

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

**SISTEMAS HÍBRIDOS NANOESTRUTURADOS COM  
POTENCIAIS APLICAÇÕES NA TERAPIA E  
DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

**Vinícius Fortes de Castro**

Itajubá, Fevereiro de 2012

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

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**SISTEMAS HÍBRIDOS NANOESTRUTURADOS COM**  
**POTENCIAIS APLICAÇÕES NA TERAPIA E**  
**DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

**Vinícius Fortes de Castro**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia como requisito parcial à obtenção do título de ***Mestre em Materiais para Engenharia***.

Orientador: **Alvaro Antonio Alencar de Queiroz**

Curso: **Mestrado em Materiais para Engenharia**

Área de Concentração: **Não-Metals**

Itajubá, Fevereiro de 2012

M.G. – Brasil

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Mauá –  
Bibliotecária Margareth Ribeiro- CRB\_6/1700

C355s

Castro, Vinícius Fortes de  
Sistemas híbridos nanoestruturados com potenciais aplicações  
na terapia e diagnóstico do câncer / Vinícius Fortes de Castro. --  
Itajubá, (MG) : [s.n.], 2012.  
181 p. : il.  
Orientador: Prof. Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá.  
1. Magneto-hipertermia. 2. DGEBA. 3. Nonaesferas. 4. Câncer. I.  
Queiroz, Alvaro Antonio Alencar de, orient. II. Universidade  
Federal de Itajubá. III. Título.

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

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



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

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**SISTEMAS HÍBRIDOS NANOESTRUTURADOS COM**  
**POTENCIAIS APLICAÇÕES NA TERAPIA E**  
**DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

**Vinícius Fortes de Castro**

Dissertação aprovada por banca examinadora em 14 de fevereiro de 2012,  
conferindo ao autor o título de ***Mestre em Materiais para Engenharia***

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz (Orientador-UNIFEI)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Maria Elena Leyva González – UNIFEI

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Olga Zazuco Higa – IPEN – CNEN/USP

Itajubá, Fevereiro de 2012

## AGRADECIMENTOS

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

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

Agenor Pina da Silva – pela amizade.

André Silva Chaves – pelo companheirismo de um irmão.

João Batista Viana – pela lição de vida, pelo exemplo de professoralidade.

Maria Elena Leyva González – pelos sorrisos amigos.

Tamires Aparecida Fortes de Castro – obrigado por existir.

*A CNPq pelo fomento.*

## ESPÍRITOS GRANDIOSOS...

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

- Pronto, agora vai sarar!

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

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

Albert Einstein

Aos meus "espíritos grandiosos", JOÃO PEDRO DE CASTRO RODRIGUES e TERESA MARIA DE CASTRO.

"A doença impossível precisa de uma cura impossível."

Akrit Jaswal

## RESUMO

Neste trabalho, estudou-se as propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanoesferas transportadoras de partículas magnéticas de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  (*YFeAl*) baseadas no polímero diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA). Nanopartículas magnéticas de YFeAl e ZnS foram preparadas através da decomposição térmica de complexos de ferro (III) na presença de oleilamina e pelo método do poli-ol, respectivamente. Nanoesferas contendo partículas policristalinas de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  ( $0,5 \leq x \leq 1,5$ ) foram preparadas utilizando a técnica de polimerização em dispersão utilizando o dietilenotriamina (DETA) como agente endurecedor. Nanoesferas de DGEBA contendo nanopartículas de ZnS e RhB também foram preparadas pela técnica de polimerização em dispersão objetivando uma utilização futura na terapia fotodinâmica e diagnóstico de tumores, respectivamente. As nanoesferas obtidas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET) e sua distribuição de tamanho foi determinada por espalhamento laser. A temperatura de transição de Curie ( $T_C$ ) foi determinada para as magneto-esferas DGEBA/YFeAl a partir das medições de susceptibilidade magnética no intervalo de 223-573 K. No intervalo de composição ( $1,5 \leq x \leq 1,8$ ), as magnetonanoesferas DGEBA/YFeAl exibiram  $T_C$  modulável no intervalo de interesse da hipertermia. A fim de avaliar a propriedade de biocompatibilidade das nanoesferas de DGEBA/YFeAl, DGEBA/ZnS e DGEBA/RhB em células de mamíferos, testes de citotoxicidade foram realizados. Foi observado que as nanoesferas não afetaram a viabilidade das células ou a taxa de crescimento da cultura celular. Esses resultados sugerem que as nanopartículas de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ , ZnS e RhB encapsuladas pelo sistema DGEBA/DETA representam uma alternativa promissora para o tratamento e diagnóstico de tumores através da magneto-hipertermia.

Palavras-chave: Magneto-hipertermia, DGEBA, nanoesferas, câncer.

## ABSTRACT

In this work the biocompatible and magnetic properties of  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  (YFeAl) nanospheres carriers based on diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA) is presented. Nanospheres containing particles of polycrystalline  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  ( $0,5 \leq x \leq 1,5$ ) were prepared using the dispersion polymerization technique using Diethylenetriamine (DETA) as a hardener. Systems with RhB and ZnS were used as to study new properties of materials acceptable physical aid treatment, and their optical structures were our specific focus. The synthesized microspheres were characterized by X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The Curie temperature ( $T_c$ ) was determined from measurements of magnetic susceptibility in the range of 223-573 K. The scanning electron microscopy (SEM) indicated a monomodal distribution in size of the synthesized nanospheres. In the composition range of  $1.5 \leq x \leq 1.8$ , the nanospheres exhibited  $T_c$  scalable in the range of magnetohyperthermy interests. To assess the possible influence of nanospheres of DGEBA / YFeAl in mammalian cells, cytotoxicity tests were performed. It was observed that the nanospheres did not affect the viability of cells or the growth rate of cell culture. These results suggest that nanoparticles of  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  encapsulated by the system DGEBA/DETA represent a promising alternative for the treatment of malignant tumors by magnetohyperthermia.

Keywords: Magnetohyperthermy, DGEBA, nanospheres, cancer.

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

### CAPÍTULO 1

- Figura 1- Heinrich Rohrer (esquerda) e Gerd Binnig (direita) da empresa IBM em 34  
Zurique (Suíça) receberam o prêmio Nobel em 1986 pelo desenvolvimento do  
microscópio de tunelamento com varredura (STM).
- Figura 2- O físico americano Donald Eigler manipulou 35 átomos de xenônio e 35  
formou uma imagem azulada do nome da IBM sobre uma superfície de níquel.
- Figura 3- Ilustração de uma imagem gerada pelo microscópio STM denominada de 36  
“curral” quântico, construído a partir de técnicas da nanotecnologia. As cores são  
falsas. Nota-se na imagem duas “ilhas” do lado de fora do “curral”, que são  
considerados como defeitos da superfície do cobre.
- Figura 4- Tunelamento por uma barreira de potencial finita. 38
- Figura 5- Microscópios de tunelamento responsáveis pelo avanço da nanotecnologia 40  
na síntese e caracterização de novos nanomateriais.
- Figura 6- Técnicas de preparo de novos materiais via sistema sol–gel. 43
- Figura 7- **A.** Dois líquidos imiscíveis separados em duas fases (I e II). **B.** Emulsão da 45  
fase II dispersa na fase I. **C.** A emulsão instável progressivamente retorna ao seu  
estado inicial de fases separadas. **D.** O surfactante se posiciona na interface entre as

fases I e II, estabilizando a emulsão.

Figura 8- Ilustração de uma descarga em arco. **46**

Figura 9- Representação esquemática de uma micela reversa e de uma molécula de **48**  
surfactante contendo uma cabeça polar e duas cadeias hidrocarbônicas.

Figura 10- Representação esquemática do princípio de nanopartículas em micelas **48**  
reversas usando duas microemulsões (a), posteriormente misturadas (b) e formando  
as nanopartículas (c).

## **CAPÍTULO 2**

Figura 1- Hans Cristian Oersted foi um dos mais importantes cientistas do século **56**  
XIX, cuja participação foi crucial para o entendimento do eletromagnetismo.

Figura 2- Principais cientistas que contribuíram decisivamente para a teoria **58**  
eletromagnética.

Figura 3: Lei de Gauss – distribuição esquemática. **60**

Figura 4: Curva de Histerese de um material ferromagnético e sua magnetização. **70**

Figura 5: Ciclo de Histerese **72**

Figura 6: Formação de domínios.	75
Figura 7: Seis direções de fácil magnetização num cristal de ferro.	75
Figura 8: Polaridade dos domínios num cristal de ferro não magnetizado. As setas indicam a direção de magnetização.	76
Figura 9: Condição após o cristal ter sido saturado por um campo magnético dirigido para a direita.	76
Figura 10: Barra magnetizada com dipolos magnéticos elementares.	77
Figura 11: Variação da magnetização com a temperatura.	78
Figura 12: Regiões de magnetização fácil e difícil da curva de magnetização inicial.	79
Figura 13: Mecanismo de luminescência da nanopartículas de ZnS.	82
Figura 14: Isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC).	83
Figura 15: Diagrama de Jablonski. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por S0, S1 e S2, respectivamente.	84
Figura 16: Estrutura química do reagente DGEBA.	86

## **CAPÍTULO 4**

Figura 1- Ilustração do tipo de reator e forno tubular utilizados na síntese das nanopartículas de YFeAl. **95**

Figura 2- Ciclo de temperatura utilizado na calcinação dos pós de YFeAl. **95**

Figura 3- Goniômetro utilizado na caracterização da estrutura cristalina dos pós cerâmicos de YFeAl. **96**

Figura 4- Microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução Phillips CM200, utilizado nesse trabalho. **97**

Figura 5- Ilustração do modelo de reator utilizado na síntese de nanopartículas de ZnS. **98**

Figura 6- Ilustração do equipamento Malvern nano ZS para determinação do diâmetro das nanopartículas DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh. **100**

## **CAPÍTULO 5**

Figura 1: Microscópio Eletrônico de Varredura – com a câmara de amostras aberta. **106**

Figura 2: Interação do feixe de elétrons com a amostra. Em (a) reflexão elástica, (b) reflexão não elástica, (c) formação do elétron secundário por ionização de contato e (d) emissão de elétrons secundários. **108**

Figura 3: Microscópio Eletrônico de Transmissão, modelo TECNAI 10[ IPEN - USP/SP].	<b>114</b>
Figura 4: Difração de Raios-X e a Lei de Bragg	<b>115</b>
Figura 5: Princípio de funcionamento do Magnetômetro de Amostra Vibrante do Laboratório de Ensaios Destrutivas e Não-Destrutivas da UNIFEI.	<b>117</b>
Figura 6: Obtenção dos dados da amostra – curva de histerese.	<b>117</b>
Figura 7: Bobinas de detecção do MAV.	<b>118</b>
Figura 8: Método de Determinação do Potencial Zeta.	<b>120</b>
Figura 9: Sinais Doppler recebidos nos diferentes tubos (A). Fotomultiplicador correspondente a uma única partícula passando pelo volume da sonda (B).	<b>121</b>
Figura 10: Rede de franjas de interferências na intersecção dos feixes [5].	<b>122</b>

## **CAPÍTULO 6**

Figura 1- Principais diferenças entre nanopartículas conhecidas com o nome de nanoesfera (sistema matricial) e nanocápsula (sistema tipo reservatório). Adaptado de.	<b>126</b>
--	------------

Figura 2- Micrografia MET (A) e distribuição do tamanho de partículas (B) da cerâmica de YFeAl sintetizadas pela técnica da coprecipitação.	<b>129</b>
Figura 3- Difração de raios-X (DRX) (A) e difração de elétrons (B) dos nanocristais de $Y_3Fe_{(5-x)}Al_xO_{12}$ (x=1 mol%).	<b>131</b>
Figura 4- Espectro EDX da cerâmica de YFeAl.	<b>132</b>
Figura 5- Ilustração simbólica do esquema das estruturas quânticas.	<b>133</b>
Figura 6- Densidade de estados eletrônicos em função das estruturas quânticas.	<b>135</b>
Figura 7- Ilustração do processo de emissão de energia por uma nanopartícula de ZnS. Os buracos são representados $\circ$ por e os elétrons por $\bullet$ .	<b>138</b>
Figura 8- Orbitais de fronteira HOMO-LUMO para os complexos de PEG-Zn <sup>+2</sup> (a) e PEG-Zn <sup>2+</sup> -tiouréia (b) [28].	<b>139</b>
Figura 9- Micrografias MEV (A) e MET (B) dos nanocristais de ZnS obtidos via reação direta entre Zn <sup>0</sup> e S <sub>(8)</sub> .	<b>140</b>
Figura 10- Distribuição do tamanho de nanopartículas de ZnS obtido a partir da digitalização das imagens MEV.	<b>141</b>
Figura 11- Difratograma de raios-X das nanopartículas de ZnS.	<b>142</b>

- Figura 12- Estrutura cristalina do ZnS esfalerita. **143**
- Figura 14- Diagrama de Jablonski, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.  $S_0$  é o estado eletrônico fundamental,  $S_1$ , e  $T_1$  são os estados excitados singleto e tripleto de menor energia, respectivamente.  $S_2$  é um segundo estado excitado singleto. As setas retas representam os processos envolvendo fótons, e as setas onduladas são as transições não-radioativas (que não emitem radiação). **143**
- Figura 15- Espectro de luminescência das nanopartículas de ZnS de diâmetro médio de 65 nm (a). As nanopartículas apresentam intensa fluorescência amarelada. À medida que o tamanho da nanopartícula ZnS diminui, existe o deslocamento para o vermelho (b). A cor vermelha são pontos quânticos ZnS de 11 nm. **146**
- Figura 16- Ilustração das nanoesferas de DGEBA transportadoras de YFeAl e ZnS. **149**
- Figura 17- Micrografias MEV dos sistemas: DGEBA/YFeAl (A), DGEBA/YFeAl/Rh (B), DGEBA/ZnS (C), DGEBA/YFeAl (D), DGEBA (E, F). **150**
- Figura 18- Distribuição do tamanho das nanoesferas (%) de DGEBA (●), DGEBA/ZnS (□), e DGEBA/YFeAl (○). O tamanho de partículas foi analisado por dispersão a laser. A distribuição de tamanhos está normalizada. **152**
- Figura 19- Ampliação da superfície das nanoesferas mostrando a superfície rugosa e porosa formada durante o processo de reticulação do DGEBA. (Aumento: 100.000x). **153**
- Figura 20- Influência da temperatura e da velocidade de agitação na formação de **154**

nanocápsulas de DGEBA transportadoras de YFeAl ou ZnS.

Figura 21-Curva de magnetização das nanoesferas de DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS à temperatura ambiente (27 °C). **156**

Figura 22- Energia Magnética ( $J.m^3$ ) em função da concentração de ferro nas nanoesferas de DGEBA/YFeAl (●) e DGEBA/YFeAl/ZnS (○). **157**

Figura 23- Temperatura de transição de Curie ( $T_c$ ) em função da concentração de Al (x) em mol% na cerâmica de  $Y_3Fe_{(5-x)}Al_xO_{12}$ . **158**

Figura 24- Micrografia de epifluorescência de nanoesferas de DGEBA/YFeAl/ZnS (A) e DGEBA/YFeAl/Rh (B) em solução fisiológica PBS pH 7,4. As micrografias de epifluorescência foram obtidas com objetivas com aumento de 1000x. As amostras foram excitadas com luz de comprimento de onda de 350 nm (DGEBA/YFeAl/ZnS (A)) e 550 nm (DGEBA/YFeAl/Zns(B)). **160**

Figura 25- Espectro de absorção de DGEBA/YFeAl//RhB para várias concentrações de RhB na superfície das nanoesferas: 0,2 mM (a), 0,4 mM (b), 0,6 mM(c), 0,8 mM(d). O espectro foi obtido em solução tampão PBS pH 7,4. **161**

Figura 26- Ensaio de citotoxicidade com células de mamífero das nanoesferas transportadoras das nanopartículas YFeAl, ZnS e Rh.  $C^+$  e  $C^-$  representam os controles positivos e negativos, respectivamente. **164**

Figura 27- Ilustração do processo de adsorção protéica em uma superfície sintética. **167**

O ganho em entropia parece ser a principal força motriz no processo de adsorção protéica.

Figura 28 - Adsorção das proteínas séricas albumina humana (HSA) e fibrinogênio (HFB) sobre a superfície das nanoesferas DGEBA/YFeAl (●), DGEBA/YFeAl/ZnS (●) e DGEBA/Rh (Δ) ( $p < 0,008$ ). **168**

Figura 29- Análise da hemocompatibilidade das nanoesferas DGEBA transportadoras de YFeAl (●), ZnS (▽), Rh (▲). Os controles negativo e positivo são o silicone grau médico (●) e o vidro (□), respectivamente. **170**

## ÍNDICE DE TABELAS

---

### **CAPÍTULO 1**

Tabela 1- Capacidade de aumento dos microscópios atuais.	<b>39</b>
--	-----------

### **CAPÍTULO 2**

Tabela 1: Equações de Maxwell na forma diferencial e integral.	<b>63</b>
--	-----------

Tabela 2- Algumas aminas utilizadas na reticulação de polímeros epoxídicos do tipo DGEBA.	<b>88</b>
---	-----------

### **CAPÍTULO 6**

Tabela 1- Valores de Potencial Zeta (mV) das suspensões de nanoesferas de resinas epoxídicas obtidas neste trabalho através do método de Anemometria Laser Doppler.	<b>166</b>
---	------------

## **ESQUEMAS**

---

### **CAPÍTULO 2**

Esquema 1- Mecanismo da reação de cura de um polímero epoxídico por uma amina. **89**

### **CAPÍTULO 6**

Esquema 1- Técnicas de fabricação de nanocápsulas (que se estendem também à obtenção de microcápsulas). **127**

Esquema 2- Ilustração do acoplamento entre a rodamina B e as nanoesferas de DGEBA/YFeAl. **159**

## ÍNDICE DE SÍMBOLOS

---

$\int_a^b$	- INTEGRAL DEFINIDA DE $a$ até $b$	-
$\vec{E}$	- CAMPO ELÉTRICO	[V/m]
Q	- CARGA ENVOLTA	[C]
$\rho$	- DENSIDADE VOLUMÉTRICA DE CARGA	[C/m <sup>3</sup> ]
$\epsilon_0$	- PERMISSIVIDADE DO VÁCUO	8,8541878176x10 <sup>-12</sup> [F/m]
$\vec{B}$	- INTENSIDADE DO CAMPO MAGNÉTICO	[T.m <sup>2</sup> ]
$\mu_0$	- PERMEABILIDADE MAGNÉTICA DO VÁCUO	4 $\pi$ × 10 <sup>-7</sup> [N·A <sup>-2</sup> ]
$\vec{J}$	- DENSIDADE DE CORRENTE	[A.m <sup>-2</sup> ]
$\vec{\nabla} \cdot$	- DIVERGENTE	-
$\vec{\nabla} \times$	- ROTACIONAL	-
$\Phi$	- FLUXO DO CAMPO VETORIAL	-
$\partial$	- DERIVADA PARCIAL	-
$\vec{D}$	- VETOR DESLOCAMENTO	-
dV	- DENSIDADE INFINITESIMAL DE VOLUME	-
dS	- DENSIDADE INFINITESIMAL DE SUPERFÍCIE	-
dA	- DENSIDADE INFINITESIMAL DE CORRENTE	-
$\vec{H}$	- CAMPO MAGNÉTICO	[T]
c	- VELOCIDADE DA LUZ NO VÁCUO	2,99792458x10 <sup>8</sup> [m/s]
$\vec{P}$	- VETOR POLARIZAÇÃO	[C/m <sup>2</sup> ]
n	- ÍNDICE DE REFRAÇÃO	-

$\kappa$ - CONSTANTE DIELÉTRICA	-
$\vec{F}$ - FORÇA COULUMBIANA	[N]
$m_1; m_2$ - MASSAS	[Kg]
$r$ - RAI0 DA ESFERA	[m]
$m$ - PÓLO MAGNÉTICO	-
$\mu$ - MOMENTO DE DIPOLO MAGNÉTICO	[A/m <sup>2</sup> ]
$l$ - COMPRIMENTO	[m]
$\vec{M}$ - MAGNETIZAÇÃO	[H/m]
$\Sigma$ - SOMATÓRIO	-
$\chi$ - SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA	[emu/g]
lim - LIMITE	-
$\chi_{cw}$ - SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA DE CURIE-WEISS	[emu/g]
$H_c$ - CAMPO COERCIVO	[T]
$M_r$ - MAGNETIZAÇÃO REVERSA	[H/m]
$W_b$ - TRABALHO	[J]
$v$ - VELOCIDADE	[m/s]
$E$ - ENERGIA	[J]
$h$ - CONSTANTE DE PLANCK	$6,626069311 \times 10^{-34}$ [J.s]
$B$ - BORO	-
$Li$ - LÍTIO	-
$\delta$ - SOLUBILIDADE DE HILDEBRAND	[J/m <sup>3</sup> ]
$\text{Å}$ - ANGSTRON	-
$m'$ - ORDEM DE DIFRAÇÃO	-

$\lambda$ – COMPRIMENTO DE ONDA DO FEIXE	[m]
$\theta$ – ÂNGULO DE DIFRAÇÃO	[rad]
t – TEMPO	[s]
G – FUNÇÃO DA GEOMETRIA DAS BOBINAS DE DETECÇÃO	-
A – AMPLITUDE	[m]
T – TEMPERATURA DE MAGNETIZAÇÃO ESPONTÂNEA	[°C]
$\vec{S}$ – VETOR DE POYNTING	[W/m <sup>2</sup> ]
Al – ALUMÍNIO	-
Y – ÍTRIO	-
Fe – FERRO	-

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

---

**ABCÂNCER** – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO CÂNCER

**A/m** – AMPÉRE POR METRO

**A/m<sup>2</sup>** – AMPÉRE POR METRO QUADRADO

**ATCC** – AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION

**C** – CONSTANTE DE CURIE

**C/m<sup>2</sup>** – COULOMB POR METRO QUADRADO

**C/Kg** – COULOMB POR QUILO

**DETA** - DIETILENOTRIAMINA

**DGEBA** – DIGLICIDIL ÉTER DO BISFENOL A

**DNA** – ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

**DRX** – DIFRAÇÃO DE RAIOS X

**eV** – ELÉTRON-VOLT

**Hz/m** – HERTZ POR METRO

**INCA** – INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER

**J.m<sup>3</sup>** – JOULE VEZES METRO CÚBICO

**J.s** – JOULE VEZES SEGUNDO

**J.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>** – JOULE POR METRO QUADRADO POR SEGUNDO

**m/s** – METRO POR SEGUNDO

**MIT** – INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MASSACHUSETTS

**MHz** – MEGAHERTZ

**MAV** – MICROSCOPIA DE AMOSTRA VIBRANTE

**MCI** – MICROSCOPIA DE CAMPO IÔNICO

**MET** – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

**MEV** – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

**MHT** – MAGNETO-HIPERTERMIA

**MO** – MICROSCOPIA ÓPTICA

**MR** – MICELAS REVERSAS

**N.A<sup>-2</sup>** – NEWTON POR AMPÉRE AO QUADRADO

**nm** – NANOMETRO

**μm** – MICRÔMETRO

**λ** – CONSTANTE DO CAMPO MÉDIO

**PEG** – POLIETINOGLICEROL

**PGLD** – POLI (GLICEROL)

**PQ** – PONTOS QUÂNTICOS

**PPID** – POLI (PROPILENO IMINA)

**RhB** – RODAMINA

**SBF** – SOCIEDADE BRASILEIRA DE FÍSICA

**SMI** – MICROSCÓPIO DE LOCALIZAÇÃO

**STM** – MICROSCÓPIO DE MICROSSONDAS ELETRÔNICO

**T** – TESLA

**TIRF** – MICROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE REFLEXÃO INTERNA TOTAL

**TU** - TIOURÉIA

**T<sub>c</sub>** – TEMPERATURA DE CURIE

**TFD** – TERAPIA FOTODINÂMICA

**UV** – RAIOS ULTRAVIOLETA

**UNB** – UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**USP** – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**V** - VOLTS

**V/m** – VOLT POR METRO

**YFeAl** – ÍTRIO – FERRO - ALUMÍNIO

**ZnS** – SULFETO DE ZINCO

**ZnS:Cu** – SULFETO DE ZINCO DOPADO COM COBRE

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – O SÉCULO DA NANOTECNOLOGIA</b>	<b>31</b>
<b>1.1. Introdução</b>	<b>25</b>
<b>1.2. Técnicas de Preparo de Nanomateriais</b>	<b>41</b>
<b>1.2.1. O Método Sol – Gel</b>	<b>42</b>
<b>1.2.2. A Técnica da Emulsão</b>	<b>43</b>
<b>1.2.3. Descarga em Arco</b>	<b>45</b>
<b>1.2.4. Utilização de Micelas Reversas</b>	<b>46</b>
<b>1.3. Referências Bibliográficas</b>	<b>51</b>
<b>CAPÍTULO 2 – MAGNETO-HIPERTERMIA: UMA NOVA PERSPECTIVA PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER</b>	
<b>2.1. Introdução</b>	<b>53</b>
<b>2.2. Magneto-Hipertermia e as Leis de Maxwell</b>	<b>56</b>
<b>2.2.1. As Equações de Maxwell</b>	<b>59</b>
<b>2.2.2. Os Domínios Ferromagnéticos</b>	<b>73</b>
<b>2.3. Pontos Quânticos e Rodaminas como Marcadores Fotônicos de Tumores</b>	<b>81</b>
<b>2.4. Polímeros Epoxídicos DGEBA como Sistemas Transportadores de Partículas Magnéticas</b>	<b>85</b>
<b>2.5. Referências Bibliográficas</b>	<b>90</b>

<b>CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS DO TRABALHO</b>	<b>93</b>
<b>CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>94</b>
<b>4.1. Síntese e Caracterização de Nanopartículas de YFeAl</b>	<b>94</b>
<b>4.2. Síntese e Caracterização de Nanocristais de ZnS</b>	<b>97</b>
<b>4.3. Encapsulamento das Nanopartículas de YFeAl -ZnS e YFeAl-Rh com DGEBA</b>	<b>98</b>
<b>4.4. Determinação do Potencial Zeta das Nanoesferas Obtidas</b>	<b>100</b>
<b>4.5. Ensaio da Biocompatibilidade</b>	<b>101</b>
<b>4.5.1. Ensaio de Citotoxicidade com Células de Mamíferos</b>	<b>101</b>
<b>4.5.2. Teste de Hemocompatibilidade pela Atividade Hemolítica</b>	<b>102</b>
<b>4.5.3. Adsorção Protéica</b>	<b>103</b>
<b>4.6 Referências Bibliográficas</b>	<b>105</b>
<b>CAPÍTULO 5 – FUNDAMENTOS DAS TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO</b>	<b>106</b>
<b>5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b>	<b>107</b>
<b>5.1.1. Interação do Feixe Eletrônico com a Amostra</b>	<b>109</b>
<b>5.1.2. Modo de Obtenção de Imagens do MEV</b>	<b>112</b>
<b>5.1.2.1. Elétrons Secundários</b>	<b>112</b>
<b>5.1.2.2. Elétrons Retroespelhados</b>	<b>113</b>
<b>5.1.2.3. Catodoluminescência</b>	<b>113</b>
<b>5.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</b>	<b>114</b>
<b>5.3. Difração de Raios X (DRX)</b>	<b>116</b>
<b>5.4. Caracterização Magnética</b>	<b>117</b>

<b>5.5. Potencial Zeta</b>	<b>120</b>
<b>5.6 Referências Bibliográficas</b>	<b>125</b>
<b>CAPÍTULO 6 – RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>126</b>
<b>6.1. Introdução</b>	<b>126</b>
<b>6.2. Síntese e Caracterização das Nanopartículas de YFeAl</b>	<b>129</b>
<b>6.3. Síntese e Caracterização das Nanopartículas de ZnS</b>	<b>134</b>
<b>6.4. Encapsulamento e Caracterização das Magnetoesferas DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS</b>	<b>147</b>
<b>6.4.1. Estudo das propriedades magnéticas das nanoesferas transportadoras de YFeAl/ZnS</b>	<b>156</b>
<b>6.4.2. Propriedades fluorescentes das nanoesferas de DGEBA/YFeAl/Rh</b>	<b>160</b>
<b>6.4.3. Estudo da biocompatibilidade das nanoesferas de DGEBA transportadoras de YFeAl, ZnS e RhB</b>	<b>163</b>
<b>6.4.3.1. Ensaio de citotoxicidade</b>	<b>163</b>
<b>6.4.3.2. Potencial zeta das nanopartículas DGEBA/YFeAl, DGEBA/ZnS e DGEBA/RhB</b>	<b>166</b>
<b>6.4.3.3. Adsorção Protéica</b>	<b>167</b>
<b>6.4.3.4. Atividade Hemolítica</b>	<b>170</b>
<b>6.5 Referências Bibliográficas</b>	<b>172</b>
<b>CAPÍTULO 7 – CONCLUSÕES</b>	<b>178</b>
<b>CAPÍTULO 8 – PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>180</b>

# 1

## O SÉCULO DA NANOTECNOLOGIA

### 1.1 – Introdução

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

O papel do conhecimento e da Ciência de uma forma particular foi extremamente importante nas mudanças sociais impulsionadas pelas revoluções tecnológicas ocorridas nos últimos séculos, principalmente na condução e na sustentação da Segunda Revolução Industrial, em meados do século XIX, protagonizada pela eletricidade, pelo motor de combustão interna, por produtos químicos sintetizados a partir dos resíduos (alcatrão), das centrais termoelétricas funcionando a carvão (carboquímica), pela moldagem eficiente do aço e pelo início das telecomunicações. Aliás, o papel do conhecimento da ciência já tinha tido sua importância no século XVIII na condução da Primeira Revolução Industrial, embora de uma forma mais discreta.

Foram os princípios científicos que sempre estiveram na base das grandes realizações tecnológicas: a máquina a vapor, o tear mecânico e os processos em metalurgia que tiveram como consequência principal a substituição das ferramentas manuais por máquinas que se foram sofisticando com a ajuda da ciência e tecnologia.

A importância da ciência na sociedade parece ter acontecido com as revoluções industriais pela primeira vez na História da Humanidade, pois as anteriores inovações

registradas pela História teriam sido fundamentalmente conduzidas pelas técnicas que lhes tinham dado origem. Embora tivessem consequências sociais importantes, particularmente na formação de impérios em favor dos detentores dessas técnicas, a evidência histórica parece indicar que a ciência desenvolvida vinha “a reboque” das técnicas existentes, como parece ter acontecido na Antiguidade com os Egípcios e as suas fabulosas construções, com os Gregos e as invenções bélicas e agrícolas devidas a Arquimedes.

Há mais de 2.500 anos, os filósofos gregos se perguntavam se a imensa variedade do mundo que nos cerca não poderia ser reduzida a componentes mais simples. A própria palavra átomo vem daquele tempo e significa "indivisível". A última fração da matéria, segundo esses filósofos o "tijolo" fundamental de tudo o que existe, não poderia mais ser dividida em outras partes mais simples atingindo-se então o infinitamente pequeno.

O mundo encontra-se atualmente mergulhado em uma nova revolução industrial onde a aplicação dos infinitamente pequenos às mais diferentes utilidades da vida diária transforma radicalmente os processos e produtos de nossa atual civilização industrial por meio da nanotecnologia. Essa revolução é bem mais importante, e mais desafiadora, do que aquelas que presidiram ao domínio do Homem sobre as forças da natureza nas três revoluções anteriores ou etapas precedentes de progressos materiais e tecnológicos desta nossa civilização industrial.

O novo personagem central da nova revolução industrial de nosso tempo é a nanotecnologia. Nanotecnologia é a habilidade de manipular átomos e moléculas individualmente para produzir materiais nanoestruturados e micro-objetos com aplicações no mundo real. Deve ser observado que a nanotecnologia não é uma tecnologia específica, mas todo um conjunto de técnicas baseadas na Física, Química, Biologia, na Ciência e Engenharia de Materiais e na Computação, que visam estender a capacidade humana de manipular a matéria até os limites do átomo.

A nanotecnologia envolve produção e aplicação em sistemas físicos, químicos e biológicos em escalas que variam de um átomo individual a moléculas de cerca de 100 nanômetros, assim como a integração das nanoestruturas resultantes em sistemas mais complexos. Um nanômetro vale  $1 \times 10^{-9}$  metros, ou um milionésimo de milímetro. Equivale

a 1/80000 do diâmetro do cabelo humano. Tem como símbolo nm, comumente usada para medição de comprimentos de onda de luz visível (400 nm a 700 nm), radiação ultravioleta, radiação infravermelha e radiações ionizantes.

Espera-se que a Nanotecnologia tenha um profundo impacto na economia e na nossa sociedade durante o século XXI, talvez comparável à tecnologia da informação ou aos avanços na biologia celular e molecular. Quando o olhar científico se volta para as engenharias podem trazer grandes contribuições para o surgimento de novas tecnologias, particularmente na área da saúde. Atualmente, o sentimento de muitos pesquisadores é que a nanotecnologia será o propulsor da próxima revolução industrial.

As relações entre nanociência e nanotecnologia reproduzem em nível nanométrico as mesmas relações entre ciência básica e as aplicações tecnológicas do conhecimento científico. Manipulando átomos e moléculas, pesquisadores anunciam a possibilidade de criar medicamentos mais eficazes, materiais mais resistentes, computadores com maior capacidade de armazenamento e diversos benefícios sócio-ambientais.

Richard Feynman, físico americano ganhador do Prêmio Nobel de Física de 1965, perguntou-se até que ponto poderia chegar essa miniaturização e controle da matéria. Quando de uma conferência, proferida em 1959, estabeleceu as bases desta que se tornaria a Nanotecnologia Molecular, 20 anos mais tarde. Sugeriu, então, que as leis da Física autorizariam a manipulação e o posicionamento, direto e controlado, de átomos e moléculas, individualmente, um a um. Que seria completamente possível usar átomos como se fossem tijolos de construção, evidentemente, levando-se em consideração as forças que atuam sobre eles. Tratava-se de uma ideia extremamente original.

Cerca de quase 20 anos após a profecia de Feynman, surgiu à criação do neologismo “nanotecnologia”. Em 1974, o engenheiro japonês Norio Taniguchi, professor da universidade de Tóquio, cunhou esse termo para apresentar o projeto de desenvolvimento de máquinas com níveis de precisão e tolerância inferiores a um micron (isto é, 1.000 nm, ou seja, um milionésimo de metro).

A partir do final da década de 1970 e principalmente nos primeiros anos da década de 1980, a nanotecnologia começou a se tornar objeto de interesse mundial, mais por suas

promessas do que por seus feitos. Certamente, o grande responsável por isso foi Eric Drexler. Engenheiro espacial por formação, Drexler começou a se interessar pelo que no início dos anos 1980 costumava chamar de “engenharia molecular” e, a partir de 1986, de nanotecnologia. Nesse ano, ele publicou *Motores da concepção* (*Engines of creation*).

O primeiro grande marco tecnológico da história da nanotecnologia aconteceu em 1981, com a criação do microscópio eletrônico de tunelamento concebido e desenvolvido por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, pesquisadores da filial suíça da IBM (Figura 1). A invenção valeu a Binnig e Rohrer o Prêmio Nobel de Física, em 1986.



**Figura 1:** Heinrich Rohrer (esquerda) e Gerd Binnig (direita) da empresa IBM em Zurique (Suíça) receberam o prêmio Nobel em 1986 pelo desenvolvimento do microscópio de tunelamento com varredura (STM).

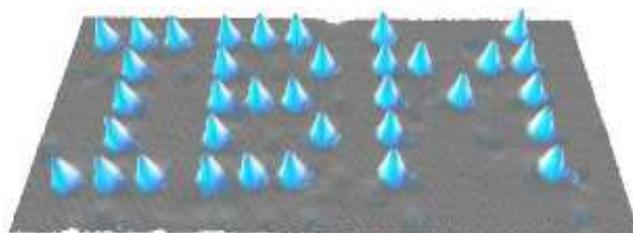
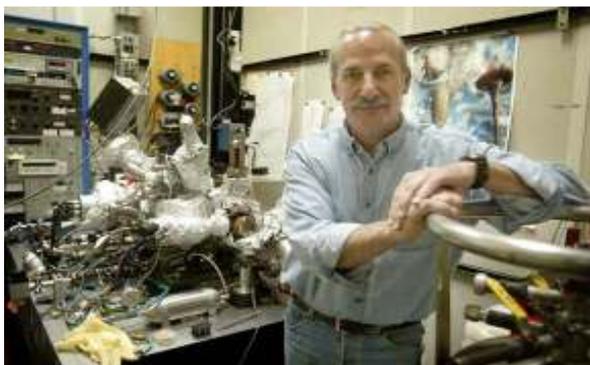
O novo microscópio tornou possível algo totalmente novo: a capacidade de “ver” com precisão os átomos e, mais que isso, por causa do tipo de interação (mediante um fenômeno físico conhecido como efeito túnel) entre a ponta ultrafina desse microscópio e os átomos analisados, é possível, com algum controle e precisão, mover e rearranjar os átomos sobre uma superfície.

Depois dos primeiros trabalhos de Rohrer e Binnig [1-2], vários trabalhos aplicando a técnica STM foram desenvolvidos, registrando-se imagens atômicas de superfícies de semicondutores, assim como moléculas adsorvidas quimicamente [3-4]. Ao mesmo tempo, a técnica STM foi aperfeiçoada surgindo a espectroscopia de tunelamento com varredura (STS : Scanning Tunneling Spectroscopy) a qual mede a condutância de tunelamento versus a voltagem de polarização em uma posição específica da ponta proporcionando

assim, informação estrutural eletrônica local da superfície, a qual é resolvida em escala atômica.

Avanços significativos em nanotecnologia não foram notados até o início da década de 1980, devido à ausência de instrumentos adequados que permitissem a nanomanipulação, como por exemplo, os microscópios de varredura por sonda a exemplo do microscópio de tunelamento com varredura (Scanning Tunneling Microscope-STM), de campo próximo ou SNOM (Scanning Near-Field Optical Microscope) e o de força atômica (AFM). Esses instrumentos permitiram avanços significativos na fabricação de novos materiais em escala molecular e atômica.

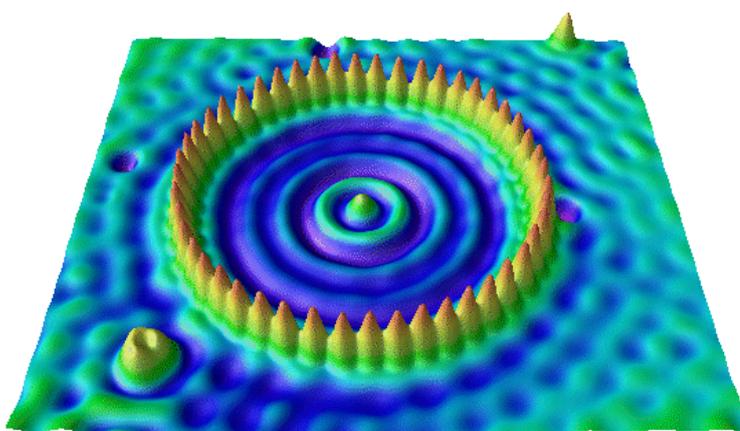
O microscópio de tunelamento com varredura (STM) tornou possível não só ver, mas medir e manipular átomos ou moléculas. Em 1989, o físico americano Donald Eigler (com o auxílio de Erhard Schweizer, ambos da IBM da Califórnia) escreveu pela primeira vez a sigla da IBM, movendo e posicionando 35 átomos de xenônio sobre uma superfície de níquel (Figura 2).



**Figura 2:** O físico americano Donald Eigler manipulou 35 átomos de xenônio e formou uma imagem azulada do nome da IBM sobre uma superfície de níquel [5].

Recentemente, com o desenvolvimento da STM aliado a técnicas de crescimento de cristais, como por exemplo, a Epitaxia por Feixes Moleculares (MBE) e as técnicas de litografia tornou-se possível a fabricação de heteroestruturas conhecidas como

nanodispositivos (*nanodevices*), nas quais elétrons são confinados espacialmente em duas dimensões. Em alguns casos esses dispositivos são construídos de modo a apresentar uma estrutura geométrica simples a exemplo do “curral” quântico (Figura 3). O “curral” quântico é um anel constituído por 48 átomos de Ferro adsorvidos a uma superfície de cobre. Os átomos de ferro constituem barreiras que confinam em um espaço parte dos elétrons da superfície de cobre o que faz com que os estados quânticos em que estes se encontram se tornem visíveis como ondas concêntricas e que são previstas pela equação de Schrödinger em duas dimensões.



**Figura 3:** Ilustração de uma imagem gerada pelo microscópio STM denominada de “curral” quântico, construído a partir de técnicas da nanotecnologia. As cores são falsas. Nota-se na imagem duas “ilhas” do lado de fora do “curral”, que são considerados como defeitos da superfície do cobre. [6].

Os princípios físicos envolvidos no STM se fazem presentes na mecânica quântica [6]. Existem muitos fenômenos quânticos que não se enquadram nos formalismos clássicos. Talvez o efeito túnel ou tunelamento seja o mais impressionante. O fenômeno de tunelamento é conhecido há mais de meio século desde a formulação da mecânica quântica. A mecânica quântica prevê que uma partícula como um elétron, pode ser descrito por uma função de onda. Assim sendo, tem uma probabilidade finita de entrar em uma região classicamente proibida e, por conseguinte, essa partícula pode tunelar através de uma

barreira de potencial que separa duas regiões classicamente permitidas. A probabilidade de tunelamento é exponencialmente dependente da largura da barreira de potencial. Então a observação experimental dos eventos de tunelamento só é mensurável para barreiras muito finas. Por outro lado, para a mecânica clássica uma barreira é uma barreira, ou seja, se uma partícula não tiver energia cinética suficiente, ela não conseguirá ultrapassá-la. Do ponto de vista clássico, uma partícula proveniente da esquerda deveria colidir com a barreira e, no caso de colisão elástica, retornar para esquerda, com a mesma velocidade (em módulo) na ausência de atrito, pois  $E < V_0$ . O que a mecânica quântica prevê, é que a matéria apresenta comportamento ondulatório e, portanto, existe uma probabilidade não nula da onda atravessar a barreira, ou seja;  $|\psi(x)|^2 \neq 0$  na barreira, fenômeno este conhecido por efeito túnel ou tunelamento.

A probabilidade que um elétron apareça do outro lado da barreira, é dada pela equação de Schrödinger independente do tempo:

$$-\left(\frac{\hbar^2}{2m}\right)\frac{d^2\psi(x)}{dx^2} + V(x)\psi(x) = E\psi(x) \quad (1)$$

Sendo:

$\hbar = \frac{h}{2\pi}$  - Constante de Planck normalizada;

$m$  – Massa do elétron;

$x$  – Variável unidimensional;

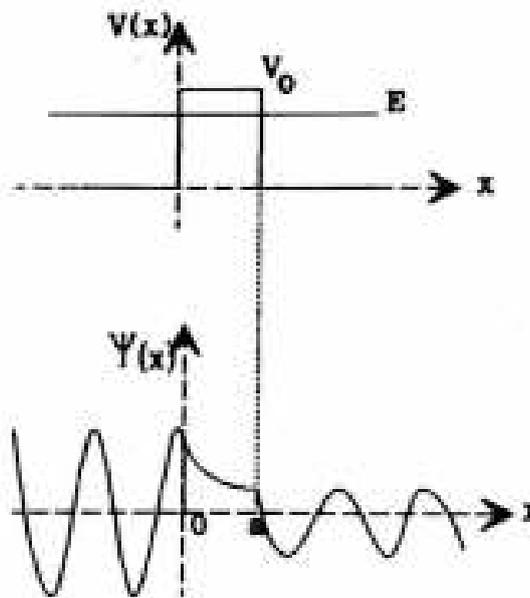
$\psi(x)$ - Função de onda  $|\psi(x)|^2$ , (define a densidade de probabilidade de presença da partícula  $m$  em  $x$ );

$V(x)$  – Energia Potencial

A solução da Equação (1) é específica para cada região da energia potencial, dada por:

$$V(x) = \begin{cases} 0, & \text{para } x < 0 \text{ e } x > a; \\ V_0, & \text{para } 0 < x < a; \end{cases}$$

A solução da equação diferencial (Eq. 1) é mostrada analisando a Figura 4. Nas regiões classicamente permitidas  $x < 0$  e  $x > a$ , a energia total  $E$  de uma onda proveniente da esquerda é maior do que a energia potencial  $V(x)$  e as autofunções são oscilatórias; no interior da barreira ( $0 < x < a$ ),  $E < V(x) = 0$  e a autofunção decrescem exponencialmente [7].



**Figura 4:** Tunelamento por uma barreira de potencial finita.

A invenção do STM desencadeou o desenvolvimento de uma grande variedade de microscópios de varredura por sonda (SPM) tais como o microscópio de força atômica

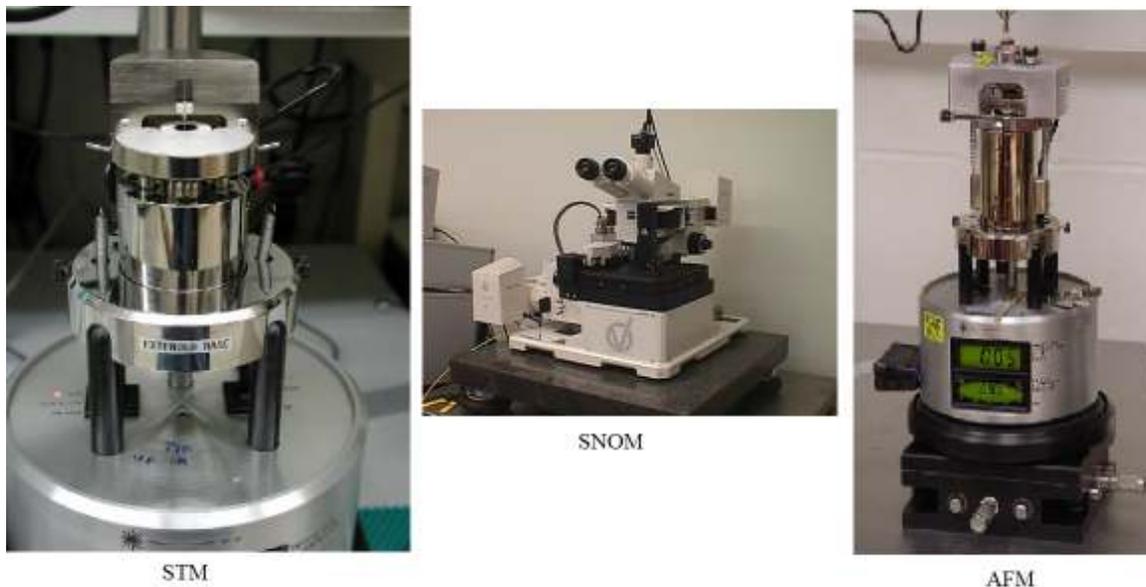
(AFM), o microscópio de força magnética (MFM), o microscópio de força eletrostática (EFM) e o microscópio ótico de campo próximo (SNOM).

O principal componente de um STM é um sensor, com o qual se consegue sondar as amostras e obter as imagens com aumentos muito elevados, de forma tal que podem ser medidas distâncias com resolução de até 0,1 ângstrom ( $1\text{\AA}=10^{-10}\text{ m}$ ).

O sensor usado no microscópio de tunelamento é uma ponta metálica de dimensões quase atômicas que é varrida muito próxima da superfície da mostra para fazer tunelamento entre ela e a amostra. No microscópio AFM é utilizado um sensor de força em forma de ponta condutora ou isolante. No microscópio SNOM o sensor é uma fibra ótica. A Figura 5 ilustra alguns microscópios de tunelamento e a Tabela 1 ilustra a capacidade de aumento dos microscópios atuais.

**Tabela 1:** Capacidade de aumento dos microscópios atuais.

Microscópio	Aumento	Meio	Imagem	Tipo de análise
Ótico	$10^3$	ar, líquidos	2-D	Não-destrutiva
Varredura laser	$10^4$	Ar	2-D	Parcialmente destrutiva
Feixe de íons	$10^5$	vácuo	2-D	Destrutiva
SEM	$10^6$	vácuo	2-D	Parcialmente destrutiva
SPM	$10^9$	Ar, líquido, vácuo	3-D	Não-destrutiva



**Figura 5:** Microscópios de tunelamento responsáveis pelo avanço da nanotecnologia na síntese e caracterização de novos nanomateriais.

A nanotecnologia oferece um novo paradigma para a manufatura de materiais utilizando a manipulação em escala submicrométrica com o objetivo de criar dispositivos a partir de unidades estruturais fundamentais ou blocos de construção, por meio da construção de baixo para cima (*bottom-up technology*) ou de cima para baixo (*top-down technology*) até chegar a nanodispositivos. No entanto, esta ciência está apenas começando a aprender a manipular e construir nanodispositivos de forma eficiente e economicamente viável. Mesmo assim, estudos vêm sendo feitos tanto para a fabricação como a simulação computacional de materiais e nanodispositivos em nanoescala.

Uma das topologias mais estudadas atualmente em nanotecnologia quanto às suas aplicações na medicina tem a ver com a tendência da natureza de aperfeiçoar tudo ao seu redor. Se observarmos com cuidado o estado líquido da matéria, veremos que as esferas estão sempre presentes na natureza a exemplo de bolhas e pequenas gotas de água. Os líquidos tendem a adotar uma forma que minimize sua área de superfície, numa tentativa de

manter as moléculas com um maior número possível de vizinhos semelhantes. As gotas de líquidos tendem a assumir a forma esférica, pois a esfera é a forma com a menor razão superfície/volume.

Atualmente, as nanoesferas representam um marco muito importante para a medicina, pois podem ser utilizadas como transportadoras de medicamentos, isótopos radioativos e compostos fluorescentes com aplicações que vão desde carregadores de quimioterápicos até sistemas fotônicos para utilização na terapia fotodinâmica. A utilização de nanoesferas bioativas em medicina implica na obtenção de dispositivos dirigidos a alvos específicos no organismo humano, sendo estes os campos de uma nova área da nanotecnologia, denominada nanobiotecnologia.

Neste trabalho, estudou-se as propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanoesferas transportadoras de partículas magnéticas de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  (*YFeAl*) baseadas no polímero diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA). Estas nanoesferas foram testadas com marcadores (ZnS e RhB) no intuito de avaliar como estes sistemas se comportam no tratamento das células tumorais, já que sabemos que tais marcadores possuem propriedades ópticas diferenciáveis e são promissores no transporte de energia para tratamento do tecido biológico.

## **1.2 - Técnicas de Preparo de Nanomateriais**

Quando se fala de pesquisas em nanotecnologia, geralmente se distinguem os objetos de estudo, as técnicas utilizadas e os diferentes produtos que serão gerados (nanomagnetismo, metais ultrafinos, drogas nanocristalinas, nanofibras poliméricas e outros). Neste tópico serão abordados os métodos de preparo de nanoesferas como objetos de estudo neste trabalho.

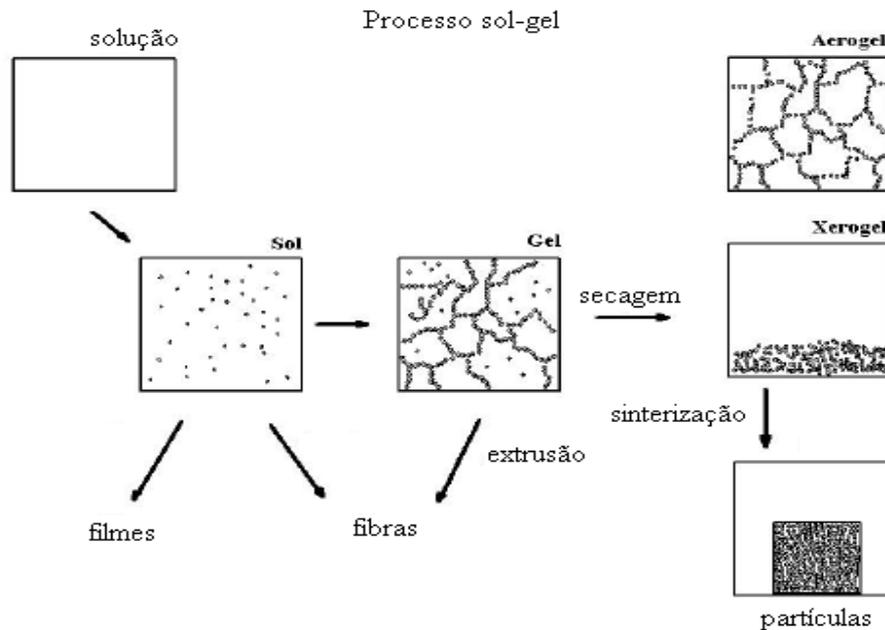
### 1.2.1 O Método Sol-Gel

A descoberta e investigação de novos materiais cristalinos e/ou amorfos têm norteado a ciência dos materiais. Com isto, novos métodos e procedimentos estão sendo adotados de forma a otimizar certos processos físicos-químicos e otimizar diversas propriedades (características) destes novos materiais. O método sol-gel não é descoberta recente, mas só nos últimos anos tem sido explorado em suas muitas potencialidades. Sua aplicação permite desde o recobrimento de materiais oxidáveis, como aço, para impedir corrosão, até a fabricação de filtros de ar altamente potentes, obtidos através de uma membrana que possibilita a separação por adsorção (fixação de moléculas de uma substância na superfície de outra) e consequente purificação de gases. Como a solução é inicialmente líquida, é possível obter várias formas para o material, desde películas utilizadas em revestimento, até formas sólidas ou em pó. Além da forma, o método sol-gel possibilita diferentes composições químicas, que variam de acordo com a aplicação.

As vantagens deste processo são:

- ✓ custo reduzido em relação a processos convencionais (no caso de matrizes vítreas);
- ✓ possibilidade de produção de novos materiais, antes impossibilitados por métodos convencionais;

A grande vantagem é a possibilidade de controle da estrutura ao longo do processo, esse controle se dá porque o processo sol-gel demanda baixas temperaturas. A baixa temperatura possibilita maior controle na manipulação do material, até mesmo em escala nanométrica. Isso permite incorporar à estrutura diversos tipos de materiais, inclusive orgânicos, para diferentes aplicações. Através do sol-gel, é possível controlar uma série de variáveis, como a porosidade, o estado físico, a composição química, a homogeneidade, a viscosidade e a resistência mecânica. A Figura 6 ilustra algumas técnicas de síntese via sistema sol-gel.



**Figura 6:** Técnicas de preparo de novos materiais via sistema sol-gel [8].

### 1.2.2. A Técnica da Emulsão

Emulsão é a mistura entre dois líquidos imiscíveis em que cada um deles (a fase dispersa) encontra-se na forma de finos glóbulos no interior do outro líquido (a fase contínua), formando uma mistura estável. Exemplos de emulsões incluem manteiga e margarina, maionese, café expresso e alguns cosméticos. As emulsões mais conhecidas consistem de água e óleo.

As emulsões são instáveis termodinamicamente e, portanto não se formam espontaneamente, sendo necessário fornecer energia para formá-la através de ligação, de homogeneizadores, ou de processos de spray. Com o tempo, as emulsões tendem a retornar para o estado estável de óleo separado da água. Os agentes emulsificantes (ou surfactantes) são substâncias adicionadas às emulsões para aumentar sua estabilidade cinética tornando-se razoavelmente estáveis e homogêneas. Um exemplo de alimento emulsificante é a gema do ovo, que contém o fosfolípido lecitina que estabiliza a emulsão do azeite na água.

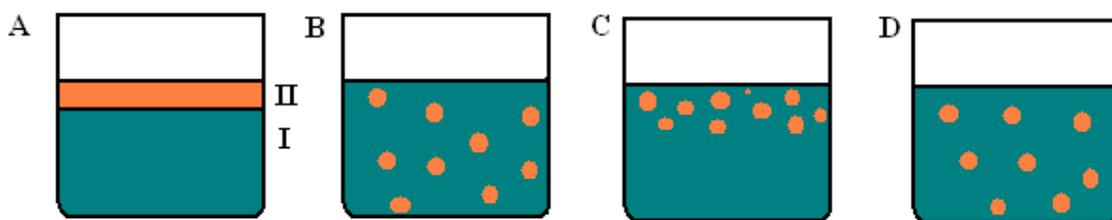
A estabilidade de uma emulsão depende essencialmente de três fenômenos: sedimentação, floculação e quebra da emulsão devido à coalescência das gotículas dispersas. A sedimentação resulta de uma diferença de densidade entre as duas fases e consiste na migração de uma das substâncias para o topo da emulsão, não sendo necessariamente acompanhada de floculação das gotas. As colisões entre as gotas podem resultar em floculação, que pode levar a coalescência em glóbulos maiores. Eventualmente, a fase dispersa pode se tornar a fase contínua, separada da dispersão média por uma única interface. O tempo para tal separação de fases pode ser de segundos ou até anos, dependendo da formulação da emulsão.

Para aumentar a estabilidade cinética das emulsões tornando-se razoavelmente estáveis, um terceiro componente, o agente emulsificante, pode ser adicionado. Os materiais naturais e certos sólidos finamente divididos. Esses materiais formam um filme adsorvido ao redor das gotas dispersas e ajudam prevenir a floculação e a coalescência. Os seguintes fatores favorecem a estabilidade de emulsões:

- Tensão superficial baixa: a adsorção de surfactantes nas interfaces óleo-água diminui a energia interfacial, facilitando o desenvolvimento e aumentando a estabilidade das grandes áreas interfaciais com as emulsões;
- Filme interfacial mecanicamente forte e elástico: a estabilidade das emulsões é favorecida pela proteção mecânica dada pelo filme adsorvido ao redor da gota. A elasticidade do filme também é importante para permitir a recuperação após distúrbios locais;
- Repulsão das duplas camadas elétricas: a repulsão entre as partículas diminui os choques evitando a floculação. Quando agentes emulsificantes iônicos são usados, a repulsão da dupla camada elétrica lateral pode prevenir a formação de filmes compactos. O efeito de expansão dos filmes pode ser minimizado usando uma mistura de um filme iônico com um não-iônico e/ou aumentando a concentração eletrolítica na fase aquosa;
- Volume pequeno da fase dispersa: favorece a formação de gotículas pequenas;

- Gotículas pequenas: gotas grandes são menos estáveis devido a sua menor razão de área/volume, que aumentam a tendência da gota crescer;
- Viscosidade alta: diminui as colisões retardando a floculação e sedimentação;

O tipo de emulsão formada quando dois líquidos imiscíveis são homogeneizados depende dos volumes relativos das duas fases e da natureza do agente emulsificante. Quanto maior for o volume da fase, maior é a probabilidade do líquido se tornar a fase contínua. Sabões de metais alcalinos favorecem a formação de emulsões óleo em água, enquanto que sabões de metais pesados favorecem a formação de emulsões água em óleo. Além disso, a fase na qual o agente emulsificante é mais solúvel tende a ser a fase contínua. A Figura 7 refere à técnica em emulsão de dois líquidos imiscíveis separados em duas fases (I e II).



**Figura 7:** A. Dois líquidos imiscíveis separados em duas fases (I e II). B. Emulsão da fase II dispersa na fase I. C. A emulsão instável progressivamente retorna ao seu estado inicial de fases separadas. D. O surfactante se posiciona na interface entre as fases I e II, estabilizando a emulsão.

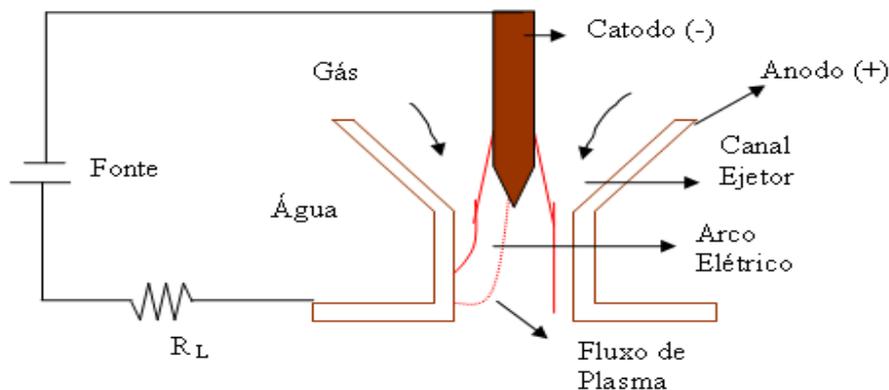
### 1.2.3. Descarga em Arco

Um arco elétrico é resultante de uma ruptura dielétrica de um gás a qual produz uma descarga de plasma, similar a uma fagulha instantânea, resultante de um fluxo de corrente em meio normalmente isolante tal como o ar. O arco ocorre em um espaço preenchido de gás entre dois eletrodos condutivos (frequentemente feitos de carbono) e isto resulta em uma temperatura muito alta, capaz de fundir ou vaporizar virtualmente qualquer material.

Na síntese por descarga de arco uma corrente elétrica de alta intensidade é aplicada a dois eletrodos de grafite, que são aquecidos a temperaturas próximas dos 3700° C. A essas temperaturas, o grafite primeiro vira vapor e em seguida se condensa na forma

de uma fuligem que contém nanotubos. O processo ocorre em atmosfera controlada, geralmente preenchida por um gás, mas também pode ser feito dentro da água. Os nanotubos foram descobertos por descarga de arco em 1991 pelo pesquisador japonês Sumio Iijima, que os comparou morfologicamente a agulhas. Segundo ele, cada "agulha" compreendia de dois a 50 tubos concêntricos formados por folhas de grafeno. Os nanotubos de parede única só ficaram conhecidos dois anos depois.

A descarga por arco elétrico é gerada entre dois eletrodos montados axialmente e separados por certa distância, sendo mantido por uma fonte de potência pré-estabelecida. Um fluxo contínuo de gás é fornecido e obrigado a passar por um estreito canal cilíndrico (vórtice) onde se encontra o arco estabilizado, saindo do canal sob a forma de um fluxo de plasma. O gás junto à parede refrigerada possui alta resistividade, o que obriga o arco a se confinar no eixo do canal, aumentando a condutividade elétrica e, conseqüentemente, a temperatura do plasma nesta região. A Figura 8 ilustra uma descarga em arco.



**Figura 8:** Ilustração de uma descarga em arco [9].

#### 1.2.4. Utilização de Micelas Reversas

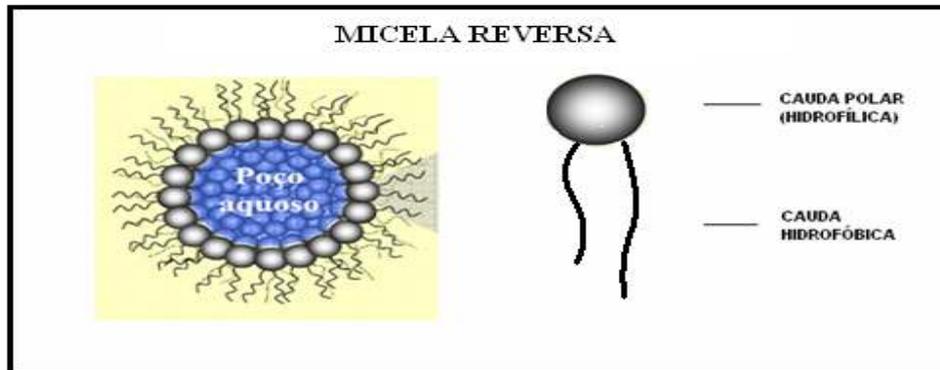
Entendemos por Micelas Reversas (MRs) como sendo a estrutura globular formada por um agregado de moléculas surfactantes, ou seja, compostos que possuem características

polares e apolares simultaneamente, dispersos em um líquido constituindo uma das fases de um colóide. As micelas são geralmente globulares, contudo, estas estruturas podem ser elipsóides, cilíndricas ou em camadas. O formato e o tamanho destas micelas é função da geometria molecular dos surfactantes bem como condição da solução, tais como: concentração, temperatura, pH e força iônica.

Estas partículas, ou seja, as nanoesferas propostas em nosso trabalho variam entre 0,1 e 0,001 micrómetros de diâmetro em soluções coloidais. As micelas se mantêm em constante e errático movimento, chamado browniano [10], graças à repulsão entre elas por causa das cargas elétricas. A formação das micelas, contudo, não ocorrem em qualquer concentração. Apenas a partir de uma concentração mínima chamada concentração micelar crítica, ocorre a micelização. Esta associação das moléculas de surfactantes ocorre para que haja uma diminuição da área de contato entre as cadeias hidrocarbônicas do surfactante e a água ou outro composto polar [10].

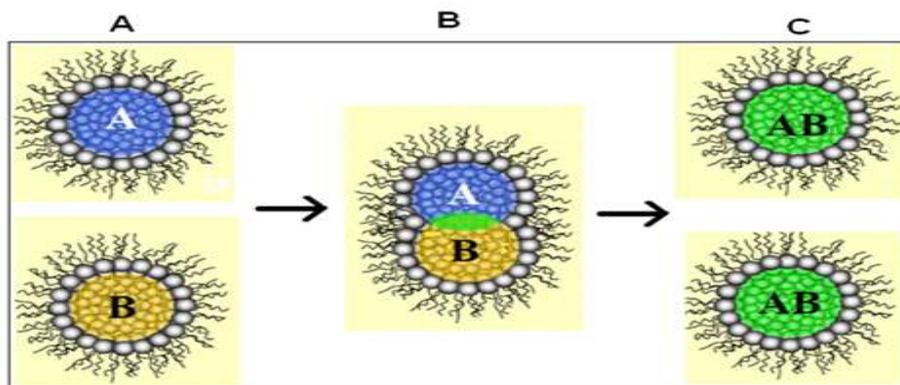
Com a formação de micelas várias propriedades físicas da solução tais como viscosidade, condutividade elétrica, tensão superficial e pressão osmótica são afetadas. As micelas podem ser formadas de fosfolipídios (lipídeos complexos), por exemplo, onde a parte polar ou hidrofílica fica rodeada de água,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

A utilização de micelas reversas como nanoreatores é empregada com o intuito de se obter nanopartículas com tamanho e distribuição controladas. Em um solvente não polar a exposição da parte polar não é energeticamente favorável. Neste caso os grupos hidrofóbicos tendem a ser voltados para o interior e os grupos hidrofílicos ficam expostos na superfície. A formação de micelas reversas pode ser complexa, por possuírem cargas elétricas semelhantes os grupamentos polares tendem a se repelir. A Figura 9 ilustra o princípio esquemático das micelas reversas.



**Figura 9:** Representação esquemática de uma micela reversa e de uma molécula de surfactante contendo uma cabeça polar e duas cadeias hidrocarbônicas [10].

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



**Figura 10:** Representação esquemática do princípio de nanopartículas em micelas reversas usando duas microemulsões (a), posteriormente misturadas (b) e formando as nanopartículas (c) [10].

A formação de micelas reflete um balanço complexo de várias forças intermoleculares, incluindo forças de Van der Waals, interações eletrostáticas e interações hidrofóbicas [11], sendo que a formação destas são as causas da estabilidade da emulsão. As micelas, por serem susceptíveis a modificações em sua estrutura, possibilitam o controle e otimização da partição de biomoléculas pelo ajuste das suas características como tamanho e forma através da variação da temperatura, concentração do tensoativo e adição de sais. Além disso, a seletividade da partição pode ser melhorada com a utilização de ligantes de afinidade específicos à biomolécula-alvo ou misturas de tensoativos iônicos e não-iônicos [12].

O mecanismo de nanoencapsulação por micelas reversas não está totalmente elucidado. No entanto, a teoria mais aceita descreve a formação das micelas reversas como um mecanismo cooperativo entre biomoléculas e tensoativo: a interface entre as duas fases (aquosa e micelar) se deforma em torno da biomolécula, formando a micela reversa e transferindo-a para a fase orgânica [13].

O comportamento de proteínas é dependente do pH da solução, pois este determina a rede de cargas da proteína. Usando soluções com valores de pH inferiores aos do ponto isoelétrico da proteína, esta apresentará carga líquida positiva, ao contrário, terá carga líquida negativa. Portanto, para que o não-encapsulamento da proteína ocorra, através de interações eletrostáticas, é necessário que exista diferença de cargas entre esta e o tensoativo [14], sendo possível que as extrações ocorram tanto por interações eletrostáticas quanto por forças hidrofóbicas.

A temperatura é também um fator de importância na absorção de biomoléculas por micelas reversas, pois influencia a capacidade máxima de absorção destas. Dentro de uma determinada faixa de temperatura, as micelas reversas são formações estáveis, o que favorece a absorção de moléculas. As temperaturas mais elevadas vão depender mais da sua termoestabilidade do que da capacidade de absorção da micela [15]. Outros fatores também têm sido estudados e demonstram que influencia o processo, como por exemplo: força iônica, tipo e concentração do tensoativo, emprego de aditivos, etc.

De interesse em nosso trabalho, as nanoemulsões constituem uma classe de emulsões com gotículas uniformes e de dimensões muito diminutas, na faixa entre 20 e 500 nm. Estas estão se tornando cada vez mais populares como veículos para a liberação controlada e dispersão otimizada de ingredientes ativos. As minúsculas dimensões dessas gotículas reduzem muito a força da gravidade, evitando que haja a criação de sedimentos durante o armazenamento do produto. O pequeno tamanho das gotículas também evita a floculação [15]. Evitando a floculação, o sistema mantém-se disperso, sem separação. As gotículas também evitam a coalescência por não serem deformáveis e não apresentarem alterações da superfície. Além disso, a significativa espessura da película (em relação ao diâmetro gotícula) evita qualquer afinamento ou ruptura da película de líquido entre as gotículas.

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

### 1.3. Referências Bibliográficas

- [1] BINNING G., H. Rohrer, Ch. Gerber, E. Weibel, Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy Phys. Rev. Lett. 49, 57-62, 1982.
- [2] BINNING G., H. Rohrer, Ch. Gerber, E. Weibel,  $7 \times 7$  Reconstruction on Si(111) Resolved in Real Space. Phys. Rev. Lett. 50, 120-123, 1983.
- [3] HAMERS R.J., R. M. Tromp, J. E. Demuth, Scanning tunneling microscopy of Si(001) Phys. Rev. B 34, 5343-5357, 1986.
- [4] OHTANI H., R. J. Wilson, S. Chiang, E. M. Mate, Scanning Tunneling Microscopy Observations of Benzene Molecules on the Rh(111)-( $3 \times 3$ ) ( $C_6H_6 + 2CO$ ) Surface Phys. Rev. Lett. 60, 2398-2401, 1988.
- [5] ] EIGLER D.M., E. K. Schweizer. Positioning single atoms with a scanning tunneling microscope. Nature, 344:524, 1990.
- [6] Capturado de <http://www.almaden.ibm.com/vis/stm/gallery.html> em 21/12/2011.
- [7] EISBERG R., R. Resnick, "Física Quântica", 4ª ed. Trad., Rio de Janeiro, 1988.
- [8] Capturado de [[http://cheminfo.chemi.muni.cz/materials/InorgMater/sol\\_gel.pdf](http://cheminfo.chemi.muni.cz/materials/InorgMater/sol_gel.pdf)] em 15/10/2010.
- [10] Capturado de Fonte: (<http://www.labplasma.ct.ufrn.br/>) em 22/05/2010.

[10] DUARTE, E.L., Síntese e Caracterização de Nanopartículas Baseadas em Óxido de Ferro, 2005, 168 p., Dissertação (Doutorado em Física) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

[11] ISRAELACHVILI, J.N. 1991. Intermolecular and surface forces. 2.ed. Academic, London and San Diego.

[12] MAKINO, S.; Reynolds, J.A.; Tanford, C. 1973. The binding of deoxycholate and Triton X-100 to proteins. J. Bio. Chem. 248: 4926-4932.

[13] DUNGAN, S.R.; Bausch, T.; Hatton, T.A.; Plucinski, P.; Nitsch, W. 1991. Interfacial transport processes in the reversed micellar extraction of proteins. J. Coll. Interface Sci. 145: 33-50.

[14] HASMANN, F.A.; Pessoa Jr., A.; Roberto, I.C. 2001. Screening of variables in Xilosidase recovery using cetyl trimethyl ammonium bromide reversed micelles, Appl. Biochem. Biotechnol. 91-93: 719-728.

[15] KREI, G.A.; Hustedt, H. 1992. Extraction of enzymes by reverse micelles. Chem. Eng. Sci. 47: 99-111.

## 2

# **MAGNETO-HIPERTERMIA: UMA NOVA PERSPECTIVA PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER**

### **2.1 - Introdução**

Entende-se por câncer como sendo determinadas anomalias que acontecem nas células humanas, sendo estas células as unidades funcionais e primordiais da vida. Estas anomalias são ocasionadas devido a não eficiência no processo de reprodução das células, em função de problemas nos genes, sendo o ato de reproduzir fundamental para a continuação do ciclo celular.

O tumor, assim conhecido, inicia quando ocorre uma alteração ou danificação no material genético (DNA), desenvolvendo anomalias que afetam o crescimento celular e conseqüentemente sua divisão. Este avança através da corrente sanguínea ou linfática, necessitando assim de uma rede de vasos sanguíneos para se desenvolver e disseminar por outras partes do organismo, fato este conhecido como metástase [1]. Este agrupamento celular irregular danifica o processo de multiplicação das células, ao qual passam a proliferar sem necessidade.

Somente tumores malignos podem ser designados como câncer [1]. Um tumor benigno pode se tornar um maligno, mas não necessariamente o tumor maligno já foi um benigno. Segundo a Associação Brasileira do Câncer – ABCâncer [2], uma das principais diferenças entre os dois tipos de tumor é em relação à velocidade de crescimento e à capacidade que tem ou não de invasão e da proliferação celular: os tumores malignos têm crescimento acelerado em comparação aos benignos e os tumores malignos sofrem um processo de vascularização que promove acelerado crescimento e maior probabilidade de invadir outras partes do organismo.

Ainda segundo a ABCâncer, um tumor benigno não é cancerígeno, embora um tumor benigno possa vir a se transformar em maligno, em virtude de fatores como velocidade de crescimento e capacidade de invasão e proliferação das células. Em geral, pode ser removidos por cirurgia e dificilmente reaparecem. As células do tumor benigno não se espalham para outros pontos do organismo, raramente implicando em risco de morte. Não ocorre ulceração, sangramento ou infiltração, é bem delimitado, simétrico, suas bordas são regulares, possui apenas uma tonalidade de cor e não provoca coceira e nem inflamação.

O tumor maligno é cancerígeno, as células podem invadir tecidos próximos e se espalham para outras partes do organismo humano. Abrange um grupo de centenas de tipos de doença que, embora sejam diferentes entre si, têm a capacidade comum de formar colônias de células que invadem e destroem tecidos e órgãos próximos.

Atualmente são cinco as modalidades convencionais empregadas no tratamento do câncer: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, hipertermia e imunoterapia. Destas cinco modalidades, nenhuma delas por si só, consegue a erradicação total do tumor maligno. A hipertermia continua sendo uma das mais poderosas modalidades terapêuticas para melhorar a evolução dos pacientes com câncer e também é um dos melhores coadjuvantes que aumenta a eficácia da radioterapia e da quimioterapia.

O aumento de temperatura requerido pela hipertermia pode ser atingido, entre outros métodos, pelo uso de nanopartículas magnéticas, processo este conhecido com o nome de magneto-hipertermia ou magnetotermocitólise [3]. As nanopartículas magnéticas são aquecidas quando submetidas à ação de um campo magnético externo de frequência alternada e o uso das nanopartículas é preferível ao invés das micropartículas, uma vez que aquelas respondem mais eficientemente a aplicação de campos externos, absorvendo destes campos mais energia.

O calor que chega às células cancerígenas é proveniente da ação do campo magnético nas nanopartículas ferromagnéticas (região em que os efeitos magnéticos são muito fortes). Este calor é transferido às células neoplásicas, que por sua vez inibe a recombinação dos radicais livres no interior da célula, lesionando as enzimas relacionadas

com a regulação do crescimento, afetando a concentração de cálcio no meio celular e modulando a expressão gênica da mesma.

De maneira geral, nanopartículas magnéticas têm recebido atenção especial para a utilização no tratamento do câncer pela técnica hipertêmica por poderem ser guiadas ou localizadas em um alvo específico por campos magnéticos externos. A possibilidade da vetorização de nanopartículas magnéticas através de gradientes de campos magnéticos levou ao desenvolvimento de várias técnicas de encapsulamento de partículas magnéticas de forma que os sistemas obtidos se tornassem efetivos carreadores de drogas com especificidade tumoral para a liberação controlada de agentes quimioterápicos.

A hipertermia pertence à lista dos tratamentos convencionais aceitos pela “American Cancer Society” e continua sendo uma das mais poderosas modalidades terapêuticas para melhorar a evolução dos pacientes com câncer [4]. Também é um dos melhores coadjuvantes que aumenta a eficácia da radioterapia e da quimioterapia. Neste sentido, os experimentos clínicos de Fase III comprovam que quando a hipertermia foi associada com a radioterapia, ela melhorou o controle local do melanoma de 28% para 46% em 2 anos de acompanhamento; provocou aumento da remissão total do câncer recorrente de mama de 38% para 60%, aumentou o índice de remissão total do câncer avançado cervical de 57% para 82% e no glioblastoma multiforme aumentou a sobrevida de 2 anos de 15% para 31% [5].

Um pré-requisito importante para a utilização clínica da magneto-hipertermia é que as nanopartículas devem apresentar baixos níveis de toxicidade, assim como um elevado momento de saturação que permita minimizar as doses requeridas. Neste contexto, cerâmicas com composição do tipo Ítria-Ferro-Alumínio (YFeAl) aparecem como um candidato promissor, visto que possuem uma alta temperatura de Curie ( $T_C$ ) e elevado momento de saturação [6]. Entretanto, tais partículas possuem elevada citotoxicidade, sendo necessário desenvolverem-se técnicas de encapsulamento que imputem às nanopartículas ferromagnéticas as propriedades biocompatíveis necessárias para uma aplicação da magneto-hipertermia de modo clinicamente seguro.

## 2.2 – Magneto-Hipertermia e as Leis de Maxwell

Até a segunda década do século XIX, eletricidade e magnetismo eram tratados como duas áreas completamente independentes. Em 1820, o dinamarquês Hans Christian Oersted (1777-1851) descobriu que uma agulha de bússola deslocava-se do sentido do norte magnético quando uma corrente elétrica era ligada em um fio que estivesse próximo. Isto mostrava que a eletricidade e o magnetismo eram fenômenos que tinham relação entre si, descoberta esta que serviu de base para a teoria do eletromagnetismo e para as pesquisas que levaram à tecnologia para a fabricação do rádio, da televisão e, mais recentemente, das fibras óticas.



**Figura 1:** Hans Cristian Oersted foi um dos mais importantes cientistas do século XIX, cuja participação foi crucial para o entendimento do eletromagnetismo.

Entre as incontáveis aplicações da nanotecnologia, a magneto-hipertermia chama a atenção pelo grau de interdisciplinaridade envolvido na transferência de conhecimentos das ciências da natureza (física, química e biologia) para a medicina.

Desde o advento das ideias inovadoras de Isaac Newton, estabeleceu-se uma interpretação causal do universo segundo a qual todo efeito observado obedeceria a forças

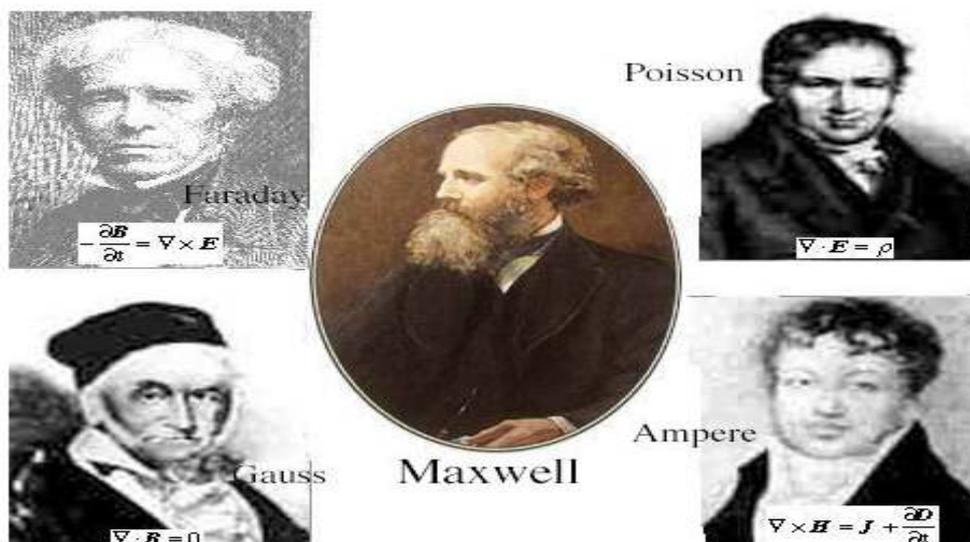
exercidas por objetos situados a certa distância. Nesse contexto histórico nasceu a teoria eletromagnética, segundo a qual as atrações e repulsões elétricas e magnéticas resultavam da ação de corpos distantes.

Era preciso, pois, encontrar a verdadeira causa final dessas forças, buscando-se uma analogia com a massa gravitacional de Newton e, simultaneamente, explicar de forma rigorosa os mecanismos de interação eletromagnética entre os corpos. Coube a Ampère, a partir de seus trabalhos sobre correntes elétricas, expor a teoria da existência de partículas elétricas elementares que, ao se deslocar no interior das substâncias, causariam também os efeitos magnéticos. No entanto, em suas experiências, ele não conseguiu encontrar essas partículas.

Por outro lado, Faraday introduziu a noção de campo, que teve logo grande aceitação e constituiu um marco no desenvolvimento da física moderna. Definiu o espaço como cheio de linhas de força - correntes invisíveis de energia que governavam o movimento dos corpos e eram criadas pela própria presença dos objetos. Assim, uma carga elétrica móvel produz perturbações eletromagnéticas a seu redor, de modo que qualquer outra carga próxima detecta sua presença por meio das linhas do campo. Esse conceito foi desenvolvido matematicamente pelo britânico James Clerk Maxwell, e a força de seus argumentos acabou com a ideia de forças que agiam sob controle remoto, vigente em sua época.

A teoria eletromagnética de Maxwell descreve, numa estrutura formal única, os fenômenos elétricos e magnéticos. Antes de Maxwell, tais fenômenos eram descritos por uma série de leis empíricas e fenomenológicas distintas. Seu contemporâneo Michael Faraday já havia descrito as leis da indução eletromagnética, as quais descreviam como um campo magnético variável podia induzir um campo elétrico e, conseqüentemente, uma corrente elétrica em um circuito próximo. Faraday já havia também introduzido o fundamental conceito de campo, o conjunto das hipotéticas linhas de força que preenchem o espaço e seriam responsáveis pelos fenômenos elétricos e magnéticos. Porém, foi somente com a teoria eletromagnética de Maxwell que os campos responsáveis pelos fenômenos elétricos e magnéticos foram efetivamente unificados. Pragmaticamente, isso

significa que os campos elétricos e magnéticos passaram a ser descritos numa mesma estrutura formal, isto é, passaram a ser descritos por um mesmo conjunto de quantidades (o campo eletromagnético), que satisfazem certo conjunto de equações matemáticas. Este é o exemplo, por excelência, de uma unificação de teorias físicas. Várias são as vantagens da teoria unificada sobre as anteriores. Pode-se afirmar que a unificação de teorias seria uma tendência natural na ciência, compatível com o princípio da navalha de Occam, argumento heurístico segundo o qual, dentre várias possíveis descrições de um fenômeno, deve-se preferir a que envolve o menor número de hipóteses. Porém, sendo a física uma ciência experimental, a verdadeira vantagem de uma teoria unificada viria de sua capacidade de fazer novas previsões testáveis. E foi por isso, e não por argumentos estéticos nem reducionistas, que a teoria eletromagnética de Maxwell foi aceita e se transformou num dos pilares fundamentais da física. A descrição de Maxwell previa novas formas de interação entre os campos elétricos e magnéticos. Por exemplo, sob determinadas situações, ondas eletromagnéticas, isto é, campos elétricos e magnéticos intimamente relacionados que se propagam no espaço, podiam ser geradas e irradiadas. A Figura 2 ilustra os principais cientistas que contribuíram para a teoria eletromagnética.



**Figura 2:** Principais cientistas que contribuíram decisivamente para a teoria eletromagnética.

Os vários trabalhos teóricos sobre o eletromagnetismo tiveram seu ápice em 1897, quando Joseph John Thomson descobriu o elétron, cuja existência foi deduzida do desvio dos raios catódicos na presença de um campo elétrico. A natureza do eletromagnetismo foi confirmada ao se determinar a origem das forças magnéticas no movimento orbital dos elétrons ao redor dos núcleos dos átomos.

### 2.2.1 – As Equações de Maxwell

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

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

Matematicamente a Lei de Gauss pode ser escrita como:

$$\oint_r \vec{E} \cdot d\vec{s} = \frac{Q_r}{\epsilon_0} \quad [1]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \quad [2]$$

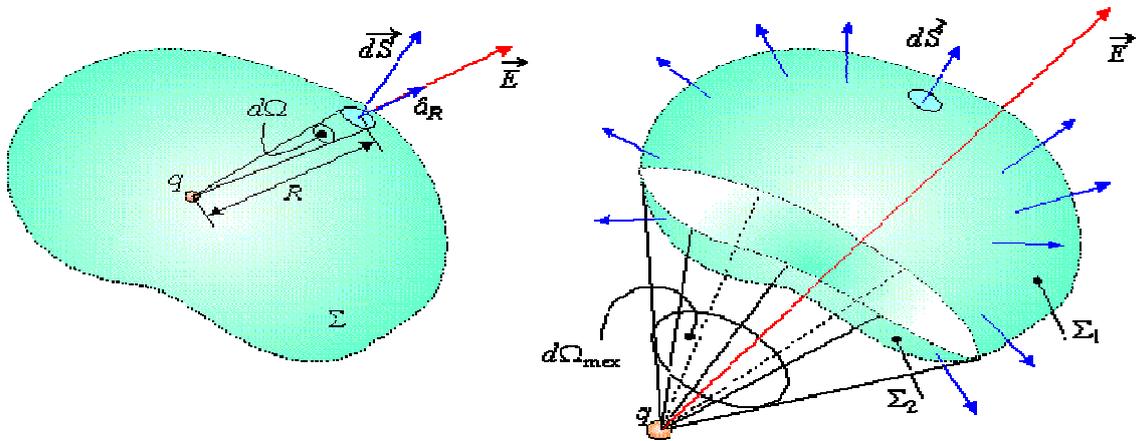


Figura 3: Lei de Gauss – distribuição esquemática [6].

Sendo:

$\vec{E}$  - campo elétrico [V/m];

$\Sigma$  - superfície;

$Q_r$  - carga envolta por  $\Gamma$  [C];

$\Omega$  - densidade volumétrica de carga [C/m<sup>3</sup>];

$\epsilon_0$  - permissividade do vácuo [F/m].

Do eletromagnetismo clássico, é sabido que corrente elétrica produz campo magnético [7] fato este relacionado matematicamente na equação abaixo, conhecida como Lei de Ampère. Esta está relacionada com uma importante propriedade geral dos campos magnéticos e é expressa por:

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_0 \left( i + \epsilon_0 \frac{d\Phi_E}{dt} \right) \quad [3]$$

A Equação (3) mostra que um campo magnético  $\vec{B}$  pode ser produzido por uma corrente elétrica  $i$  ou pela variação (temporal) do fluxo do campo elétrico  $\vec{E}$ ,  $\Phi_E$ .

Quando não se consideram campos elétricos variáveis com o tempo a Equação (3) se reduz a:

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_0 \cdot i \quad [4]$$

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

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 \cdot j \quad [5]$$

onde  $\nabla$  é chamado de rotacional.

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

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

$$\vec{B} = \mu_0 i_0 \cdot \frac{1}{2\pi r} \cdot \hat{n} \quad [6]$$

A Lei de Faraday-Neumann-Lenz, ou lei da indução eletromagnética, quantifica a indução eletromagnética, sendo o efeito da produção de corrente elétrica em um circuito colocado sob efeito de um campo magnético variável ou por um circuito em movimento em um campo magnético constante.

A Lei da indução de Faraday, elaborada por Michael Faraday em 1831, afirma que a corrente elétrica induzida em um circuito fechado por um campo magnético, é proporcional

ao número de linhas do fluxo que atravessa a área envolvida do circuito, na unidade de tempo [7]:

$$\oint_r \vec{E} \cdot d\vec{r} = -\frac{d\Phi_B}{dt} \quad [7]$$

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

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [8]$$

Portanto:

$$V_i = \oint_r \vec{E} \cdot d\vec{S} \quad [9]$$

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

$$V_i = -\frac{\Delta\Phi}{\Delta t} \quad [10]$$

A Lei de Faraday-Lenz enuncia que a força eletromotriz induzida num circuito elétrico é igual a variação do fluxo magnético conectado ao circuito. É importante notar que um campo magnético constante não dá origem ao fenômeno da indução. A contribuição fundamental de Heinrich Lenz foi a direção da força eletromotriz (o sinal negativo na fórmula). A corrente induzida no circuito é de fato gerada por um campo magnético, e a lei de Lenz afirma que o sentido da corrente é o oposto da variação do campo magnético que a gera [7].

Se o campo magnético do circuito está diminuindo, o campo magnético induzido pela corrente induzida irá na mesma direção do campo original (se opõem a diminuição), se, o campo magnético está aumentando, o campo magnético induzido irá em direção

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

No quadro abaixo, em forma de síntese, mostramos as Leis acima enunciadas, tanto na forma diferencial parcial, quanto na forma integral.

**Tabela 1:** Equações de Maxwell na forma diferencial e integral [7].

Nome	Diferencial Parcial	Forma Integral
Lei de Gauss	$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho_v$ [11]	$\oint_S \vec{D} \cdot d\vec{S} = Q_{englobado} = \int_V \rho_v dV$ [15]
Lei de Gauss para o magnetismo	$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0$ [12]	$\oint_S \vec{B} \cdot d\vec{S} = 0$ [16]
Lei da Indução de Faraday	$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}$ [13]	$\oint_L \vec{E} \cdot d\vec{l} = -\int_S \frac{d\vec{B}}{dt} \cdot d\vec{S}$ [17]
Lei de Ampère	$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$ [14]	$\oint_L \vec{H} \cdot d\vec{l} = I_{englobado} + \frac{d\Phi_{\vec{B}}}{dt}$ [18]

Sendo que:

$\nabla$  - operador gradiente que em coordenadas cartesianas pode ser escrito

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

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

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

$\vec{J}$  - densidade de corrente através da superfície S englobada pelo contorno C - [A.m<sup>-2</sup>]

$\vec{D}$  - vetor deslocamento elétrico.

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

$$\vec{D} = \epsilon \vec{E} \quad [19]$$

$$\vec{B} = \mu \vec{H} \quad [20]$$

sendo  $\epsilon$  - constante dielétrica ou permissividade elétrica [F/m];  $\mu$  - permeabilidade magnética [H/m].

Em meios isotrópicos e não dispersivos,  $\epsilon$  e  $\mu$  são escalares independentes do tempo, e sendo assim as equações de Maxwell se reduzem a:

$$\vec{\nabla} \cdot \epsilon \vec{E} = \rho \quad [21]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad [22]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [23]$$

$$\vec{\nabla} \times \frac{\vec{B}}{\mu} = \vec{J} + \epsilon \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad [24]$$

No vácuo, sem cargas ou correntes, sendo este um meio linear, homogêneo e isotrópico, com suas constantes designadas por  $\epsilon_0$  e  $\mu_0$ . Portanto:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0 \quad [25]$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad [26]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [27]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad [28]$$

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

$$\vec{\nabla} \times \vec{\nabla} \times \vec{E} = \vec{\nabla}(\vec{\nabla} \cdot \vec{E}) - \vec{\nabla}^2 \vec{E} = \vec{\nabla} \times \left( \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \right) = -\frac{\partial \vec{\nabla} \times \vec{B}}{\partial t} \quad [29]$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{\nabla} \times \vec{B} = \vec{\nabla}(\vec{\nabla} \cdot \vec{B}) - \vec{\nabla}^2 \vec{B} = \vec{\nabla} \times \left( \mu_o \epsilon_o \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \right) = \mu_o \epsilon_o \frac{\partial \vec{\nabla} \times \vec{E}}{\partial t} \quad [30]$$

Mas:

$$0 - \vec{\nabla}^2 \vec{E} = -\frac{\partial}{\partial t} \left( \mu_o \epsilon_o \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \right) \quad [31]$$

$$0 - \vec{\nabla}^2 \vec{B} = \mu_o \epsilon_o \frac{\partial}{\partial t} \left( -\frac{\partial}{\partial t} \right) \quad [32]$$

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

$$\vec{\nabla}^2 \vec{E} = \left( \mu_o \epsilon_o \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} \right) \quad [33]$$

$$\vec{\nabla}^2 \vec{B} = \left( \mu_o \epsilon_o \frac{\partial^2 \vec{B}}{\partial t^2} \right) \quad [34]$$

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

$$c = \frac{1}{\sqrt{\mu_o \epsilon_o}} \quad [35]$$

Maxwell percebeu em seus experimentos e com os cálculos acima mostrados que essa quantidade “c” é simplesmente a velocidade da luz no vácuo e concluiu que a luz é uma forma de radiação eletromagnética. Assim, Maxwell investigou campos elétricos em meios materiais observando que o campo elétrico é afetado pela presença dos dipolos

elétricos do meio (no nosso trabalho, o meio refere-se ao DGEBA). Tanto no caso de meios constituídos por moléculas polares, quanto em meios constituídos por moléculas apolares, o vetor polarização ( $\vec{P}$ ) tende a se alinhar opostamente ao campo elétrico externo, enfraquecendo-o de acordo com a expressão:

$$\varepsilon_0 \vec{E} = \vec{D} - \vec{P} \quad [36]$$

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

$$\oint \vec{D} \cdot d\vec{A} = q \quad [37]$$

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

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E} \quad [38]$$

Em um meio de constante dielétrica  $\kappa$ , a relação se torna:

$$\vec{D} = \kappa \cdot \varepsilon_0 \cdot \vec{E} = \varepsilon \cdot \vec{E} \quad [39]$$

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

$$V = (\mu \cdot \kappa)^{-\frac{1}{2}} \quad [40]$$

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

$$V = (\kappa)^{-\frac{1}{2}} \quad [41]$$

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

$$V = \frac{c}{n} \quad [42]$$

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

$$\kappa' = \frac{\kappa}{\kappa_0} = \frac{v^2}{c^2} = n^2 \quad [43]$$

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

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

$$\vec{F} = k \frac{m_1 m_2}{r^2} \quad [44]$$

sendo  $\kappa = 10^{-7}$  [N.A<sup>-2</sup>].

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

$$\vec{F} = m\vec{H} \quad [45]$$

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

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

$$\mu = m \cdot l \quad [46]$$

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

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

$$U = -\mu \cdot \vec{H} \quad [47]$$

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

Matematicamente tem-se que:

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum \mu_i \quad [48]$$

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

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

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

$$\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \vec{M}) \quad [49]$$

sendo que:

$\vec{B}$  = densidade de fluxo magnético [ $\text{T.m}^2$ ]

$\vec{H}$  = campo magnético [T]

$\vec{M}$  = magnetização, [ $\text{Am}^{-1}$ ].

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

$$\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} \quad [50]$$

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

$$\chi = \lim_{\vec{H} \rightarrow 0} \frac{\vec{M}}{\vec{H}} = \frac{\partial \vec{H}}{\partial \vec{M}} \quad [51]$$

Como foco principal desse trabalho, será analisado os materiais ferromagnéticos, sendo que estes materiais caracterizam-se por exibirem a magnetização de saturação  $M_s(T)$  dependente da temperatura. Um ferromagneto torna-se espontaneamente magnetizado abaixo de certa temperatura crítica, chamada de Temperatura de Curie ( $T_C$ ). A fase ferromagnética é caracterizada pelo alinhamento dos momentos magnéticos dos átomos constituintes do material. Os ferromagnetos são compostos por materiais puros como Fe, Ni e Co, e suas ligas [8].

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

$$\chi_{cw} = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} = \frac{C}{(T - C\lambda)} = \frac{C}{(T - T_c)} \quad [52]$$

Sendo:

$T$  - Temperatura de magnetização espontânea [K];

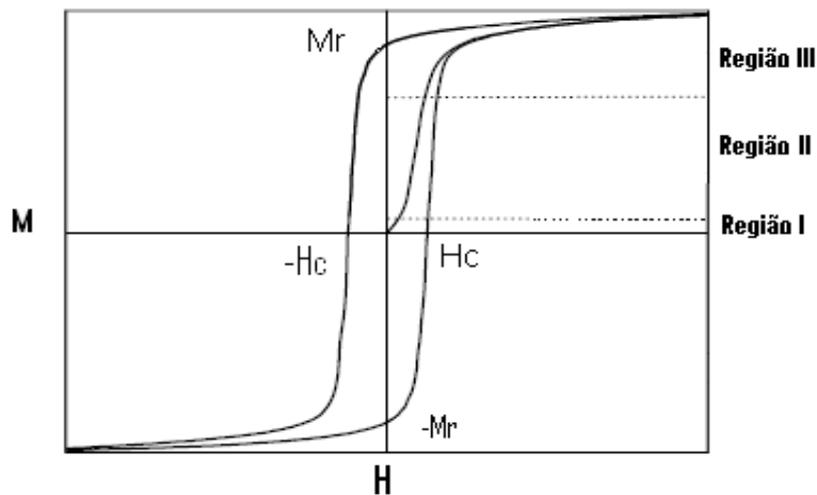
$C$  - Constante de Curie;

$\lambda$  = constante do campo médio;

$T_c$  = temperatura de Curie [K].

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

Partindo das origens dos eixos no plano cartesiano, ao aplicarmos um campo magnético externo, verificamos que, se o campo não ultrapassar algum limite, que depende da amostra em particular, ocorrem variações reversíveis na magnetização (região de fácil magnetização). A Figura 4 representa a região I. Nesta região, o processo de magnetização ocorre, em grande escala, por deslocamentos reversíveis das paredes de domínios bem como, em menor intensidade, por rotações, também reversíveis, da magnetização [9]. Para campos maiores, o processo de magnetização se torna irreversível e predominam os movimentos irreversíveis de parede de domínio e rotações irreversíveis da magnetização. Esta região II é a chamada região de magnetização irreversível. Se o campo aplicado for posteriormente aumentado (região III), predominantemente teremos rotação da magnetização, o que define a região de aproximação da saturação. A partir deste ponto, o material entra na região de saturação técnica onde o aumento do campo produzirá variações muito pequenas da magnetização. Ao ser diminuindo o valor do campo aplicado, a partir da saturação, a magnetização retorna ao valor de remanência  $M_r$ . Invertendo o sentido do campo e aumentando sua intensidade, a magnetização continua a diminuir de valor a partir de  $M_r$ , passando por zero em um campo chamado de campo coercivo  $H_c$ , e, finalmente, atingindo o seu valor de saturação na direção oposta à original para campos suficientemente altos. Diminuindo-se a intensidade do campo a zero a partir deste ponto, a magnetização atinge a remanência negativa. Aumentando-se o campo no sentido positivo a magnetização passa por zero, em  $+H_c$ , e atinge o valor de saturação na direção de saturação original, fechando o ciclo completo de histerese.



**Figura 4:** Curva de Histerese de um material ferromagnético e sua magnetização [34].

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

$$W_H = \oint \vec{H} \cdot d\vec{B} \quad [53]$$

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

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

sistema de trabalho, ou seja, na região das nanoesferas. Pode ser representada mediante a fórmula:

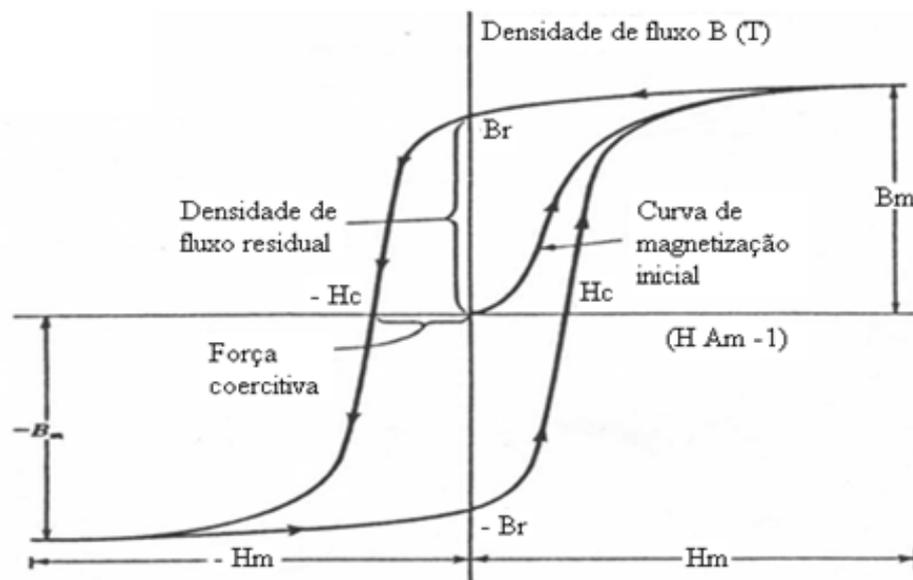
$$\frac{\partial U}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot \vec{S} = -\vec{J} \cdot \vec{E} \quad [54]$$

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

$$P_d + \oint_A \vec{S} \cdot d\vec{A} = -\frac{d}{dt} \iiint_V \frac{1}{2} (\vec{E} \cdot \vec{D} + \vec{H} \cdot \vec{B}) dV = -\frac{d\vec{W}}{dt} \quad [55]$$

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

Pode-se ainda, entender o ciclo da histerese pela curva abaixo (Figura 5), ao qual explica de maneira detalhada como se procede sua análise física.



**Figura 5:** Ciclo de Histerese

## 2.2.2 – Os Domínios Ferromagnéticos

Os fenômenos magnéticos foram os primeiros em despertar a curiosidade do homem sobre o interior da matéria. Os primeiros relatos de experiências com a força misteriosa da magnetita o ímã natural são atribuídos aos gregos e datam de 800 a.C. [10].

O magnetismo ganhou considerável importância a partir do século XIX com a descoberta de sua relação com a eletricidade. Em 1820, Oersted descobriu que uma corrente elétrica passando por um fio também produzia campo magnético, mudando a orientação da agulha de uma bússola. Mais tarde, Ampère formulou a lei que relacionava o campo magnético criado com a intensidade da corrente no fio. O efeito recíproco, pelo qual um fio condutor sofre a ação de uma força produzida pelo campo criado pela ímã permanente foi descoberto logo em seguida. Em 1831, Faraday na Inglaterra e Henry nos Estados Unidos, descobriram que um campo variável poderia induzir uma corrente elétrica no circuito [11]. No final do século XIX esses três fenômenos eram perfeitamente conhecidos e já tinham inúmeras aplicações tecnológicas, das quais o motor e o gerador elétrico eram os mais importantes.

Um elétron, girando em sua órbita ao redor do núcleo de um átomo, forma um minúsculo anel de corrente elétrica [11]. Uma vez que um anel de corrente produz um campo magnético e todos os átomos têm elétrons girando, poderíamos supor que todas as substâncias apresentassem efeitos magnéticos. Não obstante tais efeitos, são muito fracos na maioria dos materiais.

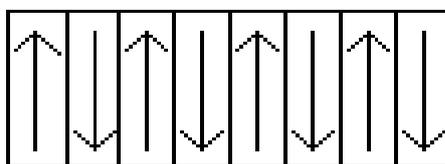
As substâncias podem ser classificadas como diamagnéticas, paramagnéticas ou ferromagnéticas dependendo de seu comportamento magnético. Nos materiais diamagnéticos, a magnetização é oposta ao campo aplicado, enquanto que nos materiais paramagnéticos ela se dá no mesmo sentido do campo [11]. Os materiais dos dois grupos, entretanto, apresentam somente efeitos magnéticos fracos. Os materiais do grupo ferromagnético, por outro lado, apresentam efeitos magnéticos fortes. A magnetização é no mesmo sentido do campo, como acontece com os materiais paramagnéticos.

Os materiais ferromagnéticos tendem a minimizar a energia magnética, que é dada principalmente pela soma das energias magnetoelástica, magnetocristalina de troca e

magnetostática. Como resultado dessa minimização, tem-se a distribuição da magnetização em pequenas regiões chamadas de domínios magnéticos, onde cada domínio possui a magnetização de saturação ( $M_S$ ). Todos os materiais ferromagnéticos contêm regiões microscópicas denominadas domínios, dentro das quais todos os momentos magnéticos estão alinhados [11] e os dipolos atômicos são paralelos entre si sendo que no interior deste domínios a magnetização local tem o maior valor possível. Os domínios existem em substâncias antiferromagnéticas, ferroelétricas, antiferroelétricas, ferroelásticas, supercondutoras e em alguns metais.

Entretanto, as direções da magnetização dentro de cada domínio estão distribuídas de tal maneira que o material como um todo tem magnetização nula. Os processos de magnetização convertem um material de um estado de muitos domínios para um estado de único domínio na direção de um campo magnético aplicado externo. A sua distribuição é diferente para cada amostra e é chamada de estrutura de domínios magnéticos. Os domínios magnéticos são separados por zonas de transição chamadas de paredes de domínios, onde a magnetização afasta-se da orientação da magnetização do domínio e, gradualmente, aproxima-se da orientação da magnetização do domínio adjacente [11].

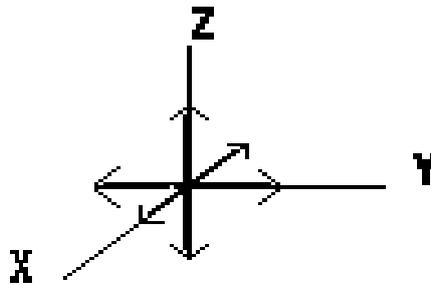
A formação de domínios têm por finalidade reduzir a energia de interação dos dipolos, assim, quanto maior o número de domínios, menor a energia associada. Os dipolos no material interagem de forma a produzir alto campos internos, estes devido aos domínios tem um profundo efeito nas propriedades magnéticas do material. Tal conceito ajuda a explicar porque um campo fraco que aplicamos, através de sua interação com os domínios, tem um enorme efeito na magnetização total. Quanto mais domínios existirem, menor se torna a energia. A Figura 6 são formações de domínios.



**Figura 6:** Formação de domínios [11].

Em campos magnéticos fracos, o volume dos domínios orientados favoravelmente em relação ao campo aumenta à custa aos domínios orientados desfavoravelmente. Em campos magnéticos intensos, a magnetização dos domínios tende a se alinhar com a direção do campo [12].

Em um cristal de ferro não magnetizado os domínios são paralelos às direções de fácil magnetização, mas eles estão randonicamente orientados, de modo que o campo externo do cristal é nulo. Num cristal de ferro há seis direções de fácil magnetização. Isto é, há uma direção positiva e negativa ao longo de cada um dos três eixos do cristal, perpendiculares entre si. A Figura 7 são as seis possíveis direções de fácil magnetização num cristal de ferro.



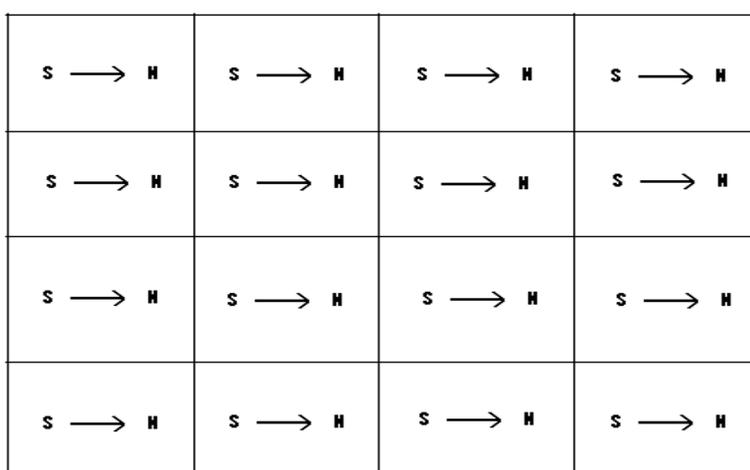
**Figura 7:** Seis direções de fácil magnetização num cristal de ferro [34].

A Figura 8 apresenta a polaridade dos domínios num cristal de ferro não magnetizado [12].

N ← S	N	S	N ← S
N ↓ S	N → S	N ↓ S	N ← S
N ← S	N	N ↓ S	N ↑ S
S	N → S	N ↑ S	N → S

**Figura 8:** Polaridade dos domínios num cristal de ferro não magnetizado. As setas indicam a direção de magnetização.

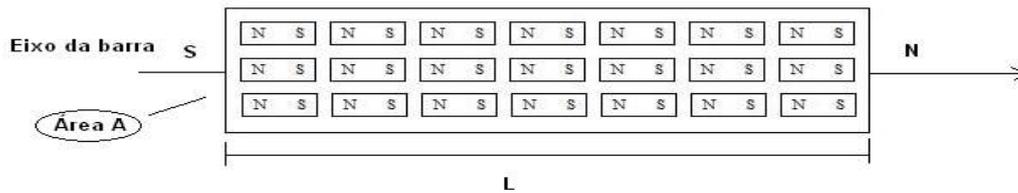
Na Figura 8, entende-se que um **N** isolado representa um domínio com o pólo norte apontado para fora da página, um **S** isolado representa um pólo sul apontado para fora da página. Se aplicarmos um campo magnético paralelo, e se o cristal for colocado neste local, os domínios com polaridade oposta ou perpendicular ao campo tornam-se instáveis e alguns deles podem girar para que tenham o mesmo sentido do campo. Com o aumento adicional do campo, mais domínios se modificam, individualmente, até que todos estejam no mesmo sentido, quando é então atingida a saturação magnética. A Figura 9 ilustra a condição de saturação magnética após um cristal ter sido saturado devido a influência de um campo magnético externo.



**Figura 9:** Condição após o cristal ter sido saturado por um campo magnético dirigido para a direita.

O cristal está sendo magnetizado ao máximo, se a maioria dos domínios mantiverem seus sentidos, depois que o campo aplicado for removido, dizemos que o conjunto está magnetizado permanentemente. Para o cristal voltar ao estado original de desmagnetização basta aplicar sobre este uma fonte de calor ou choques mecânicos. Na verdade, se a temperatura for aumentada suficientemente, os domínios se desmagnetizam e desaparece o ferromagnetismo, é o que chamamos de temperatura de Curie.

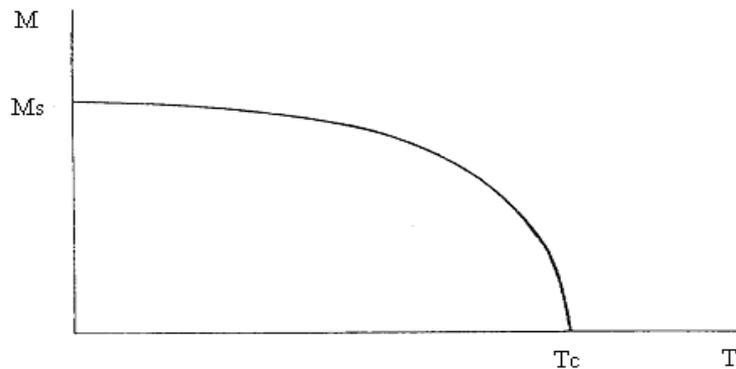
Suponhamos uma barra qualquer de ferro longa e que todos os ímãs atômicos estejam distribuídos uniformemente por toda a barra e que estes estejam orientados na mesma direção. A Figura 10 ilustra a distribuição dos polos magnéticos em uma barra magnetizada [12].



**Figura 10:** Barra magnetizada com dipolos magnéticos elementares.

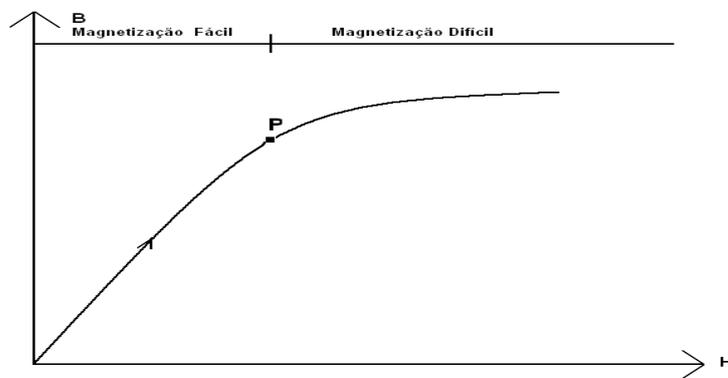
Esta situação apresentada pode ser descrita como uma magnetização uniforme, pois os efeitos dos dipolos magnéticos pode ser convenientemente descrito pelo conceito de magnetização descrito acima.

Na pesquisa básica um dos tópicos fundamentais é a origem do magnetismo tanto em materiais isolantes quanto em metálicos. Isto envolve dois aspectos importantes: a natureza dos momentos magnéticos microscópicos e a natureza das interações existentes entre eles. Os momentos têm a sua origem nas estruturas eletrônica dos átomos ou íons que constituem o material [12]. Considerações da estrutura eletrônica estabelecem o mecanismo de interação entre os momentos magnéticos. Quando a interação é forte o suficiente para se sobrepor à agitação térmica, os momentos magnéticos tendem a ficar alinhados coletivamente resultando numa magnetização. É esta magnetização que determina a resposta macroscópica do material quando esta submetida a campos externos. Por outro lado, se a temperatura é aumentada, a desordem térmica aumenta e a magnetização diminui, tendendo bruscamente a zero numa temperatura e transição  $T_c$ . A Figura 11 [12], apresenta o comportamento típico da magnetização  $\vec{M}$  em função da temperatura  $T$  de um material magnético. 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.



**Figura 11:** Variação da magnetização com a temperatura [12].

A curva de magnetização inicial pode ser dividida em duas seções: (1) a seção íngreme e (2) a seção plana, estando o ponto de divisão fixado  $P$  na parte superior da parte íngreme. A seção íngreme corresponde à condição de fácil magnetização, enquanto a seção plana corresponde à condição de difícil magnetização, a Figura 12 [12] ilustra as regiões de fácil e difícil magnetização da curva de magnetização inicial.



**Figura 12:** Regiões de magnetização fácil e difícil da curva de magnetização inicial [12].

A região de fácil magnetização ou deslocamento reversível permite ao material exposto retornar a condição original se invertermos o campo e o reduzirmos a zero, sendo que neste região, os domínios tornam-se instáveis e giram rapidamente para um outro

sentido de fácil magnetização, na mesma direção do campo ou bem próximo a este. Esta condição corresponde a grosso modo, ao ponto *P* esquematizado acima.

Há também a região de deslocamentos irreversíveis, sendo aquela que depois de ultrapassado o ponto *P* não é mais possível o retorno. Uma vez que o material está magneticamente saturado e invertermos ou reduzirmos o campo a zero não se pode originar a curva inicial. Este aumento de magnetização é mais difícil e podem ser necessários campos intensos para atingir a saturação, ao qual todos os domínios presentes estão paralelos ao campo, isso explica o achatamento da curva de magnetização na parte superior.

Quando uma amostra ferromagnética inicialmente desmagnetizada é submetida a um campo magnético externo com intensidade crescente, sua magnetização, medida na direção do campo, irá aumentar até alcançar um valor de saturação, a partir do qual um aumento no campo externo não produz qualquer variação significativa da magnetização.

Baseado na comprovada hipersensibilidade das células tumorais ao aquecimento, a técnica da hipertermia magnética está relacionado com a dissipação de energia quando um material ferromagnético é submetido a um campo externo variável no tempo. Tem por objetivo a destruição de uma célula viva pela dissolução dos elementos que a compõem dos tecidos tumorais através da hipertermia local, via aplicação remota de um campo magnético alternado sobre monodomínios magnéticos previamente ligados a células cancerígenas. Os efeitos de aquecimento podem ser obtidos sob campos magnéticos alternados através de perdas magnéticas, ou perdas de Néel, ou em dissipação da energia durante a rotação da partícula no líquido, ou perdas de Brown.

Assim, a hipertermia deixou de ser uma simples opção na construção de argumentos concretos no combate as células cancerígenas e se inseriu como uma das promessas de estudo, conciliada as técnicas da quimioterapia ou da radioterapia. Aparece então uma nova estratégia nas ciências biomédicas para o mapeamento do câncer: a elevação da temperatura corporal local da célula danificada com o auxílio de materiais magnéticos biocompatíveis cujas aplicações estão em fase de expansões significativas.

Desde 1860 a técnica da hipertermia tem sido utilizada como uma nova modalidade terapêutica para o tratamento de tumores. Consiste basicamente na elevação da temperatura

corporal, fato este notado que sarcomas regrediam após quadros febris prolongados. O real funcionamento desta técnica ainda é desconhecido, estudos na área mostram que é uma técnica promissora, mas é sabido que quando a temperatura ultrapassa 41° C as enzimas sofrem desnaturação, ou seja, perdem suas funções e as mitocôndrias são comprometidas, as membranas celulares desestabilizam-se e os meios metabólicos que são dependentes do oxigênio são alterados simultaneamente com a taxa de morbidade e mortalidade celular.

Quando realizada em conjunto com a quimioterapia ou radioterapia, a técnica da hipertermia se torna muito útil, já que a maior sensibilidade das células hipóxicas (resistentes a radiação e com grande capacidade de sobreviver longe do suprimento sanguíneo), a termosensibilidade das células tumorais devido ao baixo pH e o fluxo reduzido de sangue nas células tumorais são complementos que auxiliam o processo.

Uma das limitações da técnica consiste na produção de fontes de campo magnético oscilante, sendo feita com radiação eletromagnética de alta frequência de 300 a 2450MHz, baixa frequência de 0,1 a 27 MHz, ultra-som (frequência superior a que o ouvido humano pode perceber) de 0,3 a 3MHz, e lasers (um dispositivo que produz radiação eletromagnética com características muito especiais, ela é monocromática, possui frequência muito bem definida e coerente, possui relações de fase bem definidas, além de ser colimada, propaga-se como um feixe), na região do infravermelho.

### **2.3. Pontos Quânticos e Rodaminas como Marcadores Fotônicos de Tumores**

Os avanços em nanotecnologia levaram ao desenvolvimento de um novo campo de pesquisa, a nanomedicina, que visa estudar a aplicação de nanomateriais para diagnóstico e terapia de algumas condições patológicas. As nanopartículas devido a propriedades como pequena dimensão, flexibilidade, estabilidade mecânica, inércia química, condutividade elétrica e associação com compostos biológicos, são extremamente atrativas para a bioengenharia. Embora pouco se saiba sobre sua ação nos sistemas biológicos *in vivo* é reconhecido mundialmente que a nanopartículas apresentam um vasto potencial de uso na biologia e na medicina tais como carreadores de genes e fármacos, filtros bacterianos ou como marcadores tumorais na terapia e diagnóstico do câncer.

Por definição, marcadores são substâncias que emitem um sinal físico de intensidade proporcional a sua quantidade. Dentre as classes de marcadores existentes nosso principal interesse está voltado para os pontos quânticos e substâncias fluorescentes, principalmente moléculas orgânicas como as rodaminas.

Os pontos quânticos (semicondutores - ZnS) surgiram nas três últimas décadas como um mecanismo de suporte a biotecnologia por causa de seu potencial para apoiar o desenvolvimento de novos dispositivos eletrônicos e ópticos. Tais semicondutores possuem como base de aplicação a luminescência, propriedades características dos elementos do grupo II e do grupo VI (por exemplo, ZnS, CdS, CdSe) e tem despertado interesses de cientistas e engenheiros devido as suas propriedades eletroópticas. Os pontos quânticos (PQ's) contêm algumas centenas de átomos e emite apenas um comprimento de onda da luz quando está excitado. A cor emitida é determinada pelo tamanho das nanopartículas.

A Figura 13 ilustra um diagrama de níveis de energia onde são apresentados o mecanismo de luminescência de nanopartículas de ZnS.

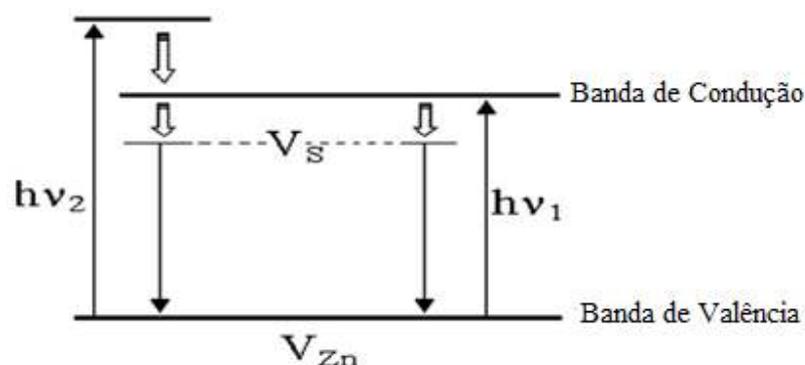


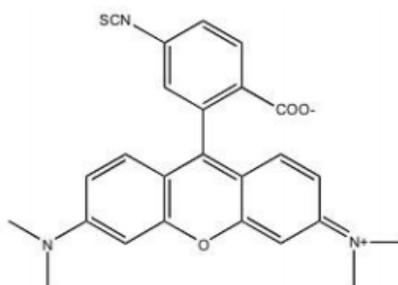
Figura 13: Mecanismo de luminescência da nanopartículas de ZnS [1].

A banda de valência consiste basicamente de orbitais de átomos de enxofre e zinco hibridizados *s-p*, enquanto que a banda de condução é principalmente a estados *s-p* de ZnS. É sabido que as características de luminescência das impurezas de ZnS são dependentes do tamanho dos nanocristais, bem como da composição química do agente de doping. Neste sentido, quando o sulfeto de zinco é ativado com cobre dopado, uma emissão de luz verde ( $\lambda = 520 \text{ nm}$ ) é induzida, fato este que prova a conveniência em usar o ZnS:Cu.

A desvantagem na preparação de nanocristais de ZnS:Cu é a sua má distribuição no tamanho das nanopartículas, a agregação de nanocristais e o tratamento térmico ou de alta pressão nas condições de síntese, o que torna o processo de elaboração mais complexo. Uma rota promissora para a produção de nanocristais de ZnS:Cu pode ser a utilização de precursores poliméricos para inibir a formação de aglomerados e uma melhor homogeneidade na composição do pó de ZnS.

As nanoesferas de ZnS foram sintetizadas no intuito de avaliar sua atuação no tecido lesionado e o estudo de possíveis formas de tratamento do local. Os avanços obtidos em nosso trabalho têm mostrado que esses semicondutores (pontos quânticos) podem ser covalentemente ligados a moléculas de peptídeos, anticorpos, ácidos nucleicos ou pequenas moléculas ligantes a serem utilizadas como marcadores biológicos. Em uma análise aprofundada, afirmamos que os PQ's de alta qualidade também podem ser usados para a codificação ótica e aplicações diversas devido a seus perfis de espectros de emissão simétrica.

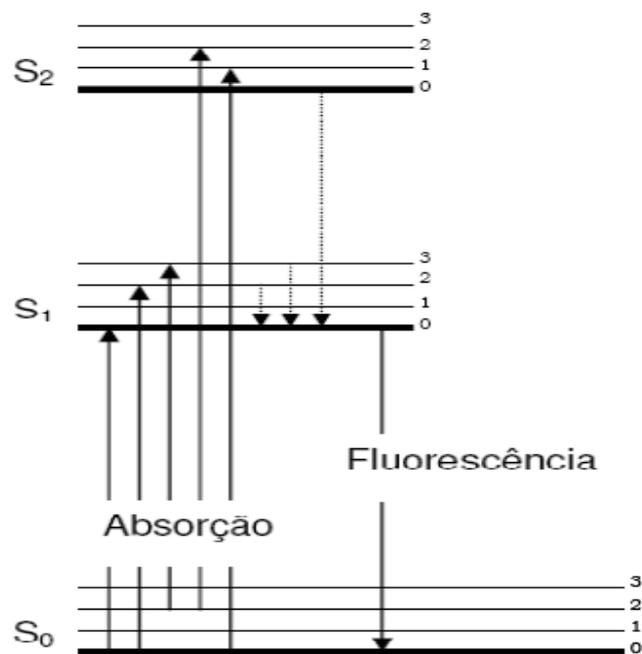
Quanto aos marcadores fluorescentes orgânicos, os compostos mais populares são derivados das rodaminas, a exemplo do isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC), conforme Figura 14 abaixo:



**Figura 14:** Isotiocianato de tetrametilrodamina (TRITC).

A incorporação do composto TRITC nas nanoesferas magnéticas poderá permitir o mapeamento destes materiais na região tumoral, devido ao seu alto rendimento quântico de emissão.

Na absorção de radiação eletromagnética (UV-Visível), as moléculas são elevadas a um estado eletrônico excitado ( $S_1$  ou  $S_2$ ). A maioria das moléculas dissipa este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Mas algumas emitem parte deste excesso energético como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. Quando a luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental ( $S_0$ ) é proveniente de uma transição entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade ( $S_1$  para  $S_0$ ), ou seja, permitidas pela regra da conservação do spin, tem se o fenômeno da fluorescência. As etapas que levam a fluorescência podem ser entendidas pelo diagrama de Jablonski [13] conforme é ilustrado na Figura 15.



**Figura 15:** Diagrama de Jablonski. Os estados eletrônicos fundamental, primeiro e segundo estados excitados são representados por  $S_0$ ,  $S_1$  e  $S_2$ , respectivamente [14].

Durante o tempo de vida do estado excitado, porém, uma variedade de interações químicas e físicas pode ocorrer antes da emissão, alterando as características espectrais do composto fluorescente. São estas alterações que têm distinguido a fluorescência dentre as técnicas ópticas de investigação de microambientes, de estudo das interações intermoleculares em fase líquida e para determinação experimental da polaridade de solventes [14].

O solvente pode ter interações diferentes com o soluto no estado fundamental ( $S_0$ ) e nos estados excitados ( $S'_1$  e  $S_1$ ). Isso porque o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletrônico excitado (cerca de  $10^{-15}$  s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de  $10^{-12}$  a  $10^{-10}$  s) – princípio de Franck-Condon.

Como as moléculas do solvente não têm tempo suficiente para se reorganizarem durante a transição, à absorção ocorre em um ambiente característico do soluto solvatado no estado fundamental ( $S^0$ ). Antes da emissão de fluorescência ocorrer, porém, se o tempo de vida da molécula excitada do soluto é grande o bastante, as moléculas do solvente se reorganizam e este novo ambiente ( $S^l$ ) é preservado na transição radioativa ( $S^l$  para  $S'^0$ ). Por analogia, após a emissão, existe um estado fundamental de Franck-Condon ( $S'^0$ ) que persiste brevemente até as moléculas do solvente voltar a se reorganizar ao estado fundamental original ( $S^0$ ). É a solvatação diferencial o fator responsável pela influência do solvente, bem como, de agregados micelares sobre o espectro de emissão de fluorescência das nanoesferas [14].

#### **2.4 - Polímeros Epoxídicos DGEBA como Sistemas Transportadores de Partículas Magnéticas**

As resinas epoxídicas constituem uma das mais importantes classes de polímeros termorrígidos utilizados como matrizes em compósitos e recobrimentos. Estes materiais apresentam dureza, resistência química, baixa contração, assim como excelente adesão, como resultado da natureza estrutural dos monômeros que formam a rede tridimensional. Estes materiais apresentam grandes potencialidades para serem utilizados em aplicações

biomédicas, possuindo biocompatibilidade adequada com o tecido exposto, estabilidade dimensional e propriedades mecânicas adequadas.

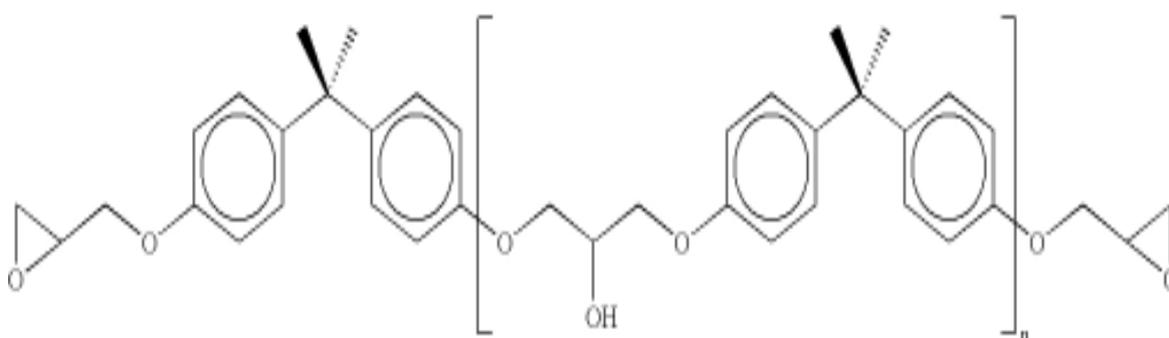
Alguns polímeros formulados com resina do tipo éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA) tem sido utilizados para preparar compósitos reforçados para aplicações nas áreas biomédicas, sendo também um sistema útil em nosso trabalho na rede oncológica. Entretanto, numerosos estudos relacionados às propriedades de biocompatibilidade de diferentes monômeros epoxídicos e alguns poucos polímeros têm sido divulgados na literatura. Contudo, trabalhos não envolvem estudos relacionados com polímeros epoxídicos formulados utilizando co-monômeros do tipo poliaminas alifáticas e sua interação com o sangue [15].

Está bem estabelecido na literatura que o desempenho de uma prótese polimérica é prejudicado pela coagulação sanguínea, provocada pelo contato do sangue com a superfície do material implantado. O controle da coagulação sanguínea e de inflamações induzidas pela superfície do polímero pode ser controlado localmente [15].

O objetivo deste foi avaliar os danos celulares não específicos (citotoxicidade) de nanoesferas magnéticas usando a resina líquida do tipo éter diglicidílico do bisfenol-A com o agente de cura DETA. Para isso, foram utilizadas culturas de células de mamíferos (ovário de hamster chinês – CHO) e ensaios de biocompatibilidade com o sangue. O trabalho visa o desenvolvimento de novos materiais à base de sistema epoxídico para ser utilizados na preparação de magnetonanoesferas.

Estas resinas epoxídicas são amplamente utilizadas no comércio devido à diversidade de propriedades que podem apresentar em virtude da seleção adequada dos reagentes e processos de cura. Dentre as características mais interessantes estão: inércia química e biológica, boas propriedades adesivas e elétricas bem como estabilidade estrutural e baixa permeabilidade [16]. As propriedades desejáveis destas resinas normalmente aparecem após a cura, sendo que estas podem modificar-se por consequência do transporte, armazenamento e utilização destes materiais. As etapas de cura transformam os reagentes epoxídicos de baixa massa molar em um material altamente reticulado com estrutura tridimensional, a qual envolve segmentos da resina e do agente de cura (ou

endurecedor). Uma das aplicações industriais do diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA) curado é no processo de encapsulação, um método que visa, principalmente, manter altos níveis de isolamento elétrico entre condutores, conexões, componentes e outras partes elétricas bem como estabilidade estrutural. A Figura 16 ilustra a estrutura molecular do polímero DGEBA utilizado nesse trabalho.



**Figura 16:** Estrutura química do reagente DGEBA [1].

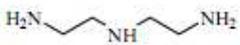
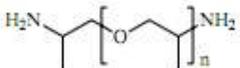
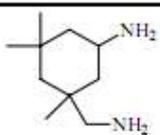
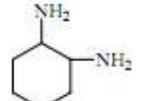
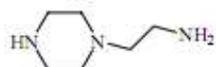
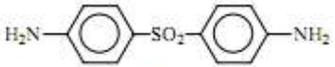
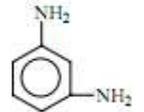
A Figura 15 ilustra um polímero epóxi antes de ser reticulado podendo, dependendo do valor de  $n$ , ser líquida a até sólida sendo que a viscosidade aumenta conforme aumenta  $n$ . Com  $n \leq 1$  o polímero será líquido e  $n > 1$  o polímero será semi-sólido sólido. Os polímeros epoxídicos podem ser classificados através do EEW (*equivalent epoxy weight*) ou seu peso equivalente em epóxi. Os polímeros líquidos possuem EEW até 229, os semi-sólidos de 230 a 459 e as sólidas acima de 460 podendo chegar a até 5000. O EEW é utilizado para cálculo estequiométrico de proporção entre resina e endurecedor (agente de reticulação). O cálculo do EEW é simplesmente o peso molecular do polímero dividido pelo número de anéis epoxídicos.

Os polímeros epoxídicos podem sofrer reticulação com vários agentes de cura, também chamados de endurecedores, inclusive com ácidos de Lewis. Os principais agentes

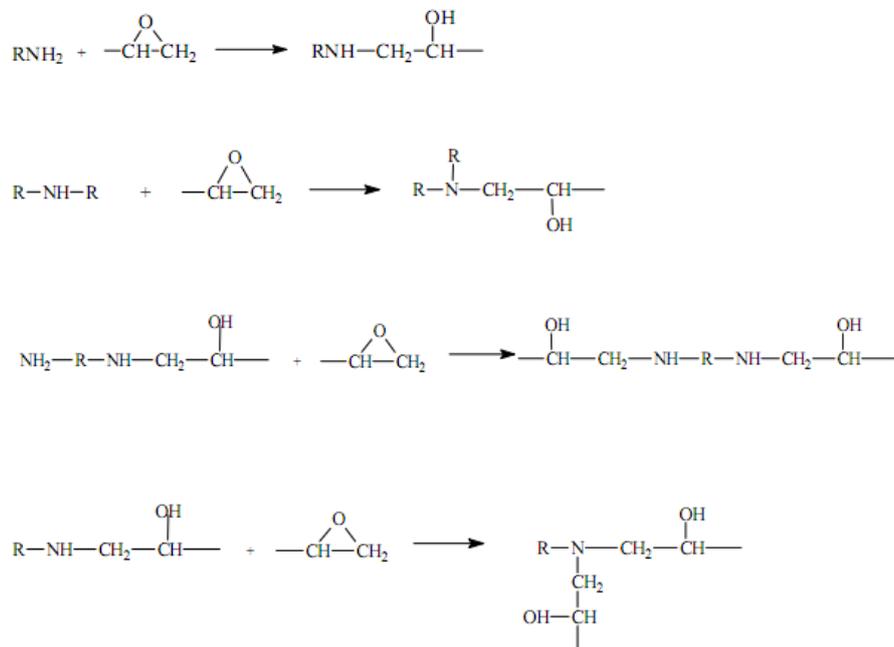
de reticulação são aminas alifáticas; aminas ciclo alifáticas e aminas aromáticas; entre outras.

Os grupamentos químicos amina primária ( $\text{-NH}_2$ ) dos endurecedores são capazes de reagir com dois grupos epoxídicos, uma vez que apresenta dois átomos de hidrogênio ativos ligados ao nitrogênio. Por outro lado, a reatividade dos átomos de hidrogênio, nas formas de amina primária ( $\text{-NH}_2$ ) e amina secundária ( $\text{-NH-}$ ), tendem a ser diferentes. Portanto, os átomos de hidrogênio dos grupos amino participam sucessivamente da reação de adição entre o grupo epoxídico e o grupo amina [17]. A Tabela 2 resume algumas das estruturas de aminas utilizadas na obtenção de polímeros epoxídicos DGEBA reticulados.

**Tabela 2:** Algumas aminas utilizadas na reticulação de polímeros epoxídicos do tipo DGEBA.

<b>Estrutura</b>	<b>Nome</b>
<b>Alifáticas</b>	
	dietilenotriamina (DETA)
	trietilenotetramina (TETA)
	poli(oxipropilendiamina)
<b>Ciclo alifáticas</b>	
	isoforonadiazina (IPDA)
	1,2-diaminociclohexano (DAC)
	N, aminoetilpiperazina (AEP)
<b>Aromáticas</b>	
	4,4'-diaminodifenilmetano (DDM)
	4,4' diaminodifenilsulfono (DDS)
	m-fenilenodiamina

O mecanismo de reação do sistema entre o grupo epóxi de um polímero epoxídico do tipo éter diglicídico de bisfenol A (DGEBA) e diaminas tem sido extensivamente estudado por diferentes grupos de pesquisadores sendo o mecanismo reacional bem conhecido na literatura [18-19]. O Esquema 1 ilustra os mecanismos de reação.



**Esquema 1:** Mecanismo da reação de cura de um polímero epoxídico por uma amina.

A reação de cura pode ser caracterizada pela gelificação e a vitrificação. Enquanto, por um lado, a gelificação ocorre quando o grau de reticulação alcança um determinado valor, dependendo da funcionalidade, da estequiometria e da reatividade entre os grupos funcionais, por outro lado a vitrificação ocorre quando a temperatura de cura é inferior à temperatura vítrea  $T_g$  máxima do sistema totalmente curado. Ou seja, durante a cura isotérmica, à medida que aumenta a temperatura de reticulação, aumenta a  $T_g$  até igualar-se à temperatura de cura, e a partir deste instante a  $T_g$  aumenta lentamente já que o composto se encontra em estado vítreo [20-21].

## 2.5 Referências Bibliográficas

- [1] QUEIROZ, A. A. A. *et al* , alginate-poly(vinyl alcohol) core-shell microspheres for lipase immobilization. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 102, n. 2, p. 1553-1560, 2006.
- [2] SOCIEDADE BRASILEIRA DE FÍSICA. São Paulo. *A Física no Brasil na Próxima Década*, Física da matéria Condensada, v. 2, Instituto de Física, USP, 1990.
- [3] HIERGEIST, R. *et al*. Application of magnetite ferrofluids for hyperthermia. *J. Magn. Mater.*, v. 201, p. 420-422, 1999.
- [4] OVERGAARD, J.; The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy. *Intern J Rad Onc Biol Phys* 1989; 6: 535-49.
- [5] TARTAJ, P.; MORALES M.P., The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. Veintemillas-Verdaguer S, Gonzales-Carreño T, Serna JC. *J Phys D: Appl Phys* 2003; 36: R182-7.
- [6] SUN S.Z.; SIZE, H.; Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *J Am Chem Soc* 2002; 124: 8204-5.
- [7] KRAUSS J.D., *Eletromagnetismo*, Editora Guanabara S.A., Rio de Janeiro, RJ, 1978.
- [8] CULLITY, B.D. *Introduction to Magnetic Materials*, Addison – Wesley Publishing Company, Philipines, 1972.
- [9] LANDGRAF F.J.G. *et al*, *Propriedades Magnéticas de Aços Elétricos de Grão Não-Orientado*, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo –SP- Brasil, dezembro de 2004.

- [10] NOVAK, M.A., Introdução ao Magnetismo, IF – UFRJ; 1978.
- [11] BRIAN, R.M. e COHEN, R.S., Hans Christian Orsted and the Romantic Legacy in Science, Boston Studies in the Philosophy of Science, Boston, 2007, v. 241.
- [12] KITTEL, C. Introdução a Física do Estado Sólido, Rio de Janeiro, Guanabara Dios, 1978;
- [13] RODRIGUEZ, G.J.Bracho, O Porque de Estudarmos os Materiais Magnéticos, Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Revista Brasileira do Ensino de Física, vol. 20, número 04,1998.
- [14] SILVA, Marcos André do Rego. Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- [15] GARCIA, F.G., et al, Novas Tendências dos Polímeros Epoxídicos. Propriedades Biológicas In Vitro de Formulações para Aplicações Médicas. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, vol. 19, número 3, p.177-182, 2009.
- [16] MAY, C.A. — Epoxy Resins: Chemistry and Technology, Marcel Dekker Inc., New York 1988.
- [17] Quintela L. A.; Prendes P.; Pellin P.M.; Paz M.; Abuin P.S. Cis/trans reactivity: Epoxy-amine systems. Macromolecules, v. 31, p. 4470-4776, 1998.
- [18] GARCIA, F. G.; GALEGO F. N., Estúdio de la reacción de curado del sistema éter diglicidílico del bisfenol-A (DGEBA) y la dietilentriamina (DETA) por calorimetria diferencial de barrido. Ciências e Tecnologia, v.10, p.218-223, 2000.

[19] YI, H., DSC and DEA studies of underfill curing kinetics, *Thermochimica Acta*, v. 367-368 p 101 – 106, 2001.

[20] GARCIA, F. G.; GALEGO F. N., Estudio de la reacción de curado del sistema éter diglicidílico del bisfenol-A (DGEBA) y la dietilentriamina (DETA) por calorimetría diferencial de barrido. *Ciências e Tecnologia*, v.10, p.218-223 (2000).

[21]. DENQ, B. -L; HU, Y. -S; CHEN, L. -W; CHIU, W. -Y.; WU, T. -R., The curing Reaction and physical properties of DGEBA/DETA epoxy resin blended with propyl ester phosphazene. *Journal of Applied Polymer Science*, v.74, p.229-237 (1999).

## **OBJETIVOS DO TRABALHO**

Este trabalho tem como objetivo geral a síntese e a caracterização de nanoesferas com propriedades magneto-óticamente ativas e o estudo de suas potencialidades para aplicações na medicina, em particular no tratamento e diagnóstico do câncer.

O desenvolvimento do trabalho envolve os seguintes objetivos específicos:

- Síntese da cerâmica YFeAl com estequiometria controlada.
- Preparo do ponto quântico de ZnS utilizando o método poliol.
- Encapsulamento das partículas de YFeAl, ZnS e RhB com a resina epoxídica do éter diglicídico do Bisfenol A (DGEBA) utilizando técnicas de polimerização em fase heterogênea.
- Caracterização da cerâmica de YFeAl quanto à sua fase cristalina através da difração de raios X.
- Caracterização das nanopartículas de ZnS utilizando a espectroscopia de fluorescência.
- Caracterização das nanopartículas de YFeAl, ZnS e das nanoesferas obtidas quanto à distribuição de tamanhos utilizando a microscopia eletrônica de varredura e de transmissão.
- Análise da biocompatibilidade das nanoesferas DGEBA/YFeAl, DGEBA/ZnS, DGEBA/YFeAl/ZnS, DGEBA/Rh e DGEBA/YFeAl/Rh.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

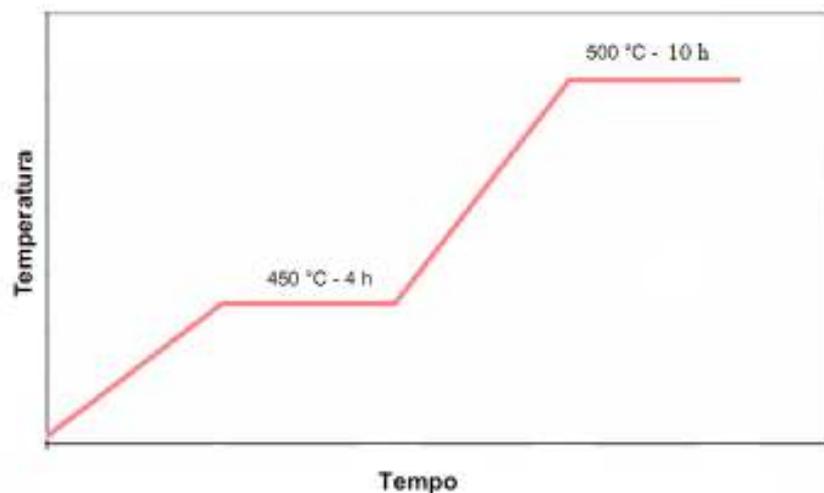
### **4.1. Síntese e Caracterização de Nanopartículas de YFeAl**

Cerâmicas com diferentes concentrações molares de seus componentes (YFeAl) foram obtidas pelo método via úmida em reator de três bocas equipado com condensador de refluxo (Figura 1) a partir de soluções precursoras dos cloretos de ferro ( $\text{FeCl}_2$ ), ítrio ( $\text{YCl}_3$ ) e alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ). Alumínio, ferro e ítrio foram precipitados em condições otimizadas para a obtenção de pós precursores da cerâmica à base YFeAl. A solução precursora foi gotejada em solução de hidróxido de amônio contendo um agente tensoativo (tween 80), num volume previamente calculado obedecendo à relação otimizada de  $[\text{OH}^-]/[\text{Cl}^-]$  igual a 4,4. A solução amoniacal foi vigorosamente agitada (2.000 rpm) durante todo o processo de precipitação. O coprecipitado obtido (hidróxidos de ítrio, ferro e alumínio) foi separado por filtração a vácuo, lavado com água destilada para eliminação de íons cloreto até que o teste com cloreto de prata não indicasse mais a presença do íon cloreto. Após a lavagem com água destilada e deionizada, o precipitado foi lavado com álcool etílico, separado por filtração a vácuo, seco em estufa e calcinado em forno tubular com aquecimento resistivo e atmosfera inerte ( $\text{N}_2$ ) a 500 °C. A Figura 2 ilustra o ciclo de temperatura utilizado na calcinação dos pós de YFeAl obtidos.



**Figura 1:** Ilustração do tipo de reator e forno tubular utilizados na síntese das nanopartículas de YFeAl.

A Figura 2 ilustra os pós produzidos e que foram caracterizados quanto ao tamanho, distribuição granulométrica por difração a laser e a cristalinidade determinada por DRX.



**Figura 2:** Ciclo de temperatura utilizado na calcinação dos pós de YFeAl.

O primeiro tratamento, a 450°C, foi efetuado para pirólise dos compostos orgânicos presentes no pós de YFeAl (Tween 80), daí o motivo de ter-se utilizado uma baixa velocidade aquecimento (1°C/min). O segundo tratamento, a 500°C, objetivou o término da pirólise e a cristalização do YFeAl, por esta razão, a velocidade de aquecimento foi maior (5°C/min). O pó resultante foi desaglomerado com pistilo e almofariz de ágata.

O pó cerâmico de YFeAl foi caracterizado por difratometria de raios X e microscopia eletrônica de transmissão. O difratômetro utilizado neste trabalho foi o Shimadzu modelo XRD 6000. As análises foram realizadas com radiação monocromática de Cu-K $\alpha$  (1.5406 Å) numa tensão de 40 kV e 40 mA, varredura sincronizada com o passo de 0,05° no intervalo 2 $\theta$  de 20 a 80° e exposição de 5 min com 1° e 0,3° para a fenda incidente, divergente e programável, respectivamente. As amostras na forma de pó foram depositadas em um substrato de vidro. A Figura 3 ilustra o goniômetro utilizado.



**Figura 3:** Goniômetro utilizado na caracterização da estrutura cristalina dos pós cerâmicos de YFeAl.

As imagens de microscopia de Microscopia Eletrônica de Transmissão de alta resolução (HRTEM) foram obtidas utilizando um microscópio Philips CM200, operando a 200kV (Figura 4). As amostras foram colocadas na forma de pós e dispersas em água deionizada pelo processo ultrasônico. As amostras foram preparadas pela deposição de 10  $\mu$ L da suspensão sobre telas de cobre com filme de carbono amorfo previamente preparadas para a uma grade de cobre coberta com carbono. O excesso de líquido foi secado ao ar antes da obtenção da imagem.



**Figura 4:** Microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução Phillips CM200, utilizado nesse trabalho.

#### **4.2. Síntese e Caracterização de Nanocristais de ZnS**

Para a síntese de nanopartículas de ZnS, uma mistura estequiométrica de Zn metálico de tamanho micrométrico (Aldrich) e enxofre em pó (S) na proporção 2:1 foram introduzidos em um reator de aço inoxidável a temperatura de 25 °C. O reator foi purgado com N<sub>2</sub> por 1 hora e em seguida a temperatura foi elevada a 700 °C na velocidade de aquecimento de 20 °C.min<sup>-1</sup>. A temperatura de 700 °C foi mantida por 1 h e em seguida o sistema foi resfriado até a temperatura ambiente na velocidade de resfriamento de 5 °C.min<sup>-1</sup>. O rendimento da reação foi de aproximadamente 90% quanto à obtenção de ZnS. A Figura 5 ilustra o modelo de reator utilizado na síntese das nanopartículas de ZnS.



**Figura 5:** Ilustração do modelo de reator utilizado na síntese de nanopartículas de ZnS.

As nanopartículas de ZnS foram caracterizadas por difratometria de raios X (difratômetro Shimadzu modelo XRD 6000) e microscopia eletrônica de transmissão (microscópio Philips CM200) de acordo com as metodologias já citadas anteriormente.

#### **4.3. Encapsulamento das Nanopartículas de YFeAl -ZnS e YFeAl-Rh com DGEBA**

As microesferas de DGEBA contendo as partículas ferromagnéticas de YFeAl, os pontos quânticos de ZnS e o marcador fluorescente rodamina (Rh) foram obtidas pela técnica de micelas reversas, iniciada a partir da reação entre o grupo epoxídico do DGEBA e um agente iniciador, dietilenotetramina (DETA) também denominado de agente reticulante.

As micelas reversas foram preparadas por adição de quantidade de tampão fosfato pH 7,0 (PBS, 0,05 mol.L<sup>-1</sup>) contendo DETA (1,0 mol.L<sup>-1</sup>). A quantidade de PBS foi o suficiente para atingir o teor de água desejado dentro da micela, expresso pelo parâmetro  $W_o$  ( $W_o=[H_2O]/[AOT]$ ), nesse trabalho  $W_o$  é igual a 10. Em seguida foi adicionado 5 mL de uma solução de bis 2 etil, hexil sulfosuccinato de sódio, 0,1 mol.L<sup>-1</sup> em hexano (AOT) (9:1 v/v), agitando-se em vórtex até que a solução estivesse translúcida. Foi adicionado em seguida à solução micelar as nanopartículas de YFeAl (3,0g) e/ou ZnS (0,1 g). A solução foi mantida sob agitação constante a 1500 rpm para incorporação das nanopartículas na solução micelar.

Uma segunda fase orgânica foi preparada pela mistura de DGEBA (0,085 mol de grupos epoxídicos), polietileno glicol de massa molar 400 g.mol<sup>-1</sup> (0,05 mol, PEG 400) e 1,5.10<sup>-3</sup> mol de N,N-dimetilbenzilamina (DMBA). A razão DGEBA/PEG foi escolhida para garantir um leve excesso de grupos hidroxílicos do PEG (0,10 mol de <sup>-</sup>OH) em relação ao número de grupos epoxídicos (0,085 mol).

As reações de encapsulamento foram conduzidas em reator de vidro, de 500mL de capacidade (Figura 6), provido de refluxo empregando-se a polimerização em batelada. A fase orgânica contendo DGEBA e as nanopartículas foi gotejada na velocidade de 1 mL.min<sup>-1</sup> sob agitação de 1500 rpm. Após esse tempo, a mistura reacional, sob agitação de 800 rpm, foi aquecida a 50°C por 24 horas. Ao término da reação, as microesferas foram lavadas exaustivamente com água destilada e, com etanol para obtenção de nanoesferas livres de impurezas. Em seguida, as nanoesferas foram secas em estufa sob vácuo a 50 °C por 72 horas.

As nanoesferas foram caracterizadas quanto ao diâmetro médio de partículas, distribuição de tamanhos de partículas em um equipamento Malvern Nano ZS (Figura 6) com leitor a laser He-Ne de 632.8 nm operando com um ângulo de 90° e temperatura ambiente (25 °C). As amostras foram diluídas 500 vezes em água purificada por osmose reversa (sistema Milli-Q<sup>®</sup>). As medidas foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C). A aparelhagem consistiu em uma fonte de luz (laser He-Ne com  $\lambda$  de 632,8 nm). As medidas foram obtidas pela observação do espalhamento de luz no ângulo fixo de 90°. equipamento

é capaz de medir tamanhos que variam de 0,6 nm a 6  $\mu\text{m}$  e é acoplado a um software, que permite calcular o diâmetro médio das partículas, o gráfico de distribuição de tamanho e o índice de polidispersão.



**Figura 6:** Ilustração do equipamento Malvern nano ZS para determinação do diâmetro das nanopartículas DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh.

A morfologia das nanoesferas foi estudada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV, Shimadzu SS550) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

#### **4.4. Determinação do Potencial Zeta das Nanoesferas Obtidas**

O potencial zeta foi determinado a partir da mobilidade eletroforética por Anemometria Laser Doppler num campo elétrico de 150 V/cm. As medidas foram realizadas em um equipamento Nanosizer/Zetasizer<sup>®</sup> Nano-ZS Modelo ZEN 3600 (Malvern Instruments - USA) utilizando a teoria de O'Brien e White [1]. Para a determinação do potencial zeta, as microesferas foram suspensas em uma solução tampão fosfato-salina (PBS-NaCl), 1 mm, pH 7.4 e as medidas analisadas em triplicata.

Também, utilizamos a Anemometria Laser Doppler para determinar a velocidade de fluxo de escoamento das nanoesferas num fluido. A observação das partículas em suspensão num fluido transforma o problema de medição de velocidade de um fluido em um problema de medição de velocidade de um corpo sólido. Todos os métodos existentes utilizam a não homogeneidade que a partícula introduz no meio fluido. Esta perturbação pode ser percebida através de meios apropriados. O anemômetro a raio laser, com uma montagem óptica adequada, cria um sistema de franjas de interferências capaz de perceber o deslocamento das partículas sólidas. As partículas que atravessam estas franjas luminosas emitem uma onda de difusão modulada em amplitude. O período desta modulação permite a determinação da velocidade.

O efeito Doppler é um fenômeno que se traduz, em óptica por uma mudança de frequência da onda difundida por uma partícula em movimento. Esta mudança é proporcional a velocidade da partícula. Em valor relativo ela é bem pequena, mas pode ser medida através da comparação do raio difundido pela partícula com o raio inicial. A medição de frequência Doppler conduz assim ao valor da velocidade.

#### **4.5. Ensaio da Biocompatibilidade**

##### **4.5.1. Ensaio de Citotoxicidade com Células de Mamíferos**

O ensaio de citotoxicidade foi efetuado no Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) sob a coordenação da Dra Olga Zazuco Higa. O extrato do biomaterial foi preparado de acordo com a ISSO 10993-5, que preconiza uma razão entre a área da superfície e o volume do veículo de extração no intervalo de 0,5 a 6,0  $\text{cm}^2/\text{mL}$ . Amostras de 4  $\text{cm}^2$  foram esterilizadas por autoclavagem a 120° C por 20 min e então 4 mL de RPMI 1640 foram adicionados e incubados a 37°C por 48h. O extrato obtido foi empregado no teste de citotoxicidade com uma cultura de células de ovário hêmster chinês (CHO K1).

As células CHO foram cultivadas em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico (penicilina/estreptomicina). Uma microplaca de cultura celular com 96 poços foi preparada com diluições crescentes (100, 50, 25, 12,5 e 6,25%) do extrato do biomaterial (50 uL/poço, 4 poços/cada diluição). Em seguida, 50 uL da suspensão celular (3000 células) foram dispensadas nos poços. Colunas de controle de quatro poços foram preparadas com o meio sem células (branco) e meio mais células (controle negativo). A microplaca foi incubada sob atmosfera úmida de 5% de CO<sub>2</sub>. Após 72h, 20 uL de uma mistura (20:1) de 0,2% de MTS e 0,09% de PMS em PBS (solução tamponada de fosfato) foi adicionada aos poços e deixada por 2h. A incorporação do corante foi medida pela leitura de absorvância a 490 nm em leitor de microplacas contra a coluna do branco. O índice de citotoxicidade (IC50%) foi estimado por interpolação, como a concentração do extrato que resulta em 50% de inibição da absorção de MTS, após a construção de um gráfico com a média de porcentagem de células vivas contra a concentração do extrato (%). Paralelamente ao ensaio, uma solução de fenol 0,3% e o polímero PEAD foram usados, respectivamente, como controles positivos e negativos.

#### **4.5.2. Teste de Hemocompatibilidade pela Atividade Hemolítica**

A atividade hemolítica das nanopartículas DGEBA/YFeAl, DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh foi testada contra eritrócitos humanos. O sangue foi coletado na presença de tampão citrato (150 mM; pH 7,4) foi centrifugado por 15 min a 700xg, lavado três vezes e ressuspendido em PBS (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,76 mM; pH 7,4). Uma suspensão das nanoesferas de 100 µL foi testada em triplicata. Após incubação da suspensão de nanopartículas a 37 °C com uma solução a 4% (v/v) de eritrócitos em PBS o sistema foi centrifugado por 5 min a 700 xg, alíquotas do sobrenadante foram usadas para a medida da absorvância a um comprimento de onda de 414 nm em um espectrofotômetro Cary 50 (Varian). As medidas de absorvância do sobrenadante para 0 e 100% de hemólise foram obtidas com 100 µL da solução de hemácias a 4% em PBS e Triton X-100 a 01,% (v/v) respectivamente. O percentual (%) de hemólise foi calculado de acordo com a expressão:

$$\%Hemólise = \frac{Abs_{414nm\ Suspens\ãocomNanop\articulas} - Abs_{414nmemPBS}}{Abs_{414emTriton0,1\%} - Abs_{414nmemPBS}} \times 100 \quad (1)$$

Utilizou-se o comprimento de onda de 414 nm uma vez que esse valor representa o máximo de absorvância da solução após o rompimento dos eritrócitos em Triton 0,1%, sendo similar, portanto; ao máximo de absorção da cadeia oxigenada da hemoglobina em solução segundo dados da literatura [4].

#### 4.5.3. Adsorção Protéica

Neste trabalho foram selecionadas duas proteínas, albumina humana (HSA) e fibrinogênio humano (HFb). A albumina humana resulta uma proteína predominante no sangue, excedendo em abundância com o resto das proteínas do plasma [5]. Soluções de 10 mg.mL<sup>-1</sup> de HSA (Aldrich 99% de pureza) e 1 mg.mL<sup>-1</sup> de HFb (Aldrich 99% de pureza) foram preparadas separadamente em solução aquosa a pH 7,2 e força iônica de 0,01 M (PBS). As amostras das nanoesferas foram colocadas em tubos de Teflon<sup>®</sup> com um volume de solução (PBS) de 6 mL durante 2 horas a 37 °C. A quantidade de proteína adsorvida foi determinada espectroscopicamente usando um espectrofotômetro UV/VIS (Cary 50, Varian) pela diferença entre a concentração de HSA e HFb antes e depois do contato com os polímeros. A concentração protéica foi avaliada de acordo com o método de Bradford [5]. O método de Bradford é uma técnica para a determinação de proteínas totais que utiliza o corante de “Coomassie brilliant blue” G-250. Este método é baseado na interação entre o corante e macromoléculas de proteínas que contém aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. A interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante G-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm.

#### **4.6 Referências Bibliográficas**

[1] LAKOWICZ, Joseph R. Principles of fluorescence spectroscopy. New York: Plenum, 1983. 496p.

[2] INTERNATIONAL STANDARD. Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods 1992. (ISO 10 993-5).

[3] INTERNATIONAL STANDARD. Biological Evaluation of Medical Devices - Part 4: Selection of tests for interactions with blood. 1992. (ISO 10 993-4).

[4] SUGITA, Y. Differences in spectra of alpha and beta chains of hemoglobin between isolated state and in tetramer. Journal of Biological Chemistry, Vol. 250 (4): 1251-1256, 1975.

[5] BRADFORD, M. M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochem., 72, p.248-254, 1976.

## FUNDAMENTOS DAS TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

### 5.1 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura é um tipo de microscópio eletrônico capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície de uma amostra. Devido a maneira com que as imagens são criadas, imagens do MEV tem uma aparência tridimensional característica e são úteis para avaliar a estrutura superficial de uma dada amostra. A Figura 1 é um MEV.



**Figura 1:** Microscópio Eletrônico de Varredura – com a câmara de amostras aberta.

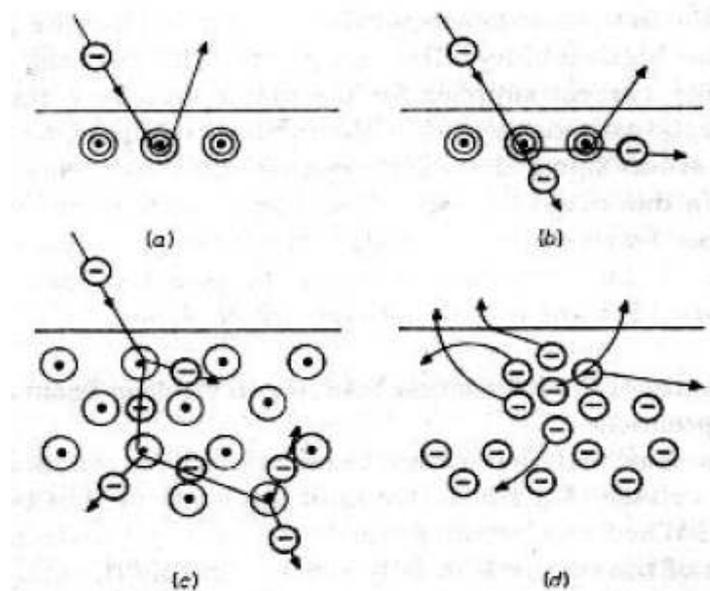
O MEV é composto por uma coluna eletro-óptica, junto com a eletrônica associada, por um sistema de vácuo incluindo a câmara e o porta amostra. O princípio básico consiste na detecção do sinal e sistemas de exibição. Assim sendo, a coluna eletro-óptica consiste em um acelerador de elétrons associado a duas, três ou quatro lentes eletrônicas, que varia conforme o modelo. O mecanismo consiste num fluxo de elétrons da fonte emissora que flui pelas aberturas das lentes que possui como função, diminuir o diâmetro do feixe de elétrons. Junto às lentes estão dois conjuntos de bobinas magnéticas de varredura, que

quando alimentadas por um gerador de varredura adequado, provoca uma deflexão do feixe de elétrons em cima da superfície da amostra em questão (no nosso caso, nas nanoesferas) análogo a um tubo de televisão. Na coluna de elétrons, ainda são inclusos três outros elementos: (i) um conjunto de aberturas para ajudar definir a abertura angular subtendida como o feixe sobre a amostra e evitar contaminação das superfícies das lentes; (ii) um conjunto de bobinas especialmente projetado para eliminar qualquer pequeno astigmatismo que pode ser introduzido no sistema; (iii) um conjunto de bobinas em semi-ciclo ou placas, com os quais uma modulação pode ser sobreposta no feixe de elétrons.

O vácuo necessário tanto na coluna de elétrons quanto na câmara da amostra, é proporcionado por um sistema de bombas. Um ponto importante da câmara da amostra é que esta move a amostra debaixo do feixe de elétrons e examina o ângulo relativo ao feixe. O feixe de elétrons, feixes primários, interage com a amostra resultando, entre outros efeitos, na emissão de elétrons secundários, em uma corrente de elétrons refletidos, numa condução induzida pelo feixe e, frequentemente, catodoluminescência. Estes sinais podem ser coletados, ampliados e usados para controlar o brilho de tubos de raios catódicos. O mesmo gerador que ajusta a posição do feixe secundário na superfície da amostra, determina a posição do foco nestes tubos de raios catódicos. Com isso, o sinal de um elétron secundário da superfície de um determinado elemento, é usado para controlar o brilho de um ponto correspondente em um tubo de raios catódicos com o intuito de obter mapas da corrente de elétron secundário. A amplitude é controlada pelo gerador de varredura que garante que os tubos de raios catódicos são varridos em sincronismo com o feixe primário. A saída deste gerador de varredura é ligada nas bobinas de deflexão do tubo de raios catódicos para corrigir o feixe, de forma que o tamanho da figura no tubo seja mantido constante com um tamanho de aproximadamente 10 x 10 cm, ou seja, que preencha a área útil do tubo. Para efeito de contraste só uma fração da variável de saída é usada para alimentar as bobinas de varredura do feixe primário.

### 5.1.1. Interação do Feixe Eletrônico com a Amostra

A interação do feixe eletrônico com a amostra é fundamental para o entendimento da emissão do elétron secundário e espalhamento dos elétrons. Os elétrons são acelerados através de uma diferença de potencial  $V_0$ , geralmente de 1 a 50 KeV. Quando um feixe eletrônico com esta energia penetra no sólido, grande parte da energia é perdida inicialmente através da ionização dos átomos da amostra. No primeiro tipo de interação o elétron primário interage elasticamente com os átomos mais externos do material. Não há troca de energia entre o elétron incidente e o átomo do material, mas o campo inerente dos átomos da amostra, causa uma troca de momento do elétron incidente, fazendo com que ele seja espalhado com um grande ângulo, sendo praticamente refletido para fora da amostra. A Figura 2 ilustra a interação de um feixe de elétrons com a amostra estudada.



**Figura 2:** Interação do feixe de elétrons com a amostra. Em (a) reflexão elástica, (b) reflexão não elástica, (c) formação do elétron secundário por ionização de contato e (d) emissão de elétrons secundários [1].

No segundo tipo de interação, o elétron primário é também defletido para fora da amostra, mas só depois de interagir não elasticamente com o átomo da amostra. O elétron vai interagindo com os átomos da amostra e vai perdendo energia através do processo de ionização por impacto. Os elétrons ejetados têm energia cinética da ordem do elétron

incidente. Este processo se repete até a energia cinética não ser mais suficiente para causar mais ionização. A energia de ionização é tipicamente da ordem de 3 a 8 eV. Este processo dura cerca de  $10^{-10}$  segundos. Os elétrons secundários se difundem e vão perdendo energia gradualmente gerando o aquecimento da rede através da geração de fônons. Muitos dos elétrons secundários formados perto da superfície, tem energia cinética maior que a barreira de energia superficial da ordem de 2 a 6 eV, e tem grande chance de escapar da superfície. Pela faixa de energia utilizada, a perda de energia devido à emissão de radiação pelo elétron incidente no campo coulombiano do núcleo é desprezível. Portanto este tipo de espalhamento é considerado elástico. A maior perda de energia é devido à interação dos elétrons rápidos do feixe incidente com os elétrons do material alvo [1].

O elétron da amostra vai a um estado excitado, devido às interações elétron-elétron, proporcional à perda de energia do elétron incidente. Se um elétron vir a ocupar um determinado estado, a sua probabilidade é calculada pela equação de Schrodinger. Portanto a probabilidade relativa de um elétron de energia  $E_0$ , perdendo  $E_{01}$ ,  $E_{02}$ ... de energia por colisão é conhecida. Multiplicando as perdas de energia por estas probabilidades relativas, determinarmos a perda de energia por unidade de comprimento. No caso não relativístico, a taxa de perda de energia é dada por:

$$\frac{dE}{dS} = 2\pi e^4 \frac{NZ}{\vec{E}} \ln \left( \frac{E}{E_i} \frac{e^{\frac{1}{2}}}{2} \right) \quad [1]$$

Sendo:

$N$  = número de átomos/cm<sup>3</sup>;

$Z$  = número atômico;

$E_i$  = energia de excitação do átomo [J];

Porém esta expressão não distingue os dois tipos de elétrons que saem da colisão ionizante. Para tanto, o modelo de distribuição de energia dos elétrons secundários de baixa

energia é dado abaixo, ao qual se considera que um feixe de elétrons primários incide sobre uma placa de metal semi-infinita localizada no vácuo.

A probabilidade de um elétron secundário alcançar a superfície sem colisões com os elétrons no sólido é dada por:

$$P(E, \theta, Z) = e^{-\frac{Z}{L(E)} \cos \theta} \quad [2]$$

Sendo que  $L(E)$  é o caminho livre médio considerado ao “espalhar” elétron-elétron para um elétron excitado de energia  $E$ .

Para que um elétron secundário escape, é necessário que sua energia seja maior que um valor crítico  $E_{cr}$ :

$$E_{cr} = E_f + \phi \quad [3]$$

Sendo:

$E_f$  = Energia de Fermi [J];

$\phi$  = função trabalho do metal [eV];

A componente do momento, portanto, deve ser igual a:

$$P_c = (2mE_{cr})^{\frac{1}{2}} \quad [4]$$

Com base nestas considerações feitas, é possível calcular o número de elétrons secundários excitados:

$$f(E) = \frac{dN}{dE} = \kappa \left( \frac{E - E_f - \phi}{E - E_f} \right) \quad [5]$$

O valor máximo de  $dN/dE$  ocorrerá em um valor de energia  $E_m$ , que maximiza  $f(E)$ . Este valor é encontrado diferenciado a equação anterior:

$$E_m = E_f + \frac{4}{3} \phi \quad [6]$$

## **5.1.2. Modos de Obtenção das Imagens do MEV**

### **5.1.2.1. Elétrons Secundários (ES)**

O modo elétrons secundários de operação é o mais importante porque os elétrons são coletados facilmente através da grade coletora polarizada positivamente, ao lado da amostra e capaz de coletar correntes de poucos elétrons volts. Após a grade coletora, os ES são acelerados até o cintilador, que está com uma tensão de +10 kV e os quantas de luz gerados são gravados pela fotomultiplicadora. Assim o detetor Everhart-Thornley funciona como um amplificador efetivo, introduzindo pouco ruído e uma largura de banda de passagem da ordem de 10 MHz. A alta dependência da emissão de ES com pequenas inclinações da amostra, faz com que se tenha um alto contraste nos contornos sendo para pequenas partículas. Uma parte dos elétrons emitidos (da ordem de 20 a 50 %), produzidos pelo feixe principal, alcança uma resolução da ordem de 5 a 20 nm. A outra fração dos elétrons secundários emitidos é devido aos elétrons refletidos. São desenvolvidas técnicas para separar estas duas contribuições captando os sinais de multidetectores.

Os elétrons secundários são retardados com uma tensão positiva, e repelidos com uma tensão negativa aplicada à superfície da amostra, sendo influenciado pelo campo eletrostático criado entre as regiões com diferentes tensões. Este efeito gera o contraste de tensão. Polarizando positivamente, as áreas aparecem escuras, e polarizando negativamente, claras. A influência do campo eletrostático é suprimida através da pré-aceleração dos elétrons secundários em um campo de algumas centenas de volts por milímetro na superfície. O potencial local é medido com alta resolução por meio de um espectrômetro eletrônico. Isto possibilita uma importante aplicação na tecnologia de circuitos integrados. Devido à sua baixa energia de saída, os elétrons têm a trajetória afetada pela deformação do campo magnético causado pelas superfícies ferromagnéticas. Este efeito possibilita um tipo de contraste magnético, devido à seleção angular [1].

### 5.1.2.2. Elétrons Retroespehados

A dependência da reflexão com o número atômico médio do material é o mais importante mecanismo de contraste deste modo de funcionamento.

O coeficiente de reflexão depende também da orientação relativa dos elétrons do feixe incidente, em relação aos planos cristalinos. Uma onda plana de elétrons, propagando em um cristal, mostra anomalias na transmissão ou na absorção, dependendo do ângulo de incidência. O resultado desta anisotropia de orientação é a diferença causada no coeficiente de reflexão de 1 a 10 %. A variação na orientação dos grãos, em materiais policristalinos, permite a observação da orientação cristalina através do contraste de canalização. Após selecionar os elétrons perdidos (10 a 100 eV) por filtragem de energia, é possível observar defeitos cristalinos simples, deslocamentos e rachadura, porque o efeito de canalização contribui com o contraste somente em superfícies finas, com espessura da ordem do comprimento de absorção do campo primário Block-wave.

Ferromagnéticos, que tem uma alta indução magnética interna  $\vec{B}$  que afeta a trajetória dos elétrons, tanto que causa uma diferença no coeficiente de retroespalhamento em algumas dezenas para diferentes orientações de  $\vec{B}$ . Este é o segundo tipo de contraste magnético.

### 5.1.2.3. Catodoluminescência

A emissão de luz ultravioleta ou luz visível estimulada pelo bombardeamento eletrônico, é coletada no detector de cintilação e no tubo de raios catódicos. Muitas substâncias especialmente semicondutoras e minerais que não tem muitas moléculas orgânicas permitem a observação através deste método. É possível a observação não dispersivamente através de um sistema coletor de luz e fotomultiplicadora e dispersivamente introduzindo um espectrômetro entre a amostra e o detector. A baixa intensidade da catodoluminescência de algumas substâncias e a absorção de radiação por moléculas orgânicas traz restrições ao método. Sistemas de detecção extremamente sensíveis são usados para catodoluminescência, trabalhando com um grande ângulo sólido de detecção. Este método contém muitas informações analíticas que não são observadas por

nenhum outro. A desvantagem, é que ele só traz informações qualitativas sobre um material particular.

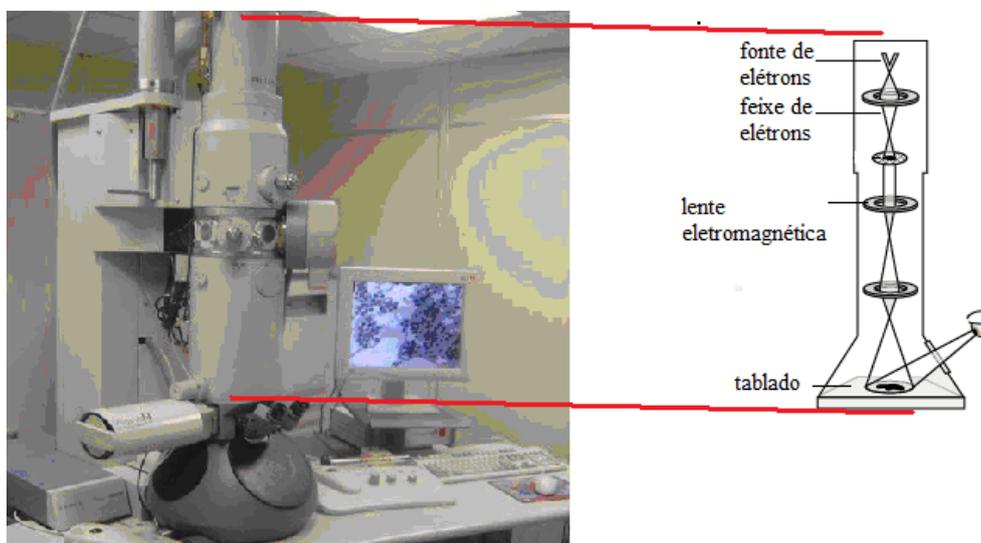
## **5.2 - Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

Devido à importância das análises quantitativas da microestrutura dos materiais, a microscopia possui elevadas contribuições no desenvolvimento das técnicas experimentais, cujos aumentos máximos possíveis têm crescido e as resoluções melhoradas significativamente.

Três tipos de microscopia são utilizados em grandes escalas, a saber: microscopia óptica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia eletrônica de transmissão (MET), e num grau menor a microscopia de campo iônico (MCI), embora venha ganhando campos significativos de pesquisa e destaque no mercado. Em linhas gerais, podemos afirmar que tais técnicas são complementares, mas cada qual possui sua linha específica de atuação. A MO permite a análise de grandes áreas em curto espaço de tempo, além de ser de fácil manuseio, rápida e pouco dispendiosa. A MEV caracteriza por apresentar excelente profundidade de foco e análise com grandes aumentos de superfícies irregulares. Por fim, a MET permite a análise de defeitos e fases internas dos materiais, como discordâncias, defeitos de empilhamento e pequenas partículas de segunda fase.

A constituição de um microscópio eletrônico de transmissão é feita por um feixe de elétrons e um conjunto de lentes eletromagnéticas, que controlam o feixe, ao quais estes estão encerrados em uma coluna evacuada com uma pressão em torno de  $10^{-5}$  mm Hg. Possui cerca de cinco ou seis lentes magnéticas, além de algumas bobinas eletromagnéticas de deflexão e aberturas localizadas ao longo do caminho do feixe eletrônico. Entre estes componentes, destacam-se os três seguintes pela sua importância com respeito aos fenômenos de difração eletrônica: lente objetiva, abertura objetiva e abertura seletiva de difração. As lentes projetoras possuem como função a produção de um feixe paralelo e de suficiente intensidade incidente na superfície da amostra. Os elétrons saem da amostra pela superfície inferior com uma distribuição de intensidade e direção controladas

principalmente pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos na amostra. A Figura 3 é de um MET.



**Figura 3:** Microscópio Eletrônico de Transmissão, modelo TECNAI 10[ IPEN - USP/SP].

Logo após, a lente objetiva entra em ação, formando a primeira imagem desta distribuição angular dos feixes eletrônicos difratados. Em seguida, as lentes restantes servem apenas para aumentar a imagem ou diagrama de difração para a observação na tela ou na chapa fotográfica. A maioria dos equipamentos utilizados nos estudos dos materiais metálicos, cerâmicos ou poliméricos, dispõe de tensão de aceleração de até 200 kV.

Quanto à preparação das amostras, devemos nos atentar para as características, sendo que a espessura deve estar na faixa de 500 a 5000 Å, com superfície polida e limpa dos dois lados. Esta não pode ser alterada (seja por deformação plástica ou difusão de hidrogênio durante o polimento eletrolítico) e os corpos de prova podem ser de dois tipos: lâminas finas do próprio material ou réplicas de sua superfície. As lâminas finas de materiais poliméricos e de outros materiais orgânicos são obtidas por microtomia, onde uma navalha corta películas finas e com espessura controlada. No que se refere à formação de imagens, estas resultam da projeção da própria espessura do material, havendo uma diferença com relação ao observado numa superfície.

### 5.3 - Difração de Raios-X (DRX)

As cerâmicas apresentam normalmente uma forma microestrutural. Tais microestruturas podem ser descritas por tamanho de grão, forma, distribuição, orientação dos grãos, quantidades de fases e porosidade. A técnica de difração por raios-X é usada na caracterização das fases cristalinas presente em um material cerâmico como aconteceu em nosso trabalho, onde as nanoesferas foram analisadas por este método. Seu funcionamento consiste no espalhamento elástico dos raios ao atingirem um determinado material, sem perdas de energia pelos elétrons de um átomo. Ao colidir com um elétron, um fóton de raio-X muda sua trajetória, mas mantém a mesma fase e a mesma energia do fóton incidente. Se os átomos que geram este espalhamento estiverem rearranjados de maneira sistemática, como em uma forma cristalina, pode-se verificar que as relações de fase entre os espalhamentos tornam-se periódicas e que efeitos de difração de raios-x podem ser observados em vários ângulos.

São dois itens fundamentais para ocorrer à difração destes raios, a saber: diferença de caminhos percorridos por estes raios e o comprimento de onda da radiação incidente. Estas condições são expressas pela Lei de Bragg, na Figura 4:

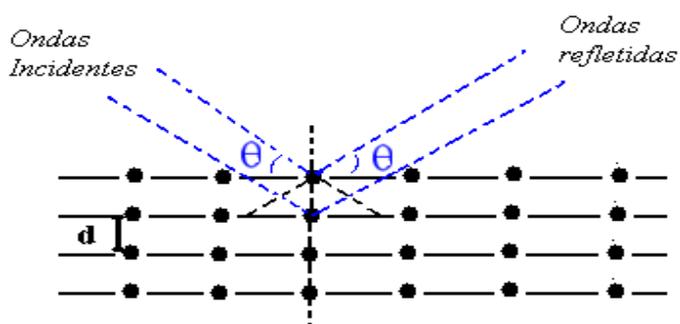


Figura 4: Difração de Raios-X e a Lei de Bragg

$$m \lambda = 2d \sin \theta \quad [7]$$

Sendo:

$m'$  = a ordem de difração;

$d$  = distância entre cada grupo de planos atômicos da rede cristalina [m];

$\lambda$  = comprimento de onda do feixe de raios-X [m];

$\theta$  = ângulo de difração [rad];

A capacidade de difração de um determinado átomo, para os raios-X, depende do número de elétrons que possui, assim sendo, a posição dos feixes difratados por um sistema cristalino depende apenas das dimensões dos cristais, da forma da unidade repetitiva deste e do comprimento de onda dos raios-X.

No que tange as intensidades dos feixes difratados, esta é dependente do número de elétrons no átomo e da sua localização na unidade fundamental repetitiva, ou seja, a célula unitária. De face do exposto, podemos afirmar que não há duas substâncias que tenham exatamente o mesmo modelo de difração, quando consideramos tanto a direção como a intensidade de todos os feixes difratados.

#### **5.4 - Caracterização Magnética**

O Magnetômetro de Amostra Vibrante (MAV) foi desenvolvido por Foner [2] em 1955 e é provavelmente o magnetômetro mais usado nos laboratórios de pesquisa e caracteriza-se por seu bom desempenho, baixo custo e simplicidade de funcionamento. Baseia-se na medida do campo magnético e sua resposta (magnetização), ao qual permite eliminar outras medidas que não as oriundas das amostras, obtendo-se assim as curvas de magnetização ou de Indução.

O estudo do comportamento magnético da cerâmica YFeAl foi efetuado a fim de se determinar a temperatura de Curie e conseqüentemente o efeito magnetocalórico nas microesferas magnéticas. As caracterizações magnéticas dos materiais obtidos foram analisadas por um Magnetômetro de Amostra Vibrante (MAV). As Figuras 5-6 ilustram o MAV (Lake Shore) da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), fazendo uma amostra vibrar à frequência  $f$ , ao qual foi induzida uma voltagem alternada nas bobinas de detecção.



**Figura 5:** Princípio de funcionamento do Magnetômetro de Amostra Vibrante do Laboratório de Ensaios Destrutivas e Não-Destrutivas da UNIFEI



**Figura 6:** Obtenção dos dados da amostra – curva de histerese.

Esta voltagem é dada por:

$$E = \sigma \cdot G \cdot A \cdot 2\pi \cdot f \cdot \cos(2\pi ft) \quad [8]$$

Sendo que:

$\sigma$  = momento magnético da amostra;

$f$  = frequência de vibração da amostra [Hz];

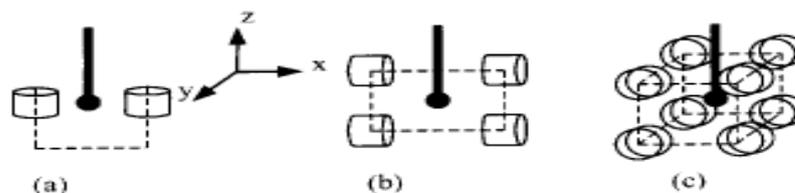
$t$  = tempo de duração de vibração da amostra [s];

$G$  = é função da geometria das bobinas de detecção;

$A$  = amplitude de vibração [m];

O funcionamento consiste de bobinas compensadas (bobinas de pick-up), as quais envolvem as amostras, captando o sinal originado pela magnetização do material.

A amostra é posicionada na extremidade de uma haste vibrante. O campo estático aplicado pelo eletroímã provoca a magnetização da amostra, que associada à vibração, induz um sinal na bobinas de pick-up. Este campo se aplica tanto na direção transversal como na longitudinal à direção de vibração [3]. O MAV possui sensibilidade de  $10^{-5}$  emu. A medida de magnetização feita com o deslocamento da amostra permite eliminar outras contribuições que não as oriundas da amostra e a medida realizada com o auxílio de detecção síncrona com o uso de um amplificador lock-in, o que proporciona um grande aumento de sensibilidade. O arranjo de bobinas deve ser tal que maximize o sinal induzido e que este seja pouco sensível a posição da amostra. Além disso, trabalhando com bobinas de detecção resfriadas a temperatura de hélio líquido, podemos melhorar a relação sinal/ruído principalmente quando são enroladas com o supercondutor. A Figura 7 é de um arranjo de bobinas de detecção usadas no MAV.



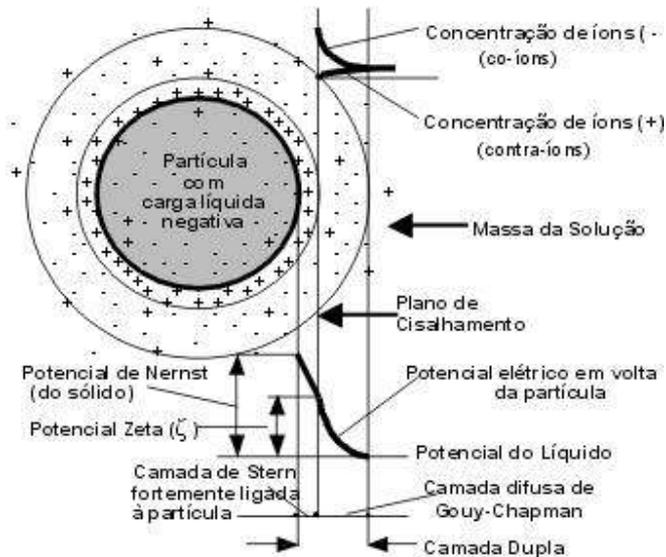
**Figura 7:** Bobinas de detecção do MAV [4].

## **5.5. Potencial Zeta**

Entendemos por potencial zeta, como sendo o potencial elétrico existente no plano de cisalhamento de uma partícula. Partículas coloidais dispersas em uma solução são eletricamente carregadas, devido às suas características e atributos iônico dipolar. O desenvolvimento de uma carga líquida na superfície das partículas afeta a distribuição de íons na região vizinha interfacial, resultando em um aumento da concentração de íons de balcão (íon de carga oposta à das partículas), próximo à superfície.

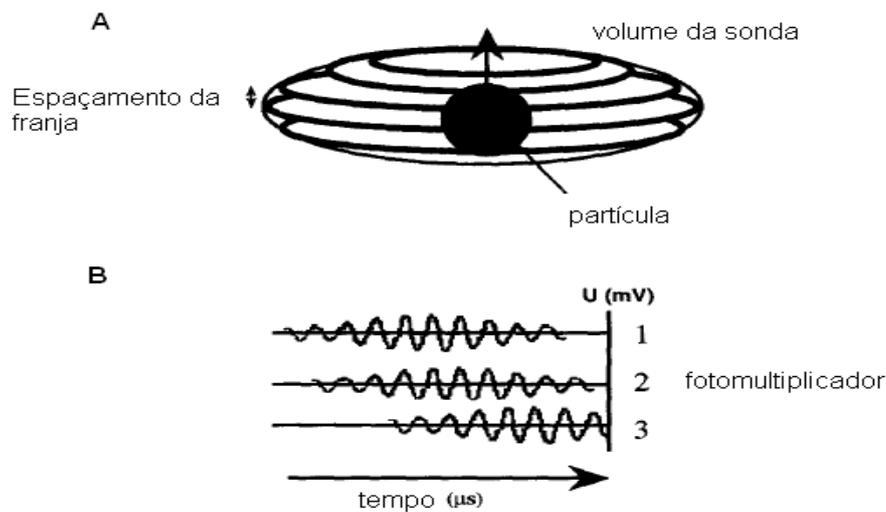
Cada uma das partículas dispersas em uma solução é cercada por íons de cargas opostas, chamada de camada fixa. Fora da camada fixa, existem diversas composições de íons de polaridades opostas, formando uma nuvem. Essa área é chamada de dupla camada difusa, e toda a área é eletricamente neutra. Esta camada dupla pode ser considerada como sendo composto de duas partes: uma região interior, que inclui íons ligados fortemente à superfície e uma região externa, ou difusa em que a distribuição de íons é determinada por um equilíbrio de forças eletrostáticas e movimento térmico aleatório.

Quando uma voltagem é aplicada na solução na qual as partículas estão dispersas, as partículas são atraídas para o eletrodo de polaridade oposta, acompanhado pela camada fixa e parte da dupla camada difusa. Assim, o potencial na fronteira entre esta unidade, ou seja, no plano acima de cisalhamento entre a partícula com a sua atmosfera de íons e do meio envolvente, é conhecido como potencial zeta. É uma função da carga de superfície de uma partícula, qualquer camada adsorvida na interface, como a natureza e a composição do meio ambiente em que a partícula está suspensa. A Figura 8 ilustra o método de determinação do potencial zeta.



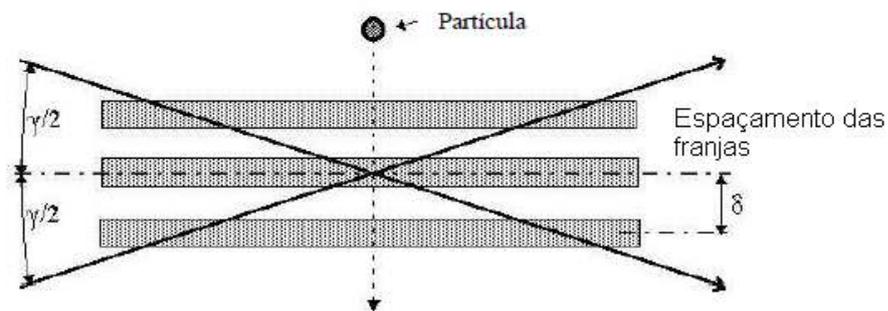
**Figura 8:** Método de Determinação do Potencial Zeta.

O potencial zeta pode ser determinado através da técnica de Anemometria Laser Doppler. Um anemômetro laser Doppler mede a velocidade num ponto em um fluxo utilizando feixes de luz. O método é vantajoso levando em consideração que o anemômetro ao medir não perturba o fluxo medido, podendo ser usado nos fluxos de direção desconhecida e também fornece medições precisas de fluxos instáveis e turbulentos, onde a velocidade é flutuante no tempo. A técnica Doppler utiliza dois feixes de luz de mesma intensidade que devidamente localizados e focalizados, se cruzam num ponto comum. Uma única fonte de laser garante a intensidade dos feixes e os divide em dois feixes paralelos através de um divisor próprio. Uma lente convergente focaliza os feixes. Este volume de medida formado pelo cruzamento dos dois feixes é constituído por uma rede de franjas de interferências que possui um ângulo de separação  $\delta$  entre estes feixes, dependendo da configuração da lente usada, conforme mostrado na Figura 9.



**Figura 9:** Sinais Doppler recebidos nos diferentes tubos (A). Fotomultiplicador correspondente a uma única partícula passando pelo volume da sonda (B) [4].

O método das franjas de interferência consiste na formação de franjas através de interseção de duas ondas luminosas e há a dependência da presença das partículas para espalhar a luz, ou seja, as partículas passando sucessivamente nas raias sombrias e luminosas difundem uma luz pulsante. Um fotodetector capta esta frequência que é proporcional a velocidade da partícula. Existem diversos métodos para a determinação do sinal da velocidade instantânea (sentido do escoamento), sendo um modo prático é a utilização de dois sistemas de franjas de interferência. Formam-se duas redes de franjas de interferência (de mesma interfranja) mais descaladas no espaço de um valor correspondente e uma fração da interfranja. Os dois sinais são distintos, pois as redes de interferências possuem uma polarização diferente ou uma frequência ligeiramente diferente. O sinal do vetor velocidade é dado pelo sinal de defasagem entre os dois sinais. A Figura 10 refere ao método das redes de franjas.



**Figura 10:** Rede de franjas de interferências na intersecção dos feixes [5].

A análise dos sinais de Doppler indica o tamanho e a velocidade de cada partícula que passa através do volume da ponta de prova. Uma vez que a série das partículas foi coletada, diferentes quantidades globais podem ser determinadas (por exemplo, massa, contínua fluxo ou concentração contínua). Antes que estas quantidades pudessem ser determinadas, as dimensões da ponta de prova de medição devem ser estabelecidas. Determinação exata das dimensões da medição da ponta de prova é a etapa mais importante na técnica das partículas de Doppler.

*Velocidade da partícula e tamanho de partícula.* A frequência de cada sinal Doppler é proporcional a componente perpendicular da velocidade da partícula ao plano de franjas. O sistema usado para este estudo permite que uma única componente da velocidade seja medida. Este componente é definido como segue:

$$V_p = \frac{\lambda_0}{2 \operatorname{sen}\left(\frac{\Gamma}{2}\right)} F_D \quad [9]$$

Sendo:

$V_p$  = velocidade da partícula passando através da região iluminada pelo cruzamento dos feixes [m/s];

$\lambda_0$  = comprimento de onda da luz [nm];

$\Gamma$  = ângulo entre os dois feixes [rad];

$F_D$  = Frequência (Hz);

É possível distinguir as partículas que se movem para cima daquelas que se move para baixo a partir da velocidade da franja. Analisando o deslocamento relativo entre os sinais dos diferentes fotomultiplicadores, nós somos capazes de determinar o tamanho da partícula. O diâmetro da partícula, Bachalo e Houser [6], é determinado como segue:

$$d_p = \frac{f\delta\Phi}{360\Delta l} H \quad [10]$$

Sendo que:

$f$  = comprimento focal da lente do transmissor;

$\delta$  = afastamento da franja;

$\Phi$  = deslocamento de fase no meio;

$\Delta l$  = espaço entre os detectores;

$H$  = constante dielétrica do meio;

## 5.6 Referências Bibliográficas

- [1] BARBAROTO, P.R. Microscópio Eletrônico de Varredura SEM (Scanning Electron Microscopy) Medidas para Caracterização e Análise de Materiais (IE607A).
- [2] FINOTELLI. Magnetic Studies of Iron (III) Nanoparticles in Alginate Polymer of Drug Delivery Applications, Rio de Janeiro, 2004;
- [3] REZENDE, S.M.. A Física de Materiais e Dispositivos Eletrônicos, Editora da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1996;
- [4] SOCIEDADE BRASILEIRA DE FÍSICA. São Paulo. A Física no Brasil na Próxima Década, Física da matéria Condensada, v. 2, Instituto de Física, USP, 1990;
- [5] FARIA, et al, Utilização de Anemômetro Laser Doppler em Estudos de Estruturas Hidráulicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.
- [6] HOUSER e BACHALO, Velocity and concentration fields in settling tank of non-interacting solid particles. Meccanica. Volume 23, número 4, 195-202, 1984.

## **6**

---

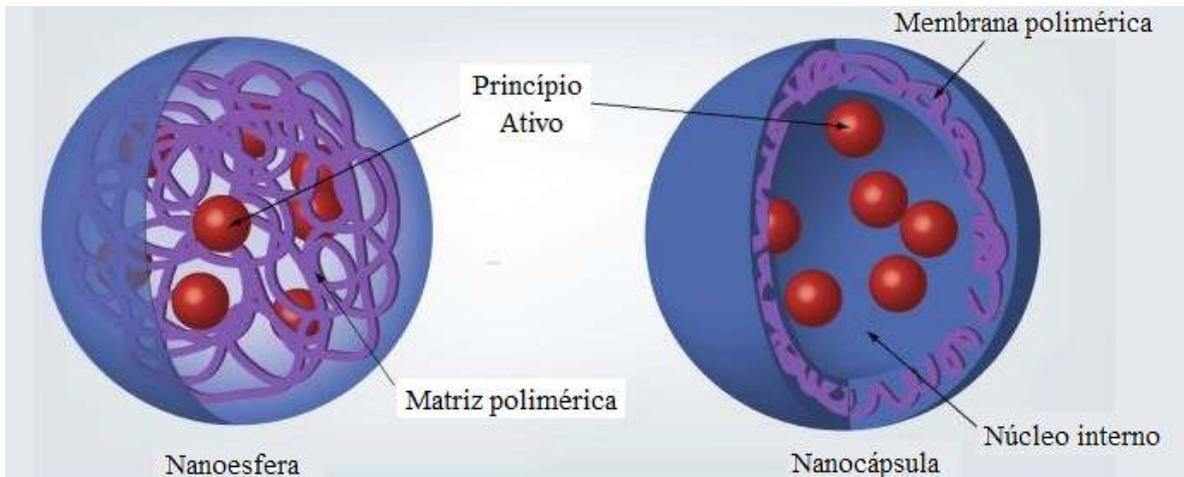
### **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

#### **6.1. Introdução**

O encapsulamento é um processo de operações unitárias pelo qual partículas de ingredientes ativos no estado sólido, líquido ou gasoso são confinados dentro de um segundo material. De modo geral, o processo de encapsulamento pode ser classificado como macro ( $> 5000 \mu\text{m}$ ), micro ( $0,2\text{-}5000 \mu\text{m}$ ) e nano ( $<0,2 \mu\text{m}$ ) [1-2]. Quanto à forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato possa ser influenciado pela estrutura original do ingrediente encapsulado ou pela técnica de encapsulamento utilizada.

Com relação à sua estrutura física, as nanopartículas podem ser classificadas como nanocápsulas ou nanoesferas [3]. As nanocápsulas consistem em nanopartículas onde o núcleo está envolvido por uma camada ou filme polimérico formando um sistema tipo reservatório. O material nanoencapsulado é chamado de núcleo ou fase interna enquanto a fase externa é chamada de parede, revestimento ou membrana.

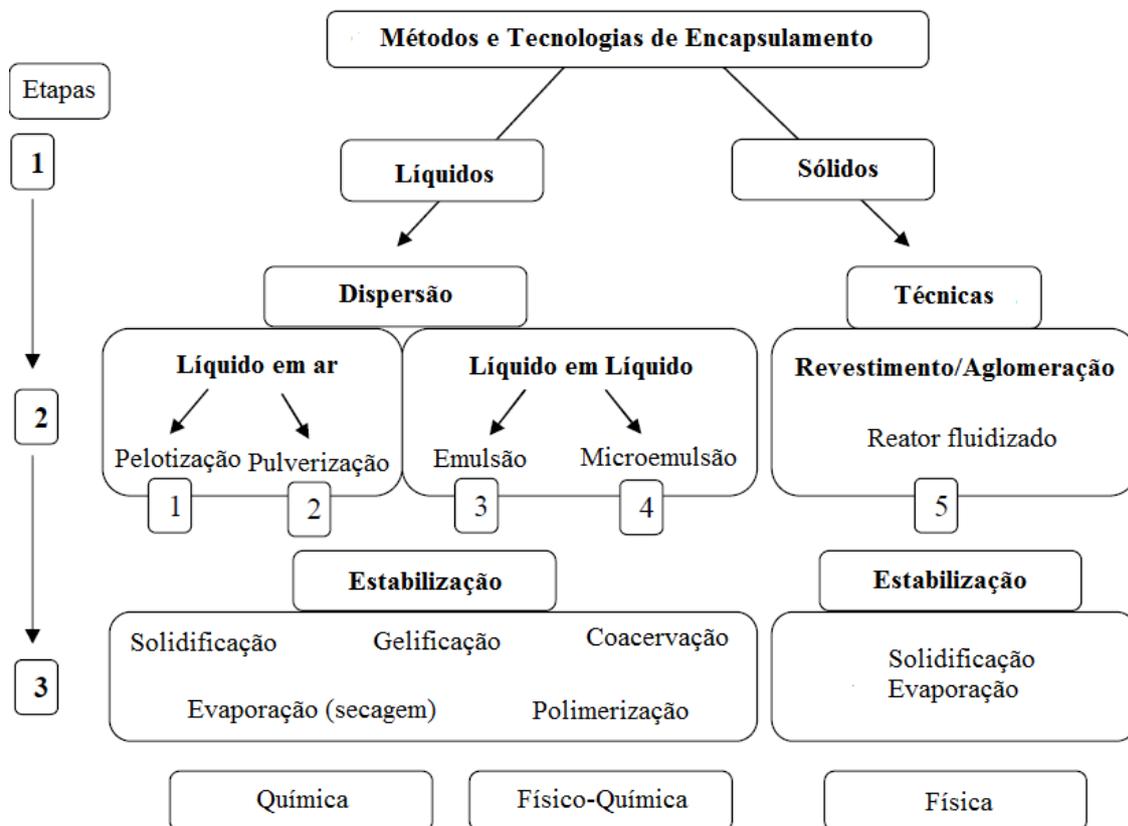
As nanoesferas diferem das nanocápsulas pelo fato de constituírem um sistema matricial, no qual o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser encapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. A Figura 1 ilustra a diferença entre uma nanocápsula e uma nanoesfera.



**Figura 1:** Principais diferenças entre nanopartículas conhecidas com o nome de nanoesfera (sistema matricial) e nanocápsula (sistema tipo reservatório). Adaptado de [2].

Os métodos de nanoencapsulamento podem ser classificados em físico-químicos como a coacervação e emulsificação, métodos químicos como a polimerização interfacial e a gelificação e os métodos mecânicos como revestimento em turbinas, suspensão no ar ou leite fluidizado, centrifugação em multiorifício e secagem por atomização [4-5]. O Esquema 1 resume os principais métodos de fabricação de nanocápsulas.

A utilização de partículas superparamagnéticas à base de óxido de ferro tem atraído o interesse para aplicações na medicina terapêutica e diagnóstica [6-9]. No caso de aplicações *in vivo* os requisitos tais como biocompatibilidade e multifuncionalidade são essenciais para a aplicação das nanopartículas na medicina terapêutica e diagnóstica. Entretanto, algumas limitações das nanopartículas de YFeAl tais como a tendência de aglomeração, a instabilidade química quando aplicada no meio fisiológico e o caráter tóxico inerente à sua composição química afeta significativamente sua aplicação na magmeto-hipertermia. Nesse sentido, a superfície das nanopartículas de YFeAl deve ser modificada com polímeros biocompatíveis a fim de assegurar sua estabilidade coloidal e a hemocompatibilidade e propriedades não citotóxicas para as células de mamíferos.



**Esquema 1:** Técnicas de fabricação de nanocápsulas (que se estendem também à obtenção de microcápsulas).

Entre as diversas técnicas para obtenção de nanocápsulas, a polimerização via microemulsão água em óleo (w/o), também conhecida como micela reversa, é a que mais se destaca por apresentar vantagens como elevada estabilidade termodinâmica, isotropia, não uso excessivo do agente tensoativo e a possibilidade de se obter o produto final em apenas uma única etapa de reação. As micelas reversas contêm domínios de dimensões nanométricas estabilizados por um filme interfacial de moléculas de um agente tensoativo. Um sistema típico de polimerização via microemulsão consiste em uma solução aquosa contendo um monômero pouco solúvel, um emulsificante (surfactante) e o iniciador. O sistema reacional é formado de gotículas de monômero (de 1-10  $\mu\text{m}$  de diâmetro) estabilizadas pelo surfactante, bem como de micelas (de 2-20 nm) contendo uma fração

reduzida de monômero solubilizado. No caso de sistemas das micelas reversas o meio de solubilização é um solvente apolar. Sistemas denominados de microemulsões normais ou reversas consistem em uma fase líquida contendo somente micelas saturadas de monômero, sendo formadas quando as concentrações molares de surfactante e monômero são da mesma ordem de grandeza.

Recentemente nossos trabalhos indicaram que polímeros epoxídicos derivados do oligômero do tipo éter diglicidílico do bisfenol-A com co-monômeros do tipo amina alifática apresentaram boa hemocompatibilidade em ensaios biológicos *in vitro*. A alta adsorção de albumina e baixa adsorção de fibrinogênio, assim como também a supressão de ativação de plaquetas e a boa citocompatibilidade dos polímeros formulados com poliaminas cicloalifáticas indicou que estes materiais apresentam boas características para aplicações possíveis na medicina [10-11]. As propriedades hemocompatíveis do DGEBA tornam esse material promissor para o encapsulamento de nanomateriais inorgânicos destinados ao tratamento e diagnóstico do câncer a exemplo das nanopartículas de YFeAl e ZnS.

## **6.2. Síntese e Caracterização das Nanopartículas de YFeAl**

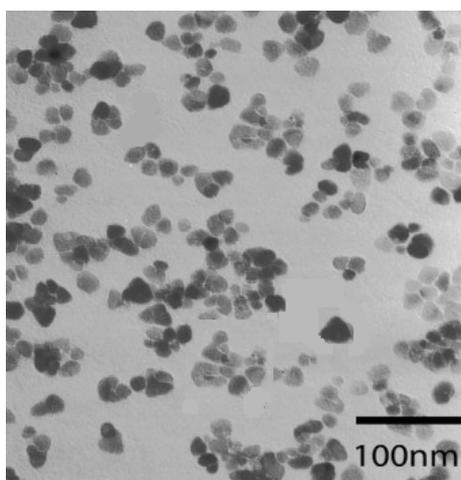
Em trabalhos anteriores efetuamos a síntese de cerâmicas ferromagnéticas no estado sólido do tipo  $Y_3Fe_{(5-x)}Al_xO_{12}$  com x variando de 0,5 a 1,5, uma vez que fora demonstrado pela literatura que a composição de Al tem influência significativa na temperatura de transição de Curie ( $T_c$ ) da cerâmica [12-14]. Foram obtidas partículas ferromagnéticas com baixo grau de aglomeração e estreita faixa de distribuição de tamanho em escala nanométrica.

Embora a técnica de síntese de cerâmicas no estado sólido apresente algumas vantagens tais como composição química reprodutível, homogeneidade química e alta pureza, a mistura de óxidos não permite a obtenção de materiais com isotropia física e química uma vez que a difusão no estado sólido é dificultada. Em se tratando da obtenção de nanocristais de YFeAl, a não homogeneidade do material é um fator crítico para sua aplicação em magneto-hipertermia

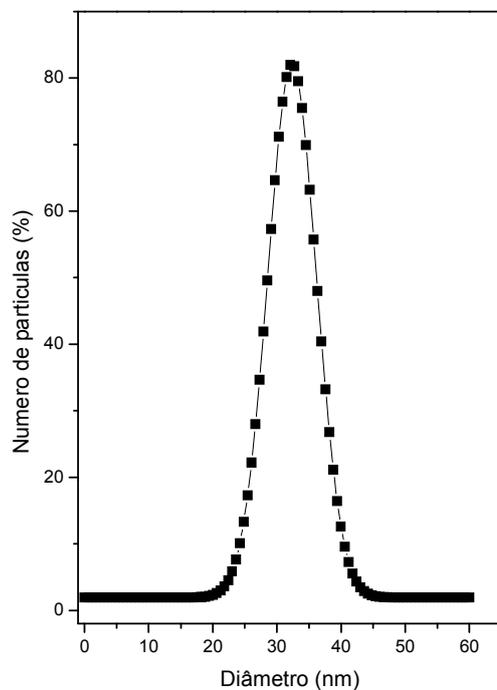
uma vez que o material apresentará uma dispersão considerável em suas propriedades além da presença de fases indesejáveis o que compromete a reprodutibilidade do material.

Nesse trabalho, utilizou-se a via úmida para a síntese das cerâmicas de YFeAl uma vez que esse método apresenta como principais vantagens uma melhor homogeneidade entre as substâncias reagentes, elevada pureza dos produtos obtidos e baixa temperatura de processamento [15]. Adicionalmente, observou-se na literatura que as ferritas de ítrio obtidas pela técnica via úmida apresentaram forma e tamanho controlados [15-17], variáveis indispensáveis para a aplicação de nanopartículas na medicina.

A Figura 2 ilustra a microscopia MET dos pós cerâmicos de YFeAl obtidos e a distribuição do tamanho de partículas. As distribuições de tamanhos foram coletadas a partir de imagens de MET onde aparece um grande número de nanocristais, como a imagem de campo claro da Figura 2 (A). A contagem das nanopartículas de YFeAl associadas aos seus respectivos diâmetros foi feita através de software de tratamento de imagens. O tamanho médio das nanopartículas da cerâmica de YFeAl foi de 35 nm, sendo observado a presença de poucos aglomerados e/ou nanopartículas maiores que a média observada.

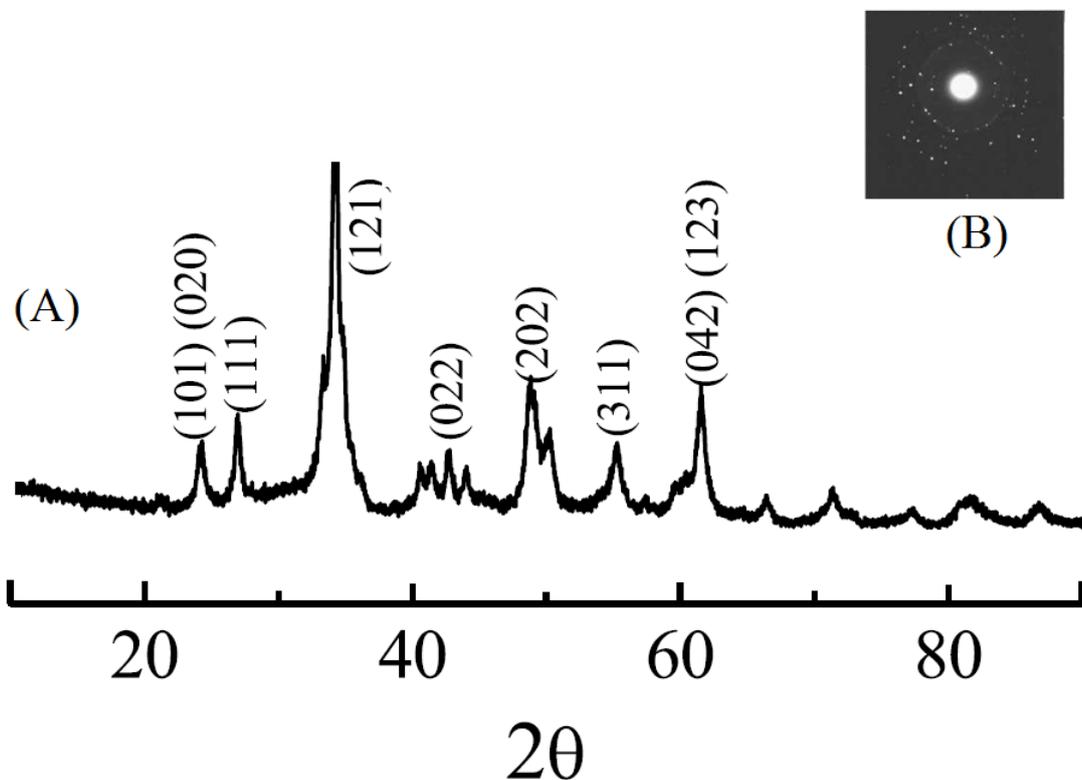


(A)



**Figura 2:** Micrografia MET (A) e distribuição do tamanho de partículas (B) da cerâmica de YFeAl sintetizadas pela técnica da coprecipitação.

A Figura 3 mostra o difratograma de raios-X (DRX) da cerâmica de YFeAl sintetizadas pela técnica da coprecipitação. O pó foi aquecido a 950 °C por 24 h resfriado e em seguida aquecido a 1350 °C por 8 h para a obtenção de elevada cristalinidade. O modelo de difração obtido para a cerâmica de YFeAl corresponde à estequiometria da perovskita [18-19] e comparando com um padrão do banco de dados cristalográficos [20], foi possível verificar a formação da fase única do  $Y_3Fe_{(5-X)}Al_XO_{12}$ . Na Figura 3B é observado o padrão da difração de elétrons pela cerâmica de YFeAl, que evidencia a cristalinidade das amostras e o padrão de perovskita.



**Figura 3:** Difração de raios-X (DRX) (A) e difração de elétrons (B) dos nanocristais de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  ( $x=1$  mol%).

O tamanho médio dos cristalitos,  $d$ , foi estimado utilizando a fórmula de Scherrer [21-22]:

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

na qual, para a constante  $k$  foi atribuído o valor igual a 0,90, admitindo que os cristalitos possuam a forma esférica. O parâmetro  $\beta$ , corresponde à largura à meia altura do pico de difração (FWHM-full width at half maximum) localizado em  $2\theta$  de maior intensidade, e foi obtido através da expressão [21-22]:

$$\beta = \sqrt{\beta^2_{amostra} - \beta^2_{instrumental}} \quad (2)$$

onde  $\beta^2$  corresponde a largura à meia altura do pico de difração de raios-X dos pós de YFeAl. Para a obtenção do FWHM foi realizada uma medida difração de raios-X do composto LaB<sub>6</sub> [20], e a partir do gráfico da difração foi obtido o valor do FWHM desse material. O valor de  $\lambda$  corresponde ao valor do comprimento de onda da radiação Cu K $\alpha$  incidente nas amostras, e  $\theta$  corresponde à posição central do pico de difração analisado.

O tamanho médio de cristalitos do pó de YFeAl foi de 43 nm em boa concordância com os valores obtidos na técnica MET (Fig. 2(B)). Entretanto. O maior valor obtido parece indicar que o processo de calcinação parece promover a coalescência de cristalitos menores formando desta maneira cristalitos maiores.

Análises EDX foram utilizadas na verificação da pureza da cerâmica de YFeAl, sendo seu espectro apresentado na Figura 4. Observa-se somente a presença de Y, Fe, Al e oxigênio na amostra o que confirma que a cerâmica de YFeAl sintetizada é de alta pureza e de boa qualidade.

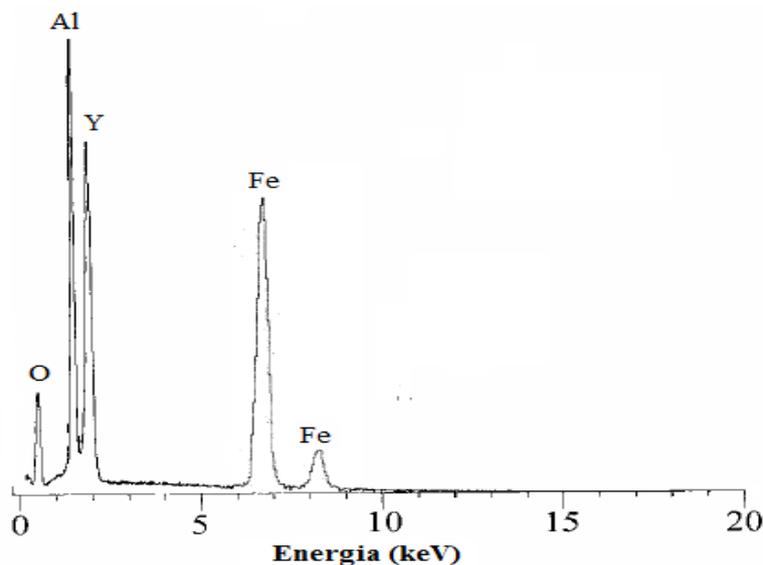


Figura 4: Espectro EDX da cerâmica de YFeAl.

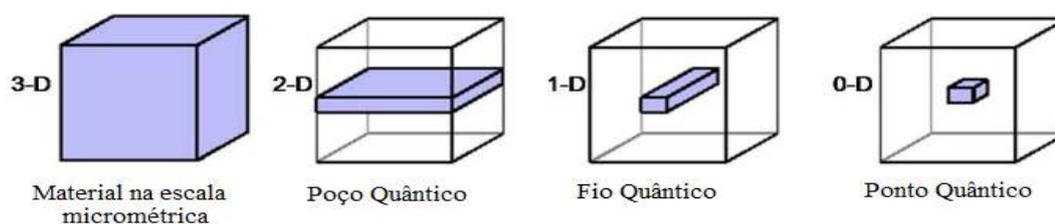
### 6.3. Síntese e Caracterização das Nanopartículas de ZnS

O sucesso no tratamento do câncer está associado não somente ao procedimento terapêutico, mas também a um diagnóstico eficiente da enfermidade. Recentemente, novas formas de diagnóstico têm sido desenvolvidas, aumentando as chances de detecção da doença em seus estágios iniciais o que potencializa as chances de cura. Nesse sentido a nanotecnologia tem proporcionado um horizonte promissor para a medicina através da síntese de nanocristais que são capazes de tornar visíveis as células neoplásicas através de sua fluorescência: os pontos quânticos.

O século XX foi marcado essencialmente pelo domínio do ser humano sobre os materiais. Por outro lado, o século XXI parece ser marcado pela nanotecnologia.

Os materiais em escala micrométrica possuem fundamentalmente as propriedades do estado macroscópico que conhecemos. Entretanto, em escala nanométrica as propriedades do material passam a ser regidas pela física quântica. Isto se deve essencialmente ao confinamento dos portadores de elétrons em determinadas regiões do material. Desse modo, as estruturas quânticas podem ser classificadas de acordo com o número de dimensões nas quais se produz o confinamento.

Quando o confinamento ocorre em uma dimensão, se obtém estruturas bidimensionais (2D), denominados de poços quânticos. Se o confinamento ocorre em duas dimensões, se originam sistemas unidimensionais (1D), denominados de fios quânticos. Por outro lado, se o confinamento se produz em três dimensões do espaço, se obtém os sistemas zero-dimensionais (0D), denominados de pontos quânticos [23]. A Figura 5 apresenta o esquema à dimensionalidade da matéria em função do confinamento eletrônico.



**Figura 5:** Ilustração simbólica do esquema das estruturas quânticas.

O movimento dos elétrons em uma nanopartícula está confinado nas três dimensões espaciais (dx, dy, dz) e os níveis de energia do sistema estarão determinados por:

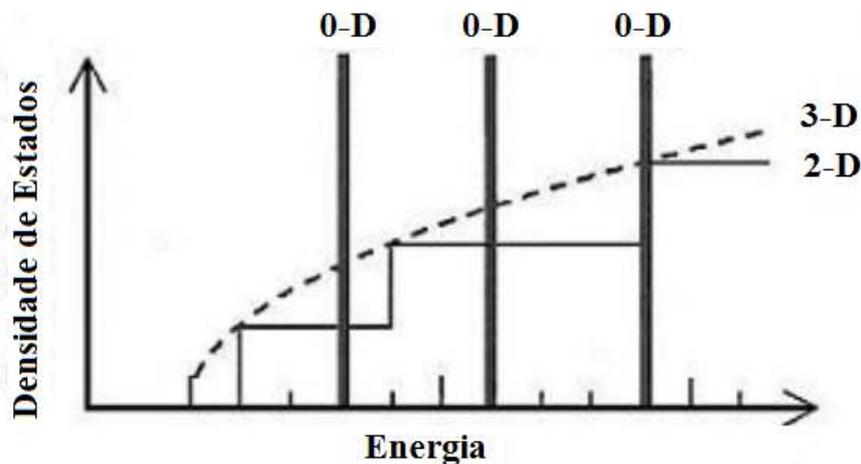
$$E(n_x, n_y, n_z) = \frac{\pi^2 \hbar^2}{2m^*} \left( \frac{n_x^2}{d_x^2} + \frac{n_y^2}{d_y^2} + \frac{n_z^2}{d_z^2} \right) \quad (3)$$

sendo  $n_x$ ,  $n_y$  e  $n_z$  números inteiros e positivos que especificam os níveis quânticos em cada direção e  $m^*$  é a massa efetiva do elétron.

Supondo uma barreira infinita para cada direção espacial, a Equação (3) se reduz a:

$$E_n = \frac{k_n^2 \hbar^2}{2m^*} = \frac{\hbar^2}{2m^*} \left( \frac{n\pi}{d} \right)^2 \quad (n = 1, 2, 3, \dots) \quad (4)$$

A densidade de estados de energia representa o número de estados disponíveis por unidade de volume e energia para cada um dos estados de confinamento citados. A Figura 6 ilustra um esquema da densidade de estados de energia das estruturas em seus diversos graus de dimensionalidade. Observa-se que existe uma maior discretização da energia para o confinamento nos níveis 1D e 0D, que dá lugar ao aumento da densidade de portadores no extremo da banda de valência e condução [24-25] e, embora as funções de onda correspondentes estejam espacialmente localizadas dentro da nanopartícula elas se estendem sobre a rede cristalina periódica. A diferença está no fato de que a posição dos níveis de energia pode ser controlada através do controle do tamanho da nanopartícula. Na Figura 6, a linha pontilhada mostra uma dependência de  $(E-E_g)^{1/2}$  no semicondutor, isto é; a densidade de estados é contínua e quadrática em função da energia. A função escada corresponde a densidade de estados de um sistema 2D (poço quântico) e nesse caso, a densidade de estados é constante para cada nível de energia. A linha correspondente à densidade de estados de sistemas 0D é discreta com uma série de funções delta (delta de Dirac) das energias descritas através da Equação (4).



**Figura 6:** Densidade de estados eletrônicos em função das estruturas quânticas.

A evolução nas técnicas de síntese em nanoescala ocorrido nas décadas de 80 e 90 tornou possível a síntese de nanoestruturas nas quais os elétrons estão confinados nas três direções espaciais. Portanto, um ponto quântico é uma nanoestrutura artificial que é capaz de confinar elétrons nas três dimensões; uma estrutura zero dimensional. Uma vez que os elétrons que estão confinados se repelem, é necessária energia para introduzir elétrons adicionais. O princípio da exclusão de Pauli, que proíbe que dois elétrons ocupem o mesmo estado quântico simultaneamente é obedecido. Conseqüentemente, os elétrons em um ponto quântico formam órbitas similarmente aos átomos naturais e por isso se denominam de átomos artificiais.

Um dos principais motivos para a utilização de pontos quânticos como marcadores fluorescentes na medicina é o fato de que não apresentam degradação em suas propriedades óticas (fotodegradação) a exemplo dos corantes orgânicos convencionais.

O elétron excitado na banda de condução pode ser acoplado ao buraco na banda de valência através de forças de atração coulombianas para criar um éxciton. O éxciton possui certo tamanho, determinado pelas funções de onda e distribuição de probabilidade para as posições de elétrons e buracos. Assim, teorias foram desenvolvidas para levar em

consideração a dependência dos níveis de energia dos éxcitons confinados em nanopartículas esféricas em função de suas dimensões. O raio de Bohr do éxciton,  $a_B$ , é dado por:

$$a_B = a_e + a_b = \frac{\varepsilon \hbar^2}{e^2} \left( \frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_b} \right) \quad (5)$$

sendo  $a_e$  e  $a_b$  o raio de Bohr do elétron e do buraco, respectivamente;  $m_e$  e  $m_b$  são a massa efetiva do elétron e do buraco, respectivamente e  $\varepsilon$  representa a constante dielétrica do semicondutor (nanopartícula).

Quando o raio da nanopartícula se aproxima do tamanho do raio de Bohr do éxciton, o movimento dos elétrons e dos buracos se confina na nanopartícula. Consequentemente a banda proibida aumenta quando o tamanho da nanopartícula diminui. Esse regime de confinamento espacial dos portadores de carga (partículas em uma esfera) a energia chega a ser quantizada e as bandas de energia estarão em níveis discretos. Esses fenômenos se conhecem como efeitos de confinamento quântico.

Devido aos efeitos de confinamento quântico o espectro de absorção e o espectro de emissão das nanopartículas se deslocam para regiões de energia mais altas do espectro eletromagnético quando o tamanho da nanopartícula diminui.

O Hamiltoniano que descreve o éxciton é dado pela equação de Schroedinger nas três dimensões de uma esfera [26-27]:

$$H = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_e^2 - \frac{\hbar^2}{2m_b} \nabla_b^2 + V(r_e, r_b) \quad (6)$$

A solução da equação de Schroedinger depende das aproximações formuladas e da aproximação de  $V(r_e, r_b)$ . As funções de onda dos portadores tendem a zero nas condições de fronteira da esfera.

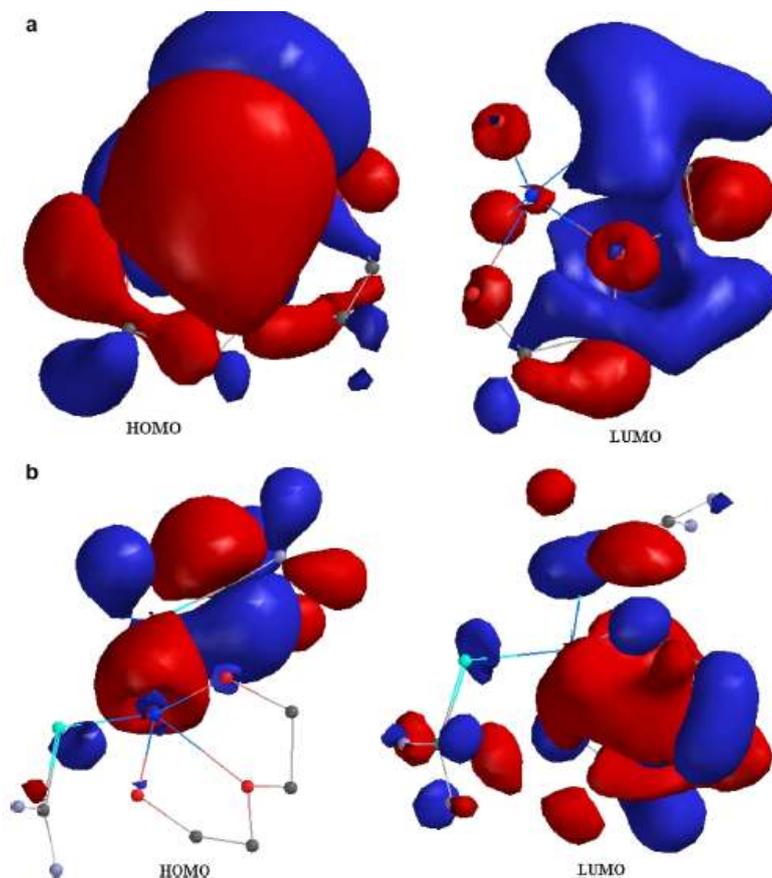
Uma possível solução para a Equação (6) é dada por [26-27]:

$$E_g(d) = E_g + \frac{\hbar^2 \pi^2}{2\mu r^2} - \frac{1,8e^2}{\epsilon r} \quad (7)$$

Observa-se na Equação (7) a dependência de  $E_g(d)$ , a energia do band-gap, do tamanho do raio da nanopartícula. Na verdade a função para  $E_g(d)$  mostra que existem dois termos que dependem das dimensões do raio: o termo referente ao confinamento da energia para elétrons e buracos varia na proporção  $1/r^2$  e o termo de interação coulombiana varia na proporção  $1/r$ . O termo referente ao confinamento da energia para elétrons e buracos são sempre positivos e os estados de mínima energia possível para elétrons e buracos são sempre maiores quando se considera o volume do semiconductor. Por outro lado, a interação de Coulomb para um par elétron-buraco é sempre devido a forças de atração o que leva sempre à formação dos níveis mínimos de energia. Assim, a dependência de  $1/r^2$  predomina no termo referente ao confinamento quântico quando o tamanho do raio da nanopartícula é muito pequeno.

Os pontos quânticos ZnS parecem ser interessantes para aplicações na medicina devido às suas propriedades de fotoluminescência (PL) que apresentam em solução. Pontos quânticos ZnS possuem níveis discretos de energia em ambas, banda de valência (VB) e banda de condução (CB) uma vez que o número de átomos por nanopartícula é bastante pequeno. Quando são excitados por uma fonte externa ( $E_{ex}$ ) com energia superior à energia de band-gap ( $E_g$ ), os elétrons (representados pelo círculo sólido) na banda de valência absorvem energia e são promovidos para a banda de condução, formando pares elétron-buraco, éxcitons, de curto tempo de vida, conforme é ilustrado na Figura 7. Os elétrons e buracos se recombinam rapidamente e fótons com energia correspondente ao band-gap são emitidos. Uma parte da energia pode ser liberada em um decaimento não radioativo denominado deslocamento Stokes ( $\Delta E$ ). A energia emitida ( $E_{mo}$ ) geralmente é mais baixa que a energia de excitação. Outras emissões podem ocorrer ( $E_{em1}$ ,  $E_{em2}$ ,  $E_{em3}$ ,  $E_{em4}$ ) se existem outros estados que capturam os elétrons no band-gap (Figura 7).



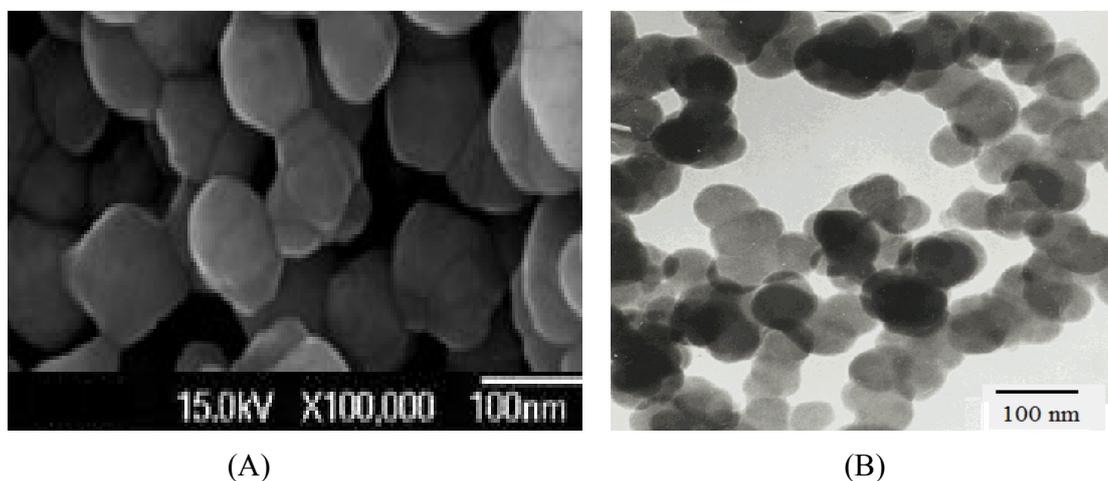


**Figura 8:** Orbitais de fronteira HOMO-LUMO para os complexos de PEG-Zn<sup>2+</sup> (a) e PEG-Zn<sup>2+</sup>-tiouréia (b) [28].

O band-gap determinado pela diferença HOMO-LUMO para o complexo PEG-Zn<sup>2+</sup>-tiouréia foi calculado como sendo igual a 1,21 eV enquanto que a diferença HOMO-LUMO para o complexo PEG-Zn<sup>2+</sup> é igual a 4,70 eV. Os resultados indicaram claramente que o caráter nucleofílico do enxofre (S) poderia limitar o rendimento da reação e a pureza dos nanocristais de ZnS. De fato, observamos que o rendimento da reação foi abaixo do esperado e encontramos certa dificuldade em se obter nanocristais de ZnS de elevada pureza.

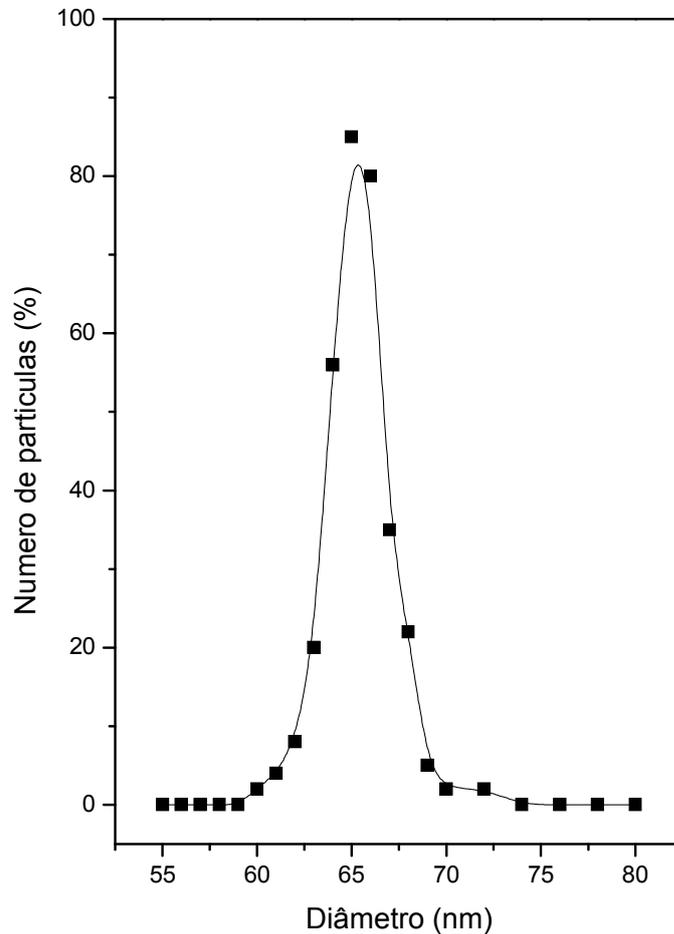
Nesse trabalho optamos pela síntese de nanocristais de ZnS em elevada temperatura e sob pressão, conforme descrito na parte experimental desse trabalho. A Figura 9 mostra a

caracterização das nanopartículas de ZnS por ambas as técnicas, MEV e MET. Observam-se partículas homogêneas sem a formação de quantidades significativas de agregados.



**Figura 9:** Micrografias MEV (A) e MET (B) dos nanocristais de ZnS obtidos via reação direta entre  $Zn^0$  e  $S_{(8)}$ .

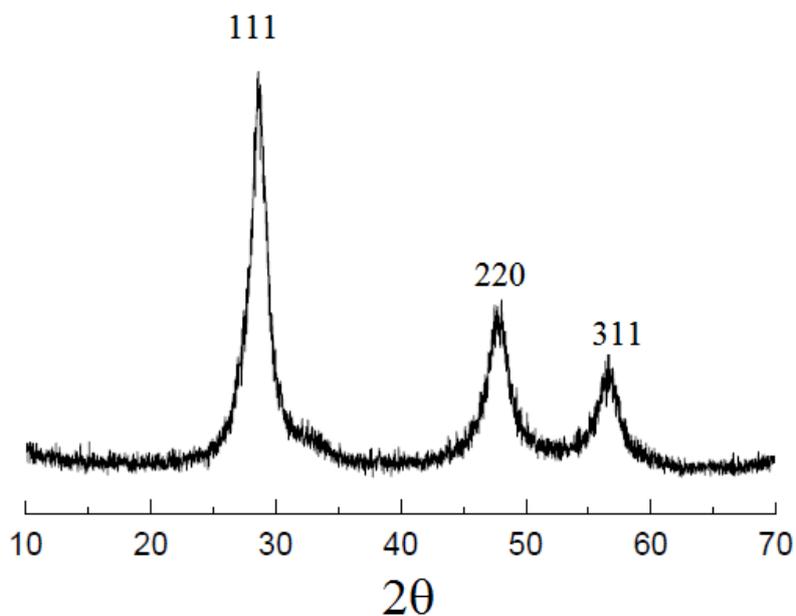
A Figura 10 abaixo ilustra a distribuição de tamanhos de partículas, obtida a partir da digitalização e segmentação das micrografias MEV. A monodispersão quanto à distribuição do tamanho de nanopartículas parece estar associada à um crescimento e nucleação controlada do cristal. Os cristais de ZnS possuem partículas homogêneas com um diâmetro médio na faixa de 60-70 nm e estreita distribuição de tamanho.



**Figura 10:** Distribuição do tamanho de nanopartículas de ZnS obtido a partir da digitalização das imagens MEV.

O difratograma de raios-X das nanopartículas de ZnS são apresentadas na Figura 11. Observa-se uma estrutura cristalina conhecida como esfarelita, ZnS-cúbica ou zinco-blenda. A estrutura cristalina do tipo esfarelita ou zinco-blenda é caracterizado pelo arranjo em tetraedros regulares, como mostrado na Figura 12, de maneira que um cátion no centro

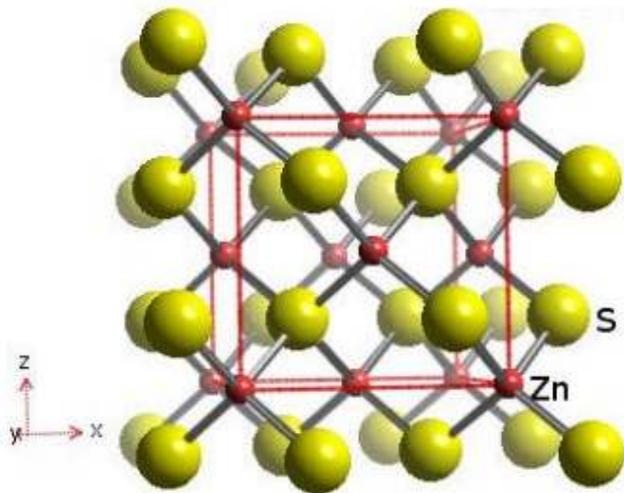
do tetraedro ( $Zn^{+2}$ ) é ligado a quatro átomos do ânion ( $S^{-2}$ ) e vice-versa, apresentando apresenta seqüência de camadas ABCABC.



**Figura 11:** Difratoograma de raios-X das nanopartículas de ZnS.

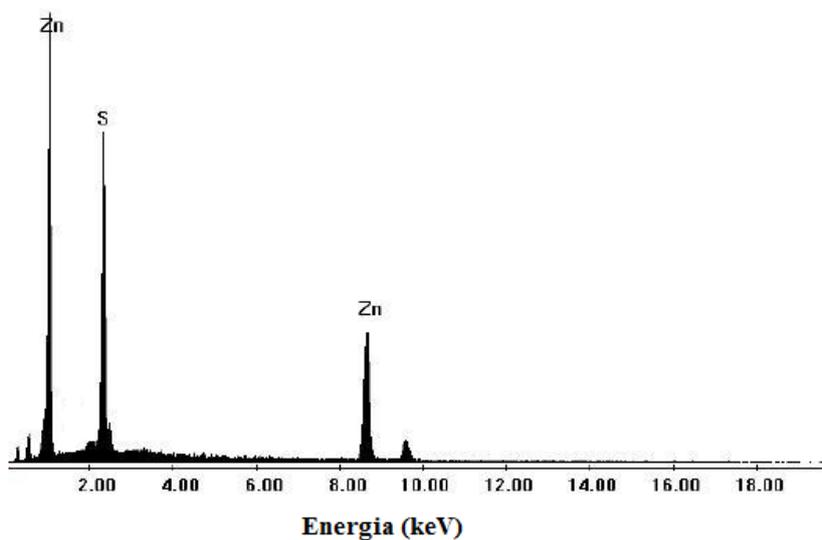
Os três picos a  $2\theta$  de  $28,9^\circ$ ,  $48,1^\circ$  e  $57,1^\circ$  corresponde aos planos (111), (220) e (311) da fase cúbica do ZnS (JCPDS 80-0020). Nenhum outro pico associado a alguma impureza foi observado no difratograma.

O alargamento dos picos indica a natureza nanocristalina do ZnS. O tamanho dos cristalitos calculados através do FWHM utilizando do pico de difração (111) e a equação de Debye–Scherrer forneceu um diâmetro médio dos nanocristais de ZnS igual a 61,5 nm, em boa concordância com os tamanhos estimados através das técnicas MET e MEV.



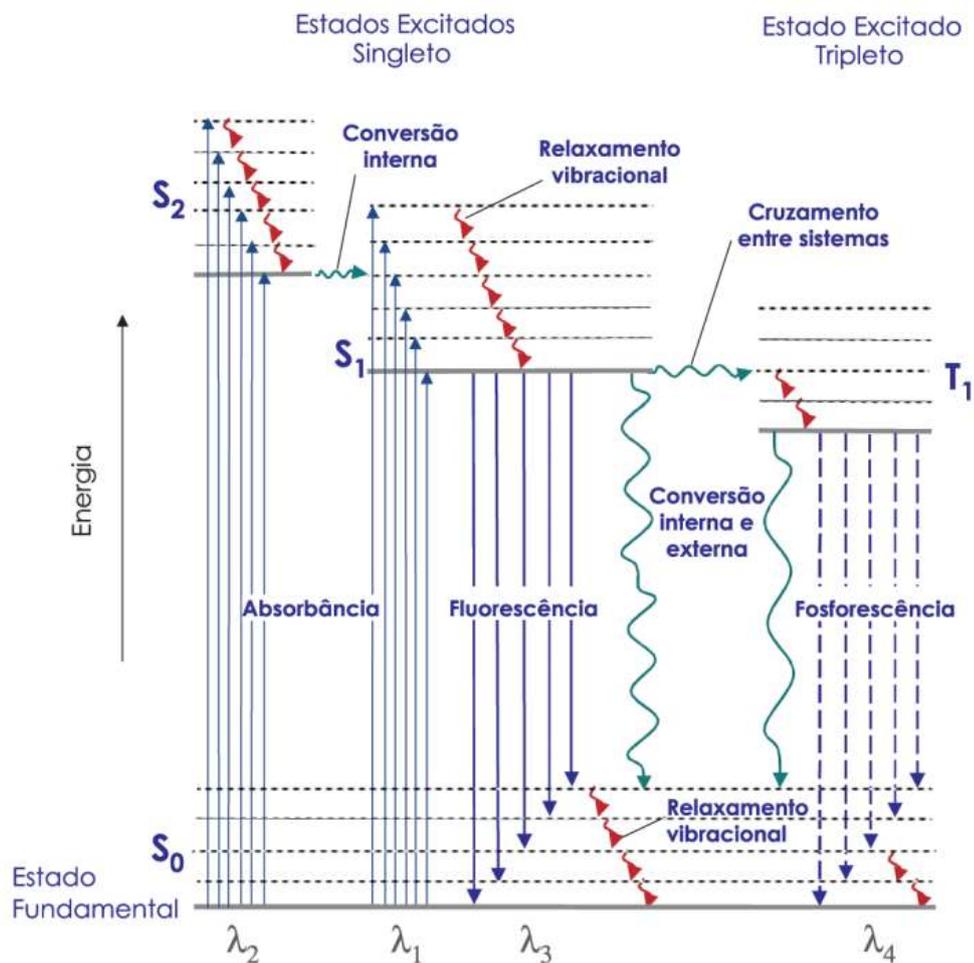
**Figura 12:** Estrutura cristalina do ZnS esfalerita.

As análises EDX foram utilizadas na verificação da pureza da cerâmica de ZnS sendo seu espectro apresentado na Figura 13. Observa-se somente a presença de Zn e S na amostra o que confirma que os nanocristais de ZnS são de elevada pureza.



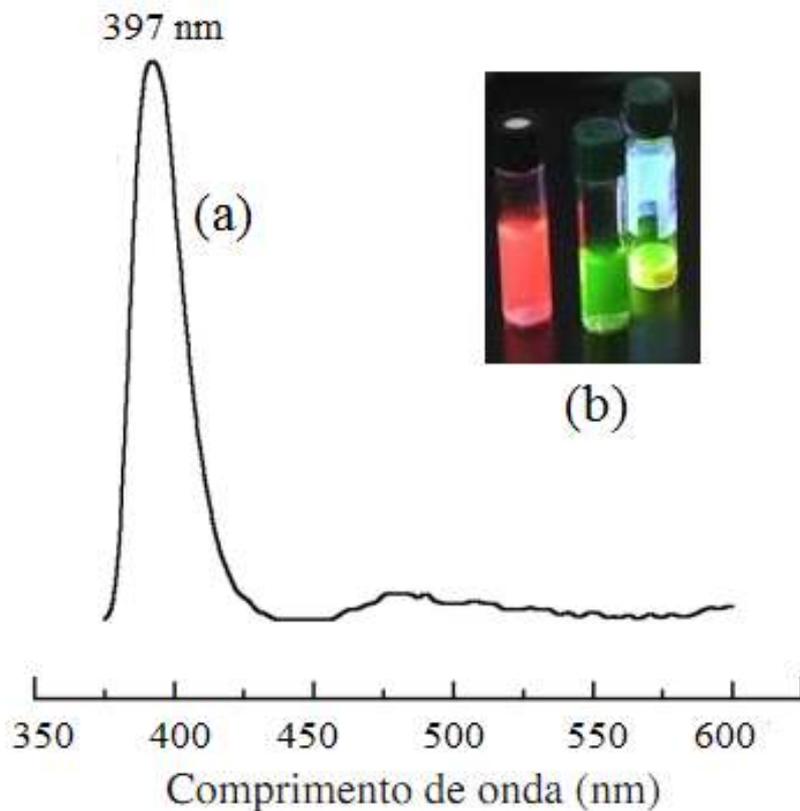
**Figura 13:** Espectro EDX das nanopartículas de ZnS.

A investigação das propriedades óticas dos pontos quânticos ZnS foi realizada por espectroscopia de luminescência. Os métodos baseados em fluorescência e fosforescência são aqueles nos quais a excitação da molécula é conduzida pela absorção de fótons. Como consequência, os dois fenômenos são muitas vezes referidos como métodos fotoluminescentes. Neste caso, a molécula é inicialmente excitada e promovida para um estado eletrônico de maior energia, cujo retorno ao estado fundamental é acompanhado pela emissão de radiação eletromagnética. Entretanto, vale recordar que a absorção do fóton em fluorescência e fosforescência envolve transições eletrônicas diferentes. A energia eletrônica responsável pela transição fluorescente não envolve uma mudança no número quântico do spin do elétron, e passa do nível  $S_0 \rightarrow S_1$ , emitindo radiação desde o nível excitado  $S_1$  para algum dos níveis vibracionais do estado eletrônico  $S_0$ . Como consequência, a fluorescência possui tempos de vida extremamente curtos, com a luminescência cessando quase que imediatamente, por volta de 10ns a 10  $\mu$ s. A fluorescência é emitida em comprimentos de onda maiores àqueles de excitação, deslocando-se entre 50 e 150 nm, quando comparado ao comprimento de onda da luz usado para a excitação da molécula. A relação entre fluorescência e fosforescência está ilustrada na Figura 14.



**Figura 14:** Diagrama de Jablonski, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.  $S_0$  é o estado eletrônico fundamental,  $S_1$  e  $T_1$  são os estados excitados singlete e tripleto de menor energia, respectivamente.  $S_2$  é um segundo estado excitado singlete. As setas retas representam os processos envolvendo fótons, e as setas onduladas são as transições não-radioativas (que não emitem radiação). Adaptado de [29].

O espectro de fotoluminescência do ZnS é mostrado na Figura 15. As nanopartículas de ZnS apresentaram uma forte emissão a 397 nm, em boa concordância com a literatura [30-31].



**Figura 15:** Espectro de fotoluminescência das nanopartículas de ZnS de diâmetro médio de 65 nm (a). As nanopartículas apresentam intensa fluorescência amarelada. À medida que o tamanho da nanopartícula ZnS diminui, existe o deslocamento para o vermelho (b). A cor vermelha são pontos quânticos ZnS de 11 nm.

#### 6.4. Encapsulamento e Caracterização das Magnetoesferas DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS

A evolução da nanotecnologia tem permitido a produção sistemas terapêuticos e de diagnósticos mais eficazes e estáveis, solucionando problemas associados à citotoxicidade e garantindo a estabilidade das nanopartículas sintéticas no meio fisiológico humano.

Nesse sentido, a substância ativa, ao invés de ser adicionada diretamente ao organismo fisiológico humano, ou seja, na forma livre, é encapsulada em vesículas nanométricas – as nanocápsulas. Estas vesículas proporcionam um modo diferente de carrear e distribuir as substâncias ativas, oferecendo vantagens como: 1) protegem o ativo da degradação por diminuir seu contato com o organismo humano, 2) proporcionam um maior desempenho da substância bioativa no organismo devido à sua elevada área superficial e evita a citotoxicidade.

Embora muitos metais sejam essenciais para o crescimento de uma grande variedade de organismos biológicos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, estes são requeridos em baixas concentrações e podem causar severos danos quando presentes nos tecidos biológicos em concentrações elevadas.

Os efeitos tóxicos dos metais sempre foram considerados como eventos de curto prazo, agudos e evidentes. Atualmente, ocorrências a médio e longo prazo são observadas, e as relações causa-efeito são pouco evidentes e quase sempre subclínicas. Geralmente esses efeitos são difíceis de serem distinguidos e perdem em especificidade, pois podem ser provocados por outras substâncias tóxicas ou por interações entre esses agentes químicos.

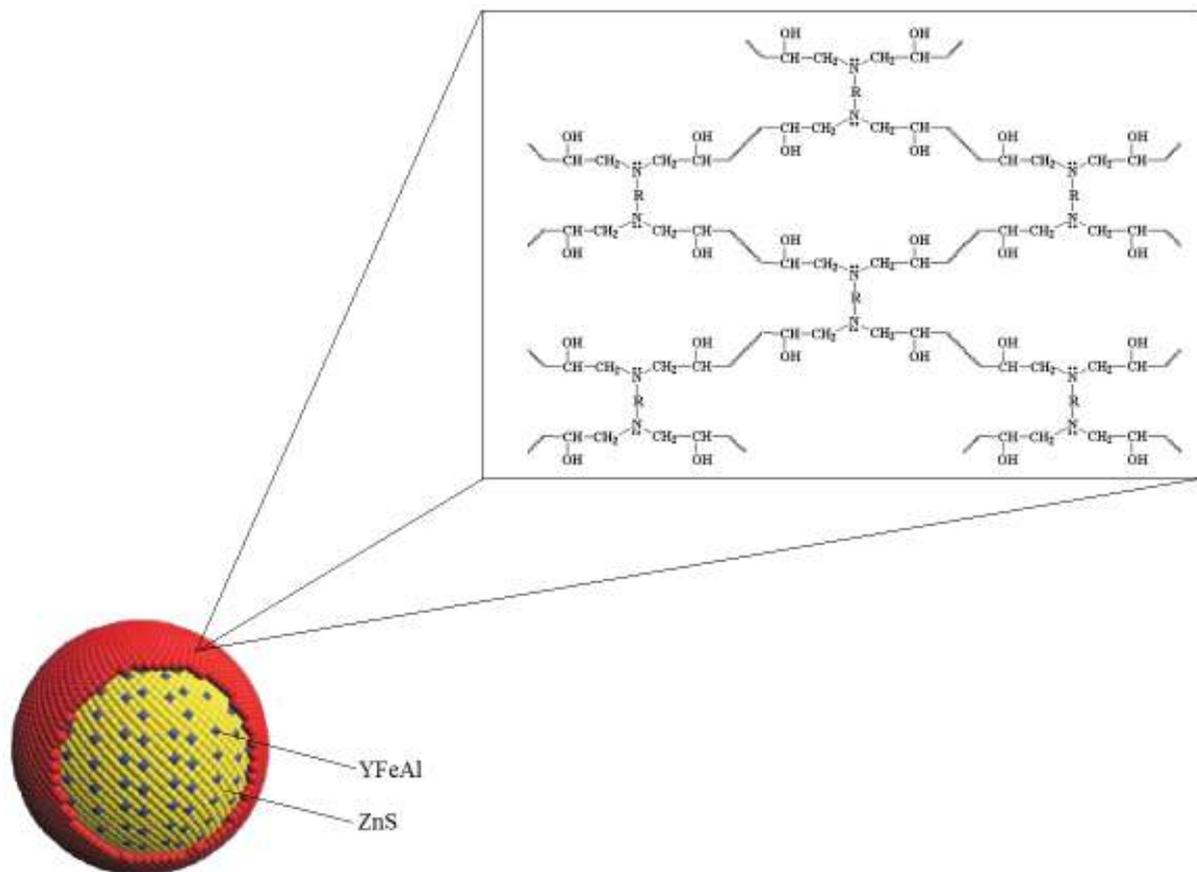
A manifestação dos efeitos tóxicos inerentes à intoxicação por metais pesados está associada à quantidade e pode distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando os processos bioquímicos, organelas e membranas celulares. A intoxicação por alumínio (Al) tem sido comumente associada a alterações neurológicas com graves danos ao tecido cerebral. Assim, inúmeros estudos consideram que o alumínio tem um papel extremamente importante no agravamento do mal de Alzheimer (demência precoce). Por outro lado, compostos de ítrio têm sido relatados como possuidores de significativo potencial carcinogênico [32].

Com base no exposto, o processo de encapsulamento das partículas magnéticas DGEBA/YFeAl-ZnS obtidas neste trabalho é de fundamental importância para a obtenção de materiais implantáveis com propriedades biocompatíveis com o tecido biológico. Neste trabalho as nanopartículas das cerâmicas de YFeAl/ZnS foram encapsuladas pelo polímero

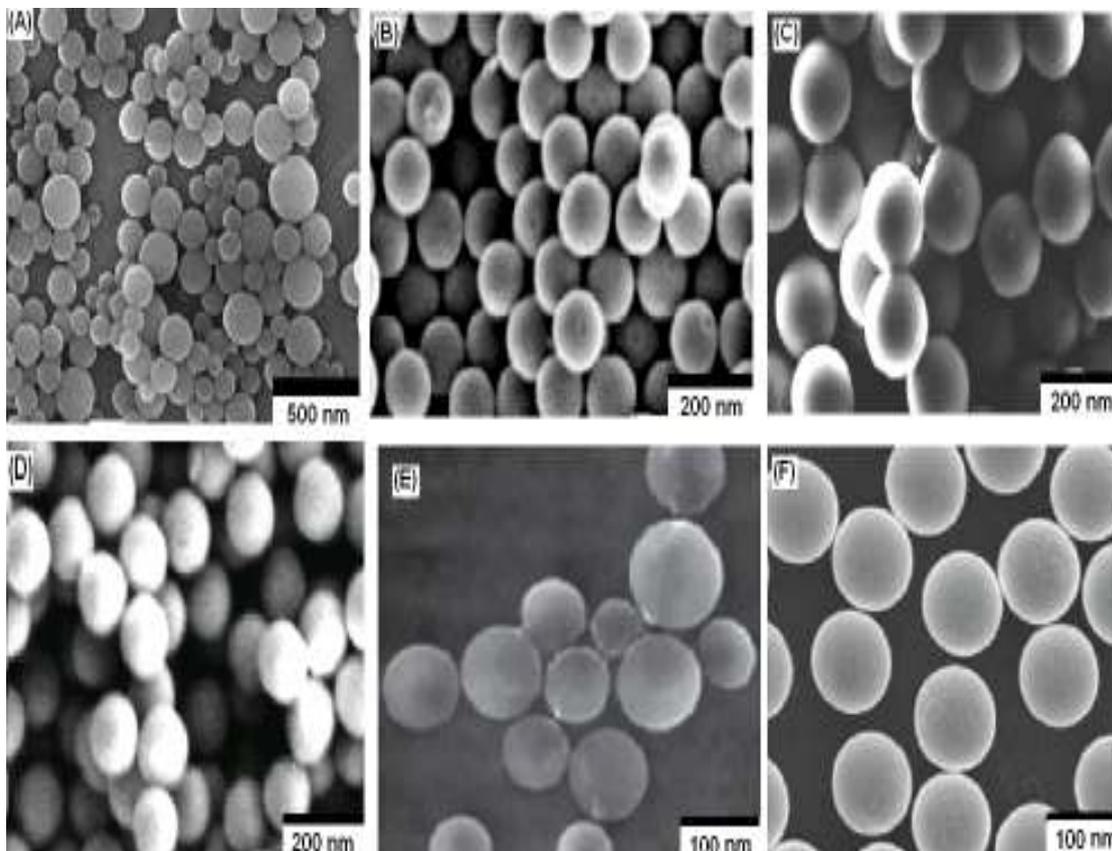
do DGEBA de forma a se obter um revestimento biocompatível com o tecido biológico, nesse caso o sangue.

A Figura 16 ilustra a composição química das nanocápsulas de DGEBA reticulada por aminas alifáticas, obtidas nesse trabalho. As nanocápsulas produzidas são constituídas por uma parede do DGEBA reticulado com a amina, um sistema de hemocompatibilidade já comprovada em nossos laboratórios [10] e uma cavidade central na qual as nanopartículas de YFeAl e ZnS estão dispersas. Adicionalmente a parede da nanocápsula pode ser funcionalizada com a rodamina.

A morfologia das nanoesferas de polímeros epoxídicos transportadoras do nanocompósito de DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS foi analisada através da microscopia MEV. A Figura 17 mostra micrografias MEV das nanoesferas do polímero epoxídico puro e, nanoesferas contendo o nanocompósito fluorescente DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS. Através das análises MEV observam-se superfícies lisas e aparentemente sem a presença de poros indicando que o nanocompósito DGEBA/YFeAl-ZnS preenche o volume livre entre as cadeias do polímero epoxídico sem causar a deformação das nanoesferas.



**Figura 16:** Ilustração das nanoesferas de DGEBA transportadoras de YFeAl e ZnS.

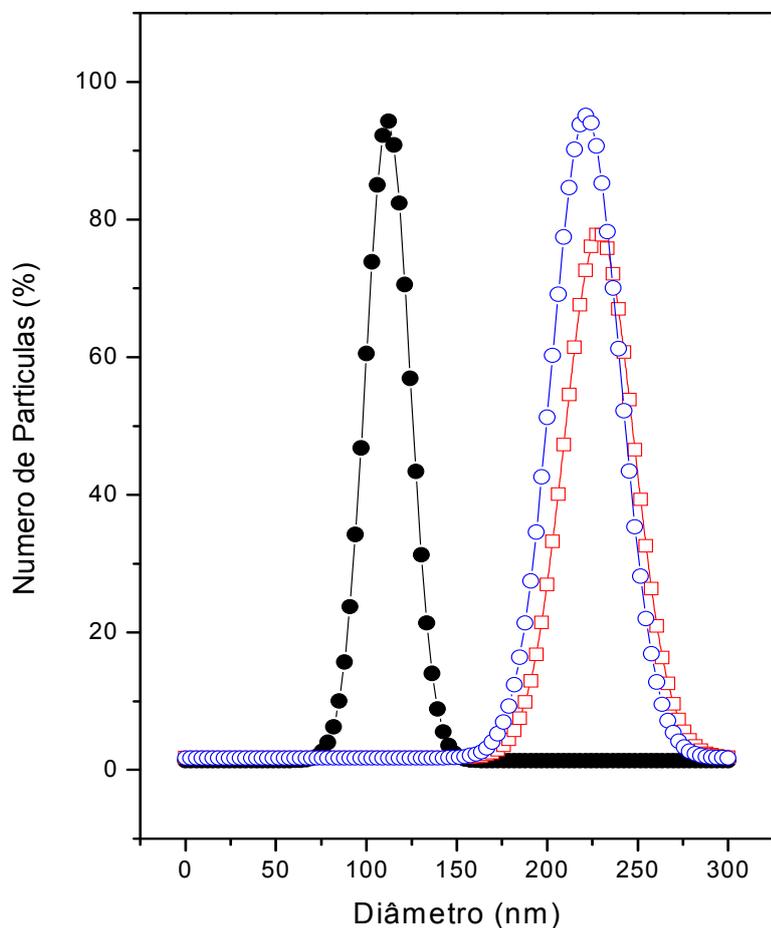


**Figura 17:** Micrografias MEV dos sistemas: DGEBA/YFeAl (A), DGEBA/YFeAl/Rh (B), DGEBA/ZnS (C), DGEBA/YFeAl (D), DGEBA (E, F).

Um dos fatores mais importantes para o tratamento de neoplasias através da hipertermia magnética é a distribuição dos tamanhos das partículas. Uma distribuição de tamanhos homogênea favorece a terapia por hipertermia uma vez que proporciona uma distribuição homogênea da temperatura dentro do tecido tumoral. A modelagem das nanoesferas (distribuição de tamanho) obtidas a partir da polimerização em suspensão não possui, ainda, uma teoria definitiva que permita definir estratégias de controle da curva de distribuição, em parte devido a não haver consenso sobre os mecanismos de coalescência de partículas envolvidos no processo de polimerização. Sabe-se, entretanto que o tamanho

da nanopartícula depende do tipo de monômeros, concentração de estabilizante, condições de agitação e geometria do reator [33]. Entretanto, outros fatores como a deposição de polímero pré-formado pode conduzir à diminuição de tamanho de partícula em relação à suspensão, devido provavelmente à redução da energia livre interfacial do sistema ou, mediante um efeito estabilizador do polímero ao redor das gotículas inicialmente formadas [34].

A Figura 18 ilustra a distribuição do tamanho das nanoesferas de DGEBA/YFeAl-ZnS encapsuladas com o polímero epoxídico biocompatível. Observa-se uma distribuição média de tamanho de partículas no intervalo entre 100-125 nm para as nanoesferas do polímero epoxídico puro (DGEBA) e 225 nm para as nanoesferas carregadas com as nanopartículas ótica/magneticamente ativas. Uma vez que o diâmetro médio dos capilares sanguíneos situa-se entre 4 a 16  $\mu\text{m}$ , o diâmetro das nanoesferas de polímero epoxídico transportadoras de DGEBA/YFeAl-ZnS obtidas neste trabalho parece ser conveniente para o diagnóstico e tratamento de processos que envolvam a angiogênese tumoral.

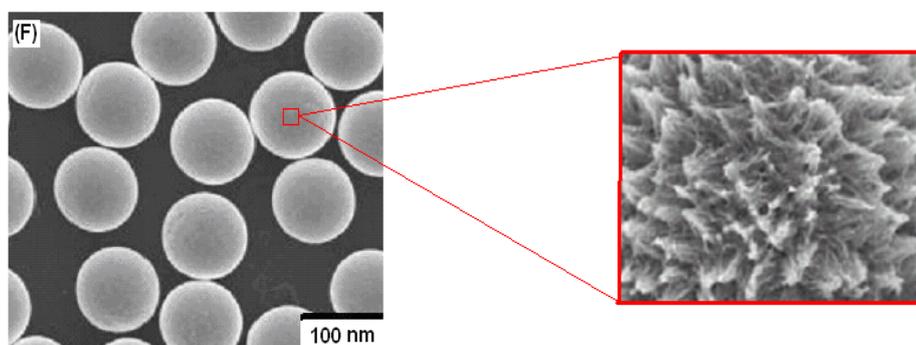


**Figura 18:** Distribuição do tamanho das nanopartículas (%) de DGEBA (●), DGEBA/ZnS (□), e DGEBA/YFeAl (○). O tamanho de partículas foi analisado por dispersão a laser. A distribuição de tamanhos está normalizada.

Uma análise mais rigorosa da superfície das nanopartículas através do MEV mostra que a superfície das nanopartículas são porosas, com diâmetro de poro em torno de 5 nm o caracteriza a superfície como nanoporosa (Figura 19). A formação dos poros está provavelmente ligada ao processo de reticulação na micela reversa e posterior remoção do

solvente sob vácuo. O diâmetro de poro observado na superfície das nanoesferas são suficientes para reter as nanopartículas de YFeAl e ZnS mas, podem ser suficientemente grandes para a liberação planejada de um quimioterápico.

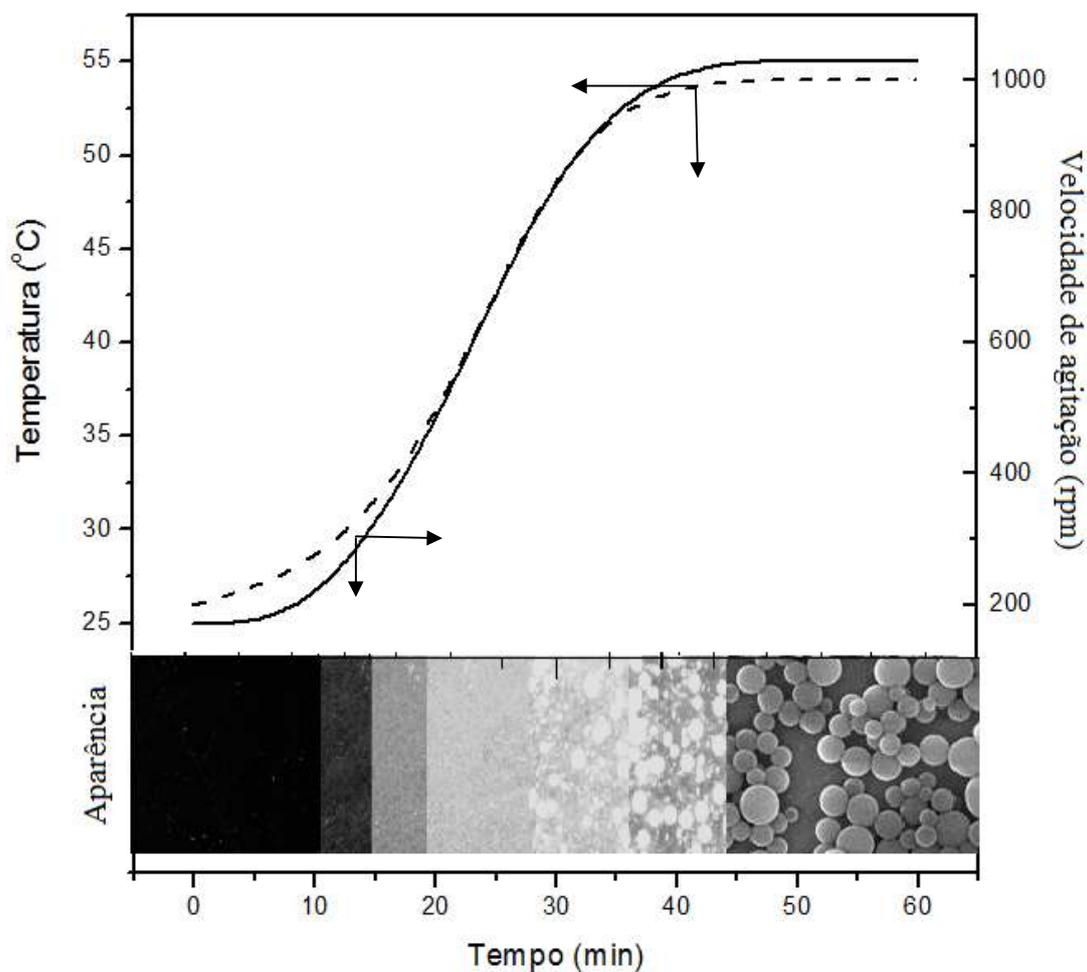
O volume total dos poros no material reticulado, bem como a distribuição dos tamanhos desses não foi medido, mas é fato que parecem ser dependentes das condições experimentais durante o processo de síntese uma vez que a utilização de diluentes não solvatantes pode resultar em grandes volumes de poros distribuídos nas nanoesferas. Variáveis de processos tais como velocidade de agitação e a temperatura de reticulação do DGEBA influenciaram significativamente a morfologia das nanoesferas de DGEBA, conforme é ilustrado na Figura 20.



**Figura 19:** Ampliação da superfície das nanoesferas mostrando a superfície rugosa e porosa formada durante o processo de reticulação do DGEBA. (Aumento: 100.000x).

Observa-se na Figura 20 que existe uma região crítica de temperatura e velocidade de agitação ideal para a formação das nanoesferas. Abaixo da temperatura e velocidade de agitação críticas existe a aglomeração ou quebra das nanocápsulas. Nesse sentido, um controle rígido da temperatura de reticulação das nanoesferas de DGEBA e da velocidade de agitação é necessário para a produção de nanocápsulas de tamanho uniforme. Uma vez que a aglomeração ocorre na região de circulação, onde a velocidade de cisalhamento é mais baixa e o processo de quebra ocorre nas regiões onde a velocidade de cisalhamento é elevada deve-se aperfeiçoar o tipo de agitador a se utilizar e garantir uma homogeneidade

no processo de agitação. Nossos trabalhos indicaram que a velocidade de agitação adequada para esse trabalho utilizando micelas reversas foi de 1200 rpm, mantendo-se a temperatura de reticulação em torno de 53 °C.

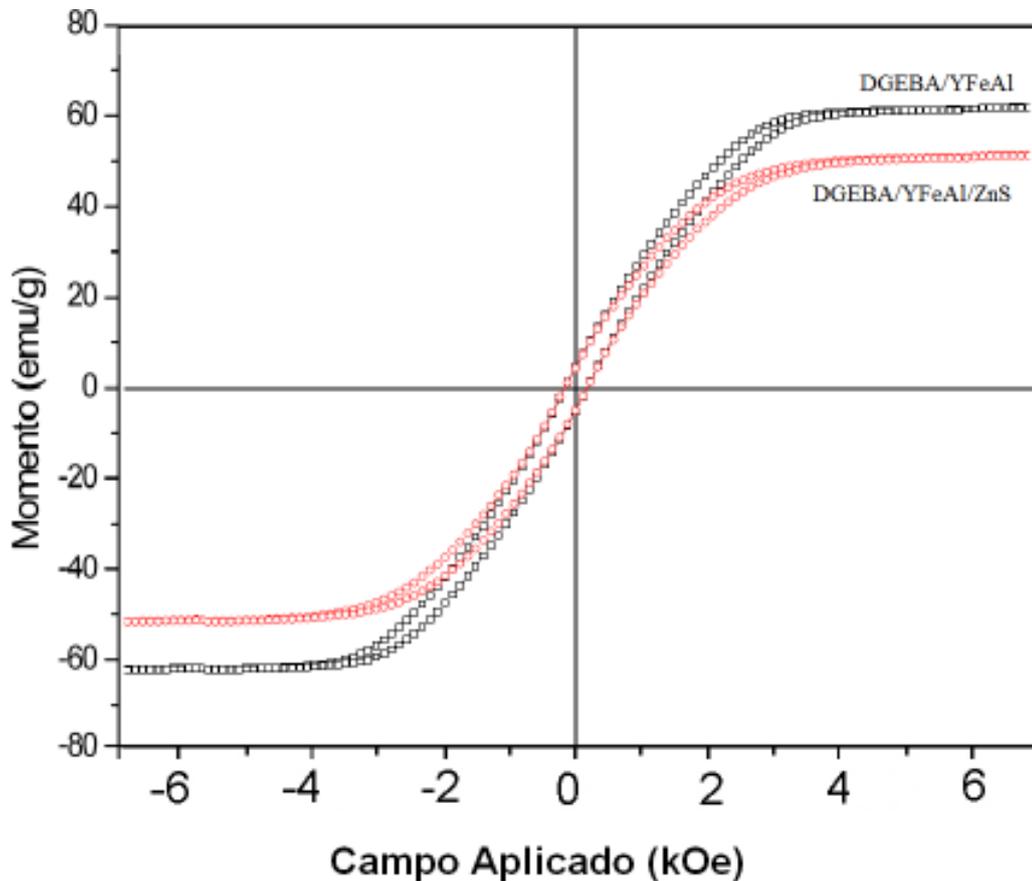


**Figura 20:** Influência da temperatura e da velocidade de agitação na formação de nanocápsulas de DGEBA transportadoras de YFeAl ou ZnS.

#### **6.4.1. Estudo das propriedades magnéticas das nanoesferas transportadoras de YFeAl/ZnS**

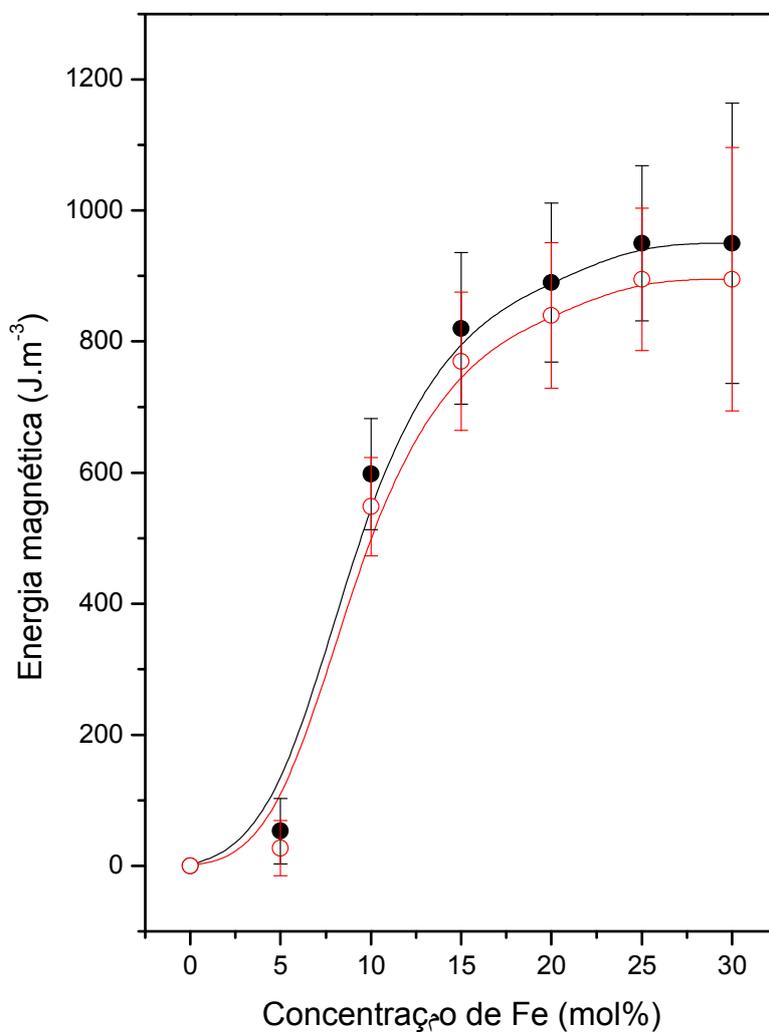
A análise do comportamento magnético das nanoesferas de DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS preparadas é de fundamental importância para a análise de como esses materiais irão se comportar frente à aplicação de determinado campo magnético. O comportamento desejado para as nanoesferas quanto à sua aplicação na magnetohipertermia é o de paramagnetismo ou superparamagnetismo, caracterizado pelo alinhamento dos dipolos magnéticos do material apenas pela presença de um campo magnético.

As curvas de magnetização das nanoesferas transportadoras de DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS são apresentadas na Figura 21. É possível observar que houve uma variação muito pequena na histerese magnética para ambos os materiais, caracterizando o comportamento de paramagnetismo, ou seja, quando o campo magnético externo é removido as nanopartículas não retêm o magnetismo. Entretanto, observou-se uma diferença nos valores de saturação magnética sendo de  $53,7 \text{ emu.g}^{-1}$  para as nanoesferas de DGEBA/YFeAl/ZnS e  $60,7 \text{ emu.g}^{-1}$  para as nanoesferas de DGEBA/YFeAl. A saturação magnética das nanoesferas corresponde ao ponto em que o aumento da intensidade do campo magnético aplicado não promove o aumento da magnetização do material. A magnetização remanescente, correspondente à magnetização do material que permanece após a remoção do campo magnético externo foi de  $3,4 \text{ emu.g}^{-1}$  para as nanoesferas de DGEBA/YFeAl e  $3,1 \text{ emu.g}^{-1}$  para as nanoesferas de DGEBA/YFeAl/ZnS, aumentando à medida que o valor da saturação magnética aumenta. Os resultados indicam o comportamento de paramagnetismo dos materiais uma vez que esses permanecem magnetizados apenas na presença de um campo magnético externo. A pequena diferença na magnetização das nanoesferas de DGEBA/FeYAl/ZnS pode estar associado à variação da massa de FeYAl durante o encapsulamento do nanocompósito híbrido FeYAl/ZnS.



**Figura 21:** Curva de magnetização das nanoesferas de DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS à temperatura ambiente (27 °C).

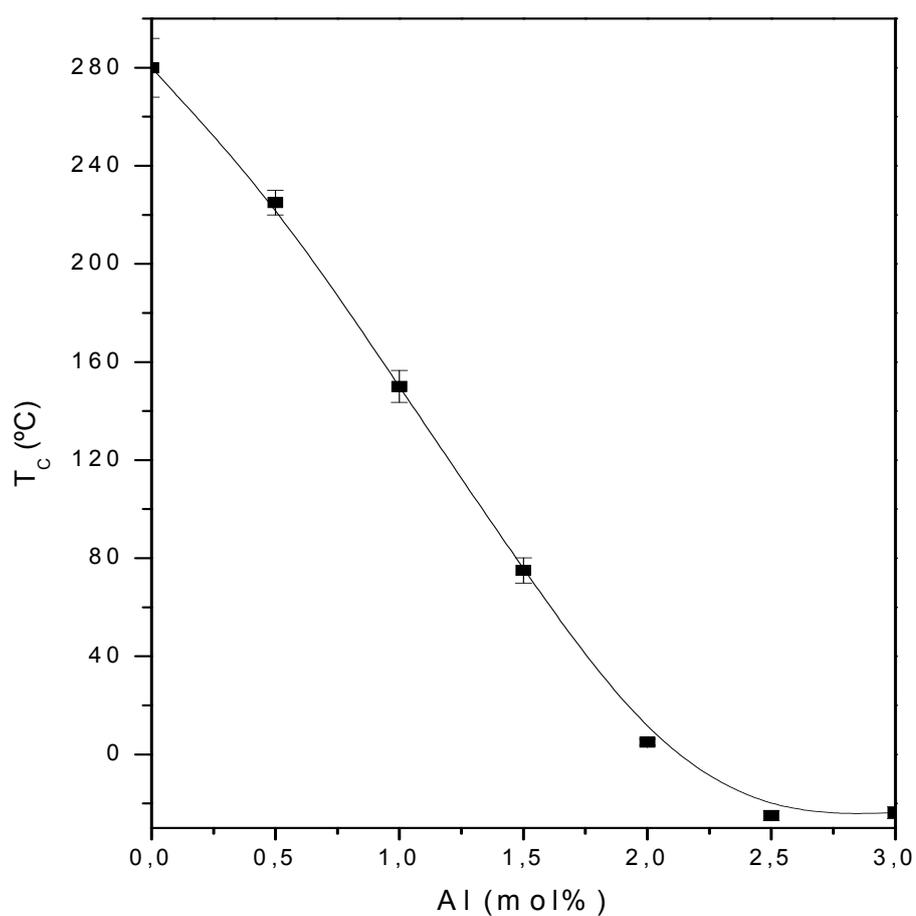
Considerando-se a área sob a curva na Figura 21, calculou-se a energia magnética presente nas cerâmicas ferromagnéticas quando estas foram submetidas a um campo magnético. A Figura 22 faz referência à energia de magnetização em função da concentração de ferro. Observa-se uma forte dependência da energia magnética estocada em função da concentração de Ferro (mol %) em ambas as amostras de nanoesferas, DGEBA/YFeAl e DGEBA/YFeAl/ZnS.



**Figura 22:** Energia Magnética ( $\text{J.m}^{-3}$ ) em função da concentração de ferro nas nanoesferas de DGEBA/YFeAl (●) e DGEBA/YFeAl/ZnS (○).

O tratamento por hipertermia exige uma elevação na temperatura do sistema quando este é submetido a um campo magnético. A Figura 23 mostra a evolução da temperatura

quando as nanoesferas de DGEBA/YFeAl-ZnS são submetidas a um campo magnético oscilante. Observa-se que a temperatura ideal para o tratamento por magnetohipertermia, 41 °C, é atingida quando a estequiometria de Fe é igual a 1,7 (x=1,70).



**Figura 23:** Temperatura de transição de Curie (T<sub>c</sub>) em função da concentração de Al (x) em mol% na cerâmica de  $YFe_{3-x}Al_xO_{12}$ .

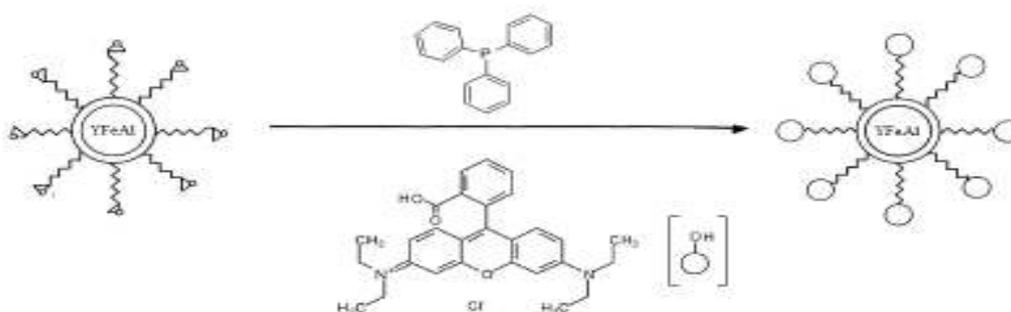
#### 6.4.2. Propriedades fluorescentes das nanoesferas de DGEBA/YFeAl/Rh

Atualmente, existe grande destaque para os diversos estudos relacionados às áreas de nanofotônica e biofotônica, particularmente a utilização de nanoesferas fluorescentes em medicina como marcadores tumorais. Tais materiais emergem modernamente como muito promissoras para o mapeamento de tumores na medicina oncológica.

A utilização de nanopartículas biocompatíveis na detecção das células tumorais ainda em seu estágio inicial pode permitir o diagnóstico e a terapia da doença ainda em seus estágios iniciais o que pode beneficiar o paciente quanto à possibilidade de controle do câncer.

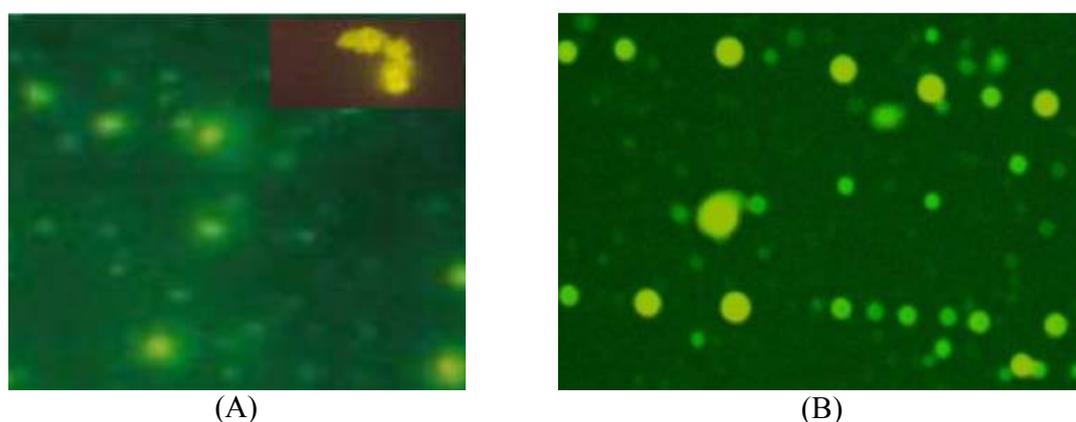
A Figura 24 mostra a micrografia de epifluorescência de nanoesferas de DGEBA/YFeAl-ZnS. E DGEBA/YFeAl-Rh. As micrografias foram obtidas no estado sólido e, em solução tampão fosfato-salina (PBS) pH 7.0 simulando o fluido fisiológico humano. As amostras foram excitadas com luz de comprimento de onda igual a 350 nm.

A rodamina B foi imobilizada sobre grupos epóxi residuais das nanoesferas de DGEBA/YFeAl através da esterificação entre os grupos ácido carboxílico da rodamina B e os grupos epóxi superficiais das nanoesferas utilizando trifenil fosfina como agente catalisador. O Esquema 2 exemplifica a rota de síntese utilizada.



**Esquema 2:** Ilustração do acoplamento entre a rodamina B e as nanoesferas de DGEBA/YFeAl.

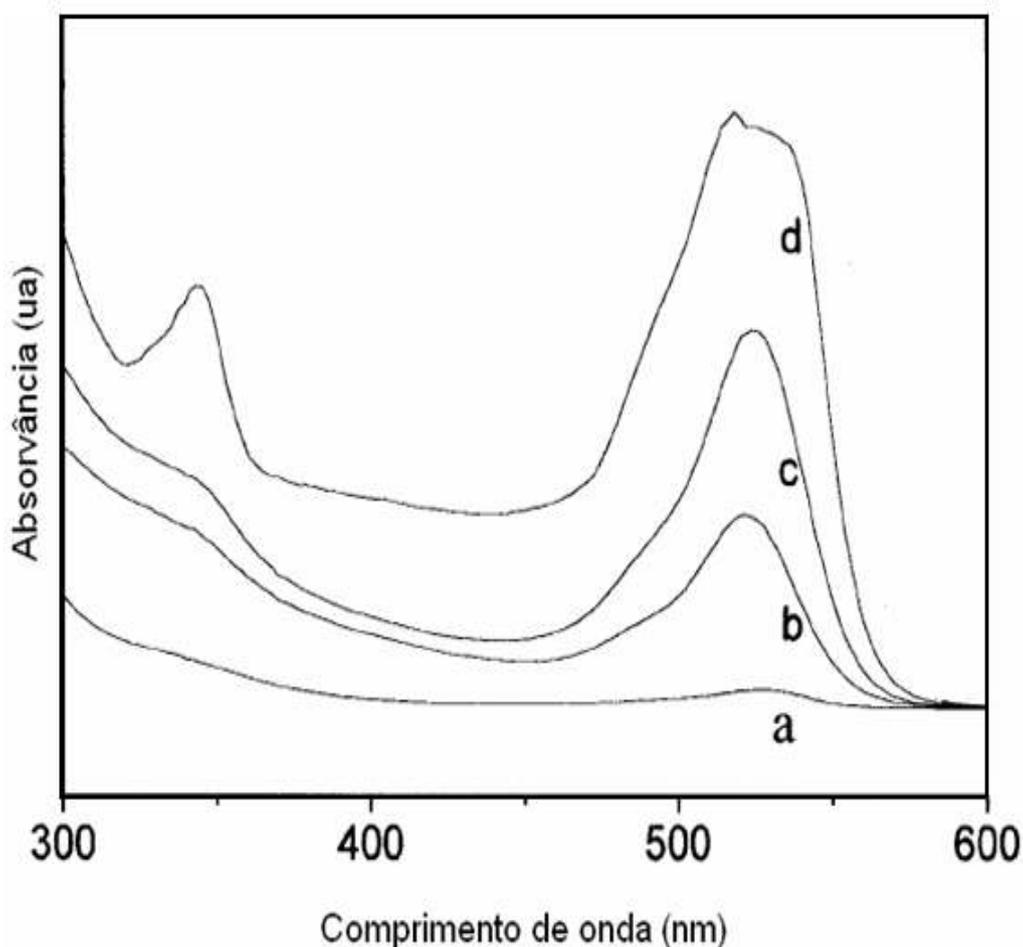
Observa-se que ambas as nanoesferas DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh apresentam uma intensa fluorescência (Figura 24). Uma vez que as nanoesferas do polímero epoxídico puro não são fluorescentes, as propriedades fluorescentes observadas correspondem aos pontos quânticos ZnS sobre a superfície da cerâmica ferromagnética YFeAl e da rodamina imobilizada na superfície das nanoesferas.



**Figura 24:** Micrografia de epifluorescência de nanoesferas de DGEBA/YFeAl/ZnS (A) e DGEBA/YFeAl/Rh (B) em solução fisiológica PBS pH 7,4. As micrografias de epifluorescência foram obtidas em um microscópio invertido (Diaphot-TMD, Nikon, Tokyo, Japan) equipado com iluminação epifluorescente. Foi utilizado um filtro ND32 para reduzir a intensidade da luz e objetivas com aumento de 1000X. As amostras foram excitadas com luz de comprimento de onda de 350 nm (DGEBA/YFeAl/ZnS (A)) e 550 nm (DGEBA/YFeAl/ZnS(B)).

Observa-se ainda nas imagens de epifluorescência que não existe extinção significativa na luminescência das nanoesferas carregadas com a cerâmica magneto-oticamente ativa em função da constante dielétrica do meio indicando que as nanoesferas carregadas com DGEBA/YFeAl-ZnS podem ser utilizadas como um biomarcador efetivo para aplicações na medicina diagnóstica. Os biomarcadores apresentam a intensidade de luminescência observado à temperatura ambiente (27°C) das nanoesferas do polímero epoxídico carregadas com DGEBA/YFeAl-ZnS (A) e de nanoesferas do polímero epoxídico puro (B).

O espectro de absorção das amostras DGEBA/YFeAl/RhB com diferentes concentrações são apresentados na Figura 25. Observa-se que a baixas concentrações, a interação entre as nanopartículas é insignificante, provavelmente devido à grande distância média entre elas. À medida que aumenta a concentração das nanoesferas de DGEBA/YFeAl/Rh o espectro de absorção parece conter contribuições de agregados que levam à um alargamento nas bandas de absorção (Figura. 25).



**Figura 25:** Espectro de absorção de DGEBA/YFeAl/RhB para várias concentrações de RhB na superfície das nanoesferas: 0,2 mM (a), 0,4 mM (b), 0,6 mM(c), 0,8 mM(d). O espectro foi obtido em solução tampão PBS pH 7,4.

### **6.4.3 -Estudo da biocompatibilidade das nanoesferas de DGEBA transportadoras de YFeAl, ZnS e RhB**

#### **6.4.3.1. Ensaio de citotoxicidade**

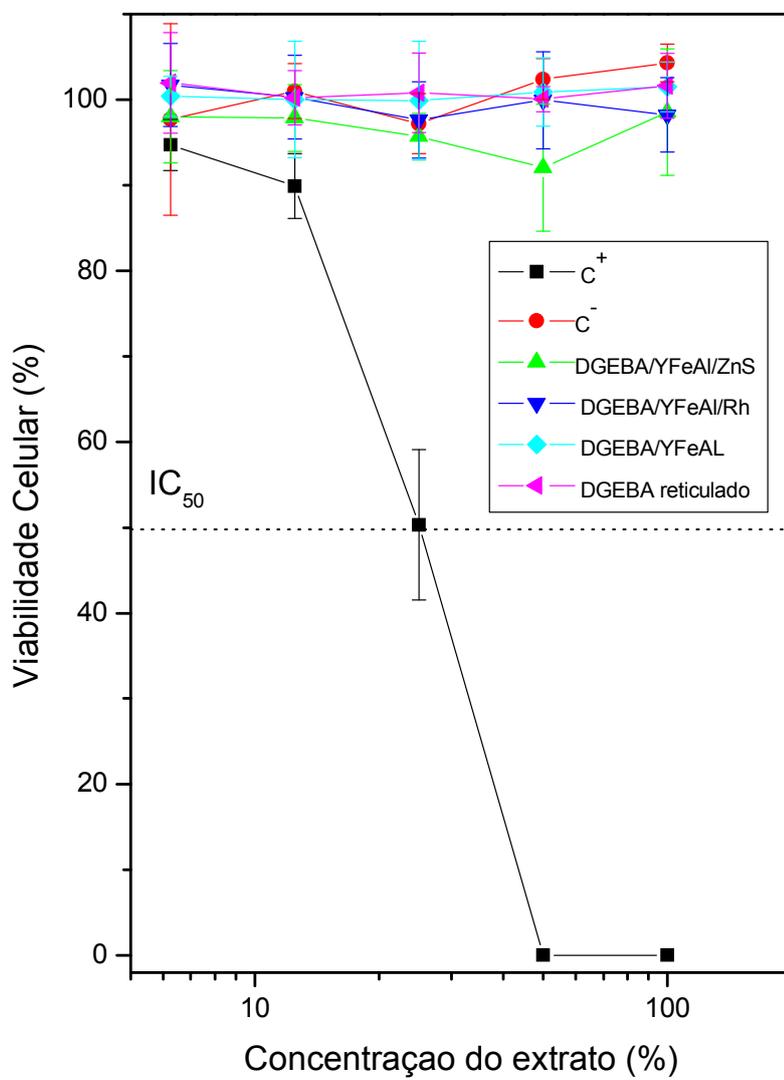
As pesquisas sobre a aplicação de nanopartícula magnéticas para o tratamento do câncer através da magneto-hipertermia e a utilização de pontos quânticos na medicina diagnóstica tenham produzido resultados alentadores. Entretanto, do mesmo modo que a nanoescala contribui para a medicina terapêutica e diagnóstica a mesma também contribui para sua toxicidade imprevisível com os modelos teóricos atuais. As propriedades que mais influem na toxicidade das nanopartículas são a composição química, área superficial e distribuição de tamanho. Recentemente, embora não conclusivos; vários estudos a nível celular em experimentação *in vitro* e em animais indicam que as nanopartículas podem ativar o mecanismo da inflamação, inclusive mecanismos que envolvem apoptose, necrose e inibição da proliferação celular [36-44]. Tais pesquisas ressaltam a importância dos ensaios em escala *in-vitro* no estudo da toxicidade das nanopartículas.

Muitos métodos *in vitro*, para pesquisa de citotoxicidade em biomateriais, foram padronizados utilizando-se culturas celulares. Estes testes de citotoxicidade consistem em submeter o material direta ou indiretamente ao contato com uma cultura de células de mamíferos, verificando-se as alterações celulares como a lise das células (morte celular), inibição de crescimento celular e outros efeitos ocasionados pelo biomaterial e/ou seus extratos.

O material comprovadamente citotóxico é geralmente representado por aquele que libera um elemento ou composto químico em quantidade suficiente para causar a morte celular. A morte celular é causada pela inibição de vias metabólicas. O número de células afetadas indica a dose e potência da substância analisada capazes de matar as células. O conceito de dose liberada do composto tóxico é considerado equivalente à dose absorvida pelas células. O estudo da viabilidade celular após incubação do meio de cultura das linhagens celulares com as nanoesferas contendo DGEBA/YFeAl, DGEBA/YFeAl/ZnS e

DGEBA/YFeAl/Rh foi realizado segundo a norma ISO 10.993-5 utilizando-se o fenol como controle positivo e como controle negativo o polietileno de alto peso molecular [44]. O controle negativo deve ser um material que não produz resposta citotóxica. O controle positivo por sua vez é um material que ocasiona em resposta citotóxica reprodutível. O parâmetro mais utilizado para avaliação da toxicidade é a viabilidade celular, que pode ser evidenciada com auxílio de corantes vitais.

Na Figura 26, são apresentadas as curvas de viabilidade celular das nanoesferas DGEBA/YFeAl, DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh. Todas as amostras apresentaram comportamento semelhante ao controle negativo, não tóxico, com  $IC_{50\%}$  maior que 50%. Portanto, as nanoesferas magnéticas sintetizadas neste trabalho apresentaram resultados semelhantes, como materiais não citotóxicos a células de mamíferos em condições *in vitro*.



**Figura 26:** Ensaio de citotoxicidade com células de mamífero das nanoesferas transportadoras das nanopartículas YFeAl, ZnS e Rh. C<sup>+</sup> e C<sup>-</sup> representam os controles positivos e negativos, respectivamente.

#### **6.4.3.2 Potencial zeta das nanopartículas DGEBA/YFeAl, DGEBA/ZnS e DGEBA/RhB**

O potencial zeta foi verificado com a finalidade específica de se determinar a carga externa das nanopartículas. Esta propriedade pode determinar o caráter mucoadesivo das nanopartículas. A mucoadesão permite aumentar a retenção das nanopartículas no epitélio o que promoveria a absorção das nanopartículas e uma maior eficácia terapêutica [45].

As superfícies das nanoesferas epoxídicas em suspensão podem conter grupamentos químicos (grupos epoxídicos hidrolisados ou aminas) que levam à adsorção de íons e/ou proteínas capazes de conferir uma carga de superfície à partícula. Neste sentido, a medida da carga da nanoesfera é muito importante na área de física médica uma vez que permite inferir propriedades diretamente relacionadas à estabilidade física e química da suspensão no fluido fisiológico.

Em se tratando de materiais nanoestruturados é conveniente que o sistema apresente uma carga de superfície elevada, uma vez que grandes forças repulsivas tendem a evitar a agregação em função das colisões ocasionais das nanopartículas adjacentes.

O potencial zeta reflete o potencial de superfície das nanoesferas de resinas epoxídicas, e pode ser influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas e proteínas existentes no fluido fisiológico.

Os valores de potencial zeta para as nanoesferas DGEBA/YFeAl, DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/Rh são apresentados na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1 - Valores de Potencial Zeta (mV) das suspensões de nanoesferas de resinas epoxídicas obtidas neste trabalho através do método de Anemometria Laser Doppler.

Tipo de Nanoesferas	$\zeta(\text{mV}) \pm \sigma$
DGEBA	$(27,20 \pm 1,65)$
DGEBA/YFeAl	$(35,20 \pm 2,10)$
DGEBA/ZnS	$(45,30 \pm 1,98)$
DGEBA/RhB	$(19,20 \pm 3,21)$
DGEBA/YFeAl/RhB	$(31,90 \pm 2,31)$

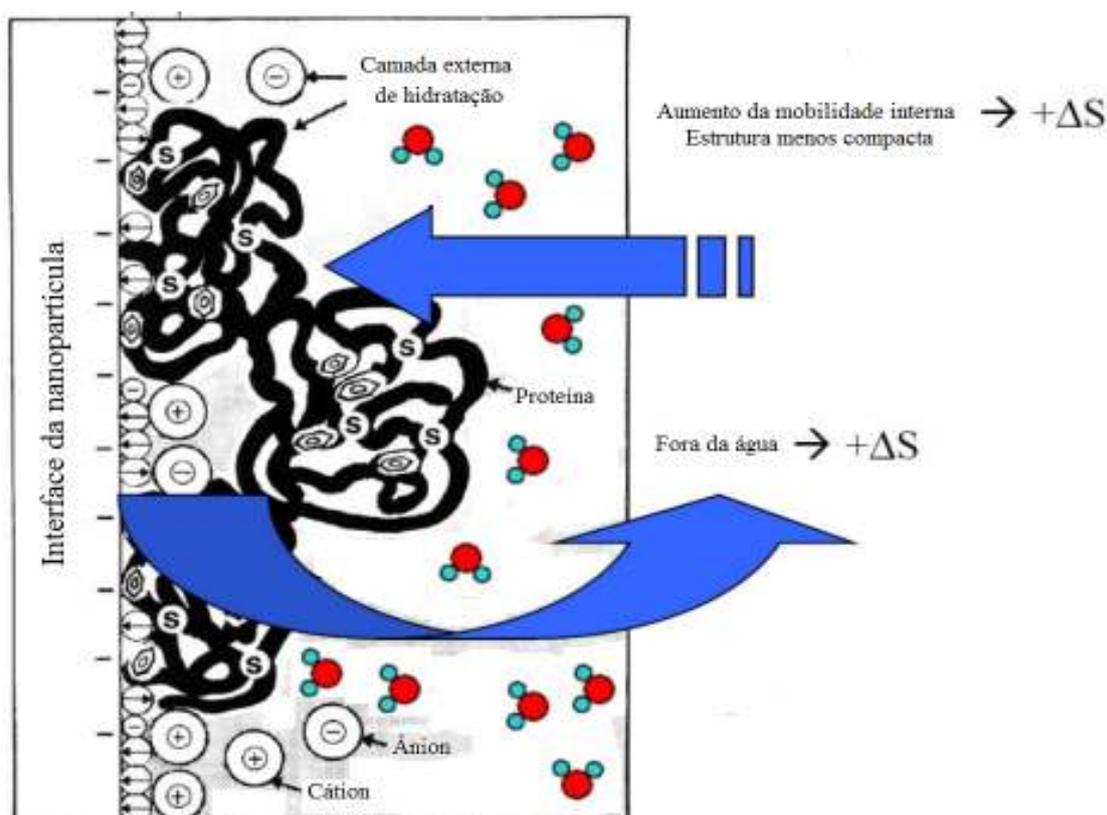
As nanopartículas de DGEBA, reticulada com a amina DETA, apresentou uma carga de superfície positiva e valor de potencial zeta de 27,20 mV. De uma maneira geral as nanoesferas de DGEBA contendo as partículas magnéticas de YFeAl, os pontos quânticos ZnS e a rodamina B apresentaram cargas de superfície de elevado valor de potencial zeta em módulo ( $> 20$  mV) o que parece indicar a inibição da formação de agregados, uma vez que forças repulsivas tendem a evitar possíveis agregações das nanopartículas. Os valores de potencial zeta obtidos para os sistemas DGEBA/YFeAl, DGEBA/ZnS e DGEBA/YFeAl/RhB parecem ser particularmente interessantes para a terapia de tumores uma vez que as propriedades adesivas destes sistemas no tecido endotelial pode propiciar uma melhora significativa da penetração do nanosistema em regiões tumorais. As nanoesferas com cargas positivas em sua superfície são capazes de aderirem à mucosa e abrir de forma transitória as uniões entre as células epiteliais adjacentes favorecendo assim a terapia e o diagnóstico de tumores [46].

#### 6.4.3.3. Adsorção de Protéica

A importância atribuída à interação entre proteínas e superfícies sintéticas é geralmente considerada como um passo fundamental para a aplicação bem sucedida de qualquer biomaterial. Após o contato com fluidos fisiológicos, muitas proteínas adsorvidas

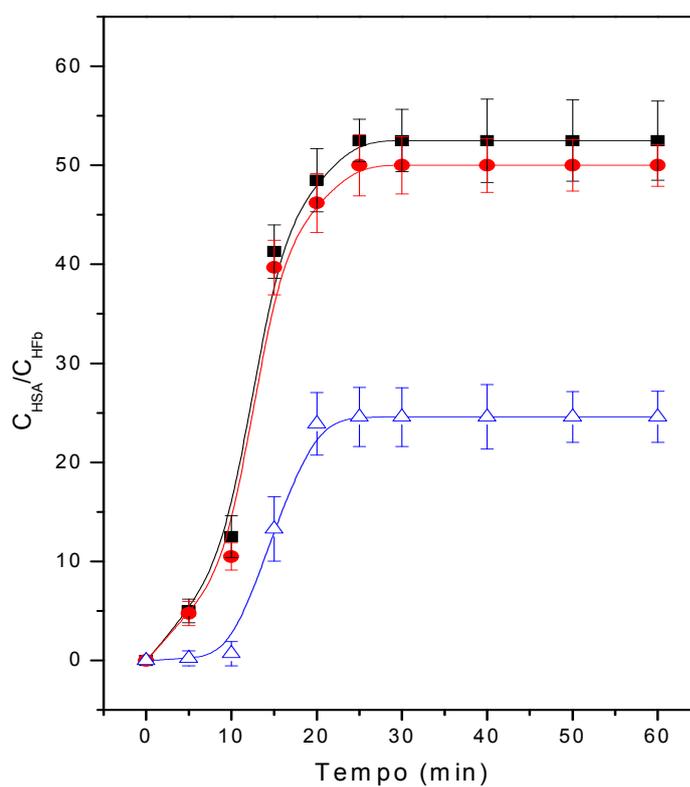
nas nanopartículas que circulam no organismo humano poderiam induzir a interação indireta das células sanguíneas com o material.

A adsorção protéica pode ser definida como o enriquecimento de proteína na região interfacial da nanopartícula. Governada por parâmetros termodinâmicos a adsorção protéica é o primeiro evento resultante da interação entre uma superfície sintética e o sangue, podendo influenciar nos demais eventos como adesão plaquetária e a formação de trombos [47-48]. Nesse sentido, a formação de uma interfase por adsorção protéica em uma superfície de um biomaterial é determinada por uma série de fatores influenciados pela termodinâmica do sistema (Figura 27) que, através de variações entálpicas e entrópicas, dirigem o potencial termodinâmico de Gibbs para o processo de adesão e agregação da célula sanguínea na superfície do material sintético [47-48].



**Figura 27:** Ilustração do processo de adsorção protéica em uma superfície sintética. O ganho em entropia parece ser a principal força motriz no processo de adsorção protéica.

Observou-se a ocorrência de uma maior adsorção de HSA, comparada à adsorção de fibrinogênio pelas nanoesferas de DGEBA/YFeAL, DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/YFeAl/Rh, conforme ilustrado na Figura 28, indicando uma tendência à não trombogenicidade dessas superfícies sintéticas. A adsorção de fibrinogênio tem grande importância no fenômeno da hemocompatibilidade dos materiais poliméricos uma vez que por ser um dos fatores da coagulação facilita a adesão plaquetária, participando de reações de troca com outras proteínas importantes no mecanismo de coagulação sanguínea [49].



**Figura 28:** Adsorção das proteínas séricas albumina humana (HSA) e fibrinogênio (HFB) sobre a superfície das nanoesferas DGEBA/YFeAl (●), DGEBA/YFeAl/ZnS (●) e DGEBA/Rh (Δ) ( $p < 0,008$ ).

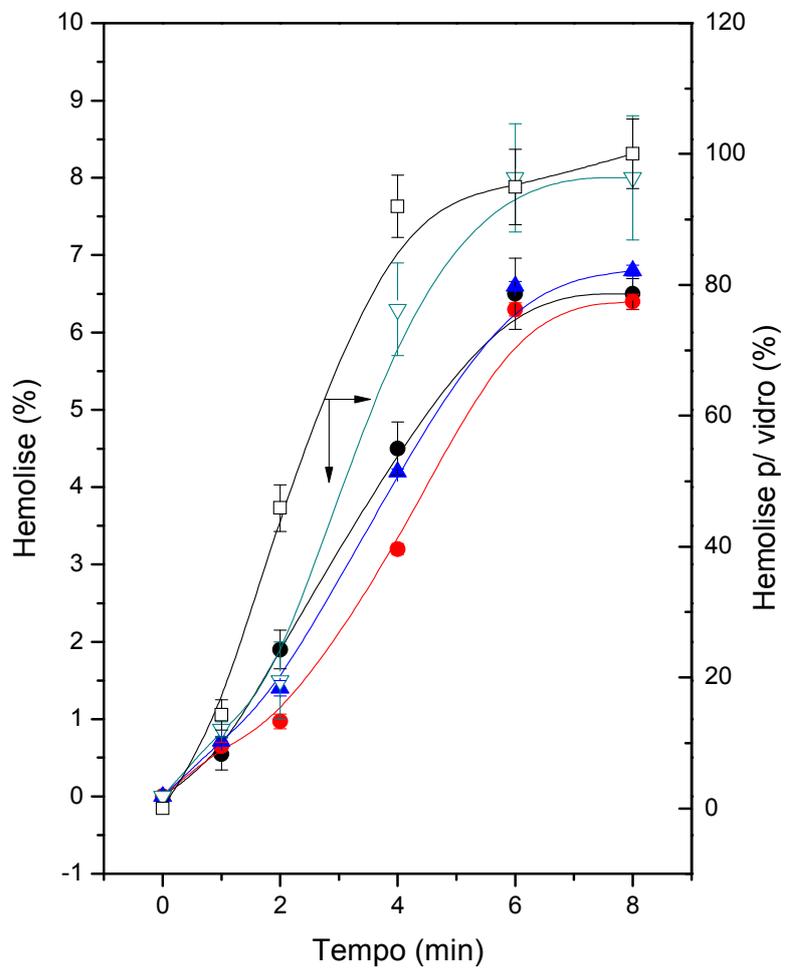
#### **6.4.3.4. Atividade Hemolítica**

Uma vez que as nanocápsulas DGEBA transportadoras de YFeAl, ZnS e Rh deverão ser utilizadas em contato com organismos vivos, é de especial importância estudar a sua reação quando em contato com o sangue. Por esta razão foi analisado a capacidade das nanocápsulas em induzir a lise das hemácias (hemólise).

A hemólise é um processo no qual se dá a ruptura das hemácias com a consequente liberação hemoglobina para o meio. Com o teste de hemólise pretende-se determinar a reação hemolítica das nanocápsulas transportadoras, isto é, saber qual o grau de lise das hemácias, sabendo a quantidade de hemoglobina que é liberada para o plasma. Este estudo é importante, na medida em que é possível determinar a fragilidade das membranas das hemácias quando em contato com as nanocápsulas.

Após algum tempo das nanopartículas em contato direto com sangue diluído faz-se a leitura do plasma por análise espectrofotométrica UV/Vis e através de uma curva de calibração calcula-se a concentração de hemoglobina. Como as concentrações iniciais de hemoglobina no sangue e no plasma são previamente conhecidas, através de alguns cálculos obtém-se a porcentagem de hemólise.

A Figura 29 mostra o percentual de hemólise para as nanoesferas DGEBA/YFeAl, DGEBA/YFeAl/ZnS e DGEBA/Rh. Observa-se que o percentual de hemólise é muito próximo ao do silicone grau médico utilizado como controle negativo o que mostra à boa hemocompatibilidade das nanoesferas nas condições in-vitro do ensaio.



**Figura 29:** Análise da hemocompatibilidade das nanoesferas DGEBA transportadoras de YFeAl (●), ZnS (▽), Rh (▲). Os controles negativo e positivo são o silicone grau médico (●) e o vidro (□), respectivamente.

## 6.5 Referências Bibliográficas

[1] ARSHADY, R. In the name of particle formation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects* 153:325-333, 1999.

[2] MOHANRAJ VJ, Y Chen. Nanoparticles – A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1): 561-573, 2006.

[3] BEI D., Meng J., Youan B-B.C. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: Liposomes. *Nanomedicine*, 5(9):1385-1399, 2010.

[4] REVERCHON E., Adami R. Nanomaterials and supercritical fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*; 37: 1-22, 2006.

[5] ROLLAND JP, Maynor BW, Euliss LE, Exner AE, Denison GM, DeSimone JM. Direct fabrication and harvesting of monodisperse, shape-specific nanobiomaterials. *J. Am. Chem. Soc.*; 127: 10096-10100, 2005.

[6] LANDFESTER K., Ramirez L.P. Encapsulated magnetite particles for biomedical application. *Journal of Physics - Condensed Matter*, v.15, p. S1345-S1361, 2003.

[7] TARTAJ P., Morales M. D-P, Veintemillas-Verdaguer S., Gonzalez-Carreño T., Serna C.J. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D - Applied Physics*, v.36, p. R182-R197, 2003.

[8] PANKHURST Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D- Applied Physics*, v.36, p. R167-R181, 2003.

[9] SHINKAI M. Functional magnetic particles for medical application. *Journal Bioscience Bioengineering*, v.94, p. 606-613, 2002.

[10] GONZÁLEZ Garcia ; Leyva M. E. ; De Queiroz A.A.A. Higa O.Z. Epoxy Networks for Medicine Applications: Mechanical Properties and In vitro Biological Properties. *Journal of Applied Polymer Science (Online)*, v. 112, p. 1215, 2009.

[11] GONZÁLEZ Garcia ; Leyva M.E., De Queiroz A.A.A., Higa O.Z. . Novas Tendências dos Polímeros Epoxídicos. Propriedades Biológicas In Vitro de Formulações para Aplicações Médicas. *Polímeros (São Carlos. Impresso)*, v. 19, p. 177-182, 2009.

[12] DOS PASSOS, E.D. Síntese e caracterização de nanoesferas magnéticas para utilização em hipertermia. *Dissertação: Mestrado em Materiais Para Engenharia - Universidade Federal de Itajubá, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais*, 2006. 97 pp. *Orientador: Alvaro Antonio Alencar de Queiroz.*

[13] GRASSET F., Mornet S., Demourgues A.; Synthesis, magnetic properties, surface modification and cytotoxicity evaluation of  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  ( $0 \leq x \leq 2$ ) garnet submicron particles for biomedical applications, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 409–418, 2001.

[14] SNEZHKO A.; English.J.; Kohout J.; Stepankova H., Temperature dependence of satellite structure of yttrium iron garnet containing  $Y^{3+}$  (a) defects and  $Al^{3+}$  (d) substitutions: experiment and model, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 234: 227–232, 2001.

[15] PARK S.H., Ryu J.Y., Choi H.H., Kwon T.H.; et al. Zinc oxide thin film doped with  $Al_2O_3$ ,  $TiO_2$  and  $V_2O_5$  as sensitive sensor for trimethylamine gas. *Sensor and Actuators B: Chem.*, 46: 75-79, 1998.

- [16] KURODA C.S., Kim T.Y., Hirano T., Yoshida K., Namikawa T., Yamazaki Y. Preparation of nano-sized Bi-YIG particles for micro optics applications. *Electrochimica Acta*, Vol. 44 (21-22), 3921-3925, 1999.
- [17] JAFELICCI Jr. M., Godoi R.H.M. Preparation and characterization of spherical yttrium iron garnet via coprecipitation, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 226-230, 1421-1423, 2001.
- [18] GUO, X.Z., Ravi B.G., Yan O.Y., Gambino R.J., Sampath S., Margolies J., Parise J.B. Phase and microstructure evolution in precursor plasma-sprayed YIG coatings. *Ceramics International* Vol. 32 : 61–66, 2006.
- [19] GUO, X.Z., Ravi B.G., Devi P.S., Hanson J.C., Margolies J., Gambino R.J., Parise J.B., Sampath S. Synthesis of yttrium iron garnet (YIG) by citrate–nitrate gel combustion and precursor plasma spray processes. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* Vol. 295 (2): 145-154, 2005.
- [20] ICSD-63650, YAM, *Journal of Applied Crystallography* 20: 123-129, 1987.
- [21] SCHERRER P., “Bestimmung der Grösse und der inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen,” *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen* **26** (1918) pp 98-100.
- [22] LANGFORD, J.I. and A.J.C. Wilson, “Scherrer after Sixty Years: A Survey and Some New Results in the Determination of Crystallite Size,” *J. Appl. Cryst.* **11** (1978) pp 102-113.

- [23] POOLE, Jr. C., Owens F.J. Introduction to Nanotechnology. New Jersey (EUA), Wiley & Sons, 2003.
- [24] BANDYOPADHYAY, S., Nalwa H.S., Quantum dots and nanowires. California (EUA), American Scientific Publishers, 2003.
- [25] FRANCHI, S., Trevisi G., Seravalli L., Frigeri P. Quantum dot nanostructures and molecular beam epitaxy. Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials, Vol. 47: 166-195, 2003.
- [26] MEI, G., Carpenter S., Felton L.E., Persans P.D. J.Opt.Soc.Am.B., Vol 9(8):1394, 1992.
- [27] BRUS, L.E., J.Chem.Phys. B, Vol 80(9), 4403, 1984.
- [28] DE QUEIROZ, A.A.A., Martins M., Soares D.A.W., França E. Modeling of ZnS quantum dots synthesis by DFT techniques. Journal of Molecular Structure Vol. 873, 121–129, 2008.
- [29] SKOOG, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Fundamentals of analytical Chemistry, 7th ed., Saunders College Publishing: New York, 1996.
- [30] KAR, S., S. Biswas, S. Chaudhuri, Nanometre to micrometre wide ZnS nanoribbons, Nanotechnology 16(12) 3074–3078, 2005.
- [31] HU, P.A., Y.Q. Liu, L. Fu, L.C. Cao, D.B. Zhu, Self-assembled growth of ZnS nanobelt networks J. Phys. Chem. B 108: 936–938, 2004.
- [32] KOHILA, T. Effects of Aluminium and Lead on the Rodent Cerebral Synaptosomal Integral Proteins In Vivo and In Vitro, Department of Clinical Veterinary Sciences University of Helsinki, Finland and Medical School University of Tampere, Finlândia, 2004. Capturado no site <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/ela/kliin/vk/kohila/effectso.pdf>.

- [33] DE QUEIROZ, A. A. A.; Passos, E. D.; Silva, M. R.; Higa, O. Z., (2004). Biocompatible superparamagnetic nanospheres for the cancer treatment. In: III Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais-Colaob. Campinas-SP, p. 182.
- [34] COWIE, J.M.G. Chemistry & Physics of modern materials, Polymers, New York (USA), Blackie & Son, 1991, pp. 77-81.
- [35] Kirchner C, Liedl T, Kudera S, Pellegrino T, Munoz Javier A, Gaub HE, Stolzle S, Fertig N, Parak WJ, 2005. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles Nano Lett 5 (2) : 331-8.
- [36] Shiohara A, Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K, 2004. On the cytotoxicity caused by quantum dots. Microbiol Immunol 48 (9) : 669-75.
- [37] Green M, Howman E, 2005. Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking. Chem Commun (Camb) (1): 121-3.
- [38] Derfus AM, Chan WCW, Bhatia SN, 2004. Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. Nanoletters 4 (1).
- [39] Hoshino A, Fujioka K, Oku T, Suga M, Sasaki Y, Ohta T, et al. Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification. Nano. Lett. 2004 Oct 16; 4(11):2163–2169.
- [40] Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schürch S, Kreyling W, Schulz H, et al. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. Environ. Health Perspect. 2005 Nov; 113(11):1555–1560.

[41] Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ. Health Perspect.* 2003 Apr; 111(4):455-460.

[42] Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, et al: Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol.* 2004 Jun16;(6-7):437-445.

[43] Nikula K.J., Snipes MB, Barr EB, Griffith WC, Henderson RF, Mauderly JL. Comparative pulmonary toxicities and carcinogenicities of chronically inhaled diesel exhaust and carbon black in F344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995 25(1) 80-94.

[44] ISO 10993-5:1999 (1999). Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

[45] 57 R.J. Soane, M. Frier, A.C. Perkins, N.S. Jones, S.S. Davis, L. Illum, Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans, *Int. J. Pharm.*, 178 (1999) 55-65.].

[46] Y. Pan, Y. Li, H. Zhao, J. Zheng, H. Xu, G. Wei, J. Hao, F. Cui, Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo, *Int. J. Pharm.* 249 (2002) 139-147].

[47] DE QUEIROZ, A.A.A.; BARRAK, E.R.; DE CASTRO, S.C., Thermodynamic analysis of the surface of biomaterials. *J. Molec. Struct. (Theochem)*, 394: 271-279, (1997).

[48] TSAPIKOUNI, T.S.; MISSIRLIS, Y.F., Protein-material interactions: From micronanoscale. *Mater. Sci. and Eng. B*, (2008).

[49] KEATING, J.F.; MCQUEEN, M.M., Substitutes for autologous bone graft in

orthopaedic trauma. *J. Bone Joint Surg. [Br]*, 82: B3-8, (2001).

## CONCLUSÕES

Nanopartículas magnéticas foram encapsuladas por DGEBA e curadas com DETA. Nanoesferas com distribuição de tamanhos entre 30-60 nm, transportadoras das partículas magnéticas YFeAl foram obtidas e caracterizadas quanto às suas propriedades magnéticas e biocompatíveis. A microscopia eletrônica de varredura indicou uma distribuição monomodal de tamanho e temperatura de transição de Curie dependente da composição da cerâmica YFeAl. Na análise morfológica dos compostos estudados, tanto o DGEBA com o ZnS, quanto o DGEBA com a RhB se mostraram caminhos alternativos e promissores no tratamento das células tumorais, sendo que suas propriedades ópticas são elementos diferenciais na visualização do processo e também as mesmas transportam energia facilmente.

A imunolocalização de células tumorais com o uso de partículas ferromagnéticas são meios propícios para a detecção precoce de tumores, mediante uma lise celular focal e dirigida pelo processo de magneto-hipertermia. O trabalho desenvolvido com as nanopartículas magnéticas são estruturas promissoras, sob a atuação de campos magnéticos, podendo estas serem direcionadas para alvos específicos para a liberação de quimioterápicos controlados. Analisamos que nanopartículas magnéticas podem exibir propriedades superparamagnéticas, apresentam magnetização apenas na presença de um campo magnético sem, contudo, permanecerem magnéticas quando da remoção do mesmo.

Estas nanopartículas estudadas mostraram com os testes realizados, que com as modificações químicas em sua superfície é possível atribuir uma variedade de aplicações, relacionando sensoriamento de espécies, confinamento por meio de campos, transporte de fármacos e em nosso trabalho, aplicações em magneto-hipertermia. As análises dos sistemas formados por marcadores diferentes (ZnS e RhB) permitiram conhecer novos

fixadores biológicos, com resultados morfológicos regulares e promissores dentro de uma perspectiva biofísica aceitável. Ainda mais que as nanoesferas magnéticas sintetizadas neste trabalho apresentaram resultados otimistas, como materiais não citotóxicos a células de mamíferos em condições *in vitro*.

Obtivemos no sistema DGEBA/ZnS tamanhos monomodal de (25-50 nm) sendo nanoesferas bioativas para o tratamento de células tumorais. Ensaio biológico indicam que o nanocompósito obtido não afetou o crescimento de células de mamíferos e ao mesmo tempo apresentou temperatura de transição de Curie dependente da composição de alumínio na cerâmica. Esses resultados sugerem que as nanopartículas de  $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$  encapsuladas pelo sistema DGEBA/DETA representam uma alternativa promissora no tratamento de tumores malignos através da magneto-hipertermia.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

A nanotecnologia apresenta-se como um caminho promissor no desenvolvimento de biomateriais em escala nanométrica. O estudo das nanoesferas nos submete a este patamar, mostrando que a biofísica aliada à engenharia de materiais são meios concretos e esperançosos de advento da ciência.

A aplicação das nanoesferas (cerâmicas ferromagnéticas de baixa citotoxicidade) no tecido biológico aponta para uma nova terapia de combate as células tumorais e nos deixam otimistas, embora cautelosos de que há um caminho árduo a ser percorrido em busca de respostas ainda precisas.

Em perspectivas futuras, ainda há muito que se fazer em busca de soluções, tais como:

- ✓ Avaliar a interação entre o tecido sintético e fluido fisiológico;
- ✓ Incorporar novos quimioterápicos e avaliar as respostas celulares - bem como os testes *in vitro* e *in vivo*;
- ✓ Estudar outras formas de polimerização de maneira a aperfeiçoar o tamanho das partículas, além de outras questões que nos submetem a análises mais precisas.

Mas, já sabemos que fazer ciência é estar preparado para ser movidos pelas perguntas e jamais saciar com as respostas e esta é a nossa missão, sempre na busca de perguntas.

É pertinente e aceitável que o binômio tempo/ciência são dois parâmetros que requerem cuidados, porque é nato da nossa sociedade a busca por respostas e por soluções definitivas. Nosso trabalho neste contexto vem ser um somatório aos estudos já realizados até então e espera-se que o mesmo possa contribuir na busca por soluções definitivas para o combate das células tumorais, sendo visto como um caminho de respostas urgentes à

população e que possa favorecer a todos, principalmente àqueles que vivem á margem do nosso sistema de governo.