



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FÍSICA

FERNANDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA
RECOBERTA COM IODO COMUM E RADIOATIVO PARA
APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

MARINGÁ

2017

FERNANDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA
RECOBERTA COM IODO COMUM E RADIOATIVO PARA
APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós Graduação em Física da Universidade Estadual de Maringá como requisito para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Cótica

MARINGÁ

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

R696d Rodrigues, Fernando
Desenvolvimento de nanopartículas de magnetita recoberta com iodo comum e radioativo para aplicações biológicas / Fernando Rodrigues. -- Maringá, 2017.
74 f. : il. color, figs.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Cótica.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Física, Programa de Pós-Graduação em Física, 2017.

1. Nanopartículas magnéticas. 2. Magnetita. 3. Iodo radioativo. 4. Biomedicina. I. Cótica, Luiz Fernando, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. III. Título.

CDD 23.ed. 530.41

GVS-003760

FERNANDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA
RECOBERTA COM IODO COMUM E RADIOATIVO PARA
APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós Graduação em Física da Universidade Estadual de Maringá como requisito para obtenção do título de Mestre em Física.

APROVADO EM: ____/____/____

Prof. Dr. Orientador
Luiz Fernando Cótica

Prof. Me. Co-Orientador
Nilson Benedito Lopes

Prof. Dr. Membro da Banca
Gustavo Sanguino Dias

Prof (a). Dr (a). Membro da Banca
Tânia Toyomi Tominaga

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Valter e Valdete, por todo amor, incentivo, dedicação e amparo para a realização de minhas metas pessoais e profissionais.

Ao meu orientador, Professor Dr. Luiz Fernando Cótica, pela oportunidade de compor seu grupo de pesquisa. Agradeço a atenção, incentivo e os diversos ensinamentos, sem os quais a realização deste trabalho não seria possível.

Ao meu co-orientador, Professor Me. Nilson Benedito Lopes, pelos ensinamentos de física médica, pela paciência, dedicação que foram cruciais para execução deste trabalho.

A Professora Dr. Verônica E. P. Vicentini, pelo fornecimento do laboratório e material biológico e por toda atenção dada a esta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Igor V. de Almeida pela fundamental ajuda na realização e análise dos testes biológicos.

A todos acadêmicos e professores do Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais (GDDM), Gustavo, Guilherme, Josué, Raquel, Daniel, Eduardo, Denise, pela ajuda e momentos de descontração.

A todos colegas envolvidos do laboratório de Mutagênese e Citogenética, Karina, Michele.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

A CNPq pela bolsa concedida.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para encontrar as que estão certas”. (Carl Sagan)

RESUMO

Neste trabalho foram estudadas a preparação, a caracterização e as implicações de nanocompósitos magnéticos para possíveis aplicações biomédicas. Os materiais investigados, foram as nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4), o iodo comum (I_2) e radioativo (^{131}I). Sintetizou-se dois tipos de nanocompósito: radioativos, compostos por nanopartículas de magnetita pura e iodo radioativo ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + ^{131}\text{I}$); não radioativos, compostos por nanopartículas de magnetita pura e iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$). As amostras foram analisadas por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, magnetometria de amostra vibrante, espectroscopias Raman Confocal, ultra violeta/visível, por energia dispersiva de raios X, infravermelho com transformada de Fourier e pelo teste de viabilidade celular MTT [brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2il]-2,5-difeniltetrazólio]. Os estudos de microscopia eletrônica de varredura identificaram a presença de iodo nas nanopartículas de magnetita, indicando a necessidade de lavagens para minimizar a concentração de iodo periférico. Os resultados da difração de raios X mostraram que os picos encontrados correspondiam a magnetita (Fe_3O_4). Medidas de magnetometria de amostra vibrante indicaram que as curvas de magnetização vs campo magnético, no nanocompósito ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$), obedece um comportamento superparamagnético. Paralelamente, dentre as espectroscopias usadas neste trabalho, somente a por energia dispersiva de raios X identificou a presença de iodo na superfície das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4). Por conseguinte o teste de viabilidade celular MTT apontou maior citotoxicidade ao iodo comum aplicado isoladamente e inobservância de alta toxicidade nos demais nanocompósitos, devido as baixas concentrações, no entanto dentre os nanocompósitos o iodo radioativo apresentou menor absorvância em 72 h. Considerando os resultados obtidos no decorrer da investigação, pode-se afirmar que os materiais analisados, isoladamente ou formando nanocompósitos, possuem ótimas propriedades para aplicação tecnológica, sobretudo na obtenção de dispositivos multifuncionais aplicados a área biológica.

Palavras chave: Nanopartículas Magnéticas; Magnetita; Iodo radioativo; Biomedicina

ABSTRACT

In this work, the preparation, characterization and implications of magnetic nanocomposites for possible biomedical applications were studied. The investigated materials were magnetite nanoparticles (Fe_3O_4), common (I_2) and radioactive (^{131}I) iodine. Two different types of nanocomposites were synthesized: one radioactive, composed of pure magnetite nanoparticles and radioactive iodine ($\text{Fe}_3\text{O}_4+^{131}\text{I}$); and another nonradioactive, composed of pure magnetite nanoparticles and common iodine ($\text{Fe}_3\text{O}_4+\text{I}_2$). The samples were analyzed by X-ray diffraction, scanning electron microscopy, vibrating sample magnetometry, Raman Confocal spectroscopy, ultraviolet/visible light spectroscopy, X-ray dispersive energy spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and MTT cell viability test [bromide of 3- [4,5-dimethyl-thiazol-2il] - 2,5 diphenyltetrazolium]. Scanning electron microscopy studies have been identified the presence of iodine together the magnetite nanoparticles, indicating the need for more washes to minimize residual iodine. The results of the X-ray diffraction showed that the found peaks correspond to magnetite (Fe_3O_4). The vibration sample magnetometry measurements indicated that magnetization curves vs magnetic field, in the ($\text{Fe}_3\text{O}_4+\text{I}_2$) nanocomposite, obey a superparamagnetic behavior. In parallel, among the spectroscopies used in this work, only the X-ray dispersive energy identified the presence of iodine on the surface of magnetite nanoparticles (Fe_3O_4). In addition, the MTT cell viability test showed higher cytotoxicity to the common iodine applied alone and non-observance of high toxicity in the other nanocomposites, due to low concentrations, however among the nanocomposites, that with the radioactive iodine showed lower absorbance in 72 h. Considering the obtained results during the investigation, it can be affirmed that the analyzed materials, alone or forming nanocomposites, have excellent properties for technological applications, mainly in the obtaining of multifunctional devices applied to the biological field.

Keywords: Magnetic nanoparticles; Magnetite; Radioactive iodine; Biomedicine.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	14
RESUMO	16
ABSTRACT	17
LISTA DE ABREVIATURAS	20
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	21
CAPÍTULO 1	11
1. INTRODUÇÃO	11
1.1 JUSTIFICATIVA	13
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Gerais	14
1.2.2 Específicos	14
CAPÍTULO 2	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 NANOTECNOLOGIA	15
2.1.1 Nanopartículas Magnéticas	17
2.1.2 Nanopartículas de Magnetita	18
2.2 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE CÂNCER	19
2.2.1 Liberação Controlada de Fármacos	19
2.2.2 Marcação Tumoral	21
2.2.3 Hipertermia Magnética	22
2.3 RADIAÇÃO IONIZANTE E NÃO IONIZANTE	22
2.3.1 Radiação Eletromagnética	23
2.3.2 Radiação Corpuscular	25
2.3.3 Interação da Radiação com a Matéria	27
2.4 IODO RADIOATIVO (¹³¹ I)	28
CAPÍTULO 3	30
3. MÉTODOS EXPERIMENTAIS	30
3.1 OBTENÇÃO IODO NA FORMA LÍQUIDA	30
3.2 MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE (VSM)	30
3.3 ESPECTROSCOPIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL	32
3.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN	33
3.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRASFORMADA DE FOURIER (FTIR)	34
3.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	36
3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	37

3.7.1	Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDX)	39
3.8	ENSAIOS CITOTÓXICOS	39
CAPÍTULO 4	42
4.	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	42
4.1	SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA	42
4.2	OBTENÇÃO DO IODO A 3%	43
4.3	FIXAÇÃO DO IODO COMUM E RADIOATIVO NA SUPERFÍCIE DAS NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA	44
4.4	MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE	46
4.5	ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL	46
4.6	ESPECTROSCOPIA CONFOCAL RAMAN	46
4.7	ESPECTROSCÓPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRASFORMADA DE FOURIER (FTIR)	47
4.8	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	47
4.9	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	47
4.9.1	Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDX)	48
4.10	ENSAIO DE CITOTOXICIDADE	48
CAPÍTULO 5	50
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1	DIFRATOMETRIA DE RAIOS X	50
5.2	ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL	51
5.3	ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL	52
5.4	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRASFORMADA DE FOURIER (FTIR)	54
5.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	55
5.6	MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE	61
5.7	ENSAIO DE CITOTOXICIDADE MTT	62
CAPÍTULO 6	67
6.	CONCLUSÃO	67
6.1	PERSPECTIVAS	68
	REFERÊNCIAS	69

LISTA DE ABREVIATURAS

Å	Ångström
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
DRX	Difração de raios X
DMEM	Meio de cultura sintético
Fe ₃ O ₄	Magnetita
γ-Fe ₂ O ₃	Maghemita
HTC	Hepato carcinoma
NP	Nanopartícula
NPs	Nanopartículas
NPMs	Nanopartículas Magnéticas
MeV	Mega elétron-volt
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MTT	Brometo de 3-[4,5dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
PVA	Polivinil álcool
RMN	Ressonância magnética nuclear
SLC	Sistema de Liberação Controlada
SMO	Óxido de Ferro Magnéticos
UV-Vis	Ultra violeta e visível
VSM	Magnetometria de amostra vibrante

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Evolução dos gastos públicos do Brasil com Oncologia entre 2000 e 2014 [2]	11
Figura 2: Interconecções entre ciências e tecnologias convergentes a nanotecnologia (adaptada da referência) [8].	16
Figura 3: Representação dos picos de concentração de um fármaco em relação ao tempo. Sendo, a) liberação convencional e b) liberação controlada. Onde A é a dose administrada (adaptada) [21].	20
Figura 4: Espectro eletromagnético completo, representa toda faixa de frequência e comprimento de onda da radiação eletromagnética presente na natureza (adaptada) [65].	23
Figura 5: Representação da emissão beta, na forma β^+ e β^- , resultado da conversão de prótons em nêutrons e nêutrons em prótons, respectivamente [37].	27
Figura 6: Diagrama do magnetômetro de amostra vibrante (VSM) [48].	31
Figura 7: Representação dos principais componentes de um espectrofotômetro (adaptada) [49].	32
Figura 8: Um feixe monocromático de laser, é utilizado para iluminar uma área de até $2\mu\text{m}$ de um material, que ao incidir é espalhado em todas direções. Onde a objetiva do microscópio serve tanto para focalizar o laser, quanto para coletar a radiação incidente no material (adaptada) [51].	34
Figura 9: Ilustração esquemática de um interferômetro de Michelson e os demais componentes do espectrofotômetro (adaptada) [54].	35
Figura 10: Representação da difração de raios X por um cristal (adaptada) [54].	37
Figura 11: Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura (adaptada) [59].	38
Figura 12: Conversão do sal tetrazólio pela succinato desidrogenase (SDH) em cristais de formazan (adaptada) [45].	40
Figura 13: Fluxograma do processo de síntese de nanopartículas de magnetita segundo a técnica de decomposição térmica pelo método polimérico (adaptada) [54].	43
Figura 14: Ilustração do processo de síntese do iodo sólido em líquido.	43
Figura 15: Ilustração do equipamento utilizado na agitação da solução de magnetita e iodo.	44
Figura 16: Fluxograma representando o processo de fixação do iodo comum na superfície de nanopartículas de magnetita.	45
Figura 17: Fluxograma representando o processo de fixação do iodo radioativo na superfície de nanopartículas de magnetita.	45
Figura 18: Fluxograma representando o ensaio de citotoxicidade MTT.	49
Figura 19: Difrátograma da amostra de magnetita sintetizada pelo método PVA.	50
Figura 20: Espectros UV-Vis de nanopartículas de magnetita pura e revestidas com iodo, ambas sintetizadas a 600°C e do iodo puro na forma sólida.	51
Figura 21: Espectros Raman de Iodo comum (I_2), magnetita pura (Fe_3O_4) e magnetita com iodo ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$)	53
Figura 22: Imagem do material $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$, referente a região analisada pela espectroscopia Raman.	53
Figura 23: Espectro de absorção no infravermelho da amostra de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum.	54
Figura 24: Micrografias obtidas de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, com apenas uma lavagem.	56
Figura 25: Micrografia de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, após realizar três lavagens.	57

Figura 26: Micrografia de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, após realizar três lavagens. _____	57
Figura 27: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 5. _____	59
Figura 28: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 7. _____	59
Figura 29: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 8. _____	60
Figura 30: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 9. _____	61
Figura 31: Curva de Magnetização vs Campo magnético aplicado (H) de nanopartículas sintetizadas a 600°C (M600) recobertas com iodo comum. _____	62
Figura 32: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, nos grupos controle mais tratamento com Doxorrubicina (controle negativo), controle positivo e iodo comum (3%). _____	63
Figura 33: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples (Fe ₃ O ₄). _____	64
Figura 34: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples recoberta com iodo comum (Fe ₃ O ₄ + I ₂). _____	65
Figura 35: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples recoberta com iodo radioativo (Fe ₃ O ₄ + ¹³¹ I). _____	65
Figura 36: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, nos grupos controle e tratamento com Doxorrubicina (Dox), iodo comum (3%) e concentrações de 25, 50, 75 e 100µg, nos grupos de nanopartículas de magnetita simples (Fe ₃ O ₄), nanopartícula de magnetita recoberta com iodo comum (Fe ₃ O ₄ + I ₂) e nanopartículas de magnetita recobertas com iodo radioativo (Fe ₃ O ₄ + ¹³¹ I) com uma atividade de 20µCi. _____	66

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O número de pessoas diagnosticada com câncer no mundo cresce exponencialmente a cada ano. Segundo o Instituto Nacional do Câncer a incidência da doença cresceu 20% na última década, sendo 12,7 milhões de novos caso a cada ano e 8 milhões de vítimas, sendo o primeiro lugar em causa de óbitos em todo planeta [1]. Estima-se que este número será de 27 milhões e 17 milhões respectivamente em 2030, deste total 80% concentrados em países em desenvolvimento como o Brasil, que prevê até o final de 2016 um total de 596 mil casos. O custo mundial para diagnóstico e tratamento de câncer chegou a U\$ 2,0 trilhões em 2015, o equivalente a 1,5 % do PIB mundial [1] [2].

Como mostra a Figura 1 no período de 2000 a 2014 os investimentos do Governo Federal com a doença aumentaram em 357% ao ano, passando de R\$ 500 milhões para R\$ 2,5 bilhões, em 2014. É preocupante um cenário onde os gastos com oncologia cresçam significativamente mais que o PIB, acompanhadas de um crescimento do número de mortes. Tal fato indica ser de extrema importância pesquisas e desenvolvimento de novas técnicas e tratamentos da doença para que haja maior eficácia e um maior custo benefício em relação aos métodos convencionais [2].

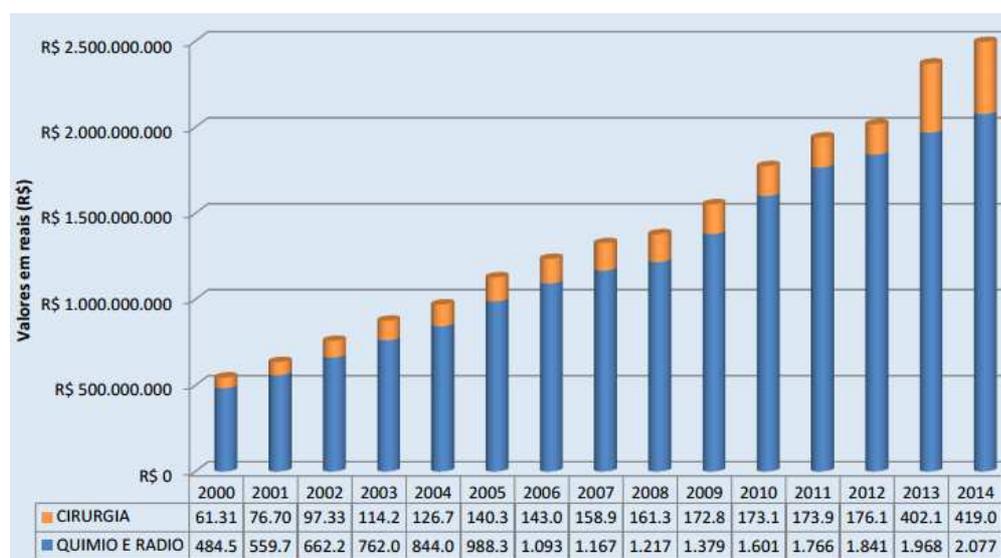


Figura 1: Evolução dos gastos públicos do Brasil com Oncologia entre 2000 e 2014 [2]

Com intuito melhorar este patamar referente ao câncer mundial, os atuais avanços tecnológicos na área de saúde, relacionados a novas técnicas e equipamentos médicos, para tratamento de doenças e realização de exames com imagem de alta definição, vêm transformando o modo de se diagnosticar diversos tipos de enfermidades. Tais vantagens não estão restritas à melhoria da qualidade das imagens. Está muito além disso, as recentes tecnologias proporcionam exames não invasivos, com maior segurança, rapidez, precisão e conseqüentemente mais confiáveis. Desta forma, proporcionam diagnósticos mais precoces, aumentando consideravelmente a possibilidade de cura [3].

Outro grande ramo da ciência, além dos já mencionados, é a nanotecnologia, principalmente no que tange as nanopartículas magnéticas. A utilização de diversos tipos de óxido de ferro para procedimentos diagnósticos como ressonância magnética nuclear (RMN), administração controlada de fármacos e hipertermia magnética tem ganhado ampla aceitação em diversos procedimentos médicos, embora as aplicações terapêuticas encontram-se sob pesquisas. Tais técnicas exploram as principais vantagens dos óxidos de ferro: sua alta biocompatibilidade em seres humanos e a possibilidade de ser controlada por um campo magnético [4].

As técnicas envolvendo nanopartículas magnéticas além de possuírem várias vantagens terapêuticas podem causar um reflexo nos gastos de saúde pública. Ainda que em um primeiro momento o custo desses novos exames não seja competitivo comparado aos convencionais, eles representam uma economia final. Com a definição mais adequada do diagnóstico e resultados muito mais favoráveis, conseqüentemente haverá diminuição no tempo de internação acarretando inevitavelmente na diminuição de gastos públicos e/ou privados, e aumentando a oferta de leitos para novos pacientes. Com essas e outras vantagens, a disseminação do uso dessas novas tecnologias inicia um ciclo virtuoso que certamente resultará na democratização de exames de ponta, com melhores resultados e, por conseguinte, estímulo ao desenvolvimento de outras tecnologias. Obviamente, o impacto benéfico na saúde pública, a médio e longo prazos, está no controle adequado de diversas doenças, incluindo o câncer [3].

Neste sentido este trabalho de dissertação de natureza bibliográfica e experimental se estrutura da seguinte forma: No capítulo 1 realiza-se uma

discussão introdutória sobre o tema, englobando ideias genéricas e de reflexão sobre o tema, dissertando sobre motivação justificativa e objetivos do trabalho servindo como meio norteador. O capítulo 2 versa sobre os principais conceitos teóricos fundamentais, sobretudo de nanomateriais, aplicações biológicas de nanocompósitos e radiação ionizante, servindo como subsídio para o entendimento das demais etapas da dissertação.

As técnicas de caracterização e aplicação de nanopartículas estão elencadas nos Capítulos 3 e 4. Onde respectivamente, realiza-se um embasamento teórico sobre as principais técnicas e uma descrição detalhada da metodologia realizada. No Capítulo 5 são apresentados os resultados e discussões obtidos experimentalmente obtidos através dos métodos abordados nos Capítulos 3 e 4. E finalmente nas considerações finais são expostas as conclusões, com posse das informações adquiridas durante o referido trabalho.

1.1 JUSTIFICATIVA

O interesse na obtenção de novos materiais que aprimoram e melhoram resultados de diagnósticos ou tratamentos de doenças, sobretudo carcinomas é o ponto central que justifica esta investigação. Dentro desta seara, utilizou-se nanopartículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) e iodo radioativo (^{131}I) ou seja, combinou-se duas características principais, as nanopartículas magnéticas e elemento radioativo. Tal escolha se deve, às propriedades intrínsecas de cada material. O primeiro possui inúmeras vantagens para aplicações biológicas, dentre elas podem se destacar a biocompatibilidade, penetração em regiões não alcançadas por materiais de dimensões superiores, possibilidade de ser controlado por um campo magnético externo, entre outras. Já o segundo elemento, tem a característica de emitir radiação ionizante, que é aquela capaz de interagir com átomos e moléculas, podendo inclusive destruir células cancerígenas. Desta forma a união destes dois elementos fornecem boas perspectivas para o desenvolvimentos de novos materiais, técnicas e dispositivos, aplicados ao diagnóstico e tratamento de doenças.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Gerais

Estudar o processo de síntese de nanopartículas magnéticas com propriedades biocompatíveis e potencial aplicação biológica, no que concerne a fixação do elemento químico ^{131}I em sua superfície para formação de um nanocompósito de $\text{Fe}_3\text{O}_4 + ^{131}\text{I}$, bem como investigar sua característica química e estrutural obtida, através de difração de raios X, magnetometria, microscopia eletrônica de varredura com sistema de energia dispersa e espectroscopias Raman, de infravermelho e ultra violeta/visível. Assim como Investigar a influência de nanocompósitos na taxa de crescimento celular humano, *in vitro*.

1.2.2 Específicos

- Investigar possíveis aplicações biológicas para o nanocompósito.
- Sintetizar em solução aquosa através de agitação mecânica, o nanocompósito Fe_3O_4 .
- Verificar a presença do elemento I_2 ligados a superfície da nanopartícula de Fe_3O_4 através de difração de raios X e espectroscopias Raman, de infravermelho, ultra violeta/visível e de raios X por dispersão de energia.
- Conhecer a microestrutura do $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$ através da microscopia eletrônica de varredura.
- Obter o comportamento magnético do composto por magnetometria de amostra vibrante.
- Investigar por meio da técnica MTT, a influência das nanopartículas de Fe_3O_4 e dos nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4 + ^{131}\text{I}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$ na taxa de crescimento celular humano.

CAPÍTULO 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta seção concentra informações de natureza bibliográfica e subsidiária, onde serão expostos conceitos técnicos e científicos assim como demais termos necessários para a compreensão deste trabalho.

2.1 NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia é união de ciência e tecnologia aplicada à manipulação artificial em dimensões nanométricas de átomos e moléculas. Busca investigar e desenvolver estruturas mais complexas e versáteis com inúmeras aplicações práticas em vários campos da atividade humana [3].

Até pouco tempo, a ciência da nanotecnologia concentrava-se especialmente na eletrônica, computadores, telecomunicações ou fabricação de materiais. Atualmente, a nanotecnologia biomédica, na qual os cientistas desenvolvem partículas combinando materiais inorgânicos e orgânicos, está assumindo a fronteira deste campo científico que avança rapidamente [5].

Segundo Schulz et al. (2013), são considerados nanomateriais os que são constituídos por partículas ou aglomerados delas com distribuição de tamanho que apresente uma fração considerável de partículas com uma ou mais dimensões no intervalo entre 1 nanômetro (1 nm = 1 bilionésimo de metro) e 100 nm incluindo, portanto, não apenas partículas propriamente ditas, mas também fios com diâmetros nanométricos, películas com espessuras nessa escala ou superfícies com estruturas ou poros com essas dimensões. Desse modo são nanomateriais tanto vidros coloridos devido à presença de nanopartículas de cobre, produzidos já na idade do bronze, até os modernos microprocessadores deste século, que possuem estruturas em escala de poucas dezenas de nanômetros compondo os ainda chamados microcircuitos [6].

Devido a suas dimensões muito pequenas, os materiais nanoestruturados são estruturalmente caracterizados por uma grande fração volumétrica de contornos de grãos ou interfaces, as quais podem alterar significativamente uma

variedade de propriedades físicas e químicas quando comparados aos materiais microestruturados [7].

De acordo com Bainbridge et al. (2003), outro aspecto importante da nanotecnologia é sua multidisciplinaridade, sendo uma característica marcante sua estreita relação com a química, física, engenharia, biologia e medicina. A Figura 2, exibe as possíveis conexões das diversas áreas do conhecimento, convergentes a nanotecnologia, onde diferentes interconexões ricas em oportunidades e problemas científicos, conduzem conseqüentemente a geração de novas tecnologias [8]. Tal Convergência se traduz nas múltiplas formas nas quais as nanotecnologias se combinarão, no futuro, com outras tecnologias, e que refletirão sua genuína natureza interdisciplinar [9].

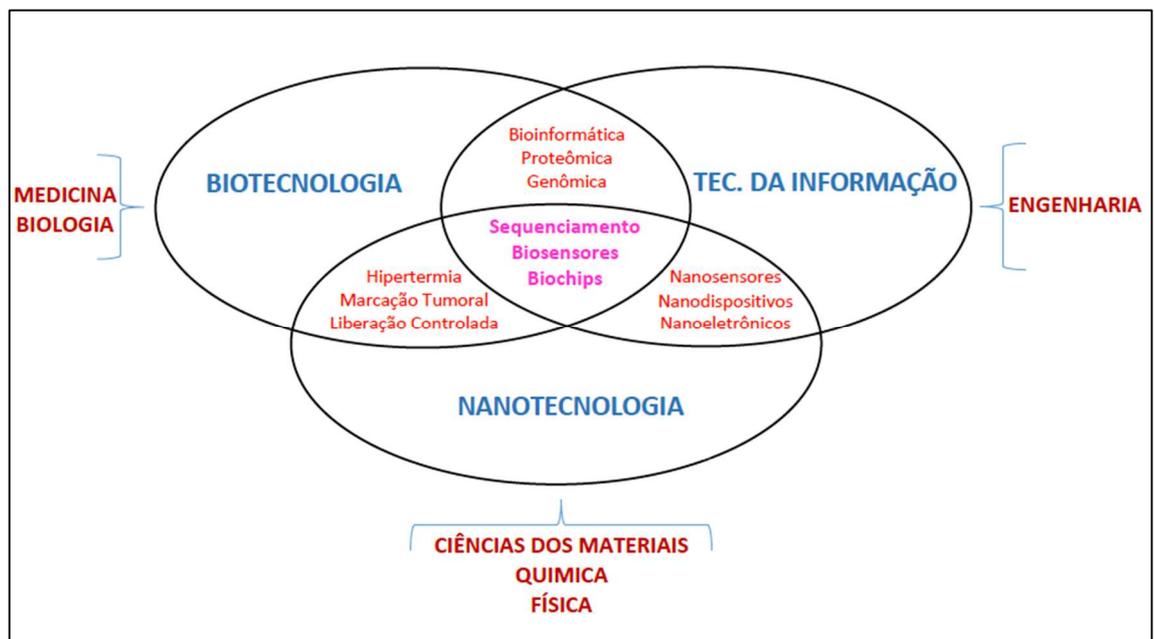


Figura 2: Interconexões entre ciências e tecnologias convergentes a nanotecnologia (adaptada da referência) [8].

Outra característica intrínseca dos nanomateriais, é sua diferenciação significativa em relação a outros materiais, principalmente por dois fatores essenciais:

- Aumento da área superficial.
- Presença de efeitos quânticos.

O primeiro diz respeito a imensa área externa que compões as nanopartículas, tal característica possibilita maior contato entre o fármaco e a

superfície de determinado tecido, permitindo um grande aumento da atividade de absorção. O segundo fator se relaciona principalmente a capacidade de nanopartículas em possuírem características superparamagnéticas. O que permite ser magnetizadas quanto sofrem a ação de um campo magnético externo, porém, quando cessado o campo magnético, a partícula não permanece magnetizada.

Sendo assim, podem ter propriedades como, reatividade, características elétricas e comportamentos *in vivo* modificados, dentre outras características, que tornam os nanomateriais fundamentais para o desenvolvimento de novas tecnologias [10].

2.1.1 Nanopartículas Magnéticas

Nanopartículas magnéticas (NPMs) são estruturas da ordem de nanômetros que possuem características intrínsecas, relacionadas ao tamanho, morfologia e estrutura cristalina. As características fundamentais que as tornam potencialmente importantes em inúmeras aplicações tecnológicas são: a formação de monodomínios magnéticos; a existência de grande área superficial em relação ao volume; e a possibilidade de recobri-las com diversos ligantes específicos. Outra característica notável, é sua capacidade de apresentar superparamagnetismo quando seus tamanhos geralmente estão entre 1 e 100nm [11]. O magnetismo existente nas (NPMs) existe mesmo quando ausente um campo magnético externo. Tal característica não é visível em todas (NPMs), pois é resultado da alta susceptibilidade magnética e a ausência de histerese nesses materiais [12].

Em meio a inúmeras estruturas de (NPMs), as formadas a partir de óxido de ferro, mais precisamente a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) vem se destacando em aplicações biomédicas. A magnetita é o principal minério empregado para obtenção do ferro, sua magnetização é observada quando submetida à presença de um campo magnético externo, desaparecendo quando o campo for retirado. Tal efeito é reflexo da orientação magnética dos átomos individuais não ser conservada [13].

Na última década, nanoestruturas magnéticas de óxido de ferro, atraíram intenso interesse científico e tecnológico por possuírem vasta aplicação na área

da saúde, sobretudo pela possibilidade de manipulação química, a partir de algumas propriedades, como composição, tamanho, formato e comportamento magnético em nível atômico. Tais características, as tornaram um ramo de pesquisa amplo e promissor, tornando possível o surgimento de inúmeras pesquisas relacionadas e correlacionadas, principalmente na área de biotecnologia e física médica [14].

A primeira vantagem do uso das NPMs para aplicações biomédicas, relaciona-se a possibilidade de controlar o tamanho destas estruturas, desde poucos nanômetros até centenas de nanômetros, o que torna possível sua penetração em regiões de dimensões menores que as células ou em tamanhos comparáveis à vírus, proteínas ou genes. Desta forma, nanopartículas são capazes de interagir com a entidade biológica de interesse, inclusive em órgão e tecidos do corpo humano [15].

A segunda vantagem, sua característica magnética, permite que sejam capazes de responder a um gradiente externo de campo magnético, ou seja, podem ser guiadas através deste campo. Como os tecidos humanos apresentam penetrabilidade ao campo magnético, estas NPs podem ser transportadas a regiões de interesse, como células cancerosas, e apresentar ação específica naquele local [15].

2.1.2 Nanopartículas de Magnetita

A magnetita (Fe_3O_4) é um óxido magnético de ferro natural formado por íons Fe^{+2} e Fe^{+3} . Possui magnetização espontânea em temperatura ambiente, sendo o mineral mais comum e com mais intensa magnetização, encontrado em pequenas quantidades em quase todas as rochas [16].

As nanopartículas de magnetita tem sido amplamente estudada para diversas aplicações, por possuírem várias características vantajosas. Corroborando com essa ideia, Hannickel (2001) afirma que: “Todo este interesse se dá porque primeiro, elas podem apresentar tamanhos que as colocam em dimensões comparáveis às dos vírus (20-50 nm), proteínas (5-50 nm) ou genes (2 nm de espessura e 10-100 nm de comprimento). Segundo, por serem magnéticas, as nanopartículas podem ser facilmente magnetizadas e concentradas em um local específico quando aplicado um campo magnético

externo. Quando este campo é removido elas são redispersas. Terceiro, as nanopartículas apresentam uma grande superfície de contato, que pode ser modificada para aplicações específicas, como recobri-la com determinados agentes biológicos” [17].

Outro aspecto importante da magnetita, é sua alta biocompatibilidade em seres humanos associado a um alto nível de acumulação em regiões do corpo. O que torna possível sua administração em humanos, sem que ocorra citotoxicidade considerável [17].

2.2 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE CÂNCER

2.2.1 Liberação Controlada de Fármacos

O desenvolvimento de novos sistemas transportadores de drogas vem ganhando considerável atenção nas últimas décadas, sobretudo porque a utilização da maioria dos fármacos é limitada pela impossibilidade do aumento de dosagem. Limitações principalmente relacionadas à utilização de drogas em altas concentrações, o que levou pesquisadores a aplicarem esforços, no sentido de desenvolver sistemas capazes de transportar fármacos de maneira controlada. Tais esforços se justificam, pois sistemas de liberação controlada de fármacos oferecem várias vantagens quando comparadas aos sistemas convencionais de administração de fármacos [18] [19]. Sistemas de administração convencionais, como pílulas, proporcionam uma elevada concentração da droga instantes após sua administração, atingem um pico máximo de dosagem no sangue e posteriormente diminuem, em relação ao tempo de ação do fármaco. Dentre as vantagens da liberação controlada, tem-se [20]:

- Liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz;
- Administração segura com ausência de reações inflamatórias locais e um menor número de doses;
- Baixa toxicidade e maior tempo de permanência do fármaco na corrente sanguínea;
- Diminuição dos efeitos nocivos devido a maior precisão da localização do fármaco no organismo;

- Substâncias hidrofílicas e lipofílicas podem ser incorporadas

A técnica de liberação controlada proporciona uma liberação constante, durante aproximadamente todo o período de ação da droga, a qual é administrada em doses terapêuticas durante a maior faixa de tempo. A Figura 3 traz uma comparação entre o método convencional e a liberação controlada. No primeiro há grande oscilação dos níveis de fármaco no sangue acarretando altos picos da droga, enquanto o segundo, mantém a concentração do medicamento no sangue na faixa segura, tornando-o menos agressivo se comparado ao tratamento convencional [20] [21].

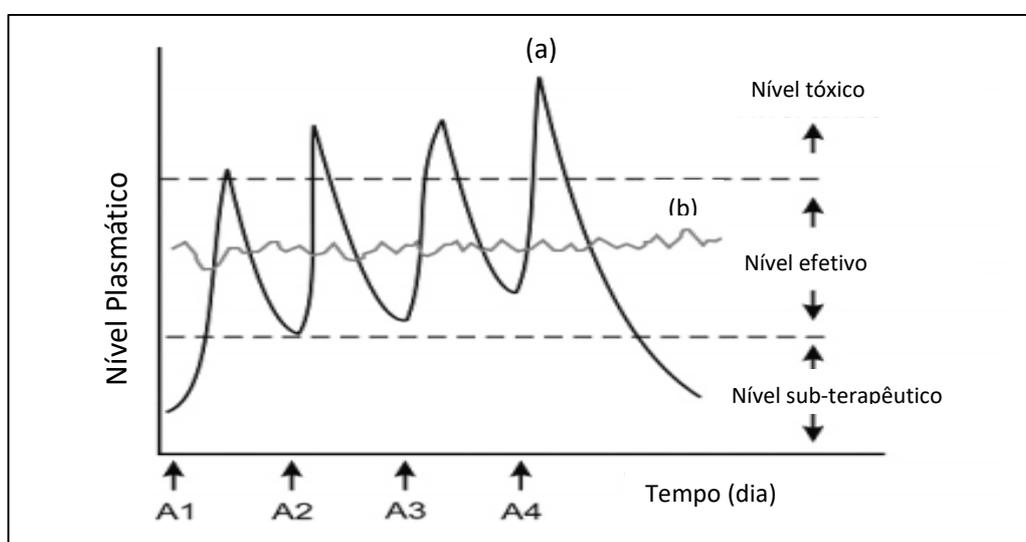


Figura 3: Representação dos picos de concentração de um fármaco em relação ao tempo. Sendo, a) liberação convencional e b) liberação controlada. Onde A é a dose administrada (adaptada) [21].

Em um sistema de liberação Controlado (SLC), o fármaco é ligado a um carreador, responsável por minimizar os efeitos químicos e físicos que limitam os resultados esperados, provenientes da administração de determinado composto. Neste trabalho, em específico, foram utilizadas como transportadores nanopartículas magnéticas (NPMs) de Magnetita (Fe_3O_4). A vantagem de se utilizar tais compósitos remonta principalmente no fato de nanopartículas magnéticas, proporcionarem elevada incorporação de fármacos em sua superfície, além de possuírem facilidade para marcação de tecidos ou órgãos desejados, através de um campo magnético externo. Tais características são possíveis, pois nanocompósitos, que combinam ação de fármacos e nanopartículas magnéticas constituem um material multifuncional, com diversas

aplicações biológicas, entre elas, a liberação controlada de drogas em locais específicos do corpo humano [4][18].

2.2.2 Marcação Tumoral

A marcação magnética de células tumorais pela administração de NPM, funciona como elemento de contraste para exames de imagiologia, através da obtenção de informações gráficas mais nítidas e precisas, contribuindo para o diagnóstico médico adequado e paralelamente tornando a técnica uma porta de entrada para inúmeras possibilidades na área biomédica.

O método consiste em administrar ao paciente um composto a base de NPMs, que possuem em sua superfície um elemento de contraste, que será carregado até o local de interesse, seja por um campo magnético externo ou por determinada característica biológica específica. No primeiro caso as nanopartículas possuem mobilidade devido ao campo magnético aplicado, podendo concentrar-se em uma região, como o caso de um ímã posicionado sobre a glândula tireoide, que através de seu campo magnético concentraria o nanocompósito. Já o segundo, a marcação de uma região específica ocorre devido a ação natural do próprio corpo. No caso da tireoide seria possível sua marcação se as NPMs carregassem Iodo (I_2) em sua superfície, visto que uma das características principais da glândula é a absorção natural deste elemento.

Nesse sentido a marcação de regiões utilizando NPMs pode ser realizada de três modos [22]:

- administração intravenosa de NPM e sua posterior captação pela célula-alvo;
- administração direta das NPMs no tecido;
- administração de células marcadas in vitro que possuem afinidade por tecidos tumorais.

Dentre os métodos a administração intravenosa é o que apresenta mais eficiência na liberação dos agentes de contraste para marcação de órgãos e tecidos. Isto ocorre, devido a uma características de células vitais em receberem suprimentos principalmente por meio da circulação sanguínea [4].

2.2.3 Hipertermia Magnética

A hipertermia magnética é conceituada como a elevação da temperatura local das nanopartículas, devido a interação de seus momentos magnéticos com campo magnético externo alternado de frequência e amplitude específicas [23]. Em geral a técnica mais utilizada para aplicações médicas é a hipertermia moderada, que refere-se a aumentos de temperatura no intervalo de 42-45 °C, enquanto a outra técnica denominada ablação diz respeito a aumentos maiores que 50 °C. A hipertermia moderada pode ser utilizado no tratamento de câncer, já que células cancerosas geralmente perecem em torno de 43 °C, devido ao fato de sua fonte de oxigênio via vasos sanguíneos ficar insuficiente, enquanto células normais não são danificadas na mesma faixa de temperatura [4].

Nesse sentido, a técnica pode ampliar a eficiência de tratamentos convencionais, como a quimioterapia e a radioterapia por meio de efeitos sinérgicos, que são aqueles de decorrem da ação cooperativa de agentes sobre o organismo, tornando o efeito conjunto maior que a soma dos efeitos de cada um dos agentes aplicados isoladamente [4] [24].

2.3 RADIAÇÃO IONIZANTE E NÃO IONIZANTE

Em sentido amplo, a radiação é qualquer dos processos físicos de emissão e propagação de energia, seja por intermédio de fenômenos ondulatórios como as radiações eletromagnéticas, ou por meio de partículas dotadas de energia cinética como a radiação corpuscular [26]. Pode ser ionizante ou não, a primeira ocorre quando a energia é superior à energia de ligação dos elétrons de um átomo com o seu núcleo, ou seja, é a radiação cuja energia é suficiente para arrancar elétrons dos orbitais de um átomo [27]. Tais ligações eletrônicas dos elétrons ao átomo é provocada por forças elétricas de diferentes valores que dependem de sua localização. Quando a ligação é próxima do núcleo, maior é a força de atração entre o elétron e o núcleo, positivamente carregado [28]. A radiação ionizante pode arrancar qualquer elétron de um átomo se tiver energia maior que o de ligação dele ao átomo. Nesse processo chamado ionização, forma-se o par íon negativo e íon positivo que respectivamente se refere ao elétron ejetado e o átomo que perdeu um elétron [28]. Com relação a segunda

classifica-se como tal, toda aquela radiação que não possui poder de ionização, mas detêm a capacidade de quebrar moléculas ou até mesmo ligações químicas.

Radiações existem no Planeta Terra desde a sua origem, sendo, portanto um fenômeno natural. Com relação as ionizantes, inicialmente, as taxas de exposição a estas radiações eram certamente incompatíveis com a vida, porem com o passar do tempo, os átomos, instáveis, foram evoluindo para configurações cada vez mais estáveis, com oito elementos em sua camada de valência, através da liberação do excesso de energia armazenada nos seus núcleos. Na natureza este tipo de instabilidade é rapidamente eliminada pela combinação com outro átomo complementar ou por uma estrutura molecular que lhe ceda o elétron necessário à sua estabilização [29].

2.3.1 Radiação Eletromagnética

Ao transporte de energia através do espaço devido à combinação de um campo elétrico e magnético, constitui o fenômeno denominado de radiação eletromagnética. São elas que compõem o espectro eletromagnético (Figura 4), são constituídas da propagação de campos elétricos e campos magnéticos com velocidade constante no vácuo (3×10^8 m/s). Elas são classificadas em luz visível, ondas de rádio e televisão, ondas infravermelho, os raios X e as radiações gama, dependendo do comprimento de onda e da frequência de oscilação [30] [31].

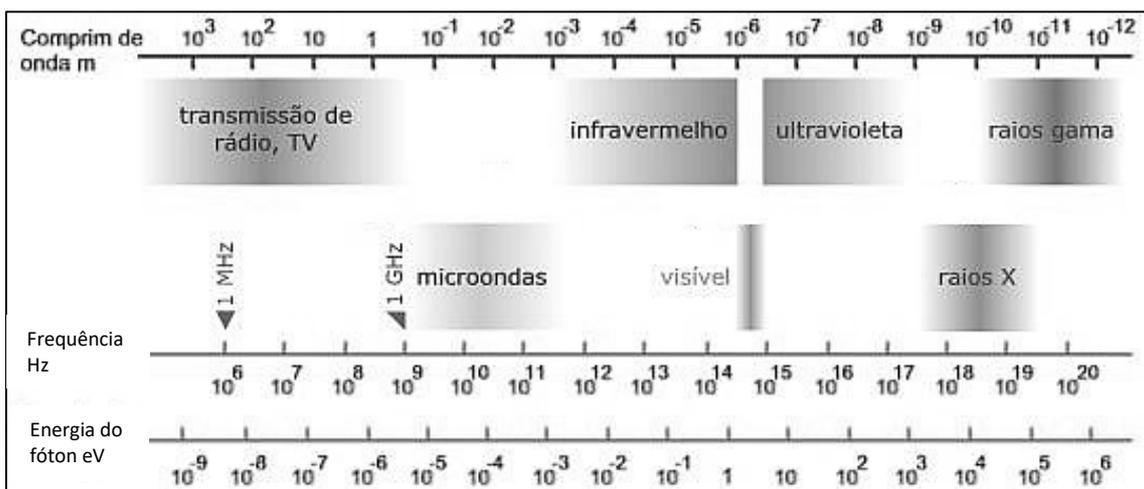


Figura 4: Espectro eletromagnético completo, representa toda faixa de frequência e comprimento de onda da radiação eletromagnética presente na natureza (adaptada) [65].

Do ponto de vista energético as radiações eletromagnética, podem ser classificadas, em ionizante e não ionizante. As ionizantes que são de interesse deste trabalho, são aquelas que possuem energia superior a 12,4 eV, o suficiente para arrancar elétrons dos átomos e por consequência quebrar as ligações químicas e causar a perda de elétrons, tornando os átomos eletricamente carregados e instáveis, causando ionização. Em todo espectro apenas os raios X e raios gama são classificados como radiação eletromagnética ionizante [32]. No mesmo sentido, as não ionizantes são caracterizadas por não apresentarem energia suficiente para arrancar elétrons dos átomos no meio pelo qual se deslocam, mas podem alterar a energia dos elétrons, provocando excitações nos átomos que por consequência poderão gerar novas ligações químicas.

Ondas eletromagnéticas como a luz visível, a radiofrequência, o calor e as ondas de rádio são formas comuns de radiações não ionizantes. Há uma polêmica quanto a faixa do espectro compreendida pela radiação ultravioleta (UV) ser considerada ionizante ou não. De acordo com Okuno et al. (2013), radiação ultravioleta para fins de fotobiologia é considerada não ionizante por não possuir energia suficiente para arrancar elétron dos principais átomos que constituem o corpo humano como hidrogênio, oxigênio, carbono e nitrogênio. Além disso, seu poder de penetração no corpo humano é extremamente baixo [28].

2.3.1.1 Raios-X

Os raios X foram descobertos em 8 de novembro de 1895 por Wilhelm Conrad Röntgen, quando professor de física de Julius-Maximilian University em Würzburg (Alemanha) [25]. Em 28 de dezembro de 1895, seu trabalho "*Über eine neue Art von Strahlen*" ("Sobre uma nova espécie de raios"), foi submetido para publicação e descreve de forma sucinta e objetiva a sua descoberta [33].

Röntgen, ao realizar experiências com descargas elétricas em tubos com gases a baixa pressão, identificou certa luminescência em uma peça contendo platinocianeto de bário que estava situada a uma determinada distância do tubo. Essa radiação desconhecida, mas de existência comprovada, foi denominada raios X. A primeira evidência que a radiação poderia ter aplicações médicas surgiu quando Röntgen expôs a mão de sua esposa, Anna Bertha Ludwing, aos raios X, sendo possível observar que a absorção de raios X depende da

densidade do tecido. Enquanto o osso a absorve particularmente bem, tecidos moles tais como fibra muscular, os quais possuem uma densidade mais baixa que o osso, absorvem menos raios X [4].

Os raios X possuem a mesma natureza eletromagnética da radiação, diferindo somente na origem, já que os raios gama são de origem nuclear, enquanto os raios X são produzidos na eletrosfera. Podem ser definidos como radiação eletromagnética emitida por partículas carregadas quando mudam de nível de energia atômica (raios X característicos) ou na desaceleração, devido à interação coulombiana com núcleos de número atômico elevado ou com outros elétrons da eletrosfera (raios X de freamento ou de *bremstrahlung*) [34].

2.3.1.2 Raios Gama

Radiação gama é emitida por núcleos de átomos de elementos radioativos naturais ou artificiais. Sendo uma radiação de natureza eletromagnética altamente energética (10^4 eV até 10^{19} eV) e com comprimento de onda extremamente baixo (menor que 1 Å), o que lhe confere elevado poder de penetração [35]. Os raios gama surgem, a partir de núcleos atômicos em estado excitado, após prótons ou nêutrons mudarem de um nível de maior energia para um de menor energia [36].

Devido a sua característica altamente penetrante a radiação gama é largamente utilizada em aplicações médicas de radioterapia, principalmente no tratamento de câncer e aplicações industriais, como na esterilização de equipamentos médicos, alimentos e até em *scanners*, para identificação do interior de veículos e contentores.

2.3.2 Radiação Corpuscular

É denominada radiação corpuscular, aquela que provem da dissociação de núcleos instáveis, ocorrendo transferência de energia de um ponto a outro, através de partículas subatômicas com energia cinética. Elétrons, nêutrons e prótons ejetados de átomos ou núcleos atômicos são exemplos de radiação corpuscular. Podem ser do tipo alfa (α) ou beta (β), sendo tal classificação obtida

através de informações como: carga, massa de repouso e velocidade das partículas.

2.3.2.1 Partícula Alfa (α)

A emissão de radiação alfa, ou partícula alfa, decorre do processo de estabilização de um núcleo com excesso de energia. Isso acontece, através da emissão de um grupo de partículas (núcleos de He), constituídas por dois prótons e dois nêutrons, e da energia cinética a elas associada, emitida por núcleos instáveis de elevada massa atômica [36] [37].

Dentre as partículas, a alfa possui o menor poder de penetração e alta taxa de ionização. Geralmente são emitidas com velocidade de aproximadamente $0,05c$ sendo inofensivas em exposições externas, pois não conseguem atravessar as primeiras camadas na pele humana. No entanto por ser altamente ionizante, se ingerida, pode causar sérios danos em regiões do corpo, principalmente na mucosa que protege os sistemas respiratório e gastrointestinal e nas células dos tecidos adjacentes [36].

2.3.2.2 Partícula Beta (β)

A emissão de radiação beta é um processo de estabilização comum em núcleos de massa reduzida ou intermediária, que possuem excesso de nêutrons ou de prótons em relação à estrutura estável correspondente. Esta radiação ocorre na forma de partículas beta (β) e resulta de partículas emitidas por um núcleo a uma velocidade aproximada de $0,95c$, quando da transformação de nêutrons em prótons (partículas beta) ou de prótons em nêutrons (pósitrons) [36] [37].

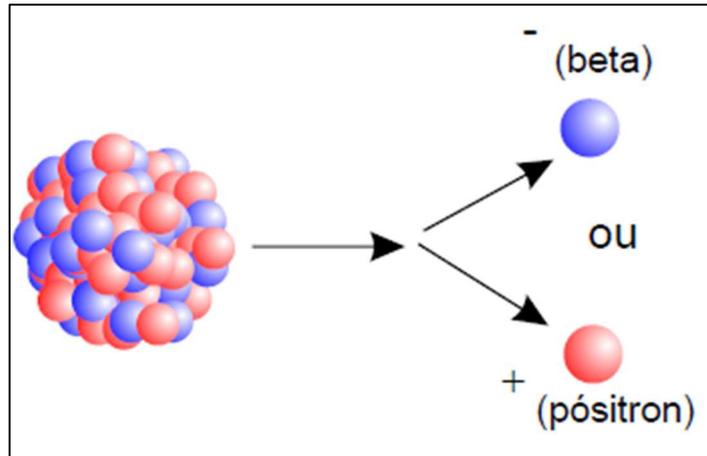


Figura 5: Representação da emissão beta, na forma β^+ e β^- , resultado da conversão de prótons em nêutrons e nêutrons em prótons, respectivamente [37].

Em outras palavras, conforme ilustra a Figura 5, podem haver dois tipos de decaimento beta; β^+ e β^- . A primeira, também chamada de pósitron, resulta do excesso de prótons, que convertem-se em nêutrons. A segunda, chamada propriamente de partícula beta, é resultado da conversão de nêutrons em prótons.

Sabe-se também que o poder de penetração da radiação beta, assim como de outras formas de radiação ionizante, dependem de sua energia. Sua penetração é superior à da partícula alfa, porém sua ionização é menor. Ademais, ainda é considerada de baixa penetração, podendo facilmente ser detida por uma folha de alumínio.

Para o tecido humano, consegue atravessar espessuras de alguns milímetros, podendo ser usada em procedimentos médicos, como em tratamentos na superfície da pele [36].

2.3.3 Interação da Radiação com a Matéria

Quando a radiação eletromagnética interage com a matéria, de maneira geral podem ocorrer três tipos de fenômenos: excitação, ionização, ativação e radiação de freamento

A excitação de um elétron ocorre quando a radiação promove este elétron para um nível de energia mais elevado, ou seja, transfere o elétron de uma camada eletrônica mais interna para uma camada eletrônica mais externa. O

elétron continua ligado ao átomo porém não há produção de íons, diferente da ionização que é resultado da remoção de ao menos um elétron do átomo ou molécula, deixando-o com excesso de prótons e conseqüentemente carregado positivamente, resultando na criação de um par de íons composto de um elétron negativo e um átomo ou molécula com carga positiva [27]. Já a ativação, ocorre quando existe interação da radiação com energia superior à energia de ligação dos núcleos de um material, provocando reações nucleares e conseqüentemente resultando num núcleo residual e emissão de radiação.

2.4 IODO RADIOATIVO (^{131}I)

O iodo radioativo ou radioiodo é um isótopo, ou seja, um átomo de iodo cujo núcleo tem o mesmo número atômico que o iodo elementar, mas número diferente de nêutrons e conseqüentemente massa diferente [38]. É um elemento largamente utilizado em procedimentos de Medicina Nuclear há mais de seis décadas, sendo um método conveniente, seguro e efetivo para detecção e tratamento das doenças da tireoide [39] [40].

As propriedades químicas do ^{131}I em relação ao iodo estável são idênticas, desta forma, embora o iodo instável emita radiação ionizante as células do corpo humano são incapazes de detectar a diferença entre os dois tipos, o que torna o sistema de captação e metabolismo intracelular capaz de absorver-los [40].

Dentre os isótopos, o ^{131}I possui meia vida física de aproximadamente 8,02 dias. Isso significa que, decorridos 8,02 dias, a atividade do elemento será reduzida à metade. Passados mais 8,02 dias, diminuirá à metade desse valor, ou seja, 1/4 (25%) da atividade inicial e assim sucessivamente. Emite radiação corpuscular e eletromagnética, respectivamente na forma de partículas beta com energia $E_{\text{máxima}}= 606,3 \text{ KeV}$ e $E_{\text{média}}= 0,20 \text{ MeV}$ e radiação gama com energia de $E_{\text{máxima}}= 364,5 \text{ KeV}$. Tais emissões nesta faixa específica de energia se tornam ideias para o tratamento como a iodoterapia [40] [38].

As doses do ^{131}I utilizadas para tratamentos terapêuticos são comumente administradas pela via oral, na forma líquida ou em capsulas, sendo rapidamente absorvido pela glândula tireoide, onde são incorporados e concentrados nos folículos de armazenamento. Após a administração do ^{131}I a atividade captada pela tireoide pode variar em diferentes pacientes em razão de alguns fatores

como: massa do tecido, grau de captação, distribuição da radioatividade e radiosensibilidade das células [41].

Entre as vantagens do ^{131}I , podemos destacar: alta eficácia, baixo custo e ausência de dor no paciente [42].

Por outro lado, o ^{131}I induz considerável aumento da frequência de micronúcleos em glóbulos brancos do tipo linfócito do sangue periférico em pacientes que receberam o radiofármaco [43]. Além disso, após a administração do ^{131}I , pode haver formação de fatores clastogênicos¹ por um período de aproximadamente dois meses. De acordo com outro estudo, foi observada ação mutagênica pela administração de $10\mu\text{Ci}$ de ^{131}I como também formação de micronúcleos em células HTC (Hepatocarcinoma) [44].

¹ Fatores de risco para o desenvolvimento de efeitos tardios da irradiação.

CÁPÍTULO 3

3. MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Neste capítulo, apresentamos um resumo das principais técnicas experimentais, utilizadas na síntese, caracterização e aplicação biológica dos nanocompósitos, $\text{Fe}_3\text{O}_4 + {}^{131}\text{I}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$.

3.1 OBTENÇÃO IODO NA FORMA LÍQUIDA

Em temperatura ambiente o iodo encontra-se em seu estado sólido, sendo pouco solúvel em água (0,001 mol/L). Para obter soluções em concentrações analíticas úteis, o iodo (I_2) é comumente dissolvido em soluções moderadamente concentradas de iodeto de potássio (KI). Como mostra a Reação 1, isso é possível devido a formação do triiodeto (I_3^-), através da adição do iodeto de potássio (KI), tornando o iodo (I_2) razoavelmente solúvel em água [46].



3.2 MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE (VSM)

Um dos principais métodos que possibilitam medir a magnetização de uma amostra, é o magnetômetro de amostra vibrante. Desenvolvido por S. Foner em 1955, o VSM proporciona boa performance, baixo custo e simplicidade de funcionamento [47].

Na Figura 6, estão representados os componentes principais de um magnetômetro, onde a amostra é presa à extremidade de uma haste rígida, posicionada entre bobinas captadoras, sendo a outra extremidade presa a um alto falante que vibra com frequência f . Através da vibração, com frequência de aproximadamente 45 Hz ocorre a variação do fluxo magnético em relação ao tempo.

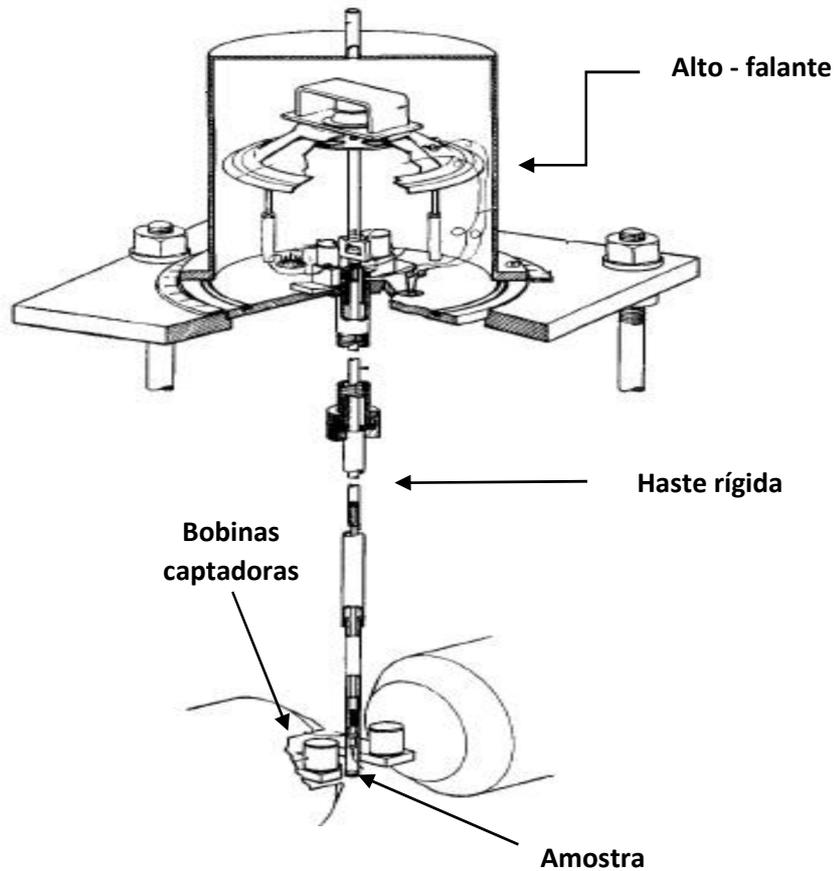


Figura 6: Diagrama do magnetômetro de amostra vibrante (VSM) [48].

Desta forma a amostra produz um campo magnético induzido, e conseqüentemente, uma tensão alternada induzida nas bobinas captadoras, que é dada por:

$$E = \sigma GA2\pi f \cos(2\pi ft) \quad (2)$$

Em que:

E = tensão induzida pela amostra;

σ = magnetização da amostra;

G = função da geometria das bobinas de detecção;

A = amplitude de vibração;

Através do campo induzido obtém-se a magnetização da amostra para cada valor de campo aplicado [48].

3.3 ESPECTROSCOPIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL

A espectroscopia na região do UV-vis é um método largamente utilizado em determinações analíticas, possuindo ampla aplicação na caracterização de diversas propriedades de inúmeras espécies orgânicas e inorgânicas, sendo possível por exemplo, a identificação dos grupos funcionais em uma molécula.

A absorção ou transmissão de radiação eletromagnética na região visível e ultravioleta, está principalmente relacionada, com a quantidade e arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como consequência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie estudada [49].

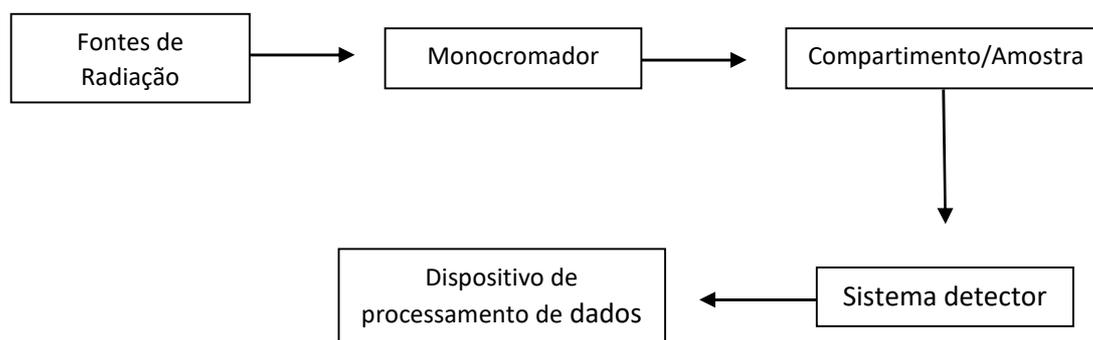


Figura 7: Representação dos principais componentes de um espectrofotômetro (adaptada) [49].

Conforme ilustra a Figura 7, a técnica consiste, em fazer incidir sobre uma amostra, certa intensidade de radiação eletromagnética na faixa UV-Vis, que é respectivamente, detectada por um dispositivo, e processado por um computador. Quando a radiação incide na amostra, parte é absorvida e o restante transmitida, sendo que a quantidade de luz transmitida pode ser expressa em transmitâncias e/ou absorbância. Estabelecendo uma relação entre a radiação incidente (I_0) e a radiação transmitida (I), é possível obter a transmitância, conforme a Equação 3.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3)$$

A partir da eq. 3, é possível obter a absorvância:

$$A = \text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (4)$$

No mesmo sentido, a lei de Lambert-Beer, estabelece que, “a fração de luz absorvida por cada camada da amostra é a mesma”. Desta forma é possível escrever uma expressão mais adequada para a absorvância [49].

$$A = \text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon c l \quad (\text{Lei de Lambert-Beer}) \quad (5)$$

Em que:

A= absorvância

ε = absorvidade molecular ou coeficiente de extinção

c= concentração do material absorvedor

l= espessura da amostra da amostra através da qual a luz passa.

3.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Quando uma onda eletromagnética atinge a superfície de um material, parte da energia é absorvida na forma de calor pelo material e a outra fração da energia é retransmitida na forma de luz espalhada. A luz emergente apresenta em seu bojo, uma pequena parcela, composta de frequências diferentes daquela incidente. O nome dado a este processo de espalhamento da luz, com frequências diferente daquela incidente é denominado *espalhamento Raman* [50].

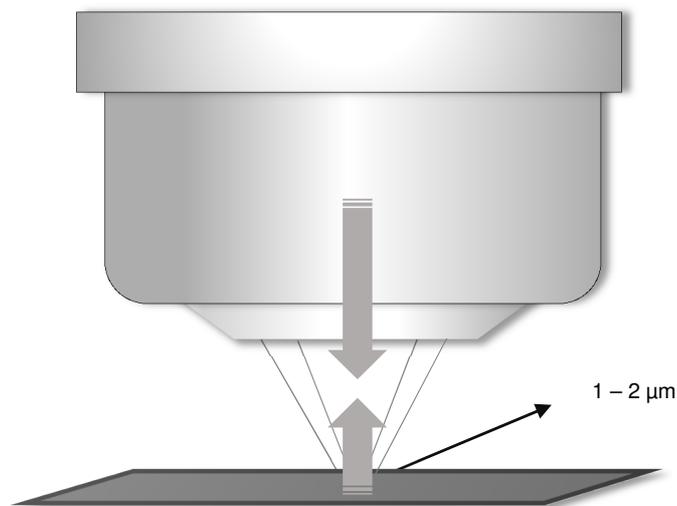


Figura 8: Um feixe monocromático de laser, é utilizado para iluminar uma área de até $2\mu\text{m}$ de um material, que ao incidir é espalhado em todas direções. Onde a objetiva do microscópio serve tanto para focalizar o laser, quanto para coletar a radiação incidente no material (adaptada) [51].

Conforme mostra a Figura 8, a técnica consiste em fazer incidir uma fonte monocromática de luz a qual, ao atingir um material, é por ele espalhada com frequência igual ou diferente da incidente. Sendo de interesse para a técnica apenas a segunda, que fornecerá, a partir da diferença de energia, informações importantes acerca da composição química do material. A diferença de frequência a qual é observada, corresponde à energia de vibração dos átomos, na área do material em que a radiação incide. Tal frequência de vibração permite identificar principalmente, como os átomos estão ligados, qual a geometria molecular, como as espécies químicas presentes interagem entre si e com o ambiente, entre outras informações [51].

3.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia de absorção no infra vermelho com transformada de Fourier (*FTIR – Fourier transform infrared*) é uma importante técnica no estudo das vibrações de átomos ou moléculas, quando estes recebem uma radiação. Em outras palavras, é utilizada para identificação de unidades estruturais encontradas nas substâncias, com base nas frequências vibracionais de suas

moléculas. O espectro de vibração no FTIR é constituído, em geral, por bandas, decorrentes da absorção da radiação eletromagnética; que resulta do movimento vibracional aleatório, dos átomos que constituem uma molécula. Tal espectro é gerado após a conversão, via transformada de Fourier, das múltiplas combinações de frequências possíveis. No caso dos sólidos; existe grande número de bandas, sendo que cada uma, corresponde a determinada vibração específica de um composto [52] [53].

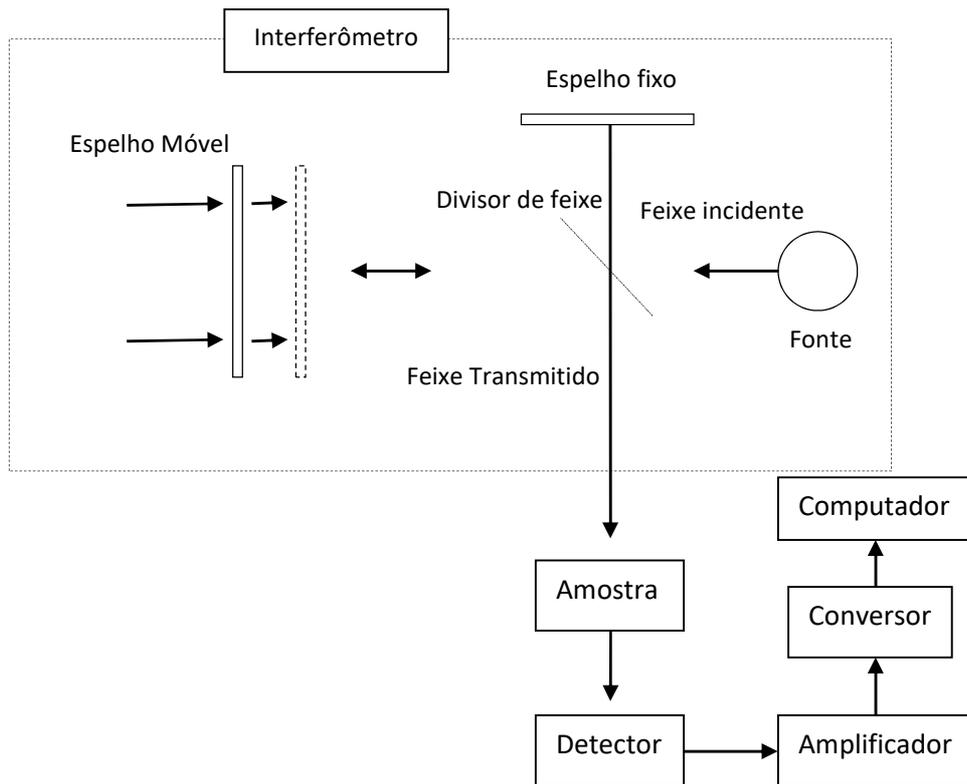


Figura 9: Ilustração esquemática de um interferômetro de Michelson e os demais componentes do espectrofotômetro (adaptada) [54].

Conforme ilustra a Figura 9, neste equipamento, uma fonte de radiação policromática incide em um limitador de feixe, transmitindo radiação policromática proveniente de uma fonte, incide em um divisor de feixe que transmite metade da radiação e reflete a outra metade. Parte dos feixes incidem em um espelho fixo e outra parte em um espelho móvel, ambos são refletidos de volta ao divisor de feixes onde se encontram formando padrões de interferência. Simultaneamente o feixe atravessa a amostra e incide no detector dando origem a um interferograma analógico, que é detectado e convertido em dados por um computador [54].

O espectrômetro é um equipamento vantajoso, pois permite elevada sensibilidade, resolução e rapidez de registro. Todavia, para que uma molécula apresente resultados de absorção infravermelho, deve possuir variação do momento dipolar durante a vibração, o que inviabiliza a análise de algumas moléculas como, as diatômicas apolares, por exemplo, o Iodo (I_2), que não apresenta espectro vibracional na região do infravermelho [55].

3.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A difratometria de raios X é uma importante técnica não destrutiva e extremamente versátil, largamente utilizada na análise de estruturas cristalográficas de materiais naturais e sintéticos. Fornece informações, como: tamanho, simetria, orientação dentre outras, encontrando aplicações em diversos campos do conhecimento [56].

Uma estrutura cristalina consiste em determinada distribuição regular e tridimensional de átomos, organizados de modo a formar uma série de planos paralelos separados entre si por uma distância d , que varia em relação a característica do material. Sendo cada uma com seus próprios espaçamentos d específicos [56].

A difração de raios X acontece quando uma frente de ondas incide através de fendas com separação comparadas ao comprimento de onda λ da radiação que nela atravessam. Deste modo a técnica de DRX baseia-se na interação da radiação eletromagnética de comprimento de onda λ ($\approx 0,1$ nm) com planos de átomos do sólido cristalino [57].

Como mostra a Figura 10, através da incidência de um feixe de raios X monocromático de determinado comprimento de onda, sobre um material cristalino com os átomos arranjados em um conjunto de planos paralelos A, B, C, D, separados por uma distância d , é possível que ocorra a difração de raios X. Todavia para que o efeito se concretize, é preciso que a distância percorrida pelos raios refletidos de planos sucessivos seja diferente por um número n inteiro de comprimento de onda [56] [57].

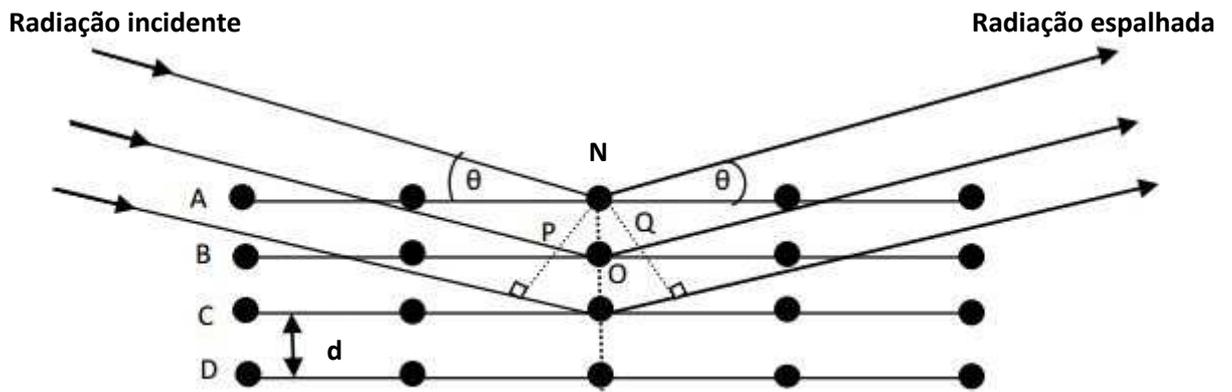


Figura 10: Representação da difração de raios X por um cristal (adaptada) [54].

No que diz respeito as condições geométricas, para que o feixe difratado seja produzido, é necessário observância a lei de Bragg.

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta \quad (6)$$

Em que:

λ = comprimento de onda dos raios X incidentes;

d = espaçamento interplanar;

θ = ângulo de difração;

n = múltiplo inteiro do comprimento de onda;

Um método largamente utilizado para caracterização de materiais é denominado, “método do pó”, o qual consiste em submeter o material a uma radiação incidente monocromática com um ângulo de incidência Θ variável [54].

3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura, é um equipamento versátil de grande utilidade, capaz de fornecer rapidamente informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida. A principal razão de sua utilidade é a capacidade de alta resolução em observações de amostras. Para utilização em pesquisas, são capazes de alcançar uma resolução melhor que 1 nm [58].

Como ilustra a Figura 11, para realização de determinada medida, o equipamento faz incidir um feixe de elétrons na amostra, com energia suficiente para ser captado pelos detectores. O feixe é demagnificado por lentes eletromagnéticas, que condensam e diminuem o diâmetro do feixe, de forma a incidi-lo em apenas uma pequena região [59]. O pequeno diâmetro do feixe permite explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente [58]. Para serem detectados, as partículas e/ou os raios eletromagnéticos resultantes da interação do feixe eletrônico com o material, devem retornar à superfície da amostra e atingirem o detector [58].

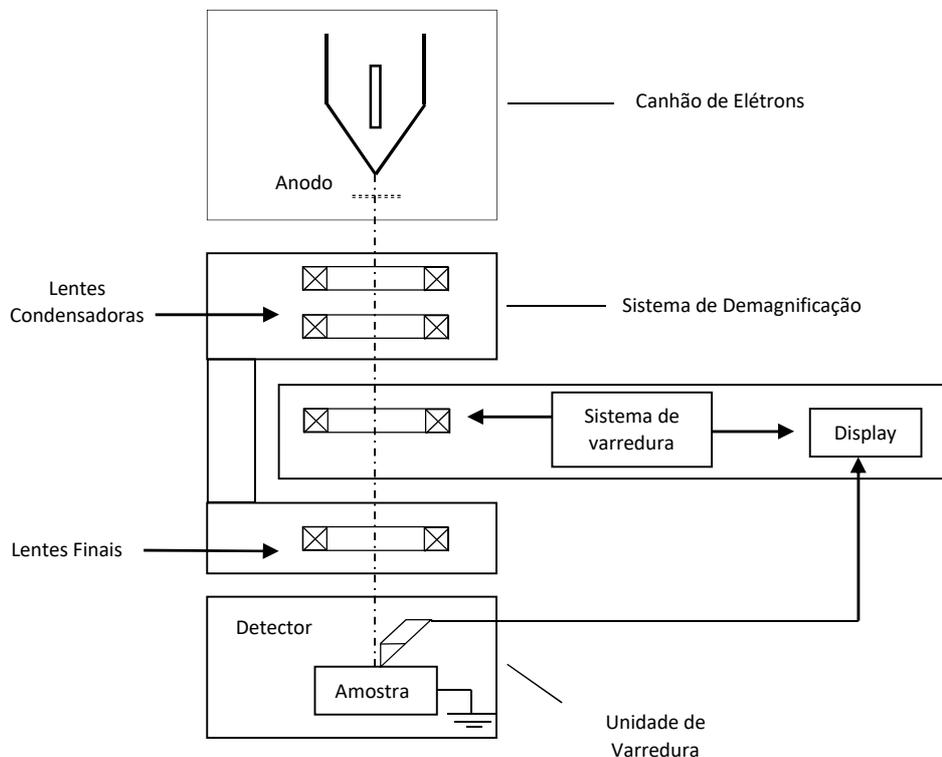


Figura 11: Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura (adaptada) [59].

As imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura são usadas para se identificar diversas informações sobre imperfeições, porosidades, dimensões, tamanho e distribuição de grãos.

Uma particularidade importante do microscópio eletrônico de varredura é a sua capacidade de exteriorização tridimensional da imagem obtida,

consequência direta da ampla profundidade de campo. Propicia, também, a análise com pequenos aumentos e grande profundidade de foco, complementando a informação dada através da imagem óptica [58].

A referida técnica, possui grande diferença em comparação com o microscópio óptico. Um microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um microscópio óptico convencional. Além disso o MEV é capaz de ampliar aproximadamente 3.000.000 enquanto o óptico, apenas 2.000 [58].

3.7.1 Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

A espectroscopia por energia dispersiva de raios X (EDX), consiste em uma técnica analítica utilizada na investigação da composição qualitativa e semi-qualitativa de um material [60]. Através da emissão de um feixe de partículas carregadas sobre o material, os elétrons da camada de valência dos átomos e os íons que os constituem são excitados saltando de nível energético. Quando retornam para posição originária, liberam energia eletromagnética na faixa do comprimento de onda dos raios X. A energia é então captada por um detector instalado na câmara de vácuo, que mede a energia associada ao elétron excitado. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, determinar qual a estrutura química presentes no local da incidência dos raios X, assim como identificar rapidamente qual elemento está sendo observado [61].

A técnica EDX é extremamente vantajosa pois possibilita a determinação da composição química de materiais de maneira versátil, mesmo que em pequenas concentrações, o que não é possível em algumas outras técnicas de espectroscopia.

3.8 ENSAIOS CITOTÓXICOS

O teste de citotoxicidade utilizado foi o ensaio MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]}, que consiste em um teste colorimétrico usado para avaliar indiretamente a viabilidade celular. Este ensaio indica a sobrevivência celular, uma vez que baseia-se na capacidade da succinato

desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs, ativa em mitocôndrias de células vivas, converter o MTT, hidrossolúvel e de cor amarela, em cristais de formazan de coloração roxa (Figura 12). Portanto, somente células vivas conseguem fazer essa conversão, indicando a atividade mitocondrial, refletindo no estado funcional da cadeia respiratório e conseqüentemente, a viabilidade celular [41] [62].

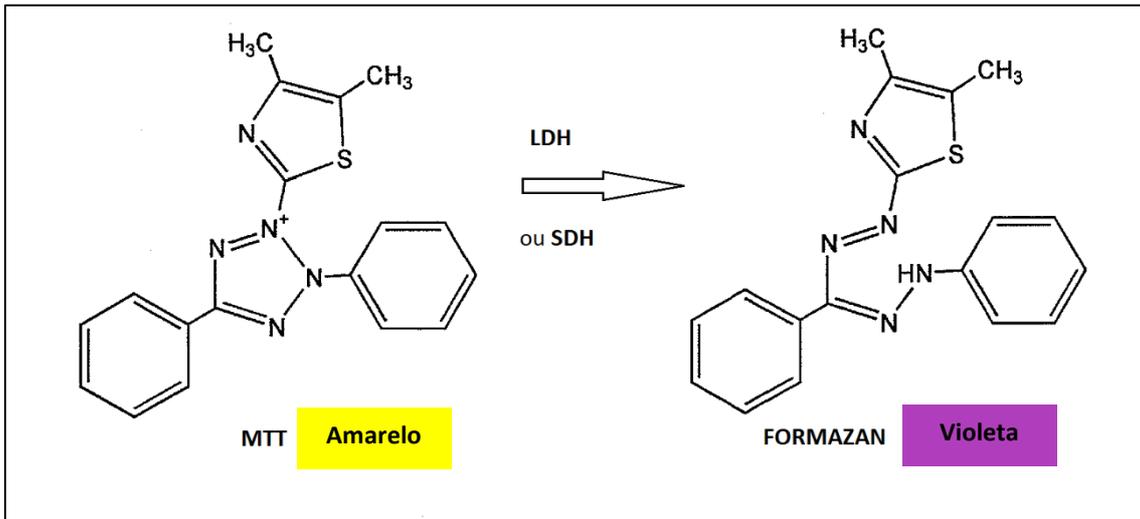


Figura 12: Conversão do sal tetrazólio pela succinato desidrogenase (SDH) em cristais de formazan (adaptada) [45].

A partir desta premissa, observa-se que o formazan produzido por suspensões celulares está diretamente correlacionado com o número de células vivas metabolicamente ativas, assim, o ensaio colorimétrico de MTT pode ser empregado como um experimento para identificação do crescimento celular e citotoxicidade [41].

Embora a conversão do MTT, seja em regra atribuída à atividade da cadeia respiratória mitocondrial, alguns estudos indicam exceções. De acordo com Heck (2014) a redução do MTT também está relacionada com enzimas não mitocondriais, presentes no citoplasma ou outros compartimentos citoplasmáticos [41].

Na mesma seara, estudos indicaram que os processos oxidativos e outras cadeias mitocondriais enzimáticas de elétrons, possam estar diretamente relacionados com a metabolização do MTT.

Considerando tais premissas, embora o ensaio MTT não seja exclusivamente atribuído a cadeia respiratória mitocondrial, é possível identificar que o aumento de viabilidade celular será inversamente proporcional à quantidade de oxigênio reativo liberado pelas células, o que torna o ensaio MTT um método extremamente versátil e confiável [41].

CAPITULO 4

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Nesta etapa, apresentamos uma descrição detalhada dos procedimentos experimentais utilizados na síntese e caracterização de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$) e com iodo radioativo ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + {}^{131}\text{I}$).

Para que não houvesse risco de contaminação e deterioração dos equipamentos, não foi utilizado o ${}^{131}\text{I}$ em algumas medidas, sendo este substituído pelo iodo comum. Tal substituição não compromete o estudo com ${}^{131}\text{I}$ no caso específico, uma vez que ambos elementos possuem propriedades químicas idênticas [40].

4.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA

As nanopartículas foram sintetizadas através da decomposição térmica pelo modo polimérico [54]. Conforme ilustra a Figura 13, o método consiste respectivamente dos seguintes passos: inicialmente é preparada uma solução aquosa de polivinil álcool (PVA) 10% (m/m), em seguida adiciona-se $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ à solução, mantendo a razão molar 1:10 do ion de ferro e o monômero do PVA, posteriormente a mistura é mantida a 70°C sob agitação magnética durante 24h. O resultado da mistura foi adicionado a uma placa de poliestireno, onde foi seca a temperatura ambiente até a formação de uma filme fino. O filme é colocado na estufa onde permaneceu por 2 horas a temperatura de 120°C . Após este período o material resultante foi macerado suficientemente até que possua dimensões nanométricas em seguida levado ao forno de tubo onde permaneceu por duas horas à temperatura de 600°C com uma taxa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$. O pó resultante foi lavado com uma solução de HNO_3 e água. Finalmente, as nanopartículas de magnetita foram secas em estufa a 110°C por 2 horas e denominadas M600.

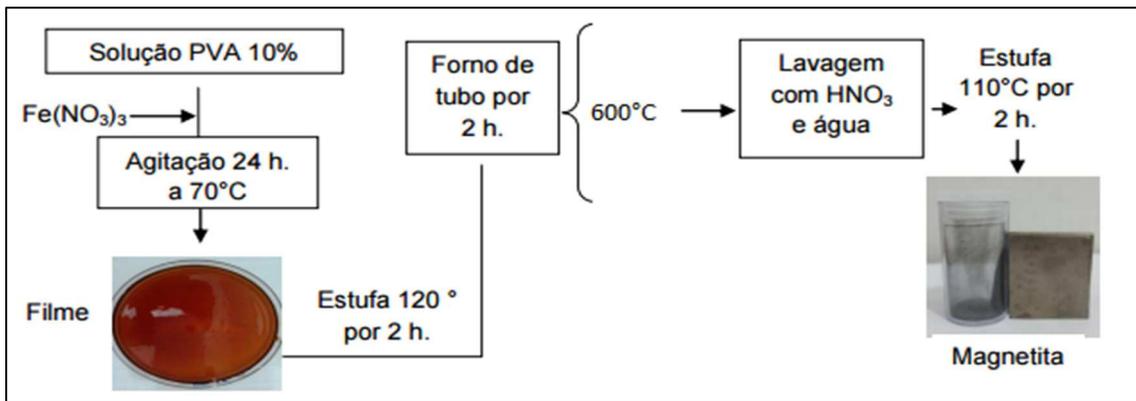


Figura 13: Fluxograma do processo de síntese de nanopartículas de magnetita segundo a técnica de decomposição térmica pelo método polimérico (adaptada) [54].

4.2 OBTENÇÃO DO IODO A 3%

Utilizando uma balança analítica de marca Shimadzu, modelo AUW220D, com alta sensibilidade pertencente ao Laboratório do Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais da Universidade Estadual de Maringá, conforme ilustra a Figura 14, mediu-se a massa de 1,9 g do iodo (I_2), que foi transferida para um béquer de 250 mL contendo 5 g de KI dissolvido em 25 mL de água destilada, em seguida, a mistura foi cuidadosamente agitada para dissolver todo o iodo. Posteriormente todo o conteúdo foi transferido do béquer para um balão volumétrico de 250 mL, completou-se com água deionizada e homogeneizou-se. Em seguida transferiu-se todo o conteúdo do balão para frasco de plástico opaco.

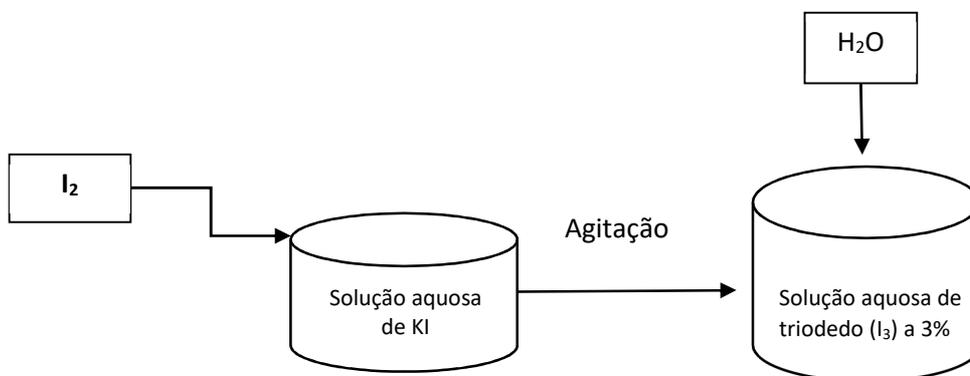


Figura 14: Ilustração do processo de síntese do iodo sólido em líquido.

4.3 FIXAÇÃO DO IODO COMUM E RADIOATIVO NA SUPERFÍCIE DAS NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA

A fixação do iodo comum na superfície das nanopartículas foi obtida através da agitação mecânica, com auxílio de um agitador mecânico similar ao da Figura 15.

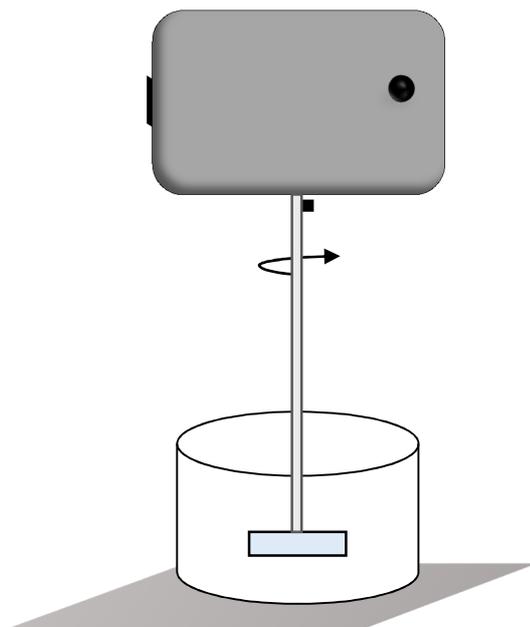


Figura 15: Ilustração do equipamento utilizado na agitação da solução de magnetita e iodo.

Conforme mostra a Figura 16, foram adicionados separadamente 0,1020g de nanopartículas de Fe_3O_4 em solução de 30 ml de I_3 (3%), ambas permaneceram em agitação por 12 horas. Posteriormente o líquido sobre o nanocompósito foi retirado com auxílio de uma pipeta volumétrica até o limite possível, sem que nanocompósito fosse retirado. Em seguida o material obtido foi seco em uma chapa de aquecimento a 50°C , onde o triiodeto (I_3) após seco, retoma sua característica de iodo sólido (I_2) resultando em um pó de ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$).

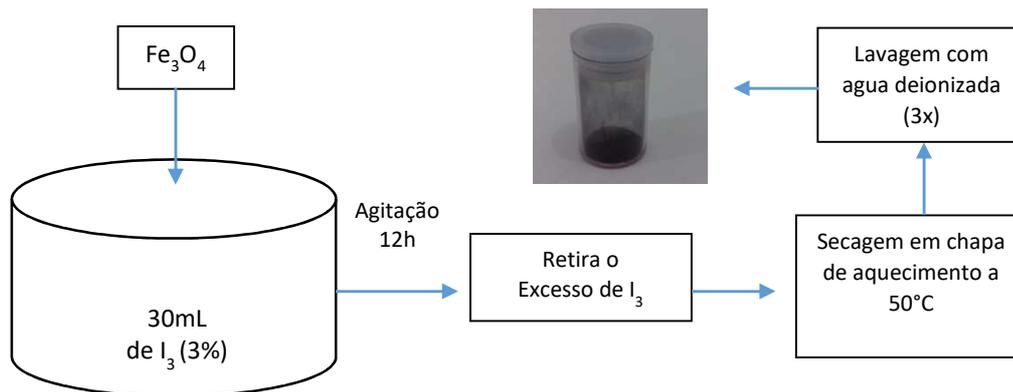


Figura 16: Fluxograma representando o processo de fixação do iodo comum na superfície de nanopartículas de magnetita.

Finalmente, para retirar o resíduo de iodo não fixado na superfície das nanopartículas, o material foi lavado com água deionizada, em seguida secado em chapa de aquecimento a 50°. Repetiu-se o processo de lavagem por 3 vezes, em seguida o nanocompósito obtido foi armazenado em recipiente opaco.

O processo de adição do iodo radioativo (^{131}I) em nanopartículas de magnetita (Figura 17), ocorreu por meio da aplicação direta do isótopo com atividade de aproximadamente 91,7 μCi , em uma amostra de 35mg de nanopartículas, onde permaneceram por 24 horas até a secagem total, instante em que detinham 84,08 μCi de atividade.

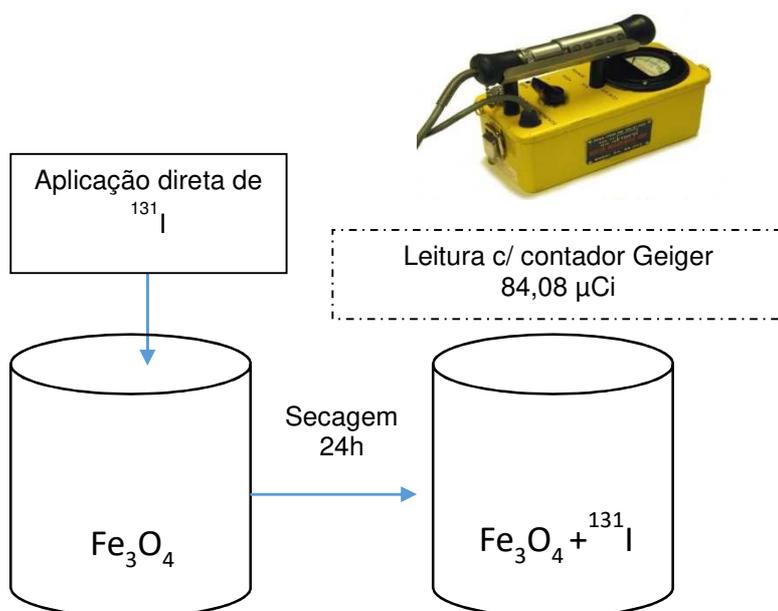


Figura 17: Fluxograma representando o processo de fixação do iodo radioativo na superfície de nanopartículas de magnetita

4.4 MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE

Os dados referentes a magnetometria de amostra vibrante foram obtidas através de um magnetômetro pertencente ao laboratório do Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais (GDDM-UEM). Para a realização da medida, foram utilizados, 31,19 mg do nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4+\text{I}_2$ (magnetita + iodo comum) em forma de pó e acondicionadas em um porta amostra.

Conforme explicitado no Capítulo 3, o material foi posicionado entre as bobinas captadoras do equipamento e submetido a uma frequência de vibração de 45 Hz produzindo um campo magnético oscilante e conseqüentemente gerando uma tensão alternada induzida nas bobinas captadoras. Posteriormente um computador, através por meio de processamento de dados, forneceu informações sobre a magnetização (M) em função do campo magnético (H).

4.5 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL

O equipamento utilizado neste trabalho, para caracterizar a absorbância e transmitância molecular na região do UV-Vis foi o espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 1050. Este equipamento possui suporte para materiais sólidos, possibilitando que sejam realizados testes em nanopartículas sintetizadas pela técnica PVA. O espectrofotômetro pertence ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá (COMCAP), sendo utilizado para esta análise comprimento de onda no intervalo de 200 nm a 2000 nm.

4.6 ESPECTROSCOPIA CONFOCAL RAMAN

Para análise de espectroscopia Raman foi utilizado o espectrômetro marca Bruker, modelo SENTERRA, pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), na faixa espectral de 10 nm a 5000 nm em temperatura ambiente. Foram analisadas, amostras de M600 simples (Fe_3O_4) e M600

recoberta com iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$) com o objetivo de identificar os espectros característicos de cada material, assim como obter informações sobre a estrutura molecular e ligações químicas dos materiais, tornando possível a caracterização da estrutura e principalmente observar se através da técnica é possível identificar a presença de iodo ligado à superfície de nanopartículas.

4.7 ESPECTROSCÓPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os dados da técnica FTIR foram obtidos através do espectrofotômetro Bruker Vetex, acoplado a um módulo de detecção de espalhamento Raman. As medidas foram realizadas na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 128 varreduras. O material utilizado para análise foi o nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$. Onde foi misturado com brometo de potássio (KBr) na proporção 5:200 (m/m).

4.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

As análises por difratometria de raios X se realizou por meio do difratômetro de raios X Shimadzu modelo XRD-7000, com radiação de $\text{Cu K}\alpha$ pertencente ao Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais (GDDM-UEM). Tais medidas foram realizadas com uma velocidade de varredura de 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$.

4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As imagens obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas em um microscópio marca FEI, modelo Quanta 250, pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá. O material analisado foi o nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$.

Para realização das medidas, inicialmente uma pequena quantidade do nanocompósito foi adicionada em 5 ml de água destilada, em seguida submetida a agitação através de uma ponta ultrassônica com o objetivo de separar as nanopartículas umas das outras; com o auxílio de uma pipeta foram adicionadas duas gotas da solução em suportes cilíndricos de alumínio. Após a secagem, os

suportes foram metalizados com uma fina camada de ouro dentro de uma câmara de vácuo marca Bal-Tec, Modelo SCD 050 Sputter Coater, pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP). Dessa maneira, após incidência do feixe de elétrons, e da varredura da superfície do nanocompósito, foram obtidas as micrografias através do detector de elétrons secundários.

4.9.1 Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

Os dados referentes a espectroscopia por energia dispersiva de raios X foram realizadas em um espectrofotômetro, pertencente ao complexo de centrais de apoio à pesquisa (CONCAP). Como o EDX é um acessório acoplado ao MEV, as medidas foram obtidas concomitantemente à realização da microscopia eletrônica de varredura. Desta forma, o material e a técnica de preparação, para realização das micrografias foram os mesmo utilizados no EDX.

4.10 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

A avaliação de citotoxicidade de nanopartículas de magnetita Fe_3O_4 do iodo comum (I_2) e radioativo (^{131}I), foi determinado pelo ensaio MTT [brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2il]-2,5-difeniltetrazólio]. Conforme mostra a Figura 18, neste ensaio uma suspensão de 10^4 células adenocarcinoma de mama (MCF-7) foi cultivada em 100 μL de meio de cultura DMEM suplementado com soro bovino a 10%, em 63 unidades dos 96 poços contidos em uma placa para cultivo de células. Em seguida as placas seguiram para a estufa, onde por 24h permaneceram sob uma temperatura constante de 37°C e atmosfera de 5% de CO_2 . Posteriormente foram tratadas com magnetita pura (Fe_3O_4), (25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), magnetita recoberta com iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$), (25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), magnetita recoberta com iodo radioativo, à uma atividade de 20 μCi , ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + ^{131}\text{I}$), (25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e iodo comum a 3%. O experimento foi encubado por 24, 48 e 72 h, repetindo-se o processo para cada período mencionado. Em seguida o meio de cultura foi descartado e aos poços sem soro adicionado meio de cultura com MTT (0,15 mg/mL) e as células levadas a incubadora por 4 horas. Posteriormente, o meio foi retirado, adicionado 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) para que ocorra a solubilização dos cristais de

formazan. Finalmente as placas foram levadas a um espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 550 nm, obtendo os dados expressos em absorbância.

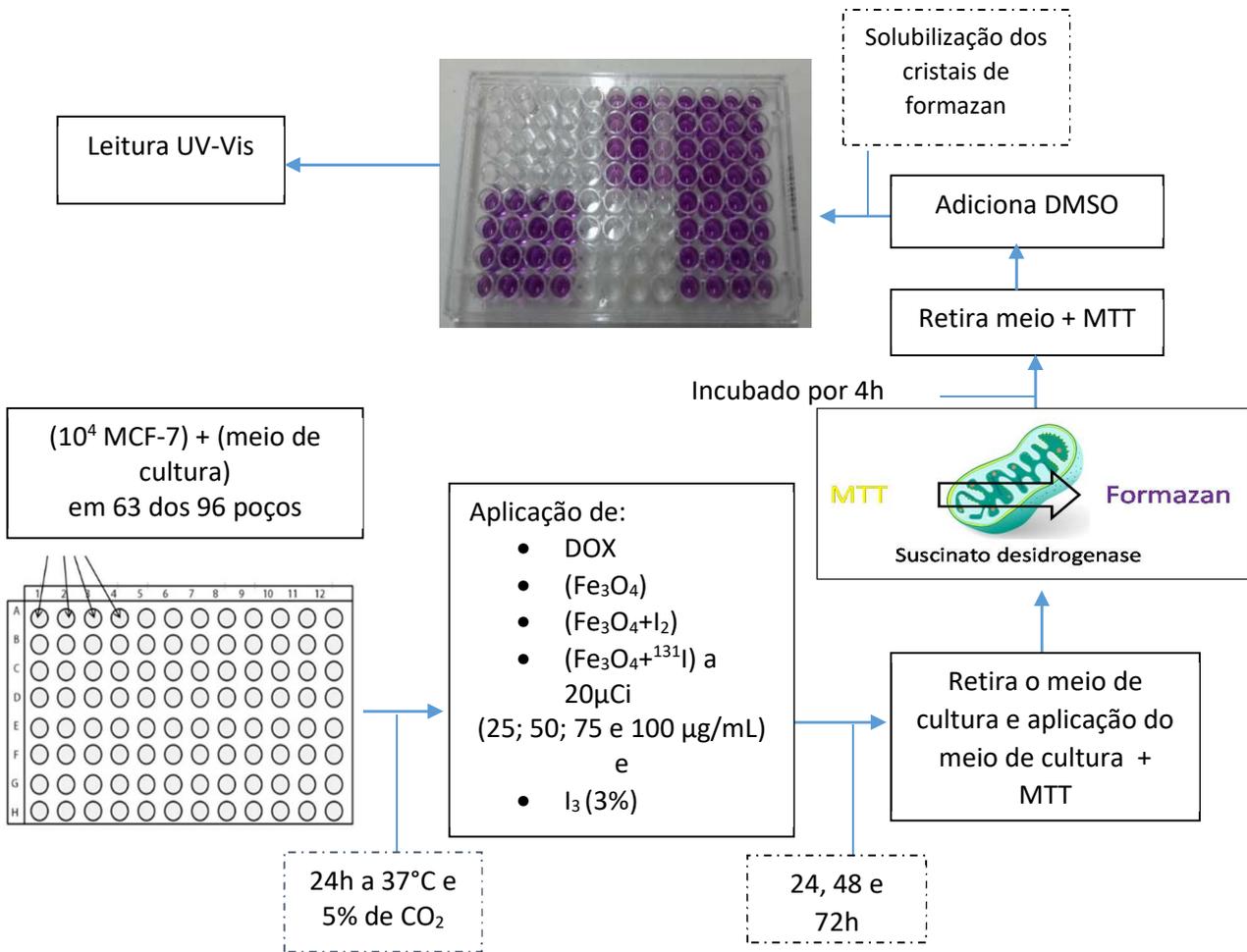


Figura 18: Fluxograma representando o ensaio de citotoxicidade MTT.

CAPÍTULO 5

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

Foram realizadas medidas de difração de raios X nas amostras de magnetita pura (Fe_3O_4) sintetizadas através da técnica polimérica, com o objetivo de comprovar a identidade da magnetita, a partir da identificação das fases referentes a mesma.

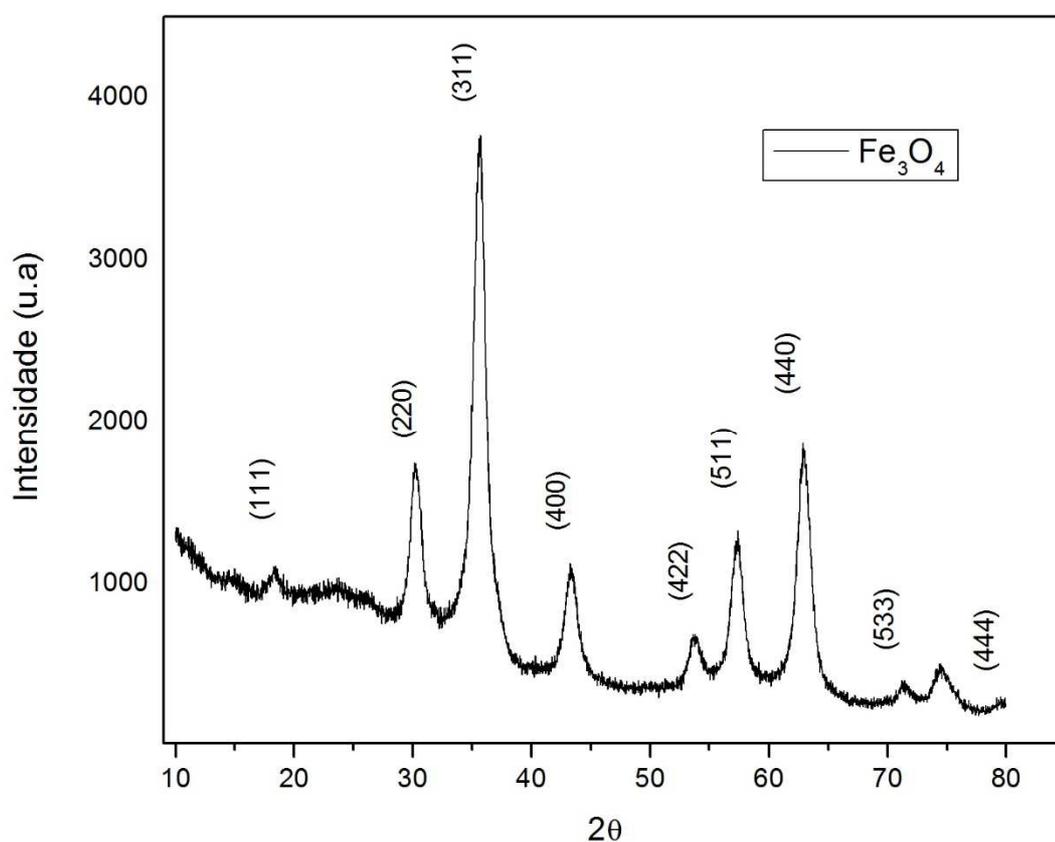


Figura 19: Difratograma da amostra de magnetita sintetizada pelo método PVA.

Para a amostra sintetizada a 600°C , conforme mostra a Figura 19, foram observados os picos de difração característicos, sendo os valores de ângulo (2θ) e as intensidades relativas semelhantes aos descritos na ficha cristalográfica nº 88-0315 do JCPDS para o sólido magnetita. O que leva a constatação que o material sintetizado através da técnica PVA se tratava do composto metálico magnetita (Fe_3O_4).

5.2 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRA VIOLETA E VISÍVEL

Foram realizadas medidas de espectrofotometria UV-Vis com o intuito de identificar os picos característicos da magnetita (M600) pura, recoberta com iodo, assim como somente no iodo puro. A Figura 20 mostra os espectros de UV-Vis dos materiais em temperatura ambiente.

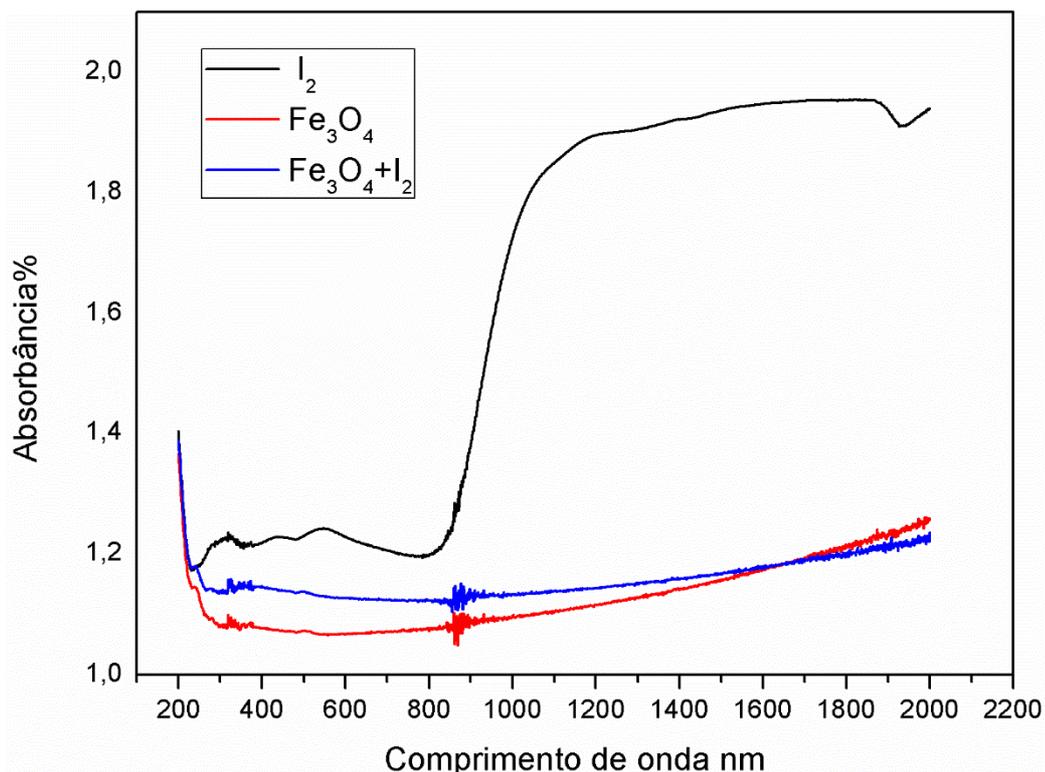


Figura 20: Espectros UV-Vis de nanopartículas de magnetita pura e revestidas com iodo, ambas sintetizadas a 600°C e do iodo puro na forma sólida.

Tendo em vista os resultados, nota-se que os espectros da M600 em sua forma simples (vermelha) e recoberta com iodo (azul), são similares, não possuindo a segunda, picos que aproximam-se ao do iodo (preto), conforme contidos no gráfico e corroborados segundo a análise de seu aspecto vibracional na região entre 500nm e 600nm [55]. A partir da análise destes dados, não foi possível identificar a presença do iodo pela técnica UV-Vis. Em face desta contingência, a inobservância do espectro vibracional do iodo na região do visível está relacionada a concentração de iodo presentes na nanopartículas. Conforme

visto na seção 3.3, a absorvância e consequentemente a refletância, pode ser representada através da lei de Lambert-Beer:

$$A = \text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon c l \quad (7)$$

Sendo “c” a concentração da substância em mol/L, quanto menor for sua concentração menor será a capacidade do espectrofotômetro realizar a medida devido a sua baixa absorvância. Um aumento da concentração do elemento poderia acarretar em medidas satisfatórias, no entanto por se tratar de um metal que possui rápida sublimação, tornar-se alta, sua concentração na superfície da magnetita é de difícil obtenção. Desta forma, a partir da análise apresentada, os resultados mostraram que a referida técnica é inviável para identificação do iodo na superfície na nanopartículas.

5.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL

O objetivo desta análise foi identificar a presença de iodo na superfície da magnetita comum através da comparação entre os espectros obtidos de cada material.

A Figura 21, ilustra os resultados obtidos através da espectroscopia Raman Confocal das amostras, de iodo comum (I_2), magnetita pura (Fe_3O_4) e recoberta com iodo comum ($Fe_3O_4 + I_2$) (Figura 22). No resultado do material ($Fe_3O_4 + I_2$), foi possível verificar os picos referentes as ligações, C=O (1589 cm^{-1}), C-OH (1350 cm^{-1}). O que evidencia que o polímero utilizado na realização da técnica PVA, não foi totalmente eliminado [54].

Foi possível verificar, que o iodo possui picos característicos entre 160 e 169 cm^{-1} . Além disso, nota-se nesta região, que os picos de $Fe_3O_4 + I_2$ coincidem, o que evidencia a presença de iodo (I_2) na superfície da nanopartículas

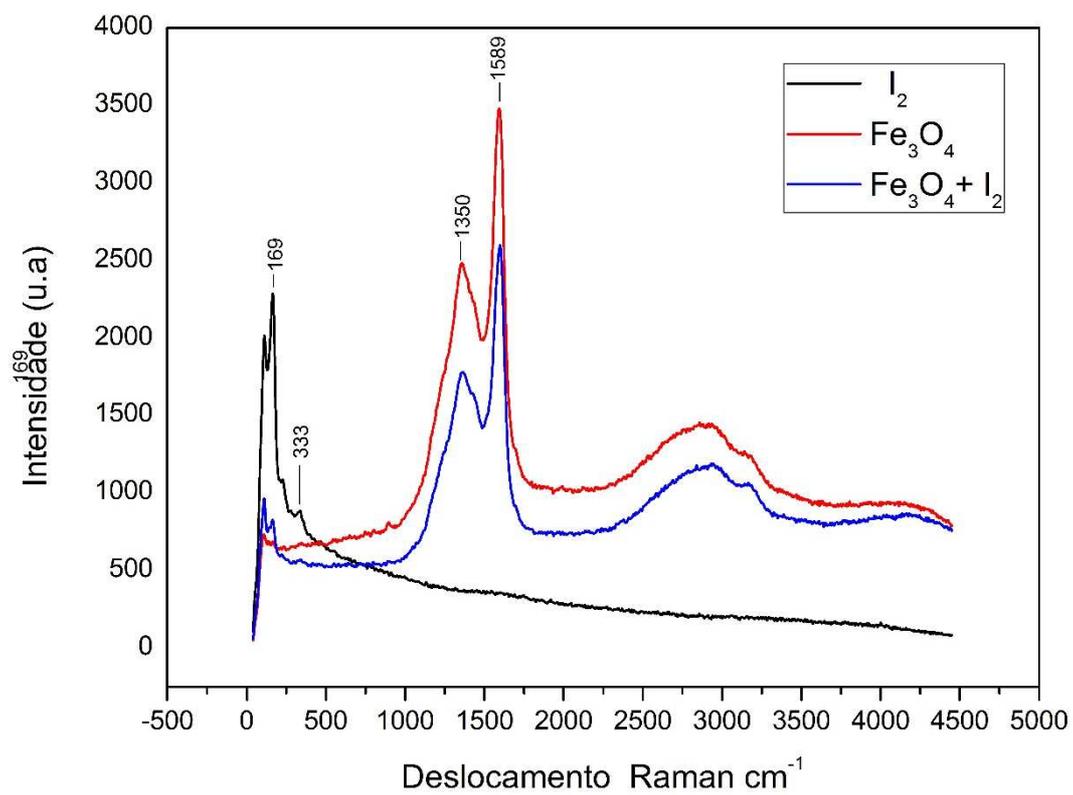


Figura 21: Espectros Raman de iodo comum (I_2), magnetita pura (Fe_3O_4) e magnetita com iodo ($Fe_3O_4 + I_2$)

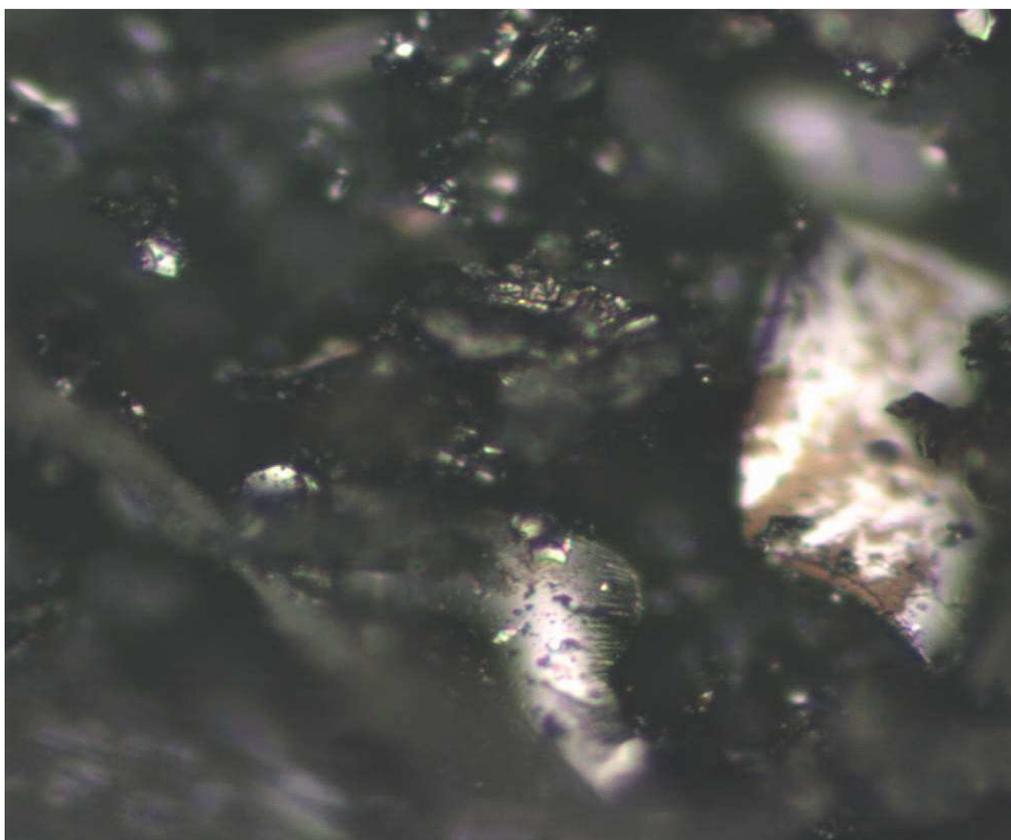


Figura 22: Imagem do material $Fe_3O_4 + I_2$, referente a região analisada pela espectroscopia Raman.

5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRASFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As Figuras 23 exibe o espectro de infravermelho encontrados para a magnetita recoberta com iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$).

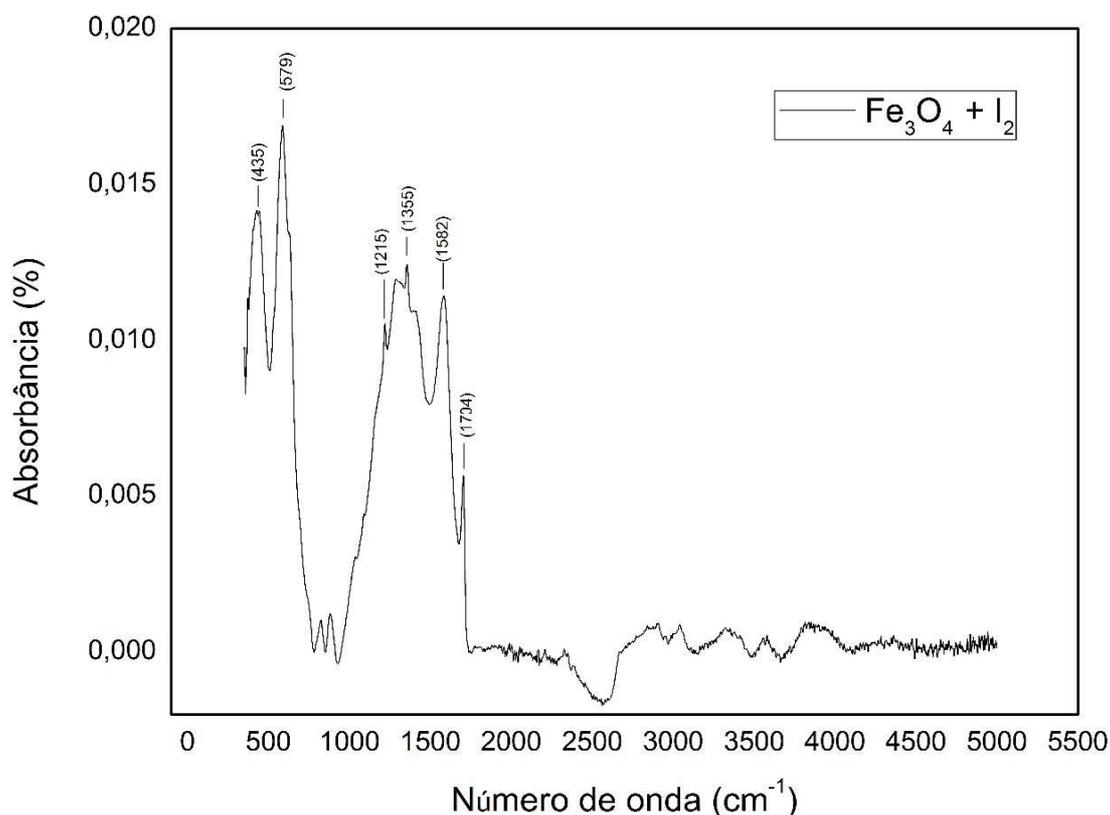


Figura 23: Espectro de absorção no infravermelho da amostra de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum.

É possível observar a presença de ligações Fe-O, em virtude das bandas de absorção entre 570 e 375 cm^{-1} , o que evidencia a presença de magnetita [63]. No entanto, não é possível identificar a presença de iodo (I_2) através das bandas de absorção. Para que o espectro vibracional de uma molécula seja observado, é necessário que esta possua momento de dipolo permanente, para que possa oscilar em ressonância com o dipolo oscilante, através campo eletromagnético gerado por um fóton incidente, e consequentemente, excite-se vibracionalmente quando irradiada com luz na faixa do infravermelho. Em face desta contingência, como a molécula de I_2 é apolar, não é ativa na espectroscopia de infravermelho, não sendo possível obter seus parâmetros moleculares pelo referido método [55].

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As micrografias obtidas através microscopia eletrônica de varredura, foram realizadas para obter informações sobre, as dimensões morfológicas da nanopartículas de magnetita Fe_3O_4 (M600), como também investigar, a presença de iodo e o modo como o material está disposto na superfície da nanopartículas de magnetita. Vale destacar que para esta dissertação a presença do iodo na superfície da nanopartículas é extremamente importante, visto que, seria possível controlar o nanocompósito através de um campo magnético e explorar as técnicas aqui estudadas, o que não seria possível se o iodo não estivesse ligado. Sob esta ótica, a Figura 24 ilustra os resultados da micrografia para a nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) recoberta com Iodo comum (I_2). Neste caso, as nanopartículas provenientes da agitação mecânica em solução aquosa de iodo a 3%, foram lavadas com água destilada apenas uma vez. Nota se, que existem vários aglomerados de nanopartículas e pontos de deposição de Iodo não ligados às nanopartículas. Isso ocorre, pois devido à falta de um protetor na superfície às partículas, estas formam grandes agregados para minimizar a energia de superfície [63]. Além disso, os resíduos de iodo, não ligados à superfície das nanopartículas, favorecem que outras nanopartículas se agreguem, formando o aglomerado. Tal fato demonstra necessidade de repetição do processo de lavagem, para que a presença o Iodo não ligado a nanopartículas de Fe_3O_4 , seja retirada.

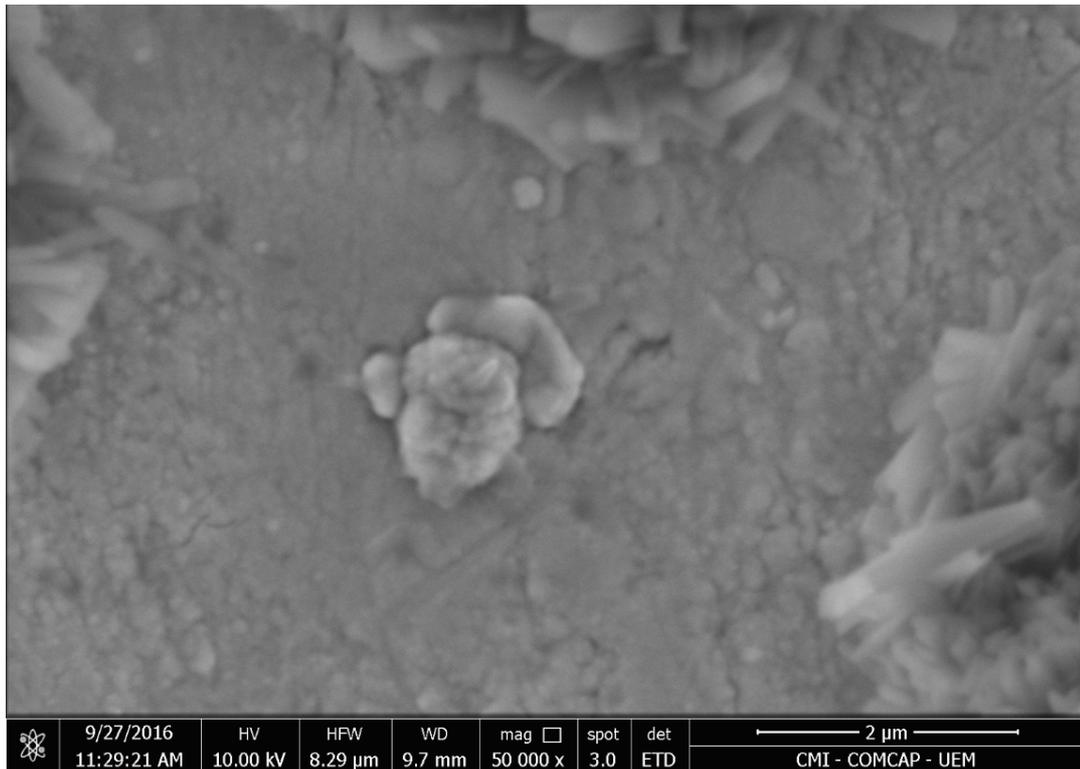


Figura 24: Micrografias obtidas de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, com apenas uma lavagem.

Corroborando com esta análise, as Figuras 25 e 26 se referem a micrografias obtidas pelo mesmo material, após a repetição tripla do processo de lavagem. Nota-se neste caso, uma diminuição significativa da presença de iodo na periferia das nanopartículas, além disso, é possível notar vários pontos com partículas de dimensões nanométricas. Este resultado indica que a partir da repetição da lavagem com água destilada, foi possível minimizar a presença de iodo na periferia nas nanopartículas sem remove-lo totalmente e conseqüentemente diminuir a presença de aglomerados, tornando o material adequado para o fim deste trabalho.

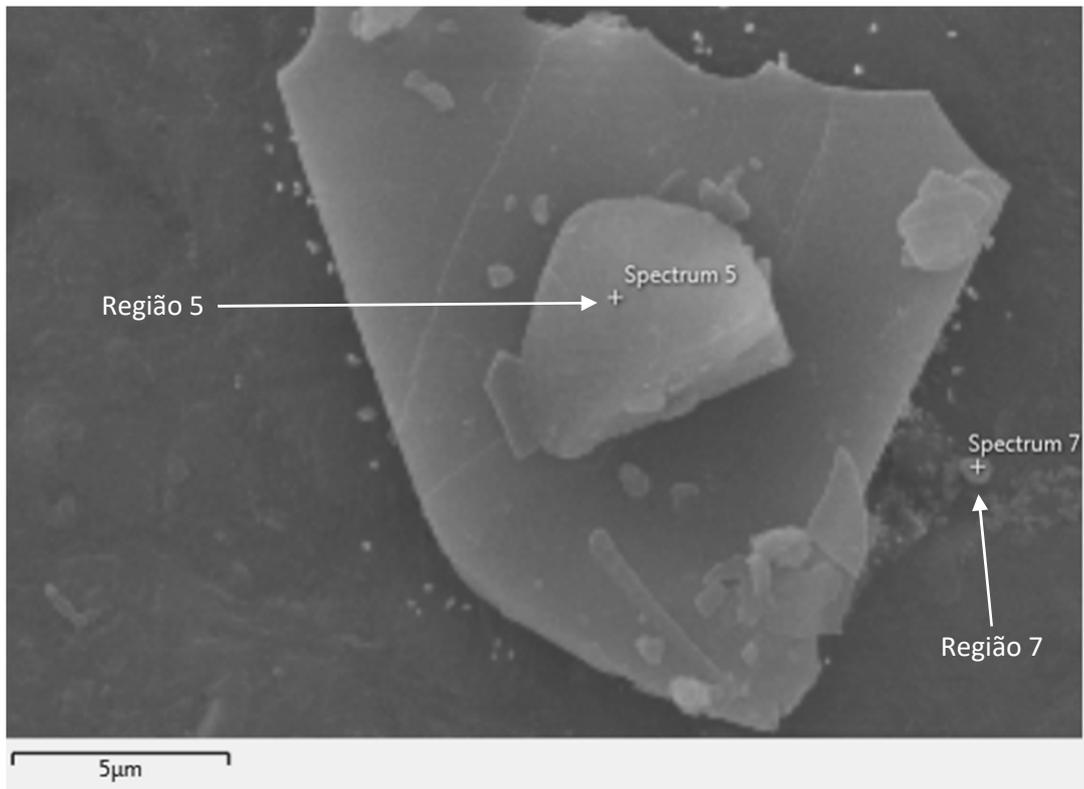


Figura 25: Micrografia de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, após realizar três lavagens.

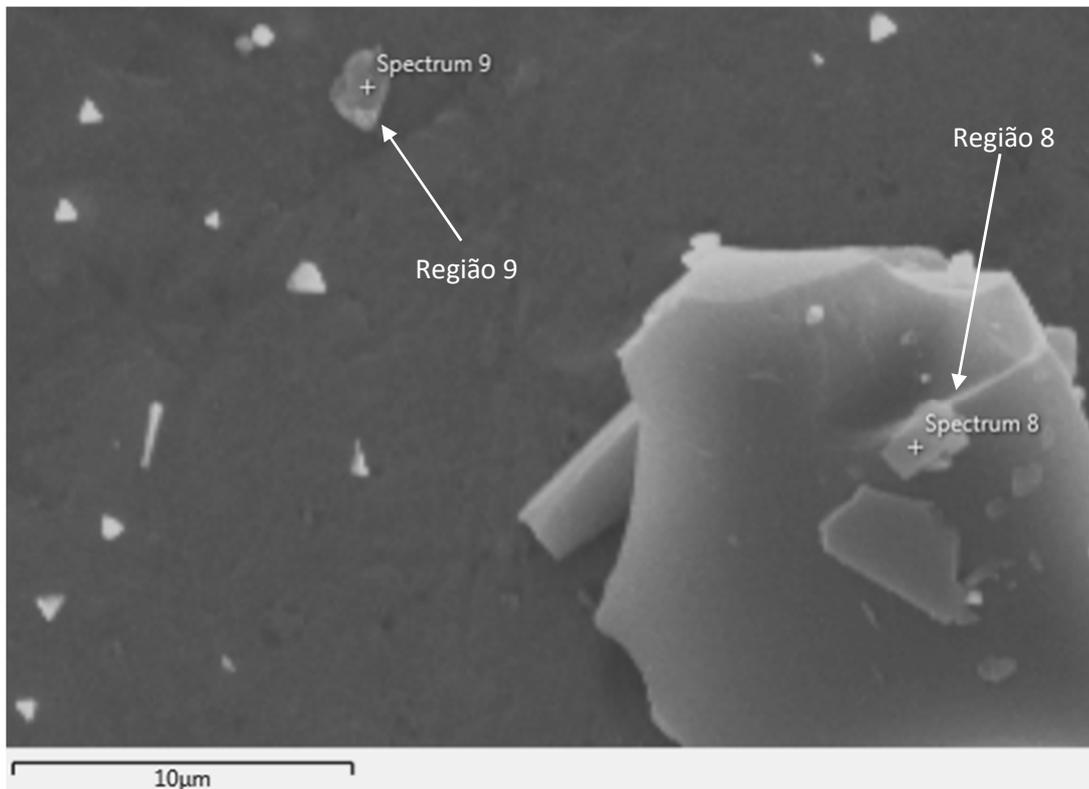


Figura 26: Micrografia de nanopartículas de magnetita recobertas com iodo comum, após realizar três lavagens.

Foi realizada a técnica de EDX na mesma região analisada pela microscopia eletrônica de varredura, com o objetivo de identificar a presença de iodo ligado à superfície da M600. Conforme mostram, respectivamente, as Figuras 27, 28, 29, 30, os espectros das regiões 5, 7, 8 e 9, fornecem picos de elementos presentes no material. É possível verificar que todas as regiões analisadas, possuem picos, do ferro (Fe) e oxigênio (O), principalmente oriundos da magnetita; alumínio (Al) e ouro (Au), o primeiro aparece devido ao suporte ser constituído de alumínio e o segundo devido ao processo de metalização, conforme explicado na Seção 4.9.

Com relação a outros elementos presentes, assim como suas respectivas concentrações, cada região possui sua particularidade, as quais serão discutidas nos parágrafos que seguem.

Na região 5, entre os picos encontrados, foi identificado a presença de iodo em um aglomerado de nanopartículas. Nota-se, pelos picos de “Fe” e “O”, ser superior a presença de magnetita em relação ao iodo naquela região. Isto se deve principalmente, pelo fato do iodo estar revestindo um aglomerado de nanopartículas, que possuem menor área de superfície comparadas a nanopartículas com dimensões inferiores, não aglomeradas. Pois sabe-se que, o tamanho das nanopartículas é inversamente proporcional a sua área de superfície. Na região 7 também é possível identificar a presença de iodo sólido ligado a nanopartícula. Neste caso, em comparação com a região 5, devido as suas dimensões serem inferiores, as nanopartículas possuem elevada área de superfície para serem revestidas com o iodo o que corrobora para que a concentração do metal (I_2) seja maior naquela região. No entanto nota-se uma maior concentração na região 5 em relação a região 7. Tal fato pode estar relacionado ao processo de remoção do excesso de iodo, onde as nanopartículas com maior área de contato podem ser mais susceptíveis a perder o iodo de sua superfície pela ação da lavagem.

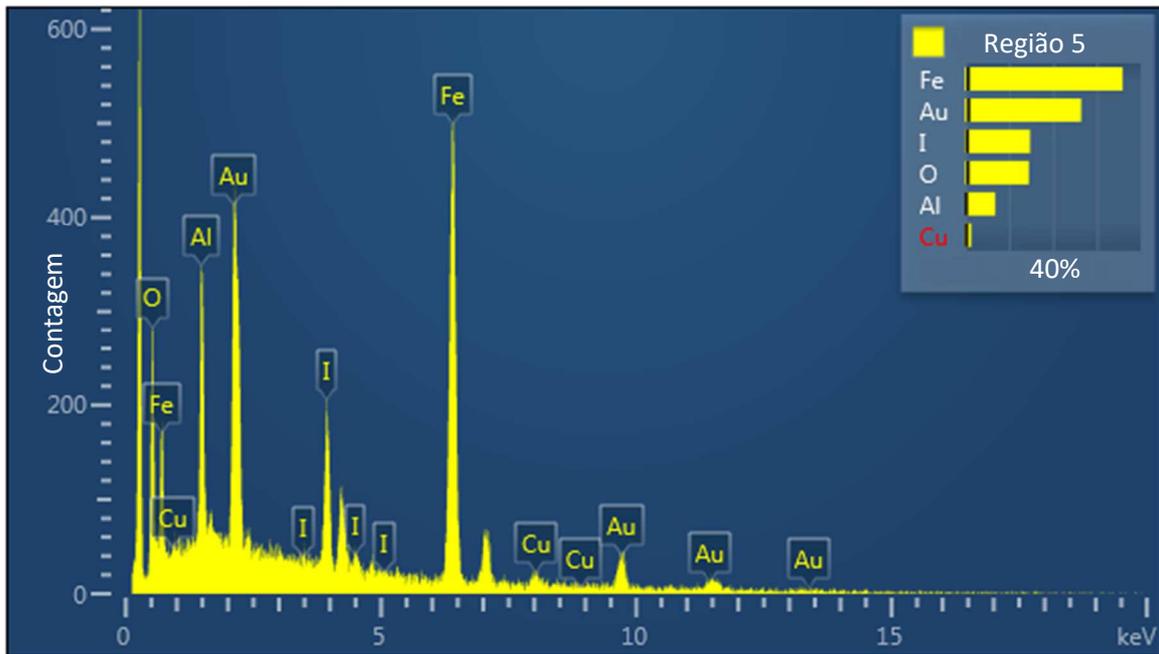


Figura 27: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 5.

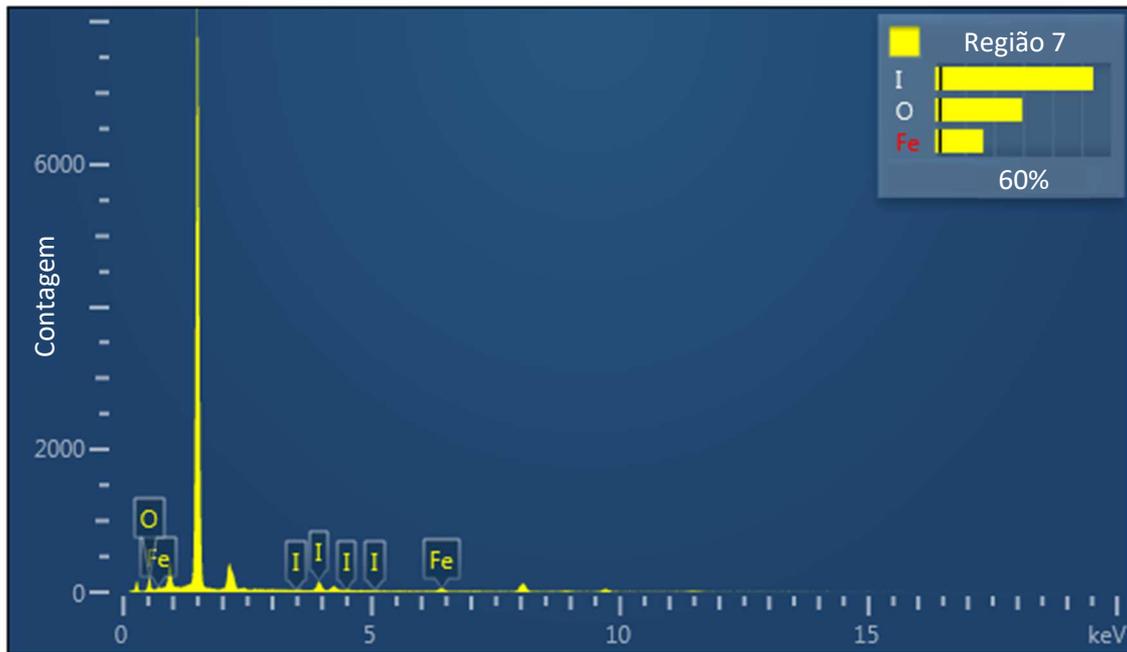


Figura 28: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 7.

Com relação a região 8, é possível observar a presença de iodo na superfície da nanopartícula. A presença do elemento potássio (K), ocorre devido ao processo de síntese, como explicado na Seção 3.1, em que o iodeto de potássio (KI) é adicionado à solução, para que ocorra a solubilidade do iodo sólido em água.

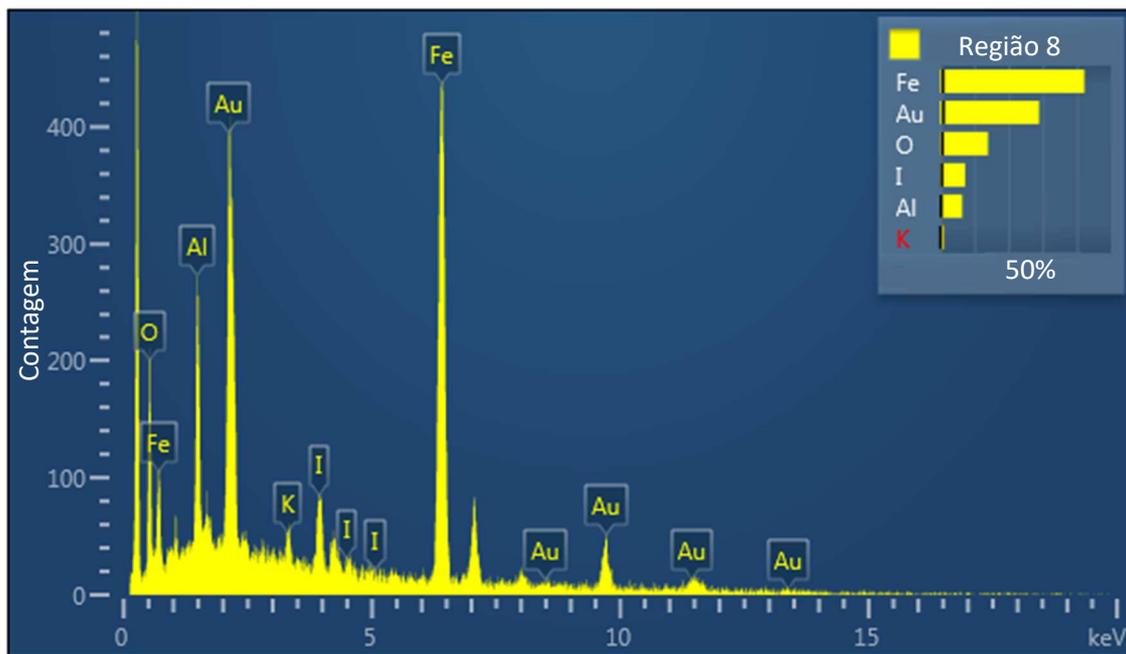


Figura 29: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 8.

Na região 9, além dos elementos encontrados em outras regiões, nota-se a presença de carbono (C). Tal fato está relacionado com o processo de síntese de nanopartículas, onde ocorre o aparecimento do carbono devido a existência de resíduos de polímero, possivelmente oriundos do método PVA.

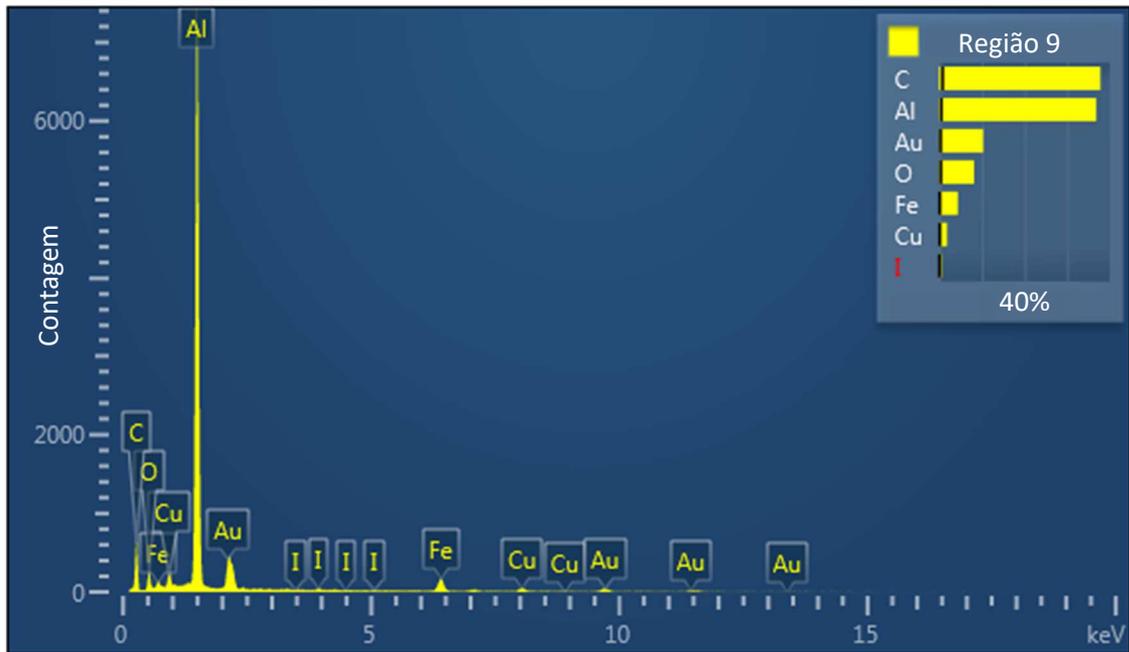


Figura 30: Espectro EDX realizado sobre o material M600 recoberto com iodo, sob a região 9.

5.6 MAGNETOMETRIA DE AMOSTRA VIBRANTE

A magnetita sintetizada a 600°C (M600) recoberta com iodo comum, foi analisada utilizando-se um VSM.

A Figura 31 mostra o comportamento magnético do material, sendo possível verificar, que as curvas de magnetização vs campo magnético aplicado, para a amostra M600 obedece um comportamento superparamagnético, típico de nanopartículas, sendo os valores de magnetização de remanescência e a coercividade muito pequenos na ausência de um campo magnético externo [63]. O resultado evidencia que nanopartículas recobertas com iodo possuem propriedades magnéticas, possibilitando que o nanocompósito obtido possa ser controlado através de um campo magnético.

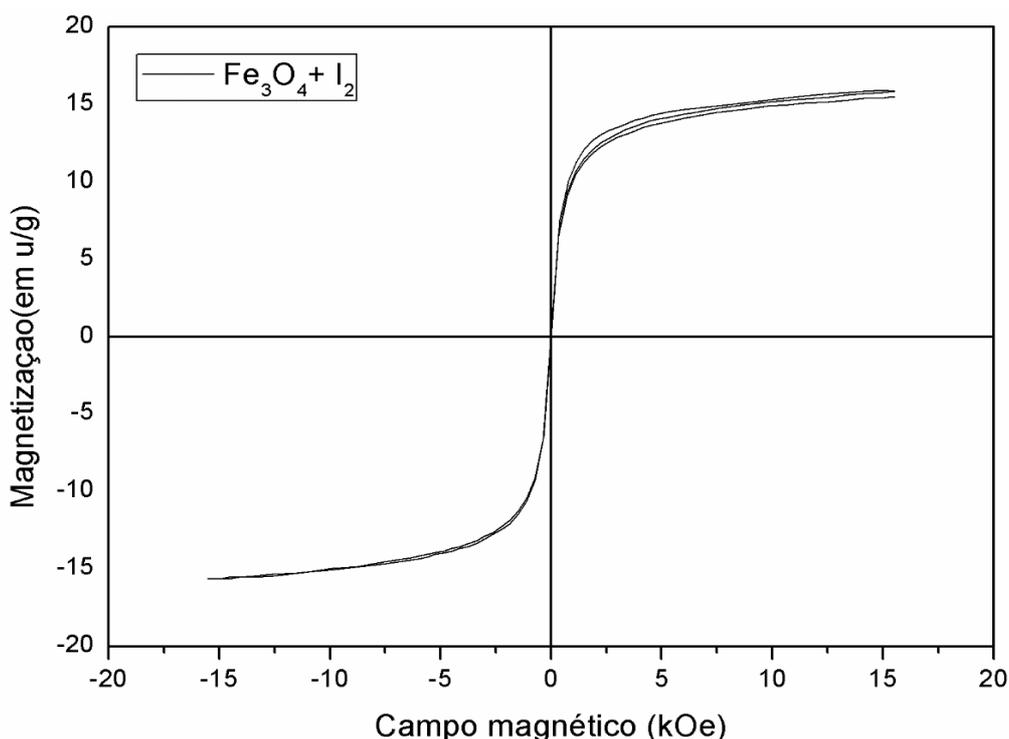


Figura 31: Curva de Magnetização vs Campo magnético aplicado (H) de nanopartículas sintetizadas a 600°C (M600) recobertas com iodo comum.

5.7 ENSAIO DE CITOTOXIDADE MTT

Os resultados obtidos para o ensaio de viabilidade celular MTT, com as células de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7), estão representados de forma geral na Figura 36.

É importante salientar que neste teste a absorbância reflete a viabilidade celular, ou seja, visa identificar a ocorrência ou não de multiplicação celular em relação ao tempo. Desta forma, quanto maior a absorbância, mais células estão presentes naquela região.

Entre os resultados, conforme ilustra a Figura 32, observa-se que a absorbância do iodo comum puro, é significativamente inferior a obtida no controle, permanecendo constante em 24 e 48 horas e decrescendo em 72 horas, apontando para uma grande diminuição do crescimento celular em relação ao controle e conseqüentemente, indicação de atividade citotóxica do elemento. Tal resultado se deve ao iodo possuir características: fungicida, bactericida, e de certo modo ser ativo contra vírus [64].

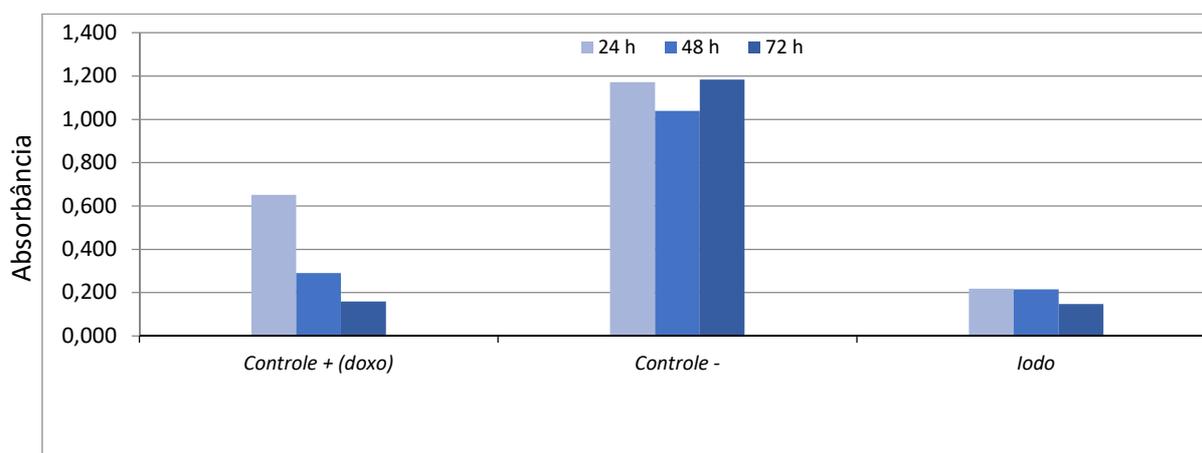


Figura 32: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, nos grupos controle mais tratamento com Doxorrubicina (controle negativo), controle positivo e iodo comum (3%).

A Doxorrubicina (Dox), neste ensaio possui a função de controle negativo, devido a sua toxicidade. É possível observar considerável diminuição da absorbância nos três períodos (24, 48 e 72h), com drástica queda nos dois últimos, indicando grande diminuição do desenvolvimento celular e consequentemente sua elevada citotoxicidade. Como afirma Hernandez (2013), a doxorrubicina possui característica antineoplástica, possuindo um largo espectro de atividade sobre tumores sólidos, linfomas e leucemias, atuando principalmente na inibição da enzima topoisomerase II e na intercalação do DNA. Tais fatores influenciam no crescimento celular, o que justifica a baixa absorbância nos períodos analisados [66].

Como ilustram respectivamente as Figuras 33, 34 e 35, os tratamentos realizados com nanopartículas de magnetita pura (Fe_3O_4), magnetita recoberta com iodo comum ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{I}_2$) e magnetita recoberta com iodo radioativo ($\text{Fe}_3\text{O}_4 + {}^{131}\text{I}$), de forma geral, foram menos citotóxicos que o iodo puro, isso pode estar relacionado a alta resistência das células adenocarcinoma, no entanto os resultados mostraram absorbância menor que o controle no período de 24h, em todas concentrações testadas. Segundo Heck (2014) o ferro em muitos casos, está relacionado com o aumento do estresse oxidativo. Como nanopartículas de magnetita possuem este elemento em sua composição a diminuição da absorbância em todos os casos onde foram adicionadas nanopartículas, podem estar relacionados a presença de ferro (Fe) [41].

Diferentemente no período de 48h a maioria das concentrações apresentaram crescimento maior ou igual ao controle, com exceção da

nanopartícula de magnetita comum com concentração de 100µg e recoberta com iodo radioativo em concentrações de 50 e 1000µg.

Os resultados obtidos em 72h para todos grupos testados com nanopartículas, mostraram aumento significativo na absorbância em relação ao controle, em concentrações de 25 e 50µg. Porém, ocorre diminuição gradativa da absorbância a medida que a concentração aumenta para, 75 e 100µg. Esse resultado pode estar ligado ao fato destas células, possuírem maior concentração tanto de ferro, quanto de iodo, desta forma, o efeitos sinérgicos dos dois elementos podem contribuir para diminuição da absorbância.

O resultado da aplicação com nanopartículas recobertas com iodo radioativo é ilustrado na Figura 35.

É possível observar uma diminuição gradativa da absorbância em 72 h com concentrações 25, 50, 75 e 100µg, demonstrando dentre os testes a menor absorbância no período de 72h. O resultado pode estar relacionado interação da radiação com a matéria. Segundo Nouailhetas (2011) a molécula de DNA pode sofrer quebra devido a ação direta da radiação ionizante (ionização) ou indireta, através do ataque de radicais livres. Nestes casos, quebras na molécula de DNA podem ter como consequência a morte da célula irradiada, caso esta entre em processo de duplicação [27].

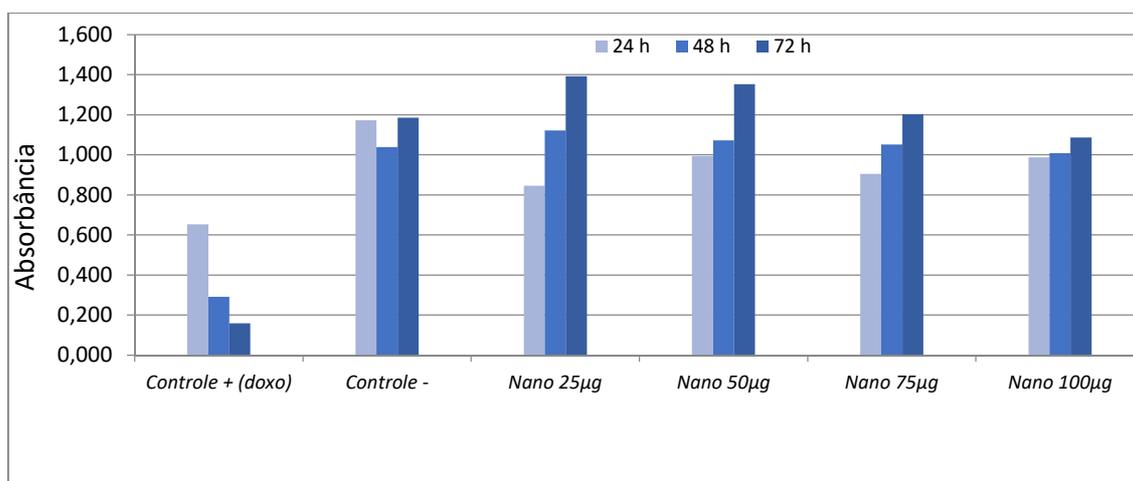


Figura 33: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples (Fe_3O_4).

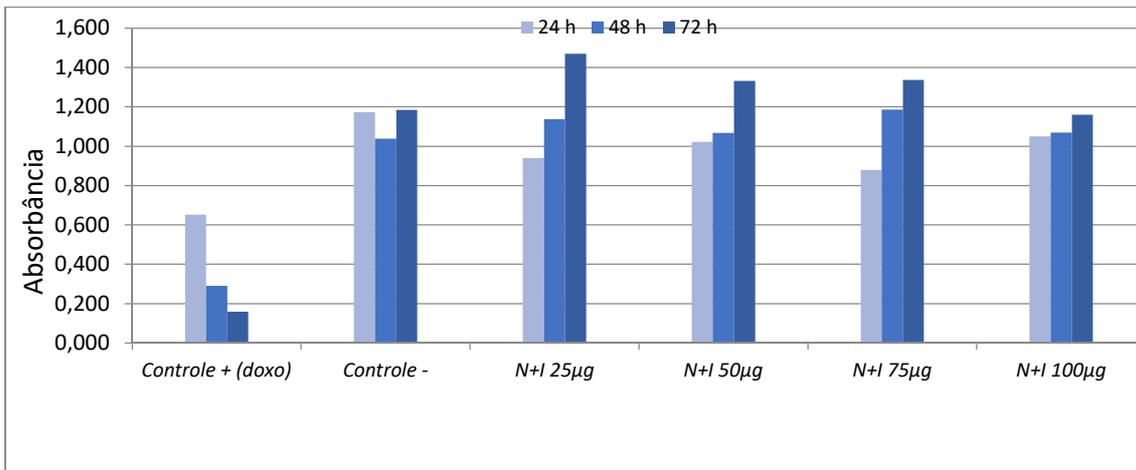


Figura 34: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples recoberta com iodo comum ($Fe_3O_4 + I_2$).

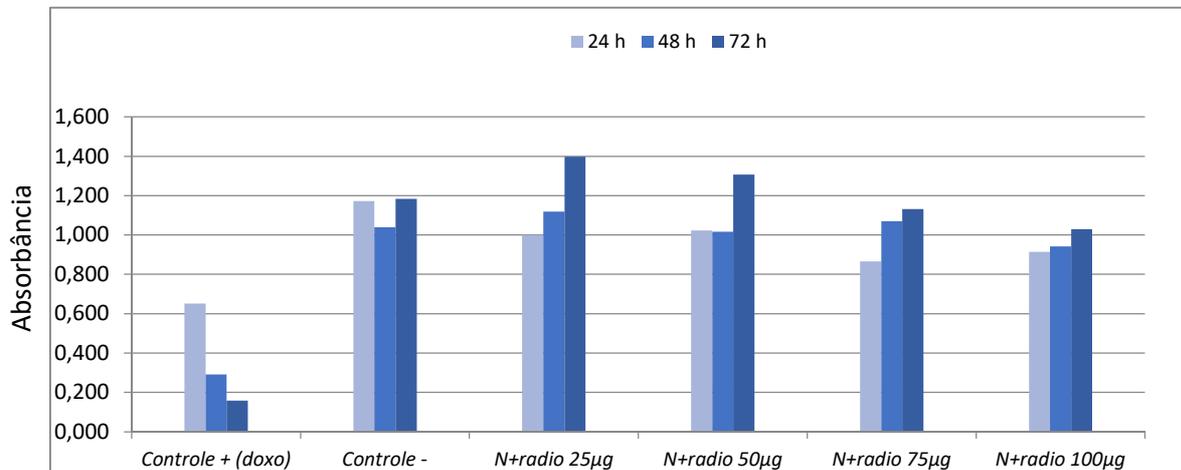


Figura 35: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, em concentrações de 25, 50, 75 e 100µg de magnetita simples recoberta com iodo radioativo ($Fe_3O_4 + ^{131}I$).

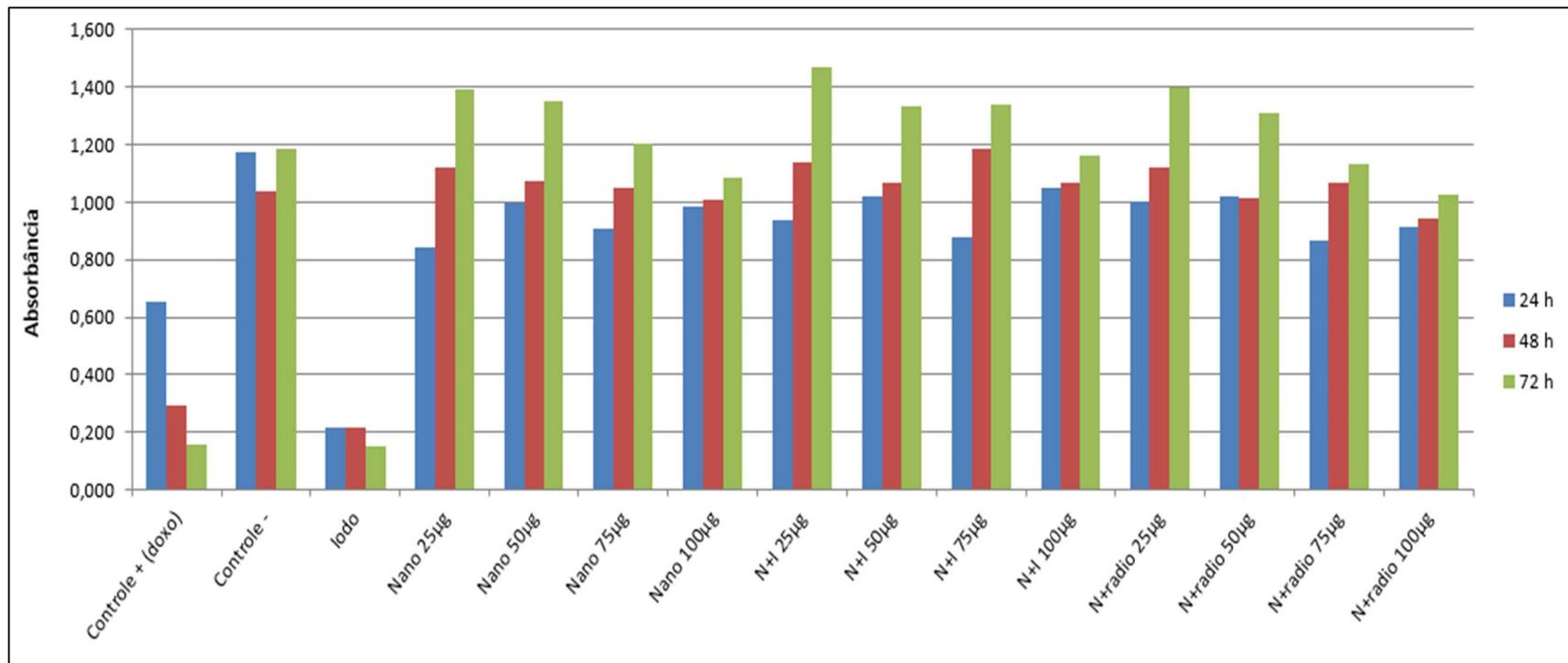


Figura 36: Absorbância obtido pelo ensaio de viabilidade MTT em células da mama, após 24, 48 e 72 horas, nos grupos controle e tratamento com Doxorubicina (Dox), iodo comum (3%) e concentrações de 25, 50, 75 e 100µg, nos grupos de nanopartículas de magnetita simples (Fe_3O_4), nanopartícula de magnetita recoberta com iodo comum ($Fe_3O_4 + I_2$) e nanopartículas de magnetita recobertas com iodo radioativo ($Fe_3O_4 + ^{131}I$) com uma atividade de $20\mu Ci$. **Erro! Indicador não definido.**

CAPÍTULO 6

6. CONCLUSÃO

Diante dos objetivos propostos para o presente trabalho e com base nos resultados obtidos, concluímos que: (i) A difração de raios X constatou que o material denominado M600, sintetizado pelo do método PVA à 600 °C, se tratava de magnetita (Fe_3O_4). (ii) Através da microscopia eletrônica de varredura, observou-se que a magnetita possuía dimensões nanométricas, entretanto, devido à falta de proteção na superfície e a presença de resíduos de iodo, apresentaram aglomerados para minimizar a energia de superfície, esse resultado mostrou que o material resultante da síntese de fixação do iodo na nanopartículas, deve ser lavado com água destilada no mínimo três vezes. Sendo que a realização deste processo colaborou para a formação de um nanocompósito com menos aglomerados e resíduos de iodo não ligados a nanopartícula. (ii) O nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4+\text{I}_2$ apresentou curvas de magnetização vs campo magnético, característicos de um material superparamagnético, demonstrando que a síntese com iodo não afetou o comportamento magnético intrínseco da magnetita. (iii) Dentre as espectroscopias, apenas a EDX identificou iodo (I_2) na superfície das nanopartículas, devido ao seu alto poder de detecção, o mesmo não foi observado em outras técnicas; (iv) a UV-Vis não forneceu o espectro do iodo, isto ocorreu devido baixas concentrações de elemento, como a absorvância é diretamente proporcional lei de Lambert-Beer, quanto menor ela for, menor será a capacidade do espectrofotômetro realizar a medida; (v) a técnica FTIR identificou a presença de ligações Fe-O, em virtude das bandas de absorção entre 570 e 375 cm^{-1} evidenciando a presença de magnetita, porem o iodo não foi identificado pelas bandas de absorção no infravermelho, isso ocorreu porque, para que o espectro vibracional de uma molécula seja observado, é necessário que esta possua momento de dipolo permanente e excite-se vibracionalmente quando irradiada com luz na faixa do infravermelho, como o iodo é apolar não foi possível sua identificação. (vi) No ensaio MTT o iodo comum e doxorubicina,

apresentaram comportamento altamente citotóxico nos períodos de 24, 48 e 72h, porém os testes com nanopartículas de magnetita pura, recobertas com iodo comum e radioativo apresentaram baixa citotoxicidade no mesmo período, para concentrações de 25, 50, 75, 100 µg, sendo este resultado reflexo, da alta resistência das células de mama.

Dentro desta ótica, é possível concluir ser possível recobrir nanopartículas de magnetita com iodo comum e radioativo, sem que sejam comprometidas as características magnéticas do material, sendo possível controlá-las através de um campo magnético. Além disso, a queda da absorbância em 72h provocada pelo iodo radioativo em células resistentes, pode estar relacionada a influência da radiação ionizante. Nesse sentido, quando as nanopartículas são combinadas com algum elemento, podem potencializar suas funções e se a combinação sobrevir de um elemento radioativo os efeitos sinérgicos podem ser ainda maiores, podendo acarretar o surgimento de nanocompósitos promissores para aplicações biomédicas

6.1 PERSPECTIVAS

Para estudos futuros, pretendemos obter novos nanocompósitos a partir da combinação de nanopartículas magnéticas com outros radiofármacos, como o Samário-153, um elemento de baixo custo, utilizado para alívio da dor em doentes com metástases ósseas, ou Iridio-192 que combinado a nanopartículas pode acelerar o tratamento da braquiterapia. Além de outros elemento não radioativos que possibilitem boas perspectivas para aplicações, tal como o folato que revestido em nanopartículas pode levar quimioterápicos até as células cancerosas, uma vez que estas possuem mais receptores de folato que as células normais.

REFERÊNCIAS

- [01] Página da internet. *International Agency for Research on Cancer*- Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/publications/books/wcr/wcr-order.php>. Acesso em 22/11/2016
- [2] Página da Internet. INCA. *Incidência de Câncer do Brasil 2016*. Disponível em:http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/inter_nacional/declaracao_mundial_contra_cancer> . Acesso em 10/11/2016
- [3] BRAGHROLLI, A. M. S. *Produção de I-124 com uso de nanomateriais e sua biodistribuição em animais*. 2014.110 f. Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro.
- [4] SOUZA, K. C; MOHALLEM, N. D. S; SOUZA, E. M. B. *Nanocompósitos Magnéticos: potencialidades de aplicações em biomedicina- Quim. Nova*, Vol. 34, No. 10, 1692-1703, 2011
- [5] LACAVALHA, G. C. M; MORAIS, P. C. *Aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas*. Parcerias estratégicas - número 18. Brasília- DF, 2004
- [6] SCHULZ, P. A. *Nanomaterials and the interface between nanotechnology and environment*, Revista Visa em Debate-FIOCRUZ 2013 , limeira-SP
- [7] GLEITER, H. *Nanostructured materials: state of the art and perspectives*. Nanostructured Materials, Karlsruhe, v. 6, p. 3-14, 1995.
- [8] ROCO, M. C.; BAINBRIDGE, W. S. *Converging Technologies for improving human performance: nanotechnology, biotechnology, information technology and cognitive sciences*. NSF/DOC-sponsored report. Arlington, Virgínia, 2002.
- [9] CAVALHEIRO, E, A. *A nova convergência da ciência e da tecnologia*. Novos estudos - CEBRAP no.78. São Paulo, 2007
- [10] THASSU, D; DELEERS, M; PATHAK, Y. *Nanoparticulate drug delivery systems*. *Informa Heakthcare*. New York. 2007. 382p.
- [11] LU, A. H; et al. *Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application*. *Angew Chem Int*. 2007.
- [12] SCHULZ, MARK J; VESSELIN N. *Nanomedicine Design of Particles, Sensors, Motors, Implants, Robots, and Devices*. Campinas-SP, 2009.
- [13] SIDHU, P. S; GILKES, R. J; POSNER, A. M. *The synthesis and some properties of Co, Ni, Zn, Cu, Mn and Cd substituted Magnetites*, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 40, 429-435, 1978.

- [14] YUAN, H. L; WANG, Y. Q; SHAO, M. Z; LIU, L. S; CHEN, X. L; LOU, S. Y; *et al.* Low-temperature preparation of superparamagnetic CoFe₂O₄ microspheres with high saturation magnetization. *Nano Express*, 2010; 5:1817-21.
- [15] FONTANIVE, V. C. P; KHALIL, N. M; COTICA, L. F; MAINARDES, R. M. Aspectos físicos e biológicos de nanopartículas de ferritas magnéticas. *Rev Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 2014;35(4):549-558
- [16] TOMAZ, R. S.; SILVA, A. C.; SILVA, E. M. S.; SOUZA, D. N. *Produção de concentrado de magnetita por jigagem a partir do rejeito de rocha fosfática*. HOLOS, Ano 31, Vol. 7, 2015
- [17] HANNICKEL A. *Estudo de nanopartículas de magnetita obtidas pelos métodos de coprecipitação, biossíntese e moagem*. Dissertação de Mestrado. Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro-RJ, 2011
- [18] LOPES, S. P; FALCARE, R. S; HENRIQUE, S. J. *Sistemas de Liberação Controlada*. Pharmacia Brasileira. São Paulo, 2006
- [19] AZEVEDO, M. M. M. *Nanoesferas e a Liberação Controlada de Fármacos*. Dissertação de Mestrado. Laboratório de Química do Estado Sólido – Instituto de Química – UNICAMP. São Paulo
- [20] [RODRIGUES, N. O. L. *Estudo da liberação controlada de fármacos por hidrogéis de pva/atapulgita*. Trabalho de Conclusão de Curso. Laboratório Politécnico-Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2012: pp 01-04
- [21] LYRA, M. A.S. *Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos*. Latin American Journal of Pharmacy Santo Amaro- SP, 2007: pp. 784-793.
- [22] MAMANI, J. B; PAVON, L. F; et al. *Intracellular labeling and quantification process by magnetic resonance imaging using iron oxide magnetic nanoparticles in rat C6 glioma cell line*. Einstein. Sao Paulo-SP, 2012: pp 216-221
- [23] ROMERO, V. R; SOUZA, M. H; BAKUSIS, A. F. *Hipertermia magnética de nanopartículas à base de MnFe₂O₄ : Efeito da passivação*. Associação Brasileira de Física Médica (ABFM). XIX Congresso brasileiro de física médica. Goiania-GO, 2014
- [24] VERDE, E. L. *Hipertermia magnética em nanopartículas: da instrumentação biomédica in vitro ao estudo das propriedades magneto-térmicas de diferentes ferritas*. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2012: pp xi
- [25] DIMENSTEIN, R.; NETTO, T. G. *Bases físicas e tecnológicas aplicadas aos raios X*. Senac: São Paulo-SP, 2005.

- [26] FERREIRA, A. B. H. *Dicionário da língua portuguesa*. 5. ed. Curitiba: Positivo, 2010. 2222 p. ISBN 978-85-385-4198-1.
- [27] NOUAILHETAS, Y.; BONACOSSA, A. C. E. *Radiações Ionizantes e a Vida*. Programa de Informação da Comissão Nacional de Energia Nuclear. Rio de Janeiro, 2011
- [28] OKUNO, E. *Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia*. Estudos Avançados 27 (77): São Paulo, 2013
- [29] TAUHATA, L.; SALARI, I. P. A.; PRINZIO. *Radioproteção e Dosimetria-fundamentos*. IRD-CENEN: Rio de Janeiro, 2003
- [30] DOGIVAL, A. N; SANTOS, K. T; CANUTO, D. S. O; JUNIOR, P. R. B; ROCHA.G. *Efeitos biológicos provocados pela radiação ionizante em seres humanos*. Disponível em <http://aems.edu.br/iniciacao-cientifica/download/ddf833f946.pdf>
- [31] DIMENSTEIN, R.; NETTO, T. G. *Bases físicas e tecnológicas aplicadas aos raios X*. Senac: São Paulo, 2005
- [32] EISBERG, R. *Quantum Physics of Atoms Molecules, Solids, Nuclei, and Particules*. 2a. 1985.
- [33] ARRUDA, W.O. *100 anos da descoberta do Raios-x*. São Paulo: Arq Neuropsiquiatr, 1996
- [34] HIRONAKA, F. H *et al. Medicina Nuclear: Princípios e Aplicações*. São Paulo: Editora Atheneu, 2012.
- [35] PRASS, A. R. *Radiação Gama*. Página da internet. Disponível em: <http://www.fisica.net/nuclear/radiação_gama.pdf > . Acesso em: 05/01/2017
- [36] Pagina da Internet. *Radiações*. Disponível em: < <http://lief.if.ufrgs.br/~jader/radiacoes.pdf> >. Acesso em 05/01/2017.
- [37] CARDOZO, E. M. *Apostila educativa: A Energia Nuclear*. Comissão Nacional de Energia Nuclear. 3. Ed. Rio de Janeiro, 2012
- [38] GOMES, E; BIANCHINI, M; WAKABAYASHI, T; ALONSO, T. C. *Curso de Introdução à Proteção Radiológica*. Comissão Nacional de Energia Nuclear.
- [39] EVANS, P. M. S; WEBSTER, J; EVANS, W. D; et al. *Radiodine Tretmente in unsuspected pregnancy*. *Clinical Endocrinology*. 1998;48; 281-283
- [40] GONZALEZ, J. A; *Desenvolvimento de cálculos dosimétricos para pacientes com câncer diferenciado de tireoide com terapia com ¹³¹I (NaI) precedida de rec-hTSH e correlação entre dose absorvida e feitos deletérios da radiação no*

organismo humano. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP, 2013: ppt 13

[41] HECK, M. C. *Efeitos do cacau, flavonoide epicatequina e chocolate, na citotoxicidade, genotoxicidade e radioproteção, sobre o radiofármaco Iodo-131, em células de hepatoma humano HepG2/C3A*. Tese (Doutorado)- Biologia Comparada. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá. Maringá-PR, 2014

[42] ARAÚJO, F; MELO, R. C; REBELO, A. M. O; DANTAS, B. M; DANTAS, A. L. A; LUCENAS, E. A. *Proposta de metodologia para tratamento individualizado com Iodo-131 em pacientes portadores de hipertireoidismo da doença de Graves*. Radiologia Brasileira. 40 (6): 389-395, 2007

[43] BALLARDIN, M; GEMIGNANI, F; BODEI, L; MARIANI, G; FERDEGHINI, M; ROSSI, A. M; MIGLIOR, L; BARALE, R. *Formation of micronuclei and of clastogenic factor(s) in patients receiving therapeutic doses of iodine-131*. Mutation Research. 514: 77-85, 2002.

[44] ALMEIDA, I. V; DUSMAN, E; HECK, M. C; PAMPHILE, J. A; LOPES, N.B; TONIN, L. T. D; VICENTINI, V. E. P. *Genetics and Molecular Research*. 12(4): 6402-6413, 2013.

[45] NGUYEN, K; PREMASEKHARAN, G; YUEN, A.; FORMAN, H. J; LEPPERT, V. *The role of Nanoparticle Surface Chemistry in Alveolar Macrophage Inflammatory Response*. 2013 GEM Bionanotechnology Summer Instituto. University of California, 2013. Disponível em <<https://nanohub.org/resources/19092/watch?resid=19107>>. Acesso em 28/12/2016.

[46] GAUTO, M. A. *Curso técnico em Química - Módulo II*. Colégio Dom Feliciano. Gravataí - SP, 2010.

[47] SAMPAIO, L. C; GARCIA, F; et all. Técnicas de Magnetização. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, vol. 22, no. 3. Rio de Janeiro-RJ , 2000

[48] Página da Internet. *O Magnetômetro*. Disponível em: <http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0711041_09_cap_03.pdf>. Acesso em: 06/12/2016

[49] LEMOS, A. M; NOBLE, A. P; SEGAT, H. J; ALEXANDRE, I. D; PAPPIS, L; NUNES, L. T; NEVES, L. V. *Espectroscopia UV-visível*. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2009.

[50] RODRIGUES, A. G; GALZERANI, J. C. *Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades*. Revista Brasileira de Ensino de Física, v. 34, n. 4, 4309, 2012

[51] FARIA, D. L. A. *Entenda o que é espectroscopia Raman*. Laboratório de Espectroscopia Molecular Instituto de Química da USP. Disponível em: <http://crq4.org.br/sms/files/file/Espectroscopia_Raman_4.pdf>. Acesso em 11/01/2017

[52] SALA, O. *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*. São Paulo, Editora Unesp, 1996.

[53] CATALDI, G. A. M. Trabalho de conclusão de curso em engenharia de materiais. *Nanopartículas de Ceo₂ modificadas com Er obtidas pelo método hidrotermal microondas: Estudo fotoluminescente*. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2015.

[54] BINI, R. D. *Desenvolvimento de nanopartículas de magnetita para aplicações biológicas: propriedades estruturais, microestruturais e magnéticas*. Dissertação de Mestrado em Física - Universidade estadual de Maringá, Maringá-PR, 2016

[55] SANTOS, V. P. *Espectro Vibracional do Iodo na Região do Visível: Uma Alternativa ao Uso da Espectroscopia RAMAN*. *Revista. Virtual Quim*, 2014, 6 (4), 898-910

[56] BEDÊ, P. M. *Produção e caracterização de nanopartículas polimérico-magnéticas para utilização biomedical*. Dissertação (Mestrado) - Ciência dos Materiais Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro, 2010.

[57] SCHETTINO, M. A. *Obtenção e caracterização de nanopartículas Magnéticas inseridas em materiais carbonosos porosos a partir da decomposição do pentacarbonil ferro*. Tese (Doutorado) - Física. Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santos, 2009.

[58] DEDAVID, B. A; GOMES, C. I; MACHADO, G. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras*. Rio Grande do Sul: edi PUCRS, 2007.

[59] MELISKA, A. M. *Microscopia Eletrônica de Varredura*. Apostila Educativa. Universidade Federal de Santa Catarina- Laboratório de Materiais. Florianópolis-SC.

[60] Página da internet. *Microscópio eletrônico de varredura*. Disponível em <<http://www.degeo.ufop.br/laboratorios/microlab/mev.htm>>. Acesso em 18/01/2017

[61] Página da internet. Disponível em <<http://www.solucoesindustriais.com.br/empresa/maquinas-e-equipamentos/reatinox/produtos/instalacoes-e-equipamentos-industriais/comprar-agitador-mecanico>>. Acesso em 25/01/2017

[62] COLLIER, A. C; PRISTOS, C. A. *The mitochondrial uncouple dicumarol disrupts the MTT assay, Biochemistry & Pharmacy*. 66: 281-287, 2003

[63] VENDRAME, S. C.; *Síntese, caracterização e análise de citotoxicidade de nanopartículas de magnetita para aplicações biomédicas*. Dissertação de mestrado em ciências farmacêuticas. Universidade Estadual do Centro Oeste. Guarapuva-PR, 2011

[64] MORIYA, T; MÓDENA, J. L. P. *Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização*. Medicina. Ribeirão Preto - SP. 2008; 41 (3): 265-73

[65] Página da internet. *Eletromagnetismo VI-30*. Disponível em: <<http://www.mspc.eng.br/elemag/eletrm0630.shtml>>. Acesso em 28/01/2017

[66] HERNANDES, L. C. *Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade, antigenotoxicidade e expressão dos genes INos e COX-2 em ratos tratados com poupa de fruto Sollanum sessiliflorum*. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/ USP. Ribeirão Preto-SP, 2013