

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ - UNIFEI



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS
GERAIS**



**SÍNTESE E REVESTIMENTO DE NANOPARTÍCULAS
FERROMAGNÉTICAS COM POLÍMEROS EPÓXI
PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Aluno: Álvaro Cezar Ferreira Silva

Orientador: Prof. Dr. Filiberto González Garcia

Dezembro/2018

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ - UNIFEI

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS
GERAIS**

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE E REVESTIMENTO DE NANOPARTÍCULAS
FERROMAGNÉTICAS COM POLÍMEROS EPÓXI PARA APLICAÇÕES
BIOMÉDICAS**

Álvaro Cezar Ferreira Silva

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de **Doutor em Química**.

Orientador: **Prof. Dr. Filiberto González Garcia**

Curso: **Multicêntrico em Química de Minas Gerais**

Área de Concentração: **Química**

Itajubá, Dezembro de 2018

M.G. – Brasil

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Filiberto González Garcia-UNIFEI

Prof. Dr. Alexandre Zirpoli Simões-UNESP-Guaratinguetá/SP

Prof^a. Dr.^a Jayne Carlos de Souza Barboza-USP-Lorena/SP

Prof^a. Dr.^a Maria Elena Leyva González-UNIFEI-Itajubá/MG

Prof. Dr. Daniel Thomazini-UNIFEI-Itajubá/MG

Coordenador: Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos-UNIFEI-Itajubá/MG

FOLHA DE APROVAÇÃO



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
Criada pela Lei nº 10.435, de 24 de Abril de 2002.

COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA DE MINAS GERAIS
DEFESA PÚBLICA DE TESE DE DOUTORADO
ATA nº 002 de 07 de dezembro de 2018

Às nove horas do dia sete de dezembro do ano de dois mil e dezoito, no Auditório de Biomateriais - Campus Prof. José Rodrigues Seabra – UNIFEI, foram abertos os Trabalhos de Defesa Pública da Tese de Doutorado intitulada "**Síntese e revestimento de nanopartículas ferromagnéticas com polímeros epóxi para aplicações biomédicas**", do candidato **ÁLVARO CÉZAR FERREIRA SILVA**, como parte das exigências para obtenção do Título de **Doutor em Química**, na Área de Concentração: **Química**. Estavam presentes à Sessão os Professores Doutores: Alexandre Zirpoli Simões (por videoconferência), da UNESP, 1º Examinador; Jayne Carlos de Souza Barboza (por videoconferência), da USP, 2ª Examinadora; Maria Elena Leyva González, da UNIFEI, 3ª Examinadora; Daniel Thomazini, da UNIFEI, 4º Examinador; e Filiberto González Garcia, 5º Examinador, Orientador do candidato e Presidente da banca. Foram iniciados os Trabalhos de Defesa Pública da Tese de Doutorado com a apresentação dos demais membros da Banca Examinadora pelo seu presidente. Após a chamada do candidato pelo presidente, foi feita a exposição oral da Tese, durando a mesma trinta minutos. Terminada a exposição, o candidato foi arguido pelos membros da Comissão Examinadora. Encerrada a arguição, a Comissão Examinadora procedeu o julgamento da Tese em sessão secreta e recomendou sua "**Aprovação**". Em vista deste resultado foi preenchido e assinado o Anexo I - Folha de Julgamento da Comissão Examinadora de Tese de Doutorado, da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal de Itajubá. Voltando ao recinto da Sessão de Defesa Pública da Tese, o Presidente convocou o candidato e proclamou o resultado, entregando-lhe a via da Folha de Julgamento da Comissão Examinadora, para fins de direito. Os trabalhos foram encerrados às 11^h 30^{min} horas e 45 minutos, e para que tudo constasse, foi lavrada a presente Ata, a qual, depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Comissão Examinadora e pelo orientador do candidato. Os Examinadores Externos autorizam o Presidente da Banca a assinar a ATA por eles, conforme Folha de Julgamento.

Itajubá, 07 de dezembro de 2018.

Prof. Dr. Alexandre Zirpoli Simões

Prof.ª Dr.ª Jayne Carlos de Souza Barboza

Prof.ª Dr.ª Maria Elena Leyva González

Prof. Dr. Daniel Thomazini

Prof. Dr. Filiberto González Garcia (Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder a vida e estar sempre acompanhando e iluminando meus passos.

A minha esposa Patrícia, minhas filhas Yollanda e Yara, pessoas essenciais para mim, por todo amor, amizade, apoio, conselho, confiança e incentivo em todas as etapas e momentos que vivi.

À Secretaria do Estado da Educação de Minas Gerais, pela concessão da licença para que esta pesquisa tenha sido realizada.

Ao Prof. Dr. Filiberto González Garcia, por ter-me aceito como orientado, pela sua dedicação e compromisso.

Ao Prof. Dr. Álvaro Antônio Alencar de Queiroz (UNIFEI) e Prof.^a Dr.^a Olga Zazuca Higa (IPEN-USP) pelos ensaios biológicos das resinas DGEBA/aminas.

Ao Prof. Dr. Alexandre Zirpoli Simões (UNESP), pelas análises físico-químicas, e análises microscópicas das cerâmicas, Prof.^a Dr.^a Jayne Carlos de Souza Barboza, Prof. Dr. Antônio Aarão Serra, responsáveis pelo Laboratório de Química Fina da E.E.L USP-Lorena.

A todos os professores (as) da UNIFEI com os (as) quais tive contato, porque com certeza algum conceito aprendido com vocês faz parte deste trabalho: Prof. Dr. Guilherme Ferreira de Lima, Prof. Dr. Frederico Barros de Souza, Prof.^a Dr.^a Juliana Fedoce Lopez, Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos, Prof. Dr. Sandro José de Andrade, Prof. Dr. Flávio Soares da Silva, Prof. Dr. Luiz Antônio Sodré (UFJF), Prof.^a Dr.^a Maria Elena Leyva González.

Aos professores: Prof. Dr. Alexandre Zirpoli Simões (UNESP), Prof. Dr. Daniel Thomazini (UNIFEI), Prof. Dr. Maurício Frota Saraiva (UNIFEI), pela participação na banca de defesa da qualificação.

Aos professores: Prof.^a Dr.^a Maria Elena Leyva González (UNIFEI), Prof.^a Dr.^a Jayne Carlos de Souza Barboza (USP), Prof. Dr. Alexandre Zirpoli Simões (UNESP), Prof. Dr. Daniel Thomazini (UNIFEI), pela participação na banca de defesa da tese.

Ao CNPq, CAPES, FAPEMIG e Rede Mineira de Química pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) pela oportunidade de realizar a Pós-Graduação em Química e pelos recursos fornecidos durante o período de pesquisa.

A todas aquelas pessoas que, direta e indiretamente, estiveram envolvidas neste projeto.

DEDICATÓRIA

A Deus pela esperança e força despertadas a cada dia

*A minha mãe Terexinha de Lourdes que mesmo no
sofrimento da doença de Alzheimer me abençoa e ilumina*

Dedico este trabalho

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito, não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	21
1.1 INTRODUÇÃO	21
CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 CÂNCER	25
2.2 HIPERTERMIA	27
2.2.1 O Microambiente tumoral e a quimioterapia	29
2.2.2 Efeito da Permeabilidade e Retenção aumentada (EPR)	30
2.2.3 Entrega direcionada de fármacos	32
2.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS (NPMS)	36
2.3.1 Campo magnético	37
2.3.1.1 Indução, Permeabilidade e Susceptibilidade Magnética	38
2.3.2 Domínios magnéticos	39
2.3.3 Tipos de magnetismo nos materiais	43
2.3.4 Histerese Magnética	44
2.3.5 Nanopartículas Magnéticas de $Y_3Fe_5O_{12}$	47
2.3.6 Métodos de Síntese das Cerâmicas Ferromagnéticas	50
2.3.6.1 Método dos precursores poliméricos	50
2.4 MATERIAL DE REVESTIMENTO	53
2.4.1 Polímeros epóxi	54
2.4.2 Sistemas epóxi à base do Éter Diglicídílico do Bisfenol A (DGEBA) e aminas cicloalifáticas	55
2.4.3 Mecanismo de Cura dos Sistemas epóxi/amina	58
CAPÍTULO III – OBJETIVOS	63
CAPÍTULO IV - MATERIAIS E MÉTODOS	64
4.1 SÍNTESE DAS CERÂMICAS DE $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$	64
4.2 SÍNTESE DO MATERIAL DE REVESTIMENTO	68
4.2.1 Determinação do equivalente epóxi da resina DGEBA por titulação potenciométrica	68
4.2.2 Preparação das amostras	71
4.3 SILANIZAÇÃO DAS CERÂMICAS	72

4.4 REVESTIMENTOS DAS CERÂMICAS	73
4.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	75
4.5.1 Análise Termogravimétrica (TGA)	77
4.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)	77
4.5.3 Medidas de Difração de raios-x (DRX)	78
4.5.4 Espectroscopia de espalhamento Raman	80
4.5.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	81
4.5.6 Medidas da permissividade dielétrica em função da temperatura	82
4.5.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	83
4.5.8 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	83
4.5.9 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	84
4.5.10 Caracterização Magnética	85
4.6 ENSAIOS BIOLÓGICOS <i>IN VITRO</i>	85
4.6.1 Adesão de plaquetas	86
4.6.2 Tromborresistência	87
4.6.3 Adsorção de proteínas	87
4.6.4 Estudo da citotoxicidade <i>in vitro</i>	88
4.6.5 Viabilidade celular por microscopia de luz e microscopia de fluorescência	89
CAPÍTULO V - RESULTADOS E DISCUSSÕES	91
5.1 SÍNTESE DAS CERÂMICAS $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$	91
5.1.1 Análise termogravimétrica (TGA) e Análise térmica diferencial (DTA)	91
5.1.2 Análises da difração de raios-x (DRX)	93
5.1.3 Espectroscopia de espalhamento Raman	96
5.1.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	98
5.1.5 Medidas da permissividade dielétrica em função da temperatura	99
5.1.6 Comportamento magnético	101
5.1.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	104
5.1.8 Tamanho e distribuição de tamanhos dos poros dos aglomerados	107
5.1.9 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	109
5.2 SÍNTESE DO MATERIAL DE REVESTIMENTO	112
5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	112
5.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	114
5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS	116

5.3.1 Adesão de plaquetas e ativação	116
5.3.2 Tromborresistência	122
5.3.3 Adsorção de proteínas	123
5.3.4 Estudo da citotoxicidade <i>in vitro</i>	124
5.3.5 Viabilidade celular por microscopia de luz e microscopia de fluorescência	125
5.4 SILANIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	129
5.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	129
5.5 REVESTIMENTOS DAS NANOPARTÍCULAS	128
5.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	128
5.5.2 Tamanho e distribuição de tamanho dos poros após o revestimento	133
5.5.3 Comportamento magnético das cerâmicas revestidas	136
CAPÍTULO VI – CONCLUSÕES	137
CAPÍTULO VII - SUGESTÕES PARA ATIVIDADES FUTURAS	139
CAPÍTULO VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades típicas da resina epóxi DGEBA	58
Tabela 2: Reagentes utilizados na síntese das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ pelo método dos precursores poliméricos	65
Tabela 3: Quantidade em mol de cada precursor de acordo com a estequiometria estudada, quantidade de ácido cítrico em gramas e etilenoglicol em mL considerando a densidade do etilenoglicol igual à $1,1132 \text{ g/cm}^3$	66
Tabela 4: Resultados da titulação da resina epóxi (DGEBA)	69
Tabela 5: Estrutura química e características dos monômeros e aminas	70
Tabela 6: Formulações epoxídicas estudadas	71
Tabela 7: Resumo das informações coletas a partir das curvas TGA e DTA	88
Tabela 8: Atribuições das bandas de absorção para pós $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ tratados termicamente a 700°C por 2 horas	97
Tabela 9: Principais propriedades magnéticas de cada estequiometria	101
Tabela 10: Resumo das principais atribuições das bandas de absorção (DGEBA) ligado a compostos com grupos amina alifática	113
Tabela 11: Temperatura de transição vítrea dos materiais determinada por DSC, após o programa de cura	115
Tabela 12: Frequências vibracionais e suas atribuições para as cerâmicas silanizada com APTMS	129
Tabela 13: Frequências vibracionais e suas atribuições para as cerâmicas revestidas com as formulações DGEBA/Aminas	132

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Tumor original, célula tumoral, vasos tumorais, eliminação da célula tumoral, célula imune, metástase	26
FIGURA 2: Magnetohipertermia no tumor gerada pelo uso de nanopartículas magnéticas (NPM), quando submetidas a um campo magnético de frequência alternado (CMA)	28
FIGURA 3: Diferenças estruturais da rede vascular em regiões tumorais e em regiões de tecido normal	30
FIGURA 4: Efeito de permeabilidade e retenção aumentada (EPR)	32
FIGURA 5: Estudos clínicos com nanopartículas em andamento ao redor do mundo de acordo com as aplicações	34
FIGURA 6: Escala nanométrica de sistemas biológicos naturais e das nanoesferas magnéticas	36
FIGURA 7: Domínios magnéticos posicionados aleatoriamente em uma amostra policristalina	40
FIGURA 8: Ilustração mostrando dois domínios com magnetização antiparalela separados por uma parede de Bloch	41
FIGURA 9: (a) Multidomínios com diâmetro (D) maior que o diâmetro crítico (D _c); (b) Monodomínios com diâmetro (D) menor que o diâmetro crítico (D _c)	42
FIGURA 10: Magnetização das nanopartículas em função do diâmetro (D _c)	43
FIGURA 11: Diferentes tipos de comportamentos magnéticos	44
FIGURA 12: Efeito da temperatura na magnetização de saturação de um material ferromagnético abaixo da sua temperatura de Curie T _C . Um aumento de temperatura provoca o desordenamento dos momentos magnético	45
FIGURA 13: Ciclo de histerese de um material magnético	46
FIGURA 14: Estrutura cristalina da granada natural Mg ₃ Al ₂ (SiO ₄) ₃	48
FIGURA 15: Diagramas esquemáticos dos três sítios diferentes ocupados por cátions na cerâmica de ítrio e ferro	49
FIGURA 16: Método dos precursores poliméricos - Quelação do metal e formação da cadeia polimérica	52
FIGURA 17: Representação do anel epóxi	54
FIGURA 18: Estrutura do anel epóxi (a), Mecanismo de ruptura (b)	55
FIGURA 19: Equações que representam a reação de obtenção do DGEBA	56

FIGURA 20: Equação que representa a competição entre o bisfenol A e a epicloridina para a formação do DEGBA	57
FIGURA 21: Determinação do equivalente epóxi por meio de titulação	57
FIGURA 22: Estágios de cura em polímeros epóxi	59
FIGURA 23: Reação dos grupos epóxi com aminas primárias (A) e secundárias (B)	61
FIGURA 24: Reação entre os grupos epóxi e os grupos hidroxila	61
FIGURA 25: Fluxograma ilustrativo das etapas de obtenção das cerâmicas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, pelo método dos precursores poliméricos	67
FIGURA 26: Esquema ilustrativo dos procedimentos para a silanização das cerâmicas	73
FIGURA 27: Esquema ilustrativo dos procedimentos para o revestimento das cerâmicas	74
FIGURA 28: Fluxograma representativo das etapas de caracterização dos pós cerâmicos	75
FIGURA 29: Fluxograma representativo dos métodos empregados na caracterização do material de revestimento a base do DGEBA/aminas	76
FIGURA 30: Fluxograma representativo dos métodos empregados na caracterização das cerâmicas silanizadas e revestidas	
FIGURA 31: Esquema representativo da radiação infravermelha quando absorvida por uma molécula orgânica, convertendo-se em energia de vibração molecular	82
FIGURA 32: Perda de massa percentual para pós de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ calcinados a 300°C, por 4 horas, em função da temperatura	92
FIGURA 33: DRX para as amostras tratadas termicamente a 700°C por 2 horas	94
FIGURA 34: DRX para as amostras tratadas termicamente a 800, 900 e 1000°C	94
FIGURA 35: Alargamento do pico de maior intensidade usado para o cálculo do tamanho médio das nanopartículas	95
FIGURA 36: Espectroscopia Raman das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com diferentes estequiometrias	97
FIGURA 37: Espectros FTIR para as amostras tratadas termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com diferentes estequiometrias	99
FIGURA 38: Curvas da permissividade dielétrica em função da temperatura para as amostras $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ tratadas termicamente 700°C	100

FIGURA 39: Histerese magnética M x H na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ em diferentes estequiometrias	102
FIGURA 40: Histerese magnética M x H na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ em diferentes estequiometrias, mostrando os ciclos fechado da histerese	102
FIGURA 41: Micrografia MEV para amostra tratadas termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com x = 1,5,	104
FIGURA 42: Micrografia MEV para amostra tratadas termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com x = 1,6	105
FIGURA 43: Micrografia MEV para amostra tratadas termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com x = 1,7	106
FIGURA 44: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria x= 1,5	107
FIGURA 45: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria x= 1,6	108
FIGURA 46: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria x= 1,7	108
FIGURA 47: Micrografias (MET) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (SAD), para x= 1,5	110
FIGURA 48: Micrografias (MET) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (SAD), para x= 1,6	110
FIGURA 49: Micrografias (MET) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (SAD), para x= 1,7	111
FIGURA 50: Espectros FTIR dos polímeros epóxi: DGEBA/3DCM ,DGEBA/IPD e DGEBA/4MPip	113
FIGURA 51: Curvas de DSC para o polímero DGEBA/3DCM após o programa de cura	115
FIGURA 52: Micrografia MEV das superfícies do vidro depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue	117
FIGURA 53: Micrografia MEV das superfícies do polímero DGEBA/IPD depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue	118
FIGURA 54: Micrografia MEV das superfícies dos polímeros DGEBA/3DCM depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue	118
FIGURA 55: Micrografia MEV das superfícies do polímero DGEBA/4MPip depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue	119

FIGURA 56: Porcentagem de plaquetas aderidas na superfície dos polímeros com morfologia arredondada depois do contato com o sangue	120
FIGURA 57: Adesão de plaquetas humanas nas superfícies dos polímeros, determinado pelo ensaio LDH	121
FIGURA 58: Formação de trombos versus tempo nas superfícies dos materiais polímeros e o vidro	122
FIGURA 59: Quantidade de HSA e HFb adsorvida para os materiais DGEBA/IPD, DGEBA/3DCM e DGEBA/4MPip	123
FIGURA 60: Teste de citotoxicidade (teste de contato, cultura 24 h) com células MG63: DGEBA/IPD, DGEBA/4MPip, DGEBA/3DCM	125
FIGURA 61: Microscopia de fluorescência das células controle	126
FIGURA 62: Microscopia de fluorescência das células MG63, após contato direto com as formulações: (a) DGEBA/IPD e (b) DGEBA/3DCM	127
FIGURA 63: Microscopia de fluorescência das células MG63 após contato direto com a formulação DGEBA/4MPip	128
FIGURA 64: Espectros FTIR das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, após a reação de silanização	131
FIGURA 65: Espectros FTIR das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, após a reação de silanização e revestimento com a matriz epóxi	133
FIGURA 66: Tamanho e distribuição do tamanho dos poros após o revestimento com estequiometria $x= 1,5$	134
FIGURA 67: Tamanho e distribuição do tamanho dos poros após o revestimento com estequiometria $x= 1,6$	134
FIGURA 68: Tamanho e distribuição do tamanho dos poros após o revestimento com estequiometria $x= 1,7$	135
FIGURA 69: Histerese magnética $M \times H$ na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, após o revestimento DGEBA/IPD	136

ABREVIATURAS E SIGLAS

- 4DCM:** 4,4'-Diamino-3,3'-Dimetil-Diclohexilmetano
- 4MPip:** 4-Metil-Piperidina
- AO:** do inglês: Acridine Orange
- APTMS:** Aminopropiltrimetóxisilano
- CBB-250:** do inglês: Coomassie Brilliant Blue G-250
- CMA:** Campo Magnético Alternado
- D:** Diâmetro da partícula
- Dc:** Diâmetro crítico
- DGEBA:** Éter Diglicídico do Bisfenol A
- DGEDD:** Éter Diglicídico do Butanodiol
- DNA:** Ácido desoxirribonucleico
- DRX:** Difração de Raios X
- DSC:** do inglês: Differential Scanning Calorimeter
- e/a:** Equivalente epóxi/amina
- EDTA:** Etileno Diamina Tetraacético
- EPR:** do inglês: Enhanced Permeability and Retention
- EtBr:** Brometo de etídeo
- FBS:** do inglês: Fetal Bovine Serum
- Fe/Al:** Razão Ferro/Alumínio
- FTIR:** do inglês: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
- H:** Campo magnético
- Hc:** Campo coercitivo
- HFb:** do inglês: Human Serum Fibrinogen
- HSA:** do inglês: Human Serum albumin
- INCA:** Instituto nacional do câncer
- IPD:** Isoforona Diamina
- LDH:** Lactato Desidrogenase
- M:** Magnetização
- MAV:** Magnetômetro de Amostra Vibrante
- MEM:** do inglês: Minimum Essential Medium
- MEV:** Microscopia Eletrônica de Varredura
- MHT:** Magnetohipertermia
- Mr:** Magnetização remanente

Ms: Magnetização de saturação
MPP: Método dos precursores poliméricos
nm: Nanômetro
NPMs: Nanopartículas Magnéticas
NPR: Nanopartículas Revestidas
PBS: do inglês: Phosphate Buffered Saline
pH: Potencial Hidrogeniônico
phr: do inglês: Per hudred of resin
RNA: Ácido ribonucleico
SAD: do inglês: Selected Area electron Diffraction
SER: Sistema Retículoendotelial
Tc: Temperatura de Curie
Tg: Transição vítrea
YFeAl: Ytrío, Ferro e Alumínio
YIG: do Inglês: yttrium iron garnet
 ΔH : Variação da entalpia

RESUMO

Silva, A. F. S. Síntese e revestimento de nanopartículas ferromagnéticas, com polímeros epóxi para aplicações biomédicas. Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais-Universidade Federal de Itajubá, 2018.

O desenvolvimento da hipertermia magnética trouxe um impulso adicional à terapia do câncer. A hipertermia baseia-se no princípio de que temperaturas em torno de 42°C destroem células cancerosas, preservando os tecidos saudáveis circundantes. O calor requerido para o uso da hipertermia é obtido pelo uso de nanopartículas magnéticas, em especial neste projeto, nanopartículas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ ($1,5 \leq x \leq 1,7$). Para cumprir o requisito da hemocompatibilidade, as NPMs foram revestidas com uma matriz epóxi à base éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA), e como agentes de cura, foram utilizadas as aminas cicloalifáticas. As análises termogravimétricas (TG) e a análise térmica diferencial (DTA) permitiram a decomposição de matéria orgânica a 300°C, por 4 horas. As análises de DRX mostram que a partir de 700°C, já houve a formação da fase cristalina. O tamanho médio das nanopartículas, calculado pela equação de Scherrer, mostrou tamanhos entre 45 e 65 nm, confirmados pelas micrografias MEV. Pela observação das micrografias MET nota-se a presença de aglomerados das partículas em todos os casos. O tamanho de partícula ficou entre 30-60 nm e a estequiometria, aparentemente, não modificou a característica inicial dos aglomerados. O ferromagnetismo foi observado para todas as composições, e a magnetização de saturação diminui conforme aumenta a concentração de íons Al^{3+} . Medida da permissividade dielétrica em função da temperatura mostrou que a temperatura de Curie está próxima a 43°C, para a estequiometria de x igual a 1,6. As interações biológicas entre os polímeros e o sangue foram estudadas por ensaios biológicos *in vitro*. Estudos de adsorção de proteínas, adesão de plaquetas, atividade do lactato desidrogenase (LDH) e propriedades de tromborresistência estão apresentados. Os ensaios de adsorção de proteínas na superfície dos polímeros mostraram que as redes epóxi adsorvem mais albumina do que fibrinogênio. Os resultados relacionados à adesão de plaquetas, atividade do lactato desidrogenase e propriedades de tromborresistência indicaram que as redes DGEBA/IPD e DGEBA/3DCM exibem comportamento hemocompatível. As amostras DGEBA/IPD e DGEBA/DCM apresentam boas propriedades biocompatíveis em contato direto com células MG63 e não revelaram qualquer diminuição da viabilidade de células semelhantes a osteoblastos. Quanto aos espectros FTIR das cerâmicas silanizadas e revestidas, aparecem às bandas vibracionais de absorção em boa concordância com a literatura para o APTMS e o DGEBA. As propriedades magnéticas das cerâmicas revestidas, não sofreram alterações, visto que o material de revestimento não possui propriedades magnéticas. Sendo assim, acredita-se que os resultados alcançados nesta pesquisa promoveram o desenvolvimento de nanopartículas magnéticas otimizadas para hipertermia magnética. Tanto por mostrar sua viabilidade, quando testados *in vitro*, quanto por promover o conceito de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ /matriz epóxi como um próximo passo para o aprimoramento dessa classe de cerâmicas.

Palavras-chave: Nanopartículas ferromagnéticas, Magnetohipertermia, Matriz epóxi.

ABSTRACT

Silva, A. F. S. Synthesis and encapsulation of ferromagnetic nanoparticles with epoxy polymers for biomedical applications. Multicenter Post-Graduation Program in Chemistry of Minas Gerais – Universidade Federal de Itajubá, 2018.

The development of magnetic hyperthermia has brought an additional boost to cancer therapy. Hyperthermia is based on the principle that temperatures around 42 ° C destroy cancerous cells, preserving the surrounding healthy tissues. The heat required for the use of hyperthermia is obtained by the use of magnetic nanoparticles, especially in this project, nanoparticles of composition $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ ($1,5 \leq x \leq 1,7$). To meet the requirement for hemocompatibility, the NPMs were coated with a diglycidyl ether-based epoxy matrix of bisphenol A (DGEBA), and the cycloaliphatic amines were used as curing agents. Thermogravimetric analysis (TG) and differential thermal analysis (DTA) allowed organic matter to decompose at 300 ° C for 4 hours. The XRD analyzes show that, from 700 °C, the crystalline phase has already been formed. The average size of the nanoparticles, calculated by the Scherrer equation, showed sizes between 45 and 65 nm, confirmed by MEV micrographs. By observing the MET micrographs, the presence of agglomerates of particles is observed in all cases. The particle size was between 30-60 nm, and the stoichiometry apparently did not alter the initial characteristics of the agglomerates. Ferromagnetism was observed for all compositions, and the saturation magnetization decreases as the concentration of Al^{3+} ions increases. Measurement of the permissiveness as a function of temperature showed that the Curie temperature is close to 43 ° C, for stoichiometry of x equal to 1.6. Biological interactions between polymers and blood were studied by *in vitro* biological assays. Studies of protein adsorption, platelet adhesion, lactate dehydrogenase (LDH) activity, and thromboresistance properties are presented. Assays of protein adsorption on the surface of polymers showed that epoxy networks adsorb more albumin than fibrinogen. Results related to platelet adhesion, lactate hydrogenase activity and thromboresistance properties indicated that DGEBA/IPD and DGEBA/3DCM networks exhibit hemocompatible behavior. DGEBA/IPD and DGEBA/DCM samples present good biocompatible properties in direct contact with MG63 cells and did not reveal any decrease in the viability of osteoblast-like cells. As for the FTIR spectra of the silanized and coated ceramics, they appear to the vibrational bands of absorption in good agreement with the literature for APTMS and DGEBA. The magnetic properties of the coated ceramics have not changed, since the coating material has no magnetic properties. Therefore, we believe that the results achieved in this research promoted the development of magnetic nanoparticles optimized for magnetic hyperthermia. Both for showing their viability when tested *in vitro*, and for promoting the concept of $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ /epoxy matrix as a next step for the improvement of this class of ceramics.

Key words: Ferromagnetic nanoparticles, Magnetohyperthermia, Epoxy matrix.

1. CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença de caráter agressivo e, por diversas vezes, incontrolável, que afeta milhares de pessoas a cada ano. Atualmente essa doença é uma das principais causas da mortalidade entre os seres humanos, representando mais do que uma simples enfermidade. Apesar de todo o avanço alcançado na medicina clínica preventiva, o câncer continua sendo uma ameaça oculta e de surgimento inesperado (CASTRO, V. F. *et al.*, 2010).

As terapias atuais para o tratamento de câncer são, de modo geral, as mesmas que se utilizam há 40 anos, e consistem basicamente em cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia. Estas terapias têm uma eficácia limitada, altos níveis de citotoxicidade e vários efeitos secundários indesejados. Adicionalmente, a natureza da doença é tal que, a menos que se destruam todas as células do câncer, as hipóteses de reincidência são elevadas e normalmente estão associadas a tumores mais agressivos e resistentes à terapia.

Faz-se necessário, então, o aperfeiçoamento das técnicas existentes, desenvolvendo novos quimioterápicos que sejam ao mesmo tempo eficientes e tenham baixa toxicidade para as células não tumorais, assim como o desenvolvimento de novos processos terapêuticos que apresentem resultados eficientes, com menores danos aos pacientes (SCOTT, A.M.; WELT, S. 1993; ROTHENBERG, M.L.; CARBONE, D.P., *et al.*, 2003). Buscando alcançar este objetivo, várias técnicas que apresentem maior especificidade para as células neoplásicas têm sido desenvolvidas nos últimos anos, entre elas, a hipertermia magnética, que se baseia no aquecimento do tecido tumoral (IVKOV, R.; DENARDO, S.J., 2005).

A hipertermia magnética 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. O aumento de temperatura requerido pela hipertermia pode ser atingido, entre outros métodos, pelo uso de nanopartículas magnéticas (NPMs), processo conhecido com o nome de magnetohipertermia (MHT) (TARTAJ, P. M. 2003).

O recente desenvolvimento de métodos de síntese de partículas magnéticas elevou a técnica da hipertermia de simples especulação teórica para a condição de tratamento complementar à radioterapia e à quimioterapia. Surge, então, uma nova estratégia nas ciências biomédicas para o controle/tratamento do câncer: a elevação da temperatura local da célula tumoral com o auxílio de materiais magnéticos biocompatíveis, cujas aplicações terapêuticas estão em plena fase de expansão.

É nesse contexto que, como resultado de suas propriedades magnéticas exclusivas e da possibilidade de interagir com células biológicas, as nanopartículas magnéticas (NPMs) têm atraído grande atenção para potenciais aplicações biomédicas (PANKHURST, Q. A. *et al.*, 2003).

Particularmente promissor, o processo de MHT envolve a introdução de NPMs em um tecido doente e a aplicação de um campo magnético alternado (CMA), de intensidade e frequência adequadas, suficiente para causar um aquecimento das células tumorais. Esse aquecimento é tal que, se a temperatura puder ser mantida acima dos 42°C por tempo adequado, o tecido tumoral é normalmente destruído (HERGT, R. *et al.*, 2007). A MHT apresenta também a vantagem de aquecimento somente na área de interesse, onde se encontram os tecidos tumorais, poupando o tecido sadio ao redor (HERGT, R. *et al.*, 2007).

Para fins de aplicações biomédicas das NPMs, as características magnéticas devem ser consideradas. No que diz respeito a essas características, as nanopartículas que satisfazem esses pré-requisitos e que vêm sendo estudadas para fins biomédicos são as cerâmicas de ítrio, ferro e alumínio (YFeAl), com elevado momento de saturação e com temperatura de Curie (T_c) que pode ser ajustada pela variação da concentração de íons Fe e Al, adequando a T_c muito próxima à da temperatura corporal, temperatura ideal para o tratamento por magnetohipertermia (MHT) (GRASSET, F. MORNET, S. DEMOURGUES, A.; 2001).

No que diz respeito ao critério como a biocompatibilidade, faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas de revestimento que imputem as propriedades biocompatíveis requeridas para sua aplicação na MHT de modo clinicamente seguro (GARCIA, F. G. *et al.*, 2009). O estudo e a otimização do processo de síntese de nanopartículas magnéticas revestidas são de fundamental importância para a obtenção de sistemas implantáveis para o tratamento de tumores pelo processo da MHT.

A evolução nos métodos de síntese e no entendimento das propriedades das nanopartículas tem possibilitado o desenvolvimento de sistemas exatos de diagnósticos e de terapia do câncer, como a entrega de fármacos diretamente na célula cancerosa (*Drug Delivery Systems*), diminuindo os efeitos causados pela quimioterapia e potencializando a ação do princípio ativo. Neste tratamento, o agente terapêutico é incorporado dentro das nanopartículas, que circulam na corrente sanguínea e são acumuladas dentro do tumor através do efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (do inglês *Enhanced Permeability and Retention*, ou EPR). Para que as nanopartículas possam circular o tempo suficiente dentro do organismo, elas devem ser biocompatíveis, ou seja, não podem ser reconhecidas como um “corpo estranho”.

Polímeros epóxi biocompatíveis têm sido usados para revestir aços inoxidáveis, que se expandem na artéria cardíaca danificada para aumentar o fluxo sanguíneo. O uso desse tipo de polímero é atrativo para o revestimento das nanopartículas ferromagnéticas através da dispersão polimérica. Além do mais, sabe-se que essas formulações com matriz epóxi possuem excelentes propriedades adesivas em vários metais (DE MORAIS *et al.*, 2007).

Para cumprir o critério da biocompatibilidade, foi escolhida como revestimento uma matriz epóxi à base do éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA), e como agentes de cura, três amina cicloalifáticas, a fim de determinar qual formulação mostra melhores propriedades biológicas. A utilização do diluente reativo éter diglicidílico do butanodiol (DGEBD) nas formulações teve como objetivo diminuir a viscosidade da mistura DGEBA/aminas.

As nanopartículas revestidas com matriz epóxi não devem mudar significativamente as suas propriedades magnéticas, como a magnetização de saturação e a coercividade. Sua temperatura de Curie deve ser próxima à temperatura do corpo. A temperatura ou ponto Curie é o valor de temperatura em que um material ferromagnético perde suas propriedades magnéticas, passando a ser um material paramagnético.

Materiais ferromagnéticos possuem a propriedade de apresentar uma magnetização espontânea, mesmo na ausência de um campo magnético aplicado. Sendo a temperatura requerida para a MHT em torno de 41- 42°C, é próximo a esta temperatura que o material deve desmagnetizar, ou seja, é próximo a esta temperatura que deve ser a temperatura de Curie.

Para que a magnetização e a desmagnetização dos materiais ocorram com mais facilidade, a temperatura de Curie é um fator crucial na eficiência das NPMs, no que diz respeito a geração de calor.

Logo, este ajuste da temperatura de Curie faz com que estas nanopartículas se tornem adequadas para sua aplicação na MHT.

2. CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CÂNCER

A palavra câncer vem do grego “karkínos”, que quer dizer caranguejo, e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina, que viveu entre 460 e 377 a.C. (INCA, 2017). O fato de a doença ter sido detectada em múmias egípcias comprova que ela já comprometia o homem há mais de 3 mil anos antes de Cristo.

Câncer é a denominação genérica de um conjunto de mais de cem doenças que têm em comum duas características básicas: a capacidade das células doentes (neoplásicas) de se reproduzirem sem controle, formando tumores e podendo invadir órgãos e tecidos adjacentes, e de se reproduzirem em órgãos e tecidos distantes do tumor original, processo conhecido como metástase (INCA, 2017).

O corpo é formado por aproximadamente dez trilhões de células. As células saudáveis se multiplicam para formar novas células e, em condições normais, esse processo é ordenado e controlado, sendo responsável pela formação, crescimento e regeneração dos tecidos em geral. Quando o organismo não precisa mais delas, elas morrem. Esse é um processo muito bem organizado, regulado e essencial para manter o organismo sadio (INCA, 2017).

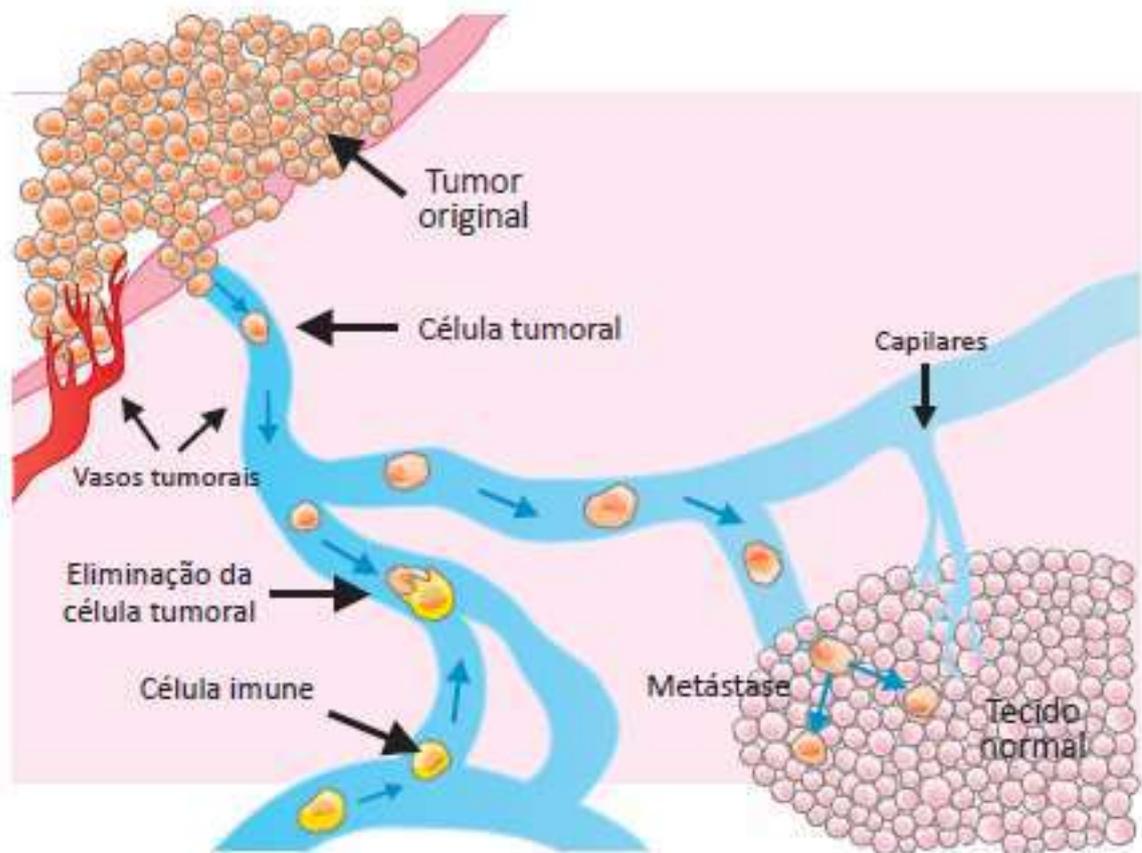
No entanto, existem situações nas quais as células, por razões variadas, perdem a capacidade de limitar e controlar o seu próprio crescimento normal, passando, então, a se dividirem rapidamente, muitas vezes de forma incontrolável, e isto pode causar uma neoplasia. O resultado desse evento anormal e desordenado de crescimento celular é a produção em excesso de determinados tecidos, que podem ocasionar processos inflamatórios, infecciosos ou mesmo crescimento celulares benignos (massa localizada de células), formando o que se conhece como tumor.

O câncer, enquanto *in situ*, em seu primeiro estágio é apenas um tumor. Nesse estágio, as células cancerosas estão somente na camada de tecido na qual se desenvolveram e ainda não se espalharam para outras camadas do órgão de origem. A maioria dos cânceres *in situ* é curável se for tratada antes de progredir para a fase de câncer invasivo.

No câncer invasivo, as células cancerosas invadem outras camadas celulares do órgão, ganham a corrente sanguínea ou linfática e têm a capacidade de se

disseminar para outras partes do corpo. Essa capacidade de invasão e disseminação que os tumores malignos apresentam de produzir outros tumores em outras partes do corpo, a partir de um já existente, é a principal característica do câncer. Esses novos focos de doença são chamados de metástases (Figura 1).

Figura 1: Tumor original, célula tumoral, vasos tumorais, eliminação da célula tumoral, célula imune, metástase.



Fonte: INCA, 2017

O câncer pode surgir em qualquer parte do corpo. Alguns órgãos são mais afetados do que outros, e cada órgão, por sua vez, pode ser acometido por tipos diferenciados de tumor, mais ou menos agressivos. Os vários tipos de câncer são classificados de acordo com a localização primária do tumor.

Sabe-se que os tumores malignos mais frequentes são os de pele, fígado, pulmão, próstata, estômago, intestino, mama e útero. O câncer do fígado, por

exemplo, é o oitavo câncer mais comum no mundo, e no Brasil, cerca de 4% das mortes por câncer anualmente são causadas por câncer de fígado (INCA 2017).

2.2 HIPERTERMIA

“Quae medicamenta non sanat; ferrum sanat. Quae ferrum non sanat; ignis sanat. Quae vero ignis non sanat; insanabilia reportari oportet.” Hippocrates

(“As doenças que os medicamentos não curam, a cirurgia cura. Aquelas que a cirurgia não pode curar, o fogo cura. E aquelas que o fogo não cura podem ser consideradas como inteiramente incuráveis”).

Como Hipócrates (460-370 a.C.) descreveu em seu aforismo, ele acreditava que inúmeras patologias podiam ser curadas, em última instância, com o aquecimento do corpo do paciente. Essa ideia persistiu por muitos séculos como uma alternativa promissora no tratamento de alguns cânceres, fazendo-se uso da indução de calor (hipertermia artificialmente induzida).

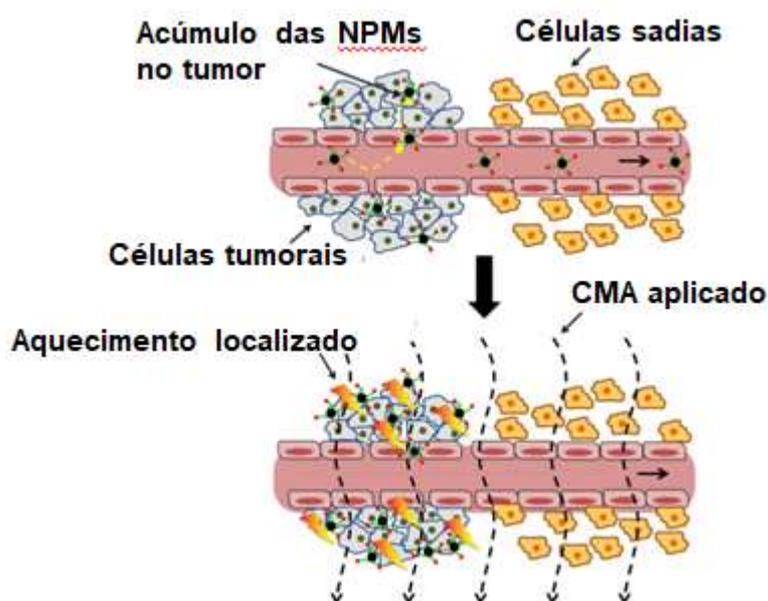
O grande desafio da indução de calor (aumento de temperatura) em pacientes com câncer baseava-se na dificuldade de aplicar ou gerar calor localmente. Nesse sentido, a nanotecnologia, associada às propriedades das nanopartículas magnéticas (NPMs), constituiu, nas últimas décadas, o maior avanço no tratamento de câncer por hipertermia (ITO, A. *et al.*, 2005).

O método é baseado no princípio da geração de calor pelas NPMs, devido à perda de histerese na presença de um campo magnético alternado (CMA) (SALUNKHE; KHOT; PAWAR, 2014), proporcionando aumento de temperatura em uma região do corpo que esteja afetada por uma neoplasia, com o objetivo de causar a lise das células cancerosas (CHERUKURI, P., GLAZERA, E. S., CURLEY S. A., 2010).

Diversos trabalhos mostram o sucesso da aplicação de NPMs para o tratamento de tumores experimentais (DU *et al.*, 2009; ESTEVANATO, 2012; HOU *et al.*, 2009; ITO *et al.*, 2003a; PORTILHO, 2011; REN *et al.*, 2012; WANG; SONG; ZHANG, 2009), e alguns deles apresentaram a remissão completa da massa tumoral (ITO *et al.*, 2003b; YANASE *et al.*, 1998a; 1998b).

A Figura 2 ilustra o princípio básico da aplicação da magnetohipertermia, como o acúmulo das NPMs na região do tumor e a geração de calor através de um campo magnético alternado (CMA).

Figura 2: Magnetohipertermia no tumor gerada pelo uso de nanopartículas magnéticas (NPMs), quando submetidas a um campo magnético de frequência alternada (CMA)



Fonte: COLE; YANG; DAVID, 2011

Sendo assim, quando a temperatura ultrapassa 41°C, ocorre à alteração da síntese de DNA e RNA, as enzimas sofrem desnaturação, a função das mitocôndrias é comprometida, as membranas celulares desestabilizam-se e as vias metabólicas dependentes de oxigênio são perturbadas, concomitantemente com a taxa de morbidade e mortalidade celular (KETTERING, M. et al., 2007, GUFFY, M.M. et al., 1982).

Tumores são geralmente primitivos e caóticos, o que pode resultar em áreas que são destituídas de nutrientes, com baixas concentrações de oxigênio (hipóxia), altamente ácidas. As células que existem nestas condições são, em geral, mais sensíveis ao efeito citotóxico do calor (ROLF, D. 2008). A hipertermia destrói preferencialmente as células tumorais em relação às células saudáveis (MORNET, S. et al., 2004), principalmente as células ácidas, que contêm membrana celular mais frágil e com possível alteração de permeabilidade (GUFFY, M.M. et al., 1982).

A combinação MHT e quimioterapia pode ainda melhorar a eficácia de fármacos antineoplásicos sem aumentar o seu potencial citotóxico, sendo também favorável a aumentar a resposta clínica. Isto porque a ação térmica aumenta a permeabilidade da membrana celular, deixando a célula mais vulnerável ao ataque por substâncias químicas.

Simplificadamente, para induzir a hipertermia especificamente no alvo, as nanopartículas magnéticas são guiadas e retidas na região tumoral por um gradiente de campo magnético externo, após a administração. Aplica-se, então, um CMA de intensidade e frequência adequadas, fazendo com que a direção de magnetização das partículas seja continuamente revertida, gerando calor necessário para causar a lise das células tumorais. Se essa temperatura puder ser mantida na faixa preferencial de 42 – 44°C por 30 minutos ou mais, o tumor pode ser total ou parcialmente destruído. A minimização dos danos aos tecidos normais circunvizinhos faz da MHT uma técnica promissora para o tratamento de cânceres diversos.

2.2.1 O Microambiente Tumoral e a Quimioterapia

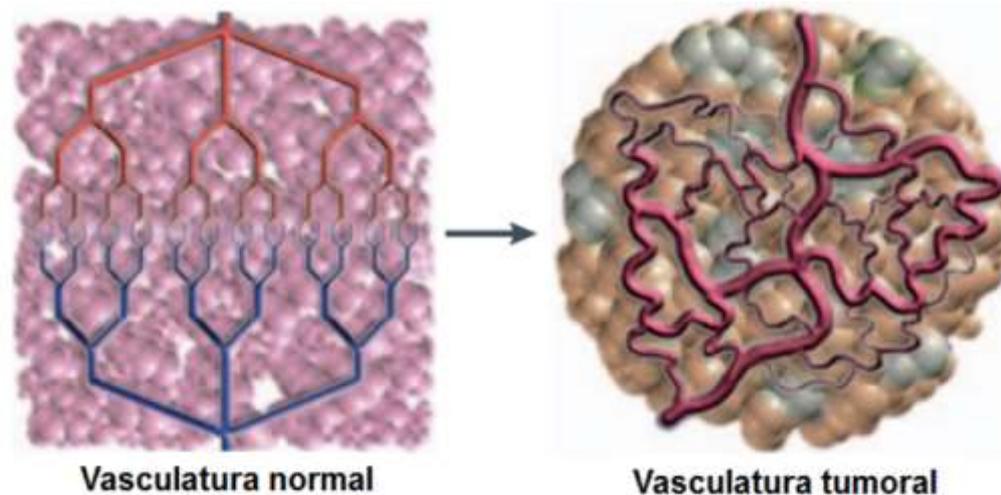
Entre os métodos terapêuticos convencionais de combate ao câncer, a quimioterapia representa a base terapêutica de atuação. O termo quimioterapia refere-se ao tratamento de doenças por substâncias químicas que afetam o funcionamento celular e interferem na capacidade de multiplicação das células cancerosas. Os quimioterápicos são fármacos estruturados para matar as células cancerígenas, ou ao menos evitar que elas se dividam.

Atualmente existe um consenso clínico de que a quimioterapia, aplicada ao combate de tumores, dificilmente atinge os níveis terapêuticos ideais de doença/concentração no ambiente tumoral sem que promova danos significantes a órgãos e tecidos saudáveis circunvizinhos.

Entre os diversos fatores considerados como limitantes à eficiência da quimioterapia, tem-se a heterogeneidade da distribuição dos fármacos na região tumoral (CHEN, et al., 2008). A combinação do rápido crescimento das células tumorais com a neovascularização leva à criação de microambientes tumorais diferenciados. Atribui-se às características do microambiente tumoral os principais fatores de resistência à quimioterapia (VAUPEI e MAYER, 2007).

A rede vascular dos tumores sólidos é composta por vasos recrutados da própria rede pré-existente na região hospedeira e por vasos resultantes da resposta angiogênica local. A organização da vasculatura tumoral encontra-se em condições que contrastam com os tecidos normais, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3: Diferenças estruturais da rede vascular em regiões tumorais e em regiões de tecido normal



Fonte: JAIN, R. K. et al., 2011

A heterogeneidade espacial e temporal do fornecimento de sangue e permeabilidade dos vasos, juntamente com uma drenagem linfática deficiente, contribui para a criação de um microambiente anormal, que prejudica a entrega e a eficácia de agentes terapêuticos nos tumores (JAIN, R. K. & STYLIANOPOULOS, 2011).

2.2.2 Efeito da Permeabilidade e Retenção Aumentada (EPR)

Como já foi referida, a vascularização tumoral é geralmente anormal, com ramificações incomuns e paredes permeáveis. Estas características resultam em grandes poros nas vasculaturas tumorais, que variam de 100 nm a várias centenas de nanômetros de diâmetro, quando comparado com as junções dos vasos normais de 5-10 nm (HOBBS, S. K. et al., 1988). É o diâmetro anormal destes poros que permite a elevada permeabilidade vascular e condutividade hidráulica, admitindo a passagem de macromoléculas, como NPMs, para os tumores.

Os tumores são geralmente caracterizados pela deficiência de vasos linfáticos. A ineficiência do sistema linfático em conjunto com o aumento da permeabilidade da vasculatura do tumor resulta no efeito da permeabilidade e retenção aumentada, do inglês, *enhanced permeability and retention* (EPR).

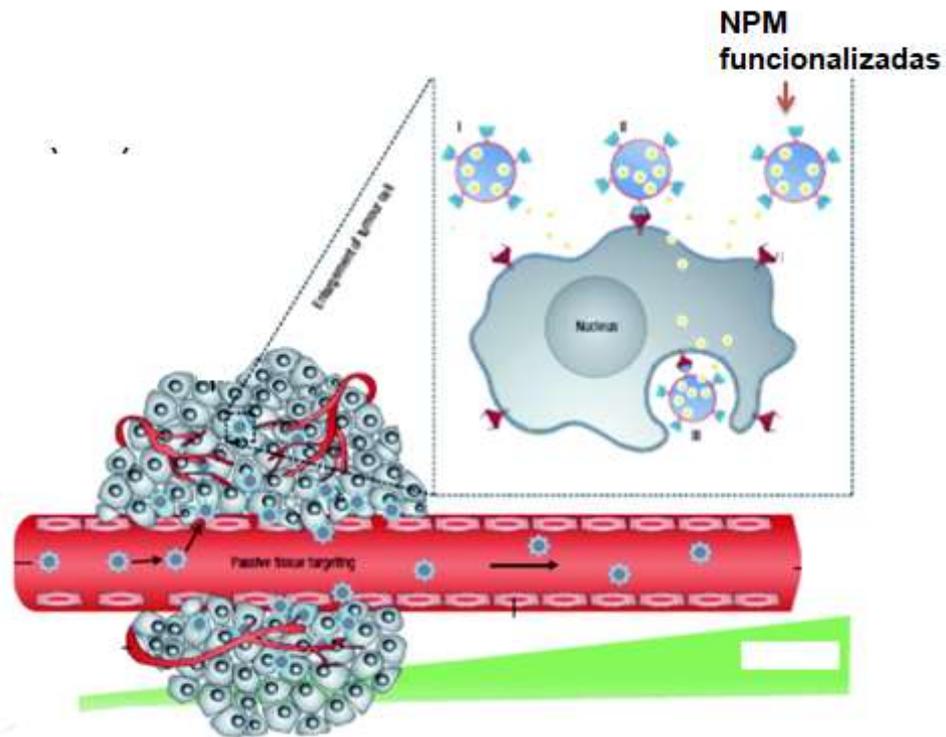
Utilizando o conceito de que tumores possuem uma alta permeabilidade vascular que o alimenta e garante seu rápido crescimento, um grande número de nanopartículas foi desenvolvido como sistemas transportadores de fármacos, para que se acumulem na região tumoral e liberem localmente os quimioterápicos (MAEDA H., BHARATE G.Y., DARUWALLA J., 2009).

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 com mais eficiência em tumores (POPOV, J., KAPANEN, A.I., TURNER, C.G.N.R. et al., 2011).

As NPMs, assim como outras macromoléculas, têm, então, os tempos de retenção aumentados no tumor, resultando em maiores concentrações localizadas nessa área do que no plasma ou outros tecidos. A Figura 4 ilustra a verificação do efeito EPR (descrita pela primeira vez nos anos 80 por Matsumura e Maeda), resultando na acumulação de NPMs no tecido tumoral (MATSUMURA, Y. & MAEDA, H., 1998).

Para que se possa retirar a máxima eficiência do efeito EPR, as NPMs devem permanecer em circulação o tempo necessário para que se proporcione sua acumulação no tumor. Contudo, as NPMs estão sujeitas à depuração pelo sistema reticuloendotelial (SRE), que faz parte do sistema imunitário. Dado que a sua eliminação prematura pode comprometer a acumulação nas células tumorais, a estratégia utilizada para esse fim é a modificação da superfície das NPMs, recorrendo a revestimentos biocompatíveis que impeçam as possíveis interações com as células do sistema imunitário.

Figura 4: Representação esquemática do efeito de permeabilidade e retenção aumentada das nanopartículas funcionalizadas em tumores.



Fonte: MAEDA, HIROSHI. et al., 2009

2.2.3 Entrega direcionada de fármacos

O entendimento das propriedades das nanopartículas tem possibilitado o desenvolvimento de sistemas exatos de diagnósticos e de terapia do câncer, como a entrega da droga diretamente na célula cancerosa (*Drug Delivery Systems*), diminuindo os efeitos colaterais e potencializando a ação do princípio ativo. Estima-se que os sistemas entregadores de drogas utilizem uma quantidade 100 vezes menor do agente ativo e sejam 100 vezes mais eficientes (JAIN, R. K., 2011). Os sistemas nanométricos utilizados nos *Drug Delivery Systems* oferecem como grande vantagem a redução ou eliminação dos severos efeitos colaterais da quimioterapia, pois atuam diretamente nas células cancerosas e não ficam livres na via sistêmica.

Classicamente, os tratamentos envolvendo os sistemas entregadores de drogas podem ser divididos em duas categorias: passivo e ativo. No tratamento passivo, o agente terapêutico é incorporado dentro de macromoléculas ou nanopartículas (podendo

também receber o nome de nanocápsulas), que circulam na corrente sanguínea e são acumuladas dentro do tumor através do efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (EPR). Para que as nanopartículas possam circular o tempo suficiente dentro do organismo, elas devem ser biocompatíveis, ou seja, não podem ser reconhecidas como um “corpo estranho”.

Já no tratamento ativo, o agente terapêutico é conjugado com uma nanopartícula que possui um ligante (anticorpo), o qual reconhece especificamente os antígenos relacionados às células do câncer (SINGH, R., LILLARD J.R., J. W., 2009).

A liberação da droga no alvo específico ocorre em resposta a certos estímulos, que podem ser biológicos ou externos. Esses estímulos atuam como se fossem verdadeiros “gatilhos” que disparam a “bala”, em uma analogia com o termo “*Magic Bullet*”, desenvolvido por Paul Ehrlich. Exemplos de estímulos são as variações de pH e de temperatura. O pH extracelular e intracelular em sistemas biológicos é extremamente afetado por doenças. O pH extracelular em um tumor sólido tende a ser mais ácido (6,5) do que o pH do sangue (7,4) a 37°C.

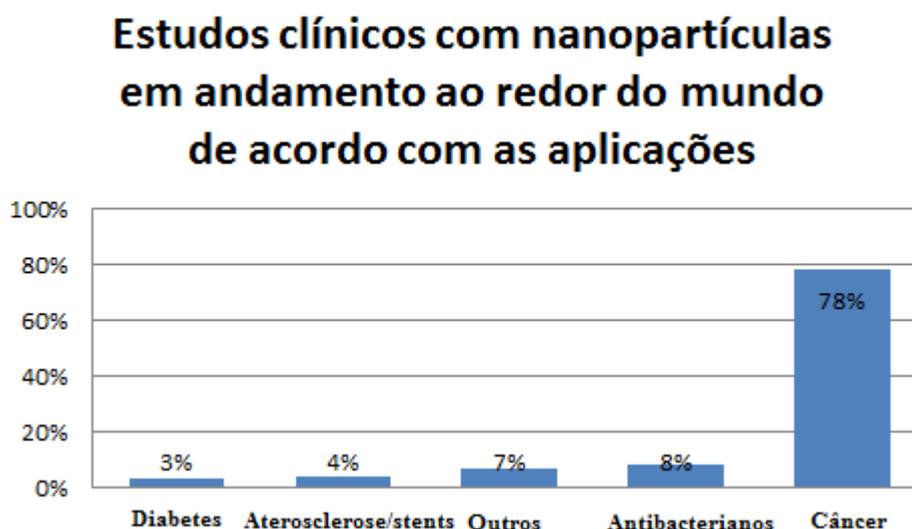
Em vista disso, sistemas entregadores de drogas que sejam sensíveis a variações de pH podem ser utilizados para transporte e liberação da droga no local específico. A temperatura é outro agente que pode ser utilizado para a liberação da droga em local específico, uma vez que podem ser desenvolvidas nanopartículas que liberem o agente terapêutico apenas em temperaturas superiores a 37°C. A droga encapsulada estará circulando na via sistêmica, no entanto, a aplicação do estímulo hipertérmico irá ocorrer apenas na área do tumor, causando a liberação apenas nesta região.

Vários tipos de nanopartículas têm sido utilizados no diagnóstico e na terapia do câncer. Dentre elas, as nanopartículas poliméricas, que apresentam um grande potencial como agente transportador de droga. Isso porque sua superfície pode ser modificada quimicamente, possibilitando a incorporação de agentes terapêuticos e ligantes (anticorpos) que reconheçam de forma específica as células do câncer (FRÉCHET, J. M. J., 2002). O enorme potencial em diagnósticos e terapias químicas apresentadas pelas nanopartículas tem refletido no crescimento exponencial do número de estudos envolvendo nanopartículas e sistemas entregadores de drogas.

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.

Atualmente, vários estudos clínicos nos quais a principal doença-alvo é o câncer estão sendo realizados ao redor do mundo (Figura 5).

Figura 5: Estudos clínicos com nanopartículas em andamento ao redor do mundo de acordo com as aplicações



Fonte: <https://clinicaltrials.gov/> Acesso em: Agosto 2018

Apesar de existirem diferentes centros ao redor do mundo que estudam a MHT como terapia oncológica, os estudos concentram-se basicamente em dois centros de pesquisa, o Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia da Universidade de Nagoya, no Japão, e o Departamento de Medicina Radiológica da Universidade de Medicina Charité, na Alemanha.

As nanopartículas já se encontram em ensaios de fase clínica (fase III), ou seja, testes em seres humanos. Os ensaios de fase clínica são formados por quatro fases sucessivas, e somente depois de concluídas todas elas o medicamento poderá ser liberado para comercialização e disponibilizado para uso da população. As sucessivas fases de ensaio clínico são (FRANTIESCOLI A. D., et al., 2013): Fase I: o objetivo principal é avaliar a segurança do produto investigado. Nessa fase, a medicação é testada em pequenos grupos (10 – 30 pessoas), geralmente, de voluntários saudáveis. Fase II: o número de pacientes que participam é maior (70 - 100). O objetivo principal é avaliar a eficácia da medicação, isto é, se ela funciona para tratar determinada doença, e também obter informações mais detalhadas sobre sua

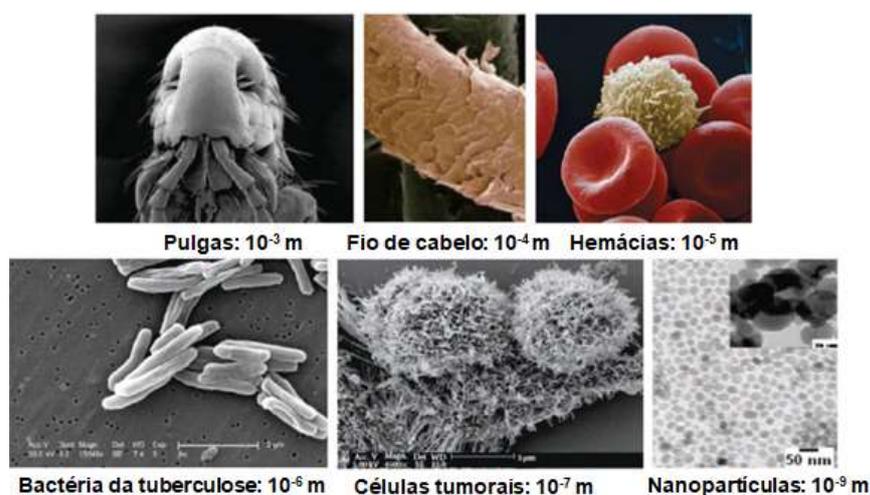
biossegurança (toxicidade). Uma vez que os resultados sejam satisfatórios, o medicamento poderá ser estudado em um ensaio clínico de Fase III. Nenhum desses estudos vem sendo realizado no Brasil, e quase a metade dos ensaios clínicos para o tratamento do câncer é destinada ao câncer de mama. É no estudo da fase clínica com nanopartículas denominadas de lipossomas que o Brasil se destaca.

Dentro deste contexto, fica clara a importância que as nanopartículas desempenham no desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico e terapias do câncer, potencializando os efeitos dos agentes terapêuticos e minimizando os efeitos colaterais.

2.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS (NPMS)

Nano (do grego “anão”) é um prefixo usado na ciência para denominar um bilionésimo de metro (10^{-9} m = 1 nm). Uma ilustração da escala comparativa de tamanho entre os sistemas biológicos e nanopartículas sintéticas é mostrada pelas micrografias do microscópio eletrônico de varredura na Figura 6.

Figura 6: Escala nanométrica de sistemas biológicos naturais e das nanoesferas magnéticas



Fonte: PESTANA, I.S. 2014

Nanopartículas magnéticas (NPMs) são materiais nanoestruturados entre 1 e 100 nm de diâmetro, que direcionam sua movimentação na presença de campo magnético. A capacidade de serem manipuladas por um gradiente de campo magnético externo para transporte e imobilização *in vivo* de modo não invasivo as tornam candidatas promissoras para muitos estudos.

A nanotecnologia, por definição, está relacionada à manipulação da matéria em uma escala em que os materiais revelam características exclusivas, ou seja, não encontradas quando o mesmo material é analisado em escala macroscópica. A origem das propriedades induzida pelo tamanho em nanomateriais depende basicamente dos fenômenos de superfície e efeitos de confinamento quântico. De acordo com a teoria quântica, os elétrons podem se comportar como ondas, o que se manifesta de forma mais clara quando o material tem dimensões nanométricas.

Para amostras com um número pequeno de átomos, o comportamento dos elétrons se assemelha ao observado para as vibrações da corda de um violão, que -

como é sabido - só são bem definidas para certos valores de frequências. Esta limitação sobre o movimento dos elétrons, conhecido como confinamento quântico, tem efeito direto sobre diferentes propriedades físicas das amostras nanoscópicas, como, por exemplo, sua cor, sua condutividade elétrica e propriedades magnéticas.

Quando um determinado material tem pelo menos uma dimensão reduzida à nanoescala, os vetores de onda eletrônica tornam-se quantizados e o sistema apresenta seus níveis de energia discretos, tais como em um átomo (SOUZA FILHO E FAGAN, 2011).

A diminuição do tamanho da partícula faz com que uma fração cada vez maior dos átomos que a compõem localize-se em sua superfície, tornando seu papel cada vez mais relevante. Esses átomos possuem uma vizinhança bem diferente da dos átomos do interior da partícula e, assim, podem afetar as propriedades físicas e magnéticas do material. Essa grande razão área superficial *versus* volume das nanopartículas é uma característica vantajosa para torná-las funcionais ou para sua utilização no transporte de substâncias.

Para o melhor entendimento das propriedades magnéticas das NPMS, em seguida será resumida a origem do magnetismo nos materiais, seguindo-se de uma análise das relações associadas ao magnetismo e aos materiais magnéticos e do comportamento dos átomos que, na aplicação de um campo magnético, ditará o tipo de magnetismo a observar, tal como o ciclo de histerese que representa a magnetização e a desmagnetização de um material.

Algumas das propriedades mais importantes dos campos magnéticos serão expostas, bem como alguns conceitos que são o ponto de partida para o estudo mais aprofundado dos materiais ferromagnéticos.

2.3.1 Campo Magnético

Um exemplo de magnetismo é o fenômeno físico associado à atração de certos materiais. Alguns materiais são inerentemente magnéticos. O magnetismo tem uma natureza dipolar, coexistindo sempre dois polos ou centros magnéticos num campo magnético, separados por certa distância.

O vetor H é utilizado para definir a intensidade do campo magnético ou a força do campo magnético, sendo expresso em Ampère por metro (A/m).

2.3.1.1 Indução, Permeabilidade e Susceptibilidade Magnética

Um campo magnético pode ser representado por linhas, denominadas linhas de indução, que, em cada ponto, têm a direção e o sentido do vetor indução magnética. O vector B é conhecido como densidade de fluxo magnético ou indução magnética, expresso em Tesla (T) ou Weber por metro quadrado (Wb/m^2). Quando um campo magnético é aplicado no vácuo, o número de linhas do fluxo, ou densidade de fluxo, B , se relaciona segundo a Equação (2.1):

$$B = H \cdot \mu_0 \quad (2.1)$$

Onde μ_0 representa a permeabilidade magnética no vácuo e toma o valor $4\pi \times 10^{-7}$ (T.m/A, ou H/m), H representa o vetor intensidade de campo magnético. Quando um material ferromagnético é colocado num campo magnético aplicado, há um aumento da intensidade do campo magnético. Esse aumento da magnetização é medido através da permeabilidade magnética (μ_0), definida como o quociente entre a indução magnética e o campo aplicado, mostrado pela Equação (2.2):

$$\mu_0 = B/H \quad (2.2)$$

A permeabilidade é o parâmetro mais importante para os materiais magnéticos macios, uma vez que indica a quantidade de indução magnética que é gerada por um material quando colocado sob a ação de um determinado campo magnético (JILES, D., 1998).

A indução magnética é obtida somando o campo aplicado com o campo exterior resultante da magnetização do material. O momento magnético induzido por unidade de volume, devido ao material, é designado intensidade de magnetização ou magnetização e é representado pelo vetor M , medido em A/m, mostrado na Equação (2.3):

$$B = \mu_0 (H + M) \quad (2.3)$$

A magnetização ocorre quando os dipolos magnéticos são orientados por uma interação entre o campo magnético e o material magnético. A magnetização facilita a influência do campo magnético, visto que a presença do material faz com que mais energia magnética possa ser armazenada. Esta energia pode ser armazenada permanentemente ou temporariamente e ser usada para produzir calor.

Outra grandeza útil é a permeabilidade relativa (μ_r), expressa pelo quociente (μ/μ_0). Uma grande permeabilidade relativa significa que o material amplifica o efeito do campo magnético. Essa grandeza serve para medir a intensidade do campo magnético induzido. A permeabilidade magnética de um material ferromagnético não é constante, variando quando o material é magnetizado.

Os materiais magnéticos facilmente magnetizáveis são os que têm elevadas permeabilidades magnéticas máximas. A magnetização de um material magnético é proporcional ao campo aplicado. É possível definir um fator de proporcionalidade designado por susceptibilidade magnética (χ), segundo a Equação (2.4):

$$\chi = M/H \quad (2.4)$$

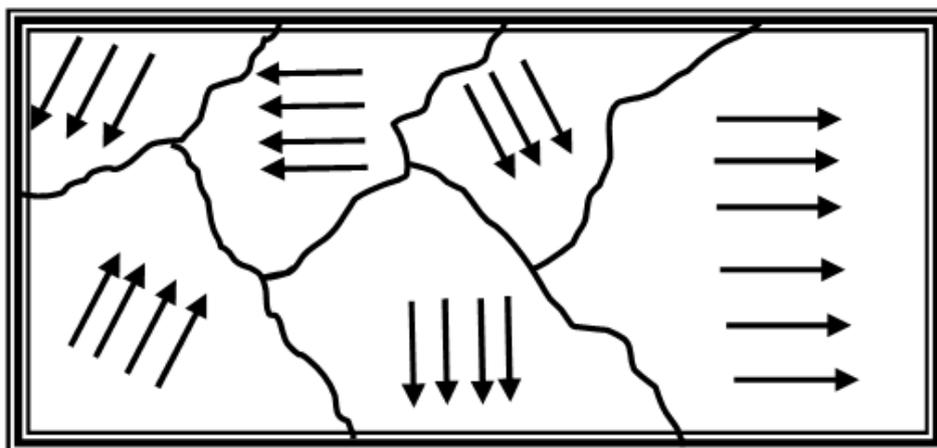
No magnetismo, a susceptibilidade magnética mensura a capacidade que um material tem de magnetizar-se sob a ação de uma estimulação magnética ao qual é submetido.

2.3.2 Domínios magnéticos

Materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos podem existir tanto no estado magnetizado quanto desmagnetizado, e isto se deve à orientação (alinhamento) dos momentos magnéticos atômicos ou moleculares no material. Cada átomo se comporta como um minúsculo ímã permanente e, eventualmente, se alinha em paralelo com os seus vizinhos em regiões dentro do material (FARIA R.N.; LIMA, L.F.C.P., 2006). Tais regiões são denominadas domínios magnéticos.

O conceito de domínio tem sua origem na necessidade de explicar o comportamento de materiais magnéticos desmagnetizados, mesmo possuindo magnetização espontânea diferente de zero. O fato é que, embora certas regiões no interior do material estejam magnetizadas em uma direção, de forma espontânea, os domínios estão arranjados aleatoriamente uns em relação aos outros. Assim, a energia total do conjunto é minimizada e, como resultado, tem-se uma magnetização nula (SOARES J., F. H. 2012). A Figura 7 representa a formação de domínios magnéticos posicionados aleatoriamente em uma amostra policristalina.

Figura 7: Domínios magnéticos posicionados aleatoriamente em uma amostra policristalina



Fonte: FARIA, R.N.; LIMA, L.F.C.P, 2005

Um material ferromagnético, após ser aquecido acima da temperatura de Curie (T_c) e resfriado, se divide espontaneamente em domínios magnéticos aleatórios, nos quais os momentos magnéticos estão alinhados paralelamente, conforme ilustrado na figura 7, mas sem resultar em um campo externo, uma vez que os domínios encontram-se dispostos aleatoriamente. A razão para a formação de domínios é encontrada no balanço de energia envolvida nesse processo. Quatro contribuições energéticas básicas estão envolvidas nesse fenômeno:

- Energia de troca;
- Energia magnetostática;
- Energia de anisotropia;
- Energia magnetostritiva.

Assim, a energia total é dada pela soma destas quatro contribuições.

Um sistema sempre tende para o estado de menor energia e, para que a energia de um material ferromagnético, antiferromagnético ou ferrimagnético seja mínima, deve haver a formação de domínios magnéticos em seu interior (FARIA, R.N.; LIMA, L.F.C.P., 2005).

Dessa forma, cada uma das energias anteriores é minimizada de acordo com certas particularidades. Para a energia de troca, é necessário alinhar todos os momentos de dipolos atômicos paralelamente. Em se tratando da energia magnetostática, que é a energia de um campo magnético externo, esta será mínima

quando o campo magnético externo for reduzido – isso pode ocorrer quando se reduz o tamanho das partículas. A energia de anisotropia é mínima, quando a magnetização ocorre numa direção cristalográfica, denominada de fácil magnetização. A energia magnetostritiva, associada à deformação de um corpo provocada pela ação de um campo magnético, é minimizada quando o material estiver orientado de tal maneira que ocorrerão mudanças em suas dimensões ao longo do eixo de magnetização.

A região que separa dois domínios vizinhos magnetizados em direções diferentes é conhecida como parede de domínios, ilustrada na Figura 8. A mudança na direção dos spins não ocorre de forma descontínua de um plano cristalino para o seguinte, mas sim de modo gradual, ao longo de vários planos atômicos (KITTEL, C.; 2006). Embora dois domínios se encontrem magnetizados em direções diferentes, eles podem permanecer na mesma direção, devido à interação de troca entre os mesmos. Portanto, a redução da energia total é provocada pela anulação dos momentos entre os domínios. Quando o tamanho de uma partícula é reduzido, a densidade de spins presentes na parede de domínio aumenta. Sendo assim, abaixo de um determinado diâmetro crítico (D_c), a fração de spins é tal que o aumento da energia de troca é maior que a diminuição da energia dipolar, fazendo com que a criação de domínios fique dispendiosa do ponto de vista energético. Então, a partícula torna-se um monodomínio.

Figura 8: Ilustração mostrando dois domínios com magnetização antiparalelos separados por uma parede de Bloch



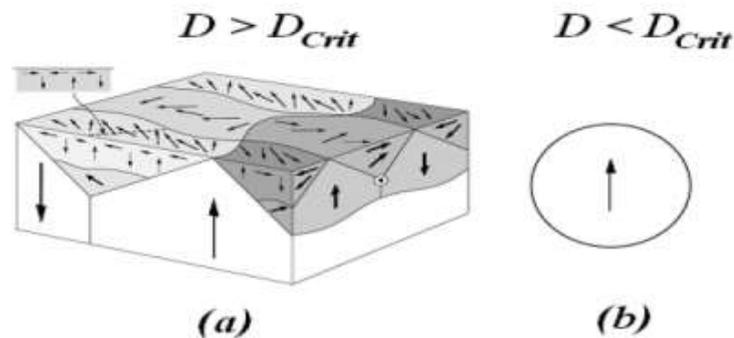
Utilizando a Equação (2.5), pode-se determinar se as nanopartículas de dado material são multidomínios ou monodomínios. Na expressão, A é a constante de energia de troca e M_s é magnetização de saturação do material.

$$D_c = 2\sqrt{A}/M_s \quad (2.5)$$

Assim, se o diâmetro da nanopartícula for inferior ao diâmetro crítico ($D < D_c$), ela será monodomínio, do contrário, será multidomínio. Com isso, os momentos magnéticos num monodomínio possuem uma mesma direção.

A Figura 9 mostra a relação do diâmetro da nanopartícula (D) com o diâmetro crítico (D_c), assim como a orientação dos momentos em cada caso.

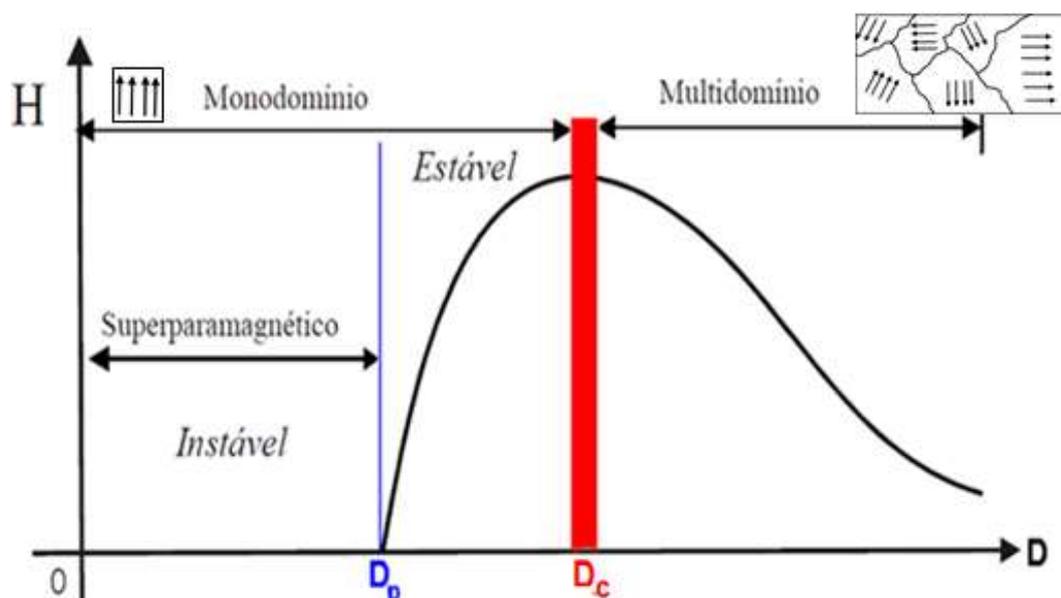
Figura 9: (a) Multidomínios com diâmetro (D) maior que o diâmetro crítico (D_c); (b) Monodomínios com diâmetro (D) menor que o diâmetro crítico (D_c)



Fonte: FARIA, R.N.; LIMA, L.F.C.P., 2005

Isso ocorre, pois a formação de domínios tem um custo energético relacionado à energia de troca entre os átomos vizinhos. Portanto, o sistema só cria paredes de domínio se isto for energeticamente favorável. A Figura 10 ilustra a magnetização do material em função do D_c .

Figura 10: Magnetização das nanopartículas em função do diâmetro (D_c)



Fonte: CULLITY, B. D., GRAHM, C. D., 2009

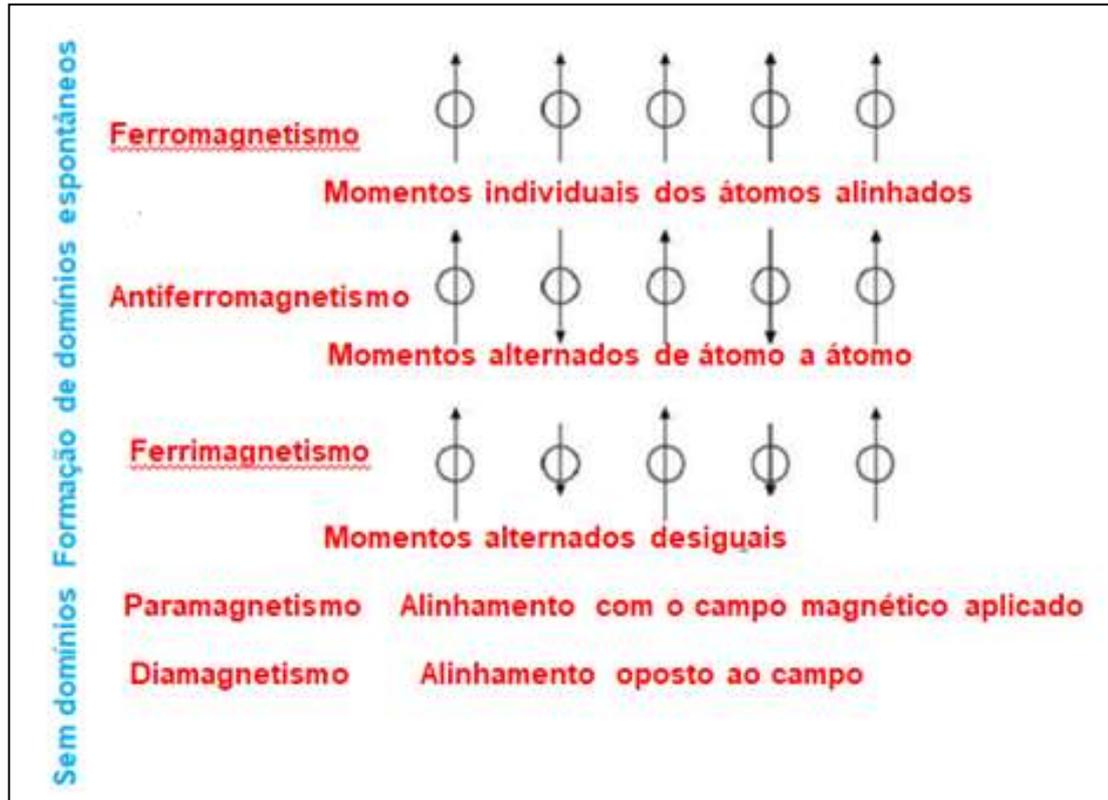
2.3.3 Tipos de magnetismo nos materiais

Os materiais podem ser organizados em diferentes tipos, como ferromagnético, antiferromagnético, ferrimagnético, paramagnético e diamagnético, entre outras, dependendo da sua resposta a um campo magnético externo aplicado (GUPTA, A.K., GUPTA, M., 2005).

Cada tipo de átomo possui características magnéticas diferentes, logo, o somatório dos momentos magnéticos de cada átomo ditará o comportamento magnético de cada material (BORDINI, C. V., 2006). De particular interesse neste trabalho são os materiais ferromagnéticos, por terem um efeito magnético forte, sendo capazes de produzir energia magnética em presença de um campo magnético oscilante, suficiente para obter temperatura desejável no interior de tecidos cancerígeno. Abaixo de uma determinada temperatura, determinada temperatura de Curie (T_c), um material ferromagnético possui uma magnetização espontânea, isto é, todos os momentos magnéticos numa região de escala microscópica (domínios) estão alinhados. Acima da temperatura de Curie, o material passa a ter comportamento paramagnético (SINNECKER, J.P., 2000).

A Figura 11 representa os diferentes tipos de comportamento magnéticos.

Figura 11: Diferentes tipos de comportamentos magnéticos



Fonte: BORDINI, 2006

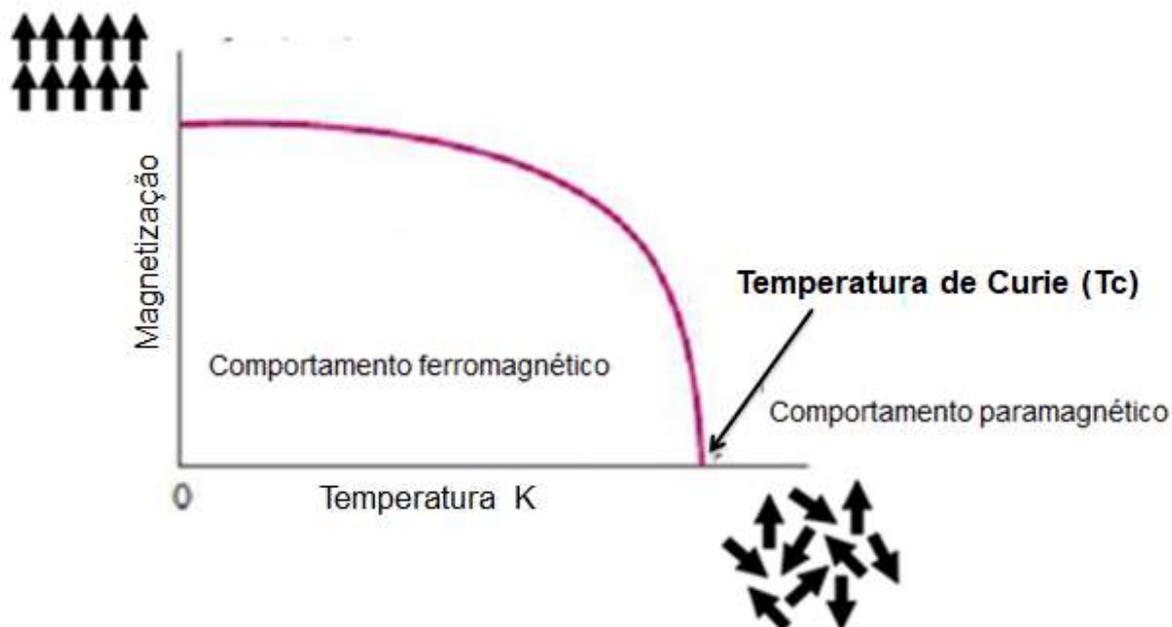
2.3.4 Histerese Magnética

O comportamento magnético é a resposta macroscópica do material quando está submetido a campos externos. Quando a temperatura de um material ferromagnético é aumentada, a energia térmica acrescentada aumenta a mobilidade dos domínios, facilitando o alinhamento destes, mas impedindo-os também de se manterem alinhados quando o campo é removido. Conseqüentemente, a saturação magnética, a remanência e o campo coercivo (H_c) são todos reduzidos, tendendo a zero, até alcançar a temperatura de Curie (T_c).

Se a temperatura exceder a temperatura de Curie, o comportamento ferromagnético desaparece. A temperatura de Curie, que depende do material em questão, pode ser alterada através da mistura de novos elementos nas composições das cerâmicas (ASKELAND, D. R., 1998).

A Figura 12 apresenta o comportamento característico da magnetização M em função da temperatura T de um material magnético.

Figura 12: Efeito da temperatura na magnetização de saturação de um material ferromagnético abaixo da sua temperatura de Curie T_c . Um aumento de temperatura provoca o desordenamento dos momentos magnéticos



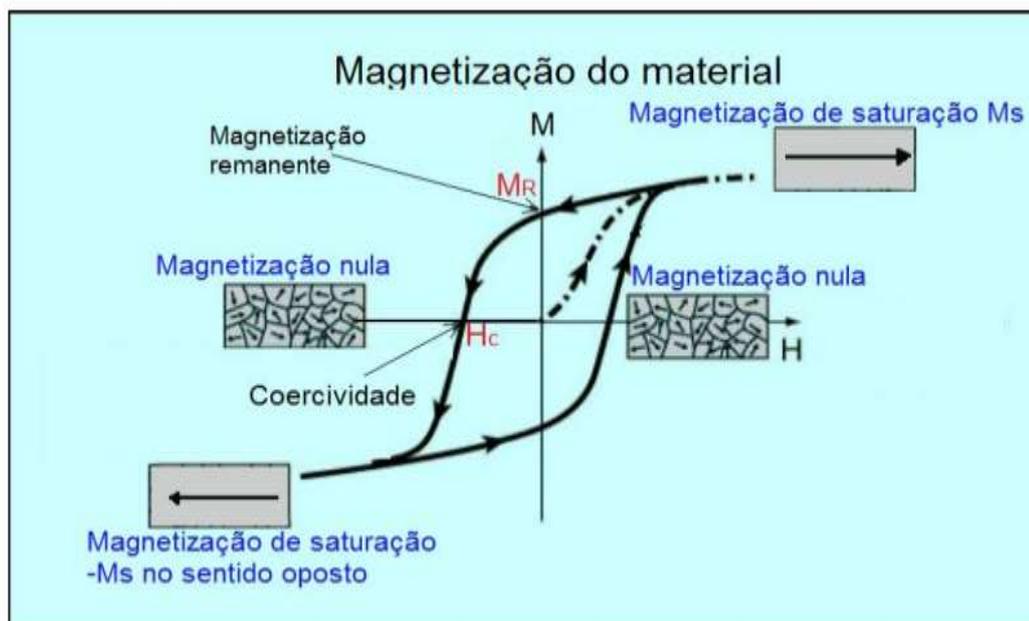
Fonte: HARRIS, L. A., 2002

Quando a temperatura ultrapassa o valor de T_c , o sistema passa da fase ordenada (momentos magnéticos alinhados) para a fase paramagnética, sofrendo assim uma transição de fase (HARRIS, L.A., 2002).

Uma forma de estudar os processos de magnetização num material ferromagnético é submetê-lo a um campo externo oscilante e seguir o comportamento da magnetização total do material, à medida que o campo aplicado se altera. Pode-se então traçar uma curva de magnetização em função do campo. Esta curva será uma somatória de todos os processos reversíveis e irreversíveis de magnetização que vão ocorrendo à medida que o campo varia.

Este estudo é feito através das curvas de magnetização, que normalmente apresentam uma histerese e, por isso, são também conhecidas por curvas de histerese (RESNIK, H.; WALKER, J. et al., 2009). A medida experimental da magnetização (M) em função do campo magnético aplicado (H) é ilustrada na Figura 13.

Figura 13: Ciclo de histerese de um material magnético



Fonte: RESNIK, H.; WALKER, J. et al., 2009

O ciclo de histerese de um material magnético é obtido ao aplicar sobre ele um campo magnético (H) e medir sua magnetização de saturação (M_s). O campo inicialmente é nulo e é aumentado gradativamente, até o material não mudar mais sua magnetização com a aplicação de campo, atingindo a magnetização de saturação (M_s). Depois, ele é reduzido até atingir novamente o valor nulo. Entretanto, após a aplicação do campo, geralmente o valor da magnetização não é o mesmo da magnetização inicial, sendo chamada magnetização remanente (M_r). O sentido do campo é, então, invertido e vai sendo aumentado mais uma vez. O campo reverso necessário para fazer com que a magnetização retorne ao valor nulo é conhecido como campo coercivo (H_c). O campo continua sendo aumentado até o material alcançar novamente o valor de saturação no sentido inverso. O campo é posteriormente reduzido e mais uma vez invertido, até fechar o ciclo. Em linhas gerais, o ciclo de histerese mostra o quanto um material se magnetiza sob a influência de um campo magnético externo e o quanto de magnetização permanece nele após a retirada do campo (KNOBE, I. M., 2006).

Os retângulos com seta, representados na Figura 13, sugerem a existência de domínios magnéticos no material. Na verdade, as setas representam os momentos

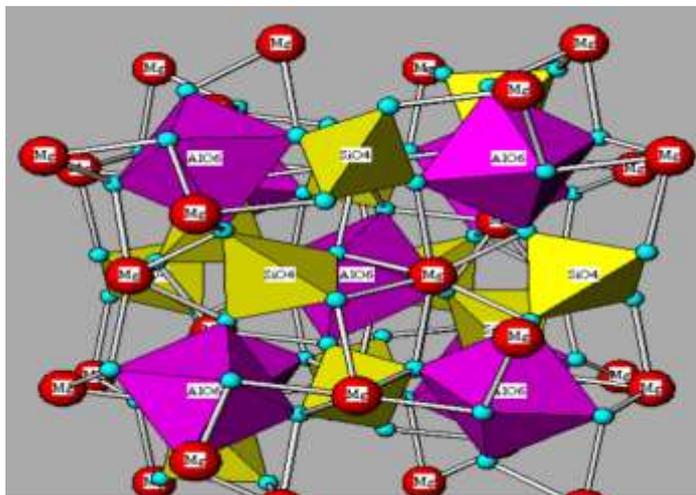
magnéticos, algo como ímãs microscópicos responsáveis pela magnetização do material. No estado desmagnetizado, os momentos magnéticos dos domínios apontam aleatoriamente em todas as direções. É por isso que nesse estado a magnetização total é nula. À medida que a intensidade do campo magnético H aumenta, os momentos magnéticos tendem a seguir a orientação do campo externo. Os momentos magnéticos que apontam no sentido do campo externo produzem a magnetização do material, que cresce até a magnetização de saturação, e este é um processo que exige energia. Se o campo for retirado, o material não retorna imediatamente à condição inicial, pois ainda exibe uma magnetização remanente. Esta magnetização remanente foi motivada pelo atraso da desmagnetização em relação ao campo externo. Este fenômeno recebeu a denominação de histerese, que em grego significa atraso.

A existência da magnetização remanente implica que parte dos momentos magnéticos ainda permanece orientada. Ou seja, no retorno rumo à magnetização nula, o material não devolve imediatamente toda a energia que gasta no processo inicial. Parte dessa energia fica temporariamente armazenada e será devolvida após um breve intervalo. Quer seja imediatamente ou após algum tempo, a energia devolvida ou perdida, conforme o ponto de vista aparece sob a forma de calor, cuja quantidade é proporcional à área englobada pelo ciclo de histerese, que corresponde ao ciclo fechado.

2.3.5 Nanopartículas Magnéticas de $Y_3Fe_5O_{12}$

As granadas naturais pertencem a uma ampla classe de minerais cuja fórmula química ideal é $M_3^{2+} M_2^{3+} Si_3^{4+} O_{12}$, onde M representa um cátion metálico bivalente ou trivalente segundo o caso. Sua estrutura provém de uma pedra semipreciosa; o silicato de alumínio e manganês. A Figura 14 mostra a estrutura cristalina de uma granada natural do tipo $Mg_3Al_2(SiO_4)_3$. A Figura 14 mostra a estrutura cristalina de uma granada natural do tipo $Mg_3Al_2(SiO_4)_3$.

Figura 14: Estrutura cristalina da granada natural $Mg_3Al_2(SiO_4)_3$



Fonte: ZANATTA, S. C., 2006

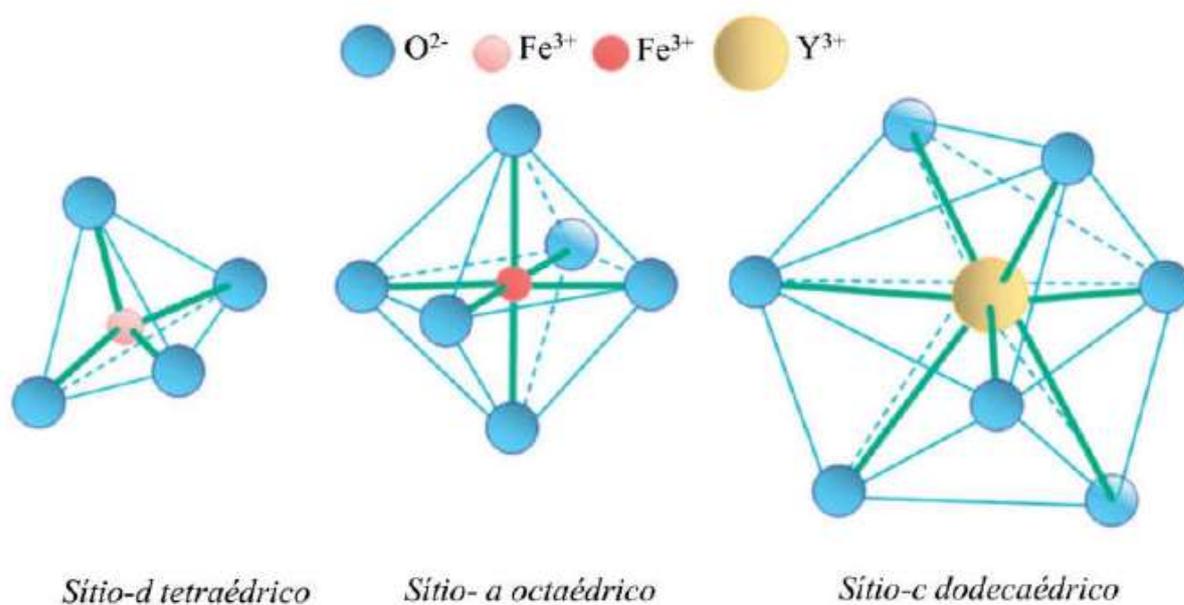
Em 1956, sintetizou-se pela primeira vez um óxido com a fórmula química $Y_3Fe_5O_{12}$, conhecido abreviadamente por YIG (*yttrium iron garnet*), com a mesma estrutura cristalina das granadas naturais, o que o levou a ser classificado como tal (A. S. HUDSON, 1970). Posteriormente, verificou-se que muitos outros compostos isoestruturais poderiam ser sintetizados, como o $Gd_3Fe_5O_{12}$, $Y_3Fe_5O_{12}$, $Y_3Al_5O_{12}$, e outros.

As propriedades magnéticas destas NPMs estão diretamente relacionadas com os elétrons da camada incompleta dos cátions do metal. Nessas camadas, os números quânticos orbitais e de spin dos elétrons desemparelhados combinam com os momentos magnéticos dos demais elétrons (BUCHANAN, R.C. 1991). A combinação desses momentos resulta no momento magnético do átomo.

As fases de óxido contendo ferro, com estrutura cúbica de fórmula $A_3B_5O_{12}$, têm sido objeto de extensas investigações. Estes óxidos possuem propriedades magnéticas, magneto-ópticas, térmicas, elétricas e mecânicas únicas, como ferromagnetismo, resistência ao dano por radiação, alta condutividade térmica, alta resistência elétrica, magnetização de saturação controlável, coeficientes moderados de expansão térmica, eficiência na transferência de energia, entre outras. Tais propriedades fazem deste material adequado para diversas aplicações (MOLTLAGH, Z. A., MOZAFFARI, M., AMIGHIAN, J., 2009).

A cerâmica de ítrio e ferro tem simetria cúbica ($Ia3d$), cuja fórmula mínima é representada por $Y_3Fe_2(FeO_4)_3$, com oito fórmulas por célula unitária, com constante de parâmetro de rede $a = (12,376 + 0,004) \text{ \AA}$ e densidade medida por difração de raios-x de 5170 kg/m^3 à temperatura ambiente (M. N. AKHTAR, et al., 2016). Há três tipos de sub-redes: tetraédrica, octaédrica e dodecaédrica, sendo circundados, respectivamente, por quatro, seis e oito íons de oxigênio. Na Figura 15 mostram-se os três sítios diferentes ocupados pelos cátions cerâmica de ítrio e ferro. Cada cátion tem quatro íons de oxigênio (O^{2-}) como vizinhos mais próximos, sendo dois dodecaédricos, um octaédrico e um tetraédrico. Isto é, cada íon de oxigênio pertence simultaneamente a dois dodecaedros, um octaedro e um tetraedro.

Figura 15: Diagramas esquemáticos dos três sítios diferentes ocupados por cátions na cerâmica de ítrio e ferro



Fonte: A. B. Harris, 1993

Entre os cinco íons de ferro, que representam uma fórmula unitária, três estão em 24 sítios octaédricos e dois estão em 16 sítios tetraédricos (PARDAVI-HORVATH, M., 2000). Um momento magnético de $5 \mu_B$ por fórmula unitária resulta de interações antiferromagnéticas de supertroca entre íons Fe^{3+} nestes dois sítios através da intervenção de íons O^{2-} (THONGMEE, S., et al., 1999). Algumas

propriedades magnéticas, como magnetização, remanência e coercividade, dependem criticamente da estrutura e da microestrutura dos materiais. Cerâmicas de composição $Y_3Fe_5O_{12}$ são ainda de importância científica, devido à vasta variedade de propriedades magnéticas que podem ser obtidas substituindo-se o ítrio por metais terra-rara ou substituindo-se o ferro por outros cátions trivalentes (MOLTLAGH, Z. A., MOZAFFARI, M.; AMIGHIAN, J., 2009).

Estudos cristalográficos e magnéticos mostraram que o alumínio é uma boa opção para modular a temperatura de Curie (GRASSET, F et al; 2001). A substituição parcial dos íons Fe^{3+} por íons Al^{3+} diminui a interação de supertroca antiferromagnética entre os íons Fe^{3+} dos sítios octaédricos e tetraédricos, levando à diminuição da magnetização de saturação, visto que o alumínio é paramagnético.

O alumínio substituído na cerâmica $Y_3Fe_5O_{12}$ leva à diminuição da magnetização de saturação, e a temperatura de Curie é reduzida próxima à temperatura do corpo pelo ajuste da relação Fe/Al, tornando essas partículas autorreguladas e protegidas para aplicações na magnetohipertermia (GRASSET, F.; et al; 2001).

2.3.6 Métodos de Síntese das Cerâmicas Ferromagnéticas (YFeAl)

As cerâmicas são extremamente sensíveis às suas condições de processamento e obtenção, portanto, suas propriedades magnéticas apresentam grande dependência com a microestrutura. Muitos métodos de síntese têm sido desenvolvidos com o propósito de produzir nanopartículas, com baixo grau de aglomeração e estreita faixa de distribuição de tamanho.

Os métodos químicos baseados na obtenção de nanopartículas a partir de uma solução são considerados promissores por possibilitarem não só o controle do tamanho das partículas, como também da sua morfologia (ALIVISATOS, 1996; HYEON, et al., 2002).

2.3.6.1 Método dos precursores poliméricos

Existe hoje uma gama muito extensa de métodos sendo desenvolvidos para a produção de pós cerâmicos. A utilização de tais métodos tem sido de grande relevância nos dias atuais, uma vez que as propriedades importantes de uma cerâmica dependem, em uma grande parte, das características originais dos pós

utilizados, visto que as características são afetadas pelos métodos empregados na obtenção destes pós.

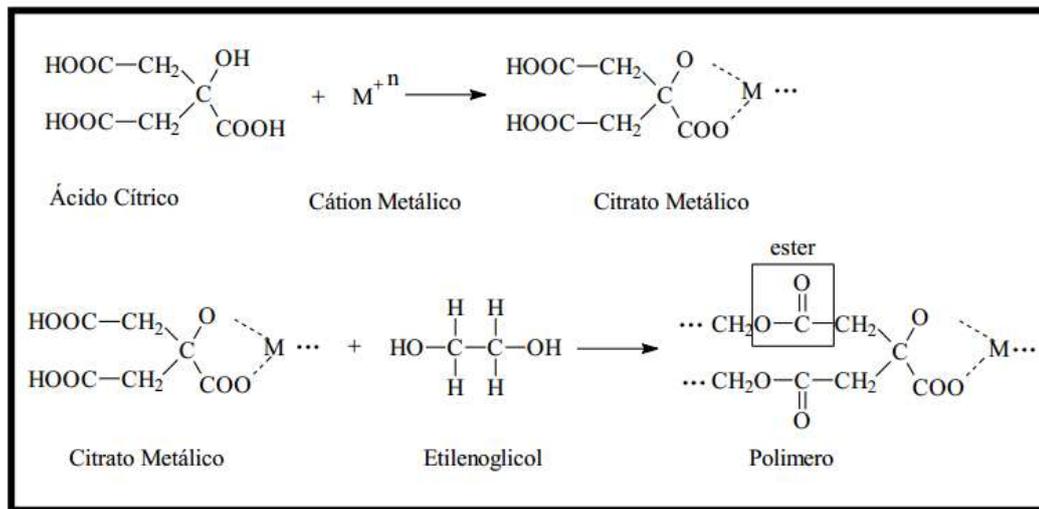
Entre dos diversos métodos de síntese química utilizados para a preparação dos pós, o método dos precursores poliméricos, também conhecido como método Pechini, que foi patenteado por Magio Pechini em julho de 1967, tem sido bastante investigado para a síntese de cerâmicas, destacando-se como um processo alternativo e promissor para a obtenção de pós nanométricos (COSTA et al., 2006). O princípio básico deste método é obter uma resina polimérica que inclui polímeros ramificados, ao longo dos quais os cátions são distribuídos uniformemente (LIMA, U. R., 2006).

Aquecendo a resina polimérica a altas temperaturas (em torno de 300°C), ocorre a quebra das ligações poliméricas, e um tratamento térmico adicional apropriado produz um pó fino de óxido metálico. Apesar da termoplasticidade do polímero, acredita-se que a degradação menos pronunciada de vários cátions ocorra durante o tratamento térmico, devido à baixa mobilidade dos cátions nos polímeros ramificados. Devido a este caráter notável, esta técnica tem uma vantagem com relação às outras, em particular na síntese de óxidos multicomponentes complicados, em que é crucial para se obter um precursor homogêneo com elementos bem intercalados (CASALI, 2001).

O método Pechini, utiliza o ácido cítrico e o etilenoglicol. Tendo o ácido cítrico três grupos carboxílicos e um grupo alcoólico na molécula, formam-se quelatos muito estáveis com vários cátions metálicos. Juntamente com o etilenoglicol, sofre facilmente esterificação em temperaturas moderadas entre 100 e 200°C.

Em contraste com os métodos convencionais de preparação de metais suportados, o uso de uma matriz orgânica como hospedeira conduz à obtenção de óxidos metálicos de tamanhos uniformes e dispersão homogênea de agrupamentos de átomos metálicos (DING, J. H.; GIN, D. L., 2000). Desta forma, o sistema polimérico resultante tem uma distribuição uniforme de cátions por toda a rede. Assim, o polímero deve ser calcinado em temperaturas controladas para produzir óxidos de partículas finas (LOPES, K. P., 2004). A ilustração deste método é mostrada na Figura 16.

Figura 16: Método dos precursores poliméricos - Quelação do metal e formação da cadeia polimérica



Fonte: E.L. FAROU, M.H.; MIYAHARA, R.Y., 2011

Durante o aquecimento, ocorre a poliesterificação e a maior parte do excesso de água é removida, resultando numa resina polimérica sólida, que pode ser dissolvida em água, dependendo da relação estequiométrica dos reagentes. Após esse estágio, com aquecimento a 300°C , o poliéster é decomposto em CO_2 e água, eliminando o excesso de material orgânico. Subsequentemente, os cátions são oxidados entre 500 e 1000°C para formar cristais de óxidos mistos na estequiometria requerida (ZANETTI, 1997).

Alguns parâmetros devem ser considerados na escolha do método a ser utilizado na síntese de nanopartículas, sendo aqueles que se direcionam a um melhor controle de área superficial, menor tamanho de partículas e baixo grau de aglomeração. Dessa maneira, o método em questão se destaca em relação aos outros métodos de síntese química, pois garante uma granulometria controlada, estrutura cristalina estável e alta pureza (CARRENO, et al., 2002).

2.4 MATERIAL DE REVESTIMENTO

Para o emprego das cerâmicas ferromagnéticas em aplicações biomédicas, as espécies presentes na superfície das partículas desempenham papel de mesma ou até maior importância que a natureza do núcleo metálico (EFFENGERGER, 2012). Para uso *in vivo*, o recobrimento das NPMs é um fator determinante, uma vez que possibilita a estabilidade das partículas e suas interações com o organismo. Quando dispersas em solução, elas tendem a formar aglomerados sob duas formas diferentes: através da floculação (pequenos agregados) ou coagulação (agregados mais densos), dependendo do tempo que permanecem em repouso. Nesse sentido, o recobrimento impede essa aglomeração, aumentando a estabilidade das NPMs, deixando-as com baixa toxicidade e tornando-as biocompatíveis.

Além disso, existe ainda a possibilidade de prover grupos funcionais à superfície para favorecer a derivação, evitar a captação (*uptake*) imediata pelo sistema reticuloendotelial (SER) e, finalmente, evitar a ligação do ferro com componentes do sangue (GAOA, J.; XU B., 2009). Para essas aplicações, as nanopartículas magnéticas devem atravessar a barreira endotelial e se acumularem especificamente nas células alvo, sem danos às células normais.

O principal objetivo do revestimento das NPMs é permitir a biocompatibilidade entre o material magnético e o meio biológico a qual está inserida, isolando-a fisicamente do ambiente de aplicação. O material de parede consiste na barreira externa e geralmente é feito de compostos que formam uma rede com a estrutura. Esses compostos são normalmente polímeros.

Existe uma variedade de técnicas de revestimento, sendo que neste projeto foi utilizada a técnica de nanoencapsulamento por dispersão polimérica. Na dispersão polimérica, a fase orgânica (constituída de uma mistura de monômeros, de iniciador e de uma mistura de diluentes orgânicos) é dispersa por meio de agitação mecânica, sob a forma de gotas esféricas em uma fase aquosa. Durante a polimerização ocorre separação de fases, originando uma fase rica em polímero e outra rica em diluente. O polímero precipita na forma de esferas separando-se como um aglomerado de nanoesferas. Em seguida, ocorre a ligação das nanoesferas pela polimerização dos monômeros residuais que as solvatam.

A estrutura morfológica formada depende da afinidade termodinâmica do diluente pelo polímero. Se o diluente apresentar afinidade pelo polímero, na etapa

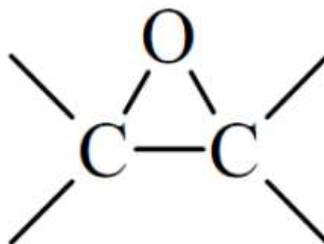
de separação de fases, as cadeias poliméricas e os núcleos se tornam menos emaranhados e, conseqüentemente, as nanoesferas mais solvatadas se apresentam menos compactadas, originando um maior número de poros de tamanho pequeno.

Nesta pesquisa realizou-se o revestimento das cerâmicas com uma matriz epóxi, usando como monômero o éter diglicídico do bisfenol A (DGEBA) e como agentes de cura, aminas cicloalifáticas.

2.4.1 Polímeros epóxi

Entre as diversas classes de polímeros epóxi, os oligômeros à base de bisfenol A são os mais estudados e utilizados. Muitos componentes de materiais feitos à base de polímeros epóxi apresentam excelentes propriedades mecânicas, térmicas e elétricas e facilidade de processamento. Fatores importantes que influenciam seu desempenho são o arranjo molecular, as condições de cura e a relação entre o oligômero epóxi e o agente de cura (LEVY NETO, F.; PARDINI, L.C. 2006). O oligômero epóxi contém em sua molécula dois ou mais anéis epóxi (Figura 17), sendo que estes grupos geralmente se encontram no extremo da molécula.

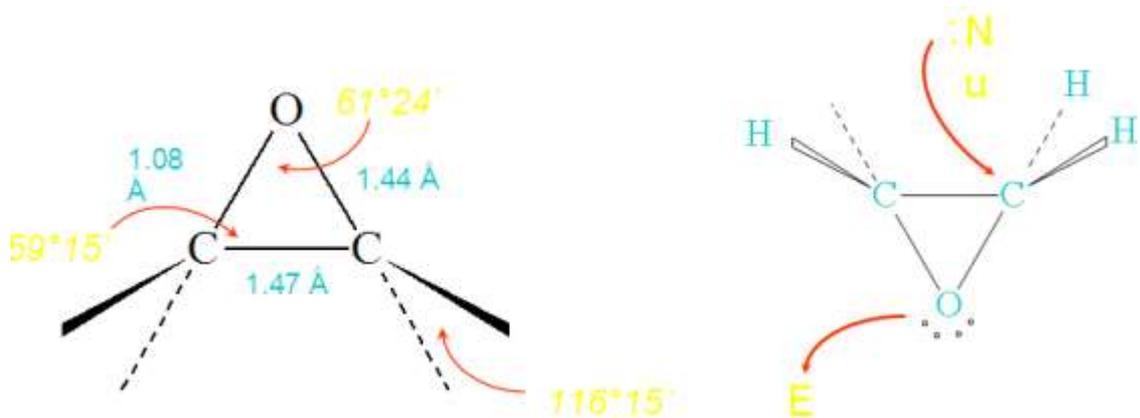
Figura 17: Representação do anel epóxi



Fonte: UGLEA, 1998

O anel epóxi tem a forma aproximada de um triângulo equilátero, ou seja, vínculo com ângulos de cerca de 60°, o que o torna extremamente tenso. O anel epóxi torna-o mais reativo do que outros, especialmente no sentido dos nucleófilos, como representado na Figura 18 (a) e (b).

Figura 18: Estrutura do anel epóxi (a), Mecanismo de ruptura (b)



Fonte: UGLEA, 1988

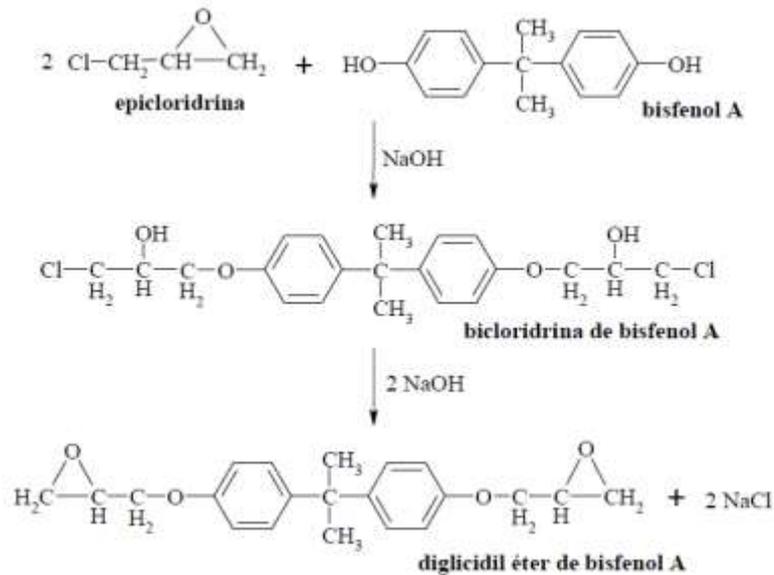
Devido à grande reatividade do anel epóxi na sua estrutura, este pode sofrer uma abertura e posterior reticulação da resina com um considerável número de compostos químicos, tais como aminas alifáticas e aromáticas, anidridos de ácido e poliamidas, etc. (UGLEA, 1988).

Desse modo, diversos sistemas epóxi podem ser escolhidos, obtendo-se diferentes propriedades mecânicas, físicas e resistência química em função do tipo do composto, ou seja, do tipo de oligômero epóxi e endurecedor empregado. Para o sistema epóxi escolhido, as propriedades finais também podem ser modificadas, variando parâmetros de processo. Os principais parâmetros incluem a seleção do agente de cura, a proporção entre a resina e o agente de cura, o tempo e a temperatura de cura (F. GONZÁLEZ-GARCIA. et al., 2005).

2.4.2 Sistemas epóxi à base do éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA) e aminas cicloalifáticas

O composto químico mais comum utilizado para sintetizar o oligômero epóxi é o bisfenol A (2,2-bis (4-hidróxi-fenil) propano, que reage com a epícloridrina (2,3-epoxi-1-cloropropano) na presença de hidróxido de sódio como catalisador, para produzir o éter diglicidílico do bisfenol (DGEBA) (UGLEA, 1998).

Para a produção do DGEBA, dois moles de epícloridrina reagem com uma solução básica de bisfenol A, representadas nas equações da Figura 19.

Figura 19: Equações que representam a reação de obtenção do DGEBA

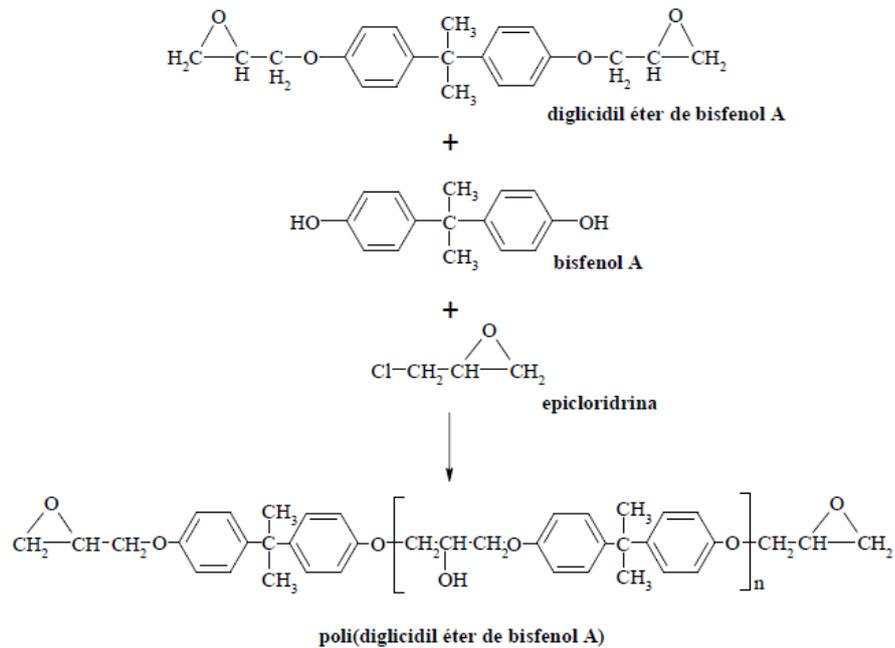
Fonte: UGLEA, 1998

À primeira vista, a reação mostra ser em duas etapas: na primeira utilizando hidróxido de sódio como catalisador, e na segunda utilizando hidróxido de sódio como reagente. Porém, a prática adotada industrialmente para produzir oligômeros sólidos e líquidos é utilizar um alto excesso de epicloridrina. Sob estas condições, a epicloridrina e o diglicidil éter de bisfenol A competem entre si para reagir com o bisfenol A não consumido. Como consequência, macromoléculas de bisfenol A são sempre produzidas, como representado na Figura 20.

Os valores de n nas resinas comuns no mercado podem variar em valores que vão desde 0,03 até 10. À temperatura ambiente, os monómeros são sólidos cristalinos para valores de n próximos de zero, líquidos para $n = 0,5$ e sólidos amorfos com uma temperatura de transição vítrea (T_g) entre 40 e 90°, para valores de n maiores que 0,5 até 10.

No caso de resinas líquidas, a viscosidade merece atenção especial, pois é dependente da temperatura, e a alteração em poucos graus pode produzir diferenças significativas nas características de processamento.

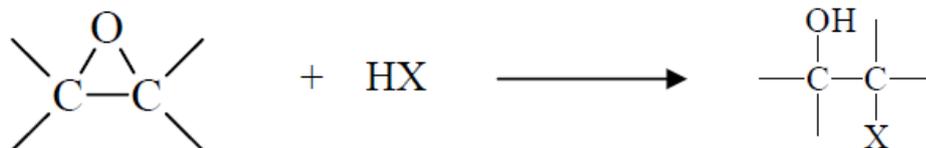
Figura 20: Equação que representa a competição entre o bisfenol A e a epiclorigina para a formação do DEGBA



Fonte: UGLEA, 1998

A quantidade de grupos epóxi é relatada em termos de “equivalente epóxi” ou “peso equivalente epóxi” e é definida como o peso da resina em gramas, que contem um equivalente grama de epóxi. Esse parâmetro é utilizado no cálculo da proporção de agente de cura necessário e pode ser determinado por análise de infravermelho ou por titulação com um grupo HX (Figura 21).

Figura 21: Determinação do equivalente epóxi por meio de titulação



Fonte: UGLEA, 1998.

A Tabela 1 mostra algumas propriedades típicas da resina epóxi DGEBA.

Tabela 1: Propriedades típicas da resina epóxi DGEBA

Peso Molecular médio (Mw)	Equivalente Epóxi (EEW)	Faixa de Viscosidade(mPa.s) 25°C
340	172-178	4000-6000
350	178-186	6500-9500
370	186-192	11000-15000

Fonte: GONZÁLES, F. G., 2007

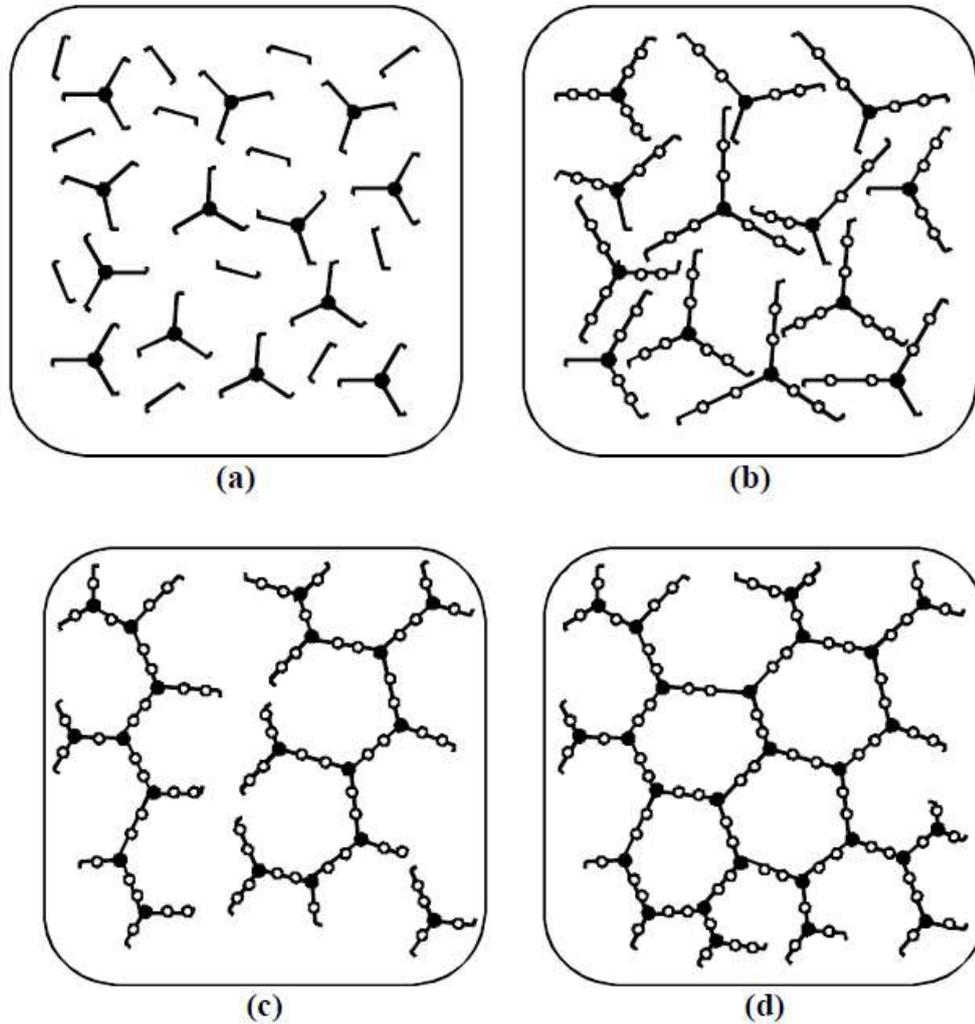
2.4.3 Mecanismo de reticulação dos Sistemas Epóxi/amina

A reticulação dos sistemas epóxi/aminas, também conhecido como cura, significa, na terminologia química, a completa ou total cura, quando todos os grupos reativos, como grupo epóxi ou ácidos carboxílicos, ou os grupos ativos, presentes nas moléculas do oligômero epóxi e hidrogênios ativos presentes no agente de cura, são consumidos durante a reação química.

O excelente desempenho e propriedades mecânicas dos sistemas epóxi são obtidos pela transformação dos precursores em um sistema tridimensional insolúvel e infusível, através da formação de ligações cruzadas, durante a chamada reação de cura. Para isso, o monômero epóxi, e o agente de cura, depois de misturados na estequiometria $e/a = 1$, são tratados pelo calor até alcançar a temperatura de transição vítrea (T_g) máxima do sistema. Isto pode ser influenciado pelos sistemas escolhidos entre os que podem ser processados por diferentes métodos, em determinadas condições de cura e propriedades físicas, químicas e térmicas desejadas.

A cinética de polimerização de resinas epóxi apresenta três estágios de cura bem definidos (R. GARCIA SANSEVERO, 2009). As etapas dos estágios de cura são representadas na Figura 22.

Figura 22: Estágios de cura em polímeros epóxi



Fonte: HADAD, 1988

Inicialmente, com a mistura dos reagentes, ocorre apenas a difusão no estado líquido das moléculas de resina e agente de cura, caracterizando-se como uma etapa de Indução **(a)**. Após um tempo t , inicia-se o crescimento e a ramificação das cadeias poliméricas **(b)**, quando as ligações covalentes começam a cruzar-se, formando uma rede reticulada **(c)**. Esta segunda etapa é chamada de Gelificação e é governada pela cinética química de Arrhenius. O material passa de um estado líquido para um estado de borracha, adquirindo propriedades elásticas não presentes em moléculas de baixo peso molecular. Este material está constituído por uma fração de oligômeros sem reagir e redes entrecruzadas. A viscosidade, no início

constante, neste momento cresce de modo exponencial. Esta transição é denominada tempo de gelificação ou t_{gel} .

Quando a reticulação das cadeias torna-se total, forma-se uma estrutura rígida e as reações químicas cessam, permitindo apenas fenômenos de difusão no estado sólido. Ocorre então a última etapa, que é chamada de vitrificação (**d**) e é marcada por uma transição de um estado líquido ou estado de borracha para um estado vítreo, como consequência do incremento da massa molecular antes da gelificação, ou incremento da densidade de emaranhamento depois da gelificação. O tempo no qual ocorre essa transição é conhecido como tempo de vitrificação t_{vit} .

A T_g é uma propriedade que acompanha as mudanças da transformação química, sendo um parâmetro sensível ao processo de cura. Para materiais termorrígidos, a T_g aumenta com o grau de cura, ou seja, aumenta linearmente durante os estágios iniciais, quando o polímero é levemente reticulado, e exponencialmente nos últimos estágios, quando o polímero é altamente reticulado.

Existe uma grande variedade de agentes de cura para resinas epóxi, os quais são escolhidos mediante o processo de cura e as propriedades requeridas. A temperatura de transição vítrea é uma das propriedades de um programa de cura, que depende da estrutura molecular do endurecedor. A escolha da resina e do endurecedor dependem da aplicação, do processo selecionado e das propriedades desejadas.

Os agentes de cura são compostos químicos polifuncionais usados em conjunto com a resina epóxi em uma proporção estequiométrica, dependendo do sistema (UGLEA, 1998).

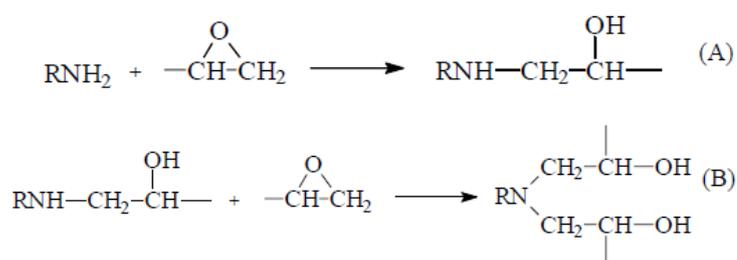
As resinas epóxi podem ser convertidas em um estado vítreo entrecruzado, através da reação com mais de 50 classes de compostos químicos. Aminas, poliamidas, anidridos, ácidos de Lewis, ureias, melanina, complexos de BF_3 , aminas complexas, imidas e outros têm sido utilizados como endurecedores para resinas epóxi, destacando-se, neste cenário, as aminas cicloalifáticas (UGLEA, 1988).

As aminas cicloalifáticas são diferenciadas por ter uma estrutura cíclica. Têm baixa viscosidade e um desempenho térmico-mecânico relativamente mais elevado quando comparado às aminas alifáticas. Temperaturas elevadas de transição vítrea podem ser obtidas com este tipo de amina devido à diferença na estrutura formada a partir de ligações cruzadas. A reticulação formada após a cura está diretamente

relacionada à estrutura cíclica. Estes tipos de estrutura são mais flexíveis que aquelas formadas com aminas aromáticas.

As aminas primárias e secundárias são os agentes de cura mais estudados e utilizados para as resinas epóxi (UGLEA, 1988). Reações com aminas primárias e secundárias são ilustradas nas equações da Figura 23 (A) e (B), respectivamente.

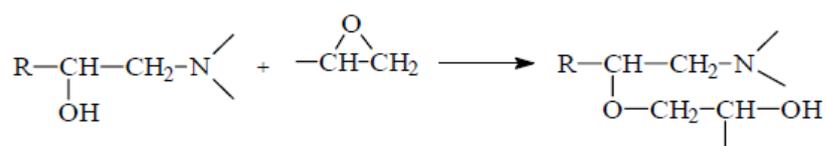
Figura 23: Reação dos grupos epóxi com aminas primárias (A) e secundárias (B)



Fonte: UGLEA, 1988

A reação de um grupo epóxi com uma amina primária inicialmente produz um álcool secundário e uma amina secundária. Essa amina, por sua vez, reage com outro grupo epóxi, produzindo uma amina terciária e outro grupo hidroxila secundário. A reação de cura inicial, com uma amina secundária, produz uma amina terciária e um álcool secundário. Nenhuma reação competitiva é detectada entre um grupo hidroxila secundário da cadeia da resina epóxi e um grupo epóxi gerando um éter, desde que a razão epóxi/amina seja estequiométrica ou com excesso de amina. Entretanto, com excesso de epóxi, os grupos hidroxila secundários, formados gradualmente, reagirão com os grupos epóxi, ocorrendo o que se conhece como reação de homopolimerização, como mostrado na Figura 24 (MARK, H. F.; BIKALES, M. N.; OVERBERGER, C. G.; MENGES, G., 1986).

Figura 24: Reação entre os grupos epóxi e os grupos hidroxila



Fonte: MARK, H. F., 1986

A atuação das ligações cruzadas sobre as propriedades das resinas epóxi tem sido estudada, variando a razão estequiométrica entre o oligômero epóxi e o agente de cura, controlando a densidade de ligações cruzadas (CHOL, J. et al., 2001).

Em geral, quando há um aumento na densidade de ligações cruzadas e mudanças tais como na razão estequiométrica, inevitavelmente haverá alterações nas propriedades dos materiais. A estrutura química (aromático ou alifático), a massa molecular e o número de grupos ativos do agente de cura utilizado também influenciarão na densidade de ligações cruzadas produzidas durante a reação de cura (CHANG, T. D. et al., 1982).

Os oligômeros epóxi, antes da cura, têm características termoplásticas e, após a cura, são convertidos em um sistema termorrígido, sofrendo uma mudança no estado físico do material, partindo de um líquido viscoso para um gel e se transformando em um material vitrificado, o qual apresenta excelentes propriedades adesivas, mecânicas, térmicas e elétricas (GONZÁLEZ, et al., 2007).

Considerando a importância de melhorar a forma de tratamento contra o câncer, e mesmo, contra outras doenças, com metas na redução dos efeitos colaterais, a possibilidade de encapsular o princípio ativo, é o alvo de muitas pesquisas, e neste sentido a síntese de nanopartículas revestidas com polímeros epóxi, com propriedades magnéticas adequadas, e biocompatíveis, destacam-se como um agente promissor de grande importância. Neste sentido, esta pesquisa virá a dar a sua contribuição.

3. CAPÍTULO III - OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi a síntese e caracterização de cerâmicas ferromagnéticas do tipo $YFeAl$ e o seu revestimento com uma matriz epóxi.

Os objetivos específicos desta pesquisa são:

- Síntese das cerâmicas ferromagnéticas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com $x = (1,5 \leq x \leq 1,7)$, pelo método dos precursores poliméricos;
- Silanização das cerâmicas, com alcoxissilanos, fazendo com que, através do grupo amino ativo na superfície do material, seja possível promover uma melhor adesão interfacial entre a superfície das nanopartículas e a matriz epóxi.
- Revestimento das cerâmicas com uma matriz epóxi à base do éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA), utilizando aminas cicloalifáticas como agentes de cura;
- Investigação do comportamento magnético das cerâmicas;
- Investigar o comportamento biocompatível e hemocompatível dos materiais poliméricos, e avaliação de sua viabilidade para uso na magnetohipertermia.

4. CAPÍTULO IV - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese das cerâmicas de YFeAl

Nos últimos anos, o desenvolvimento de cerâmicas ferromagnéticas ganhou grande impulso nas áreas da ciência dos materiais e da química do estado sólido. Para isso, métodos de síntese foram desenvolvidos de forma a possibilitar a obtenção de partículas de YFeAl ferromagnéticas com baixo grau de aglomeração e estreita faixa de distribuição de tamanho.

Em 1967, M. P. Pechini desenvolveu o método dos precursores poliméricos (MPP), o qual tinha inicialmente como objetivo a síntese de titanatos, zirconatos, niobatos e alcalinos terrosos para serem utilizados em capacitores. Esse método tem sido muito utilizado nos dias atuais para sintetizar uma grande variedade de compostos formados por óxidos complexos para a produção de filmes ou pastilhas cerâmicas. No método de Pechini, quelatos polibásicos são formados a partir da reação entre ácidos α -hidrocarboxílicos contendo pelo menos um grupo hidroxila.

Geralmente utiliza-se ácido cítrico ($\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$) com íons metálicos (SEGAL, D. 1997). Os reagentes de partidas geralmente utilizados como fonte de íons metálicos são os nitratos, carbonatos e alcóxidos metálicos. A etapa inicial consiste em misturar 1 mol do íon metálico com 2 a 8 mols do ácido α -hidrocarboxílicos, com o objetivo de manter a estabilidade da resina. Dessa forma, os quelatos são formados. Em seguida, os quelatos sofrem uma reação de esterificação, quando é adicionado álcool polihidroxílico, por exemplo, o etileno-glicol ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$). Quando a mistura é aquecida a aproximadamente 100°C , ocorrem reações de poliesterificação.

Para obter os óxidos na forma de pó, a pirólise do material orgânico e a eliminação de água tornam-se necessárias. A resina polimérica é aquecida aproximadamente à temperatura de 300°C durante um período de tempo, removendo assim os materiais orgânicos. O pó obtido tem dimensões na escala nanométrica (nm), possuindo pouco aglomerado e facilitando a reação para formar o produto desejado, quando submetido ao processo de calcinação. Assim, a quebra das ligações do polímero ocorre em dois estágios distintos: o primeiro estágio ocorre a baixas temperaturas, quando as ligações do tipo éster são destruídas, e o segundo

estágio ocorre quando se realiza a etapa de calcinação do pó, ocorrendo destruição dos sítios nos quais os cátions estão coordenados.

As vantagens do método Pechini quando comparado ao método de reação de estado sólido são a facilidade em preparar composições de óxidos complexos e boa homogeneidade referente ao tamanho das partículas.

O método precursor polimérico foi usado para a síntese da cerâmica de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ ($1,5 \leq X \leq 1,7$), pela substituição parcial do ferro pelo alumínio, o qual não foi ainda reportado na literatura. A primeira parte do procedimento consiste na adição de ácido cítrico em solução dos íons metálicos, a fim de obter um complexo metal-citrato. Após a formação do complexo metal-citrato, o etilenoglicol promove a poliesterificação, obtendo-se uma resina polimérica de poliéster.

Esta resina foi submetida a um tratamento térmico à 300°C , durante 4 horas, para a quebra das cadeias poliméricas e queima do material orgânico. Posteriormente a esta etapa, ocorre à etapa do tratamento térmico, que promove a oxidação dos cátions e a formação da fase cristalina.

Cada estequiometria foi tratada termicamente a 600 , 700 , 800 , 900 e 1000°C , a fim de determinar à qual temperatura ocorre à formação da fase cristalina.

Na Tabela 2, estão descritos os reagentes utilizados para a preparação das cerâmicas, bem como suas fórmulas e origem.

Tabela 2: Reagentes utilizados na síntese das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ pelo método dos precursores poliméricos

Reagentes	Fórmula	Fornecedores	Pureza %
Nitrato de ítrio hexahidratado	$Y(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	Aldrich	99,9
Citrato de alumínio	$AlC_6H_5O_7$	Aldrich	99,9
Citrato férrico amoniacal	$FeC_6H_5O_7 \cdot NH_4OH$	Merck	99,5
Ácido Cítrico	$C_6H_8O_7$	Merck	99,5
Etilenoglicol	$C_2H_6O_2$	Synth	99,5

Fonte: autor

Todos os reagentes foram pesados em quantidades proporcionais à estequiometria, variando de acordo com o valor de x (quantidade de alumínio substituindo átomos de ferro na rede cristalina). A relação ácido cítrico: cátions metálicos foram usados na proporção 3:1 mol. O etilenoglicol foi adicionado a uma razão de 40/60 (% em massa) em relação ao ácido cítrico de acordo com a metodologia proposta por Pechini. O volume do etilenoglicol foi calculado mL, considerando a sua densidade igual a 1,1132 g/cm³.

A Tabela 3 mostra a quantidade em mol de cada reagente de acordo com a estequiometria desejada para uma massa total de 5 gramas final de amostra.

Tabela 3: Quantidade em mol de cada precursor de acordo com a estequiometria estudada, quantidade de ácido cítrico em gramas, e etilenoglicol em mL, considerando a densidade do etilenoglicol igual a 1,1132 g/cm³

Estequiometria	Y(NO ₃) ₃ . 6 H ₂ O	AlC ₆ H ₅ O ₇	FeC ₆ H ₅ O ₇ . NH ₄ OH	C ₆ H ₈ O ₇	C ₂ H ₈ O ₂
Y ₃ Fe _{3,5} Al _{1,5} O ₁₂	21,6 x 10 ⁻³	10,8 x 10 ⁻³	25,2 x 10 ⁻³	36,3 g	21,7 mL
Y ₃ Fe _{3,4} Al _{1,6} O ₁₂	21,6 x 10 ⁻³	11,6 x 10 ⁻³	24,60 x 10 ⁻³	36,3 g	21,7 mL
Y ₃ Fe _{3,3} Al _{1,7} O ₁₂	21,6 x 10 ⁻³	12,3 x 10 ⁻³	23,73 x 10 ⁻³	36,3 g	21,7 mL

Fonte: autor

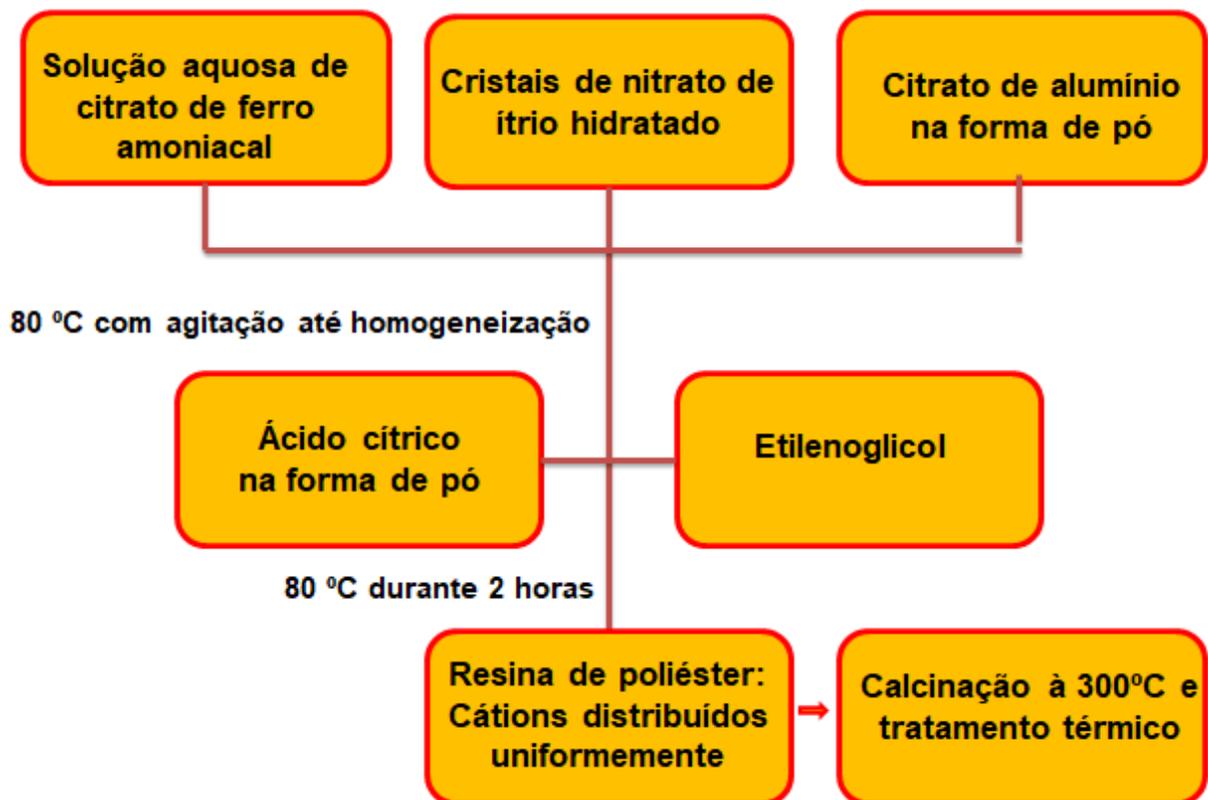
Para a produção da resina, o citrato de ferro amoniacal, na forma de um pó, foi dissolvido em água destilada, mediante aquecimento a 80°C e agitação constante. Separadamente, e sob as mesmas condições, o nitrato de ítrio hidratado, na forma de sólidos cristalinos incolores, também foi dissolvido. Sendo ambos os formadores de rede, a solução de ítrio é misturada à solução de ferro, mantendo-se a agitação e a temperatura. O citrato de alumínio, no estado líquido, é dissolvido, em seguida, na solução.

Na sequência, é adicionado ácido cítrico (na forma de pó) e, em seguida, o etilenoglicol, em quantidades estequiométricas, de acordo com a Tabela 3. O primeiro tem a função de complexar os metais, enquanto o segundo atua

promovendo a polimerização da resina. Foi mantido o aquecimento a 80°C e agitação constante por 2 horas. Na presença de etilenoglicol, ocorre a poliesterificação do ácido cítrico. Logo, o produto final obtido é uma resina de poliéster homogênea de coloração amarronzada e transparente.

Posteriormente, a resina é despejada dentro de um cadinho de alumina e submetida a um tratamento térmico de calcinação a 300°C, com faixa de aquecimento de 10°C/min, sob atmosfera ambiente em forno tipo mufla, para a eliminação da matéria orgânica. O fluxograma ilustrativo das etapas de obtenção dos pós cerâmicos está representado na Figura 25.

Figura 25: Fluxograma ilustrativo das etapas de obtenção dos pós cerâmicos de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, pelo método dos precursores poliméricos



Fonte: autor

4.2 Síntese do material de revestimento

Para um sistema epóxi escolhido, as propriedades finais também podem ser modificadas variando parâmetros de processo. Os principais parâmetros incluem a seleção do agente de cura, a proporção entre a resina e o agente de cura, o tempo e a temperatura de cura. Todas essas variáveis afetam de modo global a estrutura macromolecular formada (F. GONZÁLEZ-GARCIA, 2005). Para a preparação correta da estequiometria $e/a = 1$ entre a resina epóxi e o agente de cura, faz-se necessária a determinação de equivalente epóxi da resina por titulação potenciométrica.

4.2.1 Determinação do equivalente epóxi da resina DGEBA por titulação potenciométrica

O peso equivalente da resina foi determinado pelo método volumétrico usando ácido bromídrico gerado *in situ*, segundo a norma ASTM 1652 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1997). A resina epóxi foi dissolvida num solvente adequado, e a solução resultante foi titulada por ácido bromídrico.

Em um béquer de 150 mL, uma quantidade (Tabela 4) de resina pré-fixada foi pesada com precisão de $\pm 10^{-4}$ g. Posteriormente, neste mesmo béquer com a resina, foram colocados aproximadamente 20 mL de cloreto de metileno, 10 mL de brometo de tetraetilamônio e 6 gotas de cristal violeta como indicador. Depois de homogeneizada, a solução foi titulada com uma solução padronizada de ácido perclórico (0,1610 N). Imediatamente após a solução passar do azul para verde, foi anotado o volume adicionado (bureta de 25 mL, $\pm 0,1$ mL) do ácido. Para o cálculo do peso equivalente de epóxi foram utilizadas as Equações (4.1) e (4.2):

$$E = 4.3 V \cdot N / W \quad (\text{Equação 4.1})$$

$$W_{EEW} = 43.100 / E \quad (\text{Equação 4.2})$$

Onde V é o volume de ácido perclórico utilizado (mL), N é a concentração de ácido perclórico (0,1610 N), W é o peso de resina utilizada (g), E é o percentual de grupos epoxídicos na resina (%) e W é o equivalente epóxi da resina.

Na Tabela 4, são apresentados os valores da titulação potenciométrica da resina epóxi DGEBA, assim como o percentual de epóxi e o equivalente epóxi

calculado a partir das equações (4.1) e (4.2), respectivamente. Os resultados são a média de seis determinações. O equivalente epóxi utilizado nas formulações foi 186 gramas de resina, que contém um equivalente de grupos epóxi (EEW em g eq^{-1}). Estes resultados (Tabela 4) encontrados são comparáveis com os reportados na literatura, 182-192 g eq^{-1} (SHELL CHEMICAL, 1995).

Tabela 4: Resultados da Titulação da Resina Epóxi-DGEBA

DER 331	Massa da resina epoxídica (g)	Volume de ácido Perclórico (mL)	Percentual epóxi (%)	Equivalente epoxídico (geq^{-1})
1	0,4300	13,9	21,9	184,6
2	0,4099	13,7	23,1	186,1
3	0,4051	13,5	23,0	187,0
4	0,4047	15,5	23,1	186,1
5	0,4081	13,6	23,0	186,1
6	0,4099	13,7	23,1	186,1
Média			22,76 \pm 0,1	185 \pm 1,0

Fonte: Produção do próprio autor

Abaixo estão discriminadas as formulações usadas neste estudo:

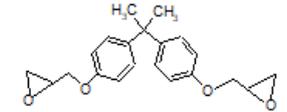
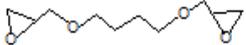
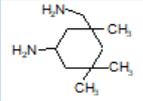
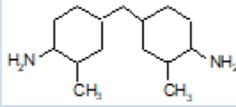
- Éter Diglicidílico do Bisfenol A (DGEBA, DER 331, Dow Química do Brasil) com 185,5 g eq^{-1} de grupos epóxi, que foi determinado por titulação ácida. Este monômero epóxi foi cuidadosamente desidratado a vácuo a 80°C antes de sua utilização;
- Diluente reativo Éter Diglicidílico de 1,4-Butanodiol (DGEBD, Sigma-Aldrich, 60%), com uma massa equivalente de grupos epóxi, conforme determinado por titulação ácida de 123,4 eq^{-1} .

Como agentes de cura, foram utilizadas as aminas cicloalifáticas:

- Agente de cura 5-amino-1,3,3-trimetilciclohexanoamina ou Isoforona diamina (IPD), usado como recebido.
- Agente de cura 4,4'-diamino-3,3'-dimetil-diciclohexilmetano (3DCM, Sigma-Aldrich, 99%), usado como recebido.
- Agente de cura 4-metilpiperidina (4MPip), usado como recebido.

As aminas IPD e 3DCM com uma massa equivalente de grupos hidrogênio-amina de 42,6 e 59,6 g eq⁻¹, respectivamente, determinada por titulação potenciométrica em meio aquoso (GARCIA, F. G. et al., 2007). A estrutura química, fornecedor, pureza e massa molecular dos vários produtos utilizados estão listadas na Tabela 5.

Tabela 5: Estrutura química e características dos monômeros e aminas utilizadas

Monômero	Estrutura química	Fornecedor	M g/mol
DGEBA		Dow Chemical	~371.00
DGEBD		Aldrich 60%	~ 202.25
IPD		Aldrich 99%	~ 170.5
4 MPip		Aldrich 96%	~ 98.17
3DCM		Aldrich 99%	~ 238.41

Fonte: GONZÁLES, F. G., 2007

4.2.1 Preparação das Amostras

As formulações foram preparadas por adição do diluente à resina e, depois, a incorporação do agente de cura, mantendo sempre a proporção estequiométrica de equivalente de grupos epóxi e equivalente de hidrogênio amina igual a um ($e/a=1$). Esta proporção foi baseada na determinação de grupos funcionais.

Os diluentes têm por objetivo principal reduzir a viscosidade e melhorar as características de manipulação das formulações. Os diluentes reativos, além de reduzirem a viscosidade do meio reacional, aceleram a velocidade de cura e o grau de cura.

Quanto maior a massa molar do endurecedor, maior a viscosidade da mistura. Os endurecedores 3DCM e IPD, com massa molar igual a $238,41 \text{ g mol}^{-1}$ e $170,5 \text{ g mol}^{-1}$, respectivamente, foram modificadas pela adição de diluente reativo éter diglicidílico do butanodiol (DGEBD) ao monômero epoxídico, usando uma concentração de 30 phr (30g de DGEBD para cada 100g de DGEBA). Para a formulação 4MPip foi usada uma concentração de 5 phr (5 g de 4MPip para cada 100 g de DGEBA). Nestes sistemas não foi necessário o uso de diluente reativo, pois a resina possui uma baixa viscosidade, com uma massa molar de $98,17 \text{ g mol}^{-1}$. As formulações estão representadas na Tabela 6 abaixo:

Tabela 6: Formulações epoxídicas estudadas

Monômero	Amina	Proporção	Nome da formulação
DGEBA	IPD	30 phr	DGEBA/DGEBD/IPD-30 phr
DGEBA	3-DCM	30 phr	DGEBA/DGEBD/3DCM-30 phr
DGEBA	4-MPip	5 phr	DGEBA-4 /MPip 5 phr

Fonte: autor

Todas as formulações foram cuidadosamente submetidas à agitação durante 5 minutos à temperatura ambiente (25°C) para assegurar uma mistura homogênea. Em seguida, as misturas líquidas foram desgaseificadas a vácuo por 10 minutos à

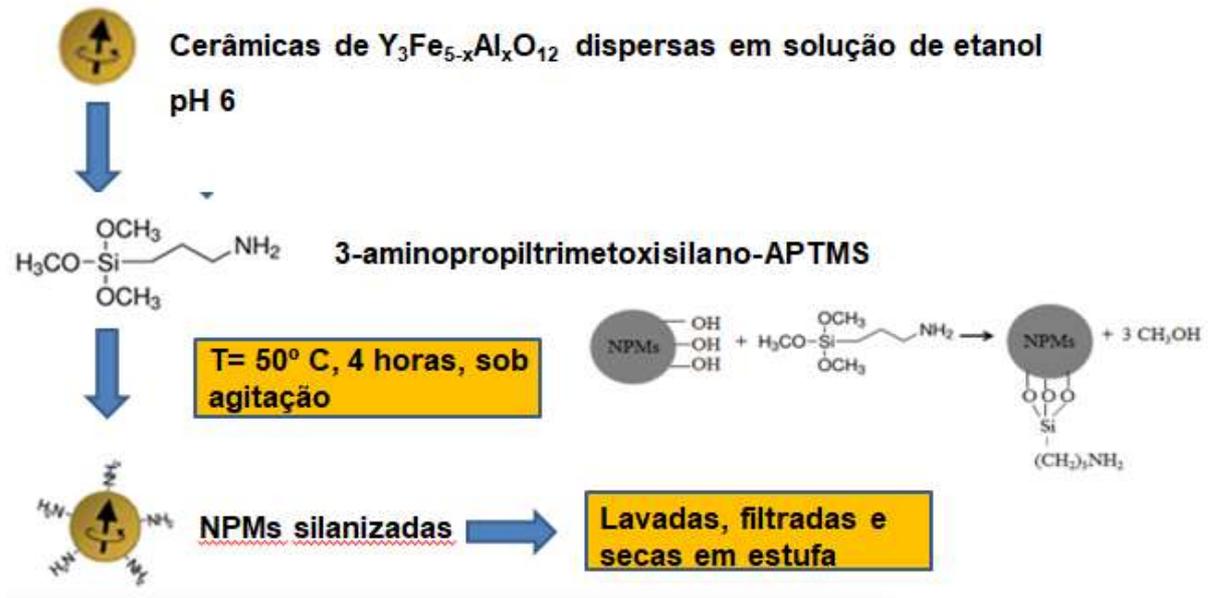
temperatura ambiente (25°C), depois vertidas em moldes de polietileno (cilíndricos) e submetidas a 60°C durante 4 horas. Para a etapa de pós-cura, cada amostra com uma cura incompleta nos moldes de polietileno, foi removida para moldes de vidro (cilíndricos). A etapa de pós-cura das formulações à base de 3DCM e IPD foi de 180°C e 160°C, respectivamente, durante 2 horas. Para a formulação à base de 4MPip foi utilizado um programa de cura em duas etapas, a primeira a 60°C durante 30 minutos e a segunda a 120°C durante 6 horas. Terminada a etapa de pós-cura, as amostras foram deixadas para arrefecer lentamente, até atingir a temperatura ambiente.

4.3 SILANIZAÇÃO DAS CERÂMICAS

Nesta pesquisa, nanopartículas de todas as composições $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ ($1,5 \leq x \leq 1,7$), foram funcionalizadas com 3-aminopropiltrimetóxisilano (APTMS), para posterior revestimento com a matriz epóxi à base do DGEBA.

Em um reator de 500 mL, sob aquecimento, equipado com condensador de refluxo, foram adicionados aproximadamente 1 grama das nanopartículas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com estequiometria desejada, as quais foram dispersas em 300 mL de etanol com 95% de pureza por agitação mecânica, usando uma velocidade da haste de 1000 rpm. Anteriormente à adição das nanopartículas, o pH da solução foi ajustado com auxílio de um pH-metro para um valor de 6 pela adição de gotas de ácido acético. Quando a mistura atingiu 50°C, foi adicionada à dispersão uma quantidade de 0,57 mmol de 3-aminopropiltrimetóxisilano (APTMS) ($d= 1,027$ g/mL e 97% de pureza da Sigma-Aldrich). Estas condições foram mantidas durante 4 horas. As NPMs foram lavadas com água destilada e, finalmente, com etanol 95% a fim de eliminar resíduos de APTMS, depois filtradas e secas em estufa à 50°C por 72 horas. Na Figura 26, mostra o esquema ilustrativo dos procedimentos para a sinalização das cerâmicas.

Figura 26: Esquema ilustrativo dos procedimentos para a silanização das cerâmicas



Fonte: autor

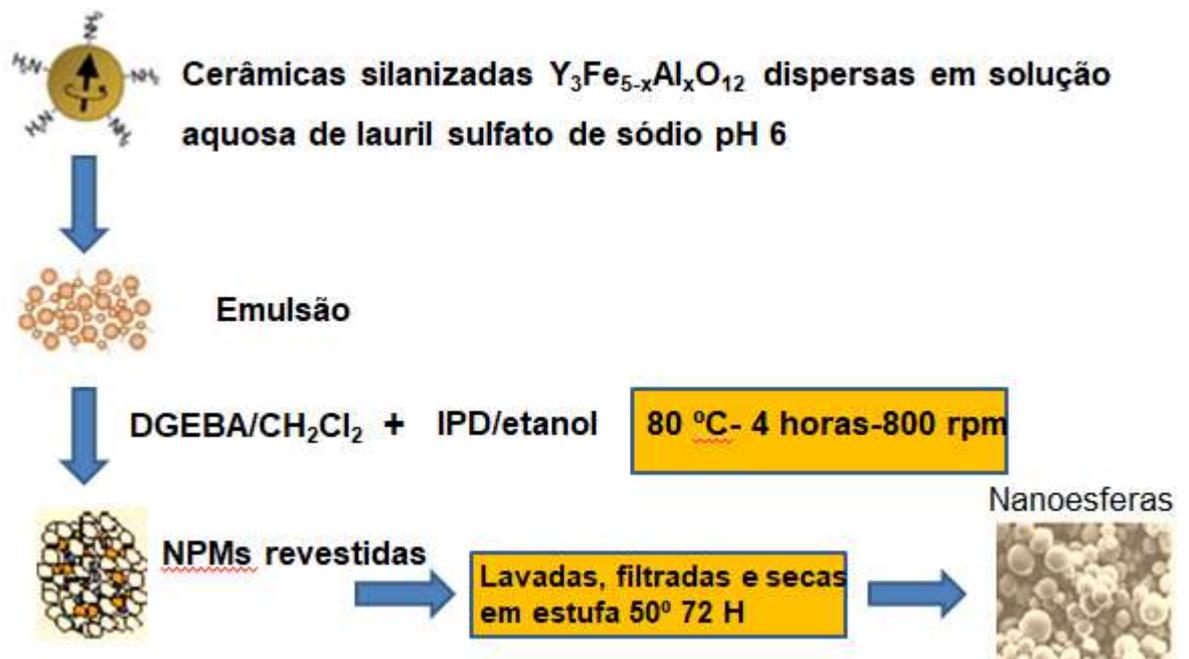
4.4 REVESTIMENTO DAS CERÂMICAS

Em um reator de 500 mL equipado com condensador de refluxo, contendo 400 mL de água destilada (pH= 6) a 50°C, sob agitação mecânica a 400 rpm, foi adicionado 1 grama do surfactante lauril sulfato de sódio. Depois da dissolução do surfactante, foi adicionado 1 grama das nanopartículas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, já silanizadas com APTMS, as quais ficaram dispersas no meio reacional, sob agitação mecânica, durante 10 minutos. Vale ressaltar que, todas as composições com x variando de $(1,5 \leq x \leq 1,7)$, foram revestidas. A formulação DGEBA/IPD foi escolhida para o revestimento, pois esta formulação evidenciou que, com o programa de cura utilizado, foi a que mais alcançou a conversão e também apresentou melhores propriedades biológicas. Estes resultados das propriedades biológicas da formulação DGEBA/IPD, serão apresentados no capítulo 5.

Em seguida, foi adicionado o monômero DGEBA em solução de diclorometano (CH_2Cl_2) (volátil e não solúvel em água, sendo evaporado durante o processo). A massa do agente de cura, IPD, foi adicionada separadamente, de acordo com a estequiometria e/a=1, dissolvida em etanol absoluto por separado, mantendo a agitação durante 15 minutos. Com o aumento da temperatura para 80°C, foram

mantidas sob agitação a 800 rpm durante 4 horas. Ao término da reação, as nanoesferas foram lavadas com água destilada, para a retirada do agente de suspensão, e com etanol, para a retirada de monômeros residuais, filtradas e, posteriormente, secas em estufa a 50°C por 72 horas. O processo de filtração ocorreu num papel de filtro comum (filtro de café Home7 nº4). A princípio ocorre que esta técnica de filtração não funciona porque as nanopartículas são menores do que os poros das membranas dos filtros. Mas devido a precipitação das nanopartículas e a formação de aglomerados, elas ficaram retidas no papel de filtro. A Figura 27 mostra o esquema ilustrativo dos procedimentos para o revestimento das cerâmicas.

Figura 27: Esquema ilustrativo dos procedimentos para o revestimento das cerâmicas.



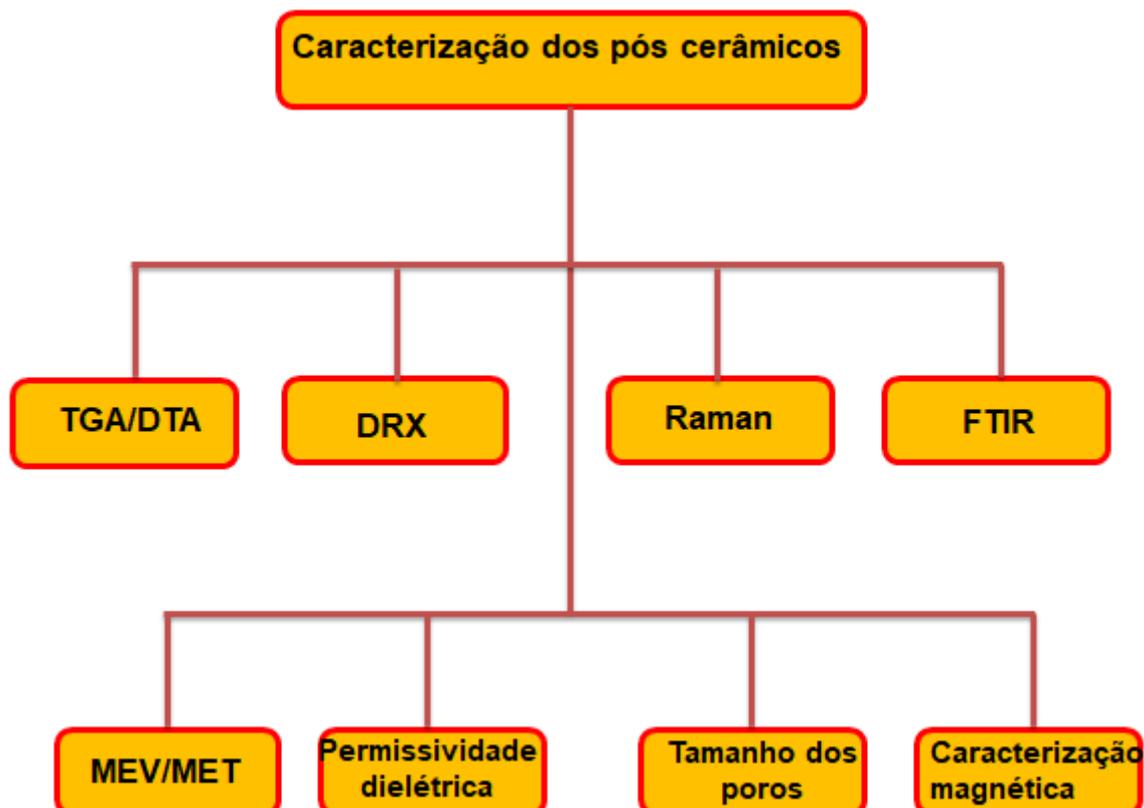
Fonte: autor

4.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

Inúmeras técnicas podem ser utilizadas na caracterização físico-química das cerâmicas magnéticas, para fornecer informações sobre a natureza do composto, composição química das nanopartículas, identificação do tipo de cristal, comportamento magnético, diâmetro e dispersão em tamanho das partículas, entre outras.

As cerâmicas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ foram caracterizadas por Análise Termogravimétrica (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA), Análise de Difração de Raios-x (DRX), Espectroscopia de espalhamento Raman, Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), determinação do tamanho e distribuição dos poros, permissividade dielétrica em função da temperatura e caracterização magnética. A Figura 28 mostra o fluxograma representativo das etapas de caracterização das cerâmicas.

Figura 28: Fluxograma representativo das etapas de caracterização dos pós cerâmicos



O material de revestimento à base da matriz DGEBA/aminas foi caracterizado por Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), conforme fluxograma representado na Figura 29.

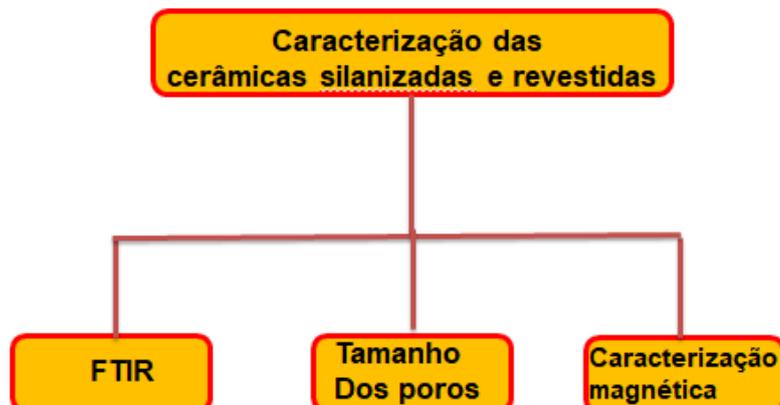
Figura 29: Fluxograma representativo dos métodos empregados na caracterização do material de revestimento a base do DGEBA/aminas



Fonte: autor

As cerâmicas, silanizadas e revestidas, foram caracterizadas por Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), determinação do tamanho e distribuição de tamanho dos poros, e comportamento magnético, conforme fluxograma representado na Figura 30.

Figura 30: Fluxograma representativo dos métodos empregados na caracterização das cerâmicas silanizadas e revestidas.



Fonte: autor

4.5.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

A técnica de análise termogravimétrica é utilizada para verificar o comportamento térmico que as amostras sofrem ao longo de seu aquecimento e verificar a estimativa da temperatura de cristalização. Os materiais analisados são aqueles obtidos após a pirólise com o intuito de estimar as temperaturas de eliminação do material orgânico e mudanças de fases (LIMA, 2006).

A análise termogravimétrica baseia-se no monitoramento da perda de massa, na qual as mudanças de peso são registradas em função do aumento da temperatura. De modo ideal, se ocorrem perdas sucessivas com o aumento da temperatura, a curva termogravimétrica mostra uma etapa de peso constante (patamar) e uma brusca perda de peso, o que ocorre para cada etapa da decomposição. Nos caso reais, a velocidade de reação é uma função da temperatura, e neste caso as perdas de massa ocorrem ao longo de um intervalo térmico. Assim, dependendo da natureza da sequência de reações, como uma série de decomposições, por exemplo, não é possível uma definição inicial de cada processo. Desta forma, utiliza-se a análise térmica diferencial (DTA) como instrumento de apoio na interpretação da curva (NOBRE, 1995).

O aparelho utilizado foi o Netsch, STA409, (Ufscar - Departamento de Química, LIEC - São Carlos). O padrão utilizado foi a alfa alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), e as amostras foram colocadas em cadinhos de alumina com termopar de Pt 10 (Pt/Pt-Rh 10%) e submetidas à velocidade de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. e fluxo de ar sintético de $30\text{ cm}^3/\text{min}$.

4.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial (DTA) é uma técnica termoanalítica na qual a variação de temperatura entre a amostra e um material de referência é monitorada. A temperatura do sistema varia a taxa constante no aquecimento. O material de referência deve ser a priori, termicamente inerte. Qualquer variação química ou física que conduza a uma variação na capacidade calorífica da amostra é registrada como função da diferença da temperatura entre amostra e a referência. Como exemplo de fenômenos físicos com características endotérmicas, tem-se a transição cristalina, a fusão, a vaporização e a absorção, e com características exotérmicas temos a adsorção. Os fenômenos químicos de natureza endotérmica são a desidratação,

redução em atmosfera gasosa e reações no estado sólido. Aqueles de caráter exotérmico são adsorção química, degradação oxidativa, oxidação em atmosfera gasosa, reações de óxido-redução e reações no estado sólido.

Visando determinar a melhor condição de calcinação para obtenção da fase YFeAl, fez-se a análise térmica diferencial (DTA) dos pós calcinados a 300°C por 4 horas. Esta análise permitiu acompanhar as reações de decomposição da matéria orgânica e a formação dos óxidos cerâmicos. O aparelho utilizado foi o mesmo usado na análise termogravimétrica.

4.5.3 Medidas de Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios-x é uma técnica não destrutiva utilizada para determinar estrutura cristalográfica, identificação qualitativa e quantitativa de fases e determinar o tamanho das nanopartículas. Nesta técnica, a amostra é bombardeada por raios-x para produzir um padrão de difração, que é coletado com a ajuda de um detector de raios-x. Os átomos no cristal funcionam como centros de espalhamento dos raios-x. Quando o feixe de raios-x incide sobre um conjunto de planos cristalinos, cuja distância interplanar é “d”, os feixes refletidos por dois planos subsequentes apresentarão o fenômeno da difração. Sempre que a diferença entre seus caminhos óticos for um número inteiro de comprimentos de onda, haverá superposição construtiva e um feixe de raios-x será observado, caso contrário, haverá superposição destrutiva e não se observará qualquer sinal de raios-x. A condição de interferência construtiva esta determinada pela lei de Bragg (Equação 4.3):

$$n\lambda = 2 d \operatorname{sen}\theta \quad (4.3)$$

Onde θ é o ângulo de incidência, λ é o comprimento de onda dos raios-x e n é um número inteiro (ordem de difração). Desta forma, medindo-se o ângulo θ e sendo o comprimento de onda conhecido, a distância interplanar pode ser determinada e, assim, a estrutura cristalina.

A intensidade da difração depende de detalhes da estrutura do cristal e da identidade dos átomos. A facilidade dos átomos espalharem os raios-x depende de quantos elétrons eles possuem e suas posições na célula unitária. A medida dos ângulos de difração e das intensidades permite que se trabalhe na direção reversa para obter a informação estrutural. Pode-se relacionar o tamanho médio dos

cristalitos com a largura de linha através da Equação de Scherrer, utilizando o pico de maior intensidade (X. JIA, et al., 2009), Equação (4.4).

$$D = 0,9 \lambda / \beta \cos \theta \quad (4.4)$$

Onde D é o tamanho médio dos cristalitos e β é a largura do pico de difração, a meia altura, 0,9 é o fator de forma, constante empírica relacionada com a forma dos cristalitos, λ é o comprimento de onda da radiação eletromagnética incidente, cobre-K α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), θ é o ângulo de difração de Bragg (rad).

No entanto, na largura a meia altura do pico de difração da amostra está presente à largura de linha instrumental, que deve ser subtraída utilizando a largura de linha do difratograma de um composto padrão de alta cristalinidade, da seguinte forma, Equação (4.5):

$$\beta = \sqrt{B^2 - b^2} \quad (4.5)$$

Onde “B” é a largura a meia altura do pico, observado no difratograma de raios-X obtido para a amostra analisada, e “b” é a largura a meia altura de um pico correspondente à amostra padrão (sem alargamento de picos face às dimensões das partículas acima de 1 μm , sendo que “B” e “b” devem ser expressos em radianos.

Devido ao arranjo periódico da rede cristalina as distâncias entre os planos cristalinos do material podem ser relacionadas com o seu conjunto de índices de Miller e com os parâmetros de rede da célula unitária em equações. Por exemplo, para o $\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$, estudado nesta pesquisa, cuja estrutura cristalina é cúbica de parâmetro de rede “a”. Tal relação pode ser escrita segundo a Equação (4.6):

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} \quad (4.6)$$

Onde: “d” é a distâncias entre os planos cristalinos, “a” é o parâmetro de rede, e “h,k,l”, são os índices de Miller.

A técnica (DRX) será utilizada para determinar as fases constituintes do material trabalhado, bem como determinar os parâmetros de rede e o tamanho dos cristalitos.

A estrutura cristalográfica das nanopartículas obtidas foi determinada em um difratômetro da marca Rigaku modelo Dmax/2500PC (Japan). O equipamento foi operado sob as condições de 40 kV e 150 mA. A radiação utilizada para as medidas foi a cobre- $K\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), e a taxa de varredura empregada foi de $0,02^\circ/\text{s}$ para um intervalo em 2θ de 10 à 75° .

4.5.4 Espectroscopia de espalhamento Raman

A espectroscopia Raman é uma ferramenta experimental muito poderosa no estudo das propriedades dos materiais, uma vez que através dela é possível investigar os espectros vibracionais e também a estrutura eletrônica através do efeito Raman ressonante.

Quando uma onda eletromagnética interage com a matéria, as órbitas eletrônicas das moléculas constituintes são perturbadas periodicamente com a mesma frequência do campo elétrico da onda incidente. Esta oscilação ou perturbação da nuvem eletrônica resulta na separação das cargas dentro das moléculas, o que é chamado de momento de dipolo induzido. Assim, o produto da interação dipolar elétrica entre o momento de dipolo induzido e a radiação eletromagnética tem como resultado o espalhamento da luz incidente. A maioria dessa luz espalhada é emitida com a mesma frequência da luz incidente, mas parte dessa luz é espalhada com frequências diferentes, processos estes conhecidos como espalhamento elástico e inelástico, respectivamente.

No caso de sistemas inorgânicos, a espectroscopia Raman é frequentemente superior à espectroscopia na região do infravermelho. O principal motivo dessa superioridade é que as energias vibracionais de ligações metal-não metal se situam na região entre 100 a 700 cm^{-1} . Esta região é de difícil análise quando se utiliza a espectroscopia de absorção na região do infravermelho, por vários motivos experimentais. Por outro lado, é uma região facilmente estudada por espectroscopia Raman.

A espectroscopia de espalhamento Raman também é uma técnica complementar à DRX, pelo fato de ser mais sensível às mudanças estruturais de ordem local em um dado material.

Nesta pesquisa, as medidas de espectroscopia de espalhamento Raman foram realizadas em temperatura ambiente com o auxílio de um espectrômetro modelo RFS100 (Bruker, IQ-UNESP-Araraquara), equipado com um laser de Nd-YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$), operado em 100 mW. Para a região compreendida de 200 cm^{-1} a 900 cm^{-1} , foram feitas 32 varreduras com resolução espectral de 4 cm^{-1} .

4.5.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho com Transformada de Fourier é utilizada na identificação de unidades estruturais encontradas nas substâncias, com base nas frequências vibracionais de suas moléculas. As bandas registradas são decorrentes da absorção de radiação eletromagnética, resultante dos movimentos de vibração dos átomos constituintes dessa molécula. No caso de sólidos, existe um grande número de bandas, sendo que cada uma corresponde a um tipo de vibração específica de um composto. Na região do infravermelho, registra-se graficamente a relação da intensidade de absorção e o número de ondas.

A radiação infravermelha, quando absorvida por uma molécula orgânica, converte-se em energia de vibração molecular. O espectro reflete o movimento vibracional e costuma aparecer em forma de bandas (Figura 31).

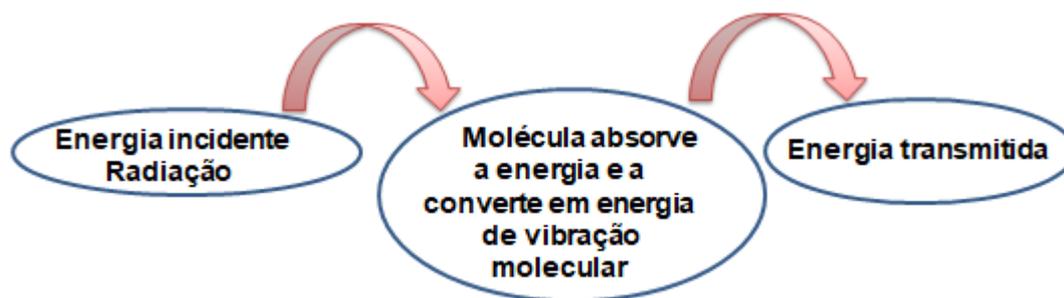
A localização de uma banda de absorção no infravermelho pode ser especificada em unidades relacionadas com a frequência (ν) pelo seu comprimento de onda (λ) medido em centímetro ou através de seu comprimento de onda (λ) medido em micrômetros: $\nu = 1/\lambda$ (λ em cm).

A intensidade da banda é medida pela transmitância ou pela absorbância. A transmitância é definida pela razão entre a energia transmitida e a energia incidente (Equação 4.7), na amostra analisada, e a absorbância (Equação 4.8) é o logaritmo na base dez do recíproco da transmitância:

$$T = E_t/E_i \quad (4.7)$$

$$A = \log 1/T \quad (4.8)$$

Figura 31: Esquema representativo da radiação infravermelha quando absorvida por uma molécula orgânica, convertendo-se em energia de vibração molecular.



$$\text{Transmitância} = \text{Energia transmitida} / \text{Energia incidente}$$

Fonte: autor

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é uma técnica de inestimável importância na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas.

Os espectros FTIR foram obtidos em um espectrômetro modelo Equinox 55 (Bruker, Alemanha) em modo de refletância difusa. Os espectros foram medidos com 32 varreduras na região entre 600 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} , usando uma resolução de 4 cm^{-1} . Todas estas medidas foram feitas em temperatura ambiente.

4.5.6 Medidas da permissividade dielétrica em função da temperatura

A constante dielétrica é uma propriedade intrínseca dos meios e está relacionada com a resposta dos materiais aos campos elétricos. A interação fundamental dos campos com a matéria se manifesta mediante a polarização, induzida ou permanente, dos momentos de dipolo atômicos ou moleculares de um corpo quando submetido a um campo externo.

Como resultado da polarização, os dipolos orientados criam um campo que se superpõe ao campo externo, determinando o comportamento dielétrico do material. A medida desse efeito é conhecida como a permissividade ou constante dielétrica do meio, ϵ_r .

A temperatura de Curie é a temperatura a partir da qual a estrutura cristalina do material se torna mais simétrica. Uma transição de fase é caracterizada por um

máximo bem definido na constante dielétrica como função da temperatura. Este máximo está associado à T_c e define uma transição de fase ferro-paraelétrica.

A partir das curvas de temperatura *versus* permissividade, determinou-se a temperatura de Curie.

As propriedades dielétricas foram feitas em câmara porta-amostra inserida em forno resistivo, em atmosfera ambiente. A temperatura foi monitorada com termopar tipo "K". O equipamento usado foi o analisador de impedância Hewlett Packard modelo 4192 A, sendo as medidas feitas na faixa de frequências 10 KHz com tensão de 500 mV, com a temperatura variando de -100 °C a 150 °C com intervalo de 15° C.

Contribuições do grão para a permissividade dielétrica total foram obtidas através do ajuste do espectro de impedância analisado por um programa computacional

4.5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Nos materiais sólidos, além da composição química, a estrutura cristalina e a morfologia são dois fatores de grande relevância que podem influenciar significativamente o comportamento das propriedades físicas dos mesmos. Em relação à morfologia, incluem-se principalmente o tamanho e a forma das microestruturas ou dos grãos formados. Para observar as microestruturas das cerâmicas após a sinterização, utilizou-se a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As observações foram realizadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV Zeiss DSM 960).

4.5.8 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

MET é uma ferramenta indispensável na caracterização de materiais em escala manométrica. Sua capacidade de resolução é de ordem de angstrons (Å) e pode ser aplicada para estudos cristalográficos através da difração de elétrons. O microscópio eletrônico de transmissão pode operar em três modos principais: campo claro, campo escuro e difração de elétrons (SAD, do inglês *Selected Area electron Diffraction*).

Na microscopia eletrônica, uma fina camada da amostra cristalina é submetida a um feixe paralelo de elétrons de alta energia. Considerando o tamanho

nanométrico das nanopartículas, tipicamente com espessura de ~100 nm e elétrons tipicamente com energia de 100-400 kiloelétron-volts, os elétrons passam através da amostra facilmente. Nesse caso, elétrons são tratados como ondas. Como o comprimento de onda de elétrons de alta energia é uma fração de um nanômetro, e o espaçamento entre átomos em um sólido é apenas levemente maior, os átomos atuam como uma rede de difração para os elétrons, os quais são difratados. Ou seja, uma fração deles será dispersa em ângulos particulares, determinados pela estrutura cristalina da amostra, enquanto outros continuam a passar através da amostra sem deflexão. Como resultado, a imagem do padrão de difração de área selecionada será uma série de manchas, cada mancha correspondendo a uma condição de difração satisfeita da estrutura do cristal da amostra. Se a amostra for inclinada, o mesmo cristal irá manter-se sob iluminação (dos elétrons), mas diferentes condições de difração serão ativadas e diferentes manchas de difração aparecerão ou desaparecerão.

As observações MET foram realizadas por meio de um equipamento da marca Carl Zeiss (Alemanha), modelo Supra 35-VP operado com feixe de elétrons incidentes de 6 kV. Imagens dos padrões de Difração de Área Selecionada (SAD) foram tiradas a uma voltagem de aceleração de 200 KV em um instrumento modelo EM 208S da Philips.

4.5.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial, do inglês: Differential Scanning Calorimeter (DSC). também é utilizada na determinação da temperatura de transição vítrea de uma substância. Essa determinação é feita a partir da descontinuidade que se observa no fluxo de calor do termograma. As principais vantagens da DSC são a simplicidade e rapidez das medições, assim como a relevância da informação que é obtida nas medições por análise dos termogramas obtidos.

A temperatura de transição vítrea (T_g) e o calor residual (ΔH) das formulações epóxi, após a cura, foram determinados por calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando um calorímetro Shimadzu, modelo DSC 60, em atmosfera de nitrogênio gasoso. As amostras (~10,0 mg) foram aquecidas de 37 até 125°C com uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹ sob um fluxo de nitrogênio gasoso de 50 ml

min⁻¹. Considerou-se temperatura de transição vítrea T_g o início da queda da alteração na capacidade calorífica.

4.5.10 Caracterização Magnética

O propósito da magnetometria é medir a magnetização de um material intrínseco ou induzido pela aplicação de um campo magnético externo. A técnica mais comum empregada para medidas da magnetização na temperatura ambiente é o magnetômetro de amostra vibrante (MAV). O MAV mede as propriedades magnéticas de uma amostra em função de campo magnético aplicado, da temperatura e do tempo (BORDINI, C. V. 2006). O Magnetômetro de Amostra Vibrante é o mais usado atualmente nos laboratórios de pesquisa devido ao seu bom desempenho, baixo custo e simplicidade de funcionamento.

Medidas magnéticas para as amostras obtidas foram realizadas num magnetômetro de amostra vibratória (MAV) da Quantum Design™. O campo magnético “DC” (do inglês: direct current) foi produzido por um eletromagneton (Cenco Instruments tipo J). A variação do campo “DC” foi realizada por uma fonte de potência “DC” programável (Phillips PM2810 60 V/5 A/60 W). Uma “probe Hall” foi empregada para medir o campo magnético. Todas as medidas foram feitas à temperatura ambiente.

4.6 ENSAIOS BIOLÓGICOS *IN VITRO*

Materiais destinados a aplicações oncológicas devem ser biocompatíveis para realizar suas funções sem provocar reações adversas num sistema biológico (KULIK E IKADA, 1996). A biocompatibilidade implica em uma série de características do biomaterial, que incluem: não destruir ou sensibilizar elementos celulares do sangue, não desnaturar as proteínas plasmáticas, não causar respostas imunes diversas, não induzir à carcinogenicidade ou mutagenicidade, não produzir reações tóxicas ou alérgicas, não dizimar eletrólitos, não ser adversamente afetado pela esterilização, apresentar estabilidade no ambiente fisiológico e não provocar calcificação (PINTO, et al., 1993).

Para os testes de biocompatibilidade e citotoxicidade do material de revestimento, foram feitos os seguintes ensaios biológicos *in vitro*: adesão de plaquetas e ativação, tromborresistência, adsorção de proteínas, estudos da

citotoxicidade com células tipo osteoblastos MG63 (ATCC) e viabilidade celular por microscopia de luz e fluorescência.

Todos os ensaios biológicos, estudo da citotoxicidade *in vitro*. e análises MEV do material de revestimento foram realizados no Centro de Biologia Molecular, do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares Nuclear-IPEN-USP-Butantã/SP.

4.6.1 Adesão de plaquetas

A biocompatibilidade das formulações DGEBA com o sangue foi avaliada pelo ensaio de adesão plaquetária aberto-estático com sangue humano (IMANISHI, Y, et al, 1998. DE QUEIROZ, A. A. A. et al.,1998). O sangue foi coletado de doadores saudáveis, de acordo com a Declaração de Helsinki (FORSTER, H. P., 2001), e aprovado pelo comitê de ética local. Para os estudos de adesão de plaquetas, discos com dimensões de 1,5 cm x 1,5 cm de cada amostra, após a cura, e do tratamento mecânico foram incubados durante 1 hora em tampão fosfato salino (PBS, 0,1 M, pH 7,4) a 37°C. O ensaio foi realizado depositando 2 mL do sangue fresco em cada uma das cinco superfícies de teste. Após o tempo de contato de 180 s a 37°C, as superfícies foram lavadas suavemente com tampão PBS para remover as plaquetas não aderidas e fixadas em solução de glutaraldeído (2,0%). A seguir, as amostras foram mergulhadas em solução tampão fosfato salina (PBS, pH 7,4) e lavadas por 15 minutos por três vezes. A desidratação das amostras foi feita deixando-as imersas por 15 minutos em cada uma das soluções de concentrações crescentes de etanol (30, 50, 70, 90, 95 e 100%). O estudo da morfologia das plaquetas aderidas sobre a superfície das amostras foram observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Neste estudo, foi utilizado o vidro como controle.

A quantidade de plaquetas aderidas à superfície dos polímeros depois da exposição com o sangue foi avaliada pela atividade do lactato desidrogenase (LDH) (TAMADA, Y., et al., 1995). Sangue humano foi coletado de um voluntário saudável, misturado com 3,8% de anticoagulante citrato-ácido (9:1) e centrifugado a 1500 rpm durante 15 minutos para preparar o plasma rico em plaquetas (PRP). 1 mL de PRP foi incubado com cada superfície de polímero durante 1 hora a 37°C. Depois foram lavados com PBS para remover as plaquetas, que não foram ligadas à superfície do polímero. Posteriormente, 50 µL de solução Triton-X100 (1%) foram adicionados à

superfície de cada amostra durante 5 minutos à temperatura ambiente (25°C) para desprender as plaquetas aderidas e avaliar imediatamente a atividade LDH pela diferença de absorção a 340 nm, esperando 1 minuto para a medição da absorção. Os resultados foram calculados baseados no kit de atividade LDH.

4.6.2 Tromborresistência

A tromborresistência das superfícies dos materiais foi avaliada pelo método adaptado da cinética do tempo de coagulação (IMAI, Y., & NOSE, Y. 1972; CHEN, J. Y., et al., 2002). O sangue foi coletado de um voluntário saudável. Foram adicionados 0,5 mL de sangue na superfície de cada material. Depois de um tempo predeterminado, de 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, os materiais foram transferidos para placas de Petri contendo 20 mL de PBS com pH 7,4 e incubados durante 5 minutos. As células vermelhas do sangue, que não foram aderidas na superfície do material, foram hemolisadas, e a hemoglobina livre foi dispersa em água. A concentração de hemoglobina livre em água foi espectrofotometricamente medida por monitoramento da absorbância a 540 nm. Os valores de absorbância foram representados graficamente em função do tempo de contato com o sangue.

4.6.3 Adsorção de proteínas

A adsorção de proteínas de um fluido biológico em uma superfície sólida é um problema de interesse em vários processos biológicos, médicos e tecnológicos. Esse fenômeno é um dos primeiros eventos que ocorrem quando materiais sintéticos são colocados em contato com um sistema biológico. Em cerca de menos de 1 segundo após o contato do material sintético, proteínas já são observadas nas superfícies dos mesmos. Em questão de minutos, uma monocamada de proteína adsorve na maioria das superfícies. Portanto, o desempenho desses materiais dependerá, primeiramente, da camada de proteína adsorvida, pois essa camada interage diretamente com os componentes do sistema biológico (PÉREZ-LUNA et al., 1994). As células entram em contato com a camada de proteína em vez da superfície do biomaterial. Como essas células respondem especificamente a proteínas, a formação do filme interfacial de proteína pode ser o evento que controla posteriores biorreações a materiais sintéticos.

A adsorção de proteínas em materiais sintéticos localizados na corrente sanguínea ocorre sob condições que são complexas, visto que o plasma é

constituído por uma variedade de proteínas diferentes. Além disso, cada proteína está presente no plasma em uma concentração característica.

Nesta pesquisa, foram utilizadas as proteínas do plasma sanguíneo, albumina humana (HSA) e fibrinogênio humano (HFb) de procedência Sigma-Aldrich. Para cada medição, uma solução de proteína de uma concentração de 0,1 mg/mL foi recém-preparada em uma solução 10 mM de tampão de fosfato (PBS, pH = 7,4).

Células apropriadas de adsorção de Teflon® contendo as superfícies poliméricas foram injetadas com PBS para deslocar o ar e produzir um ambiente fisiológico para a adsorção de proteínas. Em seguida, as células de adsorção foram equilibradas a 37°C, e uma bomba peristáltica foi utilizada para conduzir o fluxo de PBS para dentro da célula de adsorção, a uma taxa de 500 µl/min de soluções de HSA ou HFb, para determinar a cinética do processo de adsorção de proteínas nas superfícies dos polímeros. Essas condições foram mantidas durante tempos predeterminados de 10, 30, 60, 90 e 120 minutos e, após terminar cada tempo, foi extraída uma amostra de 50 µL de solução de proteína.

As soluções extraídas foram misturadas com 2 mL de Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB-G250) no ensaio de proteína, de acordo com o método de Bradford (BRADFORD, M. M. 1976). O princípio do ensaio de Bradford baseia-se no deslocamento máximo de absorvância de 465 nm a 595 nm para CBB G-250, quando ocorre a ligação entre as proteínas. O corante liga-se a CBBG arginina e aos resíduos de aminoácidos aromáticos presentes na proteína, ocorrendo uma mudança de cor do corante, em resposta às várias concentrações de proteína. A concentração de proteínas das amostras isoladas foi estimada usando uma curva padrão. O grau de adsorção foi determinado subtraindo a concentração de proteína após a experiência à concentração da proteína inicialmente adicionada. As medições foram realizadas em triplicata para cada tempo e analisadas estatisticamente utilizando o teste t de Student. O significado estatístico foi considerado a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

4.6.4 Estudo da citotoxicidade *in vitro*

Foram utilizadas células tipo osteoblastos MG63 (ATCC) para a avaliação do comportamento de biocompatibilidade, devido à sua elevada taxa de proliferação e simplicidade na sua cultura. O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo uso de exposição específica da resina DGEBA a células MG63 recomendadas em ISO

109935 para exposição celular (EN ISO 109935: 1999). As culturas de MG63 foram mantidas em meio essencial mínimo (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) em frasco de 25 cm², em incubadora de CO₂ a 37°C, até 80% de confluência.

Realizou-se colheita celular utilizando tripsina-EDTA, e as subculturas iniciaram-se em placas de petri através de ensaios de contato direto a uma densidade de 2 x 10⁵ células / placa. As amostras de DGEBA foram fixadas nas placas de cultura a 5 mm do bordo interno do prato. Foi utilizado o controle positivo (cultura de células tratadas com 50% de fenol) e culturas de controle negativo (frasco de cultura de células sem material de teste).

Após 24 horas de exposição, as culturas foram examinadas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco isento de soro e foi adicionado ácido [3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -5- (3-carboximetoxifenil) -2- (4-sulfofenilo) -2H-tetrazólio, sal interno] (MTS). A redução de MTS foi expressa como densidade óptica a 490 nm (DO490).

A citotoxicidade foi determinada por comparação das absorbâncias resultantes com a média de absorbância dos poços de controle (sem DGEBA, considerada 100% de viabilidade) e foi expressa em percentagem de viabilidade celular.

4.6.5 Viabilidade celular por microscopia de luz e microscopia de fluorescência

As células MG63 foram mantidas em Meio Essencial Mínimo (MEM) suplementado com soro fetal bovino a 10% (FBS) 50 U.mL⁻¹. Penicilina, 50 µg.mL⁻¹ de estreptomicina, 1% de L-glutamina e 1% de aminoácidos não essenciais a 37°C em 5% de CO₂ foram subcultivados em placas de 24 poços durante 24 horas antes da incubação com as amostras de DGEBA.

As amostras foram colocadas em contato direto com as células MG63 a uma densidade celular de 2,0x10⁴ células/cm², previamente colocadas em placas de 12 poços e incubadas com MEM e 10% de FBS a 37°C, com 5% de CO₂ por 24 horas. Após o período de incubação, o material de teste foi removido de cada placa. Os frascos de cultura de células juntamente com controle negativo (frasco de cultura de células sem material de teste) e controle positivo (cultura de células tratadas com fenol a 50%) foram incubados durante 3 dias. Após 3 dias de incubação, o meio foi separado e as células foram analisadas para avaliação qualitativa.

As células foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4) e separadas por tripsinização seguida de centrifugação a 800 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi removido, e foram adicionados 500 µL de meio de cultura para formar uma suspensão celular.

A morte celular foi avaliada após 24 horas de incubação ou deixada para recuperar durante 48 horas adicionais. O ensaio de morte das células foi realizado por microscopia de contraste de fase após coloração por fluorescência de laranja de acridina (AO) e brometo de etídio (EtBr), respectivamente. O AO é um corante vital que mancha as células vivas e mortas. O EtBr apenas mancha as células que perderam a integridade da membrana. Após incubação, lavaram-se as amostras duas vezes com PBS, as quais foram misturadas suavemente com uma mistura de AO (1 µg / mL) e EtBr (1 µg / mL) solução de corante durante 1 minuto (SPECTOR DL, et al., 1997).

Em seguida, os discos contendo as amostras foram observados e fotografados sob um microscópio de fluorescência (Axioskop 40[®]/Axioskop 40 FL[®], Carl Zeiss) equipado com filtro de 590 nm. Todos os testes foram realizados em triplicata.

5. CAPÍTULO V - RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 SÍNTESE DAS CERÂMICAS $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$

5.1.1 Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

O material precursor, ou de partida, foi submetido à análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) para verificar o comportamento térmico que a amostra sofre ao longo do seu aquecimento. Entende-se por material precursor, ou de partida, o material pirolisado à 300°C por 4 horas utilizado para a obtenção das nanopartículas de YFeAl.

É necessário estabelecer as condições de cristalização das fases e verificar a partir de qual temperatura ocorre a degradação da matéria orgânica e a formação da fase estável, que marca o início da cristalização.

O comportamento térmico das cerâmicas obtidas após a calcinação a 300°C, por 4 horas, foi avaliado pela perda de massa em função da temperatura. Foram analisadas somente a estequiometria x igual a 1,5, levando em consideração de que as outras formulações (1,6 e 1,7) apresentam o mesmo tipo de comportamento, para esta análise.

A Tabela 7 traz o resumo das informações coletadas.

Tabela 7: Resumo das informações coletas a partir das curvas TGA e DTA

Amostra	Faixa de temperatura (°C)	Perda de massa (%)	Material perdido/formado	Picos da TGA
Material precursor	25-380	15	água	380
	380-480	65	orgânico	480
	A partir de 500	-	Obtenção da cerâmica	-

Fonte: autor

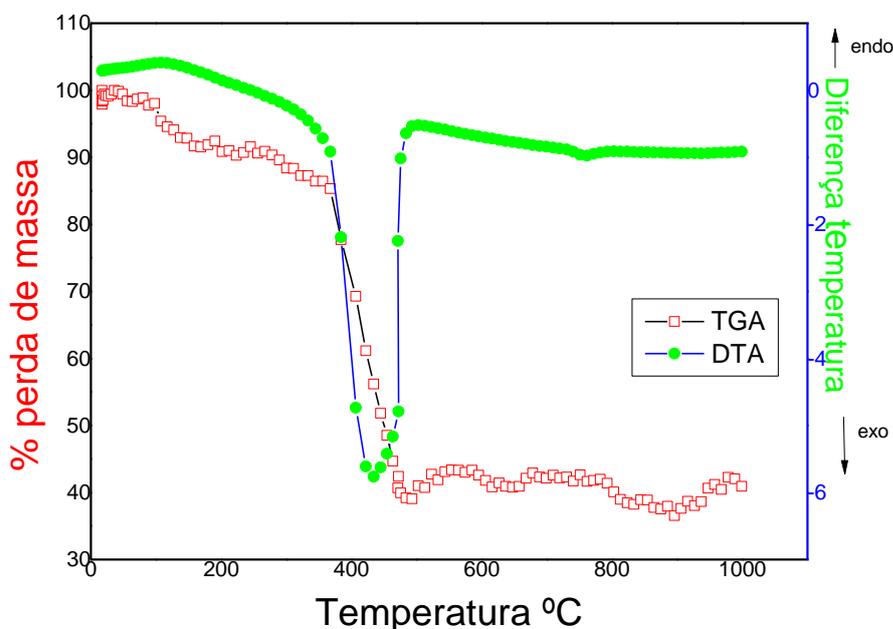
As curvas termogravimétricas indicam que a decomposição dos precursores ocorre basicamente em duas etapas. A primeira etapa, com perda de 15% da massa, ocorre até aproximadamente 380°C e pode ser atribuída à eliminação de

solvente e água gerada pela reação de esterificação. Nessa primeira etapa, a perda de apenas 15% da massa pode ser atribuída ao fato de que as amostras foram pré-calcinadas a 300°C e que nesse tratamento já eliminaram grande quantidade de água. A segunda etapa, com perda de 65% da massa inicial, ocorre entre 380-450°C e pode ser atribuída à degradação dos polímeros com decomposição em CO₂ e H₂O e perda de grande parte do material orgânico, seguida da decomposição das carboxilas ligadas aos metais. A elevação da temperatura, e consequência ruptura da parte polimérica, leva a transformações estruturais no material.

Assim, a partir de 500°C, quando mesmo com o aumento da temperatura, a massa permanece inalterada, é esperado alto grau de ordem estrutural do sistema ocorrendo a formação de uma fase estável metal-oxigênio, indicando a ausência de material orgânico. Nessa etapa ocorre o início da cristalização.

Os resultados das análises termogravimétricas estão representados na curva (TGA) da Figura 32.

Figura 32: Perda de massa percentual para pós de Y₃Fe_{5-x}Al_xO₁₂ com x= 1,5 calcinados a 300°C, por 4 horas, em função da temperatura.



Fonte: autor

Como pode ser visto ainda na Figura 32, para a curva DTA, foi observado um forte pico do tipo exotérmico na região de 380 a 500°C. Este pico exotérmico corresponde à processos de decomposição de grupos orgânicos, numa reação de oxidação formando CO₂ e H₂O. À 750 °C, observa-se um pequeno pico exotérmico, marcando uma mudança na capacidade calorífica (Cp) do material, sugerindo que nesta temperatura ocorra a cristalização das fase.

5.1.2 Análises da Difração de Raios-X (DRX)

As cerâmicas de composição Y₃Fe_{5-x}Al_xO₁₂ foram submetidas à difração de raios-x para o acompanhamento da evolução da formação da fase cristalina, quando foram feitas análises na faixa de temperatura entre 600 a 1000°C.

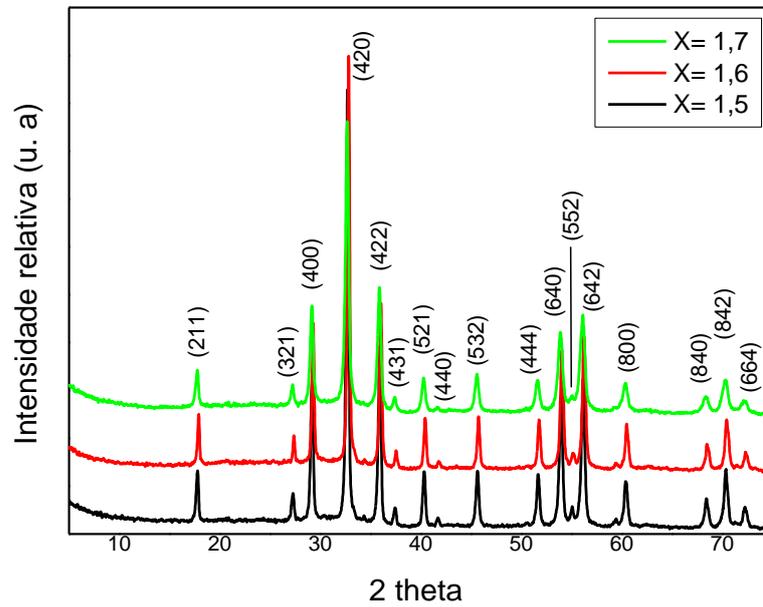
Nas amostras tratadas termicamente a 600°C, não foi observada a formação da fase cristalina. Entretanto, a partir do tratamento térmico a 700°C durante 2 horas, observa-se a formação da fase cristalina do composto Y₃Fe_{5-x}Al_xO₁₂ independentemente da estequiometria (Figura 33). Sabe-se que a formação da fase pura de YIG é obtida a temperaturas acima de 700°C, como citado por Vaquero e col.

Para os pós-calcinados a 700°C por 2 horas, os picos relativos às fases Y₃Fe_{5-x}Al_xO₁₂ já estão bem definidos, tendo sido estabelecidos a temperatura e o tempo de tratamento ideal para a obtenção das fases cristalinas.

Após a confirmação de que na temperatura de 700°C o material não apresentava a formação de fases secundárias, fez-se um estudo variando a temperatura de calcinação entre 800 a 1000°C com a composição Y₃Fe_{3,4}Al_{1,6}O₁₂.

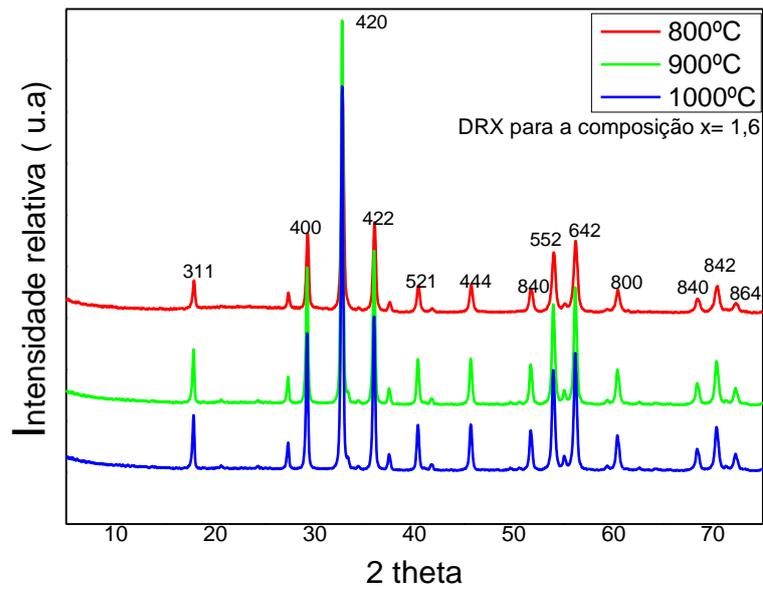
Observando os difratogramas de raios-x (Figura 34), verificou-se que, com o aumento da temperatura de calcinação, não houve melhora na cristalinidade do material.

Figura 33: DRX para as amostras tratadas termicamente a 700°C por 2 horas



Fonte: autor

Figura 34: DRX para as amostras tratadas termicamente a 800, 900 e 1000°C por 2 horas para a composição $Y_3Fe_{3,4}Al_{1,6}O_{12}$.

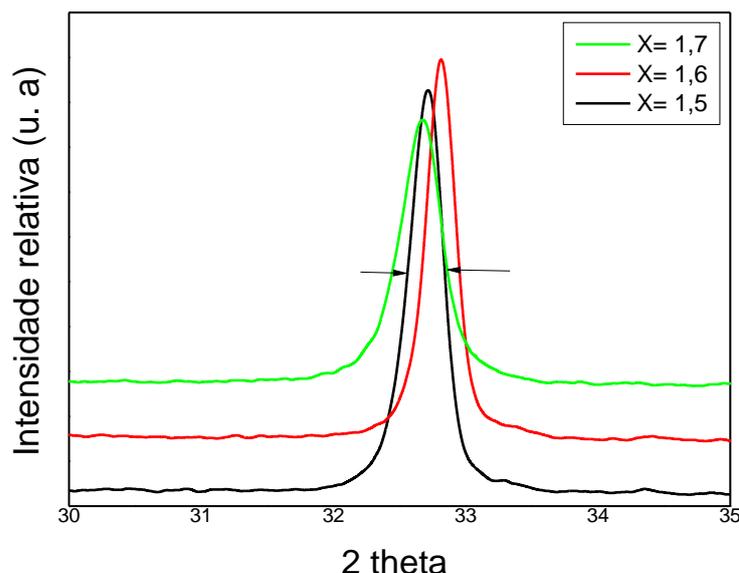


Fonte: autor

Os parâmetros de rede calculados através da equação 4.6 foram de 1,2280, 1,2265 e 1,2260 nm para valor x igual a 1,5, 1,6 e 1,7, respectivamente. Esta diminuição do parâmetro de rede, é o primeiro sinal que sugere a substituição dos íons Fe^{3+} pelos íons Al^{3+} , e esta relacionado com o menor raio iônico do Al^{3+} (0,56 Å), em relação ao Fe^{3+} (0,67 Å). Além, disso, a elevada energia de ligação entre o Al e o oxigênio na rede cristalina, pode também estar contribuindo para a diminuição dos parâmetros de rede (M. N. AKHTAR, et al., 2006). Esta alteração da estrutura não foi observada na difração de raios x.

Utilizando a fórmula de Scherrer (Equação 4.4), que relaciona a dimensão dos cristalitos com a largura do feixe difratado, é possível calcular o tamanho médio dos cristalitos. O tamanho do cristalito foi calculado a partir da largura a meia altura com diâmetro do pico mais intenso do padrão de raios-x (420), ajustado com a função lorentziana e aplicando a equação de Scherrer (Equação 4.4), obtendo-se um tamanho na faixa entre 46-65 nm. O alargamento do pico de maior intensidade está representado na Figura 35.

Figura 35: Alargamento do pico de maior intensidade usado para o cálculo do tamanho médio das nanopartículas para as amostras tratadas termicamente a 700°C por 2 horas



Fonte: autor

5.1.3 Espectroscopia de espalhamento Raman

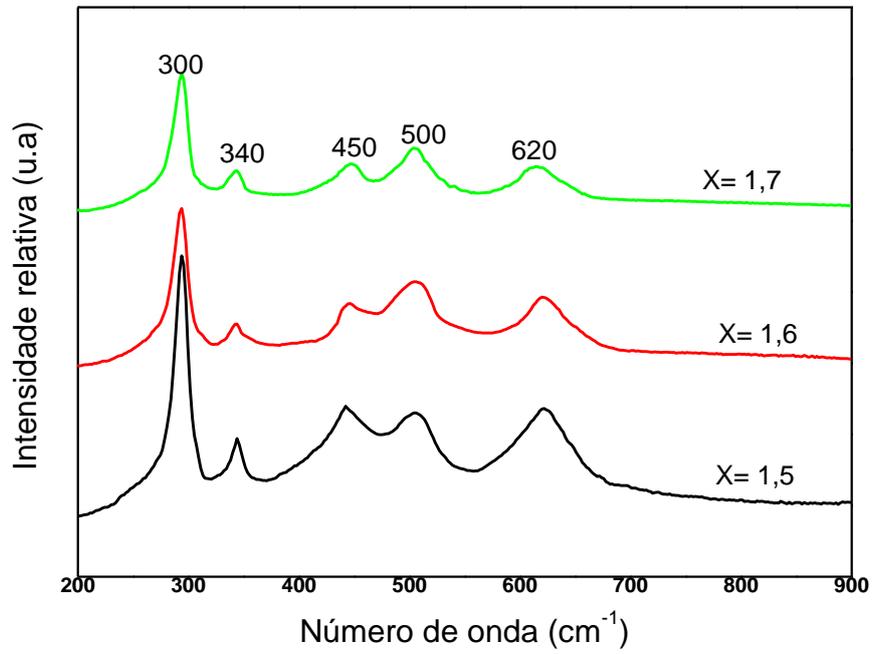
A Figura 36 mostra a espectroscopia de espalhamento Raman do pó cristalino $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, com x variando de $1,5 \leq X \leq 1,7$.

A espectroscopia Raman revela algumas variações evidentes na variação das frequências de vibrações nas moléculas, ao passo que ocorre a substituição dos íons Fe^{3+} pelos íons Al^{3+} . Isso indica que a presença de íons Al^{3+} influencia o modo vibracional das moléculas dos pós sintetizados. Acredita-se que os íons substituídos são os íons centrais de alumínio nos tetraedros e octaedros. O íon Al^{3+} substitui preferencialmente os íons ferro do sítio tetraédrico, por ser um sítio menor, e na medida em que aumenta a concentração, pode ocupar o sítio octaédrico.

Primeiramente, analisando o modo de vibração a 620 cm^{-1} , nota-se que à medida que a concentração de alumínio aumenta, a intensidade relativa dessas vibrações diminui gradualmente. Isso pode ser explicado da seguinte maneira: como os íons Al^{3+} substituem gradualmente os íons Fe^{3+} dos sítios tetraédricos e octaédricos, há o reposicionamento dos íons Fe^{3+} como íon central. Como o íon Fe^{3+} possui uma massa maior, ele faz com que os tetraedros e octaedros fiquem mais pesados que antes e, assim, enfraquecem essas vibrações e causam a diminuição relativa na intensidade das mesmas. Esses modos vibracionais são gerados pela interação das ligações entre alumínio e oxigênio. As interações alumínio e oxigênio, são mais fortes que as interações entre o ferro e o oxigênio, e este fator também contribui para a diminuição na intensidade destes modos vibracionais.

Já que os íons Al^{3+} substituídos geram modos vibracionais com menores intensidades nesta região, os outros modos vibracionais entre 450 e 500 cm^{-1} , que não sofreram alterações na sua intensidade, podem, portanto serem atribuídas aos sítios nos quais os íons de Fe^{3+} ainda não foram substituídos (M. N. Akhtar, et al., 2016). Os modos vibracionais a 300 e 340 cm^{-1} , se devem principalmente ao movimento de translação dos cátions (Y^{3+} e Fe^{3+}) (H. W. QIU, et al., 2002).

Figura 36: Espectroscopia Raman das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com diferentes estequiometrias



Fonte: autor

5.1.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Medidas de espectroscopia de absorção na região do infravermelho dos pós de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ tratados termicamente a $700^\circ C$ foram efetuadas em um intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} . As medidas de espectroscopia na região do infravermelho indicam a presença de várias ligações nos materiais cerâmicos em estudo. O resumo destes resultados está representado na Tabela 8.

Tabela 8: Atribuições das bandas de absorção para pós $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ tratados termicamente a $700^\circ C$ por 2 horas

Frequência vibracional (cm^{-1})	Modo vibracional	Atribuição
3200-3600	Deformação axial simétrica-OH	$\nu(\text{O-H})$
2300-2400	Estiramento C=O	$\nu(\text{C} = \text{O})$
1630	Deformação angular	$\delta(\text{O-H})$
725-930	Deformação axial: Carbonato	$\nu(\text{c} - \text{O})$
545-690	Ligações metal-oxigênio	$\nu(\text{M} - \text{O})$

Fonte: autor

A banda larga centrada na faixa entre 3600 e 3200 cm^{-1} é devido às deformações axiais simétricas dos grupos hidroxilas ligados na superfície do óxido (MAMBRINI, 2006), na qual se tem as ligações O-H. A banda na faixa de 2300 a 2400 cm^{-1} é devido às deformações das ligações de estiramento carbono-oxigênio, indicando a presença de CO_2 , devido à atmosfera contaminante (SILVA, A. M. 2008).

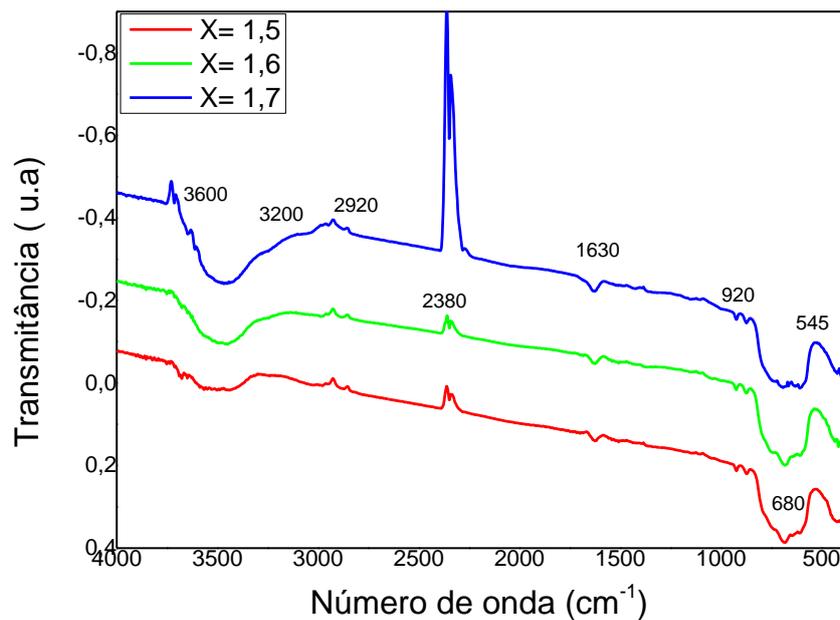
A banda de 1630 cm^{-1} , ainda que em baixa frequência tem-se a deformação angular das ligações -OH.

Já os valores de número de onda de 725 a 920 cm^{-1} , representam as deformações axiais C-O dos ânions carbonato e carboxilato respectivamente; caracterizando, portanto a presença de carbonato nas amostras. As ligações metal-oxigênio características dos materiais cerâmicos, também aparecem nos espectros de todas as estequiometrias, com número de onda variando desde 545 a 680 cm^{-1} ,

correspondentes a estiramentos dos sítios tetraédricos e octaédricos da estrutura cristalina (MOUALLEM-BAHOUT, M. 2005).

Tais resultados podem ser vistos na Figura 37.

Figura 37: Espectros FTIR para as amostras tratadas termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com diferentes estequiometrias



Fonte: autor

5.1.5 Medidas da permissividade dielétrica em função da temperatura

A dependência da permissividade dielétrica (ϵ_r) em função da temperatura é mostrada na Figura 38. As permissividades medidas a 10 kHz são 14300, 11600 e 4780 F/m, para valores de x igual a 1,5, 1,6 e 1,7, respectivamente, e as transições de fase ocorrem em torno de 53, 43 e 37 °C. Uma transição de fase estrutural corresponde ao estado de transição não polar para o estado polar, quando o material alcança a temperatura de Curie (T_c) (LINES, M. E., et al., 1977).

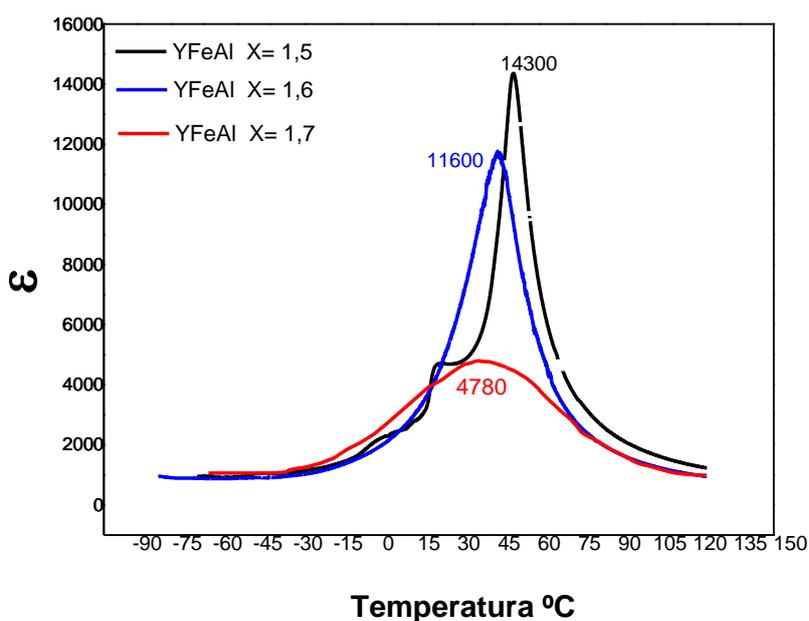
Independente da estequiometria, a permissividade dielétrica aumenta gradualmente com um aumento na temperatura, apresentando uma anomalia quando atinge a T_c , com um pico bem definido, e então diminui. A permissividade

dielétrica tem seu valor máximo no ponto de Curie, onde ocorre a transição de fase. Acima da T_c , o material é paraelétrico, não exibe ferroeletricidade. A transição de fase ferroelétrica-paraelétrica é bem definida, nesta temperatura característica dada pela temperatura de Curie (T_c) (XU, Y, 1991).

A região em torno do pico dielétrico é ampla devido a uma desordem no arranjo dos cátions em um ou mais sítios cristalográficos da estrutura. A redução da permissividade dielétrica indica que íons Al^{3+} substituem os íons Fe^{3+} , preenchendo gradualmente os tetraedros e octaedros e substituem o Fe^{3+} como íon central. Os valores de T_c estão intimamente relacionados com a distribuição de cátions sobre o sítio d tetraédrico e o sítio a octaédrico. A incorporação de íons Al^{3+} não magnéticos na estrutura da cerâmica, afeta o número dos vizinhos magnéticos do acoplamento de troca para os átomos mais próximos, afetando os valores de T_c .

Portanto, no estudo da concentração de alumínio, substituído na cerâmica, valores de T_c estão próximos à temperatura ambiente, sendo que a estequiometria com $x= 1,6$ apresentou temperatura de transição mais próxima a $43^\circ C$, que é a temperatura ideal de aplicação das cerâmicas na magnetohipertermia.

Figura 38: Curvas da permissividade dielétrica em função da temperatura para as amostras $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ tratadas termicamente $700^\circ C$



5.1.6 Comportamento Magnético

A curva de histerese magnética, magnetização (M) versus campo magnético aplicado (H), à temperatura ambiente (Figura 39) foi obtida a 700°C, para os pós cerâmicos, $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ para diferentes estequiometrias.

As amostras apresentaram “loops” de saturação independente da estequiometria. O comportamento da curva magnética sugere que a distribuição do Al e Fe na rede em diferentes concentrações podem estar atribuídas à diferença na morfologia, densidade de defeitos e composição de fase. A magnetização de saturação, assim como a magnetização remanente, diminui ao passo que aumenta a concentração de alumínio. A diminuição da magnetização de saturação confirma a substituição dos íons de ferro pelos íons de alumínio, na estrutura das cerâmicas, considerando o fato de que o alumínio não contribui para a magnetização.

Inicialmente, os íons Fe^{3+} ocupam o tetraedro (d) e o octaedro (a), sítios antiferromagnéticos, por conseguinte, o momento magnético é uma resposta à interação negativa na supertroca dos íons Fe^{3+} nos sítios ‘a’ e ‘d’.

No início da dopagem, os íons Al^{3+} substituem de preferência os íons Fe^{3+} no sítio tetraédricos “d”, em pequenas quantidades, e tendem a ocupar o octaedro “a” quando a concentração de íons Al^{3+} aumenta. Os íons Fe^{3+} são substituídos pelos íons não magnéticos Al^{3+} nos sítio “d” e “a” e a interação da supertroca dos íons de ferro na rede são reduzidas, consequentemente reduzindo a magnetização, pela baixa relação Fe/Al.

Como é bem conhecido, o sítio tetraédrico é menor do que o sítio octaédrico, logo, o íon menor persistentemente procura uma menor local.

No entanto, menos energia é convertida em calor como a diminuição da relação Fe / Al, uma vez que a magnetização de saturação é proporcional à presença de íons Fe^{3+} no composto.

As principais propriedades magnéticas de cada estequiometria estudada, como a magnetização de saturação (M_s), magnetização remanente (M_r) e coercividade (H_c), estão resumidas na Tabela 9. A coercividade também chamada de campo coercitivo é o valor do campo magnético aplicado (G), necessário para reduzir à magnetização de um material ferromagnético a zero.

Os valores do campo coercitivo, também diminuem conforme aumenta a concentração de alumínio, sugerindo menor campo magnético deve ser aplicado para a desmagnetização da amostra.

Na Figura 40, observa-se o ciclo completo de histerese, para cada estequiometria. Para o fechamento do ciclo de histerese, os momentos magnéticos dos domínios passam de um sentido para o sentido oposto e depois voltam ao sentido original. Para a obtenção de uma transferência de calor suficiente, é necessário que o ciclo de histerese seja repetido várias vezes.

Em um material que passa pelo ciclo de histerese haverá energia dissipada (calor) proporcional à área interna da curva. Fica evidente que a geração de calor diminui com o aumento da concentração de alumínio, sendo que a estequiometria para $x=1,5$ a que apresenta maior área.

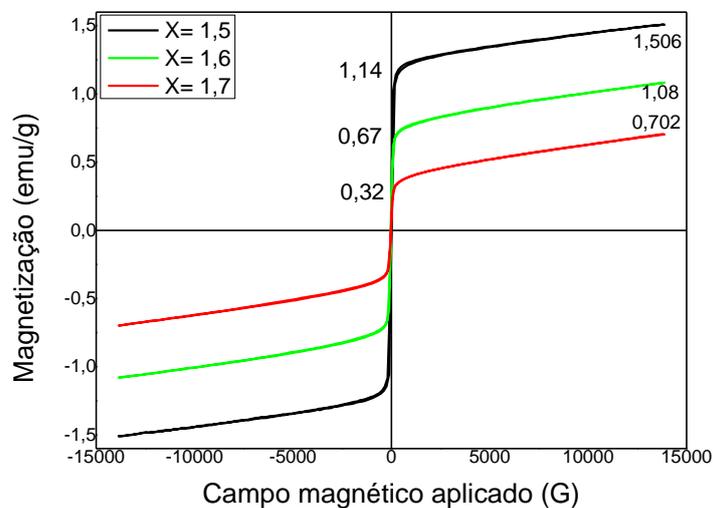
Portanto, a estequiometria de x igual a 1,6 foi à que apresentou melhores resultados, com uma magnetização de saturação intermediária, uma T_c próxima a 43°C , que foi confirmada na análise da permissividade dielétrica, e também uma área interna da curva intermediária.

Tabela 9: Valores dos parâmetros magnéticos obtidos pela curva de histerese

Estequiometria	M_s (emu/g)	M_r (emu/g)	H_c (G) para $M=0$
X= 1,5	1,506	1,14	20,35
X= 1,6	1,08	0,67	14,59
X= 1,7	0,702	0,32	10,74

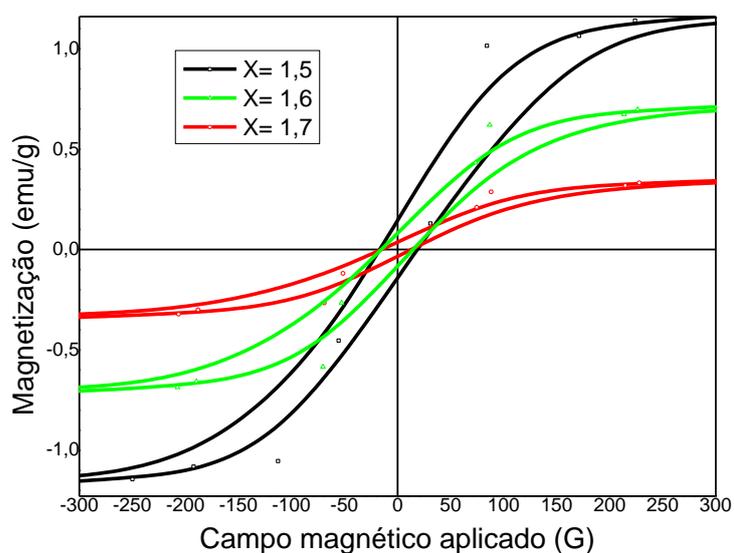
Fonte: autor

Figura 39: Histerese magnética $M \times H$ na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ em diferentes estequiometrias e calcinados a 700°C por 2 horas



Fonte: autor

Figura 40: Ciclo completo da histerese magnética $M \times H$ na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ em diferentes estequiometrias



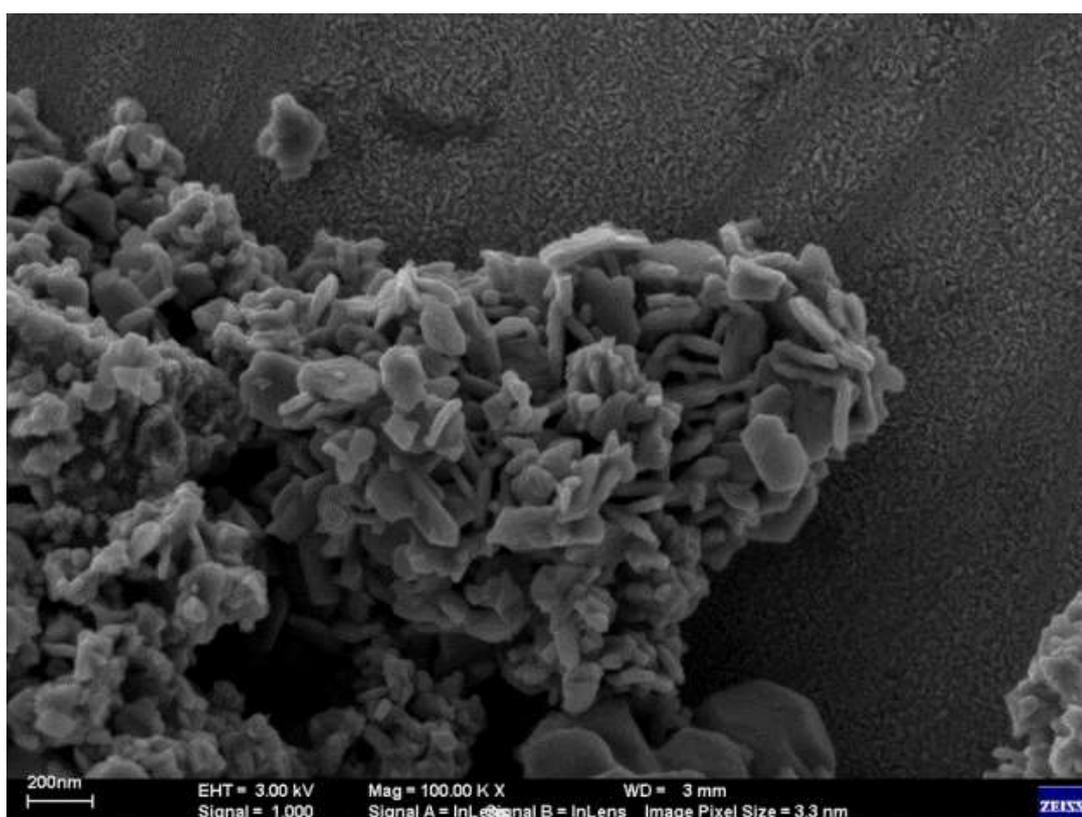
Fonte: autor

5.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para avaliar melhor a morfologia das cerâmicas preparadas pelo método dos precursores poliméricos, foram feitas micrografias com auxílio da microscopia eletrônica de varredura, das cerâmicas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, tratadas termicamente a $700^\circ C$, por 2 horas (Figuras 41, 42, 43).

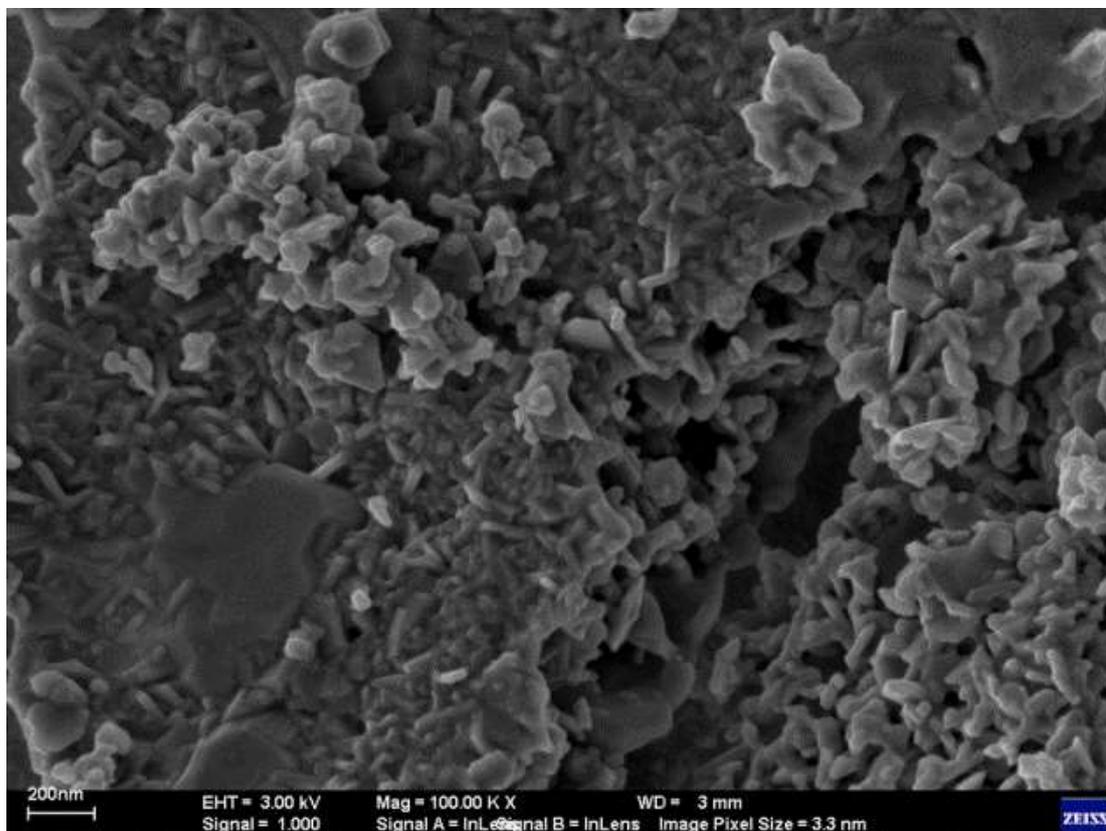
Pela observação das micrografias, nota-se a presença de aglomerados das partículas em todos os casos. O tamanho de partícula ficou entre 30-60 nm e a estequiometria aparentemente não modificou a característica inicial dos aglomerados. A morfologia dos pós não é alterada pela variação da composição, porém os aglomerados aumentam de tamanho com a redução da razão Fe/Al.

Figura 41: Micrografia da amostra tratada termicamente a $700^\circ C$ de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com $x = 1,5$.



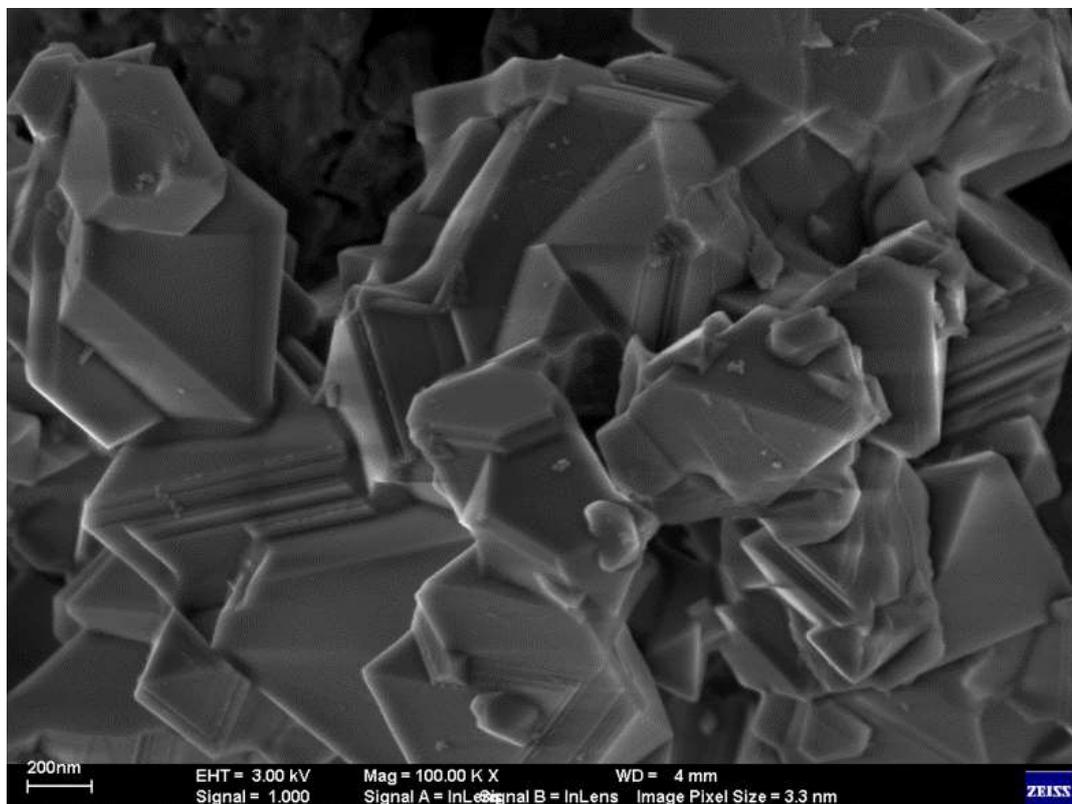
Fonte: Autor

Figura 42: Micrografia da amostra tratada termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com $x = 1,6$.



Fonte: Autor

Figura 43: Micrografia da amostra tratada termicamente a 700°C de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ com $x = 1,7$.



Fonte: autor

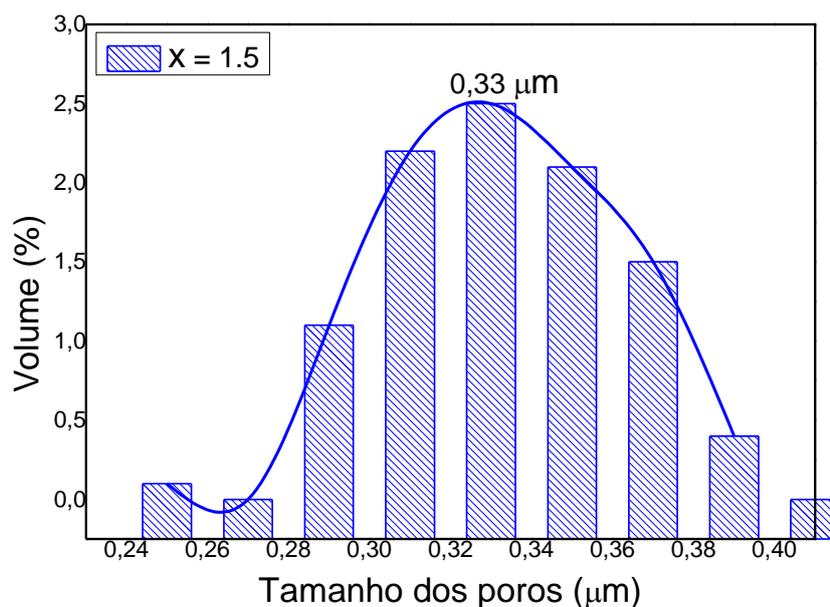
5.1.8 Determinação do tamanho e distribuição dos poros

A determinação do tamanho e distribuição dos poros dos aglomerados foi feita pelo método da porosimetria de mercúrio.

O tamanho médio dos poros, e a faixa de distribuição do tamanho aumentam, conforme, aumenta a concentração de alumínio, (Figuras 44, 45 e 46), confirmando a formação de aglomerados com a redução da razão Fe/Al

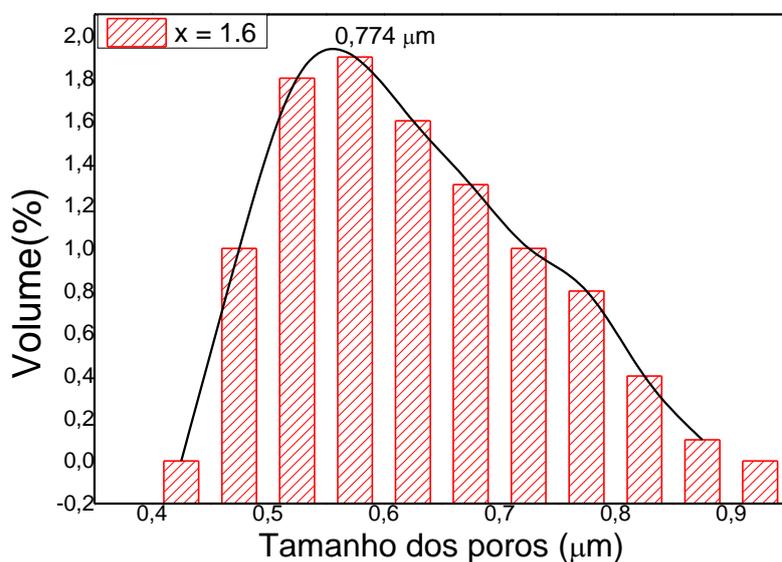
Os aglomerados apresentaram diâmetro médio dos poros, de aproximadamente 0,330, 0,574 e 0,725 μm , para valores de x igual a 1,5, 1,6 e 1,7, respectivamente. Este aumento do diâmetro médio, com a redução da razão Fe/Al, confirma o aumento de aglomerados, observados nas micrografia MEV.

Figura 44: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria $x = 1,5$



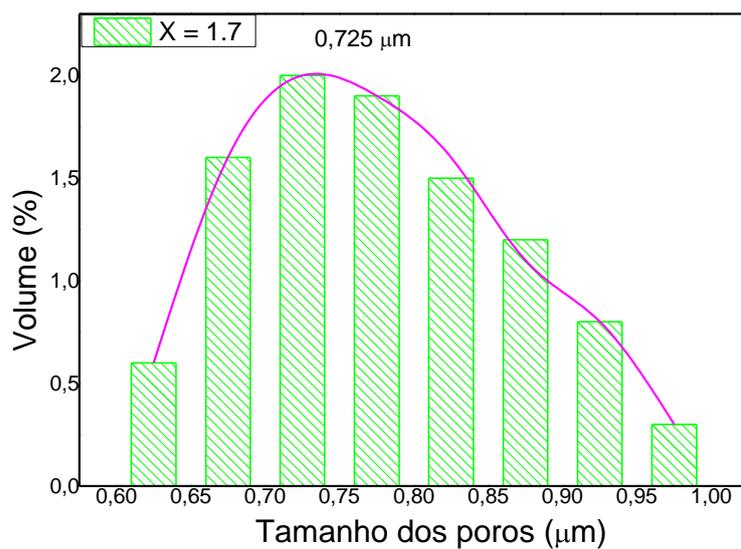
Fonte: autor

Figura 45: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria $x = 1,6$



Fonte: autor

Figura 46: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros dos aglomerados com estequiometria $x = 1,7$



Fonte: autor

5.1.9 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi usada para a melhor avaliação das nanopartículas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ preparadas pelo método dos precursores poliméricos. As Figuras 47, 48 e 49, mostram as micrografias MET (lado esquerdo) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada, do inglês: Selected Area Diffraction (SAD), correspondente (lado direito), com diferentes estequiometrias.

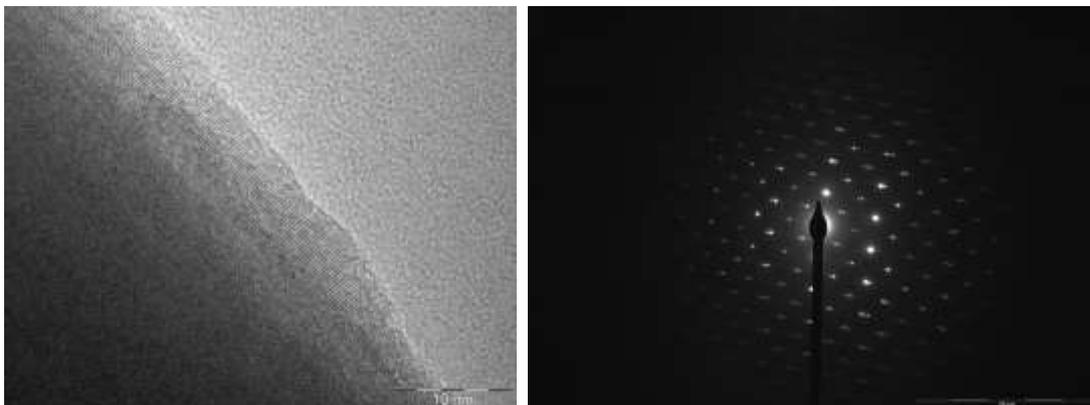
As imagens revelam que as cerâmicas obtidas são compostas de grãos de forma regulares, sendo que a morfologia é semelhante para todas as estequiometrias, mas os aglomerados aumentam conforme a diminuição da razão Fe/Al. O alto grau de aglomeração ocorre devido às forças de Van der Waals que superam a força peso das nanopartículas.

Nestas micrografias, são observadas nanopartículas com dimensões que variam entre vários nanômetros até varias dezenas de nanômetros. Foi possível separar partículas com tamanho entre 10 e 100 nm após 30 minutos de centrifugação a uma velocidade de rotação constante

À medida que o plano da amostra foi inclinado em relação aos elétrons incidentes, o contraste da imagem do feixe de várias nanopartículas variou significativamente, sugerindo que estas nanopartículas são de natureza cristalina.

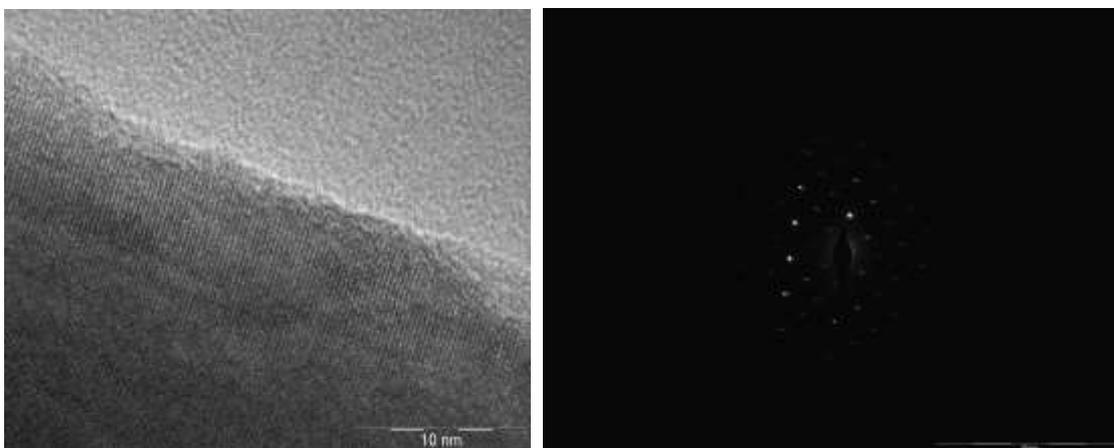
Conclui-se que estes resultados mostram que as nanopartículas são cristalinas e consistentes com os resultados de difração de raios-x.

Figura 47: Micrografias MET (direita) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (esquerda) para $x= 1,5$



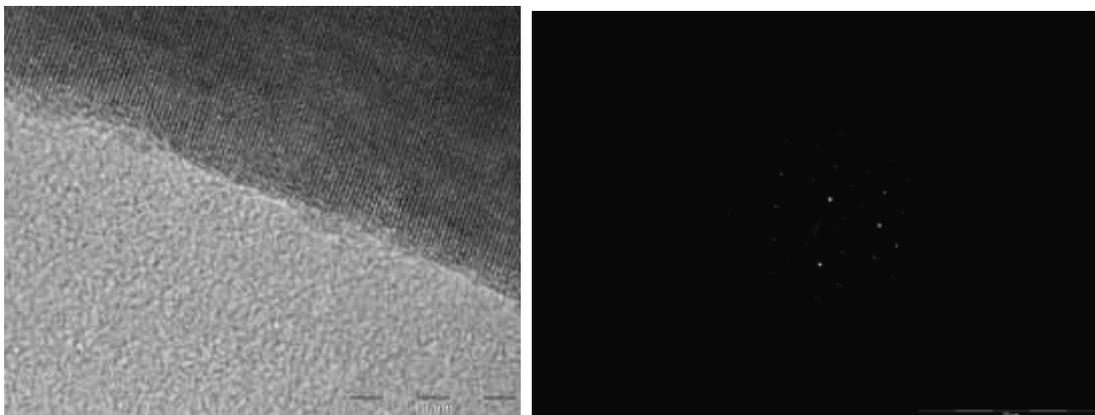
Fonte: autor

Figura 48: Micrografias MET (direita) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (esquerda) para $x= 1,6$



Fonte: autor

Figura 49: Micrografias MET (direita) e o padrão de difração de elétrons de área selecionada (esquerda) para $x= 1,7$



Fonte: autor

5.2 SÍNTESE DO MATERIAL DE REVESTIMENTO

O material de revestimento base do DGEBA, foi caracterizado por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os ensaios biológicos realizados foram a tromborresistência, adsorção de proteínas, adesão de plaquetas, ensaios de citotoxicidade *in vitro* e viabilidade celular por microscopia de luz e microscopia de fluorescência.

5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros FTIR das amostras após a cura são mostrados na Figura 50. Nestes espectros aparecem as bandas de absorção típicas divulgadas na literatura para o éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA) ligado a compostos com grupos amina alifática (DONALD et al., 2009) como:

- a) Bandas de absorção em 3390 cm^{-1} atribuídas à vibração do grupo hidroxila -OH , e bandas de absorção em 2911 e 2865 cm^{-1} associadas às vibrações de estiramento de ligações C-H do tipo sp^3 , atribuídas a compostos alifáticos.
- b) Banda associada com o anel cicloalifático em 1451 cm^{-1} .
- c) Bandas de absorção em 1605 , 1580 e 1508 cm^{-1} e 827 cm^{-1} atribuídas com o anel aromático e à substituição 1,4.
- d) Bandas de absorção entre 1290 e 1450 cm^{-1} associadas aos grupos metilo e metileno.
- e) Bandas associadas ao grupo éter C-O-C em 1031 cm^{-1} .

Observa-se que não aparecem as bandas de absorção em 915 cm^{-1} , que corresponde à banda de vibração fundamental do grupo epóxi. De acordo com PIRES G. et al., e PESSANHA M.C.R. et al., o grupo epóxi é caracterizado por possuir bandas de absorção na região, em torno de 915 cm^{-1} , que é atribuída à deformação axial assimétrica do anel, na qual a ligação C-C aumenta e há contração da ligação C-O.

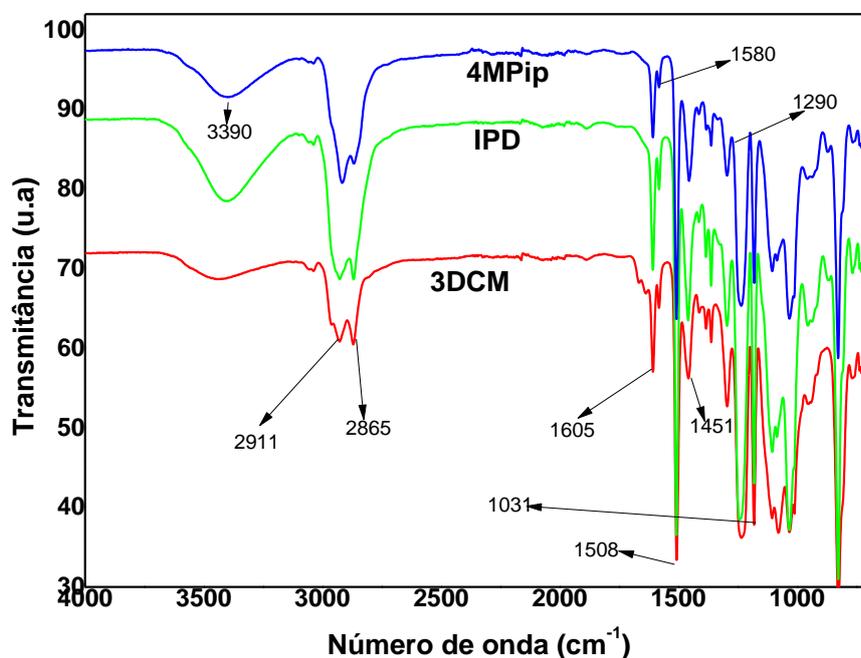
Os espectros FTIR sugerem que todas as formulações chegaram a uma alta conversão, e que não há diferenças significativas nas bandas de absorção para os três materiais poliméricos. O resumo das principais vibrações está demonstradas na Tabela 10.

Tabela 10: Resumo das principais atribuições das bandas de absorção (DGEBA) ligado a compostos com grupos amina alifática

Frequência vibracional (cm^{-1})	Atribuições
3390	Deformação angular do grupo -OH
2911-2865	Estiramento C-H do carbono SP^3
1451	Anel cicloalifático
1605-1508-827	Substituição 1,4 do anel aromático
1290-1450	Grupos metilo e metileno
1031	Ligação éter: C-O-C

Fonte: autor

Figura 50: Espectros FTIR dos polímeros epóxi: DGEBA/3DCM, DGEBA/IPD e DGEBA/4MPip



Fonte: autor

5.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O principal objetivo da análise por DSC foi de verificar a existência ou não de calor residual. Quando nenhum calor residual for observado, pode-se concluir que o material alcançou a cura completa, na sua temperatura de transição vítrea (T_g).

Antes do início da transição vítrea, a capacidade térmica do material varia linearmente; ao longo da faixa de temperatura em que ocorre a transição, varia de modo a formar uma curva; e após a transição, volta a variar linearmente, mas com coeficiente angular diferente. Neste contexto, a T_g é a temperatura que corresponde ao ponto de intersecção dos dois segmentos de reta.

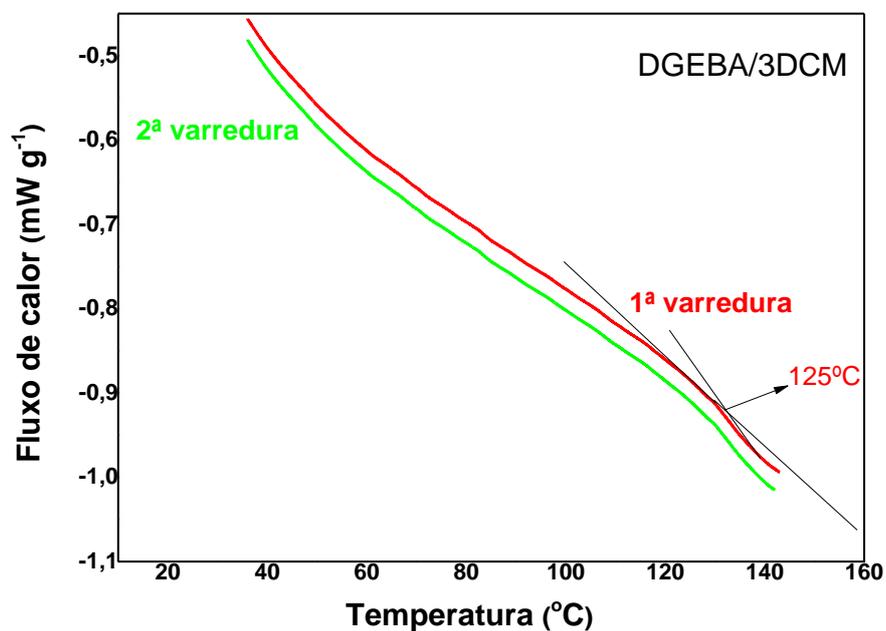
As curvas de DSC do material DGEBA/3DCM são apresentadas na Figura 51. Depois da primeira, e segunda varredura foi obtido o mesmo valor da T_g , de 125°C, para a formulação DGEBA/3DCM.

Resultados semelhantes foram encontrados para cada uma das outras formulações, e nenhum calor residual (ΔH) foi observado, pois não se observa mudanças na curva DSC, depois de outro aquecimento.

Esses resultados sugerem que a cura alcançada foi total, ou melhor, que a T_g do material alcançou seu valor máximo.

Os sistemas onde foi utilizado o agente de cura 3DCM e IPD apresentam maiores valores de T_g , devido ao fato de que estes promovem formação de redes poliméricas mais rígidas. Baixos valores de T_g refletem a baixa densidade de reticulação destes polímeros (PASCAULT, J. P., et al., 2002).

Figura 51: Curvas de DSC para o polímero DGEBA/3DCM após o programa de cura



Fonte: autor

A T_g obtida para os outros materiais estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Temperatura de transição vítrea dos materiais determinada por DSC, após o programa de cura.

Formulações	1 ^a varredura (T °C)	2 ^a varredura (T °C)
DGEBA/4MPip	55,5	55,3
DGEBA/IPD	100,2	100,3
DGEBA/3DCM	125,0	125,1

Fonte: autor

5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

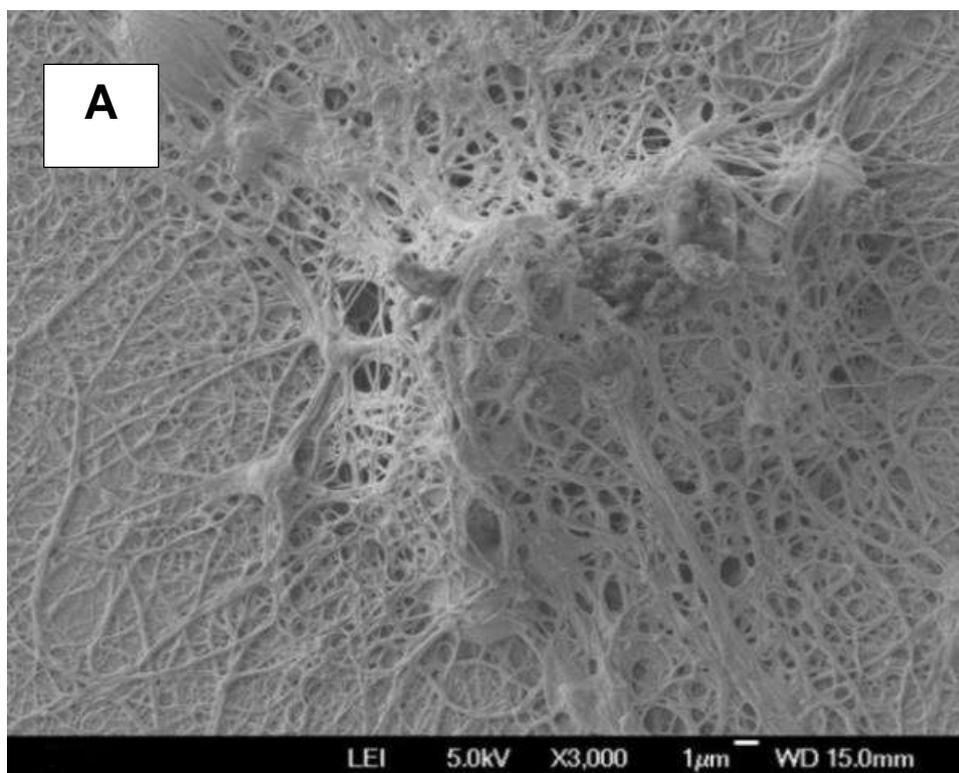
5.3.1 Adesão de plaquetas e ativação

As morfologias das plaquetas observadas nas imagens obtidas por MEV usando ampliações de 3000x são apresentadas nas Figuras 52 a 55.

A superfície de vidro (Figura 51 A) mostrou o maior número de plaquetas ativadas deixando evidente uma maior agregação de plaquetas, grande número de malha de fibrina e formação de trombos quando comparada às superfícies dos polímeros.

Este resultado era esperado, pois o vidro foi utilizado como controle nestas experiências, devido à sua propriedade trombogênica bem conhecida (RUCKENSTEIN, E., et al., 1976; PACKHAM, M. A., et al., 1969).

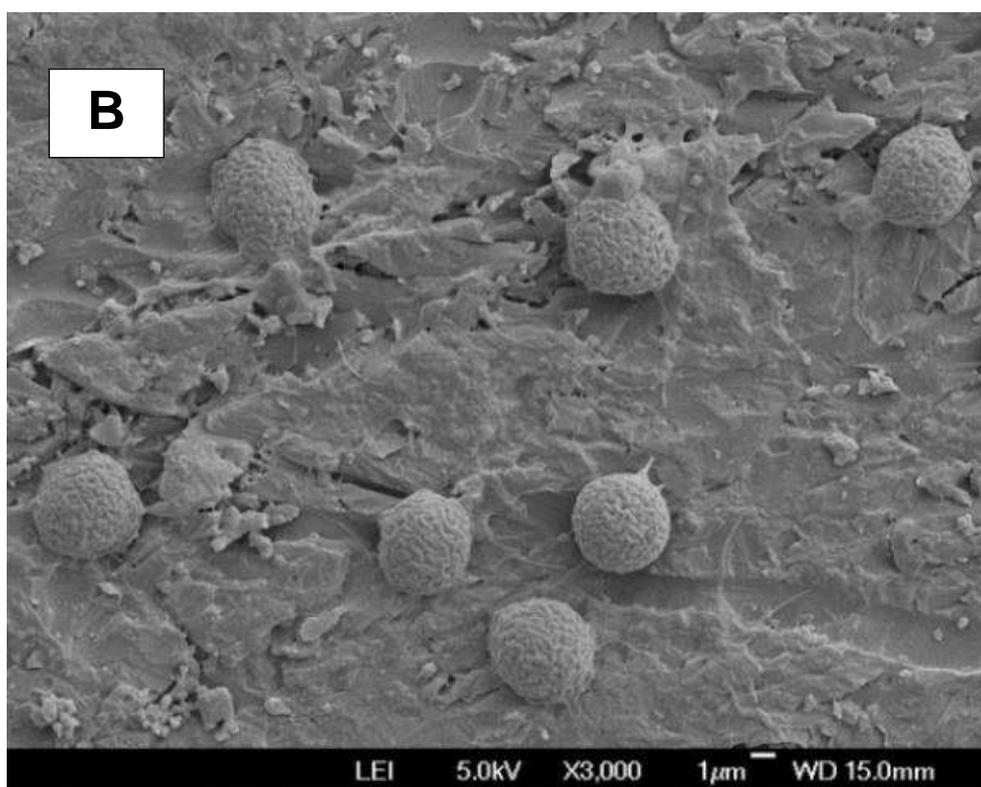
Figura 52: Micrografia MEV da superfície do vidro depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue



Fonte: autor

A microscopia eletrônica de varredura da superfície do material DGEBA/IPD, após o contato com o sangue apresentou propriedades adequadas de hemocompatibilidade, considerando que exibe um maior número de plaquetas aderidas com morfologia arredondada, mostrado nas Figuras 53 B.

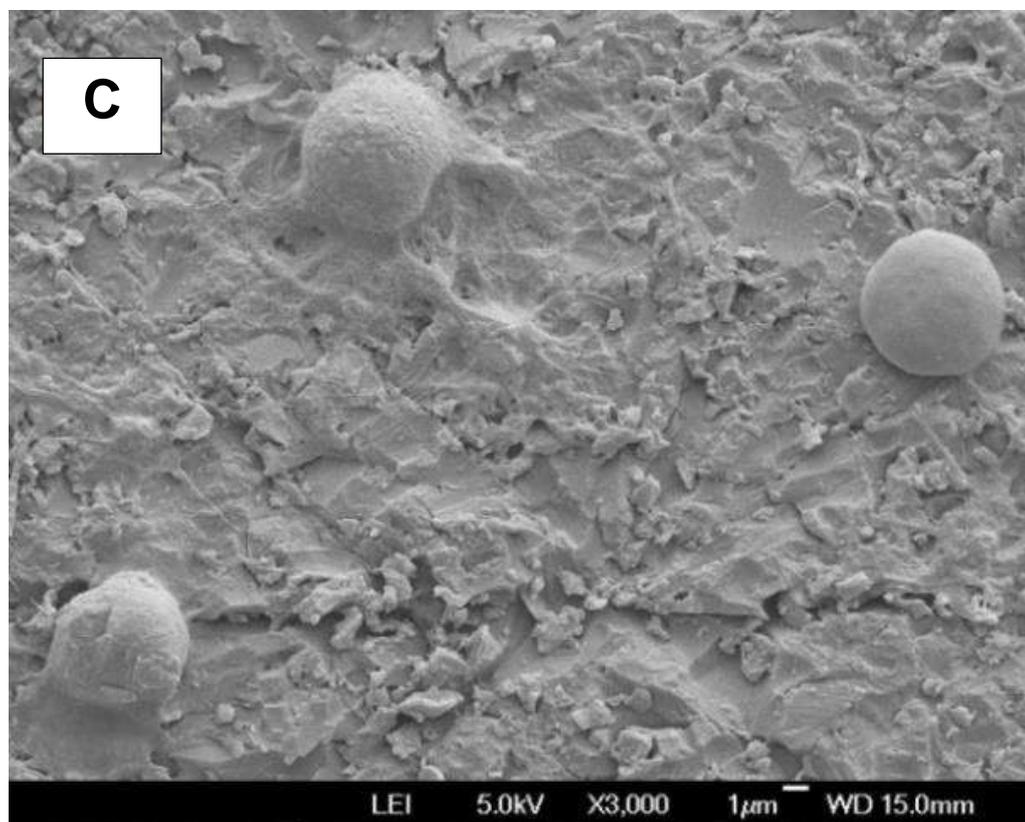
Figura 53: Micrografia MEV da superfície do polímero DGEBA/IPD depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue



Fonte: autor

Nas superfícies dos materiais poliméricos DGEBA/3DCM (Figura 54 C) foi evidente um menor número de plaquetas aderidas também com morfologia arredondada, o que sugere que em todos os materiais estudados as plaquetas foram menos ativadas. Pois antes da ativação, as plaquetas do sangue humano são discoides, e após a ativação, exibem uma progressão de morfologias de discoides para esféricas, e para dendríticas inteiramente espalhadas como relatado na literatura (ALLEN, R. D., et al 1979; ALVES, S. B., 2003).

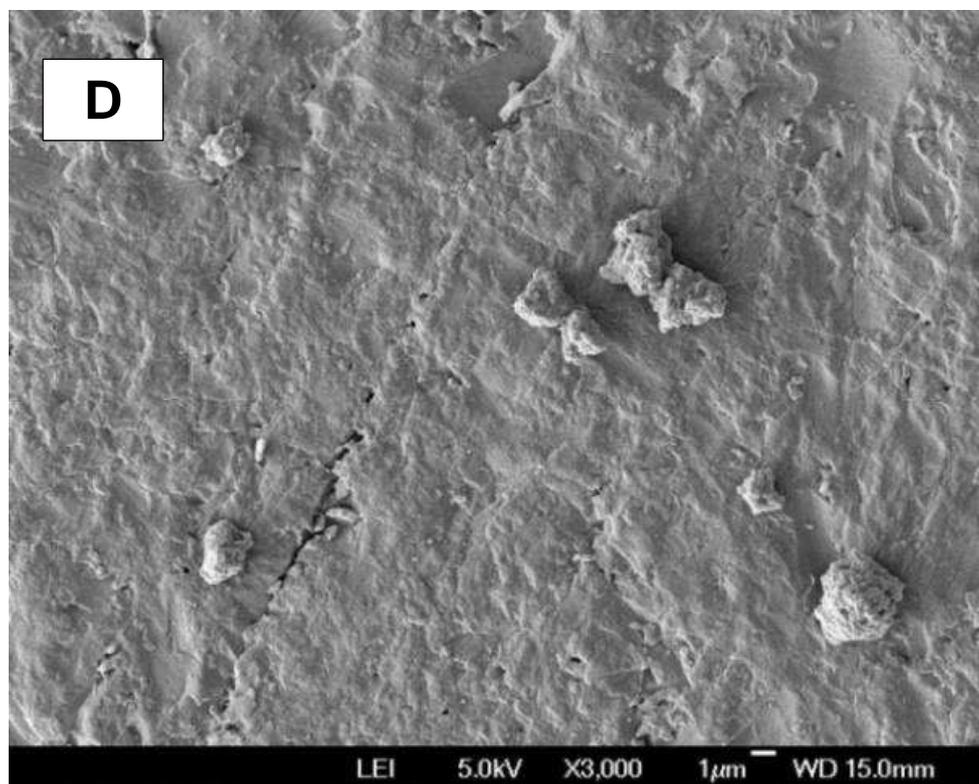
Figura 54: Micrografia MEV da superfície dos polímeros DGEBA/3DCM depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue



Fonte: autor

Nas superfícies dos materiais poliméricos DGEBA/4MPip, (Figura 55 D) também observa-se um menor número de plaquetas aderidas também com morfologia arredondada, sugerindo que também não houve ativação de plaquetas.

Figura 55: Micrografia MEV da superfície do polímero DGEBA/4MPip depois de um tempo de incubação de 180 s com o sangue

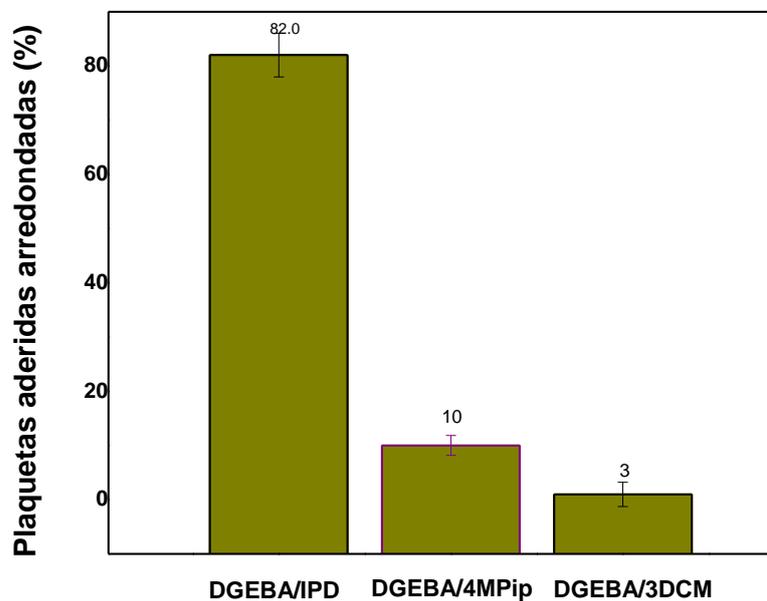


Fonte: autor

A Figura 56 mostra a porcentagem de plaquetas aderidas com morfologia discoides/esféricas que são mais desejáveis do ponto de vista de maior hemocompatibilidade para uma superfície sintética com o sangue (WEISENBERG, B. A., & MOORADIAN, D. L. 2002).

O número total de plaquetas em cada imagem foi obtido pela soma do número de plaquetas com esta morfologia, e os valores calculados são o resultado da média de mais de duas imagens da superfície de cada material polimérico. Observou-se que a porcentagem de plaquetas com esta morfologia foi de 82% para o material DGEBA/IPD, o que sugere que dos materiais estudados este apresenta a maior potencialidade de compatibilidade com o sangue.

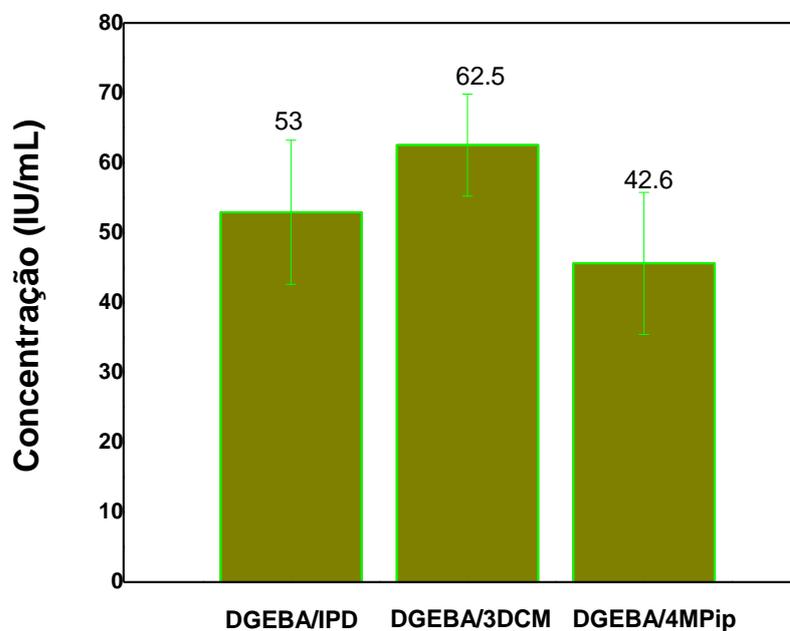
Figura 55: Porcentagem de plaquetas aderidas na superfície dos polímeros com morfologia arredondada depois do contato com o sangue



Fonte: autor

A adesão de plaquetas na superfície dos materiais foi também avaliada pela atividade do lactato desidrogenase (LDH) (TAMADA, Y., KULIK, E. A., & IKADA, Y. 1995), com o objetivo de investigar o potencial das superfícies dos materiais poliméricos para capturar e ativar plaquetas (Figura 57). Níveis elevados de LDH estão associados à adesão de plaquetas e agregados (BAGHERI-KHOULENJANI, S., & MIRZADEH, H. 2012).

Figura 57: Adesão de plaquetas humanas nas superfícies dos polímeros, determinado pelo ensaio LDH



Fonte: autor

A resposta da superfície dos materiais poliméricos determinada pelo ensaio LDH revelou uma maior adsorção de plaquetas em ordem crescente para os materiais poliméricos DGEBA/4MPip, DGEBA/IPD e DGEBA/3DCM o que pode estar relacionado à topografia superficial, (NAIR, B. N., 2009) e às características intrínsecas tais como; composição química, cristalinidade, hidrofobicidade e energia livre superficial.

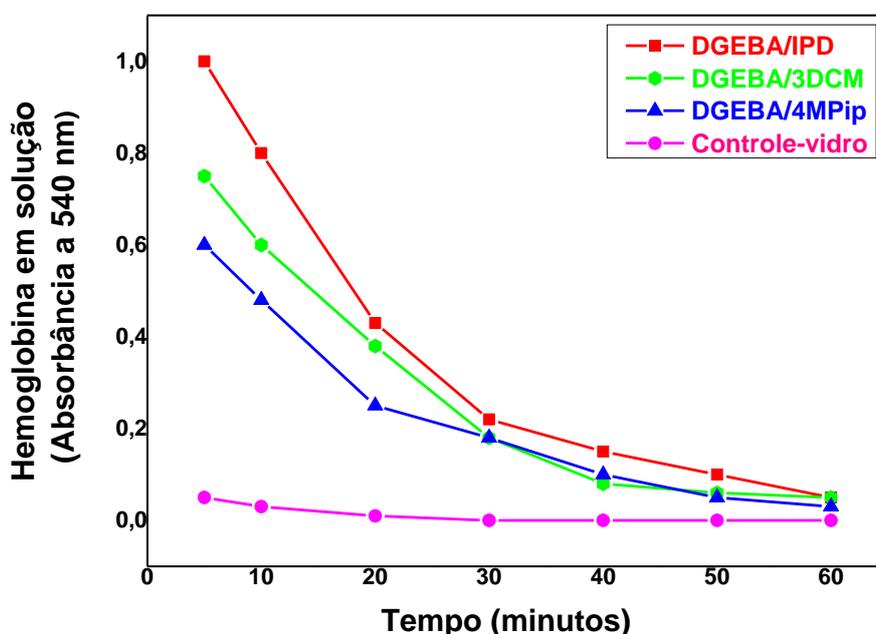
5.3.2 Tromborresistência

A Figura 58 mostra o comportamento da coagulação do sangue para as superfícies dos polímeros e do vidro. A absorvância da solução de hemoglobina hemolisada diminui com o tempo, e quanto maior o valor de absorvância lida, maior a quantidade de hemoglobina na solução, indicando que menores quantidades de células vermelhas do sangue foram aderidas ao material, implicando em menor formação de trombos.

Neste ensaio, o vidro foi utilizado como referência, uma vez que esta superfície é altamente trombogênica.

A absorvância das superfícies dos materiais DGEBA/IPD e DGEBA/3DCM, resultam maiores que a absorvância da superfície do material DGEBA/4MPip, indicando que a coagulação destes dois materiais poliméricos resulta mais lenta e, portanto estes materiais são menos trombogênicos.

Figura 58: Formação de trombos versus tempo nas superfícies dos materiais polímeros e o vidro



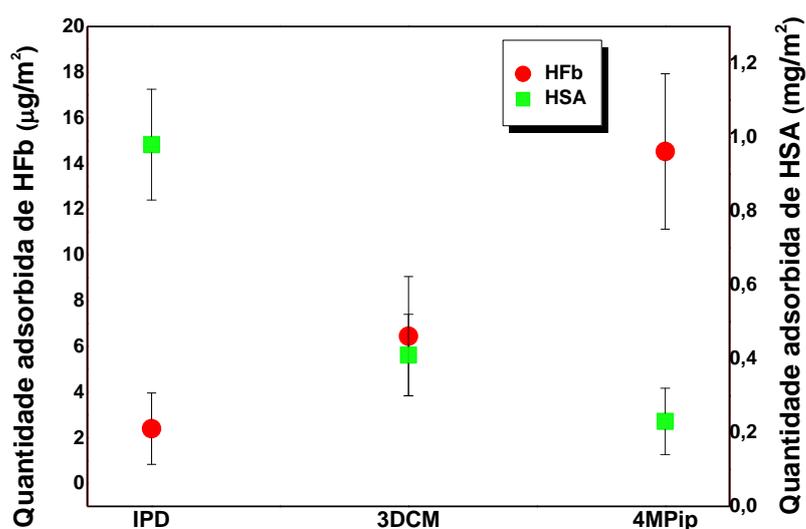
Fonte: autor

5.3.3 Adsorção de proteínas

A adsorção das proteínas HSA e HFb na superfície dos materiais poliméricos foram estudadas com o objetivo de examinar a extensão da interação das superfícies com as proteínas em solução fisiológica (PBS, pH 7,4). Os resultados são mostrados na Figura 59.

Quando uma superfície de material sintético é colocada em contato com o sangue, o primeiro evento a ocorrer é a adsorção das proteínas do plasma sob a superfície, seguido de adesão de plaquetas e ativação (RATNER B. D., 2000; BRASH, J. L., 2000).

Figura 59: Quantidade de HSA e HFb adsorvida para os materiais DGEBA/IPD, DGEBA/3DCM e DGEBA/4MPip



Fonte: autor

Na superfície do material DGEBA/IPD foi observada uma maior adsorção de HSA quando comparada à adsorção de HFb, o que sugere um comportamento não trombogênico (XU LI-CHONG, et al., 1999). A superfície do material DGEBA/3DCM mostrou também uma adsorção de HSA equivalente à adsorção de HFb, o que sugere um menor comportamento não trombogênico. O material DGEBA/4MPip

exibe baixa adsorção de HSA e maior adsorção de HFb, indicando um comportamento mais trombogênico entre os materiais estudados.

Sabe-se que o tipo e quantidade de proteínas do sangue adsorvidas na interface biomaterial/sangue dita em grande parte a ativação das plaquetas induzidas pela superfície. Nesse sentido, a adsorção de fibrinogénio (HFb) nas superfícies de materiais sintéticos é conhecida por acelerar a adesão e ativação de plaquetas, no entanto, a adsorção de albumina (HSA) pode inibir a ativação de plaquetas e, portanto, não promover a formação de coágulos (RATNER B. D. 2000; WOLF, M. F., & ANDWRAON, M. J. 2012). Assim, a relativa maior adsorção de HSA quando comparada à adsorção de HFb dos materiais epoxídicos pode ser um bom indicativo de baixa adesão e ativação de plaquetas por estas superfícies poliméricas.

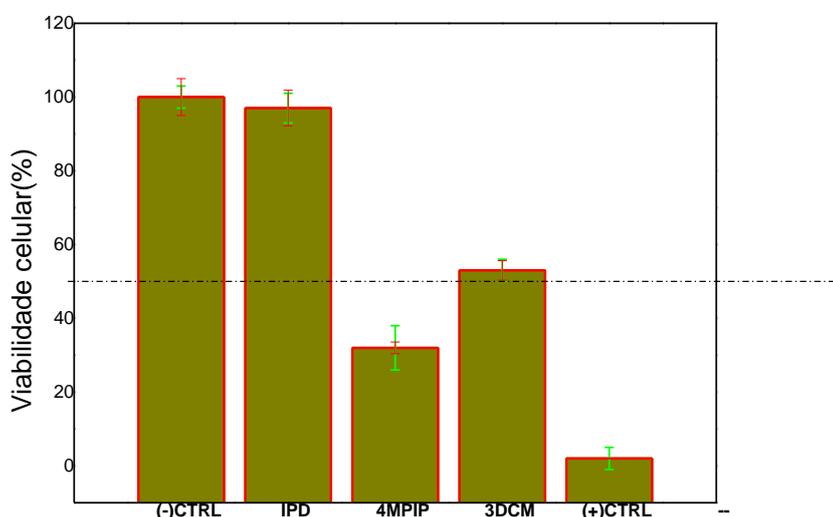
5.3.4 Estudo da citotoxicidade *in vitro*

Conforme ilustrado na Figura 60, a formulação DGEBA/IPD, apresenta boas propriedades biocompatíveis em contato direto com células MG63 e não revelaram qualquer diminuição da viabilidade de células semelhantes a osteoblastos.

No entanto, as formulações DGEBA/4MPIP e DGEBA/3DCM revelam alterações muito significativas na viabilidade celular MG63, que correspondem a alterações equivalentes na respiração mitocondrial em culturas celulares.

Desde que a viabilidade celular da amostra de referência seja de 100%, a viabilidade superior a 80% foi atribuída à ausência de citotoxicidade, viabilidade entre 80% e 60% a uma ligeira citotoxicidade, viabilidade entre 60 e 50% a moderada citotoxicidade e se a sobrevivência celular for menor que 50%, a citotoxicidade da amostra foi designada como grave.

Figura 60: Teste de citotoxicidade (teste de contato, cultura 24 h) com células MG63: DGEBA/IPD, DGEBA/4MPiP, DGEBA/3DCM



Fonte: autor

Os resultados indicam que as amostra DGEBA/ IPD, foi sem efeito citotóxico, onde as viabilidades celulares atingiram mais de 90%. A amostra com formulação DGEBA/3DCM induziu citotoxicidade moderada (53%) contra células MG63.

A formulação 4MPiP exibe viabilidade celular de 28% e sugere citotoxicidade grave após a exposição do DGEBA com células MG63 *in vitro*.

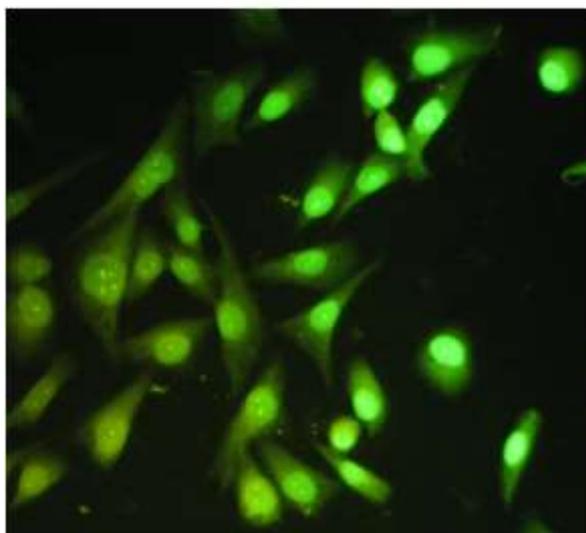
5.3.5 Viabilidade celular por microscopia de luz e microscopia de fluorescência

Para analisar se existe inibição na viabilidade celular das formulações poliméricas a base de DGEBA/IPD, DGEBA/3DCM e DGEBA/4MPiP foi medida a diminuição da proliferação celular por microscopia fluorescente após coloração por AO e EtBr. Durante a fase inicial da apoptose, a fosfatidilserina transloca-se do interior para a parte externa da membrana plasmática e torna-se exposta na superfície das células biológicas, facilitando o seu reconhecimento por macrófagos (MARTIN S.J. et al., 1995).

A análise por microscopia de fluorescência mostrou que, nas células controle, as células apareciam vivas, em cor verde, e o núcleo era grande e redondo sem condensação ou fragmentação, conforme mostrado na Figura 61.

As células viáveis excluíram o EtBr, mas são permeáveis ao AO, que intercalou no DNA para produzir núcleos fluorescentes verdes,

Figura 61: Microscopia de fluorescência das células controle

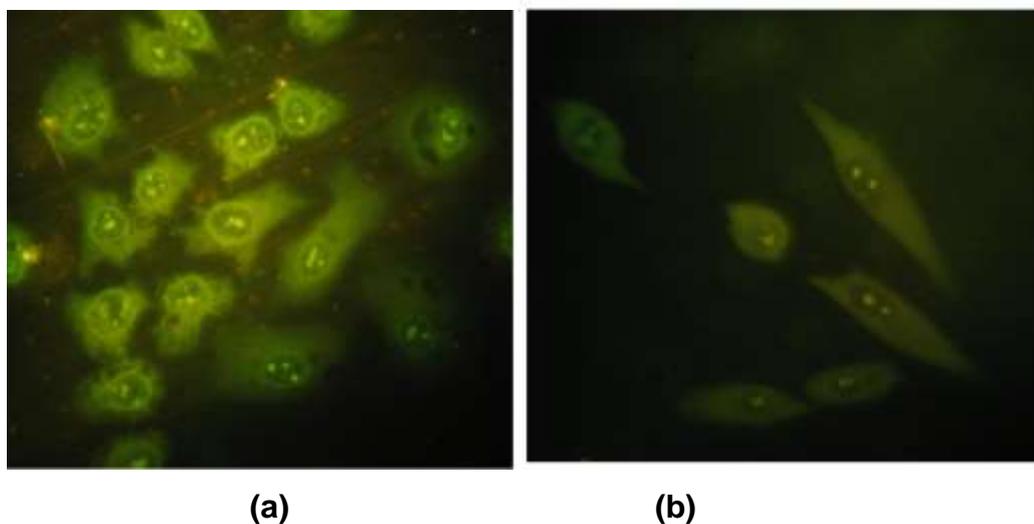


Fonte: autor

As células MG63, após contato direto com as formulações DGEBA/IPD e DGEBA/3DCM, também excluíram o EtBr, e foram permeáveis ao AO mostrando, um núcleo verde claro com estrutura intacta conforme mostrado na Figura 62 (a) DGEBA/IPD e (b) DGEBA/3DCM, indicando a integridade da membrana.

Isso concorda com o resultado do teste de citotoxicidade, onde as viabilidades celulares atingiram mais de 90% para a formulação DGEBA/ IPD e 52 % para a formulação DGEBA/3DCM.

Figura 62: Microscopia de fluorescência das células MG63, após contato direto com as formulações: (a) DGEBA/IPD e (b) DGEBA/3DCM

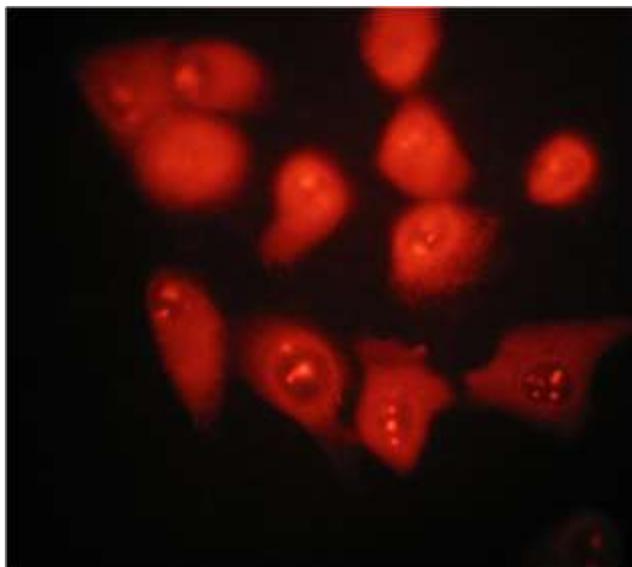


Fonte: autor

De outro modo, as células MG63 após contato direto com a formulação baseada em 4MPip, foram intensamente marcadas com EtBr (fluorescência vermelha), indicando uma perda da sua integridade de membrana e fragmentação ou condensação dos seus núcleos, conforme mostrado na Figura 63.

Em geral, esses resultados indicaram que a disfunção mitocondrial estava envolvida no mecanismo apoptótico induzido pela formulação DGEBA/4MPip com brometo de etídio, indicando comprometimento da integridade da membrana, provavelmente produzido após as primeiras fases de condensação apoptótica nuclear.

Figura 63: Microscopia de fluorescência das células MG63 após contato direto com a formulação DGEBA/4MPip



Fonte: autor

5.4 SILANIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Para confirmar a silanização da superfície das nanopartículas, obteve-se um espectro de FTIR das cerâmicas silanizadas com diferentes estequiometrias, com aminopropiltrimetotóxisilano (APTMS).

5.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Obteve-se um espectro de FTIR das cerâmicas de composição $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, onde todas as estequiometrias foram analisadas e mostraram espectros semelhantes. Os espectros de FTIR são mostrados na Figura 64. A Tabela 12 traz um resumo das frequências vibracionais e suas atribuições.

Tabela 12: Frequências vibracionais e suas atribuições para as cerâmicas silanizadas com APTMS

Frequências vibracionais (cm^{-1})	Atribuições
3200-3600	Estiramento do grupo -OH
840-930	Deformações axiais do grupo C-O
590-685	Ligação metal-oxigênio
1680	Deformação do grupo -OH
2350	Estiramento C=O
1020	Si-O-H
1060	Si-O-Si
3400	Vibração de alongamento N-H
1540	Modo de curvatura NH_2 do grupo NH_2 livre,
3248-3470	Silanois ligados por hidrogênio
2929-2852	Vibrações de estiramento C-H

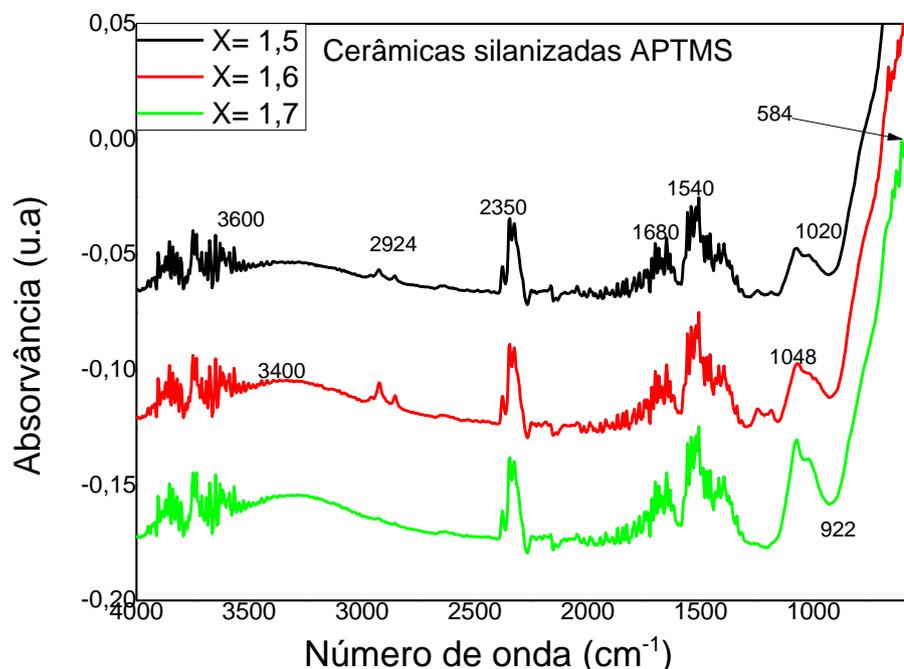
Fonte: autor

A presença de múltiplas ligações Fe-O, que pertencem à cerâmica $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ pode ser notada em comprimentos de onda entre 585 e 690 cm^{-1} (MING MA, et al., 2003). O espectro exibe bandas de estiramento OH em 3200 cm^{-1} e 3600 cm^{-1} , provavelmente devido à absorção de água durante o teste. Bandas na faixa de 840 cm^{-1} a 930 cm^{-1} representam deformação axial de ligações C-O em carbonatos e carboxilatos respectivamente, comprovando a presença destes compostos na

amostra. Os números de onda variando de 590 cm^{-1} a 685 cm^{-1} são atribuídos ao modo de alongamento do tetraedro das cerâmicas YFeAl (MOTLAGH Z.A., et al, 2010) característica das ligações metal-oxigênio em cerâmica. Houve, no entanto, uma banda de vibração observada que está associada à deformação das ligações O-H perto de 1690 cm^{-1} , que pode ser atribuída à água adsorvida na superfície da cerâmica quando a amostra estava em contato com o meio ambiente. Bandas em 2350 cm^{-1} são atribuídas ao CO_2 atmosférico.

A banda de absorção do polímero de silano não pode ser vista no espectro de FTIR porque aparece em torno de 602 cm^{-1} e, portanto, se sobrepõe ao modo de alongamento da cerâmica YFeAl. Apenas, a absorção da rede de sílica sobre a superfície das nanopartículas foi confirmada por bandas de 1020 cm^{-1} , 1060 cm^{-1} , atribuídas aos grupos Si-O-H e Si-O-Si. A banda de absorção a 840 cm^{-1} revelaram a presença de estiramento de Si-O-H e vibrações de OH na superfície das cerâmicas (L.D. WHITE, 2000). As duas bandas largas a 3500 cm^{-1} e 1540 cm^{-1} podem ser atribuídas à vibração de alongamento N-H e ao modo de curvatura NH_2 do grupo NH_2 livre, respectivamente (L.D. WHITE; C.P. TRIPP, J, 2000). Além disso, os silanois ligados por hidrogênio também aparecem em torno de 3248 cm^{-1} e 3470 cm^{-1} (S. RAMESH, I. FELNER, Y. KOLTYPIN, A. GEDANKEN, J, 2000). A presença do grupo propil ancorado foi confirmada por vibrações de estiramento C-H que apareceram em 2929 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} .

Figura 64: Espectros FTIR das cerâmicas sinalizadas com estequiometria $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$



Fonte: autor

5.5 REVESTIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS

Para confirmar o revestimento da superfície das nanopartículas, obteve-se um espectro de FTIR das cerâmicas revestidas com diferentes estequiometrias, com a matriz epóxi/amina.

5.5.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Todas as estequiometrias (composições $1,5 \leq x \leq 1,7$) foram analisadas e mostraram espectros semelhantes (Figura 65). Nesses espectros aparecem as bandas vibracionais de absorção para o éter diglicídico do bisfenol A (DGEBA) ligado a compostos com grupos amina alifática. A Tabela 13 traz o resumo das principais frequências vibracionais e suas correspondentes atribuições.

Tabela 13: Frequências vibracionais e suas atribuições para as cerâmicas revestidas com a formulação DGEBA/IPD

Frequências vibracionais (cm ⁻¹)	Atribuições
3610-3670	Vibração do grupo hidroxila - OH
2960-2850	Estiramento de ligações C-H do tipo sp ³
1513, 1500 e 1640	Atribuídas ao anel aromático
1470, 2850 e 2960	Grupos metilo e metileno
1084	Características do éter C-O-C
1210	Grupo éter alifático

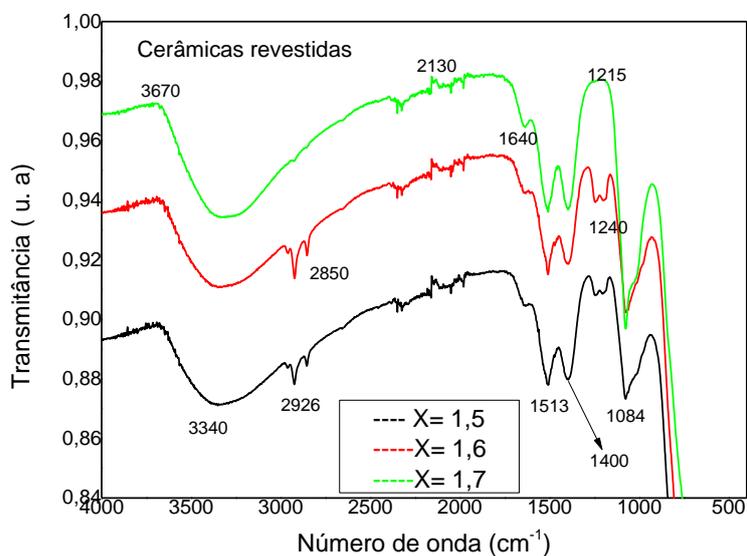
Fonte: autor

As bandas FTIR de resinas epóxi são amplamente discutidas na literatura (URBANSKI, J.;1977). Absorção em 3610 cm⁻¹ a 3670 cm⁻¹ são atribuídas à vibração do grupo hidroxila –OH, e bandas de absorção entre 2960 e 2850 cm⁻¹ associadas às vibrações de estiramento de ligações C-H do tipo sp³, atribuídas a compostos alifáticos.(SILVERSTEIN, R. M., WELBSTER, F. X, 1996).

O espectro exibe três bandas a 1513 cm⁻¹, 1500 cm⁻¹ e 1640 cm⁻¹, atribuídas ao anel aromático. Bandas a 1470 cm⁻¹, 2850 cm⁻¹ e 2960 cm⁻¹, associadas aos grupos metilo e metileno. Uma banda associada ao grupo de éter C-O-C a 1084 cm⁻¹ e uma banda a 1210 cm⁻¹ correspondendo a éter alifático (JO, W. H.; KO, J. K. 1991).

Observa-se que não aparece a banda de absorção em 915 cm⁻¹ que corresponde à banda de vibração fundamental do grupo epóxi (ALONSO, T. V, 2013). As bandas características do material cerâmico não foram claramente observadas nos espectros. Isso pode sugerir que o polímero epóxi cobre grande parte da superfície das nanopartículas magnéticas.

Figura 65: Espectros FTIR das cerâmicas $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, após a reação de silanização e revestimento com a matriz epóxi



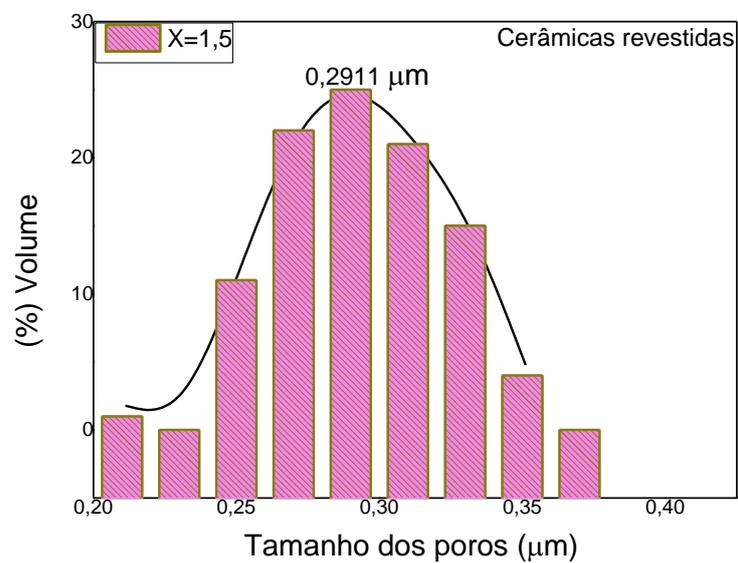
Fonte: autor

5.5.2 Determinação do tamanho e distribuição do tamanho dos poros após o revestimento

A determinação do tamanho e distribuição dos poros foi realizada após a silanização e o revestimento das cerâmicas. A diminuição do tamanho médio dos poros dos aglomerados em alguns micrometros, para todas as composições, justifica o revestimento das mesmas. O recobrimento da superfície das nanopartículas faz com que haja o fechamento dos poros, conseqüentemente isto leva a sua diminuição do tamanho. Estes resultados podem ser observados nas Figuras 66, 67 e 68.

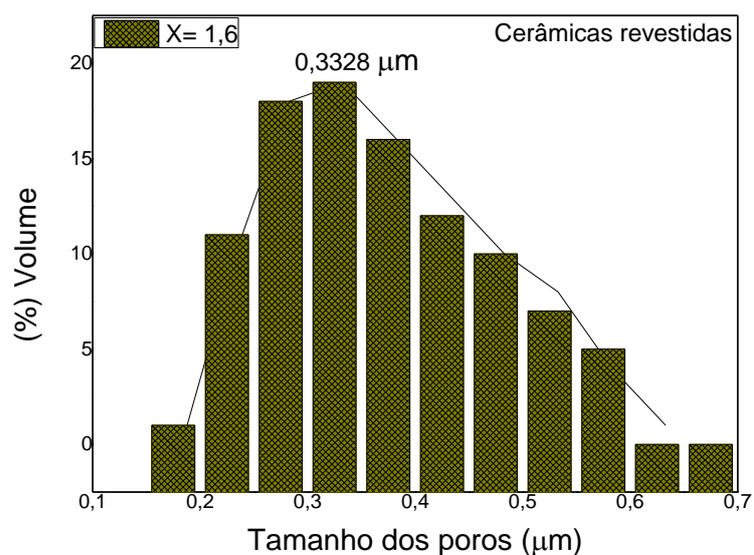
As cerâmicas apresentaram diâmetro médio dos poros' de aproximadamente 0,30, 0,35 e 0,53 μm , para valores de x igual a 1,5, 1,6 e 1,7, respectivamente.

Figura 66: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros, após o revestimento, com estequiometria $x = 1,5$



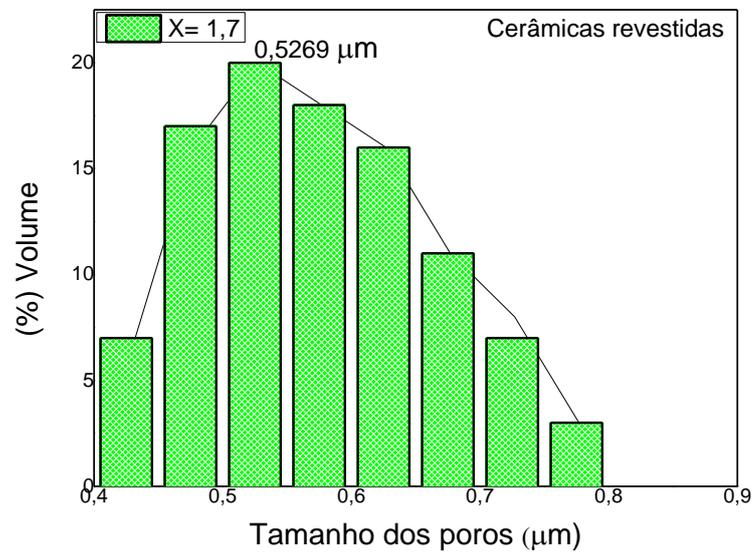
Fonte: autor

Figura 67: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros, após o revestimento, com estequiometria $x = 1,6$.



Fonte: autor

Figura 68: Tamanho e distribuição de tamanho dos poros, após o revestimento, com estequiometria $x = 1,7$

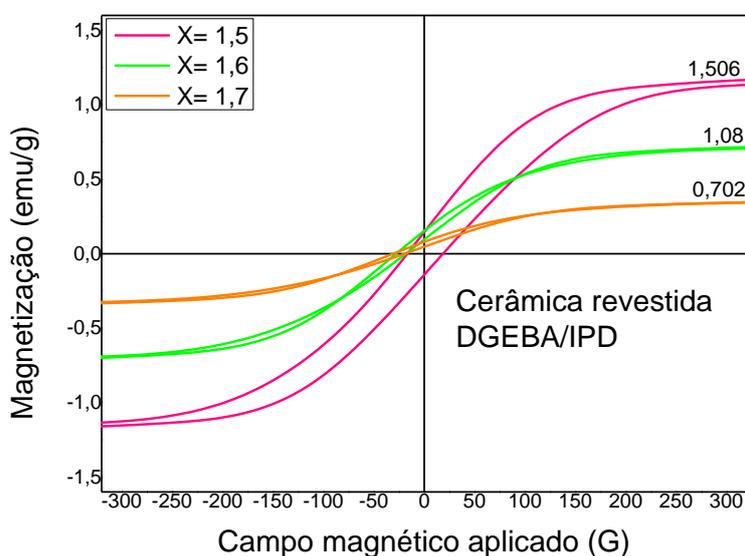


Fonte: autor

5.5.3 Comportamento magnético das cerâmicas revestidas

Como eram esperadas, as propriedades magnéticas das cerâmicas revestidas não foram afetadas após o revestimento, e isto pode estar relacionado ao fato de que o material polimérico a base de polímeros epóxi, não possui propriedade magnética, não alterando as propriedades do núcleo magnético. Os mesmos valores de M_s , M_r e H_c , foram encontrados para todas as estequiometrias (Figura 69).

Figura 69: Histerese magnética $M \times H$ na temperatura ambiente para $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, após o revestimento DGEBA/IPD



Fonte: autor

6. CAPÍTULO VI - CONCLUSÕES

A síntese das nanopartículas pelo método dos precursores poliméricos permitiu a obtenção de pós de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ em diferentes estequiometrias.

A concentração de íons alumínio substituídos, tem papel fundamental na rede cristalina, alterando sua propriedade magnética, modulando a temperatura de Curie.

A análise termogravimétrica mostrou que a 500°C , ocorre a decomposição da orgânica. A análise de DRX mostrou que a partir da temperatura de 700°C , houve a formação da fase cristalina do composto $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$, independentemente da estequiometria. O tamanho médio dos cristalitos determinados através da equação de Scherer mostra tamanho médio entre 45-65 nm.

A espectroscopia de espalhamento Raman, mostra variações evidentes das frequências de vibrações nas moléculas de cada pó ao passo que ocorre a substituição dos íons Fe^{3+} , pelos íons Al^{3+} .

Os espectros de FTIR, mostra que para todas as estequiometrias estudadas, os modos vibracionais são semelhantes, e indicam a presença de várias ligações nos materiais cerâmicos em estudo.

Pela observação das micrografias (MEV), nota-se a presença de aglomerados das partículas em todos os casos. O tamanho de partícula ficou entre 30-60 nm, confirmando a determinação de tamanho determinados pela equação de Scherer. A estequiometria aparentemente não modificou a característica dos aglomerados.

A magnitude da permissividade dielétrica em função da temperatura, diminui com o aumento da concentração de íons alumínio e a T_c decaiu, indicando que a polarização dielétrica é um tipo de relaxação natural. A região em torno do pico dielétrico é ampla para a estequiometria, com x igual a 1,7 devido a uma desordem no arranjo dos cátions em um ou mais sítios cristalográficos da estrutura. A redução da permissividade dielétrica indica que íons Al^{3+} migram para os cristais, preenchendo gradualmente os tetraedros e octaedros e substituem os íons Fe^{3+} como íon central. A estequiometria que apresentou uma temperatura de Curie próxima à temperatura ideal foi a de X igual a 1,6.

A curva de histerese magnética, magnetização (M) versus campo magnético aplicado (H), à temperatura ambiente, mostra que as amostras apresentaram "loops" de saturação independente da estequiometria, e que a magnetização de saturação, diminui de acordo com o a diminuição da razão Fe/Al. Sendo também a

estequiometria para x igual a 1,6, que apresentou uma magnetização intermediária, com temperatura de Curie próxima a ideal. O ciclo completo da histerese pode ser observado, quando o campo magnético aplicado está entre -300 a 300 Gauss.

Quanto as formulações epoxidicas estudadas para no revestimento das nanopartículas, ficou evidenciada pelos resultados de FTIR e DSC que, com o programa de cura utilizado, todos os materiais alcançaram a cura total.

Os resultados das interações biológicas *in vitro* entre a superfície dos materiais com o sangue mostraram alta adsorção de albumina e baixa adsorção de fibrinogênio, assim como a supressão de ativação de plaquetas, atividade do Lactato Desidrogenase (LDH) e boas propriedades de tromborresistência para os materiais DGEBA/IPD e DGEBA/3DCM, indicando que estes materiais são promissores para aplicações biomédicas.

O estudo das citotoxicidade *in vitro* das amostras DGEBA/IPD, DGBA/DCM e DGBA/IPD apresentam boas propriedades biocompatíveis em contato direto com células MG63 e não revelaram qualquer diminuição da viabilidade de células semelhantes a osteoblastos.

Os espectros FTIR das cerâmicas silanizadas mostram bandas de absorção a 920 cm^{-1} e 870 cm^{-1} indicando a presença de grupos Si-O-H e vibrações de OH na superfície das cerâmicas. As duas bandas largas a 3500 cm^{-1} e 1540 cm^{-1} , também confirmam a silanização, pois revelam a presença dos grupos N-H e NH_2 do grupo NH_2 livre, respectivamente.

Quanto aos espectros FTIR das cerâmicas revestidas, aparecem as bandas vibracionais de absorção em boa concordância com a literatura para o Éter Diglicídico do Bisfenol A (DGEBA), ligado a compostos com grupos amina alifática.

As propriedades magnéticas das cerâmicas revestidas não foram alteradas, devido ao fato de que o material de revestimento não possui nenhuma propriedade magnética.

E finalmente, com esta pesquisa pode-se concluir que as nanopartículas de YFeAl, silanizadas e revestidas com uma matriz epóxi, mostram um futuro promissor no uso para aplicações biomédicas, em especial na magnetohipertermia.

7. CAPÍTULO VII - SUGESTÕES PARA ATIVIDADES FUTURAS

Com o objetivo de aprimorar os estudos para utilização das nanopartículas revestidas (NPR) com matriz epóxi na medicina oncológica 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 NPR versáteis quanto á sua atuação na medicina oncológica. Sendo assim, as perspectivas futuras desse trabalho são:

i) Aperfeiçoar e padronizar as condições de síntese das NPM, buscando uma estequiometria que satisfaça o comportamento magnético desejável;

ii) Estabelecer protocolos de estudo dos difratogramas de raios x para se obter dados precisos a respeito da estrutura cristalina das nanopartículas de YFeAl.

iii) Analisar de forma mais completa o comportamento biocompatível das NPR, com o objetivo de se investigar a biocompatibilidade e sua hemocompatibilidade *in vitro* e *in vivo*;

iv) Avaliar de modo mais completo a eficácia *in vitro* e *in vivo* das nanopartículas através de testes de hipertermia e liberação de calor utilizando modelo de experimentação animal;

v) Acoplamento de fármacos anticancerígenos às superfícies das nanopartículas revestidas;

vi) Estudo da liberação controlada *in vitro* de fármacos anticancerígenos.

8. CAPÍTULO VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIVISATOS, A. P. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*, v. 271, n. 5251, p. 933-937, 1996.

ALLEN, R. D., ZACHARSKI, L. R., WIDIRSTKY, S. T., ROSENSTEIN, R., ZAITLIN, L. M., & BURGESS, D. R. (1979). Transformation and motility of human platelets: details of the shape change and release reaction observed by optical and electron microscopy. *The Journal of Cell Biological*, 83(1), 126-142.

ALONSO, THIAGO VINICIUS. Estudo da reação de formação de adutos gerados por resina epóxi e polialqueno glicóis. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Escola Politécnica. University of São Paulo, 2013.

ALVES, S. B., DE QUEIROZ A. A. A., & HIGA, O. Z. (2003). Digital image processing for biocompatibility studies of clinical implanted materials. *Artificial Organs*, 27(5), 444-446. doi:10.1046/j.1525-1594.2003.07246.x.

American Society for Testing and Materials. ASTM D 1652 - 97. "Standard test methods for epoxy content of epoxy resins" (1997).

ASKELAND, D. R., *The Science And Engineering Of Materials*, International Student Edition (1998).

A. S. HUDSON, "Molecular Engineering in the Design of Microwave Ferrimagnetic Garnets," *J. Phys. D: Appl. Phys.*, v.3, p. 251-268, 1970.

BAGHERI-KHOULENJANI, S., & MIRZADEH, H. (2012). Polystyrene surface modification using excimer laser and radio-frequency plasma: blood compatibility evaluations. *Progress in Biomaterials*, 1(4), 1-8. doi:10.1186/2194-0517-1-4

BERRY, C. C., CURTIS, A. S. G., Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 36, 198, 2003

BERTAUT, F., FORRAT, F., *Comptes Rendus de l'Academi des Sciences*, Paris, 242.328, 1956.

BORDINI, C.V., Caracterização, estabilidade e propriedades magnéticas do polímero quitosana ferro, in Departamento de Ciências da Saúde. 2006, Universidade do Vale do Itajaí: Itajaí.

- BRADFORD, M. M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3
- BRAUN, P. V., OSEAR, P., STUPP, S. I. *Nature.*, 380(1996) 325.
- BRINKER, C. J. *Sol gel science the physics and chemistry of sol gel processing*. 3rd ed. Boston: Academic Press, 1990. 908 p.
- CARRENO, N. L. V.; LEITE, E.R.; SANTOS, L. P. S.; LISBOA-FILHO, P. N.; LONGO, E.; Síntese, caracterização e estudo das propriedades catalíticas e magnéticas de nanopartículas de Ni dispersas em matriz mesoporosa de SiO₂. *Química Nova*. V. 25 n. 6a. p. 935-942. 2002.
- BRASH, J. L. (2000). Exploiting the current paradigm of blood-material interactions for the rational design of blood-compatible materials. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 11(11), 1135-1146. doi:10.1163/156856200744237
- BRAUN, P. V., OSEAR, P., STUPP, S. I. *Nature.*, 380(1996) 325.
- BORDINI, C.V., Caracterização, estabilidade e propriedades magnéticas do polímero quitosana ferro, in Departamento de Ciências da Saúde. 2006, Universidade do Vale do Itajaí: Itajaí.
- CASALI, G. P.; Pigmentos de TiO₂ dopado com os metais de transição cromo e manganês. Tese de Mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de São Carlos-São Carlos, 2001.
- CASTRO, V. F.; CELESTINO, J.; DE QUEIROZ, A. A. A.; GARCIA, F. G., Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magneto-hipertermia. Universidade Federal de Itajubá. Minas Gerais-MG, 2010.
- CARRENO, N. L. V.; LEITE, E.R.; SANTOS, L. P. S.; LISBOA-FILHO, P. N.; LONGO, E.; Síntese, caracterização e estudo das propriedades catalíticas e magnéticas de nanopartículas de Ni dispersas em matriz mesoporosa de SiO₂. *Química Nova*. V. 25 n. 6a. p. 935-942. 2002.
- CHANG, T. D.; CARR, S. H.; BRITAIN, J. O., Studies of epoxy resin systems: Part B: Effect of crosslinking on the physical properties of an epoxy resin. *Polymer Engineering and Science*. v. 22, p. 1213 – 1220, 1982
- CHEN, J. Y., LENG, Y. X., TIAN, X. B., WANG, L. P., HUANG, N., CHU, P. K., & YANG, P. (2002). Antithrombotic investigation of surface energy and optical

bandgap and hemocompatibility mechanism of $\text{Ti}(\text{Ta}^{+5})\text{O}_2$ thin films. *Biomaterials*, 23(12), 2545-2552. doi :10.1016/S0142-9612(01)00389-1

CHERUKURI, P., GLAZERA, E. S., CURLEY S. A., Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 339–345, 2010

CHOI, J.; HARCUP, J.; YEE, A. F.; ZHU, Q.; LAINE, R. M., Organic/Inorganic hybrid composites from cubic silsesquioxanos. *Journal of the American Chemical Society*. v. 123, p. 11420 – 11430, 2001.

COSTA, A. C. F. M.; VILAR, M. A.; LIRA, H. L.; KIMINAMI, R. H. G. A.; GAMA, L.; Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO_2 . *Cerâmica*. V. 52. n. 324. P. 255-259. 2006.

DE C., JONIAU, M., Magnetoliposomes: formation and characterization. *Eur. Biophys. J.*, 15, 311-319, 1988.

DE MORAIS, a. B.; Pereira, A. b.; telXEIRA, J. P.; CAVALEIRO, N. C. Strength of epoxy adhesive-bonded stainless-steel joints *Internatinoal Journal of Adhesion and Adhesives* V. 27; n. 8. P. 679-686, Dez 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/SO143749607000310>. Acesso em: 17 jul. 2018.

DE QUEIROZ, A. A. A. Obtenção de copolímeros de enxerto via radiação ionizante, caracterização e estudo de suas propriedades hemocompatíveis. São Paulo, 1993. Tese (doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo.

DING, J. H; GIN, D. L. Catalytic Pd Nanoparticles Synthesized Using a Lyotropic Liquid Crystal Polymer Template *Chemistry of Materials* 2000 12 (1), 22-24.

DU, Y.; ZHANG, D.; LIU, H.; LAI, R. Thermochemotherapy effect of nanosized $\text{As}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$ complex on experimental mouse tumors and its influence on the expression of CD44v6, VEGF-C and MMP-9. *BMC Biotechnol*, v. 9, p. 84, 2009.

EFFENGERGER, F. B. Nanomateriais magnéticos para aplicações em terapia e imagem-Tese de Doutorado-Universidade de São Paulo-instituto de química, 2012.

EL FAROU, M.H.; MIYAHARA, R.Y. Método Pechini para preparação de nanopartículas. In: IX Semana de estudos de física do Unicentro, Guarapuava, Pr, 2011. Acesso em: 28 de Outubro de 2018.

ESTEVANATO, L. L. C. Nanocápsulas magnéticas de Selol para tratamento do câncer de mama experimental: avaliação in vitro e in vivo. 2012. 134p. Tese

(Doutorado em Patologia Molecular) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

F. GONZÁLEZ-GARCIA, E. MIGUEZ, and B. G. SOARES, “Caracterização do sistema éter diglicídico do bisfenol A / poliaminas alifáticas,” *Polímeros*, vol. 15. scielo, pp.261–267, 2007

FARIA, R.N.; LIMA, L.F.C.P.; Introdução ao Magnetismo dos Materiais - Livraria da Física, São Paulo, 2005.

FORSTER, H. P., EMANUEL, E., & GRADY, C. (2001). The revision of the Declaration of Helsinki: A step forward or more confusion?. *TheLancet*, 358(9291), 1449-1453. doi:10.1016/S0140-6736(01)06534-5

GARCIA, F.G.; LEYVA, M.E.; QUEIROZ, A. A. A.; HIGA, O. Z. Epoxy networks for medicine applications: mechanical properties and in vitro biological properties. *J Appl Polym Sci*. 2009;112:1215-25.

GAOA, J., XU B., Applications of nanomaterials inside cells. *Nano Today*, 4, 37— 51, 2009.

GONZÁLEZ GARCIA, F., LEYVA, M. E.; SOARES, B. G. “Caracterização do sistema éter diglicídico do bisfenol A / poliaminas alifáticas,” *Polímeros*, vol. 15. Scielo, pp. 261–267, 2007.

GAOA, J., XU B., Applications of nanomaterials inside cells. *Nano Today*, 4, 37— 51, 2009.

GIRIDHAR, V. V., BALASUBRAMANIAN, N. and KARTHIKEYAN, N. Synthesis and characterization of LaNO_3 - based platinum catalyst for methanol oxidation. *Journal of Power Sources*. V. 185, pg. 670-675. 2008

GRASSET F., MORNET S., DEMOURGUES A.; Synthesis, magnetic properties, surface modification and cytotoxicity evaluation of $\text{Y}_3\text{Fe}_{5-x}\text{Al}_x\text{O}_{12}$ ($0 \leq x \leq 2$) garnet submicron particles for biomedical applications, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*,409–418(2001).

GUFFY, M.M. et al., Sensitivity in Cultured L1210 Murine Leukemia Cells Effect of Cellular Fatty Acid Alteration on Hyperthermic Sensitivity in Cultured L1210 Murine Leukemia Cells. *Cancer Research*, 42, 3625-3630, 1982 [32]

GUPTA, A.K. and M. GUPTA, Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 2005. 26(18): p. 3995-4021

HADAD, D. "Physical and chemical characterization of epoxy resins," in *Epoxy Resins: chemistry and technology*, New York: Marcel Dekker, Ed. 1988, pp. 1089–1172.

HÄFELI, U.; SCHÜTT, W.; TELLER, J.; ZBOROWSKI, M. *Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers*, Plenum Press, New York, 1997.

HARRIS, L.A., Polymer stabilized magnetite nanoparticles and poly(propylene oxide) modified styrene-dimethacrylate networks, in *Philosophy in Chemistry*. 2002, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University: Virginia.

HERGT, R., DUTZ, S. Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2007 Apr; 311(1):187-92. PubMed PMIDWOS:000245524800040. English.

HERUKURI, P., GLAZERA, E. S., CURLEY S. A., Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 339–345, 2010.

HOBBS, S. K. *et al.* Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 4607–12 (1998).

HOU, C. H.; HOU, S. M.; HSUEH, Y. S.; LIN, J.; WU, H. C.; LIN, F. H. The in vivo performance of biomagnetic hydroxyapatite nanoparticles in cancer hyperthermia therapy. *Biomaterials*, v. 30, n. 23-24, p. 3956-60, Ago 2009.

HYEON, T.; CHING, Y.; PARK, J.; LEE, S.S.;KIM, Y. W.; PARK, B.H. Synthesis of Highly Crystalline and Monodisperse Cobalt Ferrite Nanocrystals. *The Journal of HUSSAIN, S. M. ET AL., In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicology In Vitro*, 19, 975-983, 2005.

IMAI, Y., & NOSE, Y. (1972). A new method for evaluation of antithrombogenicity of materials. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, 6(3), 165-172. doi:10.1002/jbm.820060305

IMANISHI, Y., ITO, Y., LIU, L. S., & KAJIHARA, M. (1988). Design and synthesis of biocompatible polymeric materials. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Pure and Applied Chemistry*, A25(1-7), 555-570. doi:10.1080/00222338808053384

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. TNM: classificação de tumores malignos. Tradução Ana Lúcia Amaral Eisenberg. 6. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2014. 254 p.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER-José Alencar gomes da Silva/Ministério da Saúde, Nova edição do livro ABC do Câncer. disponível em: www.inca.gov.br. Acessado em jul 2017.

ITO, A.; TANAKA, K.; KONDO, K.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; MATSUMOTO, K.; SAIDA, T.; KOBAYASHI, T. Tumor regression by combined immunotherapy and hyperthermia using magnetic nanoparticles in an experimental subcutaneous murine melanoma. *Cancer Sci*, v. 94, n. 3, p. 308-13, Mar 2003a.

ITO, A.; TANAKA, K.; HONDA, H.; ABE, S.; YAMAGUCHI, H.; KOBAYASHI, T. Complete regression of mouse mammary carcinoma with a size greater than 15 mm by frequent repeated hyperthermia using magnetite nanoparticles. *J Biosci Bioeng*, v. 96, n. 4, p. 364-9, 2003b.

ITO, A. et al., Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 1, 1-11, 2005

IVKOV, R.; DENARDO, S.J.; et al. Application of high amplitude alternating magnetic fields for heat induction of nanoparticles localized in cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, v. 11, n. 19 Pt 2, p. 7093s–7103s, 2005.

JAIN, R. K. & STYLIANOPOULOS, T. Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 7, 653–664 (2011).

JILES, D., Introduction to Magnetism and Magnetic Materials, Chapman & Hall, 2ª Edição, Londres (1998).

JO, W. H.; KO, J. K. The effects of physical aging on the thermal and mechanical properties of an epoxy polymer. *Polymer engineering and science*, v. 31, p. 239-244 (1991)

KETTERING, M. et al, Magnetic nanoparticles as bimodal tools in magnetically induced labeling and magnetic heating of tumour cells: an in vitro study. *Nanotechnology*, 18, 175101, 2007

KIM JH, HAHN E., TOKITA N. Combination hyperthermia and radiation therapy for cutaneous malignant melanoma. *Cancer* 1978;41:2143-8.

KIM, C.S., MIN, B.K., KIM, S.J., YOON, S.R., UHM, Y.R. Crystallographic and magnetic properties of $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 254–255 (2003) 553–555

KNOBE, L M., Aplicações do magnetismo, Ciência Hoje, 36, 215, 18-26, 2006

- KOBAYASHI, T. Antitumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. *Jpn J Cancer Res*, v. 89, n. 7, p. 775-82, Jul 1998b.
- KOMARNENI, S.; KATSUKI, H. "Nanophase materials by a novel microwave-hydrothermal process, *Pure appl. Chem.*, 74; 1537, 2006.
- KULIK, E., IKADA, Y. *In vitro* Platelet adhesion to nonionic and ionic hydrogels with different water contents. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 30, p. 295-304, 1996
- LEE, H. & NEVILLE, K.; "Handbook of Epoxy Resins", McGraw-Hill, Inc. New York, cap.7, págs.1-10; cap.4, p.19; cap.7, pag.9 e 2 (1967).
- LEVY NETO, F.; PARDINI, L.C. *Compósitos Estruturais: ciência e tecnologia*. – 1. ed., Ed. Edgard Blücher, 2006. 313 p.
- L.D. White, C.P. Tripp, *J. Colloid Interface Sci.* 232 (2000) 400
- LIMA, R. C. de; *Pigmentos manométricos de alumina dopada com ferro, níquel e manganês*. Tese de Doutorado-Universidade federal de São Carlos-São Carlos: UFSCAR, 2007.
- LIMA, U. R. *Dissertação-Síntese e caracterização de nanoesferas a base de Níquel-Zinco e Níquel-cobre-Zinco*. Centro de Ciências e da Terra da Unidade Federal do Rio Grande do Norte. 2006.
- LINES. M. E.; GLASS, A. M. *Principles and applications of ferroelectrics and related materials*. Oxford: Clarendon Press, 1977.
- LOPEZ, K. P.; *Desenvolvimento de pigmentos nanométricos encapsulados*. Tese de Mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP. 2004.
- LÓPEZ M. B, TEIJEIRO A, RIVAS J, *Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment*. *Reports of practical oncology and radiotherapy*. 2013 Jun: 18(6):397–400.
- M. N. AKHTAR, A. B. SULONG, M. A. KHAN, M. AHMAD, G. MURTAZA, M. R. RAZA, R. RAZA, M. SALEEM, M. KASHIF. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 401(2016) 425
- MARQUES, R. F. C. *Nanopartículas de óxidos magnéticos: engenharia de superfície visando aplicações em biomedicina*. Araraquara: Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, 2006-2007. Relatório FAPESP nº 05/56761-3.

MARK, H. F.; BIKALES, M. N.; OVERBERGER, C. G. MENGES, G., Encyclopedia of polymer science and engineering, Emulsion polymerization to fibers manufacture, v. 6, John Wiley & sons, New York, 1986.

MATSUMURA, Y. & MAEDA, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* **46**, 6387–92 (1986).

MODALITIES OF CANCER THERAPY. [homepage da internet] [citado 2009 Aug 13]. Disponível em:

<http://www.merck.com/mmpe/sec11/ch149/ch149b.html#CACFCFDG>

MILANEZ, J. Estrutura e propriedade fotoluminescente da solução sólida de titanato de chumbo, estrôncio e cálcio-Tese de Doutorado-Universidade Federal de São Carlos-São Carlos: UFSCar, 2009.

MING MA, YU ZHANG, WEI YU, HAO-YING SHEN, HAI-QIAN ZHANG, NING GU, *Colloids Surf. A* 212 (2003) 219

MOTLAGH, Z. A.; MOZAFFARI, M.; AMIGHIAN, J. Preparation of nano-sized Al-substituted yttrium iron garnets by the mechanochemical method and investigation of their magnetic properties. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* v. 321, p.1980-1984, 2009.

MOUALLEM-BAHOUT, M.; BERTRAND, S.; PEÑA, O. Synthesis and characterization of Zn_{1-x}Ni_xFe₂O₄ spinels prepared by a citrate precursor. *Journal of Solid State Chemistry*, 178, 2005. 1080-1086.

NOBRE, M. A. L.; Estudo da formação de fases no sistema ZnOSb₂O₃ por síntese química e efeito de cátions de metais de transição sobre a cristalinidade. Tese de Mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de São Carlos-SP, 1995.

NORMA EUROPEIA: Avaliação biológica dos dispositivos médicos Parte 5: Ensaio de citotoxicidade *in vitro* 1999 EN ISO 109935: 1999. Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA. Morphological assessment of cell death. In: Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA. *Cells, a laboratory manual, in culture and biochemical analysis of cells.* NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997.

OVERGAARD, J. The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy. *Intern J Rad Onc Biol Phys* 1989; 6: 535-49.

P. VAQUEIRO, M. P. CROSNIER-LÓPEZ, M. A. LÓPEZ-QUINTELA. *Journal of Solid State Chemistry.* 126 (1996) 161.

PANKHURST, Q. A., CONNOLLY, J., JONE S. K., Institute of Physics Publishing Journal of Physics D: Applied Physics Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine J. Phys. D: Appl. Phys, v. 36 . 2003.

PACKHAM, M. A., EVANS, G., GLYNN, M. F., & MUSTARD, J. F. (1969). The effect of plasma proteins on the interaction of platelets with glass surfaces. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 73(4), 686-697.

PARDAVI-HORVATH, M. Microwave applications of soft ferrites. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. v. 215/216. p.171-183, 2000.

PASCAULT, J. P.; WILLIAMS, R. J. J. Overview of thermosets: structure, properties and processing for advanced applications. In: GUO, Q. Thermosets: Structure, Properties and Applications. 1. ed. [S.l.]: Woodhead Publishing, 2012. Cap. 1, p. 3-27.

PECHINI, M. P., Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same to form a capacitor. U. S Pat. No 3 330 697, July 11, 1967.

PESTANA, I.S., ALFREDO; CASTELÃO, RAUL; AGUIAR SANTOS, LUÍS A nanotecnologia, S. Portugal, Editor. 2014: Portugal.

PÉREZ-LUNA, V. H., HORBETT, T. A, RATNER, B. D., Developing correlations between fibrinogen adsorption and surface properties using multivariate statistics. *Journal of Biomedical Materials Research*. V. 28. P.1111-1126. 1994.

PESSANHA M. C. R. et al. Caracterização de tubo e adesivo utilizados em tubulações de plástico reforçado com fibras de vidro aplicados em plataformas marítimas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 70-75, 2008.

PINTO, T. J. A, SAITO, T., GLEREAN, A, Biocompatibilidade de materiais empregados na confecção de próteses cardiovasculares: comparação entre o pericárdio bovino e Dracon(R). *Rev. Saúde Pública*, v. 27, n. 3, p. 185-9, 1993.

PIRES G. et al. Caracterização físico-química e mecânica do sistema éster de Silsexquioxano/Resina Epóxi Dgeba/Dietilenotriamina. *Revista Matéria*, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 317–330, 2005.

PORTILHO, F. A. O uso de nanoesferas de albumina na terapia fotodinâmica e magnetohipertermia do tumor de Ehrlich. 2011. 126p. Tese (Doutorado em Patologia Molecular) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

R. GARCIA SANSEVERO, "Influência da interação carga-matriz sobre a cinética de cura de nanocompósitos de argila organofílica e resina epoxídica," Universidade de São Paulo, 2009.

RATNER B. D. (2000). Blood compatibility - a perspective. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 11(11), 1107-1119. doi:10.1163/156856200744219

RESNICK, H; WALKER, J. Fundamentos de física, volume 3: Eletromagnetismo. 8. ed. Rio de Janeiro. LTC, 2009. 395 p.

REN, Y.; ZHANG, H.; CHEN, B.; CHENG, J.; CAI, X.; LIU, R.; XIA, G.; WU, W.; WANG, S.; DING, J.; GAO, C.; WANG, J.; BAO, W.; WANG, L.; TIAN, L.; SONG, H.; WANG, X. Multifunctional magnetic Fe₃O₄ nanoparticles combined with chemotherapy and hyperthermia to overcome multidrug resistance. *Int J Nanomedicine*, v. 7, p. 2261-9, 2012.

ROTHENBERG, M.L.; CARBONE, D.P.; et al. Improving the evaluation of new cancer treatments: challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, v. 3, p. 303–309, 2003.

RUCKENSTEIN, E., MARMUR, A., & RAKOWER, S. R. (1976). Sedimentation and adhesion of platelets onto a horizontal glass surface. *Thrombosis and Haemostasis*, 36(2), 334-342.

S. RAMESH, I. FELNER, Y. KOLTYPIN, A. GEDANKEN, J. *Mater. Res.* 15 (2000) 944.

SALUNKHE AB, KHOT VM, PAWAR SH. [Magnetic hyperthermia with magnetic nanoparticles: a status review](#). *Curr Top Med Chem*. 2014 Mar;14(5):572-94. Review.

SANSEVERINO, A. M. Micro-ondas em síntese orgânica, *Qui. Nova*, 25: 660-557, 2002

SCOTT, A.M.; WELT, S. Antibody-based immunological therapies. *Cur. Opin. Immunol.*, v. 9, p. 717–722, 1997. 129 27

SEGAL, D. Chemical synthesis of ceramic materials. *Journal of Materials Chemistry*, Cambridge, v. 7, p. 1297-1305, Jan. 1997.

SILVERSTEIN, R. M., WELBSTER, F. X., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, Jonh Wiley and Sons, New York (1996)

SINNECKER, J.P., *Materiais magnéticos doces e materiais ferromagnéticos amorfos*. *Rev. Bras. Ens. Fís.*, 2000. 22(3): p. 296-405.

- SHECHTER, L.; WYNSTRA, J.; KURKIY, R. P., Glycidyl Ether Reactions with Amines. *Industrial and Engineering Chemistry*. v. 48, p. 94, 1956
- SMITH, I. T., The mechanism of the crosslinking of epoxide resins by amines. *Polymer*. v. 2, p. 95 – 108, 1961
- SOUZA FILHO, A. G.; FAGAN, S. B. Nanomaterials Properties. In: Mônica Andrade; Carlos Bergmann. (Org.). *Nanostructured Materials for Engineering Applications*. Berlin: Springer - Verlag, v. 1, p. 5-22. 2011.
- SOARES JUNIOR, F. H. Efeitos de superfície nas propriedades magnéticas do nanocompósito de $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ag}$. / Dissertação (Mestrado em Física). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. Programa de Pós-graduação em Física. Mossoró, RN, 2012.
- TAMADA, Y., KULIK, E.A., & IKADA, Y. (1995). Simple method for platelet counting. *Biomaterials*, 16(3), 259-261. doi:10.1016/0142-9612(95)92126-Q
- TARTAJ, P.MORALES, M.P, VEINTEMILLAS-VERDAGUER S, GONZALES-CARREÑO T, SERNA, J.C. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* 2003;36:R182-R197.
- THONGMEE, S.; WINOTAI, P.; TANG, I.M. *Solid State Commun*. 109 (1999)
- UGLEA, C. V. Epoxy resins. In: _____. *Oligomer technology and applications*. New York: Marcel Dekker, 1988. P. 393-456.
- URBANSKI, J.; CZERWINSKI, W.; JANICKA, K.; MAJEWSKA, F.; ZOWALL, H.-"Handbook of analysis of synthetic polymers and plastics", John Wiley, New York, 1977.
- X. JIA, D. CHEN, X. JIAO, S. ZHAI, *Chem. Commun.* **2009**, 8, 968.
- XU LI-CHONG., SOMAN, P., AGNIHOTRI, A., & SIEDLECKI, C. A. (1999). Atomic force microscopy methods characterizing protein interactions with microphase-separated polyurethane biomaterials, In Puleo D.A., & Bizios R. (eds.), *Biological interactions on materials surface: Understanding and controlling protein, cell and tissue response* (pp. 43-67). Springer Publishers.
- XU, Y. *Ferroelectric materials and their applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1991.
- YANASE, M.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; WAKABAYASHI, T.; YOSHIDA, J.; KOBAYASHI, T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: an in vivo study. *Jpn J Cancer Res*, v. 89, n. 4, p. 463-9, Apr 1998a.

YANASE, M.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; WAKABAYASHI, T.; YOSHIDA, J.; KOBAYASHI, T. Antitumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. *Jpn J Cancer Res*, v. 89, n. 7, p. 775-82, Jul 1998b.

ZANETTI, S. M. Filmes Finos de SrTiO₃ obtidos através de precursores poliméricos. Dissertação de Mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 1997.

WANG, Z. Y.; SONG, J.; ZHANG, D. S. Nanosized As₂O₃/Fe₂O₃ complexes combined with magnetic fluid hyperthermia selectively target liver cancer cells. *World J Gastroenterol*, v. 15, n. 24, p. 2995-3002, Jun 2009.

WEISENBERG, B. A., & MOORADIAN, D. L. (2002). Hemocompatibility of materials used in microelectromechanical systems: Platelet adhesion and morphology in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 60(2), 283-291. doi:10.1002/jbm.10076

WHITE, L.D.; TRIPP, C.P. Reaction of (3-aminopropyl)dimethylethoxysilane with amine catalysts on silica surfaces. *J. Colloid and Interface Sci.*, v. 232, p. 400- 407, 2000.

WOLF, M. F., & ANDWRAON, M. J. (2012). Practical approach to blood compatibility assessments: General considerations and standards, In Boutran J. P. (ed.), *Biocompatibility and performance of medical devices* (pp. 159-200). Whoodhead Publishers.