaritmo fornece a Equação (142):

$$\log \beta = -0,457 \cdot \frac{E_A}{RT_{\max}} - 2,315 + \log \left(\frac{AE_A}{R} \right) - \log(g(\alpha)) \quad [142]$$

sendo T_{\max} a temperatura de pico.

Portanto, considerando a mesma conversão para o sistema ternário $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$, a inclinação do gráfico $\log \beta$ em função de $1/T$ possuirá a inclinação igual a $-\frac{E_A}{R}$.

Utilizando a curva termogravimétrica derivada (DTG), Kissinger em 1956 desenvolveu um método cinético para análise de um processo de decomposição para $n=1$. Nesse caso, considerando que o fator pré-exponencial A é uma constante independente da taxa de aquecimento e $\frac{\partial^2 \alpha}{\partial t^2} = 0$ na temperatura de pico na curva DTA, obtém-se a equação cinética geral do método de Kissinger dada pela Equação (142):

$$\ln\left(\frac{\beta}{T_{max}^2}\right) = \left[\ln\left(\frac{AR}{E}\right) - \ln g(\alpha) \right] - \frac{E_A}{RT_{max}} \quad [143]$$

A Eq. (143) é válida para qualquer valor de T , desde que α e T sejam medidos no mesmo instante. Construindo o gráfico $\ln\left(\frac{\beta}{T_{max}^2}\right)$ em função de $\frac{1}{T}$ a conversão constante, a inclinação será igual a $-\frac{E_A}{R}$.

A Figura 64 ilustra as curvas termogravimétricas para o PGA (A) e o sistema ternário $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (B). O valor de E_A para o PGA e o sistema ternário $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ foi obtido empregando-se o método dos quadrados mínimos e os resultados são apresentados na Figura 65.

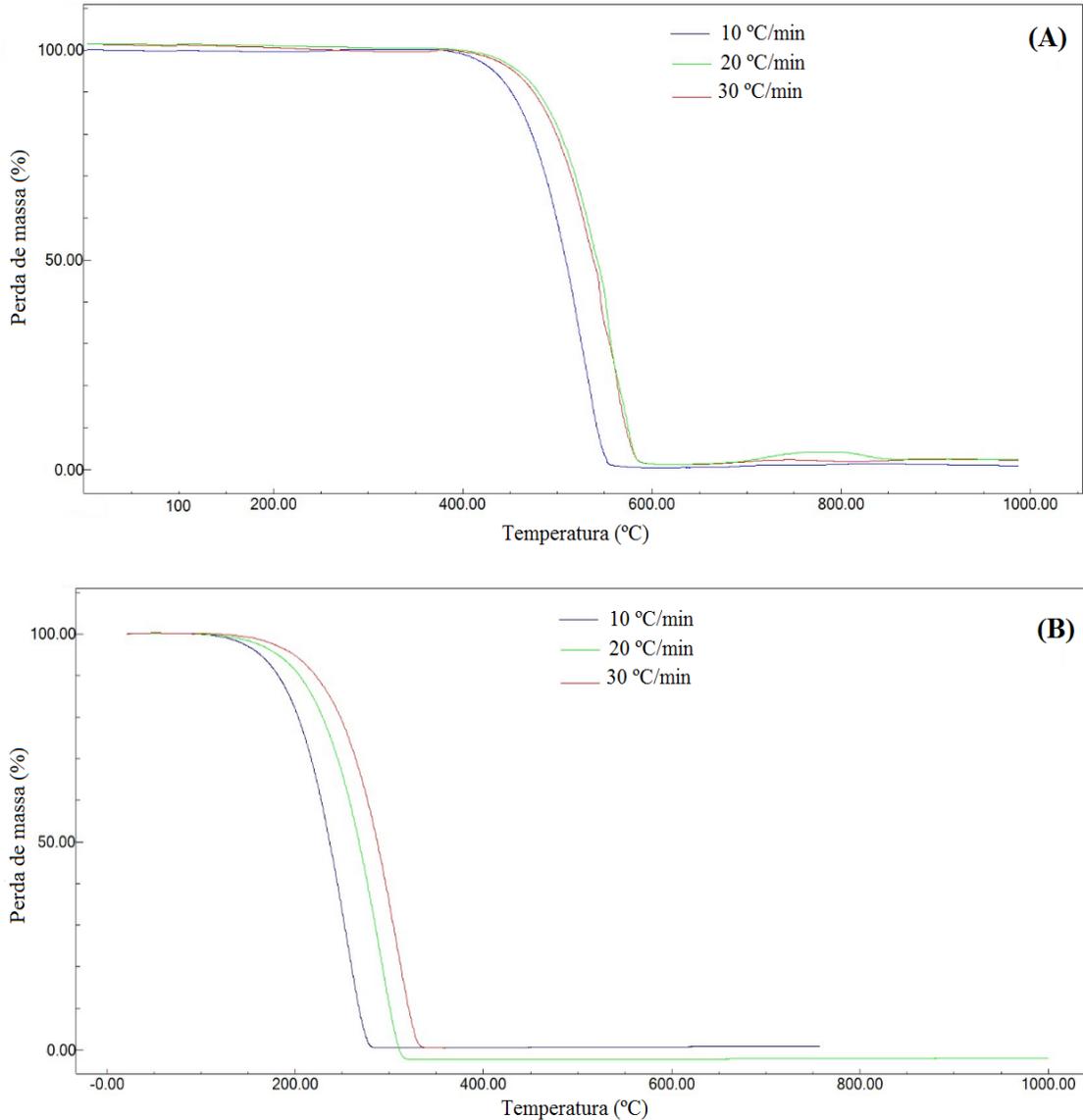


Figura 64- Curvas termogravimétricas (TGA) de: PGA (A) e do sistema ternário eutético $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (B).

Os resultados (Figura 65) permitem concluir que em atmosfera inerte o PGA apresenta uma estabilidade térmica significativamente maior que a mistura ternária eutética. Uma vez que o PGA é um polímero volumoso, é de se esperar que a mobilidade das ramificações fique restrita devido ao impedimento estérico espacial promovido pelas

ligações de hidrogênio presentes na estrutura supramolecular do polímero arborescente [165].

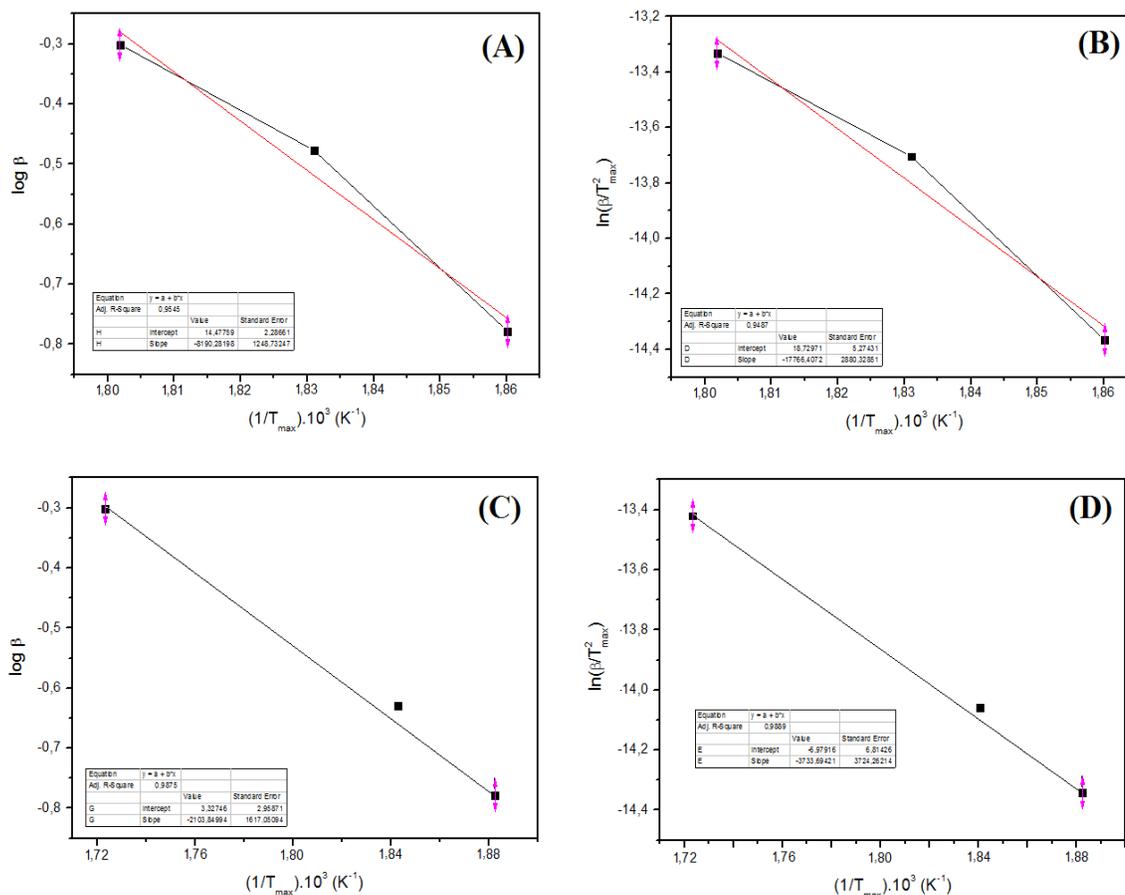


Figura 65- Gráficos de Ozawa (A,C) e Kissinger (B,D) para o processo de preparação de nanopartículas de YFeAl encapsuladas pelo PGA a partir da decomposição da mistura eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ (C,D) no PGA (A,B).

Os valores da energia de ativação para a reação de decomposição térmica do PGA situam-se entre $162,74 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ozawa) e $353,01 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Kissinger). Por outro lado, a reação de decomposição da mistura eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ situa-se entre $41,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ozawa) e $74,19 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Kissinger). Portanto, o PGA_{g4} é termodinamicamente mais estável que a mistura eutética $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ e pode ser utilizada com segurança tanto no processo de síntese como no encapsulamento das

partículas cerâmicas. Entretanto, as diferenças observadas no cálculo da energia de ativação pelo método de Ozawa e parece indicar que a decomposição *in-situ* dos acetilacetatos no PGA para a formação de nanopartículas não se trata de uma simples reação de primeira ordem, e pode ocorrer sob mecanismos mais complexos, envolvendo diversas etapas de nucleação. Fatores termodinâmicos, como variações na capacidade calorífica à pressão constante (C_p), também poderiam estar influenciando na cinética apresentada pela reação de transição na fase sólida.

O sistema híbrido orgânico-inorgânico PGA-YFeAl foi caracterizado relativamente à sua morfologia, arranjo tridimensional, tamanho e composição. Neste sentido usaram-se as técnicas de análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), microanálise por fluorescência de raios X (MFRX) e difratometria de raios X (DRX).

6.2. Caracterização físico-química do híbrido PGA-YFeAl

A síntese das NP's de YAlFe produzidas neste trabalho, baseou-se na decomposição térmica de uma mistura dos precursores $\text{Fe}(\text{acac})_3$, $\text{Al}(\text{acac})_3$ e $\text{Y}(\text{acac})_3$ utilizando o PGA como solvente e fluido de transferência térmica. O PGA possui estrutura supramolecular adequada para a obtenção de nanopartículas não aglomeradas e distribuição de tamanhos proximamente do monomodal além de permitirem um controle mais preciso na composição da cerâmica magnética, ajustando-se a estequiometria da reação durante o processo de síntese. Adicionalmente o PGA propicia a obtenção de cerâmicas de YFeAl com propriedades hidrofílicas, que são altamente desejáveis para aplicações na medicina [166].

As técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET) foram utilizadas na caracterização da dispersão das nanopartículas de YFeAl no PGA. A diferença principal entre as técnicas de microscopia eletrônica e microscopia ótica está na utilização de um feixe de elétrons ao invés da luz para a análise de uma dada amostra. No caso da microscopia ótica, seu poder de resolução é definido pela equação de Abbe por:

$$d = \frac{\lambda}{NA} = \frac{\lambda}{n \text{sen}\alpha} \quad [144]$$

sendo λ é o comprimento de onda da luz que atinge a objetiva (400-700 nm), NA é a abertura numérica (NA) da objectiva. A NA é uma característica específica dos sistemas de lentes, e calcula-se pela fórmula $NA = n.\text{sen}(\alpha)$, sendo n o índice de refração do meio percorrido pela luz entre o foco e a lente, e α o semiângulo de abertura do feixe de luz que atinge a lente colocada à distância focal do objeto observado.

Considerando que $\alpha = 70^\circ$, $n=1.5$ e $\lambda=0.5 \mu\text{m} = 500 \text{ nm}$, a resolução d de um microscópio ótico é igual a $0.35\mu\text{m} = 350 \text{ nm}$, ou seja; da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da luz.

No caso do microscópio eletrônico, seu principio físico se baseia na dualidade onda-partícula proposto inicialmente por De Broglie em 1924 para se calcular o comprimento de onda (λ) esperado para uma partícula de massa “ m ” e momento $p = mv$, que nesse caso é dado por [167]:

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad [145]$$

sendo $h = 6,62.10^{-34} \text{ J.s}$.

Uma vez que a velocidade do elétron está associada à sua energia cinética, K , pode-se escrever [167]:

$$K = e.V = \frac{1}{2}mv^2 \quad e \quad mv = \sqrt{2.e.V.m} \quad [146]$$

Logo, desprezando-se os efeitos relativísticos, tem-se que [167]:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2.e.V.m}} \quad [147]$$

sendo $m=9,102.10^{-31} \text{ kg}$ é a massa do elétron e $e = 1,602.10^{-19} \text{ C}$ a sua carga e V a diferença de potencial a que o elétron é submetido e $h = 6,62.10^{-34} \text{ J.s}$ é a constante de Planck.

Da Equação (147) percebe-se que, considerando-se $V = 100 \text{ kV}$, $\lambda = 0,004 \text{ nm}$. Nesse caso, o poder de resolução do elétron será $125.000 * \lambda_{\text{luz}}$. Cerca de uma década depois, em 1933; utilizando os fundamentos introduzidos acerca da natureza dual do elétron por De

Broglie, o engenheiro alemão Ernest Ruska, desenvolveu o microscópio eletrônico [168]. O equipamento utiliza um feixe de elétrons em vez da radiação eletromagnética visível para iluminar amostras, produzindo imagens bastante detalhadas. O microscópio eletrônico contribuiu significativamente para a compreensão da estrutura da matéria. A Figura 66 mostra uma ilustração comparando os microscópios óticos, eletrônico e de transmissão [168].

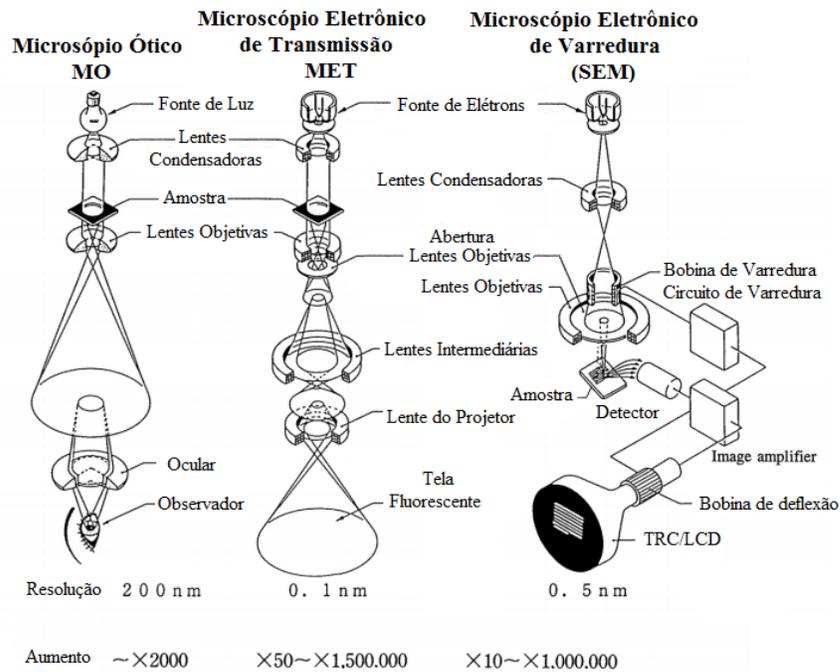


Figura 66- Ilustração comparativa dos microscópios ótico (MO) de transmissão (MET) e eletrônico de varredura (MEV). Adaptado de [169].

A Figura 67 ilustra as micrografias no microscópio MEV para as nanopartículas de YFeAl obtidas in situ no PGA nas velocidades de aquecimento a 5°C/min, 10 °C/min, 20 °C/min e 30 °C/min e um patamar de reação de 120 min em atmosfera de gás nitrogênio.

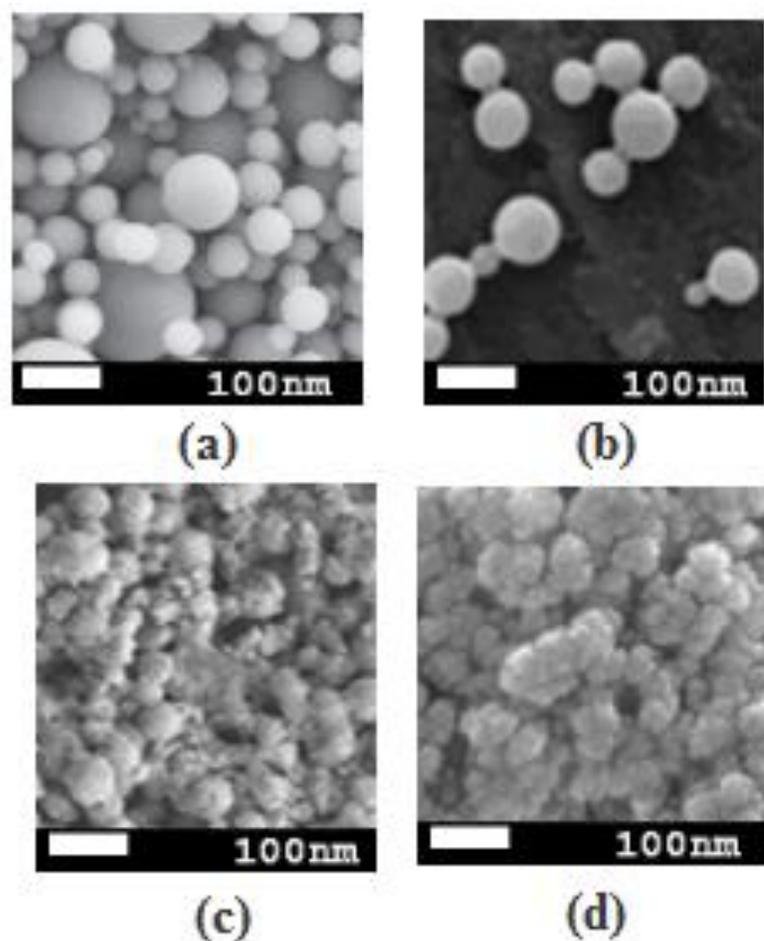


Figura 67- Microscopia MEV das nanopartículas de YFeAl utilizando-se as rampas de aquecimento de 5 °C.min⁻¹ (a), 10 °C.min⁻¹ (b), 20 °C.min⁻¹(c) e 30 °C.min⁻¹ (d). O patamar de reação foi de 120 min em atmosfera de gás nitrogênio (50 mL.min⁻¹).

Como pode ser observado na Figura 67 as rampas de aquecimento de 5°C e 10°C promovem a formação de nanoesferas híbridas de PGA_{g4}-YFeAl, provavelmente devido à um processo controlado de nucleação de nanopartículas e subsequentemente a automontagem de *clusters* com formação de nanoesferas. Por outro lado, as rampas de aquecimento a 20 °C e 30 °C parecem aumentar significativamente a mobilidade das espécies iônicas impedindo o processo de nucleação e automontagem (Fig. 63). Como consequência, rampas de aquecimento de alta velocidade, nesse trabalho 20 °C e 30 °C

parecem contribuir negativamente para a formação do *cluster*, o molde (template) da morfologia esférica do híbrido PGA-YFeAl [170-171].

A homogeneidade de distribuição dos elementos Y, Fe e Al no híbrido PGA-YFeAl foi investigado através da técnica de análise de energia dispersiva (EDS), cuja sonda encontrava-se acoplada ao MEV.

Como já exposto anteriormente, o princípio da técnica MEV consiste na emissão de um feixe de elétrons por um filamento de tungstênio, que concentrado, controlado e reduzido por um sistema de lentes eletromagnéticas, diafragmas e bobinas, incide sobre a amostra, provocando uma série de emissões de sinais relacionados com a interação do feixe de elétrons incidente e a amostra. Os sinais emitidos pela amostra encontram-se sob a forma de elétrons (secundários, retroespalhados, absorvidos, transmitidos, difratados, etc.) e de fótons (fotoluminescentes e raios-X) (Figura 68), os quais são captados por detectores apropriados, sendo amplificados e processados num sistema analisador específico para cada tipo de sinal [172].

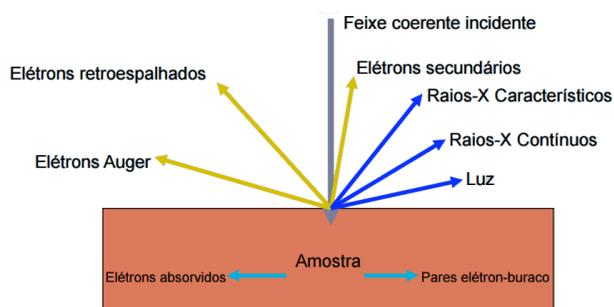


Figura 68- Sinais emitidos por uma amostra como resultado de sua interação com um feixe eletrônico primário do MEV.

Na análise denominada espectroscopia de energia dispersiva (EDS) um material semiconductor é utilizado para detectar os raios X, e um analisador multicanal convertendo a energia de raios X em uma contagem eletrônica. A partir do valor acumulado destas contagens é criado um espectro que representa a análise química da amostra. Para a análise quantitativa dos elementos, devem-se utilizar padrões com concentrações conhecidas dos

elementos a serem analisados. Os raios-X característicos permitem a obtenção de um mapa de imagem da distribuição de um elemento em uma amostra não homogênea.

Quando um elétron, geralmente do feixe primário, interage inelasticamente com a amostra removendo um elétron de uma camada interna (K, L, M, N) deixa o átomo em um estado excitado de energia permitindo que um elétron de uma camada mais energética decaia para preencher o vazio. Este decaimento ocorre com emissão de energia na forma de um fóton de raios X. Como as diferenças de energia são bem definidas e específicas dos elementos estes fótons são denominados raios X característicos e permitem identificar o elemento que está emitindo a radiação. Nesta aplicação, um determinado elemento é inicialmente selecionado para ser detectado e ter sua posição identificada.

Quando o elemento químico é detectado, enquanto o feixe primário varre a área em análise, um ponto brilhante é mostrado na tela do tubo de raios catódicos e a sua localização está relacionada com o local de detecção na amostra. Após várias passagens do feixe de elétrons sobre a área, é gerado um mapa de regiões brilhantes que representa a distribuição relativa do elemento previamente selecionado. Estas regiões brilhantes podem ser coloridas computacionalmente identificando-se assim a distribuição de elementos químicos na amostra em análise.

Observa-se através das respectivas micrografias (Fig. 69) uma distribuição homogênea dos três elementos, Y, Fe, Al; nas nanopartículas híbridas PGA-YFeAl.

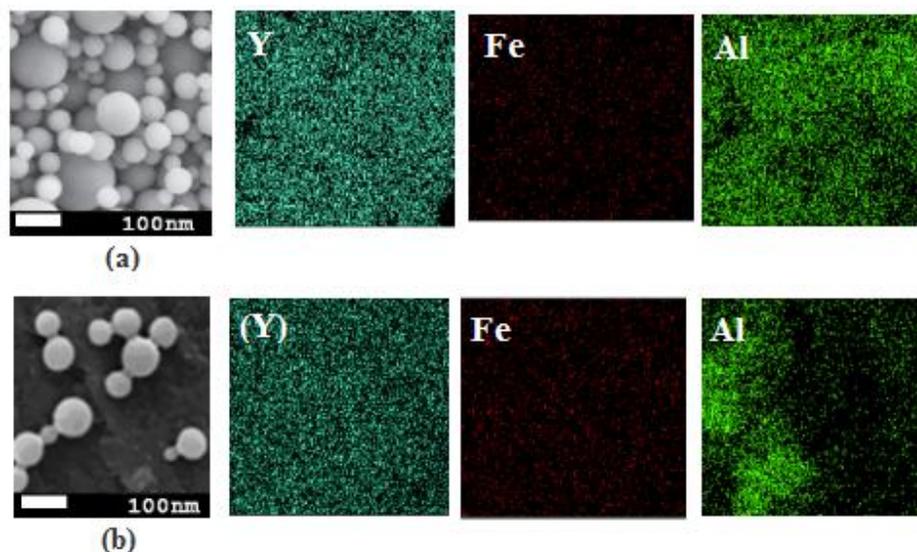


Figura 69- Micrografia MEV (a) e (b) e, mapeamento elementar para Y/Fe/Al para análise da distribuição das nanopartículas de YFeAl por espectroscopia de raios X em dispersão de energia (EDS).

Uma vez que o comportamento magnético das nanopartículas de PGA-YFeAl são estritamente dependentes do seu tamanho e formato [173], as micrografias MEV, foram binarizadas (segmentadas) e posteriormente analisadas com o software ImageJ versão 1.48 (software livre) de modo a se obter os respectivos histogramas de distribuição de tamanhos. Consideraram-se somente as nanopartículas com morfologia esférica e sem estados significativos de agregação, no caso, as micrografias correspondentes à Figura 67 (a,b). Através das medições para 30 micrografias calculou-se a distribuição média do diâmetro para cada sistema correspondente as Figura 70 (a)-(b). A análise da distribuição de tamanho (Fig. 70) indica nanopartículas com distribuição de tamanho monomodal com diâmetro médio em torno de 55-75 nm.

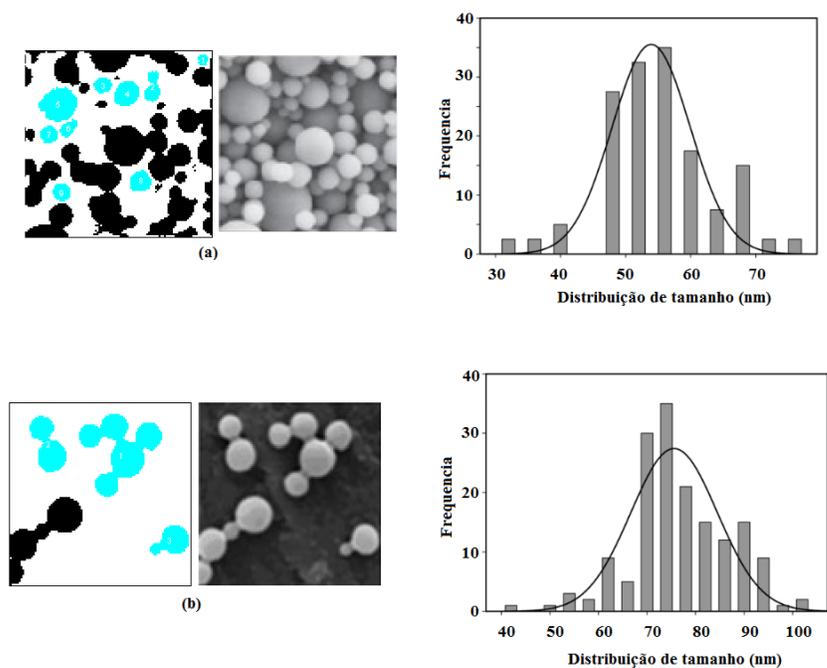


Figura 70- Distribuição do tamanho médio das partículas híbridas de YFeAl calculado a partir da segmentação das imagens MEV com o auxílio do software ImageJ versão 1.48.

Em geral as nanopartículas magnéticas destinadas às aplicações na medicina possuem superfície hidrofóbica e devem ter sua superfície modificada de modo a se evitar sua aglomeração garantindo ao mesmo tempo suas propriedades biocompatíveis de modo que possam ser utilizadas com segurança nas aplicações médicas para a qual foram projetadas [174-175]. Atualmente, o poli(etileno glicol) (PEG) e seus derivados representam a família de polímeros mais utilizados para a obtenção de nanopartículas magnéticas biocompatíveis e estáveis quanto à sua hemocompatibilidade, dispersão e composição química quando expostas ao meio biológico [176].

Nesse trabalho, as nanopartículas de YFeAl são revestidas pelo PGA devido ao seu processo de nucleação *in situ* no polímero arborescente. O PGA possui sua cadeia principal baseada em um poliéter alifático, similarmente ao PEG; onde cada ramificação termina em uma função hidroxila, o que torna esse material altamente funcional onde, por

exemplo; uma molécula com uma massa molar de 5 kDa possui 68 grupos hidroxila terminais. Ao mesmo tempo, é fato reconhecido na literatura de que poliéteres alifáticos tendem a ser biocompatíveis o que torna o PGA um polímero adequado para aplicações como um agente de entrega de compostos biologicamente ativos ou transportador de nanopartículas magnéticas. Dessa maneira, o PGA têm encontrado uma grande variedade de aplicações promissoras na indústria farmacêutica e medicina, devido à sua hemocompatibilidade, inércia química e excelente solubilidade em ambos os meios orgânicos e aquosos [177- 180].

A presença do PGA na superfície das nanopartículas de YFeAl foram comprovadas nesse trabalho através da espectroscopia no infravermelho por transformadas de Fourier (FTIR).

É bem conhecido o fato de que átomos e moléculas podem absorver radiação eletromagnética, mas somente em certas energias, ou de acordo com a relação de Planck [181]:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad [148]$$

sendo h =constante de Planck (6.63×10^{-34} J. s) e c =velocidade da luz (3.00×10^8 m.s⁻¹).

O diagrama na Figura 71 (A) ilustra as relações entre diferentes níveis de energia dentro de uma molécula. Os três grupos de linhas correspondem a diferentes configurações eletrônicas. A energia mais baixa, a configuração eletrônica mais estável é a configuração eletrônica do estado fundamental. Certas energias nas regiões visível (V) e ultra-violeta (UV) do espectro eletromagnético podem causar excitação de elétrons em orbitais de energia mais alta. Algumas das possíveis transições de absorção são indicadas pelas setas verticais (Fig. 71(A)). Por outro lado, fótons muito energéticos (UV) podem ionizar a molécula e nesse caso; um elétron é ejetado.

Os fótons na região infravermelha do espectro (IR) têm muito menos energia do que os fótons nas regiões V ou UV, excitando, portanto as vibrações em moléculas. Existem muitos níveis de vibração possíveis dentro de cada estado eletrônico. A radiação de microondas é ainda menos energética do que a radiação infravermelha. Este tipo de

radiação não pode excitar elétrons em moléculas, nem pode excitar vibrações e causam somente a rotação em moléculas. Um exemplo disso são os fornos de micro-ondas cuja frequência de radiação faz com que as moléculas da água girem. O atrito causado pela rotação molecular causa o aquecimento de substâncias que contêm água. A Figura 71(B) ilustra os tipos de respostas moleculares à radiação eletromagnéticas IR, V, UV e microondas.

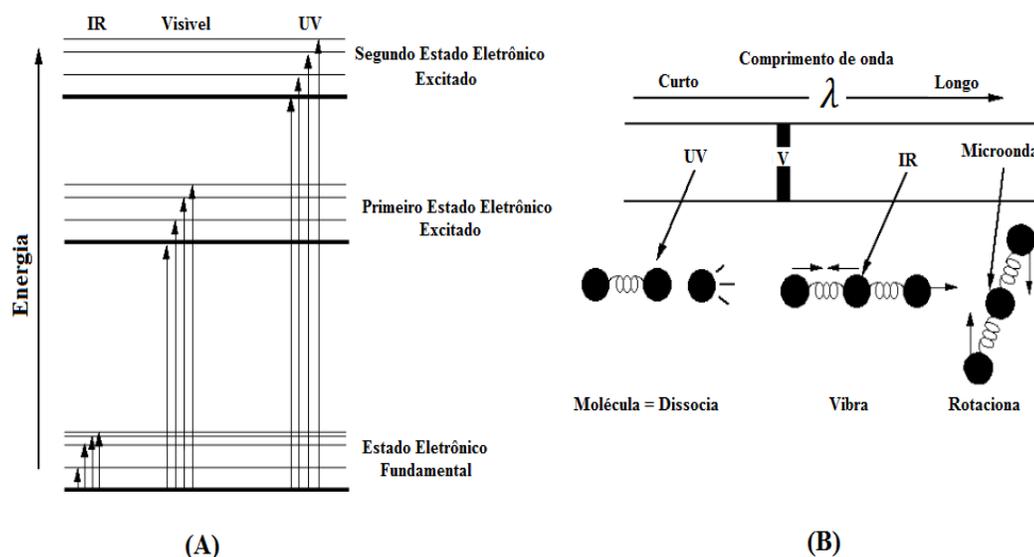


Figura 71- Interação das radiações eletromagnéticas UV, V, IR e micro-ondas com moléculas e sua relação com os níveis energéticos.

Os átomos de uma molécula nunca estão imóveis e para moléculas com N átomos não lineares existem $(3N-6)$ graus de liberdade para vibrações e no caso de moléculas lineares $(3N-5)$, devido à inexistência de rotação em torno do eixo internuclear, que ocorre em moléculas não lineares. Estes graus de liberdade correspondem aos diferentes modos normais de vibração. Assim, dióxido de carbono, uma molécula linear, tem $[(3 \times 3) - 5] = 4$ vibrações. As vibrações marcadas com A e B (Figura 72) representam o alongamento das ligações químicas, uma de forma simétrica (A), na qual as ligações $C = O$ se alongam e contraem juntas (em fase) e a outra de forma assimétrica (B) em que uma ligação encurta enquanto a outra alonga. O estiramento assimétrico (B) é infravermelho ativo porque há

uma mudança no momento do dipolo molecular durante esta vibração. Ser "ativo" significa que a absorção de um fóton para excitar a vibração é permitida pelas regras da mecânica quântica.

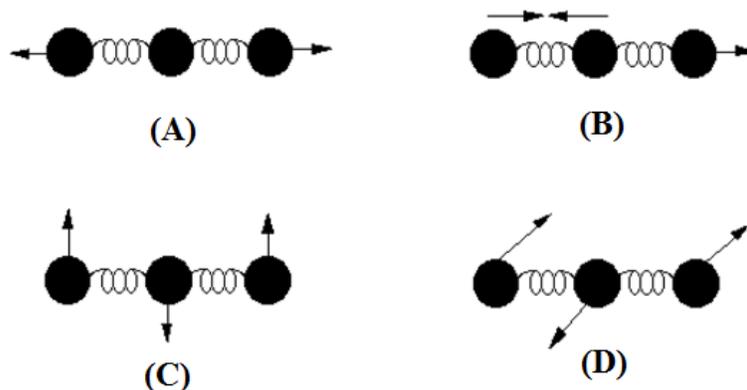


Figura 72- Modos vibracionais da molécula de CO₂.

Para explicar o comportamento vibracional das moléculas existem vários modelos, contudo em geral este comportamento é descrito pelo modelo do oscilador harmônico simples (OHS). Segundo o modelo OHS a energia vibracional de um determinado sistema é uma função quadrática da distância entre os átomos e a oscilação entre eles é simétrica. O modelo considera que a ligação entre os átomos é feita por uma mola, em que a frequência de vibração da mola (ν) é descrita pela lei de Hooke [182]:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}}} \quad [149]$$

sendo k é a constante de força da ligação e μ a massa reduzida.

No caso de moléculas diatómicas, para o modelo OHS, a energia potencial (E) é dada por:

$$E = \frac{1}{2} kx^2 = \frac{1}{2} k(r - r_e)^2 \quad [150]$$

sendo r a distância internuclear e r_e a distância internuclear de equilíbrio.

Logo, considerando a Eq. (150), a energia vibracional de cada nível na molécula é dado por [182]:

$$E_{vib} = h\nu \left(n + \frac{1}{2} \right) \quad [151]$$

Uma vez que a ligação entre os átomos não é um oscilador perfeitamente harmônico e que pode ocorrer quebra de ligação se a molécula se estender demasiado (dissociação), os níveis de energia são separados por diferenças de energia decrescentes, à medida que aumenta o número quântico vibracional (n), podendo sobreposições e transições que envolvam duas vibrações moleculares diferentes. Esse fato está ilustrado na Figura 73.

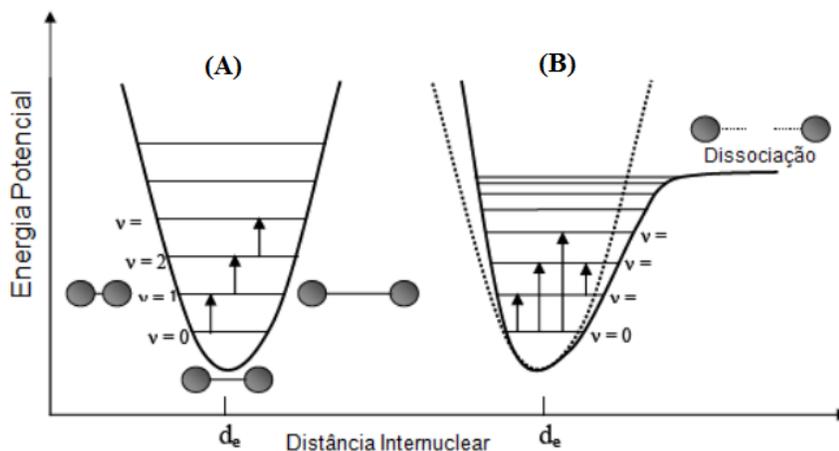


Figura 73- Funções de potencial para o oscilador harmônico ideal (lei de Hooke) (A) e oscilador harmônico corrigido com o potencial de Morse (B) de uma molécula diatômica [183].

Os espectrofotômetros FTIR têm por base o interferômetro de Michelson (Figura 74). Neste sistema a radiação da fonte luminosa é dividida em dois feixes iguais através de

um divisor de feixe (*beamsplitter*), como se pode observar na Figura 74. Um dos feixes segue em direção a um espelho de posição fixa no qual reflete de volta para o divisor de feixe, e aqui volta a dividir-se e parte desta vai para o detector. O outro feixe parte do divisor em direção ao espelho móvel, este espelho também reflete, ocorrendo nova divisão *beamsplitter* e parte da radiação segue também para o detector, conseguindo assim, com rapidez percorrer todos os comprimentos de onda em estudo. À medida que o espelho móvel percorre determinada distância um interferograma é formado com a recombinação dos dois feixes. Deste modo um interferograma é formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao interferômetro. Contudo, apesar de o interferograma conter toda a informação fornecida pelo espectrômetro, a forma como se apresenta não é muito útil. Assim, a informação do interferograma é convertida num espectro, relacionando as intensidades com as respectivas frequências, através da transformada de Fourier [184].

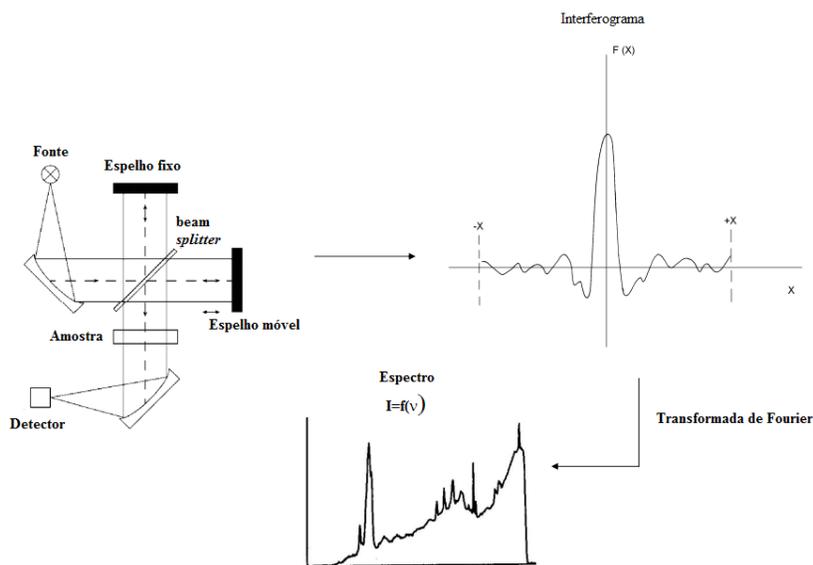
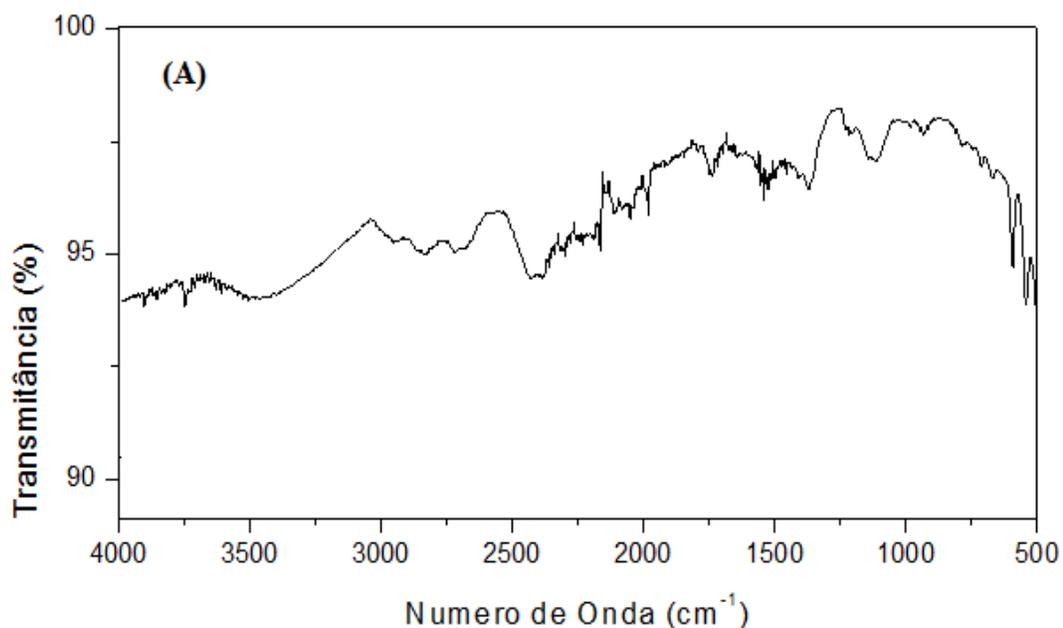


Figura 74- Princípio de funcionamento de um espectrômetro FTIR.

A amostra do híbrido PGA-YFeAl foi analisada por FTIR com o objetivo de se determinar possíveis interações entre as partículas magnéticas de YFeAl e as cadeias poliméricas do PGA. O objetivo é medir o quão bem uma amostra absorve a luz em cada

comprimento de onda. A maneira mais direta de fazer isso, a técnica da "espectroscopia dispersiva", é o brilho de um feixe de luz monocromático em uma amostra, medir a quantidade de luz que é absorvida e repetir para cada comprimento de onda diferente. A espectroscopia de transformada de Fourier é uma maneira menos intuitiva de obter a mesma informação. Ao invés de brilhar um feixe de luz monocromática na amostra, esta técnica brilha um feixe contendo muitas frequências de luz de uma só vez, e mede quanto desse feixe é absorvido pela amostra. Em seguida, o feixe é modificado para conter uma combinação diferente de frequências, dando um segundo ponto de dados. A Figura 75 mostra o espectro FTIR do PGA e do sistema híbrido PGA-YFeAl. As bandas de absorção mais importantes para o híbrido PGA-YFeAl foram observadas a 580 cm^{-1} (Fe-O, Fe_3O_4) [185], 600 cm^{-1} (Y-O, Y_2O_3) [186], 3716 cm^{-1} (AlO-H) [186], $600\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (Al-O) [186]. Por outro lado, as bandas de absorção correspondentes aos modos vibracionais do PGA aparecem em 3300 cm^{-1} (OH), 1415 cm^{-1} (CH_2), $1000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ (C-O) [187].



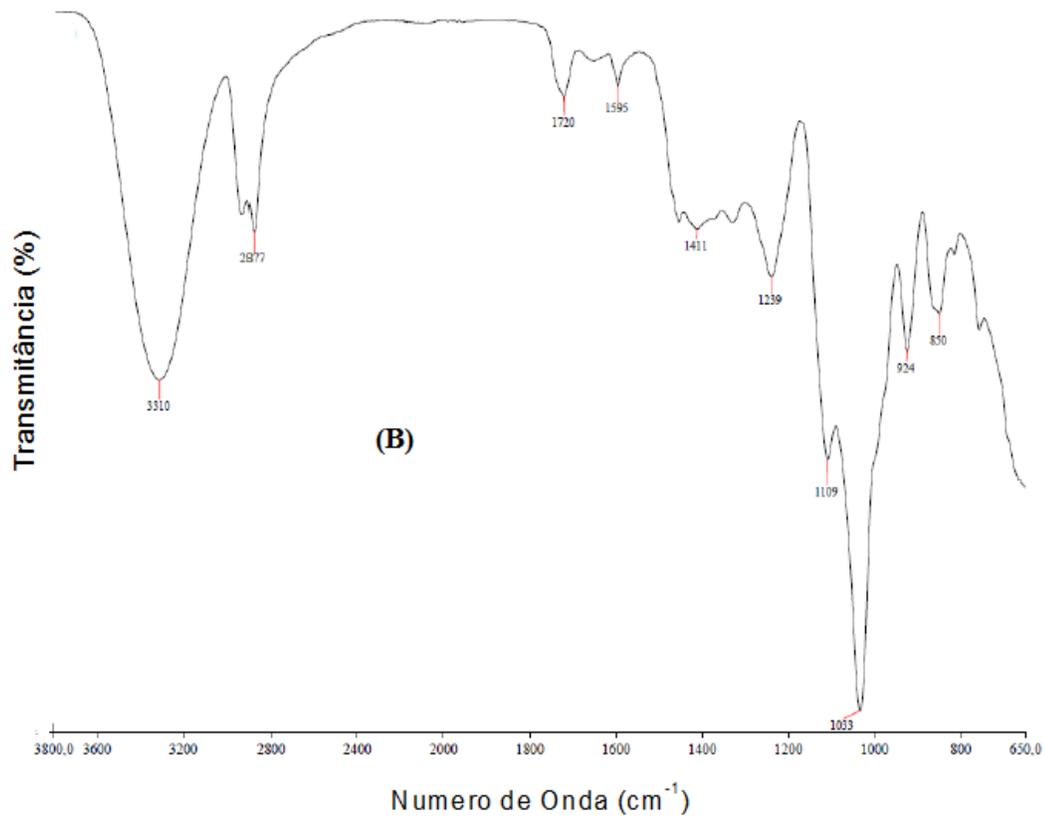


Figura 75- Espectro FTIR para o híbrido PGA-YFeAl (A) e PGA (B).

O comportamento magnético das partículas magnéticas é fortemente dependente de seu tamanho uma vez que o número de domínios magnéticos no material também diminui até se atingir um tamanho crítico em que o material é composto por um único domínio magnético. Os domínios magnéticos são pequenas regiões existentes em um dado material onde os spins dos elétrons encontram-se acoplados numa mesma direção, gerando um único momento magnético não nulo, similar a um ímã. Entretanto, em um material nas escalas macro/microscópicas (com exceção dos materiais ferromagnéticos) não existe apenas um domínio magnético, mas diversos domínios. Porém, ao se reduzir a dimensão do material, chega-se a um tamanho crítico (D_{CR}) onde o material, passa a ser constituído de apenas um único domínio magnético (monodomínio). O D_{CR} está justamente na escala, nanométrica para a maioria dos materiais, a exemplo da magnetita. Um diagrama simplificado de domínios magnéticos é apresentado na Figura 76 [188].

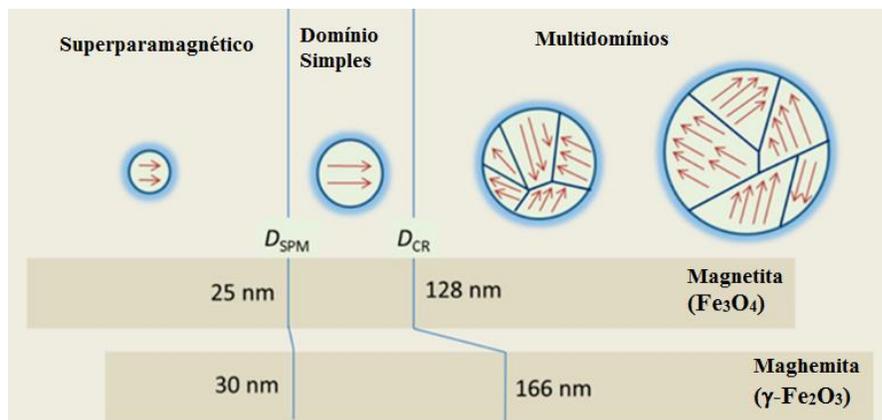


Figura 76- Ilustração simplificada da existência de domínios magnéticos em diferentes escalas de tamanho [188].

O espectro FTIR do híbrido nanoestruturado PGA-YFeAl evidencia que a caracterização desse material é difícil devido à sua heterogeneidade básica e do seu carácter parcialmente desordenado onde a distribuição de tamanho de partículas mostra uma elevada densidade de fronteiras de grão e desordem química. Nesse sentido, as propriedades magnéticas do sistema PGA-YFeAl foram investigadas através da espectroscopia Mossbauer (EM) e magnetometria de amostra vibrante (MAV).

A Figura 77 ilustra um diagrama simplificado de um MAV [189-190]. Na técnica MAV, as propriedades magnéticas do híbrido PGA-YFeAl podem ser detectadas com base na lei de Faraday, onde um campo magnético variável induz na amostra a geração de uma força eletromotriz (E) proporcional ao momento magnético (m) da mesma. Assumindo que o MAV faz a amostra de momento magnético m vibrar ao longo do eixo z com uma frequência angular ω e uma amplitude A , a força eletromotriz AC ($U(t)$) da bobina de detecção é dada por [189-190]:

$$U(t) = G(r).m.A\omega\cos\omega t \quad [152]$$

Sendo $G(r)$ uma função chamada sensibilidade que representa a variação espacial da sensibilidade da bobina de detecção.

A amostra a ser ensaiada é fixa na extremidade de uma haste rígida e o campo magnético pode ser aplicado tanto na direção transversal como longitudinal à direção de vibração. A outra extremidade da haste é fixada na membrana de um alto-falante ou a um motor com um sistema de polias ou engrenagens.

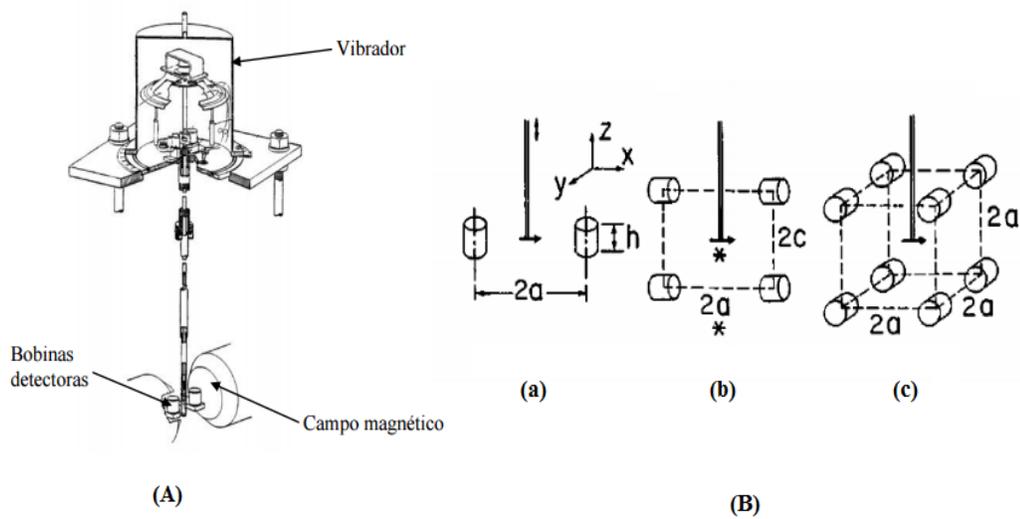


Figura 77- Ilustração dos componentes básicos de um magnetômetro de amostra vibrante (MAV) (A) e disposição das bobinas de detecção (B). O arranjo das bobinas de detecção é feito de tal modo que maximize o sinal induzido e que este seja pouco sensível à posição da amostra [189-190].

A Figura 78 mostra as curvas de magnetização utilizadas para investigar as propriedades magnéticas do híbrido PGA-YFeAl. As curvas de magnetização foram obtidas nas temperaturas de 35 K, 300 K e 350 K.

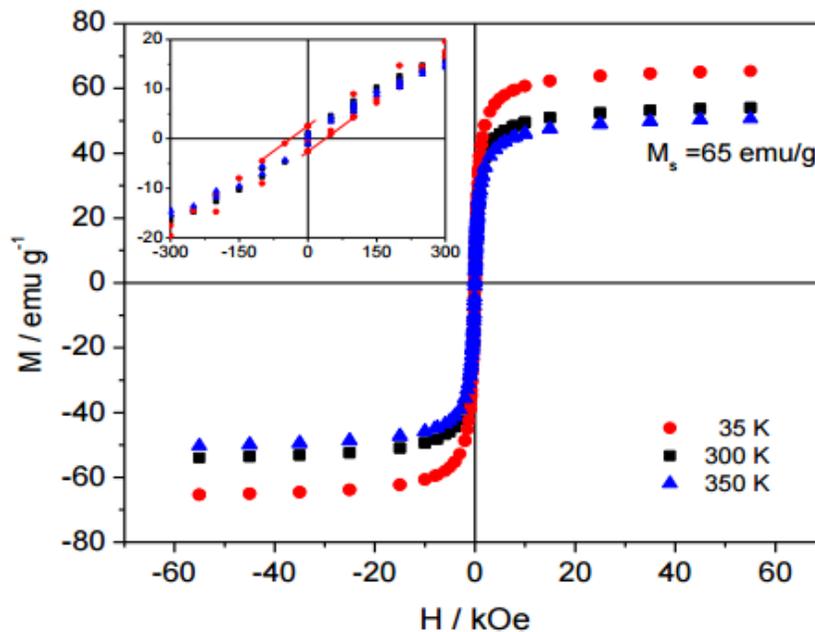


Figura 78- Curvas de magnetização para amostras de PGA-YFeAl.

Os momentos magnéticos das nanopartículas saturam-se rapidamente na presença de um campo magnético externamente aplicado. O campo magnético aplicado variou de -60 kOe para 60 kOe. As amostras de PGA-YFeAl não apresentaram magnetização remanescente (H_r) nem coercividade (H_c) na ausência de campo magnético (Fig. 78) e isso indica comportamento superparamagnético [191]. Isto significa que as nanopartículas de YFeAl possuem essencialmente domínios simples, sendo interessantes para o projeto de sistemas transportadores de quimioterápicos para a terapia de hipertermia magnética [192].

O percentual de nanopartículas de YFeAl superparamagnéticas foram confirmadas através da espectroscopia Mössbauer. A técnica se baseia no fato de que núcleos atômicos estáveis podem ser excitados através da absorção ressonante de um fóton. O espectrômetro Mossbauer é constituído basicamente de uma fonte radioativa fixada na ponta de um eixo ligado a um transdutor que executa um movimento oscilatório longitudinal (Figura 79) [193-194].

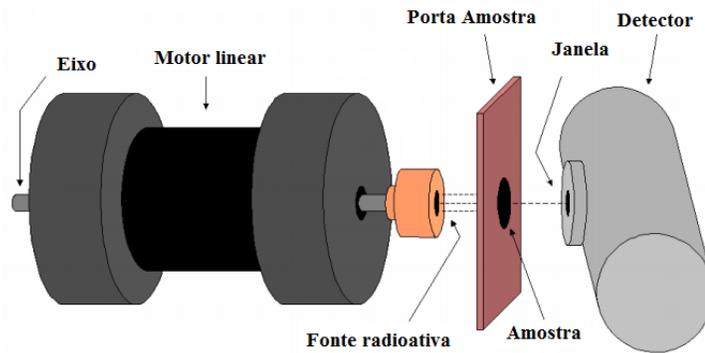


Figura 79- Ilustração dos componentes principais de um espectrômetro Mössbauer.

Quando o núcleo radioativo decai de um estado excitado (E_1) para um estado fundamental (E_o), emite um fóton com energia dada por [193-194]:

$$\varepsilon_\gamma = E_1 - E_o \quad [153]$$

Se o núcleo emissor permanece imóvel durante a transição, a energia do fóton emitido e a energia do fóton absorvido serão iguais. Entretanto, se o núcleo emissor sofrer um recuo, pelo movimento longitudinal da fonte radioativa; a energia do fóton emitido (ε_γ) será [193]:

$$\varepsilon_\gamma = E_1 - E_o + E_R = E_1 - E_o + \frac{E_\gamma^2}{2Mc^2} \approx \frac{(E_1 - E_o)^2}{2Mc^2} \quad [154]$$

sendo M a massa do núcleo e c a velocidade da luz (3.10^8 m.s^{-1}).

Logo, a energia do fóton que o núcleo é capaz de absorver é maior sendo dada por [193-194]:

$$\varepsilon_\gamma = E_1 - E_o + E_R \quad [155]$$

sendo E_R a energia de recuo.

Geralmente o valor de $E_R \approx 10^{-3} - 10^{-2} \text{ eV}$ e a largura Γ da linha de emissão é determinada pelo princípio da incerteza, e nesse caso; $\Gamma = 10^{-7} - 10^{-11} \text{ eV}$. Portanto, a energia de recuo é muito maior que a largura da banda e a absorção ressonante do fóton por outro núcleo não pode ocorrer (Figura 80b). Entretanto, quando os núcleos emissor e absorvedor fazem parte de uma amostra sólida, a energia de recuo se divide em muitos átomos vizinhos na forma de fônons, e a largura da banda é muito maior, $\Gamma = 10^{-3} - 10^{-2} \text{ eV}$, e a absorção e emissão se sobrepõem parcialmente, produzindo absorção ressonante que pode ser aumentada elevando-se a temperatura durante o processo de medida (Fig. 80C) [194].

A baixa temperatura, uma fração dos núcleos efetua uma emissão sem recuo com energia $\varepsilon_\gamma = E_1 - E_0$ e uma largura de linha normal. Isto acontece quando o momento dos fótons ε_γ sem a presença de fônons se transfere totalmente para a rede cristalina. Nesse caso, a frequência f aumenta ao diminuir-se a temperatura e analogamente ao processo de emissão; pode produzir-se a absorção sem recuo do fóton ε_γ em parte dos núcleos absorventes. Esse processo se denomina de efeito Mössbauer, descoberto em 1958 por Rudolf Mössbauer (Fig. 80(d)) [194].

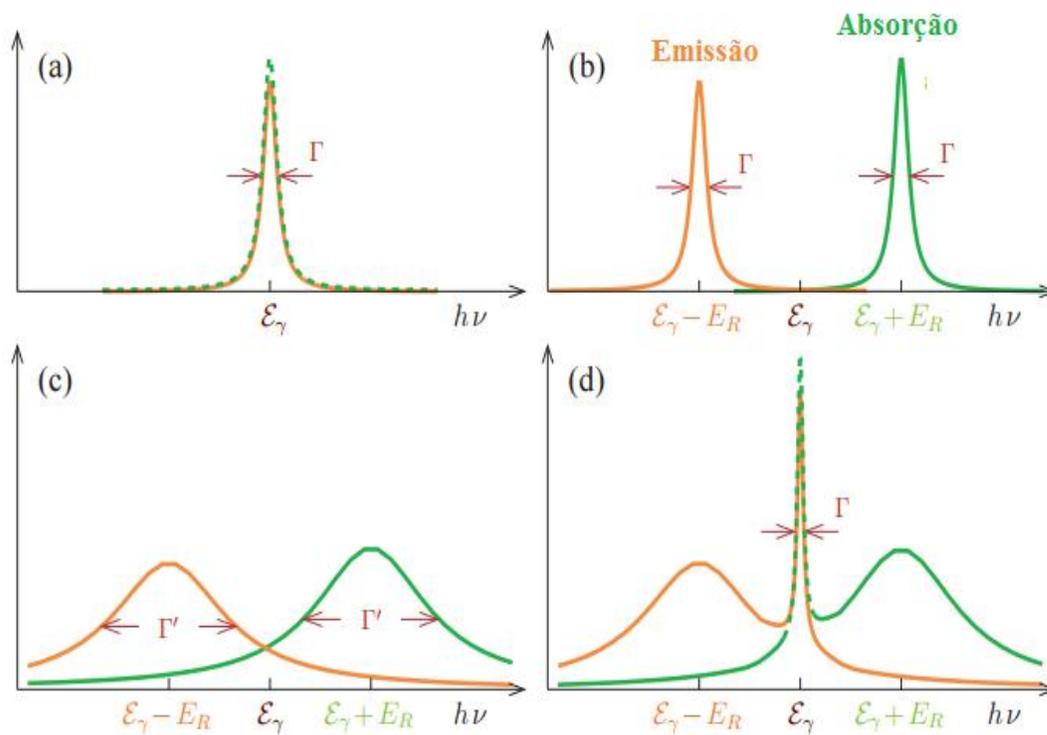


Figura 80- Bandas de emissão e absorção de fótons gama (γ) de um núcleo em uma transição de energia $\varepsilon_\gamma = E_1 - E_0$: Núcleo estático (a), Núcleo livre (gás) com recuo (b), Núcleo com recuo pertencente à uma rede cristalina (c) e, emissão e absorção ressonante sem recuo (efeito Mössbauer) (d). Adaptado de [194]

São condições fundamentais para o estudo Mossbauer que o isótopo possua um estado fundamental estável e um estado excitado de baixa energia que decaia com emissão gama. O estado excitado deve ser de baixa energia para que a emissão esteja livre de recuo. Isto ocorrerá somente se a energia de recuo for menor que a energia de vibração da rede, o que geralmente restringe o efeito Mössbauer a raios gama com energias menores que 150 KeV. O isótopo más utilizado em espectroscopia Mössbauer dado suas boas características e custo é o ^{57}Co , que decai a ^{57}Fe (Figura 81) [194].

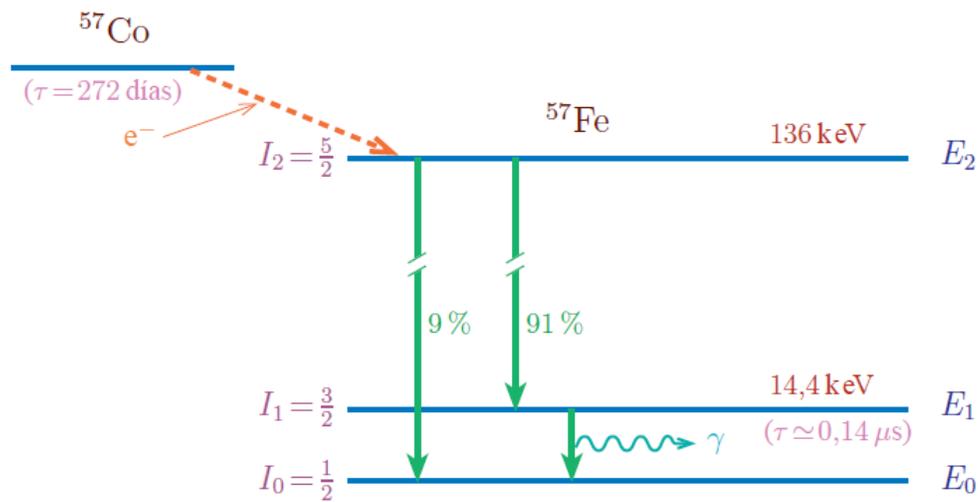


Figura 81- Níveis de energia do núcleo de ^{57}Fe mostrando as interações nucleares do efeito Mössbauer.

Portanto, em espectroscopia Mössbauer se estuda a variação de intensidade transmitida de fótons através de um meio absorvente em função da velocidade da fonte emissora de radiação gama relativamente ao meio absorvente. O espectro Mössbauer resultante consiste em uma representação do número de intensidades acumuladas de raios gama em função da velocidade da fonte relativamente ao meio absorvente (expresso geralmente em mm/s), o qual é caracterizado pelo número, forma, posição e intensidade das linhas de absorção como resultado das diferentes interações hiperfinas do ^{57}Fe no meio absorvente, conforme ilustrado na Figura 82 [194].

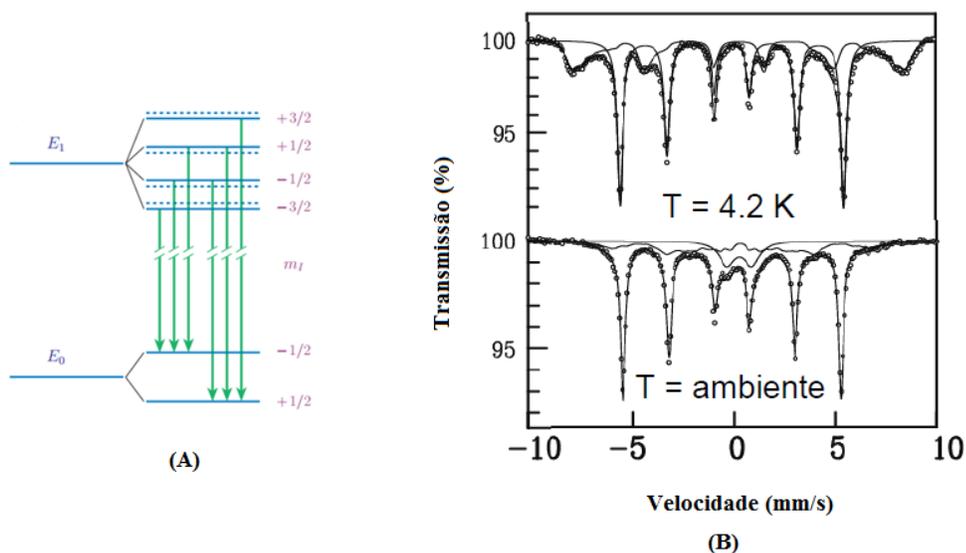


Figura 82- Níveis hiperfinos do estado fundamental E_0 e excitado E_1 do núcleo de ^{57}Fe ilustrando as transições detectadas no espectro Mössbauer (A). Em (B) está representado o espectro Mössbauer típico de uma amostra [194].

O espectro Mössbauer do híbrido PGA-YFeAl foi medido em diferentes temperaturas a fim de se observar sua natureza superparamagnética e distribuição de tamanhos, sendo os resultados apresentados na Figura 83. Os valores apresentados para os deslocamentos isoméricos são dados em relação ao $\alpha\text{-Fe}$. Os ajustes dos espectros Mössbauer foram realizados, no programa MOSF, que ajusta os espectros baseados em curvas Lorentzianas com o método dos mínimos quadrados não lineares [195].

Os EM à temperatura ambiente (25 °C) é caracterizado por um dublete com um desdobramento devido à interação quadrupolar hiperfina (ΔE_Q) igual a 1,2 mm/s, correspondente à fração de cristais de óxido de ferro com comportamento superparamagnético (Fig. 83-A) devido à relaxação superparamagnética das nanopartículas [196-197]. Deve-se observar que, os dubletos centrais são caracteristicamente de óxidos de Fe^{2+} , no estado superparamagnético sendo que as áreas subspectrais Mössbauer sugerem a substituição do óxido de ferro pelos óxidos de ítrio e alumínio [198-199].

Quando a temperatura de medida é elevada para 125 K, os dubletos desaparecem e começa a aparecer um sexteto (Fig. 83-B). Na temperatura de 81 K a componente superparamagnética no híbrido PGA-YFeAl é significativamente diminuída (Fig. 83 C).

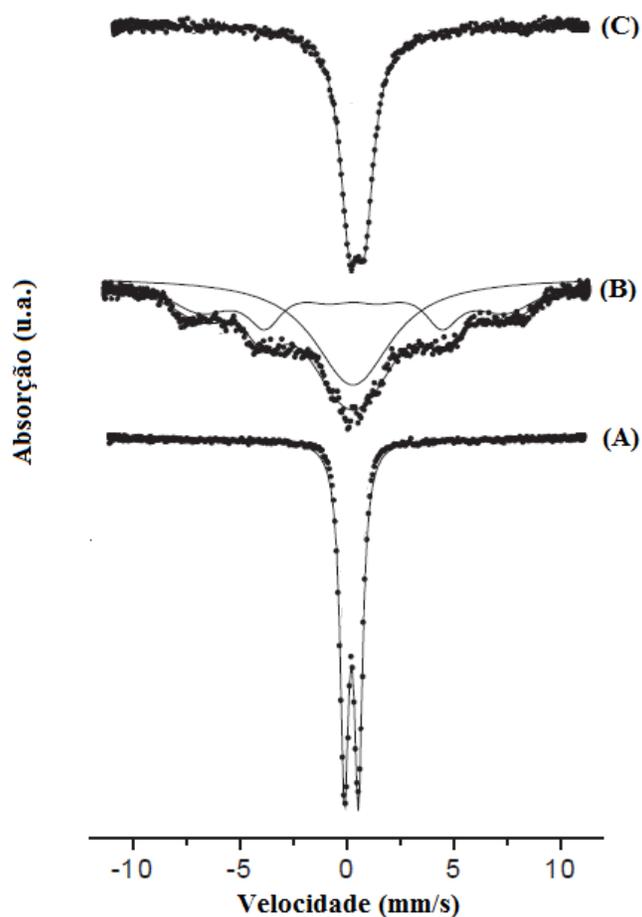


Figura 83- Espectro Mossbauer do híbrido YFeAl medido a 298 K (A), 85 K (B) e 125 K (C).

Considerando a razão entre as áreas do sexteto e dubleto, a fração de nanopartículas superparamagnéticas pode ser calculada, sendo os resultados apresentados na Figura 84. Os

resultados mostram que a fração de partículas superparamagnéticas aumenta significativamente com a temperatura. Entretanto, a análise da temperatura de bloqueio (T_B) não foi efetuada em função das poucas medidas em função da temperatura. Novas medidas em função da temperatura e com intervalos regulares deverão ser realizados no futuro.

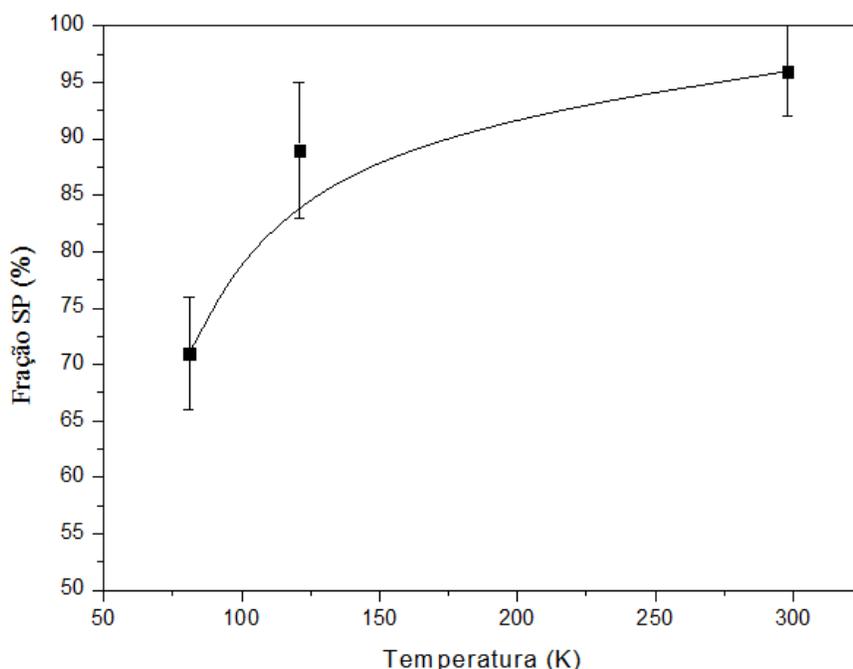


Figura 84- Variação da fração de nanopartículas de YFeAl superparamagnéticas com a temperatura calculado a partir do espectro Mossbauer.

6.3. Produção de Dendrissomas Magnéticos e Caracterização Biológica *in-vitro*

Neste trabalho o sistema PGA-YFeAl/CXB foi encapsulado em uma estrutura lipossômica com o objetivo de se direcionar o sistema teranóstico para o citoplasma e núcleo das células alvo. Os trabalhos publicados na década de 90 demonstraram que a presença de poli(etileno glicol) (PEG) na superfície dos lipossomas diminuía significativamente a remoção dos lipossomas da circulação sanguínea, prevenindo sua

captura no fígado e no baço, quando eram injetados via endovenosa [200-204]. Em geral, os lipossomas grandes não modificados com PEG parecem se removidos mais rapidamente que os lipossomas pequenos, neutros ou positivamente carregados.

No tratamento do câncer, os lipossomas são atualmente utilizados como sistemas de liberação de fármacos até os tecidos-alvo, disponibilizando apenas uma fração controlada do quimioterápico para o sítio de ação. Os sistemas lipossômicos apresentam vantagens o aumento da solubilidade do fármaco no fluido fisiológico ou na membrana celular, melhorando assim a farmacodinâmica (potencialização do efeito terapêutico), a farmacocinética (controle da absorção e distribuição tecidual) e reduzindo de modo significativo a toxicidade local e sistêmica dos quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer [205-214].

Com relação ao celecoxibe (CXB), quimioterápico utilizado nesse trabalho, observou-se pouca literatura envolvendo nanopartículas de lipossomas como transportadoras de CXB [215-218]. Entretanto, até onde a busca bibliográfica desse autor alcançou, não foi observado nenhuma literatura envolvendo a utilização de dendrissomas magnéticos para o transporte do fármaco CXB. Diante desse contexto, levando em conta toda a diversidade de características das nanopartículas observado através das publicações especializadas na área diagnóstica e terapêutica do câncer, pode-se afirmar que cada uma delas apresenta vantagens e desvantagens inerentes às suas propriedades físico-químicas, não parecendo sensato afirmar que uma ou outra forma nanotecnológica seja, indubitavelmente, melhor do que todas as outras.

Contudo, se analisarmos as necessidades da medicina diagnóstica e clínica do câncer talvez se possam eleger nesse momento o dendrissoma magnético PGA-YFeAl/CXB (DDM) como a nanopartícula mais promissora tendo em vista a sua versatilidade como um nanocarreador multifuncional, podendo sofrer diferentes tipos de modificações estruturais de superfície. Além da sua semelhança com as membranas biológicas, o dendrissoma possui propriedades teranósticas, ou seja, de diagnóstico e terapêutico, tornando-o uma partícula de baixa toxicidade para as células sadias. A Figura 85 mostra uma ilustração idealizada por computador do DDM sintetizado nesse trabalho.

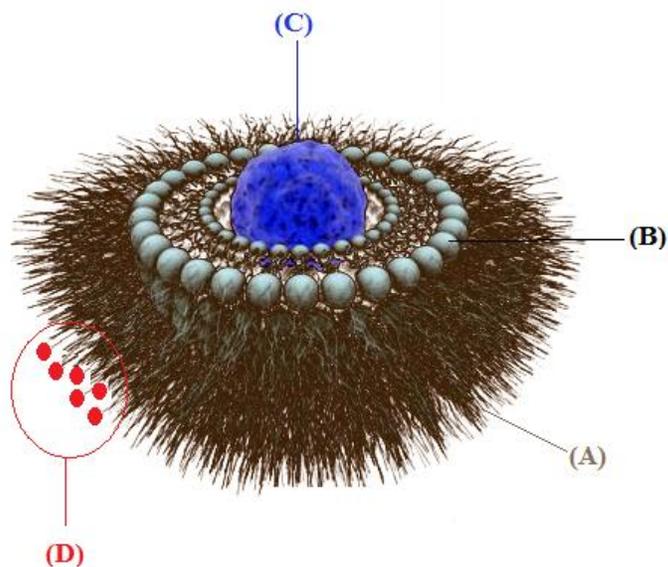


Figura 85- Estrutura idealizada do DDM sintetizado nesse trabalho. A estrutura DDM deve ser observada como nanocápsulas de terceira geração, uma vez que incorpora em uma única estrutura nanopartículas de YFeAl, quimioterápicos (CXB) e marcadores/receptores tumorais. Nesse caso, encontra-se demonstrado na Fig. 1(A) os filamentos que representam as cadeias do PGA. Em (B) representa-se a estrutura vesicular do lipossoma. A estrutura (C) representa o núcleo arborescente de PGA contendo YFeAl e o agente quimioterápico CXB. Em (D) estão representados os receptores tumorais (folatos) e marcadores luminescentes (Cy-5).

A obtenção do DDM foi realizada nesse trabalho utilizando-se um dispositivo de microfluídica adaptado da literatura [219-222]. O processo se baseia na obtenção de uma emulsão estável do tipo óleo em água (AO) obtida através da separação de fases de modo uniforme de um fluido de fase descontínua (PGA-YFeAl/CXB) induzida sob jato de pressão por um fluxo capilar através de um orifício de dimensões micrométricas em uma fase contínua constituída por fosfatidilcolina de diasteroíla (DSPC, colesterol (CH) e fosfatidilglicerol de soja na proporção molar 6:3:1 em etanol.

As fases (contínua e dispersa) foram continuamente introduzidas em um tubo capilar utilizando duas seringas e duas bombas infusoras com caudais ajustáveis e independentes sob sonicação contínua com potência constante ($P=65$ W). Para o

enrijecimento da membrana, os nanolipossomos obtidos foram injetados sob pressão em solução de sulfato de amônio em sacarose na concentração de 0,3 M [224]. Esse procedimento protege a membrana por desidratação. Após hidratação do filme lipídico em solução tampão fosfato 20 mM (PBS, pH 6,5) as vesículas formadas foram congeladas em nitrogênio líquido seguido de liofilização. Os nanolipossomas obtidos foram novamente ressuspensos em solução PBS, pH 6,5 e extrudados em filtro millipore com diâmetros de poro de 5.0 μm , 1.0 5.0 μm , 0.4 5.0 μm , 0.2 5.0 μm , 0.1 5.0 μm e 0.05 5.0 μm sob alta pressão seguido de liofilização. Antes do uso os DDM foram ressuspensos em PBS, pH 7.4. A Figura 86 ilustra de modo simplificado o dispositivo de microfluídica utilizado para a obtenção dos DDM's.

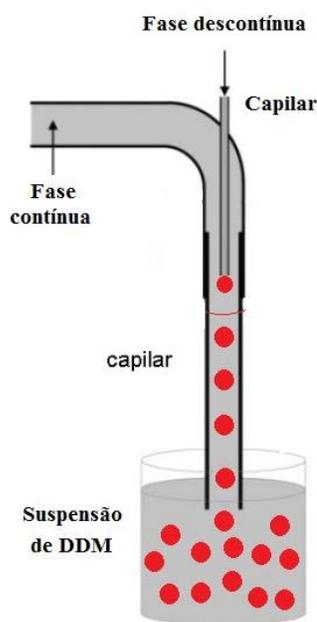


Figura 86- Dispositivo de microfluídica para a obtenção de DDM. Adaptado de [225]. Na ilustração foi omitido o sonicador. A velocidade da fase contínua foi mantido em 5,0 mL.h⁻¹ e da fase dispersa em 0,1 mL.h⁻¹. O diâmetro interno do capilar foi de 0,1 mm.

A Figura 87 ilustra as micrografias da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos DDM's obtidos e a curva de distribuição de tamanhos, calculada de acordo com o

software ImageJ versão 1.48, mencionado anteriormente. As micrografias MET (Fig. 87 A,B) revelam DDM's com formato esférico com certa heterogeneidade de distribuição de tamanho e um pequeno aumento do diâmetro das nanopartículas, provavelmente devido ao empacotamento da bicamada lipídica sobre o sistema PGA-YFeAl [226]. Este fato pode estar associado ao processo de formação de vesículas multilamelares.

Nota-se na Figura 87 (D) uma população de DDM's com distribuição de tamanho unimodal com tamanho médio centrado em torno de 220 nm e índice de polidispersão e índice de polidispersão igual a $0,089 \pm 0,012$. O baixo índice de polidispersão observado caracteriza a monodispersão quanto à distribuição de tamanhos do DDM obtido [227-228].

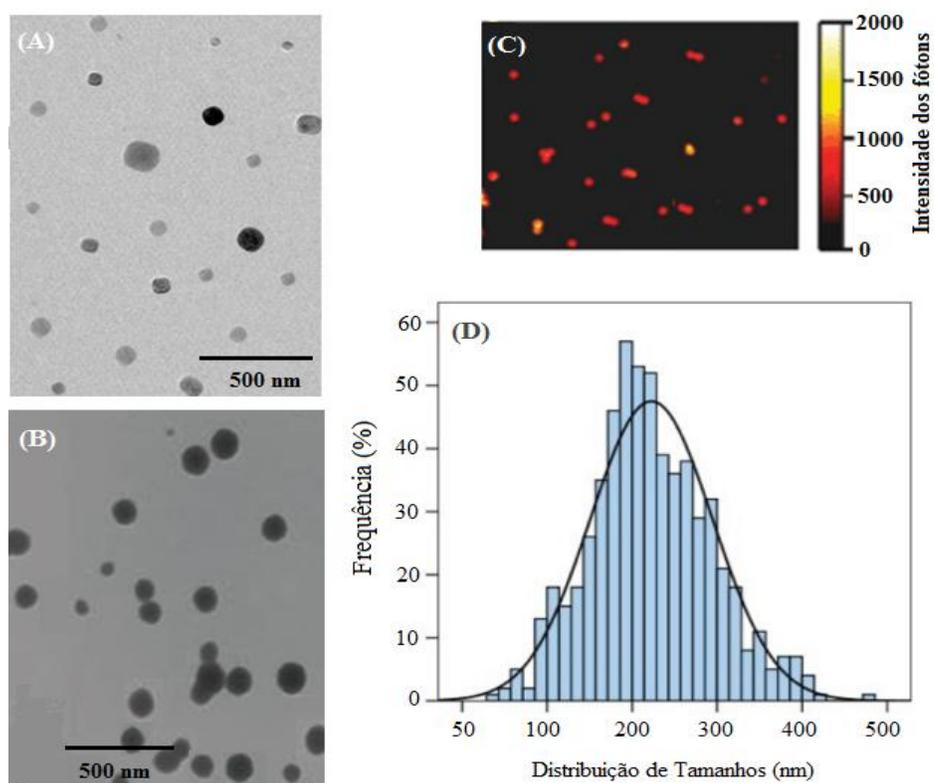


Figura 87- Micrografia MET (A,B), espectroscopia de fluorescência (C) e distribuição de tamanhos (D) dos DDM's obtido nesse trabalho.

De modo a se conferir aos DDM propriedades de diagnóstico ou seja; permitir à medicina diagnóstica a identificação da região tumoral, o DDM é transportador do fluoróforo Cy-5. Fluoróforos são moléculas fluorescentes, ou seja, que absorvem energia de uma luz incidente e emitem parte dessa energia em forma de luz de cor diferente, preferencialmente na região visível-IR do espectro eletromagnético. Os DDM marcados com Cy5 possuem dimensões próximas do limite de resolução de um microscópio de epifluorescência (cerca de 200 nm) [229], sendo por isso possível visualizá-las excitando o sistema com luz de (Figura 87 C). A Cy5 apresenta bandas 651 nm (excitacao) e em 674 nm (emissão) [230]. Observa-se na Fig. 87 C que as nanopartículas de DDM possuem significativa fluorescência confirmando que o DDM pode ser utilizado na medicina diagnóstica de tumores, desde que seja incorporado o receptor tumoral específico.

A Figura 88 mostra a imagem térmica dos DDM obtidos nesse trabalho exposição a campo magnético oscilante de 1.10 kA.m^{-1} com frequência de 200 kHz. As imagens térmicas obtidas indicam que os DDM possuem características térmicas induzidas por campos magnéticos oscilantes promissores para aplicação na hipertemia magnética.

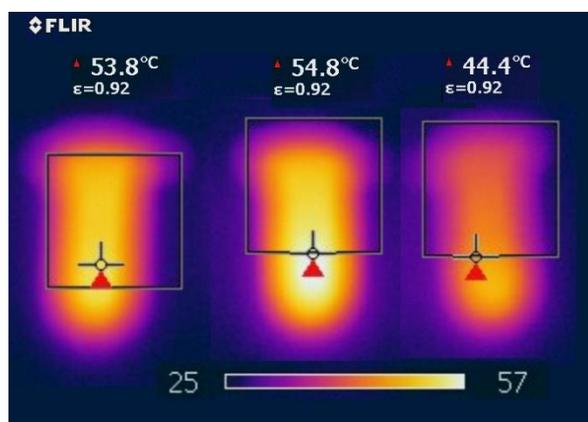


Figura 88- Imagem térmica de uma suspensão de DDM na concentração de 100 mg.mL^{-1} em PGA. A densidade da suspensão foi de $1,26 \text{ g.cm}^{-3}$. O campo magnético oscilante aplicado nas bobinas foi de 1.10 kA.m^{-1} com frequência de 200 kHz. A imagem térmica foi obtida com uma câmera de infravermelho (E30, FLIR) colocada a 50 cm dos tubos de eppendorf que continha a suspensão.

Para a utilização do DDM na medicina clínica e diagnóstica, torna-se necessário se efetuar o estudo de sua citotoxicidade conta células de mamíferos. O ensaio de citotoxicidade representa a fase inicial do teste de biocompatibilidade de um material com potencial para aplicações clínicas, sendo utilizado em uma primeira análise para detectar se o material sintético apresenta características de biomaterial quanto à sua interação com o tecido biológico [231].

Muitos métodos *in vitro*, para pesquisa de citotoxicidade em biomateriais, foram padronizados utilizando-se culturas celulares. Estes testes de citotoxicidade consistem em submeter o material direta ou indiretamente ao contato com uma cultura de células de mamíferos, verificando-se as alterações celulares como a lise das células (morte celular), inibição de crescimento celular e outros efeitos ocasionados pelos extratos do material sintético [232]. O material comprovadamente citotóxico é representado por aquele que libera um elemento ou composto químico em quantidade suficiente para causar a morte celular. A morte celular é causada pela inibição de vias metabólicas. O número de células afetadas indica a dose e potência da substância analisada capazes de matar as células. O conceito de dose liberada do composto tóxico é considerado equivalente à dose absorvida pelas células.

O estudo da viabilidade celular após incubação do meio de cultura das linhagens celulares com o DDM foi realizado segundo a norma ISO 10.993-5 [231] utilizando-se controles negativo e positivo. O controle negativo deve ser um material que não produz resposta citotóxica, sendo utilizado nesse trabalho o próprio meio de cultura celular ou um padrão biocompatível de polietileno de elevada massa molar (UHWPE). Como controle positivo utilizou-se o fenol na concentração de 0,02% (m/m), um material que causa resposta citotóxica reprodutível.

A avaliação da viabilidade celular pôde ser evidenciada com auxílio de corantes vitais. No presente trabalho a viabilidade celular após a exposição das células CHO ao DDM foi medida após incubação dos extratos dos DDM com corante vital MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-y)5- (3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil-2H-tetrazolio) e como reagente acoplador de elétrons o metassulfato de fenazina (PMS) na razão molar 20:1, e incubado

por 2 horas. Após o último período de incubação, a placa foi levada a uma leitora ELISA (espectrofotômetro para placas de 96 poços) com filtro de 490 nm para leitura das densidades ópticas [232]. A indução da toxicidade pela amostra avaliada é medida em uma faixa de concentrações específica do biomaterial e a concentração que produz uma redução em 50% da absorção de MTS foi considerada como o parâmetro de toxicidade. O índice de Citotoxicidade (IC50% - concentração de extrato que inibe a formação de 50% das colônias em relação ao controle) foi estimado, ajustando modelos matemáticos às curvas construídas a partir da porcentagem de colônias formadas em relação ao controle, versus a concentração do extrato expressa em porcentagem [232]. O ensaio de citotoxicidade dos DDM foi realizado em colaboração com o Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo (IPEN/USP) e está detalhado em [232].

A Figura 89 mostra o ensaio de citotoxicidade do DDM contra as células CHO. Observa-se que o DDM apresenta boas características de biocompatibilidade com células de mamíferos, o que pode contribuir para a preservação das células saudáveis quando da sua aplicação como agente teranóstico no tratamento de câncer. Essa observação abre caminho para uma abordagem contemporânea no tratamento do câncer: o desenvolvimento dos chamados fármacos furtivos, que atacam o tumor sem afetar células saudáveis e não ativam o sistema imunológico do paciente. É bem conhecido que tais fármacos são direcionados a uma determinada mutação e, em vez de inibir indiscriminadamente as células que estão proliferando, inibem somente as células cancerosas.

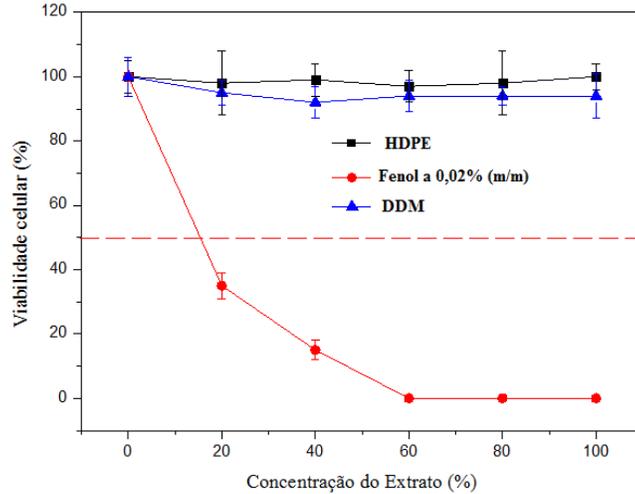


Figura 89- Ensaio de citotoxicidade de DDM contra células de mamíferos (CHO). O material utilizado como controle positivo, solução de fenol a 0,02%, apresentou atividade citotóxica extremamente elevada, como já era esperado. Por outro lado, a utilização do polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) demonstrou ser um material não citotóxico, o que justifica sua utilização como controle negativo. As amostras de DDM mostraram comportamento semelhante ao controle negativo (polietileno), com viabilidade celular superior a 90%, indicando possuir boas propriedades biocompatíveis para utilização na medicina teranóstica.

A Figura 90 mostra o perfil de liberação do CXB dos DDM. Em tampão fosfato pH 7,4 e temperatura de 37 °C, o DDM apresentou um percentual de liberação de 20-30% no período de 06-12 horas de ensaio. Esse retardo na velocidade de liberação do CXB pode ser atribuído ao enrijecimento da membrana lipídica pela solução de sulfato de amônio em sacarose, como citado anteriormente. Tal fato é comprovado pela não exposição do DDM à solução de solução de sulfato de amônio em sacarose. Conforme pode ser notado (Fig. 39B), a liberação do CXB mostra-se acelerada com liberação de cerca de 87% de CXB nas duas primeiras horas de ensaio na solução fisiológica a 37 °C.

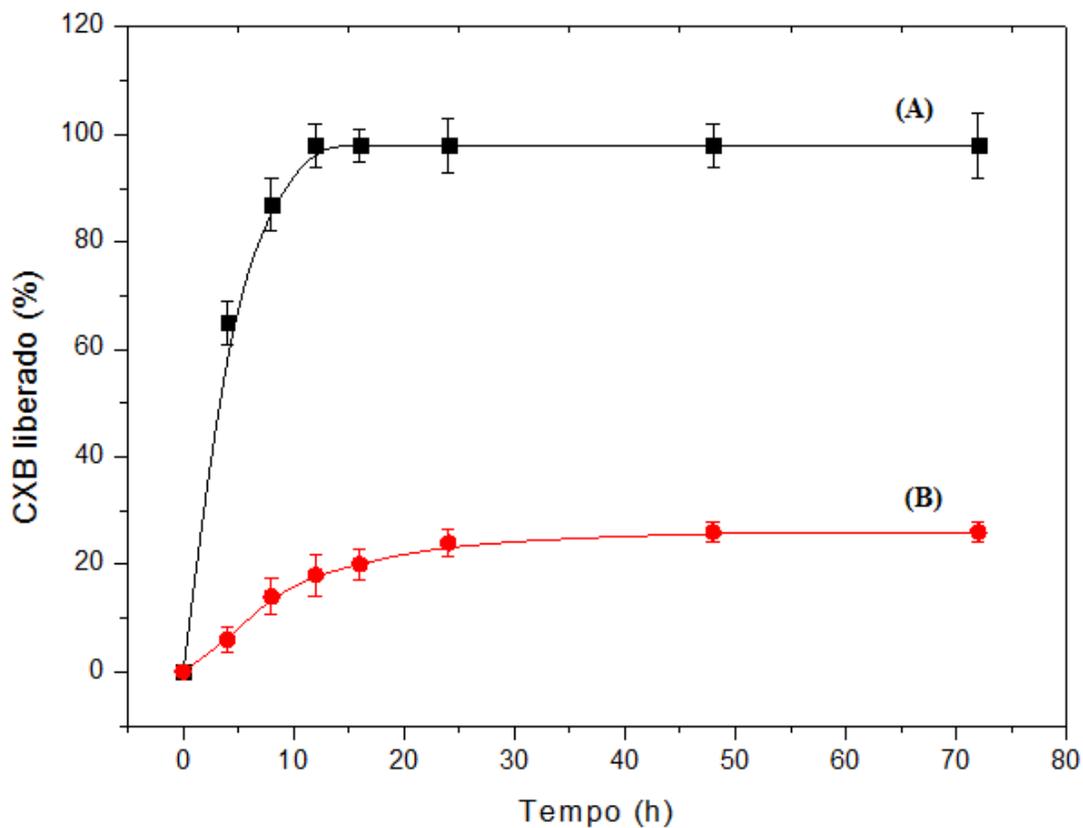


Figura 90- Liberação in-vitro de CXB de DDM sem enrijecimento da lamela lipídica (A) e com enrijecimento da lamela lipídica (B). Os ensaios foram efetuados em solução tampão PBS, pH 7,4 a 37 °C. Os pontos no gráfico representam a média (n) \pm desvio padrão. Nos experimentos n=3.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1. Conclusões

A síntese, caracterização e o estudo das propriedades biológicas de DDM foram realizadas com o objetivo de avaliar a sua aplicabilidade na medicina teranóstica. Com base nos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- (1) A utilização do poliglicerol arborescente de geração 4 (PGA_{g4}) para a produção *in-situ* de nanopartículas, provou ser um método rápido e eficaz para a obtenção de cerâmicas do tipo YFeAl.
- (2) O sistema ternário $\text{Al}(\text{acac})_3\text{-Fe}(\text{acac})_3\text{-Y}(\text{acac})_3$ forma uma mistura eutética com ponto de fusão de aproximadamente 163 °C, significativamente inferior ao ponto de fusão dos organometálicos puros. O ponto eutético contribui para a obtenção das nanoestruturas superparamagnéticas de YFeAl.
- (3) A cinética de obtenção de nanopartículas de YFeAl foi estudado segundo os modelos propostos de Ozawa e Kissinger. Ambos os modelos indicaram que o PGA apresenta estabilidade térmica suficiente para a síntese das nanopartículas de YFeAl.
- (4) As micrografias MEV evidenciaram que as rampas de aquecimento a 5 °C.min⁻¹ e 10 °C.min⁻¹ proporcionam a obtenção de nanopartículas do híbrido PGA-YFeAl com morfologia esférica com distribuição de tamanho médio entre 50 e 70 nm.
- (5) A espectroscopia EDS evidenciou uma distribuição homogênea dos elementos Y, Fe e Al no híbrido YFeAl.
- (6) A espectroscopia FTIR confirmou a presença de PGA na superfície das nanopartículas de YFeAl.

(7) Os resultados da espectroscopia Mössbauer permitem inferir que o sistema PGA-YFeAl possui dimensões manométricas e apresenta elevada fração de nanopartículas superparamagnéticas.

(8) A imagem infravermelha das nanopartículas excitadas por campo magnético oscilante indicam que os DDM's possuem características térmicas promissoras para aplicação na hipertermia magnética.

(9) Os ensaios de biocompatibilidade indicam que o DDM possui propriedades de citotoxicidade adequadas para utilização *in-vivo*.

(9) A microscopia de fluorescência indicou que os DDM's podem ser utilizados com sucesso como biomarcadores fluorescentes.

(10) O perfil de liberação do CXB dos DDM's pode ser controlado através do enrijecimento das lamelas do dendrissoma. A lamela enrijecida por solução de sulfato de amônio em sacarose mostrou-se adequada para atuar como sistema furtivo no tratamento do cancer.

(11) Diante dos resultados obtidos, pode ser inferido que os DDM's obtidos podem ser considerados como um sistema modelo com potencial aplicação na medicina teranóstica.

7.2. Perspectivas Futuras

Com o objetivo de se aprimorar os estudos para utilização dos DDM's na medicina teranóstica utilizando hipertermia magnética e liberação de quimioterápico simultaneamente, faz-se necessário aprofundar os conhecimentos sobre o processo de síntese e seu comportamento em condições *in vitro* e *in vivo*. Espera-se que esta Tese forneça as ferramentas iniciais para o desenvolvimento de DDM's versáteis quanto á sua atuação na medicina teranóstica. Sendo assim, as perspectivas futuras desse trabalho são:

- i) Aperfeiçoar e padronizar as condições enrijecimento da lamela lipossômica de forma a se obter formulações DDS de comportamento furtivo modulável;
- ii) Investigar o papel da sacarose e frutose no processo de enrijecimento das lamelas lipossômicas;

- iii) Escalonar a síntese de DDM's em escala semi-industrial estudando-se as variáveis de processo;
- iv) Estudar a internalização dos DDM's por diferentes linhagens celulares de câncer: pulmão, fígado, cabeça e pescoço e ossos.
- v) Estabelecer protocolos de estudo dos difratogramas de raios X a fim de se obter dados precisos a respeito da estrutura cristalina das nanopartículas de YFeAl.
- vi) Estender o estudo da espectroscopia Mossbauer para ferritas com diferentes composições em Y e Al.
- vii) Analisar de forma mais completa o comportamento biocompatível *in vitro* dos DDMs, com o objetivo de se investigar a biocompatibilidade e sua biodegradabilidade em outras culturas celulares;
- viii) Avaliar de modo mais completo a eficácia *in vitro e in vivo* das nanopartículas DDM através de testes de hipertermia e liberação de CXB utilizando modelo de experimentação animal.
- ix) Funcionalizar o DDM com ácido fólico e estudar sua interação com linhagens celulares neoplásicas.
- x) Analisar o comportamento do DDM quanto à sua propriedade marcadora tumoral fluorescente utilizando a microscopia confocal.
- xi) Estudar o tempo de prateleira dos DDMs em diferentes condições de temperatura.
- xii) Estudar especificamente a interação entre os DDM e o sistema imunológico em modelo animal de experimentação.
- xiii) Avaliar a eficiência das terapias quimioterapia por CXB e hipertermia magnética combinadas em modelo de experimentação animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Magnitude do câncer no Brasil: incidência, mortalidade e tendência. Informativo Vigilância do Câncer, n. 3, mai./jul. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=2>, 2016.

[2] NATIONAL SCIENCE FOUNDATION, Nanotechnology definition. Acessível em: https://www.nsf.gov/crssprgm/nano/reports/omb_nifty50.jsp.

[3] BRITISH STANDARDS, Terminology for nanomaterials – PAS 136:2007. Acessível em: <http://shop.bsigroup.com/upload/Shop/Download/Nano/PAS136.pdf>

[4] OVERGAARD, J.; The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy. Intern J Rad Onc Biol Phys; 6: 535-49, 1989.

[5] TARTAJ, P.; MORALES M.P., The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. Veintemillas-Verdaguer S, Gonzales-Carreño T, Serna JC. J Phys D: Appl Phys; 36: R182-7, 2003.

[6] MAEDA H, BHARATE GY, DARUWALLA J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect, Eur J Pharm Biopharm. Vol. 71(3): 409-19, 2009.

[7] POPOV, J., KAPANEN, A.I., TURNER, C.G.N.R. *et al.* Multivalent rituximab lipid nanoparticles as improved lymphoma therapies: indirect mechanisms of action and in vivo activity. Nanomedicine 6(9): 1575-91. 2011.

- [8] WARNER S. Diagnostics plus therapy = theranostics. *Scientist*, Vol. 18: 38-39, 2004.
- [9] <https://clinicaltrials.gov/> Acesso em Agosto de 2016.
- [10] FRANTIESCOLI A. D., ROSSANA B., FRIEDRICH, R. C. R., SILVIA S. G., POHLMANN A. R. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos, *Quim. Nova*, Vol. 36, No. 10, 1520-1526, 2013.
- [11] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional, volume IV. Rio de Janeiro: INCA, 2016.
- [12] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Perfil da morbimortalidade brasileira do câncer da mama. Informativo vigilância do câncer, n. 2, jan./abr. 2016.
- [13] LODHIA, J., MANDARANO, G., FERRIS, N. J., COWELL, S. F.; Development and use of iron oxide nanoparticles (part 1): Synthesis of iron oxide nanoparticles for MRI. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*, 6(2): 1-11, 2010.
- [14] GUPTA, A. K.; GUPTA, M.; Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26, 3995-4021, 2005.
- [15] MAHMOUDI, M., SANT, S., WANG, B., LAURENT, S.; SEN, T.; Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *Advances Drug Delivery Reviews*, 63, 24-46, 2011.
- [16] SUN, C; LEE, J. H.; ZHANG, M.; Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 1252-1265, 2008.

- [17] TARTAJ, P.; MORALES, M. P.; Verdaguer, S. V.; Carreño, T. G.; Serna, C. J.; The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36, 182-197, 2003.
- [18] LIN, M. M.; KIM, D. K.; HAJ, A. J. E.; DOBSON, J.; Development of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONS) for translation clinical applications. *IEEE Transactions on nanobioscience*, 7, 298-305, 2008.
- [19] GELFAND, J., DINARELLO C.A. Fever and hyperthermia. In: Fauci, Braunwald and all, editors. *Harrison's. Principles of internal medicine*. Mc. Graw Hill, 14th edition: 84-89. 1999.
- [20] DOS PASSOS, E.D. Síntese e caracterização de nanoesferas magnéticas para utilização em hipertermia. Dissertação: Mestrado em Materiais Para Engenharia - Universidade Federal de Itajubá, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, 97 pp. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2012.
- [21] CASTRO, V. F., Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magneto-hipertermia. *Revista Brasileira de Física Médica (RBFM)*. pp. 79-82. 2010.
- [22] TEXTBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY. Body temperature, temperature regulation, and fever .W.B. Saunders Company, 9th edition: 822-833. In: Guyton, editor, 1989.
- [23] PROBST, C. E.; ZRAZHEVSKIY, P.; BAGALKOT, V.; GAO, X. H.; *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65, 703, 2005.
- [24] SILVA DA CONCEICAO, D. Análise computacional da distribuição do campo de temperatura na região cervical ao redor da tireoide com e sem a presença de um tumor/ Daniel Silva da Conceição. – Rio de Janeiro: UFRJ/ Escola Politécnica, 2014.)

- [25] DREXLER K. E., PETERSON C., PERGAMIT G. Unbounding the future: the nanotechnology revolution. William Morrow and Company, Inc.: New Yorkm 1991.
- [26] JAIN, KK. The Handbook of Nanomedicine. Humana Press; Totowa, p.353, 2008.
- [27] ANDREAS, K.; GEORGIEVA, R.; LADWIG, M.; MUELLER, S.; NOTTER, M.. Highly efficient magnetic stem cell labeling with citrate-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for MRI tracking. *Biomaterials*, 33, 4515, 2012.
- [28] GONZÁLEZ Garcia ; Leyva M. E. ; De Queiroz A.A.A. Higa O.Z. Epoxy Networks for Medicine Applications: Mechanical Properties and In vitro Biological Properties. *Journal of Applied Polymer Science (Online)*, v. 112, p. 1215, 2009.
- [29] IGLESIAS, O., LABARTA, A.. Finite-size and surface effects in maghemite nanoparticles: Monte Carlo simulations. *Phys. Rev. B*, 63:184416–11, 2001.
- [30] SHI, D. “Introduction to Biomaterials”. Tsinghua University Press, World Scientific. p – 123. 2006.
- [31] HARVEY, G., TOBOCHNIK, J.. Statistical and Thermal Physics. Princeton University Press e <http://www.compadre.org/stp> (Statistical and Thermodynamic Project, apoiado pela National Science Foundations – EUA), 2010.
- [32] COEY, J.M.D. Materials Iron Permanent Magnets. [S.I.]: Clarendon Press, 1996.
- [33] CULLITY, B.D.. Introduction to Magnetic Materials. Addison-Wesley, Reading, 1972.
- [34] , GUIMARAES, A.P.. Magnetism and Magnetic Resonance in Solids. John Wiley & Sons, Nova York, 1998.

- [35] GIVORD, D., ROSSIGNOL, M.F.. Coercivity. In J.M.D. Coey, editor, Rare-earth Iron Permanent Magnets. Clarendon Press, Oxford, 1996.
- [36] WERNSDORFER, W. . Molecular nanomagnets. In D. Sellmyer e R. Skomski, editores, Advanced Magnetic Nanostructures, páginas 147–181. Springer, Nova York, 2005.
- [37] LUBORSKY, F.E.. High coercive materials. J. Appl. Phys., 32:171S–183S, 1961.
- [38] GOYA, G.F., FONSECA, F.C., MORALES, M.P.. Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite particles. J. Appl. Phys., 94:3520–3528, 2003.
- [39] BATLLE, X., LABARTA, A.. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties. J. Phys. D: Appl. Phys., 35:R15–R42, 2002.
- [40] DENNIS, C.L., BORGES, R.P., BUDA, L.D., EBELS, U., *et al.* The defining length scales of nanomagnetism: a review. J. Phys. Condens. Matter, 14:R1175–R1262, 2002.
- [41] GORHAM, N.T., WOODWARD, R.C., PIERRE, T.G, TERRIS, B.D., SUN, S. Apparent magnetic energy-barrier distribution in FePt nanoparticles. J. Magn. Magn. Mat., 295:174–176, 2005.
- [42] STONER, E.C., WOHLFARTH, E.P.. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys. Phil. Trans. Roy. Soc., A240:599–642, 1948. Reprinted in IEEE Trans. Magnetics 27 (1991) 3475, 1991.
- [43] THIRION, C., WENSDORFER, W. , JAMET, M., DUPUIS, V., M'ELINON, P. *et al.* Micro-SQUID technique for studying the temperature dependence of switching fields of single nanoparticles. J. Magn. Magn. Mat., 242-245:993–995, 2002.

- [44] KODAMA, R.H.. Magnetic nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mat.*, 200:359–372, 1999.
- [45] GRADMANN, U. Magnetism in ultrathin transition metal films. In K.H.J. Buschow, editor, *Handbook of Magnetic Materials*, páginas 1–96. North Holland, Amsterdã, 1993.
- [46] THAMM, S., HESSE, J.. A simple plot indicating interactions between single-domain particles. *J. Magn. Magn. Mat.*, 154:254–262, 1996.
- [47] ALLIA, P., COISSON, M., TIBERTO, P., VINAI, F., KNOBEL, M., NOVAK, M.A., NUNES, W.C. Granular Cu-Co alloys as interacting superparamagnets. *Phys. Rev. B*, 64:14420–12, 2001.
- [48] SHTRIKMAN, S., WOHLFARTH, E.P.. The theory of the Vogel-Fulcher law of spin glasses. *Phys. Lett.*, A85:467, 1981.
- [49] DORMANN, J.L., CHERKAOUI, R., SPINU, L., LUCARI, L., D’ORAZIO, F. . From pure superparamagnetic regime to glass collective state of magnetic moments in γ -Fe₂O₃ nanoparticle assemblies. *J. Magn. Magn. Mat.*, 187:L139–L144, 1998.
- [50] EL-HILO, M., CHANTRELL, R.W. , O’GRADY, K.. A model of interaction effects in granular magnetic solids. *J. Appl. Phys.*, 84:5114–5122, 1998.
- [51] KECHRAKOS, D., TROHIDOU, K.N.. Effects of dipolar interactions on the magnetic properties of granular solids. *J. Magn. Magn. Mat.*, 177:943–944, 1998.
- [52] FERREIRA, W.S., Estudo da estabilidade física de fluido magnético à base de copaíba com medidas opto-magnéticas. Orientador: Orientador: Prof.Dr. Judes Gonçalves dos Santos. Ji-Paraná, julho de 2010.

- [53] FRANKEL, J. The Kinetic Theory of liquids, Dover, New York ,1955.
- [54] NÉEL, L. Comp. Rend., 228, 664 (1949); Ann. Geophys.,5,99 ,1949.
- [55] FANNIN, P. C. and Charles, S. W. Phys. Appl. Phys., 22, 187, 1989.
- [56] SHINKAI M. Functional magnetic particles for medical application. Journal Bioscience Bioengineering, v.94, p. 606-613, 2002.
- [57] RANE, K. S., VERENKAR, V. M. S., SAWNAT, P. Y.. “Hidrazine method of synthesis of Fe₂O₃ useful in ferrites preparation”; Journal of Materials Science Materials Eletronics, Vol. 10, pp. 133-140, 1999.
- [58] KATO, Y.; TAKEI, T. Japan Patent, 98844, In: T, OHIAI, Current Status of Soft Ferrite in Japan. Journal Physical IV, France, 1997, Cl-27., 1997.
- [59] COLLEU, M. J.; MEXMAIN, J.. “Structure et aspect Physico-Chimique des ferrites”, L’Onde Électrique, Vol. 434, n. 5, 1963.
- [60] ASM Handbook. “Engineered Materials Handbook, Ceramics and Glasses”, Vol. 4, USA., 1991.
- [61] LEE, S. M.. “International Encyclopedia of Composites”, Ed. Wiley, 1991.
- [62] BIEKOWSKI, A.. Physique, Vol. 46, n. 9, pp. 433., 1985.
- [63] SHI, Y., DING, J., YIN, H..“Co₂Fe₄O nanoparticles prepared by thmechanochemical method”, Journal of Alloys and Compounds. Vol. 308, pp. 290-295., 2000.
- [64] VARGAS, J.M., LIMA, E., SOCOLOVSKY, L.M., KNOBEL, M., ZANCHET, D.. Annealing effects on 5 nm iron oxide nanoparticles. Journal of Nanscience and Nanotechnhnology 7, 3313-3317., 2007.

- [65] YANG, J.B., ZHOU, X.D., YELON, W.B., JAMES, W.J., CAI, Q.. Magnetic and Structural studies of the Verwey transition in Fe₃-delta O₄ nanoparticles. *Journal of Applied Physics* 95, 7540-7542, 2004.
- [66] DAOU, T.J., POURROY, G., BEGIN-COLIN, S., GRENECHE, J.M.. Hydrothermal synthesis of monodisperse magnetite nanoparticles. *Chemistry of Materials* 18, 4399-4404, 2006.
- [67] KIM, D.K., ZHANG, Y., VOIT, W., RAO, K.V.. Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 225, 30-36, 2001.
- [68] CORNELL, R.M. and SCHWERTMANN, U.. *The Iron Oxides*. Germany: Weinheim, 1996.
- [69] SMIT, J. and WIJN, H.P.J.. *Ferrites*. Philip's Technical Library, 1959.
- [70] McCURRIE, R.A.. *Ferromagnetic Materials*. Academic Press, 1994.
- [71] O'HANDLEY, R.. *Modern Magnetic Materials: Principles and Applications*. Wiley, 2001.
- [72] - GUPTA, A. K.; WELLS, S.; Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization and cytotoxicity studies. *IEEE Transactions on nanobioscience*, 3 (1): 66-73, Março 2004.
- [73] YUAN, Q.; VENKATASABRAMANIAN, R.; HEIN, S.; MISRA, R. D. K.; A stimulus-responsive magnetic nanoparticle drug carrier: magnetite encapsulated by chitosan-grafted-copolymer. *Acta Biomaterialia*, 4, 1024-1037, 2008.
- [74] WOO, K.; HANG, J. W.; Surface modification of hydrophobic iron oxide nanoparticles for clinical applications. *IEEE Trans. Magn.*, 41 (10): 4137-4139, Outubro 2005.

[75] ZHANG, W.; JIA, S.; WU, Q.; RAN, J.; LIU, Y.; HOU, J.; Studies of the magnetic field intensity on the synthesis of chitosan-coated magnetite nanocomposites by co-precipitation method. *Materials Science and Engineering C*, 32, 381-384, 2012.

[76] GUTIERREZ, L., COSTO, R., GRUTTNER, C., WESTPHAL, F. Synthesis methods to prepare single- and multi-core iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Dalton Transactions*, Vol. 44(7): 2943-2952, 2015.

[77] TONDRE, C. Em Dynamics of Surfactants Self-Assemblies: Micelles, Microemulsions, Vesicles and Lyotropic Phases; Zana, R., ed., CRC Press (Online), 2005. Capítulo 5.

[78] CARALE, M.T.R. Salt effects on micellization, micellar growth and phase behavior of aqueous solutions nonionic surfactants. Cambridge, p-189.. Massachusetts Institute of Technology, 1993.

[79] CHEVALIER, Y. and ZEMB, T. The structure of micells and microemulsions. *Reports on Progress in Physics*, v.53, p. 279-371, 1990.

[80] ARAKAWA, T. and TIMASHEFF, S.N., Theory of protein solubility. *Methods in Enzymology*, v.114, part A, p. 49-77, 1985.

[81] BLANKSCHTEIN, D., THURSTON, G.M., BENEDEK, G.B. Phenomenological theory of equilibrium thermodynamic properties and phase separation of micellar solutions. *Journal of Chemical Physics*, v. 85, p. 7268-7288, 1986.

[82] ROBINSON, I. J.; Taylor, J.; Todd, M.; Davies, M. J.; Borioni, E.; Sangregorio, C.; Sem, T.; *J. Magn. Mater.*, 284, 145, 2004.

- [83] JIN, L.; HORGAN, A.; LEVICKY, R.; *Langmuir* , 19 (17), pp 6968–6975, 2003.
- [84] ZHAO, J. F. G. A.; de Brabander-van den Berg, E. M. M. e Meijer, E. W.; *Science* 266, 1226, 1994.
- [85] TOMALIA, D. A.; NAYLOR, A. M.; GODDARD III, W. A.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 138, 1990.
- [86] NEWKOME, G., YAO, R., BAKER, G. R.; GUPTA, V. K.; *J. Org. Chem.* 1985, 50, 2003.
- [87] BO, Z. S.; ZHANG, X.; YI, X. B.; YANG, M. L. *Polymer Bull.* ,p- 38, 257., 1997.
- [88] FERNANDES, E.G.R. and QUEIROZ, A.A.A. A bioconjugated polyglycerol dendrimer with glucose sensing properties. *Journal of Materials Science. Materials in medicine*, v.20 n2, p. 473-479, 2009.
- [89] FRECHET, J.M.J. Designing dendrimers for drug delivery. *Phar ScItechnol. Today* V. p. 393-401, 2000.
- [90] TOMALIA, D.A., H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith *Polymer Journal*, vol. 17 - pp 117 – 132. Dendrimers conjugates for colonic delivery of 5-aminosalicylic acid, 1985.
- [91] BOAS, U. and HEEGAARRD, P.M. Dendrimers in drug research. *Chem Rev. Soc.*, v. 33, p. 43-63, 2004.
- [92] SVENSON, S. and TOMALIA, D.A. Dendrimers in biomedical applications – reflections on the field. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, p. 2016-2129, 2005.

[93] KLAJNERT, B. STANISLAWSKA, L. Interactions between PAMAM dendrimers and bovine serum albumin. *BBA-Proteins Proteomics* 1648: 115-126,2006.

[94] MAEDA, H. and MATSUMURA, Y. Tumoritropic and limphotropic principles of macromolecular drugs. *Critical reviews in therapeutic drug carrier system*, v. 6, p. 193-210, 1993.

[95] AIDA, T., MEIJER, W., STUPP, S.I. Functional Supramolecular Polymers. *Science*, v. 335, n. 6070, p. 813-817, 2012.

[96] BRAY, F., JEMAL, A., GREY, N., FERLAY, J., FORMAN, D. “Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study”. *The Lancet Oncology*, 13(8): 790-801, 2012.

[97] PNUD - Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. “Relatório do Desenvolvimento Humano 2013. A Ascensão do Sul: Progresso Humano num Mundo Diversificado”. Disponível na Internet via <http://www.un.cv/files/HDR2013%20Report%20Portuguese.pdf>. Capturado em 27 de Julho de 2014.

[98] GLOBOCAN 2012- “Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide 2012”. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Disponível na Internet via <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>. Acesso em 27 Julho 2014.

[99] O Globo-Saúde-27/07/2014. Extra - Notícias - Rio - 27/07/2014. “Falta de máquinas de radioterapia deixa mais de 18 mil pacientes com câncer sem tratamento no estado”. Disponível na Internet via <http://extra.globo.com/noticias/rio/falta-de-maquinas->

deradioterapia-deixa-mais-de-18-mil-pacientes-com-cancer-sem-tratamento-no-estado
13396204.html. Acesso em 27/07/2014.

[100] World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines. “Carcinoma hepatocellular (CHC): uma perspectiva mundial”. World Gastroenterology Organisation, 2009. Disponível na Internet via:

http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/pt/pdf/guidelines/24_hepatocellular_carcinoma_pt.pdf. Capturado em 27/07/2014.

[101] HOFFMAN, J.M., LI E., DOLORESCO, F., MATUSIAK, L., HUNKLER, R.J., SHAH, N.D.. Projecting future drug expenditures--2012. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 69(5):405-21, 2012.

[102] RAMSEY, S. D., BERRY, K., ETZIONI, R. “Lifetime cancer-attributable cost of care for long-term survivors of colorectal cancer.” *American Journal of Gastroenterology* 97 (2): 440-445, 2002.

[103] GRECU, D., CARSTEA, A.S., GRECU, A.T., VISINESCU, A. Mathematical modelling of tumor growth. *Romanian Reports in Physics*, 59 (2): 447–455, 2007.

[104] CHAPLAIN, M., ANDERSON, A.: Mathematical modelling of tumour-induced angiogenesis: network growth and structure. *Cancer Treatment Research*, 117: 51–75, 2004.

[105] BROWN, M. L., RILEY, G. F., SCHUSSLER, N., ETZIONI, R. “Estimating health care costs related to cancer treatment from SEER-Medicare data.” *Med Care* 40(8): IV-104-17, Suppl 2002.

[106] CARVALHO, J.A.M., GARCIA, R.A. O envelhecimento da população brasileira: um enfoque demográfico. *Cadernos de Saúde Pública* (Rio de Janeiro), 19(3): 725-733, 2003.

[107] CHRISTENSEN, K., JOHNSON, T.E., VAUPEL, J.W. The quest for genetic determinants of human longevity: challenges insights. *Nature Reviews – Genetics*, 7: 436-448, 2006.

[108] TCHKONIA, T., ZHU, Y., VAN DEURSEN, J., CAMPISI, J., KIRKALND, J.L. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *The Journal of Clinical Investigation*, 123 (3), 966-972, 2013.

[109] TOSATO, M., ZAMBONI, V., FERRINI, A., CESARINI, M. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Journal of Clinical Interventions in Aging* 2(3): 401-412. 2007.

[110] CUMMINGS, S.R. The biology of aging. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 7(4): 340-341, 2007.

[111] FRANTZ, S. “2004 approvals: the demise of the blockbuster?” *Nature Reviews Drug Discovery*, 4: 93-98, 2005.

[112] FRANTZ, S. Pipeline problems are increasing the urge to merge. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5: 977-979, 2006.

[113] OWENS, J. Drug approvals: finding the niche. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6:99-101, 2007.

[114] Palmeira Filho PL., Pan S.S.K. “Cadeia farmacêutica no Brasil: avaliação preliminar e perspectivas”. BNDES Setorial, 18: 3-22, 2003.

[115] QUEIROZ, S.R.R., GONZÁLES, A.J.V. Mudanças recentes na estrutura produtiva da indústria farmacêutica. In: Negri B. Di Giovanni G. (Org.). Brasil: radiografia da saúde. Campinas: Instituto de Economia/Universidade Estadual de Campinas (IE/Unicamp), pp.123-156, 2001.

[116] VENKATESH, S., LIPPER, R.A. “Role of the development scientist in compound lead selection and optimization”. Journal of Pharmaceutical Sciences, 89(2):145-154, 2000.

[117] Morgan G., Wardy R., Barton M. “The contribution of cytotoxic chemotherapy to 5-year survival in adult malignancies”. Clinical Oncology, 16: 549-560, 2004.

[118] PEER, D., KARP, J.M., HONG, S., FAROKHZAD, O.C., MARGALIT, R., LANGER, R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. Nature Nanotechnology, 2: 751-760, 2007.

[119] KIM S., SHI Y., KIM J.Y., PARK K., CHENG, J-X. “Overcoming the barriers in micellar drug delivery: loading efficiency, in vivo stability, and micelle–cell interaction”. Expert Opinion in Drug Delivery, 7(1), 49-62, 2010.

[120] DE QUEIROZ, A.A.A. “Dendrímeros biofuncionais hemocompatíveis”. Processo: 308817/2005-2. Relatório Final de Projeto de Produtividade em Pesquisa, CNPq, Março de 2008.

[121] DE QUEIROZ, A.A.A. “Dendrímeros como nanoplataformas para o tratamento e diagnóstico do câncer”. Processo Nº: 302259/2008-2, Relatório final de projeto de Produtividade em Pesquisa, CNPq, Abril de 2012.

[122] DE QUEIROZ, A.A.A. “Dendrímeros multibiofuncionais para utilização em magnetotermocitólise”. Processo Nº: 302985/2011-5, Bolsa de Produtividade em Pesquisa, CNPq. Início: Março de 2012.

[123] “Protein innovations, Advance drug Treatments, Skin care”. NASA Technology. Disponível na Internet via http://spinoff.nasa.gov/Spinoff2011/hm_4.html. Capturado em 27 de Julho de 2014.

[124] FASANO, M., CURRY, S., TERRENO, E., GALLIANO, M., FANALI, G.. “The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin”. *Life*, 57(12): 787 – 796, 2005.

[125] YANG, F., ZHANG, Y., LIANG, H. “Interactive association of drugs binding to human serum albumin”. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 3580-3595, 2014.

[126] ARRUEBO, M., FERNÁNDEZ-PACHECO, R., IBARRA, M.R., Santamaría J. “Magnetic nanoparticles for drug delivery”. *Nanotoday*, 2(3): 22-32, 2007.

[127] BINNEMANS, K. Rare-earth beta-diketonates. In: K.A. Gschneidner Jr., J.-C.G. Bünzli, V.K. Pecharsky, Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. New York (EUA), Elsevier B.V. Cap. 225, DOI: 10.1016/S0168-1273(05)35003-3. 2005.
Acessível em: <https://lirias.kuleuven.be/bitstream/123456789/58314/2/hpre-05-ch225-diketonates.pdf>

[128] http://www.molbase.com/en/hnmr_13963-57-0-moldata-41608.html#tabs. Acesso em julho de 2016.

[129] SABOLOVIC, J., MRAK, Z., KOSTRUN, S., JANEKOVIC, A.. Is the enthalpy of fusion of tris(acetylacetonato)metal(III) complexes affected by their potential energy in the crystal state?, *Inorg Chem.* Dec 27;43(26):8479-89, 2004.

[130] KLASS, T., STEPHEN, L., COOK, M., SPEE, C.. Volatile organic compounds and methods for the preparation of lanthanide-containing layered materials form these compounds. US Patent 5.837.321, 1998.

[131] CARNEIRO, T. M.. Poliéteres Arborescentes Oticamente Ativas para a Terapia Fotodinâmica. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2014.

[132] MILITAO, L.V.. Análise físico-química e fotodinâmica de clorofila em dendrímeros de poliglicerol. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2013.

[133] DA SILVA, A.R.P.. Estudo das Propriedades Bioquímicas do Sistema Arborescente PGLD-AAS para o tratamento do Câncer. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2008.

[134] LEITE, J.F.. Propriedades Hemocompatíveis do Dendrímero Bioativo de Poliglicerol Conjugado com Estreptoquinase. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2008.

[135] CARNEIRO, T.M.. Poliéteres Arborescentes Oticamente Ativas para a Terapia Fotodinâmica. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade

Federal de Itajubá, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2014.

[136] NEISES, B. e STEGLICH, W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 17, n. 7, p. 522–524, doi:10.1002/anie.197805221, 1978.

[137] SAHA, R.N., SAJEEV, C, JADHAV, P.R., PATIL, S.P.. Biomed Anal Determination of celecoxib in pharmaceutical formulations using UV spectrophotometry and liquid chromatography; 28: 741-751, 2002.

[138] NEISES, B., STEGLICH, W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 17, n. 7, p. 522–524, doi:10.1002/anie.197805221, 1978.

[139] CHOI, S.W., CHEONG, I. W., KIM, J.H., XIA, Y.. “Preparation of uniform microspheres using a simple fluidic device and their crystallization into close-packed lattices.” *Small* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), vol. 5, no. 4, pp. 454-9, Apr. 2009.

[140] WANG, X., WANG, L., LIM II, BAO, K, MOTT, D., PARK, H.Y., LUO, J., HAO, S., ZHONG, C.J. , Characterization and potential application of MnZn ferrite and MnZn ferrite @ Au nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*. Vol. 9(5): 3005-12, 2009.

[141] COLOMBO, M., ROMERO-CARREGAL, S., CASULA, M.F., GUITIERREZ, L., MORALES, M.P. *et al*, Biological applications of magnetic nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* Vol. 41: 4306–4334, 2012.

- [142] PARK, J., LEE, E., HWANG, N.M., KANG, M., KIM, S.C., *et al*, One-nanometer-scale size-controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.* Vol. 44: 2872–2877, 2005.
- [143] MASCOLO, M.C., YONGBING, P., RING, T. A.. Room temperature coprecipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases. *Materials*, Vol. 6: 5549-5567, 2013.
- [144] VESTAL, C.R., ZHANG, Z.J.. Synthesis of CoCrFeO₄ nanoparticles using microemulsion methods and size-dependent studies of their magnetic properties. *Chem. Matter.*, Vol. 14: 3817–3822, 2002.
- [145] GE, S., SHI, X., SUN, K., LI, C., UHER, C., BAKER, J.R. *et al*, Facile hydrothermal synthesis of iron oxide nanoparticles with tunable magnetic properties. *J. Phys. Chem.*, Vol. 113: 13593–13599, 2009.
- [146] ROCA, A.G., MORALES, M.P., SERNA, C.J.. Synthesis of monodispersed magnetite particles from different organometallic precursors. *IEEE Trans. Magn.* Vol. 42: 3025–3029, 2006.
- [147] LAMER, V. K.; DINEGAR, R. J. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 72, 4847-4854, 1950.
- [148] LAME, V. K.; Nucleation in phase transitions. *Ind. Eng. Chem.* Vol. 44, 1270-1277, 1952.
- [149] TARTAJ, P., MORALES, M.P., Veintemillas-Verdaguer S., González-Carreño T., Serna C.J. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Appl. Phys. D: Applied Physics*, V. 36: R182-R197, 2003.

[150] YUGANG, S. Controlled synthesis of colloidal silver nanoparticles in organic solutions: empirical rules for nucleation engineering, *Chem. Soc. Rev.*, Vol. 42, 2497-2511, 2013.

[151] IONASHIRO, M., GIOLITO, A. Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/ Calorimetria Exploratória Diferencial. Araraquara (SP), Ed. Giz. Acessível em <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/ESPEC/livro%20-analise-termica-thermal-analysis-Giolito.pdf>. 2004.

[152] LACEY, A.A., NIKOLOPOULOS, C., READING, M. Reading. A mathematical model for modulated differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal.*, Vol. 50: 279-333, 1997.

[153] MARTI, E.. Thermal analysis, calorimetry and chemical thermodynamics —a review, *Thermochimica Acta*, Vol. 1: 1-10, 1977.

[154] PAL, B., SHARON, M.. Preparation of iron oxide thin film by metal organic deposition from Fe(III)-acetylacetonate: a study of photocatalytic properties. *Thin Solid Films*, Vol. 379(1):83–88, 2000.

[155] NIROJ, K.S., PRAKASH, A., BAHADUR, D.. Role of different platinum precursors on the formation and reaction mechanism of FePt nanoparticles and their electrocatalytic performance towards methanol oxidation. *Dalton Trans.*, Vol. 43, 4892-4900, 2014.

[156] SONG, Q., DING, Y., ZHONG, L.W., JOHN, Z.Z.. Tuning the thermal stability of molecular precursors for the nonhydrolytic synthesis of magnetic MnFe_2O_4 spinel nanocrystals. *Chem. Mater.*, Vol. 19 (19), pp 4633–4638, 2007.

[157] GUPTA, R.K., SINGH, S.K., SINGH, R.A. Some physicochemical studies on organic eutectics. *Journal of Crystal Growth*, Vol. 300: 415-420, 2007.

- [158] WILMS, D., STIRIBA, S.E., FREY, H.. Hyperbranched polyglycerols: from the controlled synthesis of biocompatible polyether polyols to multipurpose applications. *Accounts of Chemical Research*, Vol. 43: 129-141, 2010.
- [159] RUBAHN, H.-G.. Nanotechnology. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. New York (EUA), Wiley-VCH. 637-655, 2009.
- [160] KINGE, S., CALAMA, M.C., REINHOUDT, D.N.. Self-Assembling Nanoparticles at Surfaces and Interfaces, *Chem. Phys. Chem.* Volume 9: 20-42, 2008.
- [161] FELDMANN, C., GOESMANN, H.. Nanoparticulate functional materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* Vol. 49, 1362-1395, 2010.
- [162] ASTM E698 – 16- Standard test method for kinetic parameters for thermally unstable materials using differential scanning calorimetry and the Flynn/Wall/Ozawa method.
- [163] KISSINGER H.E., Reaction kinetics in differential thermal analysis, *Analytical Chemistry*, 29: 1702–1706, 1957.
- [164] OZAWA T., A new method of analyzing thermogravimetric data, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 38:11, 1881-1886, 1965.
- [165] ZHANG, B. et al. The steric effect of aromatic pendant groups and electrical bistability in π -stacked polymers for memory devices. *Physical chemistry chemical physics* : PCCP, v. 14, n. 13, p. 4640–50, doi:10.1039/c2cp23953a, 2012.
- [166] MUKHOPADHYAY, A., JOSHI, N., CHATTOPADHYAY, K.,GOUTAM, A. A Facile Synthesis of PEG-Coated Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles and Their Prevention of

the Reduction of Cytochrome C, ACS Appl. Mater. Interfaces, Vol. 4 (1), pp. 142–149, 2012.

[167] DE BROGLIE, L.. The wave nature of the electrons. Nobel Lecture, December 12, 1929. Acessível em:
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1929/broglie-lecture.pdf.

[168] RUSKA, E.. The development of the electron microscopy. Nobel lecture, December 8, 1986. Acessível em:
https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/ruska-lecture.pdf.

[169] EGERTON, R.F.. Physical principles of electron microscopy: An introduction to TEM, SEM, and AEM. New York (EUA), Springer, 2005.

[170] ZHANG, W., SHEN, F., HONG, R.. Solvothermal synthesis of magnetic Fe₃O₄ microparticles via self-assembly of Fe₃O₄ nanoparticles. Particuology, Vol.9: 179-186, 2011.

[171] VIAU, G., FIEVET-VINCENT, F.. Nucleation and growth of bimetallic CoNi and FeNi monodisperse particles in polyols. Solid State Ionics, Vol. 84: 259-270, 1996.

[172] DEDAVID, B.A., GOMES, C.I., MACHADO, G.. Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre (RS), EDIPUCRS, 2007.

[173] GUBIN, S.P., KOKSHAROV, Y.A., KHOMUTOV, G.B., YURKOV, G.Y. Magnetic nanoparticles: Preparation, structure and properties. Russ. Chem. Rev. Vol. 74: 489–520, 2005.

[174] TRAN, L.D.; HOANG, N.M.T.; MAI, T.T.; TRAN, H.V.; NGUYEN, N.T.; TRAN, T.D.; DO, M.H.. *et al.* Nanosized magnetofluorescent Fe₃O₄-curcumin conjugate for multimodal monitoring and drug targeting. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 371, 104–112, 2006.

[175] FAN, C.; GAO, W.; CHEN, Z.; FAN, H.; LI, M.; DENG, F.; CHEN, Z. Tumor selectivity of stealth multi-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 404: 180-190, 2011.

[176] SCHWEIGER, C.; PIETZONKA, C.; HEVERHAGEN, J.; KISSEL, T. Novel magnetic iron oxide nanoparticles coated with poly(ethylene imine)-g-poly(ethylene glycol) for potential biomedical application: synthesis, stability, cytotoxicity and MR imaging. *International Journal of Pharmaceutics* Vol. 408: 130-137, 2010.

[177] DE QUEIROZ, A.A.A., ABRAHAM, G.A., CAMILO, M.A.P., HIGA, O.Z. FERNANDEZ, M. DEL MAR; ROMAN, J.S.. Physicochemical and antimicrobial properties of boron-complexed polyglycerol-chitosan dendrimers. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, Vol. 17: 689-707, 2006.

[178] DE QUEIROZ, A.A.A.; FERNANDES, E.G.R., ABRAHAM, G.A., ROMAN, J.S. Antithrombogenic properties of bioconjugate streptokinase-polyglycerol dendrimers. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, Vol.: 17, 105-111, 2006.

[179] DE QUEIROZ, A.A.A., HIGA, O.Z., FARIA, H.A.M. Polyglycerol dendrimers immobilized on radiation grafted poly-HEMA hydrogels: Surface chemistry characterization and cell adhesion. *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 98: 118-123, 2014.

- [180] DE QUEIROZ, A.A.A.; BARACHO, N.C.V.; VARGAS, E.ATT., BRITO, J.. Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Acta Biomaterialia*, Vol. 6: 1069-1078, 2010.
- [181] STUART, B. Infrared spectroscopy: fundamentals and applications. Acessível em :file:///C:/Users/Alvaro/Downloads/Infrared_Spectroscopy__Fundamentals_and_Applications%20(1).pdf.
- [182] BURKE, T., IR Spectroscopy or hooke's law at the molecular level - A joint freshman physics-chemistry experience, *J. Chem. Educ.*, Vol. 74: 1213-1218, 1997.
- [183] MORSE, P. M., Diatomic molecules according to the wave mechanics. II. Vibrational levels, *Phys. Rev.* Vol. 34: 57-64, 1929.
- [184] JAGGI, N., VIJ, D.R. Fourier transform infrared spectroscopy. In: *Handbook of Applied Solid State Spectroscopy*, New York (EUA), Srpinger. pp. 411-450, 2006.
- [185] MING, M., YU, Z., WEI, Y., HAO-YING, S., HAI-QIAN, Z., NING, G.. Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* Vol. 212: 219-226, 2003.
- [186] REYES, J.M., BERNI, M. P. R., ISLAS, C.Z., ARRIAGA, W.C., *et al.* Chemical and morphological characteristics of ALD Al₂O₃ thin-film surfaces after immersion in pH buffer solutions, *Journal of The Electrochemical Society*, Vol. 160: B201-B206, 2013.
- [187] CARNEIRO, T.M.C.. Poliéteres Arborescentes Oticamente Ativas para a Terapia Fotodinâmica. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2014.

- [188] ESTELRICH, J., ESCRIBANO, E., QUERALT, J., BUSQUETS, M.A.. Iron oxide nanoparticles for magnetically-guided and magnetically-responsive drug delivery, *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 16: 8070-8101, 2015.
- [189] FONER, S.. The Vibrating Sample Magnetometer - Experiences of a Volunteer, *J. Appl. Phys.* Vol. 79, 4740-4745, 1996.
- [190] FLANDERS, P.J., JR, C.D.G., DC and low-frequence magnetic measure techniques, *Rep. Prog. Phys.* Vol. 56: 431- 492, 1993.
- [191] ARATI, G.K., JAMISON, A.C., LITNINOV, D., WILLSON, R.C.,LEE, T.R., Tuning the magnetic properties of nanoparticles, *Int J Mol Sci*, Vol. 14: 15977-16009, . 2013.
- [192] PANKHURST, Q.A., CONNOLLY, J.,JONES, S.K., DOBSON, J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 36: R167– R181, 2003.
- [193] MOSSBAUER, R.L. (1961) Recoiless nuclear resonance absorption of gamma radiation. Nobel lecture. December 11, 1961.
- [194] Royal Society of Chemistry, Introduction to Mössbauer Spectroscopy. Acessível em:<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/MossbauerSpect/Intropart1.asp>.
- [195] VANDERBERGHE, R.E., DE GRAVE, E.,BAKKER, P.M.A. On the methodology of the analysis of Mössbauer spectra. *Hyperfine Interactions*, Vol. 83: 29-49, 1994.

- [196] JACOBS, I.S., BEAN, C.P. An Approach to Elongated Fine-Particle Magnets, *Phys. Rev.*, Vol. 100: 1060- , 1067, 1955.
- [197] BEAN, C.P., LIVINGSTON, J.D.. Superparamagnetism, *J. Appl. Phys.* 30, 120S-129S, 1959.
- [198] BOHUS, G. , HORNOK, V., OSZKÓ, A., VÉRTES, A., KUZMANN, E., DÉKÁNY, I.. Structural and luminescence properties of Y₂O₃:Eu³⁺ core–shell nanoparticles, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, Vol. 405: 6-13, 2012.
- [199] LIU, M., LI, H., XIAO, L., WENXUE, Y., LU, Y., ZHAO, Z.. XRD and Mössbauer spectroscopy investigation of Fe₂O₃–Al₂O₃ nano-composite, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 294: 294-297, 2005.
- [200] KLIBANOV, A.L., MARUYAMA, K., TORCHILIN, V.P., HUANG, L. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett.* 268: 235-237, 1998.
- [201] KLIBANOV, A.L., MARUYAMA, K., BECKERLEG, A.M., TORCHILIN, V.P., HUANG, L.. Activity of amphipathic poly(ethylene glycol) 5000 to prolong the circulation time of liposomes depends on the liposome size and is unfavorable for immunoliposome binding to target. *Biochim Biophys Acta.* Vol. 1062(2):142-138, 1991.
- [202] MARUYAMA, K, YUDA, T., OKAMOTO, A., KOJIMA, S., SUGINAKA, A., .Prolonged circulation time in vivo of large unilamellar liposomes composed of distearoyl phosphatidylcholine and cholesterol containing amphipathic poly(ethylene glycol). *Biochim Biophys Acta.* Vol. 1128(1):44-49, 1992.
- [203] MARUYAMA, K., YUDA, T., OKAMOTO, .A, ISHIKURA, C., KOJIMA, .S, IWATSURU, M.. Effect of molecular weight in amphipathic polyethyleneglycol on

prolonging the circulation time of large unilamellar liposomes, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. Vol. 39(6):1620-1622, 1991.

[204] UNEZAKI, S., MARUYAMA, K., TAKAHASHI, N., KOYAMA, M., YUDA, T., SUGINAKA, A., IWATSURU, M.. Enhanced delivery and antitumor activity of doxorubicin using long-circulating thermosensitive liposomes containing amphipathic polyethylene glycol in combination with local hyperthermia. *Pharm Res*. Vol. 11(8):1180-1185, 1994.

[205] ALLEN, T.M., CHENG, W.W., HARE, J.I., LAGINHA, .K.M.. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer. *Anticancer Agents Med Chem*. Vol. (6):513-523, 2006.

[206] KHAN, D.R., MAGGIE, N.W., CADOTTE, T.H., GAVETTE, M.N.. Use of targeted liposome-based chemotherapeutics to treat breast cancer, *Breast Cancer (Auckl)*, Vol. 9: 1–5, 2015.

Acessível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4533644/>

[207] BROWN, S., KHAN, D.R.. The treatment of breast cancer using liposome technology, *J Drug Deliv*, 2012:212965. doi: 10.1155/2012/212965, Feb 21, 2012.

[208] ZAMBONI, W.C.. Liposomal, nanoparticle, and conjugated formulations of anticancer agents, *Clin Cancer Res.*, Vol. 11(23):8230-8234, 2005.

[209] RIVERA, E.. Liposomal Anthracyclines in Metastatic Breast Cancer: Clinical Update. *Oncologist*. Vol.8: 3-9, 2003.

[210] ASTIER, A. New drug formulations for cancer therapy. *Ann Pharma France*, Vol. 64:23-35, 2006.

[211] ROSE, P.G.. Pegylated liposomal doxorubicin: optimizing the dosing schedule in ovarian cancer. *Oncologist*, Vol. 10: 205-14, 2005.

[212] KONING, G.A., EGGERMONT, A.M., LINDNER, L.H., HAGEN, T.L.. Hyperthermia and thermosensitive liposomes for improved delivery of chemotherapeutic drugs to solid tumors, *Pharm Res.* Vol. 27(8):1750-4, 2010.

[213] GOSSELIN, M.A., LEE, R.J.. Folate receptor-targeted liposomes as vectors for therapeutic agents. *Biotechnol Annu Rev.*, Vol. 8:103-131, 2002.

[214] DI PAOLO, D., PASTORINO, F., BRIGNOLE, C., MARIMPIETRI, D., LOI, M., PONZONI, M., PAGNAN, G.. Drug delivery systems: application of liposomal anti-tumor agents to neuroectodermal cancer treatment, *Tumori.* Vol. 94:246-253, 2008.

[215] VENKATESAN, P., SHUBHADEEP, B., SHUBASIS, D., SEN, R.K., MAHITOSH, M.. Effect of liposomal celecoxib on proliferation of colon cancer cell and inhibition of DMBA-induced tumor in rat model, *Cancer Nano* Vol.2: 67–79, 2011.

[216] ERDOG, A., PUTRA, L.Y.D., KESKIN, D., TEZCANER, A., BANERJEE, S.. In vitro characterization of a liposomal formulation of celecoxib containing 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, cholesterol, and polyethylene glycol and its functional effects against colorectal cancer cell lines, *J Pharm Sci.*, Vol. 102:3666-3677, 2013.

[217] DENIZ, A., SADE, A., FERIDE, S., DILEK, K., AYSAN, T., BANERJEE, S.. Celecoxib-Loaded liposomes: effect of cholesterol on encapsulation and in vitro release characteristics, *Biosci Rep*, Vol 30: 365-373, 2010.

- [218] YANUAR, D., PUTRA, L.Y.D., AYSEN, T., OZEN, C., DILEK, K., BANERJEE, S.. Epidermal growth factor receptor-targeted immunoliposomes for delivery of celecoxib to cancer cells, *Int J Pharm* Vol. 479: 364-373, 2015.
- [219] YU, B., LEE, R.J., LEE, L.J.. Microfluidic methods for production of liposomes, *Methods Enzymol.* Vol. 465:129-141, 2009.
- [220] JAHN, A., VREELAND, W.N., DEVOE, D.L., LOCASCIO, L.E., GAITAN, M.. Microfluidic directed formation of liposomes of controlled size. *Langmuir*, Vol. 23:6289-6293, 2007.
- [221] CHEN, W., YANG, Y., RINADI, C., ZHOU, D., SHEN, A.Q.. Formation of supramolecular hydrogel microspheres via microfluidics, *Lab Chip.*, Vol. 9: 2947-2951, 2009.
- [222] BRESLAUER, D.N., MULLER, S.J., LEE, L.P.. Generation of monodisperse silk microspheres prepared with microfluidics, *Biomacromolecules*, Vol. 11: 643-647, 2010.
- [223] BEEBE, D. J., MENSING, G. A., WALKER, G. M.. Physics and applications of microfluidics in biology, *Annual Review of Biomedical Engineering*, Vol. 4: 261-286, 2002.
- [224] MAYHEW, E., JANOFF, A.S., AHMAD, I., BHATIA, S.K.. Multilipid component ether lipid liposomes. US Patent Number: 5,762,958. Jun. 9. Acessível em: <file:///C:/Users/Alvaro/Downloads/US5762958.pdf>, 1998.
- [225] CHOI, I., CHEONG, W., KIM, J.H., XIA, Y.. Preparation of uniform microspheres using a simple fluidic device and their crystallization into close-packed lattices., *Small* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), Vol. 5, Vol. 4: 454-459, 2009.

[226] COCERA, M.; LOPES, O.; CODERCH, L.; PARRA, J. L.; MAZA, A. Permeability investigations of phospholipid liposomes by adding cholesterol. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* v. 221, p. 9 -17, 2003.

[227] MOSQUEIRA, V. C., LEGRAND, P., MORGAT, J. L., VERT, M., MYSIKINE, E., GREF, R., DEVISSAGUET, J. P., BARRATT, G. Biodistribution of longcirculating PEG-grafted nanocapsules in mice: effects of PEG chain length and density. *Pharm Res*, Vol. 18: 1411-1419, 2001.

[228] MOSQUEIRA, V. C., LEGRAND, P., PINTO-ALPHANDARY, H., PUISIEUX, F., BARRATT, G. Poly(D,L-lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: influence of the composition on physicochemical and structural properties. *J Pharm Sci*, Vol. 89: 614-26, 2000.

[229] Resolution in fluorescence microscopy.

Acessível em:

<http://ptbiopsrv1.epfl.ch/ptbiop/pdf/Resolution%20and%20Contrast%20in%20WF%20Microscopy.pdf>.

[230] A Guide to Fluorochromes. Acessível em:

http://docs.abcam.com/pdf/immunology/fluorochrome_guide.pdf

[231] ISO 10993-5:2009: Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

Acessível em: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm%3Fcsnumber=36406.

[232] MOURA, R.M.. Avaliação do potencial citotóxico e antitumoral do dendrímero de poliglicerol salicilado em diferentes linhagens celulares. Dissertação (Mestrado em

Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz, 2011.