



**UnB**

INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ

**NANODISPERSÕES DE POLI(PIVALATO DE VINILA) COM PROPRIEDADES  
MAGNÉTICAS VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: SÍNTESE E AVALIAÇÃO  
*IN VITRO* DE SUA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS CANCERÍGENAS**

**Weslany Silvério Neto**

**Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.**

**Co-orientadores: Dr. Leonardo Fonseca Valadares, D.Sc.**

**Prof. Fernando Gomes de Souza Júnior, D.Sc.**

Brasília, janeiro de 2019

---

## Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Weslany Silvério Neto**, matrícula nº **14/0195661**, intitulada **“NANODISPERSÕES DE POLI(PIVALATO DE VINILA) COM PROPRIEDADES MAGNÉTICAS VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: SÍNTESE E AVALIAÇÃO IN VITRO DE SUA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS CANCERÍGENAS”**, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 25 de janeiro de 2019.

Prof. Dr. Fabrício Machado Silva  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria José Araújo Sales  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa  
Membro Titular (FCE/UnB)

Dra. Amanda Araujo Souza  
Membro Titular (Embrapa Agroenergia)

Prof. Dr. Sacha Braun Chaves  
Membro Suplente (UnB)

Em 25 de janeiro de 2019.

**NANODISPERSÕES DE POLI(PIVALATO DE VINILA) COM PROPRIEDADES  
MAGNÉTICAS VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: SÍNTESE E AVALIAÇÃO  
*IN VITRO* DE SUA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS CANCERÍGENAS**

**Weslany Silvério Neto**

---

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Química.

---

Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.

Co-orientadores: Dr. Leonardo Fonseca Valadares, D.Sc.

Prof. Fernando Gomes de Souza Júnior, D.Sc.

Brasília, janeiro de 2019.

À minha sempre amada Vera...

## AGRADECIMENTOS

Hoje não é um momento apenas de agradecimentos, mas também de reflexão de um momento tão ímpar em minha vida.

Não compreendia o porquê desta minha escolha... E muitas vezes indaguei se realmente era isso que eu desejava, e todas as vezes que escutei uma certa canção, algo me dizia que SIM:

*“Por isso ame mais, abrace mais*

*Pois não sabemos quanto tempo temos pra respirar*

*Fale mais, ouça mais*

*Vale a pena lembrar que a vida é curta demais”*

Verdades do Tempo - Thiago Brado

Não foi eu que amei mais, que abracei mais... Foi o SENHOR que me amou mais, me abraçou mais e me acolheu em todas as turbulências nesses últimos quatro anos.

E é a Ti que devo agradecer, por me conceder viver o que poucos viveram...

Agradeço a todas as pessoas que colocastes no meu caminho...

Trouxestes para minha vida, o meu grande amor, que Químico como eu, quis compreender mais do universo e suas transformações...

Fizestes com que minha família compreendesse minha ausência e cansaço por um orgulho maior...

Concedeu-me um orientador que conseguisse tirar o melhor de mim e aumentasse minha sede de conhecimento!

Colocastes amigos, companheiros de jornada e de moradia que trouxeram alegria em dias de “frio”... Amigos do tipo que desejamos que fique para sempre em nossas vidas...

Fizestes de minhas viagens menos longas quando encontrava àqueles companheiros de estrada engraçados, comunicativos e que hoje se tornaram amigos...

OBRIGADA por me amar mais do que mereço... Por me conceder realizar o meu sonho... Por deixar permanecer e por trazer àquelas pessoas que são dádivas em nossas vidas...

Com amor e todo agradecimento...

**Aos meus pais, irmãos, cunhados, sobrinhos, meus sogros, meu esposo e o fruto do nosso amor: Alice, amigos de Laboratório (em especial Alan, Erislene, Thayse, Mariana e Ludmila), meu orientador Fabricio, a todos os professores e técnicos, aos meus amigos-irmãos, à Maria e ao professor Sacha pela parceria. Enfim, a todos que conviveram comigo nesta linda jornada...**

## RESUMO

O desenvolvimento de nanomateriais poliméricos, que combinam as propriedades dos polímeros termoplásticos e das nanopartículas superparamagnéticas, apresenta grande potencial para aplicações biomédicas, como por exemplo, o tratamento de tumores via procedimento de embolização intravascular e hipertermia. Diante disso, este trabalho visa o desenvolvimento de um novo agente embolizante formado por nanopartículas magnéticas de óxido de ferro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recobertas com ácido oleico quimicamente modificado e que foram uniformemente dispersas em nanopartículas esféricas de poli(pivalato de vinila). Para eficiência da encapsulação do material magnético à matriz polimérica, as nanopartículas foram recobertas com ácido oleico modificado, obtido através da inserção à cadeia do ácido oleico um grupo funcional reativo, ácido acrílico, utilizando o processo de epoxidação seguida pelo processo de acrilização (OM-AOA). O fluido polimérico foi sintetizado através do processo de polimerização em miniemulsão. O nanocompósito foi obtido *in situ* através da reação de poliadição do pivalato de vinila na presença das nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico acrilado via miniemulsão. As amostras sintetizadas foram caracterizadas por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN), análise termogravimétrica, espalhamento de luz dinâmico, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial, difração de raios X, microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia Mössbauer, espectroscopia Raman, medidas de magnetização e cromatografia de permeação em gel. A citotoxicidade do poli(pivalato de vinila) e do nanocompósito foi avaliada *in vitro* em células cancerígenas de melanoma B16F10, adenocarcinoma mamário murino (4T1-luciferase), em células fibroblástica NIH-3T3 e queratinócitos humanos (HaCat). Os resultados mostraram que as nanopartículas recobertas apresentaram estabilidade térmica, boa dispersibilidade com tamanho médio uniforme de 9,5 nm, magnetização de saturação de  $61,2 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$  e comportamento superparamagnético. Os látices de poli(pivalato de vinila) apresentaram conversões médias de 82% e massas molares médias ponderais variando entre 335 – 840  $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ . As sínteses do material polimérico realizadas com iniciador hidrossolúvel, persulfato de potássio, apresentaram diminuição do diâmetro médio durante o processo de polimerização devido à nucleação homogênea que ocorreu simultaneamente a nucleação das gotas. Os diâmetros médios dos látices obtidos com a utilização do iniciador organossolúvel, peróxido de benzoíla, permaneceram praticamente inalterados até o final do processo. Na formação dos nanocompósitos, o uso do processo de polimerização em miniemulsão permitiu a formação de dispersões coloidais estáveis, com controle efetivo sobre o tamanho da partícula e morfologia. Os fluidos magnetopoliméricos formados contendo de 5,0 a 20,0% em massa de OM-AOA apresentaram diâmetro médio de 180 nm, morfologia esférica e comportamento superparamagnético preservado. Os testes de viabilidade celular demonstraram que os nanocompósitos bem como as nanopartículas de poli(pivalato de vinila) não apresentaram citotoxicidade representativa para células tumorais e não tumorais nas concentrações estudadas. As propriedades físico-químicas e a não citotoxicidade sugerem potencialidade dos fluidos magnetopoliméricos como agente embólico para obstrução seletiva e completa dos vasos sanguíneos de diferentes calibres e capacidade de tratamento por hipertermia.

**Palavras-chave:** Polimerização em miniemulsão, nanopartículas magnéticas, nanocompósitos, poli(pivalato de vinila), agente embólico, hipertermia, citotoxicidade.

## ABSTRACT

The development of polymer nanomaterials, which combine properties of thermoplastic polymers and superparamagnetic nanoparticles, presents great potential for biomedical applications, such as the treatment of tumors through intravascular embolization and hyperthermia procedure. Therefore, this work aims at the development of a new embolic agent formed by magnetic nanoparticles of iron oxide ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) coated with chemically modified oleic acid and which were uniformly dispersed in spherical nanoparticles of poly(vinyl pivalate). For encapsulating the magnetic material in the polymer matrix, nanoparticles were coated with modified oleic acid, obtained by insertion of a reactive functional group, acrylic acid in the oleic acid chain, using the epoxidation process followed by the acrylation reaction. The polymeric fluid was synthesized through miniemulsion polymerization process. The nanocomposite was obtained in situ through the polyaddition reaction of vinyl pivalate in the presence of magnetic nanoparticles coated with acrylated oleic acid via miniemulsion. The synthesized samples were characterized by infrared absorption vibration spectroscopy, nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H-NMR}$ ), thermogravimetric analysis, dynamic light scattering, differential thermal analysis, differential scanning calorimetry, X-ray diffraction, transmission electron microscopy, Mössbauer spectroscopy, Raman spectroscopy, magnetization measurements and gel permeation chromatography. The cytotoxicity of poly(vinyl pivalate) and nanocomposites was evaluated in vitro in B16F10 melanoma cancer cells, murine mammary adenocarcinoma (4T1-luciferase), NIH-3T3 fibroblast cells and human keratinocytes (HaCat). The results showed that the coated nanoparticles showed thermal stability, good dispersibility with uniform average size of 9.5 nm, saturation magnetization of  $61.2 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$  and superparamagnetic behavior. The results of poly(vinyl pivalate) showed average conversions of 82% and mass-average molar masses ranging from 335 to  $840 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Polymerization reactions carried out with water-soluble initiator, potassium persulphate, presented a decrease in the average diameter during the polymerization process due to the homogeneous nucleation that occurred simultaneously to nucleation of the new droplets. The average diameters of the lattices obtained with the use of the organosoluble initiator, benzoyl peroxide, remained practically unchanged until the end of the process. In the formation of the nanocomposites, the use of the polymerization process in miniemulsion allowed the formation of stable colloidal dispersions, with effective control over particle size and morphology. The magnetopolimeric fluids formed containing 5.0 to 20.0 wt% of OM-AOA exhibited a mean diameter of approximately 180 nm, spherical morphology and preserved the superparamagnetic behavior. Cell viability tests demonstrated that nanocomposites as well as poly(vinyl pivalate) nanoparticles did not present representative cytotoxicity to tumor and non-tumor cells at the concentrations studied. The physico-chemical properties and non-cytotoxicity suggest the potential of magnetopolimeric fluids as an embolic agent for selective and complete obstruction of blood vessels of different sizes and capacity for treatment by hyperthermia.

**Keywords:** Miniemulsion polymerization, magnetic nanoparticles, nanocomposites, poly(vinyl pivalate), embolic agent, hyperthermia, cytotoxicity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ilustração simplificada da polimerização em miniemulsão.....	8
<b>Figura 2:</b> Mecanismo de degradação difusional ( $\tau_1$ ) ( <i>Ostwald Ripening</i> ) e mecanismo de coalescência ( $\tau_2$ ).....	8
<b>Figura 3:</b> Representação da estrutura cristalina (a) magnetita, (b) maguemita e (c) hematita. Adaptado de Neto et al. ....	11
<b>Figura 4:</b> Representação da reação de epoxidação e acrilização do ácido oleico. Adaptado de Medeiros et al. ....	44
<b>Figura 5:</b> Espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras AO, AOE e AOA, obtidos em pastilha de KBr. ....	46
<b>Figura 6:</b> Espectros RMN de $^1\text{H}$ do (a) AO, (b) AOE e (c) AOA.....	48
<b>Figura 7:</b> Espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras OM e OM- AOA obtidos em pastilha de KBr. ....	50
<b>Figura 8:</b> Tipos de coordenação do íon carboxilato: (a) bidentado (b) ponte e (c) monodentado. ....	51
<b>Figura 9:</b> Curvas termogravimétricas TGA, DTG e DTA das amostras (a) AOA, (b) OM e (c) OM-AOA.....	53
<b>Figura 10:</b> Difrátogramas das amostras OM e OM-AOA.....	54
<b>Figura 11:</b> Espectros vibracionais Raman das amostras OM e OM-AOA.....	57
<b>Figura 12:</b> Curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado à temperatura ambiente das amostras OM e OM-AOA. ....	58
<b>Figura 13:</b> Micrografias obtidas por MET e histograma de distribuição de tamanho das amostras (a) OM e (b) OM-AOA. ....	60
<b>Figura 14:</b> Espectro Mössbauer das amostras (a) e (b) OM e (c) e (d) OM-AOA obtidos à temperatura ambiente (à esquerda) e à temperatura de nitrogênio líquido (à direita).....	61
<b>Figura 15:</b> Representação da estrutura básica do poli(pivalato de vinila).....	62
<b>Figura 16:</b> Concentração micelar crítica do lauril sulfato de sódio a 70 °C. ....	63
<b>Figura 17:</b> Gráficos da evolução da conversão, do diâmetro médio das gotas e do número de partículas/grama do látex das amostras obtidas, correspondente à média e o desvio padrão das amostras obtidas em triplicata. ....	67
<b>Figura 18:</b> Curvas de distribuição da massa molar dos polímeros.....	68
<b>Figura 19:</b> Perfis de decomposição dos iniciadores a (a) 70 °C e (b) 85 °C.....	70
<b>Figura 20:</b> Curvas termogravimétricas das amostras de PPVi.....	73

<b>Figura 21:</b> Curvas de distribuição do tamanho de partícula do polímero PPVi-11 obtidas em diferentes intervalos de armazenamento.....	73
<b>Figura 22:</b> Micrografias obtidas por MET e histograma de distribuição de tamanho da amostra PPVi - 07.....	74
<b>Figura 23:</b> Espectros vibracionais das amostras PPVi - 01 e PPVi - 12 na região do infravermelho em pastilha de KBr.....	75
<b>Figura 24:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da amostra PPVi – 02.....	76
<b>Figura 25:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da amostra PPVi – 02. ....	77
<b>Figura 26:</b> Espectro vibracional da amostra PPVi/OM-AOA 20%, obtido em pastilha de KBr. ....	80
<b>Figura 27:</b> Curva termogravimétrica das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%. ....	81
<b>Figura 28:</b> Difractogramas das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%. ....	83
<b>Figura 29:</b> Curvas de saturação magnética à temperatura ambiente das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%. ....	84
<b>Figura 30:</b> Curvas de saturação magnética à temperatura ambiente das nanopartículas magnéticas presentes nas amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%. ....	85
<b>Figura 31:</b> Espectros vibracionais Raman dos nanocompósitos PPVi/OM-AOA. ....	86
<b>Figura 32:</b> Espectros Mössbauer da amostra PPVi/OM-AOA 20% obtidos à temperatura ambiente (a) e à temperatura de nitrogênio líquido (b). ....	87
<b>Figura 33:</b> Micrografias obtidas por MET da amostra PPVi/OM-AOA 20%. ....	89
<b>Figura 34:</b> Curvas de distribuição do tamanho de partícula do nanocompósito PPVi/OM-AOA 20% (à esquerda) e a respectiva variação do diâmetro hidrodinâmico (à direita) obtida em diferentes intervalos de tempo .....	89
<b>Figura 35:</b> Avaliação da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de melanoma murino B16F10 após 24 h de exposição nas concentrações de $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , $0,10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , $0,50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $1,00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . ....	91
<b>Figura 36:</b> Avaliação da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de carcinoma mamário murino 4T1 Luciferase após	

24 h de exposição nas concentrações de 0,01 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,05 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,10 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,50 mg·mL<sup>-1</sup> e 1,00 mg·mL<sup>-1</sup> .....91

**Figura 37:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de fibroblasto embrionário murinas NIH/3T3 após 24 h de exposição 0,01 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,05 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,10 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,50 mg·mL<sup>-1</sup> e 1,00 mg·mL<sup>-1</sup> .....92

**Figura 38:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células queratinócitos humanos (HaCat) após 24 h de exposição 0,01 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,05 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,10 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,50 mg·mL<sup>-1</sup> e 1,00 mg·mL<sup>-1</sup> .....93

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Tipos de agentes embólicos, suas principais características, aplicações, vantagens e desvantagens.....	23
<b>Tabela 2:</b> Fórmulas moleculares, grau de pureza/teor e fabricantes dos reagentes utilizados nas sínteses. ....	31
<b>Tabela 3:</b> Marca e modelo dos equipamentos utilizados.....	32
<b>Tabela 4:</b> Formulações das polimerizações de poli(pivalato de vinila) em miniemulsão.....	35
<b>Tabela 5:</b> Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras AO, AOE e AOA e suas atribuições vibracionais. ....	46
<b>Tabela 6:</b> Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras OM e OM-AOA e suas atribuições vibracionais.....	50
<b>Tabela 7:</b> Estimativas dos parâmetros de rede (a), estequiometria e tamanho médio dos cristalitos ( $D_{DRX}$ ) para as amostras OM e OM-AOA. ....	56
<b>Tabela 8:</b> Parâmetros obtidos dos ajustes do espectro Mössbauer registrado à temperatura ambiente e temperatura de nitrogênio líquido das amostras OM e OM-AOA. Os valores de deslocamento isomérico (DI), desdobramento quadrupolar (DQ), campo magnético hiperfino (Bhf) e área relativa (%). ....	61
<b>Tabela 9:</b> Formulação para dispersão de gotas de PVi e determinação do tempo de homogeneização. ....	63
<b>Tabela 10:</b> Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e número de partículas/ g do látex correspondente à média e o desvio padrão das amostras obtidas em triplicata. ....	66
<b>Tabela 11:</b> Massas molares médias e dispersão da massa molar dos polímeros. ....	68
<b>Tabela 12:</b> Parâmetros cinéticos de decomposição dos iniciadores. ....	70
<b>Tabela 13:</b> Temperaturas de transição vítrea das amostras de PPVi. ....	72
<b>Tabela 14:</b> Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras PPVi - 01 e PPVi - 12 e suas atribuições vibracionais. ....	76
<b>Tabela 15:</b> Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão (PdI) dos nanocompósitos obtidos.....	79
<b>Tabela 16:</b> Principais bandas de absorção obtidas no espectro FTIR relativas à amostra PPVi/OM-AOA 20%. ....	80
<b>Tabela 17:</b> Temperaturas de transição vítrea das amostras de PPVi/OM-AOA. ....	82

**Tabela 18:** Parâmetros obtidos dos ajustes do espectro Mössbauer registrado à temperatura ambiente e temperatura de nitrogênio líquido da amostra PPVi/OM-AOA 20%. Os valores de deslocamento isomérico (DI), desdobramento quadrupolar (DQ), campo magnético hiperfino (Bhf) e área relativa (%). ..... 88

**Tabela A 1:** Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e número de partículas/ g do látex obtidas das amostras de PPVi...118

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\rho_M, \rho_p, \rho_{CO}$	Densidades do monômero, polímero e coestabilizador
[I]	Concentração do iniciador em qualquer instante da reação
[I] <sub>o</sub>	Concentração do iniciador no início da reação
<sup>1</sup> H-RMN	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
4T1	Linhagem tumoral murina de carcinoma mamário
4T1-luc luciferase	Linhagem tumoral murina de carcinoma mamário transfectada com a enzima luciferase
5,6,7,8-THF	Ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico
Å	Unidade de medida de comprimento – Ângstron ( $10^{-10}$ m)
a	Parâmetro de rede
AIBN	Azobisisobutironitrila
AO	Ácido oleico
AOA	Ácido oleico acrilado
AOE	Ácido oleico epoxidado
APTES	(3-aminopropil) trietoxissilano
B16F10	Linhagem tumoral murina de melanoma
B <sub>hf</sub>	Campo magnético hiperfino
BSA	Albumina de soro bovino
CCD	<i>Charge coupled device</i> (Dispositivo acoplado de carga)
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
CMC	Concentração micelar crítica
CMD	Carboximetil-dextrano
D	Diâmetro atual das partículas
D <sub>c</sub>	Tamanho crítico
D <sub>DRX</sub>	Tamanho médio dos cristalitos
d <sub>hkl</sub>	Distância interplanar correspondente ao plano ( <i>hkl</i> )
DI	Deslocamento isomérico
DLS	<i>Dynamic light scattering</i> (Espalhamento de luz dinâmico)
D <sub>máx</sub>	Diâmetro máximo das partículas obtidas por MET
DMEM	<i>Dulbecco Modified Eagle Medium</i>
D <sub>MET</sub>	Diâmetro médio das partículas obtidas por MET
D <sub>mín</sub>	Diâmetro mínimo das partículas obtidas por MET

DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
$D_p$	Diâmetro médio da partícula
DQ	Desdobramento quadrupolar
DRX	Difratometria de raios X
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> (Calorimetria diferencial de varredura)
DTA	<i>Differential thermal analysis</i> (Análise térmica diferencial)
DTG	Derivada da curva termogravimétrica
E	Potencial elétrico
EDA-FA	N-(2-aminoetil) ácido fólico
EVOH	Poli(etileno-co-álcool vinílico)
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i> (Espectroscopia vibracional na região do infravermelho)
FWHM	<i>Full width at half maximum</i> (Largura a meia altura do pico de maior intensidade)
GPC	<i>Gel permeation chromatography</i> (Cromatografia de permeação em gel)
h, k e l	Índices de Miller
HaCat	Queratinócitos humanos (linhagem não tumoral)
HepG2	Célula carcinoma hepatocelular
i	Corrente elétrica
IARC	<i>International agency for research on cancer</i> (Agência Internacional para a Pesquisa sobre o Câncer)
IB	Instituto de Biologia
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
k	Número da classe
$k_d$	Constante de decomposição do iniciador
KPS	<i>Potassium peroxydisulfate</i> (Persulfato de potássio)
LPO	Peróxido de di-lauroíla
$M_a$	Massa da amostra
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
$M_M, M_p, M_{co}$	Massas do monômero, polímero e coestabilizador, respectivamente

$M_n$	Massa molar média em número
$M_R^T$	Massa do meio reacional
$M_s$	Magnetização de saturação
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio)
$M_w$	Massa molar média ponderal
n	Ordem de difração – n = 1, 2, 3, ...
NBCA	n-butil cianoacrilato
NIH/3T3	Células de fibroblasto embrionário murinas
nm	Unidade de medida de comprimento – Nanômetro ( $10^{-9}$ m)
$N_p$	Número de partículas
OCMCs	<i>o</i> -carboximetilquitosana
OM	Nanopartículas magnéticas
OM-AOA	Nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico acrilado
PBO	Peróxido de benzoíla
PdI	Índice de polidispersão
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
PVA	Poli(álcool vinílico)
PVAc	Poli(acetato de vinila)
PVi	Pivalato de vinila
PVPi	Poli(pivalato de vinila)
RMN $^1H$	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
rpm	Unidade de rotação – rotações por minuto
SAR	<i>Specific absorption rate</i> (Taxa de absorção específica)
SFB	Soro fetal bovino
SLS	<i>Sodium lauryl sulfates</i> (Lauril sulfato de sódio)
SP5.2/FTt	Peptídeo que se liga a VEGFR-1
SPIONs	<i>Superparamagnetic iron oxide nanoparticles</i> (Nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas)
$T_2$	Tempo de relaxação <i>spin-spin</i>
$T_B$	Temperatura de bloqueio
TG	Análise termogravimétrica
THF	Tetrahidrofurano

TMS	Tetrametilsilano
tTF	Fator de tecido cortado
UEG	Universidade Estadual de Goiás
UFG	Universidade Federal de Goiás
UI	Unidades internacionais
UnB	Universidade de Brasília
v	Vacância na rede cristalina
VEGFR-1	<i>Vascular endothelial growth factor receptor</i> (Receptor para o fator de crescimento endotelial vascular)
$V_p^1$	Volume de uma partícula
$V_p^T$	Volume total de partículas
VSM	<i>Vibrating sample magnetometer</i> (Magnetometria de amostra vibrante)
W	Amplitude da classe
x	Razão molar $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ determinado por DRX
$\bar{X}_p$	Conversão

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\lambda$	Comprimento de onda
$\delta$	Desvio estequiométrico
$\sigma$	Desvio padrão do diâmetro
$\phi$	Grau de inversão
$\beta$	Largura do pico a meia altura
$\theta$	Unidade de medida de ângulo
$\Phi_{\text{org}}$	Fração de fase orgânica

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo Geral.....	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1. Polimerização em Miniemulsão.....	6
3.1.1. Formulações e métodos de preparação de polímeros via miniemulsão.....	7
3.2. Óxidos de Ferro.....	10
3.2.1. Métodos Químicos de Preparação dos Óxidos de Ferro.....	12
3.2.2. Propriedade Magnética – O Superparamagnetismo.....	17
3.2.3. Revestimento de Partículas de Óxido de Ferro.....	18
3.3. Emboloterapia.....	21
3.4. Hipertermia.....	27
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
4.1. Rotas sintéticas.....	31
4.1.1. Reagentes e Equipamentos.....	31
4.1.2. Procedimentos de Síntese.....	32
4.1.2.1. Reação de Epoxidação do Ácido Oleico.....	33
4.1.2.2. Reação de Incorporação do Ácido Acrílico ao Ácido Oleico Epoxidado.....	33
4.1.2.3. Síntese de Nanopartículas Magnéticas.....	34
4.1.2.4. Modificação das Nanopartículas Magnéticas com Ácido Oleico Acrilado.....	34
4.1.2.5. Síntese do Poli(pivalato de vinila) - PPVi.....	34
4.1.2.6. Encapsulamento das nanopartículas magnéticas por poli(pivalato de vinila) via polimerização em miniemulsão <i>in situ</i> (PPVi/OM-AOA). .....	36
4.1.3. Técnicas de Caracterização.....	36
4.1.3.1. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	36
4.1.3.2. Ressonância Magnética Nuclear.....	37
4.1.3.3. Análises Térmicas.....	37
4.1.3.3.1. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial.....	37
4.1.3.3.2. Calorimetria Diferencial de Varredura.....	37
4.1.3.4. Espectroscopia de Mössbauer.....	38
4.1.3.5. Difração de Raios X.....	38

4.1.3.6. Medidas de Magnetização .....	38
4.1.3.7. Espectroscopia Raman .....	38
4.1.3.8. Cromatografia de Permeação em Gel .....	39
4.1.3.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão .....	39
4.1.3.10. Espalhamento de Luz Dinâmico .....	39
4.1.3.11. Conversão por Análise Gravimétrica .....	40
4.1.3.12. Número de Partículas .....	40
4.2. Ensaio de viabilidade celular .....	41
4.2.1. Manutenção das células e ensaios de citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	41
4.2.2. Análise Estatística .....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	44
5.1. Formação do Ácido Oleico Acrilado (AOA) .....	44
5.2. Revestimento das Nanopartículas Magnéticas .....	49
5.3. Obtenção de Nanopartículas de Poli(pivalato de vinila) .....	62
5.4. Síntese de Nanocompósitos Magnetopoliméricos de Poli(pivalato de vinila) e nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico acrilado .....	77
5.5. Viabilidade celular do polímero PPVi e do nanocompósito PPVi/OM-AOA 20% ..	90
6. CONCLUSÕES .....	94
7. TRABALHOS FUTUROS .....	96
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97
APÊNDICE .....	118

## 1. INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de cem doenças que tem em comum o crescimento desordenado de células que invadem órgãos e tecidos. É fundamentalmente uma doença genética que surge como consequência de mudanças patológicas cumulativas no material genético, DNA.<sup>1</sup> As alterações gênicas que geram as neoplasias ocorrem durante o controle da divisão e morte celular, caracterizando o câncer como uma doença do ciclo celular.<sup>2,3</sup>

Estima-se que um em cada cinco homens e uma em cada seis mulheres em todo o mundo desenvolvem câncer durante a vida, totalizando 18,1 milhões de pessoas diagnosticadas com a doença, sendo responsável por cerca de 13% de todas as mortes no mundo de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e da Agência Internacional para a Pesquisa sobre o Câncer (IARC).<sup>4</sup> No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, INCA, foram estimados no ano de 2018 aproximadamente 582 mil novos casos de câncer.<sup>5</sup>

Os tipos mais incidentes de câncer são o de pele, próstata, mama feminina, colón e reto, pulmão, estômago e colo de útero.<sup>5</sup> Os principais tratamentos para a cura do câncer são a cirurgia, radioterapia, quimioterapia e transplante de medula óssea. Pacientes que se submetem a esses tratamentos convencionais, de forma isolada ou em combinação sofrem com efeitos colaterais indesejáveis.<sup>6</sup>

Nas últimas décadas, observou-se um crescente número de publicações sobre a eficiência e as implicações causadas pelos tratamentos convencionais, que apresentam como principais desvantagens, os efeitos adversos ocasionados pela não-especificidade de células tumorais (os tratamentos afetam tanto as células normais quanto às células neoplásicas), as pós-sequelas e a mortalidade por câncer, o que tem levado a um crescente interesse científico no desenvolvimento de novos tratamentos e metodologias com resultados mais eficazes que possam propiciar redução de efeitos colaterais e aumento do tempo de vida aos pacientes diagnosticados com câncer.<sup>7,8</sup> Os tratamentos complementares têm ganhado cada vez mais espaço na luta contra o câncer, destacando-se a embolização intravascular e a hipertermia.

A embolização é uma técnica que consiste na injeção de material particulado finamente dividido (ou líquidos viscosos) via cateter angiográfico, na corrente sanguínea em torno da região desejada, de modo a obstruir mecanicamente os vasos sanguíneos que irrigam a área lesionada,<sup>9-11</sup> sendo uma estratégia importante no tratamento de tumores, aneurismas,

contenção de hemorragias e malformações arteriovenosas. A hipertermia consiste no uso de nanopartículas magnéticas que através do uso de um campo magnético ou radiofrequência promove superaquecimento acima dos limites fisiológicos normais, elevação da temperatura de 42 °C até aproximadamente 46 °C, ocasionando a morte de células tumorais que são frágeis e susceptíveis ao aquecimento. A utilização dessas terapias aumenta a eficácia dos tratamentos de quimioterapia e radioterapia.<sup>12, 13</sup> O diferencial dessas terapias está na ausência ou nos poucos efeitos colaterais, tornando-os substitutivos atrativos e/ou tratamentos complementares para a quimioterapia e radioterapia.

No caso da embolização, o sucesso desse procedimento cirúrgico depende fundamentalmente da compatibilidade do agente embolizante com o tecido, da estabilidade térmica do material, uma vez que o mesmo será submetido a procedimentos de esterilização, bem como das características morfológicas. Estas últimas merecem atenção especial em relação à compatibilidade entre o tamanho das partículas com o diâmetro dos cateteres e dos vasos sanguíneos.<sup>14-17</sup> A literatura reporta o sucesso do uso da embolização como tratamento complementar em pacientes com tumores renais inoperáveis,<sup>18</sup> tumores hepáticos,<sup>19</sup> hemangiomas,<sup>20</sup> câncer de próstata,<sup>21</sup> câncer de colorretal,<sup>22</sup> entre outros.

Para determinados agentes embólicos, uma morfologia esférica controlada e elevada estabilidade coloidal são requisitos essenciais para garantir uma ação embolizante seletiva. Matrizes poliméricas têm sido amplamente utilizadas para essa finalidade, por apresentarem características físico-químicas, como a biocompatibilidade e a biodegradabilidade, capazes de atender os requisitos necessários e também por minimizar a ocorrência de problemas ocasionados pelo uso de agentes embólicos não esféricos como a coagulação de proteínas do plasma sanguíneo, oclusão incompleta podendo ocasionar a recanalização dos vasos ou risco de embolização em locais indesejáveis e obstrução de cateteres.<sup>23-25</sup>

Entre os métodos convencionais de obtenção de materiais poliméricos, o processo de polimerização em miniemulsão tem se mostrado um método bastante promissor, uma vez que permite a obtenção de látices com elevada massa molar, estreitas distribuições de tamanho das partículas, com diâmetros que variam entre 50 nm a 500 nm, e alta estabilidade coloidal.<sup>26</sup> Desta forma, o uso desta técnica de polimerização pode assegurar o controle efetivo sobre o tamanho e morfologia das partículas do polímero na dispersão coloidal que são determinantes para manipulação e garantia da fluidez do agente embólico e consequentemente o transporte do mesmo via cateter até o alvo desejado.

Nanopartículas magnéticas, devido suas propriedades, têm sido intensamente investigadas mostrando-se capazes de atender os requisitos para aplicação em hipertermia. As

nanopartículas mais comumente propostas para uso em estudos de hipertermia são alguns óxidos de ferro, como magnetita, maguemita e as ferritas. Suas características morfológicas, estruturais e estequiométricas de dimensões nanométricas, baixa toxicidade, moderada estabilidade, alta seletividade química e área superficial, alta magnetização, biocompatibilidade, capacidade de conversão de energia magnética em energia térmica e comportamento superparamagnético possibilitam grande potencialidade em aplicações biomédicas.<sup>27-29</sup> Para a aplicação em hipertermia, esses materiais devem apresentar preferencialmente dimensões nanométricas e boa capacidade de conversão de energia magnética em energia térmica. Modificações da superfície dessas nanopartículas são propostas para propiciar um aumento de compatibilidade e de seletividade às células tumorais.

Nos últimos anos, diversos pesquisadores dedicaram seus estudos com foco no desenvolvimento de novos materiais capazes de promover a oclusão arterial seletiva, que se caracterizam por conter em sua composição nanopartículas magnéticas nanoestruturadas dispersas em matrizes poliméricas.<sup>17, 25, 30</sup> Em relação aos agentes embólicos, a incorporação de nanopartículas magnéticas poderá permitir o tratamento por hipertermia, monitoramento preciso da biodistribuição dos nanocompósitos por todo o tecido (agente de contraste para diagnóstico por imagem) e liberação controlada de fármacos.

Com este enfoque, este trabalho visa desenvolver uma nova classe de agente embolizante que consiste no desenvolvimento de um nanocompósito polimérico, caracterizado por conter em sua composição nanopartículas magnéticas ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), com superfície modificada com ácido oleico acrilado, uniformemente dispersas em nanopartículas esféricas de poli(pivalato de vinila). O material magnetopolimérico apresenta como diferenciais: *i*) o fato de ser produzido *in situ*, em uma única etapa de processo, o que confere ao material final propriedades macromoleculares diferenciadas; *ii*) o uso do processo de polimerização em miniemulsão garante a formação de um fluido polimérico com elevada estabilidade coloidal; *iii*) a incorporação de nanopartículas magnéticas com superfície modificada polimerizável permite alta eficiência de encapsulação evitando problemas de lixiviação, além de conferir ao fluido magnético capacidade de tratamento da região tumoral por hipertermia; *iv*) a matriz polimérica termoplástica a base de pivalato de vinila proporciona ao material final boa estabilidade térmica e biocompatibilidade. Desta forma, este novo material nanoestruturado apresenta propriedades e desempenho superiores em relação aos materiais convencionais, combinando propriedades dos polímeros termoplásticos e de compostos magnéticos, sendo empregados em aplicações biotecnológicas como a embolização vascular, a hipertermia em tumores, a liberação controlada de fármacos e como

agentes de contrastes para diagnóstico por imagem. Os resultados apresentados aqui permitem a produção de uma nova classe de agente embolizante nanoestruturado com morfologia esférica controlada, originando um fluido magnético com elevada estabilidade coloidal com grande potencial para aplicação biomédica.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é desenvolver nanocompósitos formados por poli(pivalato de vinila) e nanopartículas magnéticas ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) recobertas com ácido oleico acrilado para tratamento de tumores através do procedimento de embolização intravascular e hipertermia.

### 2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Modificar a estrutura química do ácido oleico, visando à obtenção do ácido oleico acrilado.
- ✓ Caracterizar o ácido oleico acrilado por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear.
- ✓ Sintetizar nanopartículas de óxido de ferro via método de coprecipitação.
- ✓ Modificar a superfície das nanopartículas magnéticas com ácido oleico acrilado.
- ✓ Caracterizar as nanopartículas sem e com revestimento por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho, análise termogravimétrica, difração de raios X, microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia Mössbauer, espectroscopia Raman e medidas de magnetização.
- ✓ Sintetizar e avaliar as propriedades finais dos materiais poliméricos produzidos através de poliadição do pivalato de vinila via polimerização em miniemulsão.
- ✓ Caracterizar o poli(pivalato de vinila) - PPVi por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho, análise termogravimétrica, ressonância magnética nuclear, cromatografia de permeação em gel, calorimetria diferencial de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e análise térmica diferencial.
- ✓ Sintetizar e avaliar as propriedades finais dos nanocompósitos produzidos *in situ* a partir da inserção de nanopartículas magnéticas com superfície modificada à matriz polimérica em miniemulsão (PPVi/OM-AOA) e caracterizar com as técnicas descritas anteriormente.
- ✓ Investigar a citotoxicidade do PPVi e do nanocompósito de PPVi/OM-AOA *in vitro* em adenocarcinoma mamário murino transfectados com a enzima luciferase (4T1-luciferase) células cancerígenas de melanoma B16F10, células fibroblástica NIH-3T3 e queratinócitos humanos (HaCat).

Partes da revisão bibliográfica foram publicadas no seguinte artigo:

W. S. Neto, A. T. Jensen, G. R. Ferreira, L. F. Valadares, R. Gambetta, S. B. Gonçalves, F. Machado. *A Survey on Synthesis Processes of Structured Materials for Biomedical Applications: Iron-based Magnetic Nanoparticles, Polymeric Materials and Polymerization Processes*, **Current Pharmaceutical Design**, 2015; 21: 5336-5358.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Polimerização em Miniemulsão

De acordo com a definição da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) polímero é uma substância caracterizada por uma repetição múltipla de um ou mais espécies de átomos ou grupo de átomos unidos, denominados monômeros, caracterizado por uma alta massa molar relativa, que pode variar de alguns milhares até milhões.<sup>31</sup> Diversos processos são utilizados para produção de materiais poliméricos como a polimerização em massa, solução, suspensão, dispersão, emulsão, miniemulsão, entre outros. Cada processo apresenta características peculiares, que permitem definir distintas propriedades do material polimérico final.<sup>32</sup>

Dentre os processos, a polimerização em miniemulsão tem ganhado destaque nos últimos anos por favorecer a formação de látices com alta massa molar, estreitas distribuições de tamanhos das partículas e apreciável estabilidade coloidal. Esse processo consiste em um sistema de dispersão aquosa de pequenas gotas de monômeros estabilizadas pela presença de surfactantes e coestabilizadores, predominando o mecanismo de nucleação nas gotas, as quais funcionam como uma espécie de “nanorreatores”.<sup>26</sup> Neste, as gotas do monômero são formadas através da emulsificação da fase dispersa (monômeros e coestabilizador) e da fase contínua (água e surfactante) através do uso de dispersores mecânicos, homogeneizadores de alta pressão ou ultrasonicadores capazes de produzir nanogotas com distribuição de tamanho estreita, com diâmetros entre 50 nm e 500 nm que permanecem praticamente inalterados até o final do processo de polimerização.<sup>33, 34</sup>

O primeiro relato sobre a polimerização em miniemulsão ocorreu no trabalho realizado por Ugelstad et al.<sup>35</sup> em 1973. Baseados em estudos anteriores relacionados à estabilidade de emulsões pela adição de álcoois insaturados de cadeia longa e sua influência no tamanho das partículas do polímero obtido, o presente estudo mostrou que a combinação de lauril sulfato de sódio - SLS (surfactante aniônico) e hexadecanol (coestabilizador) no

processo de polimerização de estireno ocasionavam a formação de gotículas suficientemente pequenas e estáveis tornando-as capazes de competir eficazmente para a captura de radicais livres, e conseqüentemente, sendo o local predominante para a nucleação das partículas.

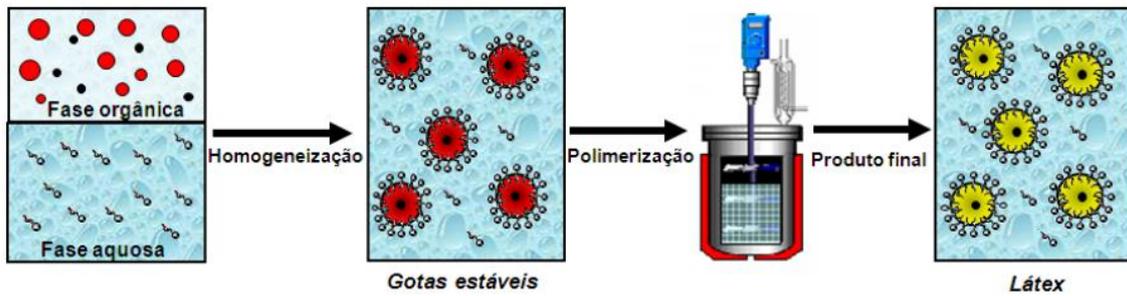
A partir deste estudo e de outros trabalhos publicados posteriormente foi possível então definir os princípios básicos do processo de miniemulsão: a aplicação de elevadas taxas de cisalhamento capazes de reduzir o tamanho das gotículas do monômero, protegidas contra a degradação difusional através do uso de um composto insolúvel em água e um surfactante eficiente.<sup>26</sup>

Atualmente, há uma vasta gama de materiais poliméricos desenvolvidos através desta técnica de polimerização. Comparados a outros processos como, por exemplo, a polimerização em emulsão convencional, a polimerização em miniemulsão apresenta algumas vantagens como a encapsulação de partículas inorgânicas em matrizes poliméricas,<sup>36</sup> incorporação de monômeros extremamente insolúveis em água, látices com alto teor de sólidos de baixa viscosidade, melhor controle do diâmetro e do número de partículas durante a polimerização, entre outros, atraindo a atenção para diversas aplicações em áreas tecnológicas e biomédicas,<sup>26</sup> como por exemplo, obtenção de nanopartículas poliméricas carreadoras de fármacos anticancerígenos,<sup>37</sup> látices encapsulados com pigmentos orgânicos,<sup>38</sup> matrizes para diagnóstico clínico,<sup>39</sup> adsorventes de compostos orgânicos,<sup>40</sup> entre outros.

### **3.1.1. Formulações e métodos de preparação de polímeros via miniemulsão**

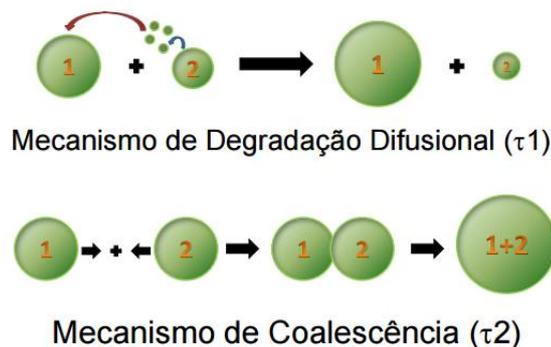
A preparação da miniemulsão ocorre basicamente em duas etapas. A primeira etapa consiste na formação de pequenas gotas do monômero através da dispersão da carga inicial, água, surfactante, monômeros e coestabilizador, no reator pela aplicação de uma força de cisalhamento suficientemente elevada capaz de produzir uma emulsão estável. Na segunda etapa, ocorre a polimerização das gotas monoméricas formadas.<sup>26</sup> A Figura 1 mostra o esquema ilustrativo do princípio da polimerização em miniemulsão.

Os equipamentos mais utilizados para a etapa de homogeneização de miniemulsões são os dispersores de alta frequência de agitação, homogeneizadores de alta pressão e dispersores ultrassônicos, sendo o último o mais utilizado para homogeneização de pequenas quantidades. A estabilização das gotas do monômero, após seu cisalhamento, só é possível devido ao uso combinado de surfactantes e coestabilizadores, pois estes suprimem os efeitos de coalescência e degradação difusional (*Ostwald Ripening*) garantindo um estado estacionário do diâmetro das gotas durante a polimerização.<sup>26</sup>



**Figura 1:** Ilustração simplificada da polimerização em miniemulsão.<sup>41</sup>

A coalescência, ocasionada pela colisão entre duas gotas, devido ao movimento Browniano e as forças atrativas de van der Waals, é caracterizada pela formação de uma única gota de monômero com diâmetro maior. Já a degradação difusional ocorre quando há a transferência de massa de gotas menores para gotas maiores, devido a maior energia superficial das gotas pequenas quando comparadas às maiores gotas, ocasionando um aumento do tamanho médio das gotas. Esses fenômenos de degradação, mostrados na Figura 2, como anteriormente mencionados, podem alterar o diâmetro médio e número de gotas, descaracterizando desta forma, o processo de miniemulsão.<sup>26, 42, 43</sup> Assim, se o processo de polimerização for bem controlado, os látices obtidos apresentam propriedades semelhantes às nanogotas formadas inicialmente, em que o tamanho e a distribuição de tamanho das partículas são dependentes de alguns fatores, tais como a concentração de surfactante, a presença e concentração de coestabilizador e tipo de iniciador.<sup>42</sup>



**Figura 2:** Mecanismo de degradação difusional ( $\tau_1$ ) (*Ostwald Ripening*) e mecanismo de coalescência ( $\tau_2$ ).<sup>44</sup>

O uso de um surfactante apropriado é capaz de promover eficiente estabilidade eletrostática ou estérica às gotas contra a coalescência. No caso da miniemulsão, a literatura relata o uso de surfactantes aniônicos, catiônicos, não iônicos, mistura de iônicos com não

iônicos e surfactantes reativos que devem estar presentes no meio reacional em concentrações menores que a concentração micelar crítica (CMC), ou seja, em quantidade suficiente para recobrir as gotas sem que ocorra a formação de micelas. A degradação difusional pode ser suprimida pela presença de um agente hidrófobo (coestabilizador), componente chave nas formulações de miniemulsões, que apresenta como principal função suprimir (ou limitar) a difusão do monômero, formando uma barreira na superfície das gotas que em combinação com o surfactante, reduz a energia superficial do sistema, criando uma pressão osmótica dentro das gotas do monômero.<sup>26</sup>

A eficiência do coestabilizador está relacionada à sua alta solubilidade no monômero, elevada massa molar e hidrofobicidade, sendo relatada a utilização de alcanos de cadeias longas como o hexadecano, álcoois graxos como o hexadecanol, polímeros pré-formados, agentes de transferência de cadeia como o dodecil-mercaptano, monômeros hidrofóbicos, triglicerídeos de óleos vegetais, entre outros.<sup>43</sup>

Como vantagem, quando comparada a outros processos, a miniemulsão permite utilizar iniciadores tanto hidrossolúveis (por exemplo, persulfato de potássio – KPS, persulfato de amônia – APS, entre outros) como organossolúveis (como peróxido de benzoíla - PBO, peróxido de di-lauroíla - LPO, Azobisisobutironitrila – AIBN, entre outros) e também monômeros insolúveis e com diferentes graus de solubilidade em água. Ao utilizar iniciador hidrossolúvel, a polimerização ocorre pela entrada de radicais oligoméricos hidrofóbicos nas gotas do monômero.<sup>45, 46</sup> O uso de iniciadores organossolúveis favorece o processo de nucleação das gotas, pois ao ser dissolvido na fase orgânica, a reação de polimerização se inicia no seu interior.<sup>33, 42, 43</sup>

Em relação à nucleação no processo de miniemulsão, predomina-se a nucleação nas gotas, onde oligoradicaís formados na fase aquosa (quando um iniciador hidrossolúvel é empregado) entram nas gotas do monômero, sendo essas o *locus* da reação. No entanto, nucleações secundárias podem ocorrer simultaneamente à nucleação das gotas, sendo elas a nucleação micelar (em situações onde a CMC é alcançada) e a nucleação homogênea (em situações de elevada solubilidade de monômero na fase aquosa). Como as formulações de miniemulsão utilizam o agente tensoativo com concentração inferior a CMC (nas condições de reação), não ocorre formação de micelas, evitando assim a nucleação micelar. No caso da nucleação homogênea ou coagulativa, o mecanismo é sensível ao tipo e concentração de iniciador e da solubilidade do monômero.<sup>44</sup>

Atualmente, o processo de miniemulsão tem se destacado na produção de nanocompósitos, o qual o sinergismo entre os compostos inorgânicos e orgânicos presentes

umenta a aplicabilidade e o desempenho desses materiais. Neste sentido, Aikawa et al.<sup>39</sup> desenvolveram partículas de poliestireno contendo complexos de  $\beta$ -dicetonato de Európio preparadas por polimerização em miniemulsão utilizando albumina de soro bovino (BSA) funcional como surfactante para diagnóstico bioquímico. A utilização do processo de miniemulsão foi eficiente para imobilizar quantidades suficientes de BSA na superfície da partícula polimérica. Feuser et al.<sup>47</sup> encapsularam simultaneamente nanopartículas magnéticas e ftalocianina de zinco (II) em nanopartículas de poli(metacrilato de metila) (PMMA) via polimerização em miniemulsão, o que garantiu elevada eficiência de encapsulação, estabilidade e tamanho nanométrico, com diâmetro médio de 104 nm. O nanocompósito obtido apresentou potencialidade para tratamento de câncer através da aplicação da terapia fotodinâmica e da hipertermia em conjunto num sistema de administração de fármacos com libertação controlada.

### 3.2. Óxidos de Ferro

Os óxidos de ferro são compostos químicos formados por ferro e oxigênio, amplamente distribuídos na natureza e facilmente sintetizados. Os principais óxidos de ferro são a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), a maguemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), a hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) e as ferritas,<sup>48</sup> que são o resultado da mistura de óxidos de metais bivalentes com óxido de ferro, sendo este último o componente principal.<sup>49</sup> São conhecidos aproximadamente 16 óxidos de ferro que ocorrem sob a forma de óxidos, hidróxidos ou óxidos-hidróxidos.

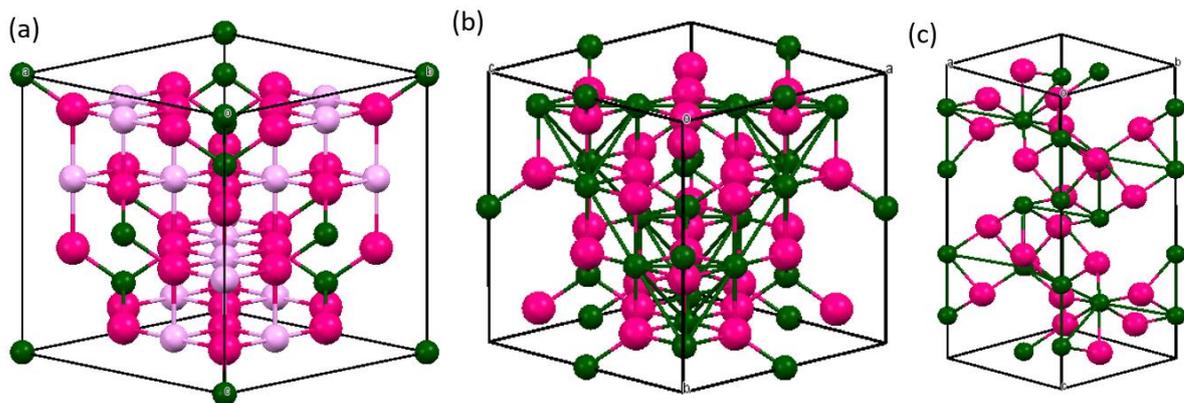
Os principais óxidos de ferro, magnetita e maguemita, apresentam estrutura cúbica do tipo espinélio, onde íons de oxigênio formam uma estrutura de rede cúbica centrada e os cátions ocupam os interstícios entre eles. Os espaços ocupados pelos íons metálicos geram dois tipos de sítios denominados sítios tetraédricos e octaédricos.<sup>50</sup>

A magnetita é um composto de cor preta, caráter ferromagnético, contendo cátions de ferro nos estados de oxidação +2 e +3 com alto percentual de ferro (Figura 3a). Sua estrutura espinélio forma uma rede cúbica de face centrada com parâmetro de rede de 8,397 Å.<sup>28, 51</sup> A fórmula da magnetita é escrita como  $\text{Y}[\text{XY}]\text{O}_4$  sendo  $\text{X}=\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Y}=\text{Fe}^{3+}$ , onde os colchetes indicam os sítios octaédricos. Na célula unitária da magnetita os sítios tetraédricos, também denominados de sítios A, são ocupados por íons de  $\text{Fe}^{3+}$  e os sítios octaédricos, sítios B, são ocupados por ambos os íons  $\text{Fe}^{2+}$  e metade dos íons  $\text{Fe}^{3+}$ , existindo oito unidades de fórmula, sendo no total 56 íons por célula unitária.<sup>52, 53</sup>

A maguemita apresenta estrutura semelhante à magnetita, cúbica de espinélio, com

coloração marrom-avermelhada, sendo o resultado do processo de oxidação da magnetita (Figura 3b). Em sua estrutura, contêm apenas cátions de ferro no estado de oxidação +3. No processo de oxidação um íon de  $\text{Fe}^{2+}$  desloca-se do sítio octaédrico deixando uma vacância (representado por v) na rede cristalina e outro íon de  $\text{Fe}^{2+}$  se oxida em  $\text{Fe}^{3+}$ . Em particular na maguemita, há uma deficiência de ferro em relação à magnetita. A fórmula da maguemita pode ser escrita como  $\text{Fe}[\text{Fe}_{5/3}\text{v}_{1/3}]\text{O}_4$  onde os colchetes indicam os sítios octaédricos e v representa as vacâncias.<sup>54</sup> Cada célula unitária de maguemita contém oito cátions que ocupam sítios tetraédricos e os cátions restantes são distribuídos aleatoriamente nos sítios octaédricos. As vacâncias são confinadas nos sítios octaédricos que dá a fórmula geral  $\text{Fe}_8[\text{Fe}_{13,33}\text{v}_{2,67}]\text{O}_{32}$ .<sup>55</sup>

A hematita possui cor preta a preto-cinza, porém, seu traço possui coloração avermelhada. Apresenta a mesma fórmula que a maguemita, porém com estruturas cristalinas diferentes (Figura 3c). A hematita é obtida através do tratamento térmico da maguemita no qual provoca mudança da estrutura cúbica para a hexagonal. Sua estrutura consiste de um arranjo de íons  $\text{Fe}^{3+}$  em coordenação octaédrica com os oxigênios em hexagonal.<sup>27</sup> O sistema de cristal da hematita é hexagonal com os parâmetros de rede de  $a = 5,0346 \text{ \AA}$ ,  $c = 13,752 \text{ \AA}$  com seis fórmulas mínimas por célula unitária.<sup>56</sup> Diferente da magnetita e da maguemita, a hematita é um óxido fracamente ferromagnético a temperatura ambiente.



**Figura 3:** Representação da estrutura cristalina (a) magnetita, (b) maguemita e (c) hematita. Adaptado de Neto et al.<sup>57</sup>.

As ferritas são misturas de óxido de ferro com óxidos de outros metais, com fórmula genérica  $\text{MeFe}_2\text{O}_4$ , onde Me representa os metais bivalentes como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , etc.<sup>49, 58</sup> As ferritas são divididas cristalograficamente em quatro subgrupos: espinélio, magnetoplumbita, granadas e perovskita.<sup>59</sup> As ferritas do tipo espinélio são as mais estudadas

devido suas propriedades particulares e inúmeras aplicações. A estrutura espinélio das ferritas é genericamente representada por  $(Me_{1-\phi}^{2+} Fe_{\phi}^{3+}) [Me_{\phi}^{2+} Fe_{2-\phi}^{3+}] O_4^{2-}$ , onde os parênteses e colchetes representam, respectivamente, os sítios tetraédricos (A) e os sítios octaédricos (B) e o parâmetro  $\phi$  indica o grau de inversão da estrutura. O grau de inversão, presente nessas estruturas, se dá pela alta eletronegatividade do oxigênio, que promove ligações de caráter iônico forte com os cátions bivalentes. Para  $\phi = 0$ , denomina-se estrutura espinélio normal, existindo somente íons bivalentes nos sítios tetraédricos. Para  $\phi = 1$  os íons trivalentes ocupam os sítios tetraédricos e metade dos sítios octaédricos, enquanto os íons bivalentes ocupam a outra metade dos sítios octaédricos, desta forma a estrutura da ferrita é denominada espinélio inverso. Quando  $0 < \delta < 1$ , a estrutura da ferrita é denominada de espinélio mista, assim os cátions  $Me^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  ocupam posições em ambos os sítios, tetraédricos e octaédricos.<sup>49, 60</sup>

As nanopartículas de óxido de ferro devido suas características morfológicas, estruturais e estequiométricas, baixa toxicidade, moderada estabilidade, alta seletividade química e área superficial, alta magnetização e biocompatibilidade<sup>61</sup> desempenham um papel importante no campo da nanotecnologia e nanociência apresentando grande potencial para diversas aplicações como: agente de contraste em ressonância magnética,<sup>62-64</sup> remoção de metais pesados,<sup>65, 66</sup> carreamento e liberação de fármacos,<sup>67</sup> remoção de corantes orgânicos,<sup>68</sup> sensores de gases,<sup>69</sup> nanopartículas adsorvente para desintoxicação de fluidos biológicos,<sup>70</sup> armazenamento de materiais biomédicos, discos de alta densidade de gravação digital, catalisadores,<sup>71</sup> tratamento de câncer por aquecimento (hipertermia),<sup>72, 73</sup> etc.

### 3.2.1. Métodos Químicos de Preparação dos Óxidos de Ferro

As propriedades dos óxidos de ferro estão associadas ao método de síntese e tratamento térmico. O processo de síntese e o tratamento térmico determinam as características morfológicas, estruturais e estequiométricas do sistema.<sup>74-76</sup> Vários métodos de sínteses têm sido estudados para se obter nanopartículas com propriedades melhoradas, determinadas pelo controle do tamanho e morfologia das nanopartículas. Entre os processos de síntese estudados estão: combustão,<sup>77, 78</sup> método sol-gel,<sup>79</sup> coprecipitação,<sup>76, 80, 81</sup> solvotérmica (poliol),<sup>82</sup> sonoquímica,<sup>83</sup> hidrotérmica,<sup>84</sup> deposição eletroquímica,<sup>85</sup> microemulsão,<sup>86</sup> etc.

O método de combustão consiste na utilização de uma mistura contendo sais de metais (normalmente sob a forma de nitratos) juntamente com um combustível (ureia, citrato de

glicina, hidrazina, etc.). A solução é então aquecida em temperaturas na faixa de 400 °C a 600 °C, resultando em um aglomerado seco, normalmente cristalino. É um método eficaz, econômico e experimentalmente simples. O processo de combustão destaca-se dos demais processos de síntese de óxidos metálicos, pois através da temperatura pode-se controlar o tamanho e a estequiometria, que tem importante influência nas propriedades dos óxidos metálicos.<sup>87, 88</sup>

Na reação por combustão alguns parâmetros desempenham papéis importantes na morfologia das partículas dos óxidos metálicos, como a composição química dos reagentes precursores, temperatura, combustível e gases gerados.<sup>77</sup> O tamanho das partículas para esse processo tende a aumentar com o aumento da temperatura de síntese, e a liberação de grandes quantidades de gases, tende a minimizar o estado de aglomeração das partículas formadas. A síntese por reação de combustão consiste, portanto, na produção de pós com alto grau de pureza e homogeneidade, baseado inicialmente em uma reação com aquecimento, ocorrendo uma reação exotérmica, ocasionando a cristalização e a formação do pó em um curto intervalo de tempo.<sup>77</sup>

O processo sol-gel é um método eficaz, alternativo e bastante promissor para a preparação de pós nanométricos com elevada pureza, baixa dispersão no tamanho das partículas e um custo relativamente baixo.<sup>89</sup> Esta técnica é relativamente simples e se fundamenta na hidroxilação e condensação de precursores moleculares em solução, o que origina um sol de partículas de tamanho nanométrico. A preparação se inicia pela dispersão de partículas sólidas em um líquido, adicionando-se, posteriormente, um agente geleificante para formar uma estrutura rígida de partículas coloidais (gel), que imobilizam a fase líquida.<sup>79</sup> Esses processos podem ser feitos a temperaturas ordinárias, mas são necessários aquecimentos posteriores para que o produto adquira o estado cristalino. Fatores como tipo de solvente, temperatura, concentrações dos precursores, pH e tipo de sal podem afetar as propriedades finais do material. Entre as vantagens da técnica estão a homogeneidade, pureza do material e baixo custo dos materiais usados.<sup>90</sup>

A coprecipitação é um método bastante eficaz e síntese relativamente fácil, que consiste na mistura de sais inorgânicos em ambiente aquoso seguida da precipitação com uso de solução alcalina. Neste método, as nanopartículas obtidas podem ser calcinadas para o estudo da influência da temperatura elevada sobre as propriedades das nanopartículas.<sup>68</sup> O método de coprecipitação apresenta pós com boa reatividade e custo relativamente baixo de seus reagentes. O tamanho das nanopartículas depende dos parâmetros de preparação tais como: pH da solução, temperatura de reação, concentração dos íons e tipo da base utilizada.<sup>76</sup>

As principais dificuldades enfrentadas são o controle e a larga faixa de distribuição do tamanho das partículas, agregação e misturas de fases resultantes.<sup>80</sup>

O método é o mais utilizado na obtenção de óxidos de ferro, que consiste na precipitação do óxido a partir de soluções aquosas de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em meio alcalino. A obtenção da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) pode ser descrita pela seguinte reação, Equação 1.



As sínteses são realizadas com pH da solução entre 8 e 14 juntamente com razão molar de 2:1 de  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ . Modificações das condições de síntese podem acarretar na formação de fases intermediárias como hidróxidos e/ou oxihidróxidos. Neste método, é comum observar durante o processo de obtenção da magnetita sua oxidação, devido a sua sensibilidade à presença de oxigênio, transformando-a em maguemita.<sup>27</sup>

A susceptibilidade à aglomeração e oxidação acarreta diminuição na dispersabilidade e estabilidade, limitando assim a utilização das nanopartículas obtidas pelo método da coprecipitação em aplicações tecnológicas e médicas. Com o intuito de atenuar esses problemas, estratégias de modificação das superfícies das nanopartículas pela inserção de materiais que promovem a sua estabilização e funcionalidade estão sendo utilizadas e desenvolvidas.<sup>91</sup> Esses materiais que promovem o revestimento das superfícies das nanopartículas evita a aglomeração e diminui a biodegradação quando expostas a sistemas biológicos, alargando o campo de aplicação biológica e tecnológica das nanopartículas.

A síntese via poliol permite o controle preciso sobre o tamanho, distribuição e cristalinidade das nanopartículas. O princípio desta técnica é a suspensão de um precursor em um poliol, tais como etileno glicol, dietileno glicol, tri-etileno-glicol, tetra-etileno-glicol e propileno glicol, seguida de agitação e aquecimento em diferentes temperaturas próximas ao ponto de ebulição do poliol.<sup>82</sup> O poliol serve neste processo como um agente de estabilização para controlar o crescimento das partículas e evitar a agregação de interpartículas devido ao seu comportamento de complexação.<sup>60</sup>

A síntese sonoquímica é caracterizada pelo uso de ondas de alta frequência, variando de quilo a mega-hertz, o que provoca formação de bolhas em líquidos, com nucleação, crescimento e coalescência rápida, que permite a conversão de sais de  $\text{Fe}^{2+}$  em partículas com magnetismo. Neste tipo de síntese, o uso de elevadas energias para excitação, pode conduzir a temperaturas muito elevadas em algumas áreas ( $> 5000 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e pressões ( $> 100 \text{ atm}$ ) em períodos curtos de tempo. Isto pode produzir fases metaestáveis de compostos como o ferro

puro em estado amorfo.<sup>92</sup> A técnica pode ser usada na produção de quantidades grandes de material, o que é de interesse de segmentos industriais, por ser um método relativamente simples que não necessita do uso de precursores gasosos ou tóxicos, permitindo a produção de nanopartículas com elevada pureza.<sup>83</sup>

A síntese hidrotérmica ocorre em altas temperaturas (em torno de 200 °C) em reatores ou autoclaves a elevadas pressões (> 100 atm). Uma característica deste método em relação ao tamanho da partícula, diz respeito ao controle efetivo das velocidades de crescimento e nucleação dos cristais, determinado por fatores como temperatura.<sup>83</sup> As nanopartículas sintetizadas por este método exibem cristalinidade elevada e alta magnetização. Outras características importantes na utilização desse método é a obtenção de partículas monodispersas, diminuição significativa de aglomeração entre as partículas, distribuição estreita do tamanho das partículas, homogeneidade e morfologia controlada.<sup>93</sup>

A síntese eletroquímica é basicamente interpretada pela passagem de uma corrente elétrica entre dois ou mais eletrodos (ânodo e cátodo) dentro de um eletrólito. Em reações eletroquímicas os produtos obtidos apresentam peculiaridades que não é possível obter a partir de uma síntese química. O produto é depositado sobre o eletrodo normalmente sob a forma de um revestimento ou de uma película fina.<sup>27</sup> Entre as vantagens que este método apresenta, pode-se citar o controle sobre o tamanho de partícula, ajustando a densidade de corrente imposta da eletro-oxidação (i) ou potencial (E) para o sistema. Além disso, se a síntese for realizada na presença de um agente tensoativo, é possível evitar a agregação de partículas.<sup>94</sup>

As microemulsões são sistemas coloidais, cuja característica principal é a dispersão de uma fase em outra. As microemulsões consistem em uma mistura de água, agente tensoativo ou substância anfifílica e óleo, formando um sistema ternário.<sup>95</sup> Os parâmetros neste processo, como o tipo de surfactante, a presença de agentes estabilizadores adicionais e a concentração dos reagentes são fatores que influenciam no tamanho final da partícula.<sup>49</sup> O método de microemulsão apresenta como vantagens a manipulação da forma e o tamanho de partículas, também são possíveis obter nanopartículas com distribuição de tamanho estreita, controlando a quantidade da mistura de óleo/água/surfactante.

As propriedades magnéticas e estruturais dependem da metodologia e dos parâmetros utilizados durante os processos de síntese citados anteriormente. As alterações durante os processos de síntese, como temperatura, concentração e reagentes afetam as propriedades dos óxidos metálicos e conseqüentemente, novas aplicações tecnológicas e biomédicas desse material poderão ser propostas.<sup>96</sup>

Nas últimas décadas, diversos estudos relatam a influência dos processos e parâmetros de síntese nas propriedades finais dos óxidos de ferro. Roth et al.<sup>76</sup> realizaram um estudo sobre o impacto dos parâmetros de síntese de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas pelo método da coprecipitação. As modificações das condições de síntese foram: variação da concentração de sais de ferro, temperatura de reação, proporção molar de íons hidróxidos em relação aos íons de ferro e proporção de  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ . Foram obtidas partículas com diâmetros entre 3 e 17 nm com magnetização de saturação entre 26-89  $emu \cdot g^{-1}$ . Os resultados obtidos mostraram que as propriedades magnéticas dos óxidos de ferro dependem fortemente da cristalinidade e do tamanho dos cristalitos e suas propriedades são influenciáveis pelos parâmetros de síntese. Neste mesmo sentido, Shahraki et al.<sup>97</sup> também utilizaram o método de coprecipitação na obtenção de nanopartículas superparamagnéticas de ferrita de zinco investigando os efeitos da temperatura de precipitação sobre as propriedades estruturais e magnéticas.

Abbas et al.<sup>98</sup> utilizando o método do poliol mostraram que as propriedades das nanopartículas podem ser eficientemente controladas modificando os parâmetros reacionais como temperatura de reação, tempo e taxa de precursor poliol/metálico. Em seus estudos foram utilizadas diferentes quantidades em massa de precursor poliol/metálico e temperatura. Foi observado diminuição do tamanho das partículas através do aumento da quantidade do poliol em relação ao precursor de ferro, fato explicado pelas fortes propriedades redutoras do poliol que inibem o crescimento das partículas. Zhang et al.<sup>99</sup> utilizaram também o método poliol com diferentes precursores e variações na temperatura e obtiveram nanopartículas que variaram entre 4,1 e 13,8 nm. Lungu et al.<sup>100</sup> sintetizaram partículas de ferrita de manganês ( $MnFe_2O_4$ ) pelos métodos de coprecipitação e hidrotérmico. Seus resultados mostraram que diferentes métodos de síntese de nanopartículas podem levar a diferentes propriedades magnéticas e elétricas.

Desta forma, justifica-se o intenso estudo sobre os métodos de obtenção de nanopartículas de óxido ferro, uma vez que, o controle do tamanho das nanopartículas, a agregação e a misturas de fases magnéticas refletem nas características morfológicas, estruturais e magnéticas, possibilitando que novos estudos nas variações das rotas sintéticas sejam realizados e novas aplicações podem ser sugeridas ou melhoradas, já que as aplicações dependem do tamanho e em muitos casos, somente uma pequena fração de partículas contribui para o efeito desejado.

### 3.2.2. Propriedade Magnética – O Superparamagnetismo

A maioria das nanopartículas de óxidos de ferro utilizadas em aplicações tecnológicas e biomédicas apresenta como principais características a biodegradabilidade, estabilidade, biocompatibilidade (ocasionada pela funcionalização), baixa toxicidade e comportamento superparamagnético. Em termos de aplicabilidade, o superparamagnetismo é uma das propriedades mais desejáveis para os materiais magnéticos.

Os materiais magnéticos são classificados pela sua resposta a presença de um campo magnético externo. As descrições das orientações dos momentos magnéticos ocasionados pela aplicação do campo magnético externo identificam diferentes formas do magnetismo observado na natureza. Cinco tipos básicos podem ser descritos: paramagnetismo, diamagnetismo, antiferromagnetismo, ferromagnetismo e ferrimagnetismo. Os principais óxidos de ferro apresentam comportamento ferromagnético (magnetita), ferrimagnético (magnetita e ferritas) e antiferromagnético (hematita).<sup>49</sup>

No entanto, o comportamento magnético das partículas é, em geral, fortemente dependente das suas dimensões. A redução de tamanho em materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos, que apresentam momentos magnéticos permanentes, tendem a formar regiões uniformemente magnetizadas, denominadas domínio, dando origem ao fenômeno de superparamagnetismo.<sup>101</sup> Essas propriedades únicas, obtidas por esses materiais através de uma drástica redução do tamanho despertaram o interesse da comunidade científica pelo grande potencial de aplicabilidade.<sup>102, 103</sup>

A diminuição das dimensões do material magnético para um tamanho crítico,  $D_c$ , ocasiona a diminuição da região de domínio e conseqüentemente a partícula se torna um domínio único. Nestas partículas de monodomínios, os momentos magnéticos estão alinhados em uma única direção, o que leva à formação de um momento magnético muito elevado, diferentemente das partículas ferromagnéticas ou ferrimagnéticas que apresentam direções distintas para cada domínio. Para essas partículas a coercividade, intensidade do campo magnético necessária para reduzir a magnetização deste material a zero, no intervalo de transição de tamanho alcança um valor máximo. Em partículas com tamanho  $D_c$  ou inferior, o momento magnético torna-se muito influenciado pela flutuação térmica. O efeito térmico, para essas partículas, é tão forte que desmagnetiza espontaneamente as partículas, resultando na reversão da magnetização, tornando sua coercividade igual à zero.<sup>101-104</sup>

As nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas (SPIONs) possuem propriedades magnéticas únicas que surgem devido à sua dimensão à escala nanométrica.

Uma partícula é considerada superparamagnética quando seu diâmetro for menor que 20 nm.<sup>105, 106</sup> Assim, SPIONs são cada vez mais utilizadas em aplicações médicas. O crescente interesse científico se dá principalmente pelos diâmetros apresentados pelas nanopartículas que as colocam em dimensões comparáveis às dos vírus (20-50 nm) e proteínas (5-50 nm), por não apresentarem magnetização remanescente na ausência de campos magnéticos externos e pela grande área superficial que pode ser modificada para serem anexadas a agentes biológicos.<sup>107</sup>

Em termos de aplicabilidade, como agente de contraste em ressonância magnética, as propriedades das nanopartículas superparamagnéticas encurtam drasticamente os tempos de relaxação  $T_2$ , spin-spin.<sup>106</sup> Em hipertermia, esses materiais absorvem muito mais potência em campos magnéticos e frequências fisiologicamente relevantes do que as partículas de multidomínio. O tamanho das partículas também irá impactar na capacidade de extravasar desde a corrente sanguínea até os tumores.<sup>8</sup> Utilizados como carreadores de fármacos podem ser conduzidos e retidos em locais específicos (órgão ou tecido) do corpo humano por meio da aplicação de um campo magnético externo.<sup>108, 109</sup>

### 3.2.3. Revestimento de Partículas de Óxido de Ferro

Apesar de existir inúmeros métodos de síntese de nanopartículas de óxido de ferro, o controle do tamanho, forma, estabilidade e dispersabilidade continuam sendo um grande desafio para os pesquisadores.<sup>54, 91, 110</sup> A tendência à aglomeração, devido às fortes atrações dipolo-dipolo magnético entre as partículas e a instabilidade de determinados óxidos de ferro como a magnetita, que oxida na presença de oxigênio, são alguns exemplos vistos como problemas indesejáveis para diversas aplicações. A modificação da superfície pode ser obtida empregando-se diversas moléculas biocompatíveis ou polímeros, entre as mais utilizadas destacam-se silanos organofuncionalizantes, polissacarídeos, ácidos carboxílicos, metais, sílica, aminoácidos, peptídios, etc.<sup>103, 110-112</sup>

A modificação da superfície de nanopartículas magnéticas tem sido proposta como estratégia para propiciar funcionalidade, evitar aglomeração, controlar a distribuição de tamanho, diminuir a biodegradação, reduzir a susceptibilidade à lixiviação e oxidação ao material exposto a sistemas biológicos.<sup>54, 65, 91, 103, 110-116</sup>

Quando o revestimento envolve a dispersão de materiais em escalas nanométricas em uma matriz polimérica, o material é denominado nanocompósito e geralmente apresenta uma estrutura do tipo núcleo-casca. Nanocompósitos tem sido objeto de intensa pesquisa, pois

estes podem apresentar novas propriedades devido às diferentes contribuições de cada um dos compostos em sua propriedade resultante, oferecendo assim, novas peculiaridades e consequentemente uma ampla gama de aplicações tecnológicas e biomédicas podem ser propostas.<sup>111</sup>

Em aplicações como liberação controlada de fármacos, a modificação proporciona melhoramento nas propriedades farmacocinéticas e na biodistribuição, uma vez que a dose da droga pode ser controlada para liberação lenta ao invés de entrar no sistema corporal rapidamente e ser excretada em pouco tempo. Neste contexto, Rudzka et al.<sup>117</sup> desenvolveram nanopartículas de maguemita revestidas com camadas sucessivas de sílica e ouro para entrega de agentes antitumorais. O nanocompósito apresentou tamanho médio de 200 nm, com revestimento de ouro rústico, quase contínuo, a amostra mostrou-se biocompatível, estável em solução aquosa, com alta taxa de adsorção do fármaco antitumoral, doxorubicina em aproximadamente  $80 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ . O sistema de entrega da droga foi capaz de libertar cerca de 90% da doxorubicina previamente adsorvida.

Sumar et al.<sup>118</sup> com o mesmo intuito sintetizaram nanopartículas de magnetita revestida com 3-aminopropil trietoxisilano (APTES) sendo promissoras para aplicações de distribuição de drogas curcumina com capacidade de liberação de 80% em 48 h. No estudo de liberação de outro fármaco, paclitaxel, Tran et al.<sup>119</sup> também utilizaram nanopartículas de óxidos de ferro conjugadas com ácido oleico e albumina do soro bovino (BSA) sob condições *in vitro*. As amostras apresentaram alta eficiência de encapsulamento do fármaco, aproximadamente 93%, com liberação brusca do fármaco na fase inicial, seguida por uma liberação mais lenta e contínua. Esse resultado oferece vantagens na obtenção de altas concentrações do fármaco no tecido alvo.

Tietze et al.<sup>109</sup> utilizaram nanopartículas superparamagnéticas revestidas com ácido láurico para distribuição do agente quimioterapêutico mitoxantrona. Foram investigados os parâmetros físicos e químicos das nanopartículas e investigações *in vivo* sobre a eficiência terapêutica e biodistribuição assistida por imagem. As nanopartículas funcionalizadas apresentaram tamanhos adequados para aplicação, 80-120 nm, estabilidade térmica ao serem submetidas a procedimentos de esterilização e diminuição da aglomeração devido à presença do ácido láurico. O fármaco, ligado à nanopartícula foi transportado via segmentação magnética apresentando resultados consideráveis. Neste estudo, com uma única aplicação em doses baixas foi possível induzir a remissão completa do tumor em cerca de 25% dos animais tratados, sem efeitos secundários locais. Esse tipo de transporte, quando comparado à injeção intravenosa apresenta maior eficácia, pois evita problemas indesejáveis como a retenção das

nanopartículas no fígado e no baço.

Em tratamentos de hipertermia, por exemplo, partículas magnéticas podem ser rapidamente revestidas por componentes da circulação, como as proteínas do plasma e conseqüentemente acarretar na fagocitose. A funcionalização de nanopartículas pode proporcionar compatibilidade e seletividade às células tumorais e conseqüentemente aumentar a eficácia do tratamento.<sup>111, 115, 120</sup>

Jiang et al.<sup>73</sup> desenvolveram nanopartículas de magnetita recobertas com ácido fólico para o tratamento do câncer por hipertermia. As células de rápida proliferação, células cancerosas, são altamente dependentes de um abundante suprimento de folato reduzido (5,6,7,8-THF), forma funcional principal do ácido fólico.<sup>121</sup> No presente estudo, as nanopartículas magnéticas foram sintetizadas pelo método da coprecipitação seguida por modificação da superfície com carboximetil-dextrano (CMD) com o intuito de formar um grupo terminal de carboximetilo, então o N-(2-aminoetil) ácido fólico (EDA-FA) foi conjugado com o grupo carboximetilo funcional, resultando em nanopartículas conjugadas com ácido fólico. Desta forma, a vantagem da utilização do ácido fólico no recobrimento das nanopartículas reside no fato de que células normais rejeitam severamente receptores de folato, proporcionando uma seletividade elevada para distinguir as células tumorais de células normais, e conseqüentemente, aumento efetivo da terapia.

Shete et al.<sup>122</sup> encapsularam nanopartículas superparamagnéticas de magnetita em quitosana. Com o revestimento, as nanopartículas apresentaram menor grau de aglomeração, maior dispersabilidade e baixa citotoxicidade. As nanopartículas revestidas apresentaram melhores valores de taxa de absorção específica (SAR) comparadas com a magnetita sem revestimento,  $118,85 \text{ W}\cdot\text{g}^{-1}$  e  $79,32 \text{ W}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente. Diversos estudos relatam resultados promissores do uso da quitosana para recobrimento de nanopartículas magnéticas no tratamento por hipertermia.<sup>111, 123-125</sup>

As propriedades específicas das nanopartículas podem ser modificadas através da aplicação de diferentes materiais de revestimento de suas superfícies, podendo ser adaptadas para cada aplicabilidade pretendida. As nanopartículas magnéticas, devido seu comportamento superparamagnético, suficiente magnetização de saturação, relativo controle do tamanho e superfícies que permitem a interação com drogas ou com analitos, torna-as promissoras para aplicações tecnológicas e biomédicas.

### 3.3. Emboloterapia

A embolização intravascular é um procedimento cirúrgico minimamente invasivo utilizado em tratamento de tumores, aneurismas, contenção de hemorragias e malformações arteriovenosas.<sup>126, 127</sup> É um procedimento que consiste na oclusão de vasos sanguíneos através da injeção de agentes embólicos, materiais capazes de obstruir mecanicamente a corrente sanguínea que circula na região de interesse, via cateter angiográfico.<sup>9, 10</sup>

Os agentes embólicos podem ser divididos em duas categorias: temporários e permanentes. Os agentes temporários obstruem o fluxo de sangue, mas, em seguida, dissolvem ou são eliminados pelo sistema imune dentro de um determinado período de tempo, geralmente cerca de 2 a 6 semanas. Agentes permanentes proporcionam obstrução irreversível dos vasos sanguíneos que irrigam a área lesionada. Os agentes embolizantes permanentes podem ser divididos em três classes: sólidos, particulados e líquidos.<sup>124</sup>

Com intuito de promover a oclusão arterial seletiva, diferentes produtos têm sido propostos como materiais úteis à embolização, destacando-se, as molas metálicas,<sup>128</sup> a borracha de silicone,<sup>25</sup> gelatina trisacrílica,<sup>129</sup> as partículas de poli(álcool vinílico),<sup>14</sup> os ésteres iodados derivados de ácidos graxos,<sup>130</sup> a gelatina absorvível, os copolímeros de etileno / álcool vinílico dissolvidos em dimetilformamida, o n-butil cianoacrilato (NBCA),<sup>16, 131</sup> o poli(metacrilato de metila),<sup>11</sup> poliestireno,<sup>132</sup> o poli(acetato de vinila)/poli(álcool vinílico) com morfologia casca-núcleo,<sup>126</sup> o etanol,<sup>24</sup> entre outros.

O sucesso do procedimento cirúrgico depende fundamentalmente da compatibilidade do agente embolizante com o tecido; das características morfológicas, que merece atenção especial em relação à compatibilidade entre o tamanho das partículas e o diâmetro dos cateteres e dos vasos sanguíneos, uma vez que a incompatibilidade entre tais dimensões pode ocasionar problemas durante o procedimento, bem como estabilidade térmica do material ao ser submetido a procedimentos de esterilização.<sup>14-17</sup>

Atualmente, há um número considerável de publicações que reportam o sucesso de procedimentos de embolização em inúmeras áreas médicas apresentando resultados satisfatórios: arterial uterina no tratamento do mioma uterino,<sup>11, 133</sup> das artérias hepáticas para tratamento de tumores no pâncreas com metástases no fígado,<sup>134</sup> das artérias renais para tratamento de angiomiolipoma renal,<sup>135</sup> tratamento de meningiomas,<sup>136</sup> tratamento de hemorragias, sangramentos gastrointestinais, tratamento de aneurismas arteriais<sup>137</sup> e malformações arteriovenosas,<sup>24, 138</sup> etc.

A respeito do grande uso de alguns agentes embolizantes destacados anteriormente, é

preciso levar em consideração diversos efeitos indesejados observados após o procedimento de embolização vascular. Por exemplo: *i*) agentes embolizantes sólidos como as partículas de poli(álcool vinílico) favorecem a recanalização do leito vascular tratado, graças a sua acentuada biodegradabilidade; já as partículas de gelatina possuem inabilidade de obstruir vasos sanguíneos de pequeno calibre, o que torna sua aplicação ineficaz; *ii*) agentes embolizantes líquidos como etanol e sais derivados de ácidos graxos conduzem a coagulação da proteína do plasma sanguíneo; enquanto os ésteres iodados derivados de ácidos graxos podem ser lixiviados dos vasos sanguíneos que irrigam a região tumoral contribuindo para recanalização.<sup>139-153</sup> Em relação aos efeitos dos embolizantes, podemos classificá-los de diversos modos, como o nível de oclusão, tipo de agente e mecanismo entre outros, como exemplifica a Tabela 1.

**Tabela 1:** Tipos de agentes embólicos, suas principais características, aplicações, vantagens e desvantagens.

<b>Tipo de agente</b>	<b>Material</b>	<b>Principais Características</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Vantagens e Desvantagens</b>	<b>Referências</b>
<b>Temporários</b>	Agente de autotransplante	Tamanho da nanopartícula de 2-30 mm.	Interromper fluxo sanguíneo.	Barato, oferece risco de recanalização e decomposição.	139, 140
	Esponja de gelatina reabsorvíveis (gelfoam®)	Esponja gelatinosa não tóxica, embalada em duas formas: em pó (40-60 mm) ou compressa em folha ou bloco.	Controle temporário de vasos, usado em traumas.	Administrável como pó ou pasta. Pode ocorrer embolização distal (longe do sítio) com isquemia (supressão de circulação sanguínea). Recanalização em tempo curto (4-6 semanas).	139, 140
<b>Permanentes</b>					
<b>Sólidos</b>	Serpentinas	Consistem em fragmentos de fio de aço inox ou platina em diversos tamanhos e formas ao qual são adicionadas fibras de lã (Dracon).	Aneurisma, oclusão completa de grandes vasos.	Há diversos tipos, deve-se escolher o mais adequado, barato e de fácil uso. Formação de vasos colaterais.	139-142
	Plugues	Fabricado com uma malha de arame de nitinol muito fina.	Oclusão completa do vaso com pouco produto.	Normalmente usado com serpentina e partículas para gerar trombose. Deve-se saber o tamanho adequado.	139, 140
	Balões	Minúsculos balões adaptados na ponta de um microcatéter.	Oclusão Hainfeld permanente de vasos grandes.	Pouco usado por conta da disponibilidade de serpentinas e plugues.	139, 140

Tabela 1: Continuação ....

Tipo de agente	Material	Principais Características	Aplicação	Vantagens e Desvantagens	Referências
<b>Particulados</b>	Poli(álcool vinílico) (PVA)	Fabricado e embalado em vários tamanhos e formas. As partículas esféricas apresentam diâmetro entre 150 – 1000 µm.	Oclusão simples ou múltipla de pequenos vasos, usado em tumores.	Variedade de tamanhos: deve-se evitar a oclusão de cateter ou embolização de outros locais. Ocorrem modificações na morfologia por conta da calcificação no organismo.	139, 140, 143, 144, 146
	Microesferas compressíveis	Microesfera com base em PVA recoberta com hidrogel, compressível e elástico.	Usada em embolização uterina, quimioembolização transarterial para oclusão de vasos pequenos.	Mais caro que PVA, verificação de tamanho é importante. Tem uma penetração melhor que o PVA por conta da não agregação e superfície hidrofílica e elasticidade. Pode comprimir até 33% para facilitar a passagem através de vários microcateteres.	145, 147-149
<b>Líquidos</b>	Trombina Beriplast®	Injeção constituída de trombina humana liofilizada (400 UI·mL <sup>-1</sup> a 600 UI·mL <sup>-1</sup> ) reconstituída em solução de CaCl <sub>2</sub> .	Para pseudoaneurismas, serpentinas saturadas antes de coagulação.	Deve-se evitar refluxo ao injetar e provoca embolização distal.	140, 146
	Álcool desidratado (etanol)		Desvascularização de carcinomas renais antes de cirurgias, tratamento de más formações vasculares. Oclui a nível capilar. Provoca morte celular por desnaturação.	Deve-se evitar refluxo e vazamentos. Doloroso, requer anestesia. Ocasiona lesão tissular devido à desnaturação das proteínas celulares da parede da artéria ou vaso.	140, 146, 150, 151

**Tabela 1:** Continuação ....

<b>Tipo de agente</b>	<b>Material</b>	<b>Principais Características</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Vantagens e Desvantagens</b>	<b>Referências</b>
	Tetradecilsulfato de sódio (sotradecol)	Solução estéril, não pirogênica.	Ocluso de varicosidades superficiais, má formação vascular.	Injetável como espuma, menos agressivo que álcool para os tecidos adjacentes.	140, 146
	Colas líquidas	Cola cirúrgica sintética a base de NBCA, modificada pela adição de um monômero (metacrilosisolfolano).	Tratamento de má formação venosa-arterial, varizes gástricas. NBCA (“cola”): é um adesivo para feridas pequenas e tem sido usado no tratamento de lesões vasculares periféricas.	Deve-se evitar que o cateter entupa com cola, injeção rápida e cuidadosa.	140, 146, 150
	Ônyx	Líquido composto por um copolímero (EVOH), um solvente (DMSO) e tântalo micronizado, que juntos formam um polímero que se precipita em contato com o sangue, resultando em uma massa esponjosa capaz de se moldar ao aneurisma.	Tratamento de má formação venosa-arterial, varizes gástricas.	Deve-se injetar lentamente: é seguro em contato com material enxertado.	140, 152-154

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novos materiais embolizantes com ação permanente que apresentam características combinadas de agentes embólicos líquidos e sólidos, caracterizado por conter em sua composição nanopartículas magnéticas nanoestruturadas dispersas homoganeamente em matriz polimérica,<sup>23-25</sup> tem despertado o interesse da comunidade científica pelo grande potencial de aplicação médica no tratamento de tumores vasculares. O grande interesse desses novos agentes embólicos se deve às suas características fundamentais para aplicação como, não toxicidade, não-antigenicidade, estabilidade e radiopacidade (propriedade de obstruir a energia radiante, como raios X). O grande diferencial desses novos materiais embolizantes está na combinação de um material polimérico que apresente boa flexibilidade, tenacidade e elasticidade<sup>17, 25, 30, 155-159</sup> na presença de material magnético, conferindo ao agente embólico a capacidade de tratamento por hipertermia, monitoramento preciso da biodistribuição dos nanocompósitos por todo o tecido e liberação controlada de fármacos.

Oerlemans et al.<sup>157</sup> desenvolveram microesferas de alginato reticulado com diferentes lantanídeos ou  $\text{Fe}^{3+}$  de tamanho uniforme e baixa toxicidade devido a pequena concentração de lantanídeos dentro da microesfera. As microesferas mostraram resultados promissores como agente emboloterápicos guiados por imagem, permitindo assim acompanhar precisamente a biodistribuição das microesferas por todo o tecido.

Smolkova et al.<sup>25</sup> desenvolveram nanopartículas de maguemita revestidas com silicone com capacidade de embolização, alta eficiência de aquecimento em campos magnéticos alternados (hipertermia) e propriedade radiopaque. Foi investigado o impacto da concentração relativa de reagentes iniciais, a viscosidade inicial e final do nanocompósito e os resultados sugeriram eficiência no que tange ao transporte via cateter até a região do tumor e a oclusão dos vasos sanguíneos. Desta forma, o uso de silicone no recobrimento de nanopartículas é promissor para embolização devido sua a viscosidade e taxa de cura definido pela sua composição. A utilização de hipertermia associada à embolização se deu pela presença da maguemita no compósito.

Chen et al.<sup>30</sup> prepararam nanopartículas superparamagnéticas modificadas com *o*-carboximetilquitosana (OCMCs) seguida da reticulação de proteínas de fusão SP5.2/FTt (SP5.2: um peptídeo que se liga a VEGFR-1; tTF: fator de tecido cortado) a superfície modificada das nanopartículas. Com o nanocompósito obtido realizou a investigação da atividade de coagulação do sangue, os efeitos de segmentação e da capacidade de serem guiadas ou localizadas em um alvo específico por campos

magnéticos externos. As nanopartículas modificadas apresentaram morfologia esférica ou elipsoidal com um diâmetro médio de 10-20 nm, magnetização de saturação de 66,1 emu·g<sup>-1</sup> com propriedades superparamagnéticas à temperatura ambiente. Os resultados indicaram que as proteínas presentes no compósito são capazes de se ligar as células alvo, receptores VEGFR-1. Em testes *in vitro* e *in vivo*, o nanocompósito foi capaz de promover à coagulação sanguínea, induzindo a oclusão do vaso e conseqüentemente, resultando necrose dos tecidos próximos ao local da oclusão.

Ferreira et al.<sup>17</sup> desenvolveram partículas magnéticas com base em poli(álcool vinílico) (PVA)/poli(acetato de vinila) (PVAc) com morfologia do tipo casca-núcleo. O nanocompósito foi obtido *in situ* através da reação de poliadição do acetato de vinila na presença de nanopartículas superparamagnéticas com superfície modificada com ácido oleico (a fim de aumentar a compatibilidade química com o monômero acetato de vinila) e subsequente hidrólise parcial de poli(acetato de vinila), obtendo-se partículas esféricas de PVA/PVAc/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. A espessura da camada de PVA foi controlada por condições de reação: temperatura, tempo de hidrólise e concentração de alcóxido. Segundo a abordagem proposta, o nanocompósito apresentou estabilidade térmica adequada para embolização vascular. O arranjo estrutural proposto, tipo casca-núcleo, caracterizado pela combinação de um núcleo sólido de PVAc puro e casca compressível de PVA, apresenta potencialidade como agente embólico devido as boas características morfológicas. A morfologia regular desempenha um papel fundamental na oclusão de um vaso sanguíneo adequado na proximidade de uma região tumoral, interrompendo o fornecimento de nutrientes para a área lesionada. Como vantagem adicional, o material embólico magnético obtido pode ser utilizado com sucesso para o tratamento de hipertermia da área lesionada em combinação com a tarefa de oclusão.

A utilização desses novos materiais nanoestruturados com propriedades e desempenhos superiores aos de materiais convencionais, apresentam alto potencial para aplicação em embolização vascular. Devido a combinação das propriedades dos polímeros termoplásticos e dos compostos magnéticos, esses novos materiais permitem ampla aplicação conjunta de técnicas como hipertermia, além da utilização para liberação de fármacos e monitoramento por imagem.

### **3.4. Hipertermia**

A hipertermia é uma terapia complementar no tratamento de câncer e de outras

doenças tumorais. É um procedimento terapêutico em que os tecidos são aquecidos acima dos limites fisiológicos normais. A elevação da temperatura, de 42 °C até aproximadamente 46 °C, apresenta como finalidade a eliminação de células tumorais sem afetar os tecidos normais circundantes.<sup>12</sup> O tratamento por hipertermia não afeta as células normais devido à sua maior resistividade térmica, ou seja, à sua excelente capacidade de dissipação de calor. Conseqüentemente, o tratamento conduz a termoablação das células cancerosas que são mais frágeis e suscetíveis ao superaquecimento.<sup>12, 73</sup>

Apesar de ser uma técnica promissora, o tratamento por hipertermia apresenta algumas limitações. A problemática que impede a aplicação clínica da hipertermia tem sido a dificuldade em atingir tumores mais profundos. A utilização de temperaturas mais elevadas para alcançar esses tumores pode afetar o tecido ao redor por absorção e espalhamento, limitando assim, esta abordagem para tumores superficiais ou diretamente acessíveis.<sup>160</sup> O uso de diferentes fontes de energia como micro-ondas, radiofrequência, laser, ultrassom, entre outros tem sido proposto com a finalidade de superar esses obstáculos, bem como avaliar a eficácia do tratamento.<sup>8</sup>

Diante dessas limitações, na década de 1950, Gilchrist et al.<sup>161</sup> propuseram a utilização de materiais magnéticos no tratamento por hipertermia. As propriedades magnéticas e estruturais despertaram o interesse da comunidade científica, fazendo desses materiais candidatos promissores para a aplicação em hipertermia.<sup>8, 12, 27, 28, 48, 49, 73</sup> O intenso estudo voltado a hipertermia magnética se deve há um grande número de fatores que influenciam a eficiência do aquecimento de um conjunto de nanopartículas magnéticas. Esses fatores incluem as propriedades físicas e magnéticas das partículas, bem como a magnitude e frequência do campo magnético aplicado.<sup>8, 12, 72, 160</sup>

As nanopartículas magnéticas, devido ao tamanho nanométrico, podem ser conduzidas e retidas em locais específicos (órgão ou tecido) do corpo humano por meio da aplicação de um campo magnético externo de baixa frequência (isto é, 100 kHz a 900 kHz).<sup>162</sup> No mesmo âmbito, ao serem sujeitas a campos magnéticos alternados, podem gerar calor (conversão de energia magnética em energia térmica) por diferentes mecanismos físicos e a eficiência da conversão depende fortemente da natureza das partículas, tais como do tamanho e formato das partículas, da anisotropia cristalina e do grau de aglomeração e da viscosidade do meio. Assim, as partículas transformam energia magnética em calor por alguns mecanismos de perdas magnéticas, como correntes de Foucault e por histerese, e por efeitos de relaxamento. As correntes de

Foucault são regidas pela lei da indução eletromagnética, ou seja, origina uma força eletromotriz em um meio com campo magnético variável, sendo significativas em materiais maiores do que 1  $\mu\text{m}$ .<sup>8, 111</sup> As perdas por histerese ocorrem quando é necessária energia para reorientar os domínios de partículas magnéticas durante cada ciclo do campo magnético aplicado, sendo característico em materiais ferromagnéticos. Existem dois mecanismos associados aos efeitos de relaxamento, o relaxamento Browniano que está relacionado às partículas magneticamente bloqueadas e suas rotações em relação ao meio circundante e o relaxamento de Néel, que se refere à oscilação do momento da partícula entre dois estados magnéticos, sendo observado apenas em partículas superparamagnéticas.<sup>163</sup> A propriedade superparamagnética confere a esses materiais maior potência de absorção em campos magnéticos e frequências fisiologicamente relevantes do que as partículas de multidomínio.<sup>8</sup>

Neste sentido, Doaga et al.<sup>72</sup> sintetizaram nanopartículas de  $\text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}\text{Fe}_2\text{O}_4$  pelo método da coprecipitação em meio alcalino com  $x$  variando entre 0 e 1, com a finalidade de identificar a influência da microestrutura e propriedades magnéticas sobre a taxa de absorção específica. As partículas obtidas apresentaram dimensões nanométricas variando entre 8,9 a 18,2 nm e comportamento superparamagnético. Foram observadas aglomerações das nanopartículas e a não uniformidade morfológica, encontrando-se partículas poliédricas ou quase esféricas de tamanho heterogêneo.

O presente trabalho verificou a dependência da fórmula química, distribuição de cátions, o tamanho médio de grão das partículas, a força e frequência do campo magnético aplicado nos valores da taxa de absorção específica (SAR). O diâmetro médio e o valor da taxa de absorção específica exibem uma dependência, sendo que a amostra  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  com tamanho de 19,0 nm apresentou um valor máximo de absorção específica de  $148,4 \text{ W}\cdot\text{g}^{-1}$  com intensidade do campo magnético aplicado de  $4500 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$ . Na frequência de 1,95 MHz e campo de  $2300 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$  foi observado uma taxa de absorção específica maior para  $x = 0,8$  do que para  $x = 1$ . Apesar das duas amostras apresentarem momentos magnéticos e o tamanho médio das partículas comparáveis, o resultado sugere que a amostra  $\text{Mn}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4$  possui uma maior constante de anisotropia magnética.<sup>72</sup>

Cano et al.<sup>164</sup> sintetizaram nanopartículas de óxido de ferro revestidas com ácido oleico pelo método de decomposição térmica de  $\text{Fe}^{2+}$  e deslocaram o ácido com uma camada de (3-aminopropil)trietoxissilano (APTES) através de uma reação de troca de ligantes. A camada de aminosilano confere hidrofiliabilidade e estabilidade estrutural às

partículas, além de propiciar grupos reativos na superfície os quais permitem a incorporação de polietilenoglicol (PEG), favorecendo a estabilidade coloidal das partículas. Os resultados obtidos por MET indicaram que as nanopartículas são monodispersas e apresentam formato esférico. Além disso, a inserção do PEG melhorou significativamente a estabilidade coloidal das nanopartículas que podem ser armazenadas durante meses sem ocorrer sedimentação. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando-se as células HepG2 (célula carcinoma hepatocelular) e os resultados mostraram que as nanopartículas apresentam comportamento semelhante ao observado nas células de controle, sendo não citotóxicas mesmo em concentrações elevadas ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). As nanopartículas apresentaram elevados valores de tempos de relaxação transversal em ambientes com campo magnético elevado, 9,4 T, e com campo baixo, 1,5 T, sendo estes valores juntamente com a relaxividade transversal de 17,08 ms e  $98,74 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  e de 14,20 ms e  $121,56 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente. Dessa maneira, as nanopartículas apresentam elevado potencial de aplicação em hipertermia, visto suas boas propriedades magnéticas, térmicas, estabilidade estrutural e coloidal, biocompatibilidade e não citotoxicidade.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Rotas sintéticas

#### 4.1.1. Reagentes e Equipamentos

Os reagentes utilizados no desenvolvimento da parte experimental foram de grau analítico (P.A.) e sem tratamento prévio. A Tabela 2 relaciona os reagentes e sua procedência e a Tabela 3 lista os equipamentos utilizados para as sínteses e caracterizações.

**Tabela 2:** Fórmulas moleculares, grau de pureza/teor e fabricantes dos reagentes utilizados nas sínteses.

Reagentes	Fórmula molecular	Grau de pureza/teor (%)	Laboratório responsável
2,2'-Azobis(2-metilpropilnitrila)	$[(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{CN})]_2$	98	Sigma Aldrich
Acetona	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	99,5	Vetec
Ácido acrílico	$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$	99	Neon
Ácido clorídrico	HCl	36,5 – 38	Synth
Ácido fórmico	$\text{CH}_2\text{O}_2$	85	Dinâmica
Ácido oleico	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	99	Synth
Bicarbonato de sódio	$\text{NaHCO}_3$	99,7	Vetec
Bissulfito de sódio	$\text{NaHSO}_3$	99	B'Herzog
Cloreto férrico hexahidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	97	Vetec
Cloreto ferroso tetra hidratado	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	99	Vetec
Dodecil sulfato de sódio	$\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$	90	Reagen
Éter etílico	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$	98	Dinâmica
Hidróxido de sódio	NaOH	99	Vetec
Hidroquinona	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	99	Vetec
n-hexadecano	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$	99	Sigma–Aldrich
Nitrogênio	$\text{N}_2$	99,5	White Martins
Peróxido de benzoíla	$(\text{C}_6\text{H}_5\text{CO})_2\text{O}_2$	75	Sigma–Aldrich
Peróxido de hidrogênio	$\text{H}_2\text{O}_2$	35	Dinâmica
Persulfato de potássio	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	99	Vetec
Pivalato de vinila	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$	99	Sigma–Aldrich
Sulfato de sódio anidro	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	99	Dinâmica
Tolueno	$\text{C}_7\text{H}_8$	99,5	Dinâmica

**Tabela 3:** Marca e modelo dos equipamentos utilizados.

<b>Equipamento</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>	<b>Instituição</b>
Agitador mecânico	IKA	Eurostar Power Control	UnB
Analizador termogravimétrico	Shimadzu	DTG-60H	UnB
Banho Termostatizado	Tecnal	TE-181	UnB
Calorímetro Exploratório Diferencial	Shimadzu	DSC-60	UnB
Cromatógrafo de Permeação em Gel	Malvern	VISCOTEK GPCmax	UnB
Difratômetro de Raios X	Rigaku Bruker D8-FOCUS	Geigerflex	UnB
Desruptor ultrassônico/homogenizador	SONICS Vibra-Cell	VCX 750	UnB
Espectrômetro de ressonância magnética nuclear	Varian Mercury Plus M300 MHz	Varian Instruments	UnB
Espectrofotômetro de Infravermelho	PerkinElmer	Spectrum Frontier	UEG
Espectrômetro de Mössbauer	Weiss	-	UnB
Espectrofotômetro Raman	In Via Raman	Renishaw	UnB
Magnetômetro de amostra vibrante	ADE Magnetcs	EV 7	UnB
Microscópio Eletrônico de Transmissão	JEOL	JSM-2100	UFG
Placa de aquecimento e agitação	Go-Stirrer	MS-H-RRO	UnB
Rota- evaporador	Gehaka	RD-180	UnB
Espalhamento de luz dinâmico	Malvern	Nano ZS	UnB

#### 4.1.2. Procedimentos de Síntese

Neste trabalho foram planejadas as seguintes rotas sintéticas: *i*) obtenção do ácido oleico acrilado através da reação de epoxidação seguida da reação de incorporação do ácido acrílico ao ácido oleico epoxidado; *ii*) obtenção de nanopartículas magnéticas de magnetita; *iii*) modificação das nanopartículas magnéticas com ácido oleico acrilado; *iv*) obtenção do poli(pivalato de vinila) e obtenção de nanocompósitos magnetopolimérico a base de poli(pivalato de vinila) e magnetita.

#### 4.1.2.1. Reação de Epoxidação do Ácido Oleico

O ácido oleico epoxidado (AOE) foi obtido através da reação do ácido graxo com ácido fórmico na presença de peróxido de hidrogênio respeitando a razão molar de 2:20:1 de ácido fórmico: peróxido de hidrogênio: ácido oleico.<sup>165</sup> A síntese foi realizada na presença de tolueno com a finalidade de minimizar a abertura do anel. A abertura do anel ocorre na presença de um nucleófilo, como a água, em meio ácido e a inserção de um solvente orgânico no meio reacional permite que o produto epoxidado se encontre na fase orgânica evitando a abertura do anel. Em um balão tritubulado de 500 mL mantido sob refluxo, agitação vigorosa e temperatura ambiente foram adicionados 15 g de ácido oleico, 90 mL de tolueno e 4,8 mL de ácido fórmico. Ao sistema, foi adicionado gota-a-gota peróxido de hidrogênio. Ao término da adição, a temperatura foi elevada a 80 °C, permanecendo sob agitação constante e refluxo durante 2 h e 30 min. Posteriormente, o aquecimento foi desligado e adicionado ao sistema 50 mL de bissulfito de sódio 10%, permanecendo sob agitação por 15 min. A mistura foi transferida para um funil de adição, descartando-se a fase aquosa e em seguida feita a lavagem da fase orgânica com água destilada. A fase orgânica foi purificada com sulfato de sódio anidro para eliminação de água residual e levada ao rota-evaporador para remoção do solvente.

#### 4.1.2.2. Reação de Incorporação do Ácido Acrílico ao Ácido Oleico Epoxidado

A abertura do anel oxirânico foi feita através da reação do ácido oleico epoxidado com ácido acrílico na presença de hidroquinona.<sup>44</sup> Cerca de 3 mg de hidroquinona para cada 5 g de ácido acrílico foi utilizada para inibição da polimerização dos grupos acrilato. A reação foi conduzida a 100 °C por 6 horas sob refluxo e agitação magnética vigorosa, mantendo-se uma razão mássica entre o ácido acrílico e o ácido oleico epoxidado de 1:2. Após o término da reação, a solução foi transferida para um balão de adição, tratada com solução de éter etílico, para separação da fase orgânica e aquosa, e então lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, para remoção dos resíduos, até a solução atingir pH neutro. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro para remoção de água residual, filtrada e posteriormente levada ao rota-evaporador para remoção do éter etílico.

#### 4.1.2.3. Síntese de Nanopartículas Magnéticas

As nanopartículas magnéticas foram obtidas pelo método da coprecipitação. Em 500 mL de H<sub>2</sub>O destilada foi adicionado 2 mL de uma solução de HCl 10% e 0,03 mols de íons metálicos Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> na proporção estequiométrica de 1:2 em mols, utilizando os sais de cloreto férrico hexahidratado (FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O) e cloreto ferroso tetra hidratado (FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O). A mistura foi aquecida até 70 °C sob agitação constante de 500 rpm e em atmosfera de N<sub>2</sub> por 30 minutos. Em seguida, foi adicionado o agente precipitante, NaOH com concentração de 5 mol·L<sup>-1</sup> até a solução atingir um pH de aproximadamente 12. Após a precipitação, a suspensão permaneceu em processo de agitação, temperatura de 70 °C e borbulhamento de N<sub>2</sub> por 30 min. O precipitado foi então lavado com água destilada e decantado, com auxílio de um ímã, até atingir pH neutro. Para análise as amostras foram secas por liofilização.

#### 4.1.2.4. Modificação das Nanopartículas Magnéticas com Ácido Oleico Acrilado

As nanopartículas magnéticas obtidas no procedimento descrito no item 4.1.2.3 foram suspensas em 170 mL de água e então submetidas à agitação mecânica, aquecimento a 85 °C e borbulhamento de N<sub>2</sub>. Em seguida, 2,5 mL de ácido oleico acrilado foram adicionados, por gotejamento, a uma taxa máxima de 0,5 mL·min<sup>-1</sup>. Após 30 minutos da adição do ácido oleico acrilado, as nanopartículas foram lavadas com água destilada (até pH neutro) e tratadas com acetona para remoção do material de recobrimento livre. Após remoção do excesso de acetona, as nanopartículas foram dispersas no monômero pivalato de vinila, seguido de borbulhamento com nitrogênio. Para as análises o material obtido foi deixado à temperatura ambiente para evaporação dos traços do solvente.

#### 4.1.2.5. Síntese do Poli(pivalato de vinila) - PPVi

Em um reator encamisado de 150 mL foi realizada a homogeneização a 60 °C por 10 min da fase orgânica composta por pivalato de vinila e n-hexadecano. Separadamente, a fase aquosa constituída de água destilada e dodecil sulfato de sódio (SLS) foi preparada em um béquer sob agitação por 10 min a 60 °C. Decorridos 10 min,

foi adicionado no reator a fase aquosa e então mantido em agitação rigorosa de 1000 rpm e temperatura de 60 °C, por um período de 1 h. Decorrido 1 h, a emulsão foi homogeneizada com auxílio de um dispersor ultrassônico durante 4 minutos com 70% de amplitude em banho de gelo.

Em seguida, foi preparada uma solução contendo iniciador hidrossolúvel, persulfato de potássio (KPS) em 10 mL de água, deixando sob agitação até completa dissolução do KPS e em seguida rapidamente aquecida até aproximadamente 60 °C. A polimerização foi realizada em um reator de 150 mL permanecendo por um período de 4 h sob agitação constante com banho termostático integrado em uma temperatura determinada (70 ou 85 °C).

Nas reações em que foram utilizados iniciador organossolúvel, peróxido de benzoíla - PBO e 2,2'-Azobis(2-metilpropionitrila) - AIBN, a temperatura de homogeneização utilizada foi de 10 °C, sendo este adicionado à fase orgânica e permanecendo nesta temperatura durante o processo de agitação pelo tempo de 1 h.

As formulações gerais para as sínteses das nanopartículas poliméricas de PPVi, sendo analisados os seguintes parâmetros reacionais: temperatura, tipo de iniciador e quantidade de coestabilizador, são apresentadas na Tabela 4. Cada polimerização foi realizada em triplicata.

**Tabela 4:** Formulações das polimerizações de poli(pivalato de vinila) em miniemulsão.

Ensaio	Temp. (°C)*	Água (g)	SLS (g)	PVi (g)	Hexadecano (g)	KPS (g)	PBO (g)	AIBN (g)
PPVi – 01	70	60	0,22	8,5	0,25	0,04	-	-
PPVi – 02	70	60	0,22	8,5	0,50	0,04	-	-
PPVi – 03	70	60	0,22	8,5	0,25	-	0,04	-
PPVi – 04	70	60	0,22	8,5	0,50	-	0,04	-
PPVi – 05	70	60	0,22	8,5	0,25	-	-	0,04
PPVi – 06	70	60	0,22	8,5	0,50	-	-	0,04
PPVi – 07	85	60	0,25	8,5	0,25	0,02	-	-
PPVi – 08	85	60	0,25	8,5	0,50	0,02	-	-
PPVi – 09	85	60	0,25	8,5	0,25	-	0,02	-
PPVi – 10	85	60	0,25	8,5	0,50	-	0,02	-
PPVi – 11	85	60	0,25	8,5	0,25	-	-	0,02
PPVi – 12	85	60	0,25	8,5	0,50	-	-	0,02

\*Temperatura da reação de polimerização.

#### **4.1.2.6. Encapsulamento das nanopartículas magnéticas por poli(pivalato de vinila) via polimerização em miniemulsão *in situ* (PPVi/OM-AOA).**

Em um béquer, foi realizado a homogeneização da fase constituída por 8,5 g de pivalato de vinila, 0,25 g n-hexadecano e nanopartículas magnéticas modificadas com ácido oleico acrilado (5,0 %, 10,0 % ou 20,0 % em peso em relação ao teor de pivalato de vinila) com auxílio de um dispersor ultrassônico durante 2 minutos com pulsos de 10s ON/5s OFF e 40% de amplitude. Após homogeneização, foi adicionado 0,04 g de 2,2'-Azobis(2-metilpropilnitrila) (AIBN), deixando sob agitação até completa dissolução do AIBN. Separadamente, uma fase aquosa constituída de 60 mL de água destilada e 0,22 g de dodecil sulfato de sódio (SLS) foi preparada em um béquer sob agitação constante por 10 min. Decorridos 10 min, foram adicionados no reator as duas soluções e então mantidas em agitação rigorosa de 1000 rpm e temperatura de 10 °C, por mais 10 min. A emulsão foi então homogeneizada através do dispersor ultrassônico, durante 4 minutos com 70% de amplitude em banho de gelo.

A polimerização foi realizada em um reator de 150 mL, permanecendo por um período de 1 h sob agitação constante de 300 rpm com banho termostático integrado na temperatura de 70 °C e aumento gradativo até temperatura de 85 °C.

#### **4.1.3. Técnicas de Caracterização**

As amostras obtidas foram caracterizadas através das técnicas de espectroscopia de absorção na região do infravermelho médio (FTIR); ressonância magnética nuclear (<sup>1</sup>H-RMN); análises térmicas: termogravimetria (TGA/DTG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC); espectroscopia de Mössbauer; difratometria de raios X (DRX); medidas de magnetização; espectroscopia Raman; cromatografia de permeação em gel; microscopia eletrônica de transmissão e espalhamento de luz dinâmico. Foram determinados a conversão polimérica e o número de partículas das amostras de poli(pivalato de vinila) e dos nanocompósitos.

##### **4.1.3.1. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho**

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrômetro Spectrum Frontier (Perkin Elmer), com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, realizando 16 varreduras, por

amostra. As amostras foram dispersas em KBr e prensadas na forma de pastilhas obtendo-se espectros no intervalo correspondente à região do infravermelho médio (4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ ). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise Instrumental do Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo (CCET) da Universidade Estadual de Goiás – UEG.

#### **4.1.3.2. Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de  $^1\text{H}$ -RMN foram gerados pelo equipamento de RMN (Varian Mercury Plus M300 MHz, Varian Instruments) equipado com uma sonda de 54 mm, operando a 300 MHz. As amostras, cerca de 10-15 mg, foram preparadas com clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília – UnB.

#### **4.1.3.3. Análises Térmicas**

##### **4.1.3.3.1. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial**

As análises termogravimétricas (TG/DTG e DTA) foram realizadas utilizando o equipamento Shimadzu modelo DTG – 60H. Para essa análise foram utilizados aproximadamente 10 mg de amostra contidos em um porta-amostra de platina, com intervalo de temperatura entre 25 °C até 800 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C·min<sup>-1</sup>, operando em atmosfera de  $\text{N}_2$  com vazão de 30 mL·min<sup>-1</sup>. Para os nanocompósitos as análises foram realizadas em atmosfera oxidativa. As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da UnB.

##### **4.1.3.3.2. Calorimetria Diferencial de Varredura**

As curvas de DSC foram obtidas utilizando um equipamento da Shimadzu Scientific Instruments (modelo DSC-60). As massas iniciais usadas foram de aproximadamente 5,0 mg. Para análise, foram realizadas duas rampas de aquecimento, utilizando a mesma faixa de temperatura de -30 a 150 °C, com rampa de temperatura de 10 °C·min<sup>-1</sup> e fluxo de  $\text{N}_2$  de 30 mL·min<sup>-1</sup>. A segunda rampa de aquecimento foi

utilizada para determinar a temperatura de transição vítrea do material. As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da UnB.

#### **4.1.3.4. Espectroscopia de Mössbauer**

Os espectros de Mössbauer foram registrados no modo de transmissão, estando em aceleração constante. O espectrômetro Weiss utilizado é constituído de uma fonte de radiação  $^{57}\text{Co}$  em matriz de Ródio (Rh) calibrado com uma folha fina de  $\alpha\text{-Fe}$ . As medidas foram efetuadas à temperatura ambiente (25 °C) e à temperatura nitrogênio líquido (-196 °C). As análises foram realizadas no Laboratório de Ciências de Materiais do Instituto de Física da UnB.

#### **4.1.3.5. Difração de Raios X**

Os difratogramas de raios X (DRX) foram obtidos usando um equipamento Bruker modelo D8-FOCUS, com radiação  $\text{CuK}\alpha = 1,54184 \text{ \AA}$  e as condições de operação foram de 40 kV e 30 mA no intervalo de  $20^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$  com velocidade de  $0,5^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ , com dados medidos a cada  $0,01^\circ$ . As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da UnB.

#### **4.1.3.6. Medidas de Magnetização**

As medidas de magnetização foram obtidas através de um magnetômetro de amostra vibrante (VSM), Quantum Design PPMS da ADE magnetics modelo EV 7, com campo magnético de -10 à +10 (kOe), à temperatura ambiente. As análises foram realizadas no Laboratório de Magnetometria e Magnetotransporte do Instituto Física da Universidade Federal de Goiás – UFG.

#### **4.1.3.7. Espectroscopia Raman**

Os espectros Raman foram obtidos em um equipamento Renishaw inVia Raman equipado com câmera CCD com sistema Peltier de arrefecimento e acoplado a um microscópio Leica. Os espectros foram excitados pela linha 632,8 nm de um laser de

He/Ne e focalizada sobre a amostra utilizando objetiva Leica x50. A potência do laser sobre a amostra foi ajustada para evitar a decomposição da amostra. As análises foram realizadas no Laboratório de Materiais e Combustíveis do Instituto de Química da UnB.

#### **4.1.3.8. Cromatografia de Permeação em Gel**

Para a determinação das massas moleculares foi utilizado um cromatógrafo, marca Malvern, modelo Viscotek GPCmax, equipado com injetor automático, detector de índice de refração e um conjunto de três colunas (KF805L, KF804L e KF802,5), utilizando THF como fase móvel, a temperatura de 40 °C, com vazão volumétrica de 1 mL·min<sup>-1</sup>. As massas molares e as distribuições de massa molar foram obtidas a partir da curva de calibração utilizando padrões de poliestireno, com dispersão de massa molar próximo de um, e que englobam a faixa de 1,0 kg·mol<sup>-1</sup> a 4000 kg·mol<sup>-1</sup>. Antes da injeção, as soluções previamente preparadas (2 mg de amostra/ 2 mL de THF) foram filtradas em membranas de acetato de celulose de tamanho de poro 0,45 µm. As análises foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da UnB.

#### **4.1.3.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão**

As micrografias eletrônicas de transmissão (MET) foram obtidas utilizando um microscópio modelo JEOL JEM-2100 operado a 200 kV. As amostras observadas foram previamente dispersas em álcool isopropílico (nanopartículas magnéticas) ou em água (PPVi e nanocompósitos) e sonicadas durante 15 min, onde uma gota da suspensão foi aplicada sobre uma tela de cobre contendo uma película de carbono suportada de 200 mesh e seca à temperatura ambiente. As micrografias foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução do Instituto de Física da UFG.

#### **4.1.3.10. Espalhamento de Luz Dinâmico**

A medida do tamanho de partícula foi realizada utilizando o equipamento Malvern Zetasizer-NanoSeries (Modelo NANO ZS) operando com laser de He-Ne,  $\lambda = 633$  nm e a detecção pelo ângulo de 173°. Para a análise realizou-se a dispersão direta de 2 gotas de látex em aproximadamente 3 mL de água à temperatura ambiente, transferida para uma cubeta de poliestireno. As análises foram realizadas no Laboratório

de Biofísica Molecular do Instituto de Biologia da UnB.

#### 4.1.3.11. Conversão por Análise Gravimétrica

A conversão polimérica foi obtida através de dados gravimétricos. Alíquotas do látex foram coletadas ao longo da reação em cápsulas de papel alumínio previamente pesadas, tratadas com 5 gotas de hidroquinona ( $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), para interrupção da polimerização, e secas em uma estufa a temperatura de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  por aproximadamente 48 h. A conversão foi obtida através da razão entre a massa do polímero presente no reator e a massa do monômero alimentada, conforme a Equação 2. Para determinação da massa do polímero deve-se subtrair a massa de hidroquinona adicionada e a fração de espécies não-poliméricas (iniciador, surfactante e coestabilizador).

$$\bar{X}_p = \frac{M_p}{M_a \cdot \varphi_{org}} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde:  $\bar{X}_p$  é a conversão,  $M_p$  é a massa do polímero,  $M_a$  é a massa da amostra e  $\varphi_{org}$  é a fração de fase orgânica.

#### 4.1.3.12. Número de Partículas

O número de gotas e partículas por grama de látex ( $N_p$ ) foi calculado a partir do diâmetro médio das partículas e da conversão obtida por gravimetria, calculado através das Equações 3 a 5:

$$N_p = \left( \frac{V_{pT}}{V_{p1}} \right) / M_{RT} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$V_p = \frac{4}{3} \pi \left( \frac{D_p}{2} \right)^3 \quad (\text{Eq. 4})$$

$$V_{pT} = \frac{M_M}{\rho_M} + \frac{M_p}{\rho_p} + \frac{M_{co}}{\rho_{co}} = \frac{(1-\bar{X}_p)M_M}{\rho_M} + \frac{(\bar{X}_p \cdot M_M)}{\rho_p} + \frac{M_{co}}{\rho_{co}} \quad (\text{Eq. 5})$$

onde:  $N_p$  é o número de partículas,  $V_{pT}$  é o volume total de partículas,  $V_{p1}$  é o volume de

uma partícula,  $M_{RT}$  é a massa do meio reacional,  $D_p$  é o diâmetro médio da partícula,  $M_M$ ,  $M_p$ ,  $M_{CO}$  são as massas do monômero, polímero e coestabilizador, respectivamente,  $\rho_M$ ,  $\rho_p$ ,  $\rho_{CO}$  são as densidades do monômero, polímero e coestabilizador e  $\bar{X}_p$  é a conversão.

## 4.2. Ensaio de viabilidade celular

Para os ensaios *in vitro* foram utilizadas as linhagens tumorais murinas de carcinoma mamário (4T1, ATCC<sup>®</sup> CRL-2539<sup>TM</sup>) transfectadas com a enzima luciferase (4T1-luciferase ou 4T1-luc) e melanoma (B16F10) e as células de fibroblasto embrionário murinas (NIH-3T3, ATCC<sup>®</sup> CRL-1658<sup>TM</sup>) e queratinócitos humanos HaCat. As linhagens foram obtidas por meio do banco de células do Rio de Janeiro e mantidas em cultura no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biologia, IB, da Universidade de Brasília, UnB.

### 4.2.1. Manutenção das células e ensaios de citotoxicidade *in vitro*

As linhagens celulares citadas no item 4.2 foram cultivadas em meio de cultura DMEM (*Eagle Modificado por Dulbecco*), tamponadas com bicarbonato de sódio e suplementadas com 10% de soro fetal bovino (SFB) e antibiótico (100 UI·mL<sup>-1</sup> penicilina e 100 µg·mL<sup>-1</sup> streptomina) a 1% e mantidas em pH 7,2. As células foram mantidas em frascos de cultura celular em uma incubadora à temperatura de 37 °C, em atmosfera de 95% de ar umidificado e CO<sub>2</sub> a 5%. Os experimentos foram realizados com a célula na fase logarítmica de crescimento.

Para a quantificação de células viáveis foi utilizado o método do princípio de exclusão de Azul Trypan, onde 40 µL de solução do corante Azul Trypan (corante incapaz de penetrar em célula com a membrana plasmática intacta) foram adicionadas em 10 µL da suspensão celular. Por conseguinte, 10 µL desta suspensão foram adicionadas em um hemocítmetro de Neubauer. A concentração de células foi determinada segundo a contagem dos quadrantes laterais e por meio da Equação 6:

$$\text{Número de células } mL^{-1} = \frac{\text{número de células contadas} \times 10^4}{\text{número de quadrantes contados}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Para a execução dos experimentos após a quantificação, as células foram transferidas para microplacas de cultura de acordo com o experimento a ser executado.

A viabilidade celular foi avaliada após exposição das células anteriormente citadas em amostras de poli(pivalato de vinila), PPVi-11, e do nanocompósito constituído de nanopartículas magnética e poli(pivalato de vinila), PPVi/OM-AOA 20%. Os ensaios foram realizados no tempo de 24 h e nas concentrações das amostras de PPVi-11 e PPVi/OM-AOA 20% de  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Para realização do ensaio de citotoxicidade *in vitro* com as amostras PPVi-11 e PPVi/OM-AOA 20%, as linhagens celulares B16F10, 4T1-luciferase, NIH/3T3 e HaCat foram semeadas em placas de 96 poços na concentração, respectivamente, de  $2\cdot 10^3$ ,  $3\cdot 10^3$ ,  $5\cdot 10^3$  e  $3\cdot 10^3$  de células por poço com meio DMEM. Após 24 h, o meio de cultura inicial foi substituído por 200  $\mu\text{L}$  de meio de cultura contendo diferentes concentrações ( $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) das amostras de PPVi-11 e PPVi/OM-AOA 20%.

A determinação da viabilidade celular foi realizada por meio do método colorimétrico redutor de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio), MTT. O método utilizado avalia a citotoxicidade através da colorimetria no qual se quantifica a redução do reagente MTT, coloração amarela, em um composto conhecido como formazan, E,Z- 1-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan, de coloração azul. A mudança colorimétrica é decorrente da ação de desidrogenases mitocondriais, presentes apenas em células metabolicamente viáveis, que clivam o anel tetrazólio resultando na formação de cristais formazan. A quantificação foi realizada por espectrofotometria, utilizando o comprimento de onda de 595 nm. Os resultados foram obtidos com uma média de três experimentos independentes em triplicata.

#### 4.2.2. Análise Estatística

As análises dos ensaios biológicos das amostras de PPVi-11 e PPVi/OM-AOA 20% foram realizadas em triplicata, obtendo-se a média e o desvio padrão da média. Os dados foram coletados e tratados, e a análise estatística foi realizada pelo *software* GraphPad Prism 5.0, considerando o nível de significância  $p < 0,05$ . A avaliação para as

possíveis diferenças significativas foi realizada através de testes paramétricos, sendo utilizada a análise da variância (ANOVA), seguido pelos testes estatísticos Bonferroni e Tukey para todos os experimentos.

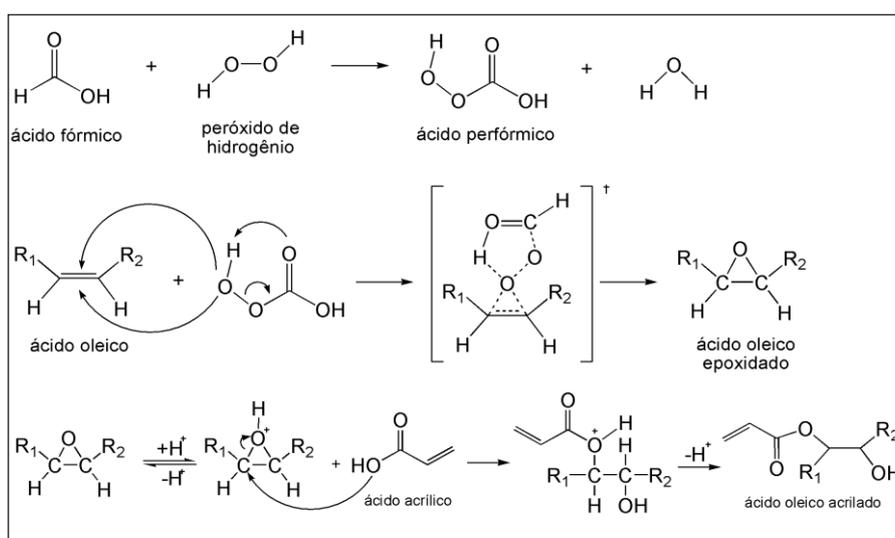
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Partes dos resultados e discussões foram publicadas no seguinte artigo:

W. S. Neto, G. V. S. Dutra, A. T. Jensen, O. A. Araújo, V. Garg, A. C. de Oliveira, L. F. Valadares, F. G. de Souza Jr., F. Machado. *Superparamagnetic nanoparticles stabilized with free-radical polymerizable oleic acid-based coating*, **Journal of Alloys and Compounds**, 2018; 739: 1025-1036.

### 5.1. Formação do Ácido Oleico Acrilado (AOA)

O ácido oleico apresenta em sua estrutura uma instauração entre os carbonos 9 e 10. A alta reatividade dessa instauração permite a introdução de grupos funcionais, destacando-se a inserção de um anel oxirânico através do processo de epoxidação. O processo de epoxidação ocorre pela reação entre um perácido, formado *in situ* pela reação de um ácido carboxílico com peróxido de hidrogênio, com os carbonos insaturados do ácido graxo. Para a reação, o ácido carboxílico utilizado foi o ácido fórmico, escolhido por dispensar o uso de catalisadores e minimizar a formação de produtos laterais, como dióis.<sup>165</sup> A incorporação do grupo funcional, ácido acrílico, foi realizada através da abertura no anel oxirânico na presença de hidroquinona. Este inibidor minimiza reações indesejáveis, tais como homopolimerização do ácido acrílico.<sup>44, 166</sup> O esquema da reação de epoxidação seguida da acrilação do ácido oleico é apresentado na Figura 4.

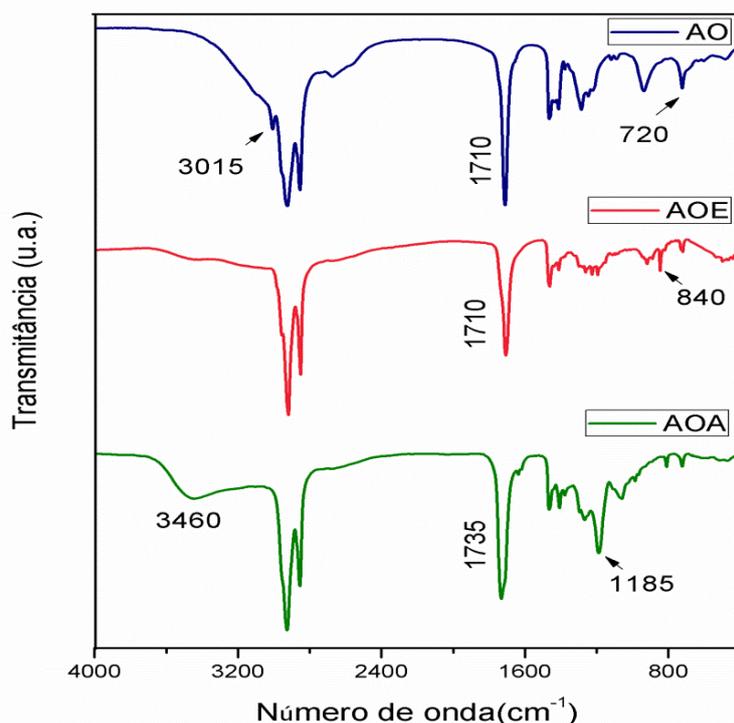


**Figura 4:** Representação da reação de epoxidação e acrilação do ácido oleico. Adaptado de Medeiros et al.<sup>167</sup>.

A Figura 5 apresenta os espectros vibracionais na região do infravermelho (FTIR) do ácido oleico (AO) e seus derivados, ácido oleico epoxidado (AOE) e ácido oleico acrilado (AOA). O espectro do AO apresenta bandas de absorção em  $3.015\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento C-H  $sp^2$ , evidenciando a presença da dupla ligação. As bandas de absorção em  $2.934$  e  $2.840\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico C-H de cadeias alifáticas.<sup>165, 167</sup> Os espectros FTIR apresentam deslocamento da banda atribuída ao estiramento C=O para uma região de frequência mais baixa, localizada em  $1.710\text{ cm}^{-1}$ , indicativo da formação de dímeros de ácidos graxos, referentes à existência de ligações de hidrogênio.<sup>165</sup> A absorção em  $1.457\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento das ligações C=C. Devido à cadeia alifática e longa do ácido oleico e seus derivados, os espectros apresentam bandas de absorção características em  $1.460$  e  $720\text{ cm}^{-1}$  que são atribuídas à deformação angular de grupos metileno e deformação angular de cadeia (movimento de rocking), respectivamente.<sup>168</sup>

No espectro da amostra AOE, aparecem as mesmas absorções observadas para o AO, com algumas considerações. A ausência de absorção em  $3.015\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento C-H  $sp^2$ , sugere que a ligação dupla foi desfeita. A confirmação da formação do anel oxirânico na amostra AOE é evidenciada pelo aparecimento de bandas de absorção nas regiões de  $820$  e  $840\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao modo de deformação angular simétrico e assimétrico do anel.<sup>165, 167</sup> No espectro AOA, a banda de absorção na região de  $3.460\text{ cm}^{-1}$  indica o surgimento de mais grupos OH devido à acrilação do AOE, como mostra a Figura 4. Observa-se um processo de deslocamento da banda atribuída ao estiramento C=O da região de  $1.710$  para  $1.735\text{ cm}^{-1}$ , indicando a formação de uma nova espécie de grupo carboxílico pela incorporação do ácido acrílico. Por outro lado, ainda é possível observar um ombro de baixa intensidade na região de  $1.710\text{ cm}^{-1}$ , correspondente a carbonila do grupo carboxílico do ácido oleico.<sup>165</sup>

Em relação à amostra de AOA as bandas de absorções em  $1.735$  e  $1.185\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas, respectivamente, à conjugação do estiramento C=O com estiramento C=C  $\alpha,\beta$  e ao estiramento C-O de éster,<sup>168</sup> confirmando a incorporação do ácido acrílico no ácido oleico epoxidado. Além disso, as bandas em  $1.616$  e  $1.637\text{ cm}^{-1}$  são característicos do grupo acrílico e são atribuídos ao estiramento C=C dos confôrmeros *cis* e *trans*, respectivamente.<sup>167</sup> As principais absorções relativas às amostras AO, AOE e AOA estão presentes na Tabela 5.



**Figura 5:** Espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras AO, AOE e AOA, obtidos em pastilha de KBr.

**Tabela 5:** Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras AO, AOE e AOA e suas atribuições vibracionais.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )			Atribuições vibracionais
AO	AOE	AOA	
3.400 – 2.400	3.400 – 2.400	3.460	Vibrações de estiramento O-H
3.015	---	---	Estiramento C-H sp <sup>2</sup>
2.934 e 2.840	2.930 e 2.840	2.925 e 2.850	Deformação axial de C-H sp <sup>3</sup>
1.710	1.710	1.710	Estiramento C=O de ácido carboxílico
---	---	1.735	Conjugação do estiramento C=O com C=C $\alpha,\beta$
---	---	1.616 e 1.637	Estiramento C=C dos confômeros <i>cis</i> e <i>trans</i>
1.460	1.460	1.460	Deformação angular de grupos metileno
1.400	1.400	1.400	Deformação C-H no plano
1.285 e 1.245	1.285	1.295, 1.268, 1.185 e 1.060	Estiramento C-O de ácido carboxílico Estiramento C-O de éster
---	---	985	Deformação angular fora do plano RCH=CH <sub>2</sub>
930	920	---	Deformação angular fora do plano de O-H
---	820 e 840	---	Deformação C-O-C do anel epóxido
---	---	810	Deformação angular fora do plano C-H
720	720	720	Movimento de rock (cadeias alifáticas)

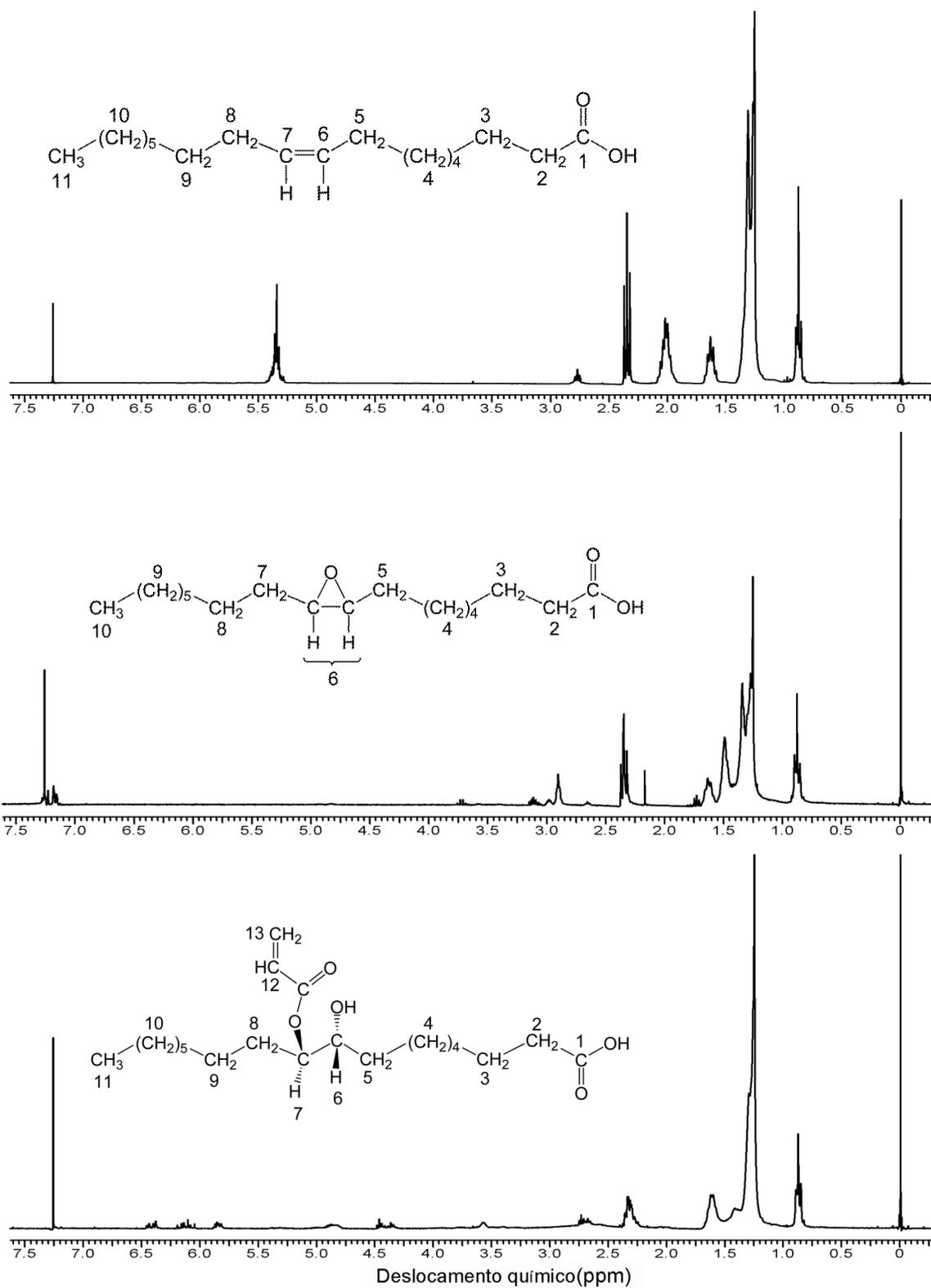
A Figura 6 apresenta os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  obtidos para as amostras AO, AOE e AOA. A etapa de epoxidação do ácido oleico foi confirmada pelo surgimento de um sinal em 2,92 ppm característico de prótons epoxidílicos e consequente desaparecimento dos sinais de ressonância de prótons olefínicos (5,3 ppm) presentes na cadeia do AO.<sup>44, 165, 167</sup> A obtenção do ácido oleico acrilado como produto majoritário envolveu a abertura do anel oxirânico com a formação do grupo hidroxila (OH) e a inserção do grupo acrilato que são evidenciados pelo surgimento de picos entre  $\delta = 5,80 - 6,41$  ppm, referentes aos três hidrogênios do grupo acrílico ligado a cadeia do ácido oleico<sup>167, 169</sup> e ao sinal com o deslocamento químico em 3,58 ppm atribuído a hidrogênios metino (HC) localizados na posição  $\alpha$  dos grupos -OH (-CH-OH).<sup>170</sup> No entanto, a presença de impurezas, ácido linoleico, na amostra do AO, é confirmada pelo sinal em  $\delta = 2,76$  ppm, indicativo de prótons vicinais a dois grupos C=C, os espectros de AOE e AOA apresentam sinais correspondentes a epoxidação e acrilação do ácido linoleico. Os sinais em 1,73 ppm e entre 3,01-3,10 ppm no espectro do AOE são característicos de grupos  $-\text{CH}_2$  adjacentes a dois grupos epóxidos e aos prótons epoxidílicos, respectivamente. O sinal em 2,72 ppm no espectro da amostra AOA é característico de grupos  $-\text{CH}_2$  adjacentes a um grupo acrílico e outro grupo hidroxila.

As respectivas atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios marcados nas estruturas apresentadas na Figura 6 são apresentadas abaixo:

**AO:**  $^1\text{H-RMN (CDCl}_3) \rightarrow$  ppm: 0.88 (3H, H<sub>11</sub>), 1.26 (10H, H<sub>10</sub>), 1.31 (10H, H<sub>9,4</sub>), 1.63 (2H, H<sub>3</sub>), 2.02 (4H, H<sub>8,5</sub>), 2.35 (2H, H<sub>2</sub>), 5.34 (2H, H<sub>7,6</sub>).

**AOE:**  $^1\text{H-RMN (CDCl}_3) \rightarrow$  ppm: 0.88 (3H, H<sub>10</sub>), 1.27-1.29 (10H, H<sub>9</sub>), 1.35 (10H, H<sub>8,4</sub>), 1.51 (4H, H<sub>7,5</sub>), 2.92 (2H, H<sub>6</sub>), 1.65 (2H, H<sub>3</sub>), 2.36 (2H, H<sub>2</sub>).

**AOA:**  $^1\text{H-RMN (CDCl}_3) \rightarrow$  ppm: 0.88 (3H, H<sub>11</sub>), 1.26 (10H, H<sub>10</sub>), 1.30 (10H, H<sub>9,4</sub>), 1.42 (2H, H<sub>3</sub>), 1.61 (4H, H<sub>8,5</sub>), 2.32 (2H, H<sub>2</sub>), 3.58 (1H, H<sub>6</sub>), 4.87 (1H, H<sub>7</sub>), 6.13 (1H, H<sub>12</sub>), 5.86 e 6.42 (2H, H<sub>13</sub>).



**Figura 6:** Espectros RMN de  $^1\text{H}$  do (a) AO, (b) AOE e (c) AOA.

## 5.2. Revestimento das Nanopartículas Magnéticas

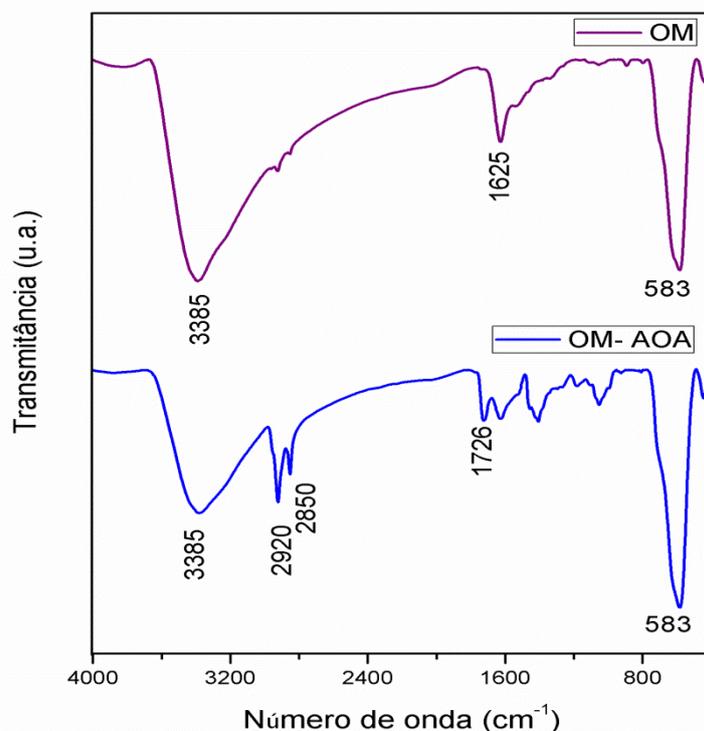
A Figura 7 apresenta os espectros FTIR das nanopartículas magnéticas sem revestimento (OM) e das nanopartículas revestidas com ácido oleico acrilado (OM-AOA). As atribuições vibracionais das principais bandas de absorção destas amostras estão localizadas na Tabela 6. O espectro da amostra OM apresenta uma banda de absorção larga em  $3.385\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento O-H de grupos na superfície do óxido e de água de cristalização. A absorção em  $1.625\text{ cm}^{-1}$  corresponde à deformação angular –OH de grupos hidroxilados na superfície do óxido metálico. As absorções em  $583\text{ cm}^{-1}$  e em  $440\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento Fe-O de sítios tetraédricos e octaédricos, respectivamente, evidenciando a presença predominante de magnetita.<sup>171</sup>

No espectro da amostra OM-AOA, além das absorções características do OM, observam-se bandas de absorção atribuídas à presença de ácido oleico acrilado. A banda de absorção larga em  $3.385\text{ cm}^{-1}$  também é atribuída ao estiramento O-H do grupo funcional álcool presente no material de revestimento. As bandas localizadas em  $2.920$  e  $2.850\text{ cm}^{-1}$  correspondem as vibrações de estiramento C-H  $sp^3$ .<sup>167</sup> A banda de absorção em  $1.726\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento C=O proveniente do ácido acrílico. As bandas em  $1.524$  e  $1.403\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico de carboxilato ( $\text{COO}^-$ ),<sup>172</sup> sugerindo que as interações entre o material orgânico com as superfícies das nanopartículas magnéticas ocorrem no grupo ácido carboxílico, devido à ausência de estiramento C=O observado na forma de um ombro em  $1.710\text{ cm}^{-1}$  para a amostra AOA pura, como mostrado na Figura 5.

A diferença do número de onda ( $\Delta\nu = \nu_a - \nu_s$ ) entre as bandas associadas aos modos de estiramento assimétrico e simétrico dos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ) pode distinguir os diferentes tipos de coordenação pelos quais os carboxilatos estão ligados covalentemente aos metais da superfície (Figura 8).<sup>173</sup> Os maiores valores de  $\Delta\nu$  ( $200\text{-}320\text{ cm}^{-1}$ ) correspondem à interação monodentada, valores médios ( $140\text{-}190\text{ cm}^{-1}$ ) correspondem à interação bidentada e valores menores que  $110\text{ cm}^{-1}$  à coordenação do tipo bidentada em ponte.<sup>174</sup> Neste trabalho, o valor de  $\Delta\nu$  igual a  $121\text{ cm}^{-1}$  indicam a predominância de coordenações bidentadas e em ponte.

Os óxidos de ferro apresentam espectros de FTIR bem estabelecidos, podendo ser utilizados para distinguir as fases cristalinas presentes na amostra. Nos espectros, observa-se a ausência das bandas associadas à presença de goetita, bandas em  $1.124$ ,  $890$  e  $810\text{ cm}^{-1}$ , e hematita, com bandas localizadas em  $540$  e  $470\text{ cm}^{-1}$ . A fase

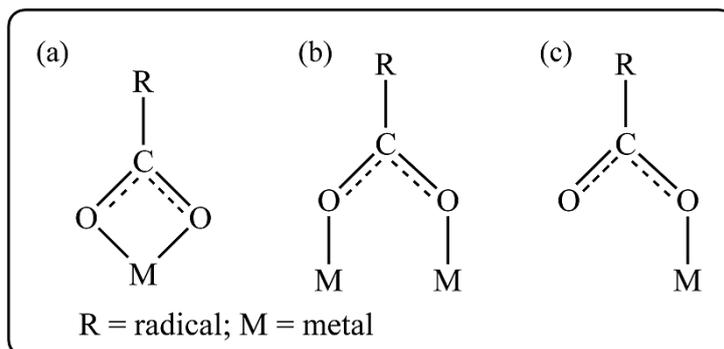
maguemitita apresenta bandas de absorção em 700, 660-630 e 620  $\text{cm}^{-1}$ . O alargamento da banda localizada em 583  $\text{cm}^{-1}$  evidencia, portanto, um processo inicial de oxidação de magnetita para maguemitita.<sup>175</sup>



**Figura 7:** Espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras OM e OM-AOA obtidos em pastilha de KBr.

**Tabela 6:** Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras OM e OM-AOA e suas atribuições vibracionais.

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Atribuições vibracionais
OM	OM-AOA	
3.385	3.385	Vibrações de estiramento O-H
---	2.920 e 2.850	Estiramento assimétrico e simétrico de C-H $\text{sp}^3$
---	1.726	Estiramento C=O de éster
1.630	1.625	Deformação angular -OH de moléculas de água
---	1.403	Deformação C-H no plano
---	1.179 e 1.048	Estiramento simétrico $\text{COO}^-$
583 e 444	583 e 440	Estiramento Fe-O dos sítios tetraédricos e octaédricos



**Figura 8:** Tipos de coordenação do íon carboxilato: (a) bidentado (b) ponte e (c) monodentado.

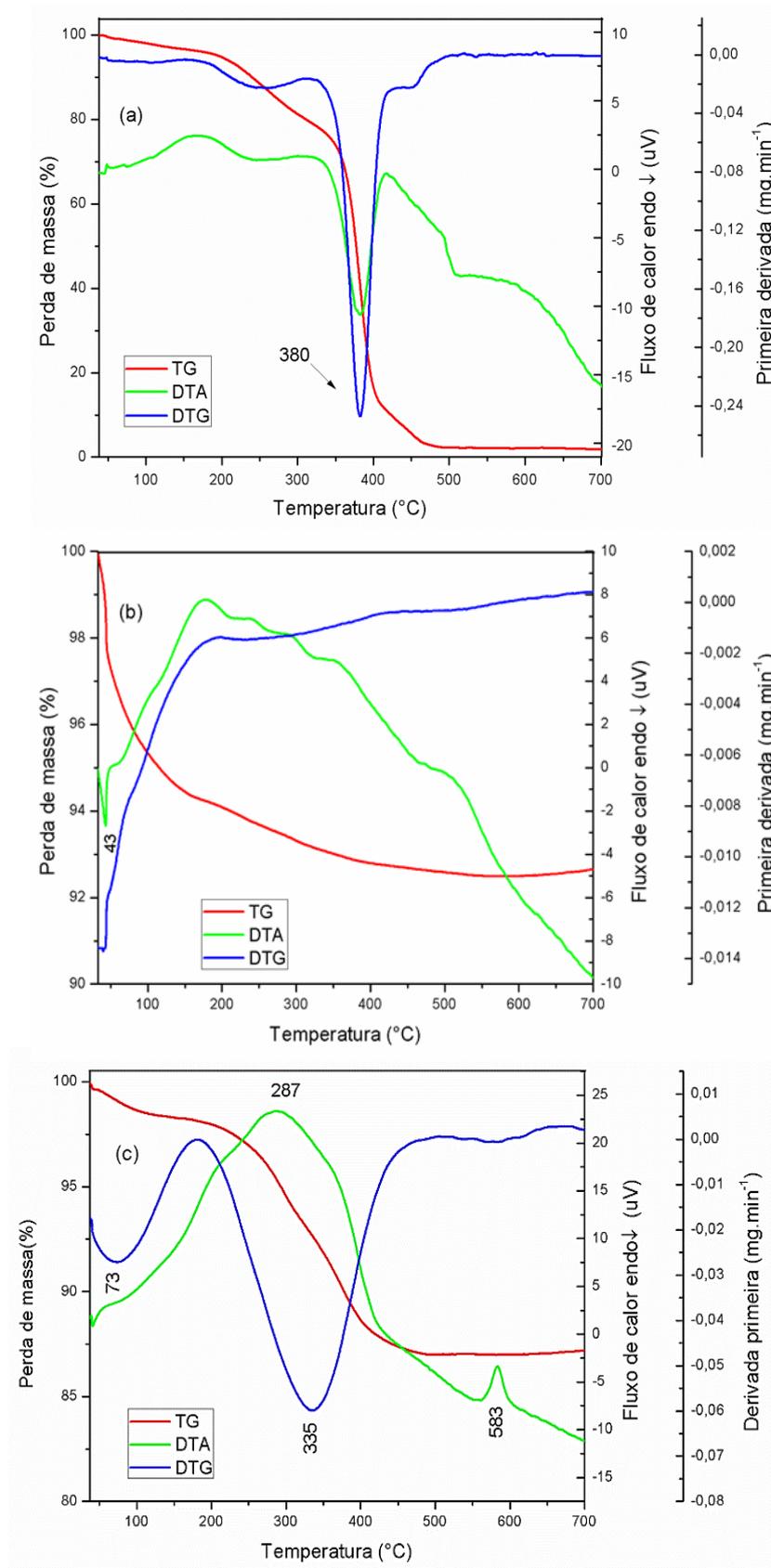
A Figura 9 mostra as curvas TG, DTG e DTA das amostras (a) AOA, (b) OM e (c) OM-AOA. A curva termogravimétrica da amostra AOA apresenta duas etapas de perda de massa. O primeiro evento térmico na faixa de temperatura de 175 a 310 °C, com 16,7% de perda de massa, corresponde à liberação do grupo acrílico ligado à cadeia do ácido oleico. Na segunda etapa de perda de massa ocorrem duas reações que se sobrepõem, uma de 340 a 410 °C, com alta perda de massa, correspondendo a 63,8% de perda, que pode ser atribuída à volatilização da amostra, e outra de 410 a 500 °C, com 10,5% de perda de massa, o que pode ser atribuída à degradação térmica do material residual.<sup>176</sup> A temperatura máxima de volatilização em 380 °C do AOA indica sua maior estabilidade térmica quando comparado ao ácido oleico puro que apresenta temperatura de ebulição em torno de 360 °C.<sup>176</sup>

A curva da amostra OM apresenta uma perda de massa na faixa de temperatura entre 25 a 210 °C que é atribuída à liberação de água adsorvida de diferentes formas, externa e internamente nas nanopartículas, correspondendo a uma perda de 6,0%. A curva de DTA nesta faixa de temperatura indica que o evento térmico é exotérmico, isto é, a perda de água ocorre com liberação de energia. Este comportamento sugere que durante a eliminação da água há um rearranjo atômico, com formação de novas ligações químicas na estrutura cristalina do óxido magnético. Acima desta temperatura ocorrem os processos de cristalização e reações de transição da magnetita em outros óxidos de ferro, confirmados pela presença de pequenos eventos exotérmicos na curva do DTA.<sup>171</sup>

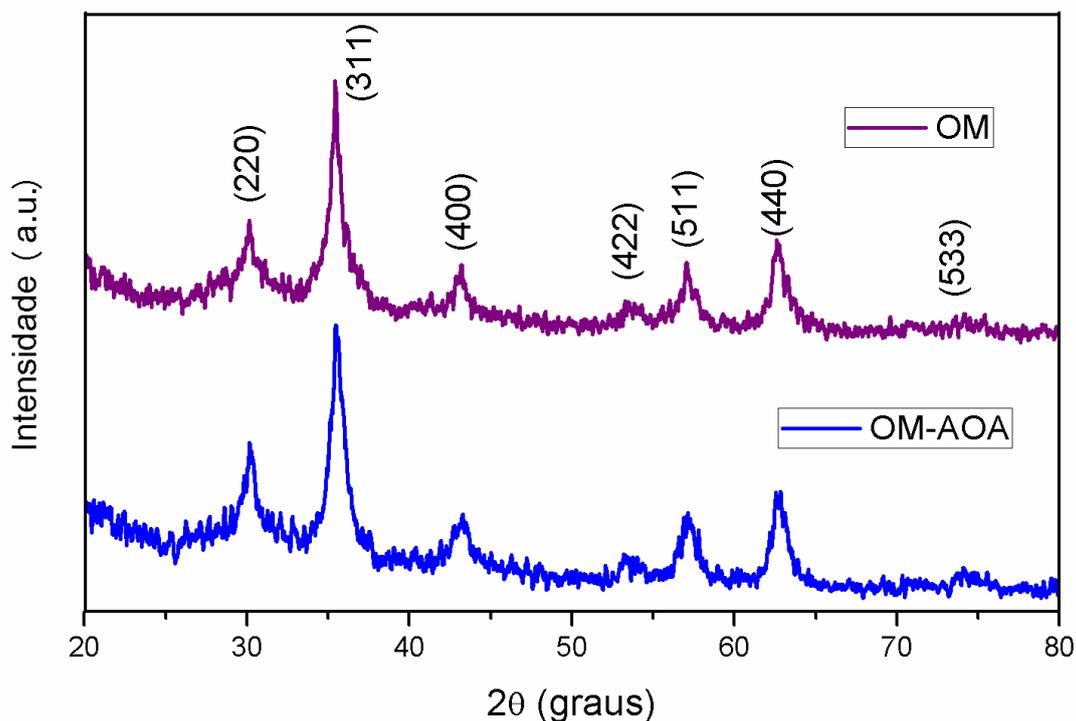
Para a amostra OM-AOA, a curva apresentou duas etapas de perda de massa. O primeiro estágio ocorreu até a temperatura de 179 °C, sendo atribuída a desidratação e liberação de moléculas de água quimicamente ligadas à estrutura das nanopartículas, correspondendo a uma perda de 2,7%. A segunda etapa ocorreu no intervalo de 180 a

470 °C, com temperatura de degradação máxima de 335 °C e perda de massa de aproximadamente 10,3% sendo atribuído à decomposição do revestimento ligado nas superfícies das nanopartículas. Nessas regiões, a curva de DTA mostra a ocorrência de eventos exotérmicos, sugerindo que durante a eliminação da água e decomposição da fase orgânica, há o rearranjo atômico, com formação de novas ligações químicas, na estrutura cristalina do óxido magnético, sugerido anteriormente, e que apresenta temperatura de Curie em  $580 \pm 2$  °C.<sup>177, 178</sup> Esse resultado mostra que o revestimento com AOA melhora a estabilidade térmica das nanopartículas de magnetita.

A estrutura cristalina, o tamanho médio dos cristalitos e a estequiometria das amostras OM e OM-AOA foram investigados por difração de raios X (DRX) pelo método em pó e os respectivos padrões de difração são mostrados na Figura 10. Os picos foram analisados e comparados com os dados de *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS). As amostras apresentaram picos de difração em  $2\theta = 30,2^\circ, 35,5^\circ, 43,1^\circ, 53,6^\circ, 57,2^\circ, 62,6^\circ$  e  $74,1^\circ$ , os quais são referentes às reflexões dos planos cristalinos (220), (311), (400), (422), (511), (440) e (533), respectivamente, atribuídas à presença de estrutura cristalina cúbica do tipo espinélio típica de magnetita e/ou maguemita.<sup>79</sup> Não há indícios de formação de outros óxidos, como a goetita ( $\alpha$ -FeOOH) e hematita ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), que apresentam picos característicos em  $2\theta = 21,22^\circ$  e  $33,15^\circ$ , respectivamente.<sup>179</sup> Os padrões de DRX de ambas as amostras foram semelhantes, isto significa que o revestimento das superfícies não afetou as propriedades estruturais e cristalinas das nanopartículas.



**Figura 9:** Curvas termogravimétricas TGA, DTG e DTA das amostras (a) AOA, (b) OM e (c) OM-AOA.



**Figura 10:** Difratomogramas das amostras OM e OM-AOA.

As fases dos óxidos de ferro, magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e maguemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), são muito similares em relação à estrutura cristalina, cúbicas do tipo espinélio, e por isso, exibem padrões de difração semelhantes. No entanto, essas fases possuem pequenas diferenças nas distâncias interplanares,  $d_{hkl}$ , e nos parâmetros de rede,  $a$ , magnetita ( $a = 8,396 \text{ \AA}$ ) e maguemita ( $a = 8,346 \text{ \AA}$ ).<sup>180</sup> Os parâmetros de rede foram calculados a partir da linha de difração (311), usando-se a Equação 7, na qual a distância interplanar foi obtida a partir da equação da Lei de Bragg.

$$a = d_{hkl} \sqrt{h^2 + k^2 + l^2} \quad (\text{Eq. 7})$$

Além disso, a partir do parâmetro de rede é possível obter a provável estequiometria das amostras. A estequiometria fornece informações a respeito da oxidação do material, uma vez que a fórmula unitária da maguemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) pode ser expressa como  $\text{Fe}_{2,67}\text{O}_4$ , sendo que os íons de ferro existem apenas como cátions  $\text{Fe}^{3+}$  e que comparada com a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) apresenta uma deficiência de 0,33 íons de ferro por célula unitária. Assim, de forma geral, a magnetita parcialmente oxidada, também denominada como magnetita não estequiométrica, pode ser expressa como  $\text{Fe}_{3-\delta}\text{O}_4$ , em que  $\delta$  é o desvio estequiométrico e varia de 0 para magnetita estequiométrica até 0,33

para maguemita estequiométrica. <sup>181, 182</sup> Gorski e Scherer <sup>183</sup> obtiveram uma correlação linear entre os parâmetros de rede e a razão molar  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ , denominado por x e que varia de 0,5 para magnetita estequiométrica até 0 para maguemita estequiométrica. Esta correlação linear foi obtida em amostras de magnetita com valores diferentes estequiométricos e é expressa pela Equação 8.

$$a = 8,34134 + 0,10512x \quad (\text{Eq. 8})$$

Através da razão molar é possível obter o desvio estequiométrico a partir da Equação 9, e, em seguida, utilizá-lo na determinação da estequiometria das amostras ( $\text{Fe}_{3-\delta}\text{O}_4$ ).

$$x = \frac{\text{Fe}^{2+}}{\text{Fe}^{3+}} = \frac{1-3\delta}{2+2\delta} \quad (\text{Eq. 9})$$

O tamanho médio dos cristalitos ( $D_{\text{DRX}}$ ) foi calculado a partir da largura a meia altura do pico de maior intensidade (FWHM) aplicando a Equação de Scherrer, Equação 10.

$$D_{\text{DRX}} = \frac{0,9\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (\text{Eq. 10})$$

Sendo que o valor 0,9 corresponde a constante de proporcionalidade e depende da forma das partículas,  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação  $\text{CuK}\alpha$  (1,54184 Å),  $\beta$  é a largura do pico a meia altura, obtida por  $\sqrt{B^2 - b^2}$ , em que B corresponde à largura a meia altura do pico mais intenso observada a partir da linha difratada (FWHM) e b é a largura intrínseca obtida do cristal de silício utilizado como padrão e  $\theta$  é o ângulo de difração de Bragg do pico mais intenso.

Os parâmetros de rede (a), estequiometria ( $\text{Fe}_{3-\delta}\text{O}_4$ ) e tamanho médio dos cristalitos ( $D_{\text{DRX}}$ ) das amostras OM e OM-AOA são mostrados na Tabela 7. A amostra OM apresentou parâmetro de rede ( $a = 8,396 \text{ \AA}$ ) e estequiometria ( $\text{Fe}_{3,01}\text{O}_4$ ) semelhantes aos valores da magnetita. A amostra OM-AOA possui valores intermediários em relação à magnetita e maguemita, com  $a = 8,375 \text{ \AA}$  e estequiometria  $\text{Fe}_{2,90}\text{O}_4$ . Este resultado mostra que o processo de revestimento das nanopartículas com ácido oleico

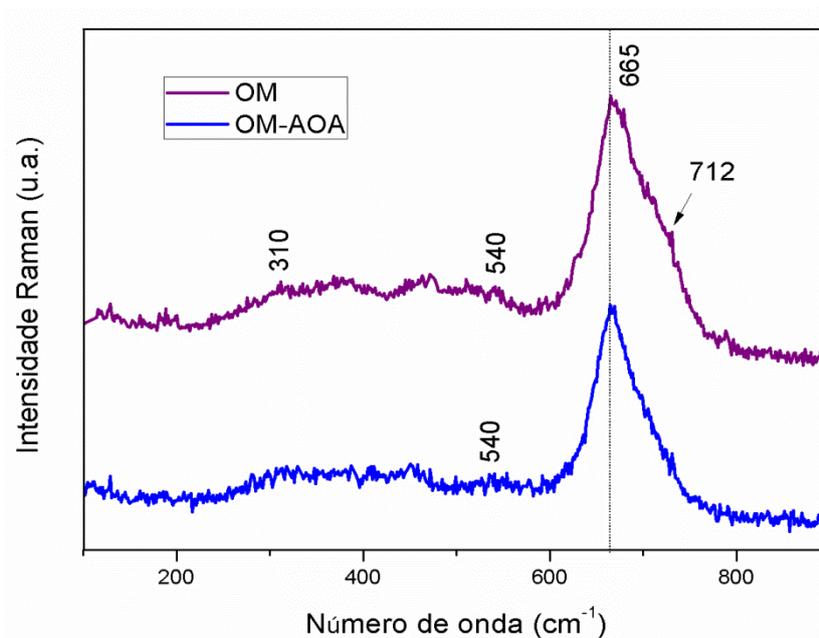
acrilado, mesmo na presença de atmosfera inerte, ocasionou uma oxidação parcial do material inorgânico, e este fato pode estar relacionado ao tratamento térmico e ao tempo de reação utilizado na modificação da superfície das nanopartículas.

Em relação a outros trabalhos<sup>182, 184</sup> as amostras apresentaram valores mais próximos à magnetita, indicando que a presença de atmosfera inerte retardou a oxidação da magnetita a maguemita. Os tamanhos médios dos cristalitos obtidos a partir da equação de Scherrer foram de 9,16 nm (OM) e 9,99 nm (OM-AOA). Estes valores garantem as propriedades superparamagnéticas de tais nanopartículas e, conseqüentemente, a potencialidade para aplicações biomédicas.

**Tabela 7:** Estimativas dos parâmetros de rede (a), estequiometria e tamanho médio dos cristalitos ( $D_{DRX}$ ) para as amostras OM e OM-AOA.

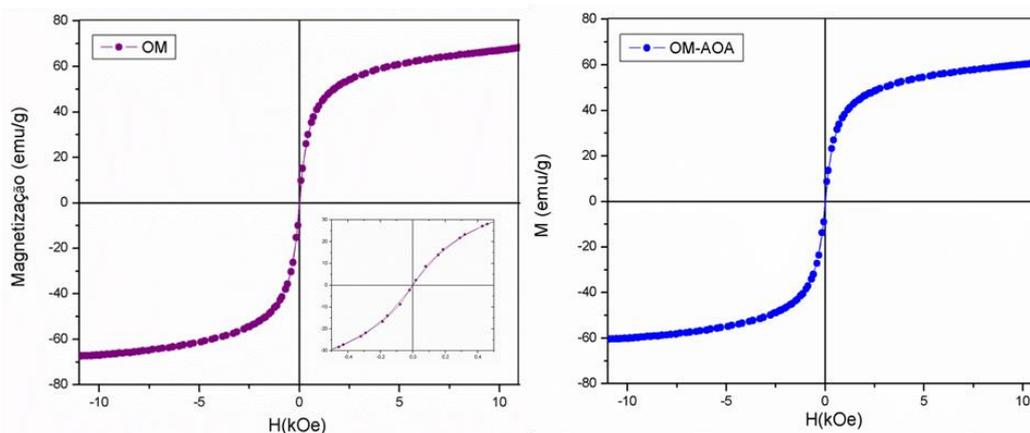
Amostra	a (Å)	Estequiometria ( $Fe_{3-\delta}O_4$ )	$D_{DRX}$ (nm)
OM	8,396	$Fe_{3,01}O_4$	9,16
OM-AOA	8,375	$Fe_{2,90}O_4$	9,99

A Figura 11 ilustra os espectros vibracionais Raman das amostras OM e OM-AOA, e são comumente usados para distinguir as fases magnetita e maguemita, devido às diferenças nos seus perfis espectrais.<sup>181, 185</sup> Nos espectros, as três bandas de Raman em torno de 310, 540 e 665  $cm^{-1}$  correspondem aos modos vibracionais  $E_g$ ,  $T_{2g}^{(2)}$  e  $A_{1g}$ , respectivamente, atribuídas à fase magnetita.<sup>186</sup> No entanto, o alargamento da banda localizada em 665  $cm^{-1}$  evidencia um processo inicial de oxidação da magnetita à maguemita. A amostra OM apresenta indícios de formação de uma banda em aproximadamente 712  $cm^{-1}$ , fato ocasionado pelo efeito de aquecimento local pela irradiação com o laser.<sup>187</sup>



**Figura 11:** Espectros vibracionais Raman das amostras OM e OM-AOA.

As propriedades magnéticas das amostras foram medidas usando um magnetômetro de amostra vibrante (VSM) com campo oscilando de -10 a +10 kOe. A Figura 12 mostra a curva de magnetização das amostras OM e OM-AOA como uma função do campo aplicado à temperatura ambiente. A magnetização de saturação ( $M_s$ ) das amostras OM e OM-AOA foram de 68,7 e 61,2  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente. A amostra OM-AOA apresenta menor valor de magnetização de saturação em comparação aos resultados obtidos da amostra OM, redução de aproximadamente 11%. Essa diminuição pode ser explicada pelo fato de que o valor desta medida corresponde a soma de todos os momentos magnéticos dos compostos presentes na amostra, o conjunto do material magnético,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , e do material de revestimento não magnético, AOA, corroborando assim, com os resultados de análise termogravimétrica no qual a percentagem de AOA revestindo as nanopartículas é de aproximadamente 11%.



**Figura 12:** Curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado à temperatura ambiente das amostras OM e OM-AOA.

O valor de magnetização de saturação para  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  presente na amostra apresenta valor menor que o do *bulk* da magnetita à temperatura ambiente ( $92 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$ ),<sup>188</sup> o que corresponde a uma redução de aproximadamente 25% para a amostra de OM. Neste caso, o decréscimo na magnetização pode ser atribuída a dois fatores principais: *i*) a oxidação de  $\text{Fe}^{2+}$  para  $\text{Fe}^{3+}$  nas amostras leva à modificação na composição química das nanopartículas, variando de magnetita para maguemita, o que significa que uma pequena fração de maguemita será encontrada em amostras de magnetita. Devido à redução do momento magnético de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  para  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , a oxidação é geralmente acompanhada por uma diminuição na magnetização da saturação média e; *ii*) o efeito do tamanho finito que provoca uma diminuição nos valores de  $M_s$ , que ocasiona uma desordem na superfície, *spin canting*, devido à presença de vacâncias, ligações rompidas e alta anisotropia magnética sítio a sítio. Assim, à medida que as partículas se tornam magneticamente desordenadas, a camada superficial pode dominar as propriedades magnéticas,<sup>189</sup> reduzindo os valores de  $M_s$ . Neste caso, o decréscimo na magnetização deve-se ao tamanho das partículas, que é inferior ao respectivo *bulk* do material, resultando em efeitos superficiais e alterando assim as suas propriedades magnéticas. Apesar disso, a curva mostra um comportamento magnético típico de material superparamagnético, com valores de coercividade e magnetização remanescente pouco significativos.

As morfologias, o tamanho médio e a dispersibilidade das amostras OM e OM-AOA foram investigadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A Figura 13 exhibe as imagens MET das respectivas amostras e o histograma de distribuição de

tamanho obtido pela medição de 200 partículas em 5 diferentes micrografias utilizando o *software ImageJ*. O método Sturges foi usado para construir o histograma de distribuição de tamanho <sup>190</sup> onde a largura das classes (W) é obtida pela seguinte relação, Equação 11:

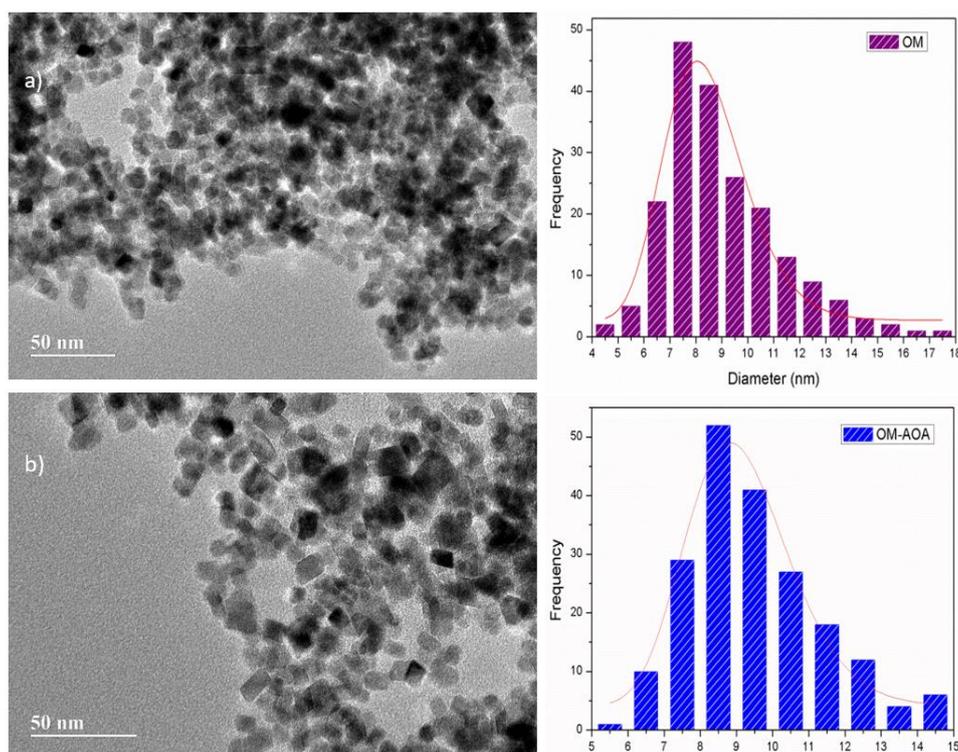
$$w = \frac{(D_{m\acute{a}x} - D_{m\acute{i}n})}{K} \quad (\text{Eq. 11})$$

onde:  $D_{m\acute{a}x}$  e  $D_{m\acute{i}n}$  referem-se respectivamente ao diâmetro máximo e mínimo da amostra e k é o número da classe, onde  $k = 1 + 3,322 \log n$ , tal que  $2^k \geq n$ , sendo n o número de partículas. Este histograma foi modelado por uma função de distribuição log-normal, mostrada na Equação 12.

$$P(D) = \frac{1}{4\pi^2 D \sigma} \exp \left[ -\frac{\ln^2(D/D_{met})}{2\sigma^2} \right] \quad (\text{Eq. 12})$$

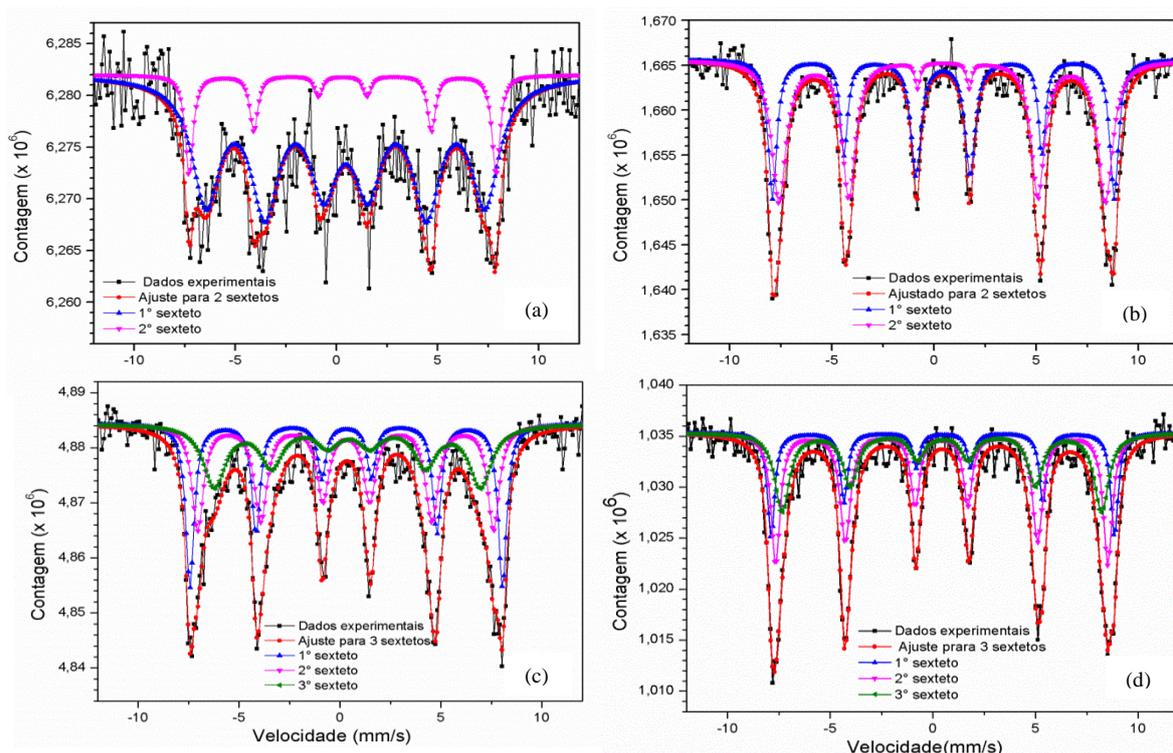
onde: D é o diâmetro atual das nanopartículas;  $D_{MET}$  é o diâmetro médio das partículas e  $\sigma$  é o desvio padrão do diâmetro.

As micrografias mostram a formação de partículas de dimensões nanométricas com formatos esféricos e facetados. Observa-se nas micrografias das nanopartículas revestidas maior dispersibilidade quando comparadas às nanopartículas puras. O diâmetro médio foi de  $9,0 \pm 1,8$  nm e  $9,5 \pm 1,8$  nm para as amostras OM e OM-AOA, respectivamente. Este valor apresenta concordância em comparação com o tamanho médio dos cristalitos obtidos a partir das medidas de DRX.



**Figura 13:** Micrografias obtidas por MET e histograma de distribuição de tamanho das amostras (a) OM e (b) OM-AOA.

A Figura 14 mostra os espectros de Mössbauer obtidos a partir das amostras de OM e OM-AOA à temperatura ambiente e à temperatura de nitrogênio líquido. Os parâmetros obtidos a partir dos ajustes dos espectros são apresentados na Tabela 8. Os espectros da amostra OM foram ajustados em dois sextetos magnéticos, um para o  $\text{Fe}^{3+}$  no sítio tetraédrico (sítio A) e um para a mistura  $\text{Fe}^{2,5+}$  no sítio octaédrico (sítio B) com valores obtidos das interações hiperfinas coerentes com os citados na literatura para a magnetita.<sup>191, 192</sup> No espectro à temperatura ambiente há um alargamento das linhas de ressonância, fato explicado por um comportamento típico de processo inicial de relaxação das partículas, que ainda está abaixo da temperatura de bloqueio do sistema,  $T_B$ .<sup>193</sup> Os espectros da amostra OM-AOA foram ajustados em três sextetos magnéticos bem definidos. A presença de um terceiro sexteto corresponde a possível oxidação da amostra durante o processo de revestimento, pois seus parâmetros tendem a valores próximos aos relatados na literatura para a maguemita. Para a maguemita são relatados, à temperatura ambiente, parâmetros com  $DI = 0,32 \pm 0,01 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $DQ = 0,01 \pm 0,01 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $B_{hf} = 43,7 \pm 0,1 \text{ T}$ <sup>194</sup> e a temperatura de nitrogênio líquido são relatados parâmetros com  $DI = 0,50 \pm 0,5 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $DQ = -0,04 \pm 0,05 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $B_{hf} = 52,0 \pm 1,0 \text{ T}$ .<sup>195</sup>



**Figura 14:** Espectro Mössbauer das amostras (a) e (b) OM e (c) e (d) OM-AOA obtidos à temperatura ambiente (à esquerda) e à temperatura de nitrogênio líquido (à direita).

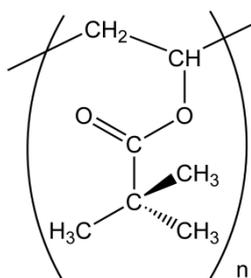
**Tabela 8:** Parâmetros obtidos dos ajustes do espectro Mössbauer registrado à temperatura ambiente e temperatura de nitrogênio líquido das amostras OM e OM-AOA. Os valores de deslocamento isomérico (DI), desdobramento quadrupolar (DQ), campo magnético hiperfino ( $B_{hf}$ ) e área relativa (%).

Amostra	Componentes	DI ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ )	DQ ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ )	$B_{hf}$ (kOe)	Área (%)
Temperatura ambiente					
OM	Sexteto 1	$0,45\pm 0,036$	$-0,01\pm 0,063$	$42,85\pm 0,582$	87,4
	Sexteto 2	$0,30\pm 0,032$	$-0,01\pm 0,063$	$47,16\pm 0,207$	12,6
OM-AOA	Sexteto 1	$0,32\pm 0,009$	$-0,01\pm 0,017$	$48,12\pm 0,133$	31,3
	Sexteto 2	$0,30\pm 0,013$	$-0,03\pm 0,026$	$45,53\pm 0,320$	37,8
	Sexteto 3	$0,39\pm 0,042$	$-0,06\pm 0,075$	$40,96\pm 0,646$	30,9
Temperatura de nitrogênio líquido					
OM	Sexteto 1	$0,44\pm 0,007$	$0,02\pm 0,017$	$51,98\pm 0,136$	43,4
	Sexteto 2	$0,42\pm 0,009$	$-0,06\pm 0,020$	$49,69\pm 0,315$	56,6
OM-AOA	Sexteto 1	$0,50\pm 0,018$	$-0,04\pm 0,025$	$51,98\pm 0,165$	22,4
	Sexteto 2	$0,42\pm 0,016$	$0,01\pm 0,026$	$50,31\pm 0,227$	44,1
	Sexteto 3	$0,45\pm 0,027$	$-0,05\pm 0,054$	$48,36\pm 0,733$	33,5

### 5.3. Obtenção de Nanopartículas de Poli(pivalato de vinila)

O monômero pivalato de vinila (PVi) apresenta fórmula molecular  $C_7H_{12}O_2$  com estrutura semelhante a do acetato de vinila, sendo um monômero polimerizado de acordo com um mecanismo de poliadição. Seu produto, o poli(pivalato de vinila) - PPVi, representado na Figura 15, é um dos principais precursores para a obtenção do PVA através do processo de saponificação produzindo PVA de alta massa molar. No entanto, os radicais de propagação do pivalato são bastante reativos e menos estáveis, comparados aos derivados de metacrilato e estireno, e por isso apresentam tendência a sofrerem com maior facilidade reações de transferência de cadeia e de terminação, ocasionando dificuldades no controle do processo de polimerização.<sup>196, 197</sup>

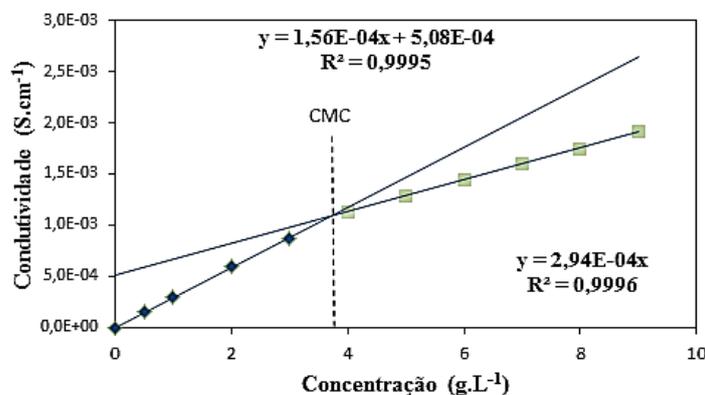
Atualmente, não existem relatos da obtenção do PPVi utilizando a polimerização em miniemulsão. Por este motivo, diferentes condições experimentais foram analisadas com a finalidade de obter látices com propriedades adequadas para a formação de nanocompósitos de PPVi com nanopartículas magnéticas para aplicação como agente embólico. Foram realizados ensaios, estudando os efeitos do tempo de dispersão ultrassônico, da concentração e tipo de iniciador, temperatura e concentração do coestabilizador sobre as propriedades finais do polímero, tamanho das nanopartículas e conversão da reação.



**Figura 15:** Representação da estrutura básica do poli(pivalato de vinila).

Para as reações de polimerização foram escolhidas as temperaturas de reação de 70 e 85 °C. Para temperatura de 85 °C a literatura cita CMC do SLS de  $4,35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .<sup>44</sup> No entanto, não foi encontrado na literatura aberta a CMC do SLS à temperatura de 70 °C, tornando-se necessário realizar medidas experimentais de condutividade a fim de inferir a CMC do SLS a 70 °C. Este estudo foi realizado, pois a concentração de surfactante,

SLS, utilizada nas sínteses dever ser inferior a CMC de acordo com a temperatura de reação de polimerização. A Figura 16 mostra a variação da condutância em função da concentração de SLS em água a 70 °C.



**Figura 16:** Concentração micelar crítica do lauril sulfato de sódio a 70 °C.

De acordo com os dados experimentais a CMC do SLS a 70 °C é de 3,68 g·L<sup>-1</sup>. Assim, para as reações conduzidas a 70 °C utilizou-se 0,22 g de SLS e para as reações a 85 °C, a quantidade de SLS foi de 0,25 g, o que correspondem a valores menores do que as CMC em 60 g de água.

Posteriormente, determinou-se o tempo de homogeneização no preparo das amostras. Utilizando uma potência de 70% e variando o tempo foi considerada como resposta a melhor razão entre o diâmetro médio e o índice de polidispersão (PdI) das partículas obtidas. A formulação utilizada, o diâmetro médio e o PdI obtidos são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9:** Formulação para dispersão de gotas de PVi e determinação do tempo de homogeneização.

FORMULAÇÃO			
Água (g)	SLS (g)	PVi (g)	Hexadecano (g)
60	0,22	8,5	0,25
VARIÁVEIS DA HOMOGENEIZAÇÃO			
Tempo (min)	Diâmetro médio (nm)	PdI	
1 min	239,1	0,270	
2 min	261,6	0,206	
3 min	166,8	0,187	
4 min	170,1	0,126	
5 min	176,2	0,112	

Considerando os resultados de homogeneização, definiu-se o tempo de 4 min para as dispersões das sínteses, por este apresentar a melhor relação de diâmetro médio e PDI.

No processo de obtenção das nanopartículas de PPVi foram estudados os efeitos da concentração e tipo de iniciador, temperatura de reação e concentração do coestabilizador sobre as propriedades finais do polímero, tamanho das nanopartículas e conversão polimérica, realizando cada polimerização em triplicata e sob as condições mostradas na Tabela 4. A Figura 17 mostra a evolução da reação em relação à conversão, diâmetro médio, PDI e número de partículas·g<sup>-1</sup> de látex e os valores que correspondem à média e o desvio padrão desses ensaios obtidos em triplicata são apresentados na Tabela 10.

As reações nas quais foram utilizados o iniciador KPS e AIBN apresentaram elevada conversão em poucos minutos, sendo que, as reações conduzidas com KPS foram mais rápidas que as respectivas reações com AIBN, atingindo conversão máxima média de 84% e considerável diminuição do diâmetro médio das partículas. As reações conduzidas com o iniciador PBO apresentaram uma pequena diminuição do diâmetro médio das partículas ao longo da reação e atingiram conversão máxima média de 82% em aproximadamente 90 min de reação.

O aumento da concentração do polímero, em um curto intervalo de tempo, e a conversão limite observados durante o decorrer das reações são atribuídos aos fenômenos cinéticos que ocorrem em reações de polimerização conhecidos como efeitos gel e vítreo. O efeito gel (também conhecido como efeito Trommsdorff) refere-se à diminuição da velocidade de terminação provocada pela redução da mobilidade das cadeias de polímero em crescimento, acarretando no aumento drástico na concentração dos radicais, e conseqüentemente em uma autoaceleração da taxa de polimerização. O efeito vítreo, por sua vez, pode estar associado à temperatura do meio reacional. O efeito pode ocorrer quando a reação de polimerização é conduzida em temperaturas abaixo da temperatura de transição vítrea do polímero. Desta forma, com aumento da conversão, observa-se uma elevação da temperatura de transição vítrea do meio reacional e dependendo do sistema, a temperatura de transição vítrea da mistura polímero/monômero torna-se igual à temperatura de polimerização. A consequência deste fenômeno é o "congelamento" da mistura reacional, devido à limitação de difusão das moléculas de monômero e dos radicais, atingindo uma conversão limite.<sup>32</sup>

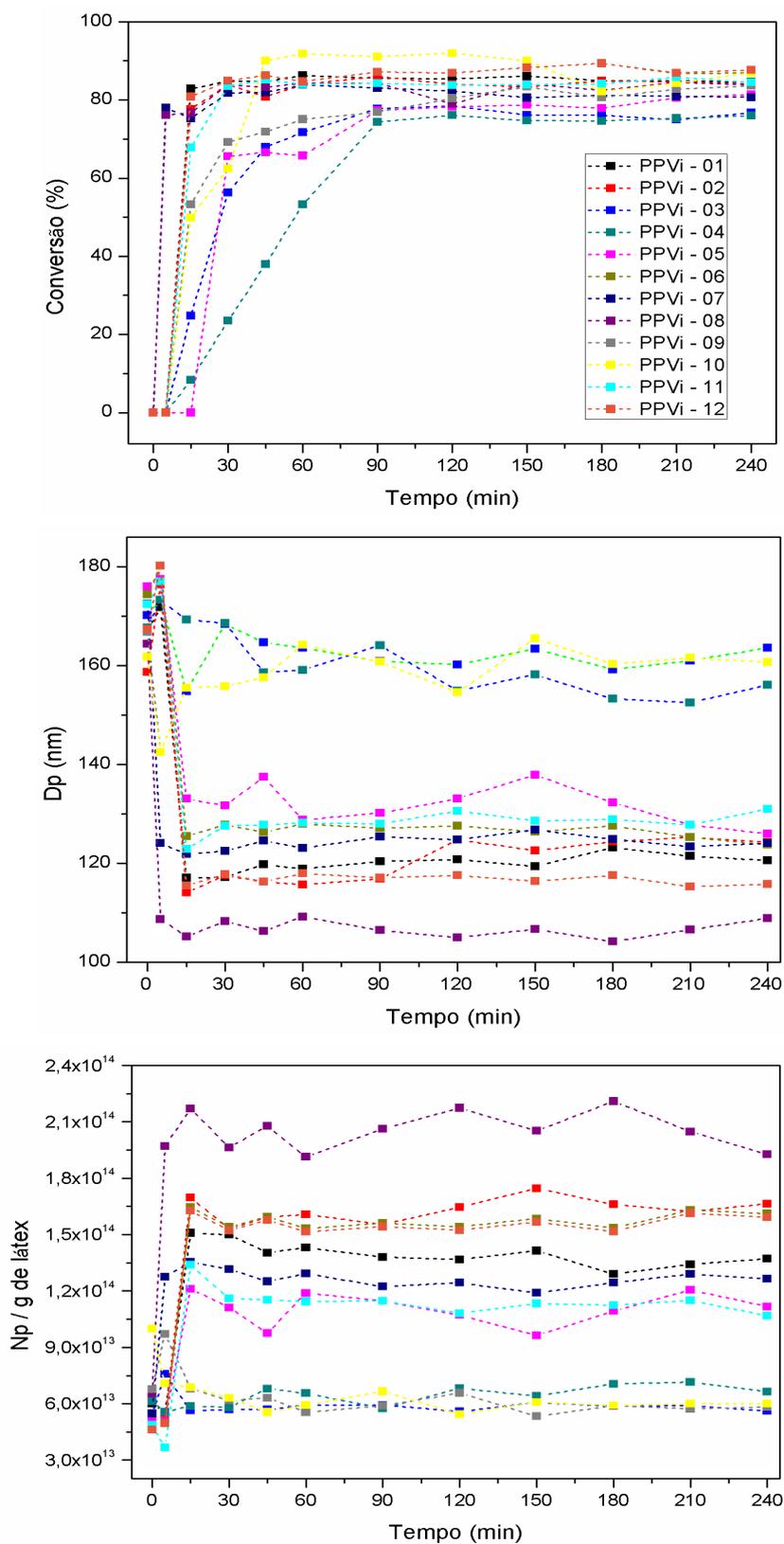
Nas sínteses, foram observados a diminuição do diâmetro médio e aumento do número de partículas dos látices em relação às nanogotas. Esses resultados referem-se ao mecanismo de polimerização sobre o efeito da natureza do iniciador. Em sistemas de miniemulsão, predomina-se o mecanismo de nucleação das gotas. Neste, o diâmetro médio e o número de partículas do polímero apresentam valores próximos das nanogotas, formadas após a etapa de nanodispersão. A diminuição do diâmetro médio e aumento do número de partículas em reações de miniemulsão podem estar relacionados a nucleações secundárias (nucleação homogênea) que podem ocorrer simultaneamente à nucleação das gotas, devido a solubilidade parcial do monômero em água e ao uso de iniciadores hidrossolúveis, no qual os radicais hidrofílicos promovem a formação de novas partículas por nucleação homogênea.<sup>43, 45</sup>

Assim, nas reações conduzidas com iniciador hidrossolúvel, KPS, houve a formação de radicais oligoméricos na fase aquosa, que continuaram a se propagar até um determinado tamanho crítico, formando novas partículas poliméricas. Nas reações realizadas com o iniciador organossolúvel, PBO, como os radicais do iniciador são formados no interior das gotículas, houve uma redução significativa da nucleação homogênea, prevalecendo a nucleação das gotas e conseqüentemente, as reações apresentaram pouca alteração no diâmetro médio e no número de partículas.<sup>45, 198</sup> No caso do iniciador organossolúvel, AIBN, deveria esperar também pouca alteração no diâmetro médio das partículas, no entanto observou-se uma diminuição significativa, que pode estar relacionada a solubilidade do iniciador em ambas as fases, solubilidade em água de  $0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , favorecendo também a nucleação homogênea,<sup>43, 199</sup> e conseqüentemente há a diminuição do diâmetro e aumento do número de partículas.

Em todas as reações o aumento da quantidade de coestabilizador proporcionou pouca alteração nos resultados dos látices obtidos em termos de conversão, diâmetro das partículas e número de partículas $\cdot\text{g}^{-1}$  de látex. Por outro lado, o aumento da temperatura ocasionou o aumento da velocidade de reação e da conversão em todas as sínteses, Nesse a temperatura influencia diretamente nas taxas de reação da polimerização ocasionando o aumento da velocidade de reação de dissociação do iniciador e conseqüentemente há o aumento da quantidade de radicais livres no sistema favorecendo o aumento da velocidade de reação.<sup>32</sup>

**Tabela 10:** Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e número de partículas·g<sup>-1</sup> do látex correspondente à média e o desvio padrão das amostras obtidas em triplicata.

Ensaio	Conversão (%)	Dp inicial (nm)	PdI inicial	Dp final (nm)	PdI Final	Np do látex Inicial	Np do látex final
PPVi – 01	84,6 ± 1,53	167,9 ± 2,94	0,137 ± 0,049	118,4 ± 7,77	0,039 ± 0,010	(5,88 ± 0,30) · 10 <sup>13</sup>	(1,48 ± 0,30) · 10 <sup>14</sup>
PPPi – 02	84,0 ± 1,00	165,5 ± 14,23	0,111 ± 0,051	124,8 ± 9,31	0,053 ± 0,032	(5,89 ± 1,50) · 10 <sup>13</sup>	(1,30 ± 0,31) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 03	76,7 ± 1,52	172,6 ± 4,83	0,123 ± 0,021	162,2 ± 7,89	0,112 ± 0,040	(5,38 ± 0,40) · 10 <sup>13</sup>	(5,80 ± 0,85) · 10 <sup>13</sup>
PPVi – 04	75,0 ± 1,00	170,1 ± 2,81	0,158 ± 0,016	157,1 ± 3,41	0,118 ± 0,022	(5,88 ± 0,28) · 10 <sup>13</sup>	(6,55 ± 0,41) · 10 <sup>13</sup>
PPVi – 05	81,7 ± 2,08	172,3 ± 4,82	0,143 ± 0,033	125,5 ± 5,66	0,118 ± 0,031	(5,51 ± 0,47) · 10 <sup>13</sup>	(1,26 ± 0,17) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 06	86,3 ± 2,08	172,3 ± 11,03	0,137 ± 0,081	123,0 ± 6,49	0,076 ± 0,017	(5,75 ± 1,05) · 10 <sup>13</sup>	(1,36 ± 0,22) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 07	80,7 ± 2,08	167,9 ± 5,66	0,116 ± 0,067	126,3 ± 8,12	0,066 ± 0,034	(5,95 ± 0,62) · 10 <sup>13</sup>	(1,22 ± 0,23) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 08	83,7 ± 1,52	164,9 ± 4,52	0,112 ± 0,051	111,2 ± 3,18	0,052 ± 0,040	(6,48 ± 0,53) · 10 <sup>13</sup>	(1,82 ± 0,15) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 09	83,3 ± 1,52	166,0 ± 4,75	0,182 ± 0,030	166,0 ± 5,73	0,106 ± 0,026	(6,17 ± 0,54) · 10 <sup>13</sup>	(5,29 ± 0,54) · 10 <sup>13</sup>
PPVi – 10	86,3 ± 2,08	161,6 ± 1,76	0,147 ± 0,021	158,6 ± 3,38	0,157 ± 0,043	(6,87 ± 0,23) · 10 <sup>13</sup>	(6,23 ± 0,43) · 10 <sup>13</sup>
PPVi – 11	84,6 ± 0,578	172,1 ± 7,25	0,088 ± 0,043	126,5 ± 4,55	0,129 ± 0,090	(5,54 ± 0,70) · 10 <sup>13</sup>	(1,19 ± 0,13) · 10 <sup>14</sup>
PPVi – 12	86,0 ± 2,00	176,7 ± 7,14	0,105 ± 0,023	118,3 ± 2,45	0,129 ± 0,090	(5,29 ± 0,62) · 10 <sup>13</sup>	(1,49 ± 0,09) · 10 <sup>14</sup>

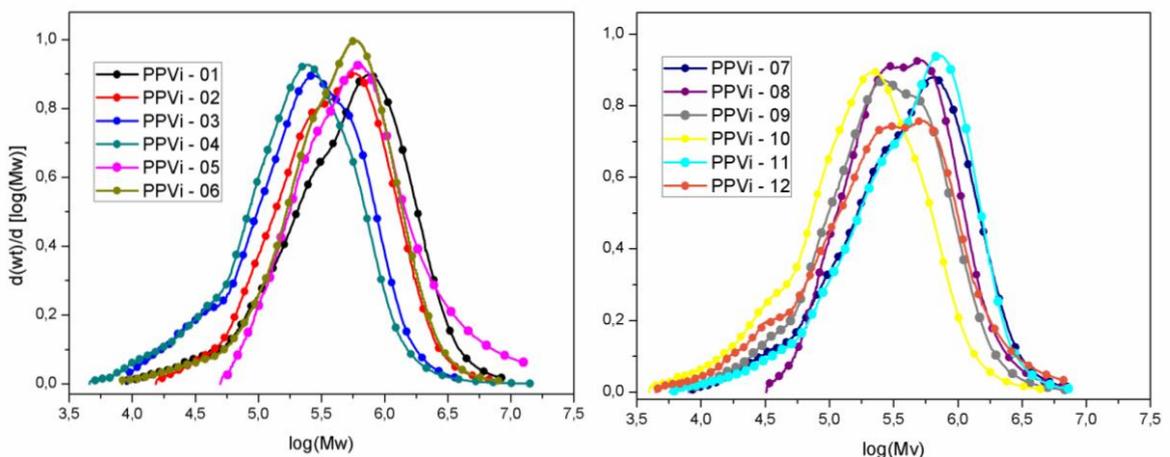


**Figura 17:** Gráficos da evolução da conversão, do diâmetro médio das gotas e do número de partículas/grama do látex das amostras obtidas, correspondente à média e o desvio padrão das amostras obtidas em triplicata.

As massas molares médias de um polímero são fortemente influenciadas por fatores como temperatura de polimerização, tipo e concentração de iniciadores no lócus da reação. A técnica de cromatografia por permeação em gel foi utilizada para determinar as massas molares médias e a dispersão de massa molar dos polímeros. Visto que as amostras em triplicata apresentaram resultados reprodutíveis em termos de conversão e diâmetro médio, os resultados das análises são referentes a uma amostra de cada formulação, no qual foi escolhida a amostra de conversão mediana, onde os valores obtidos de cada síntese é apresentado no Apêndice, ver Tabela A1. As curvas de distribuição das massas molares e os valores das massas molares médias e a dispersão da massa molar ( $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ ) dos polímeros são mostrados na Figura 18 e Tabela 11, respectivamente.

**Tabela 11:** Massas molares médias e dispersão da massa molar dos polímeros.

Ensaio	$\bar{M}_w$ (kg·mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_n$ (kg·mol <sup>-1</sup> )	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
PPVi - 01	841	231	3,64
PPVi - 02	607	223	2,72
PPVi - 03	389	104	3,74
PPVi - 04	335	99	3,38
PPVi - 05	902	410	2,20
PPVi - 06	660	224	2,94
PPVi - 07	666	184	3,61
PPVi - 08	585	267	2,19
PPVi - 09	440	142	3,09
PPVi - 10	297	82	3,62
PPVi - 11	666	185	3,60
PPVi - 12	538	111	4,84



**Figura 18:** Curvas de distribuição da massa molar dos polímeros.

As diferentes temperaturas de polimerização afetaram as massas molares médias, apresentando diminuição da massa molar com o aumento da temperatura. Este fato pode ser explicado pelo aumento da taxa de geração de radicais, que ocasiona um aumento da taxa de terminação das cadeias poliméricas em crescimento,<sup>200</sup> resultando em massas molares menores quando comparadas às reações realizadas em menores temperaturas.

O aumento da quantidade de coestabilizador ocasionou a diminuição das massas molares. A diminuição se deve essencialmente: *i*) a presença de maior quantidade no meio reacional fazendo com que o coestabilizador se comporte como plastificante do polímero ocasionando o atraso do início dos efeitos gel e vítreo;<sup>201</sup> *ii*) a diminuição do efeito gaiola, o que aumenta a disponibilidade de radicais de iniciador no *locus* da reação e *iii*) ao efeito do coestabilizador sobre a transferência de cadeia, agindo provavelmente como um agente de transferência de cadeia, ocasionando morte de cadeias poliméricas em crescimento. Como consequência desses efeitos as massas molares são menores quando comparadas as massas molares dos polímeros obtidos com menor quantidade de coestabilizador.

Observa-se diferença significativa nos valores da massa molar média quando se utiliza diferentes iniciadores. As amostras obtidas com o iniciador PBO foram as que apresentaram menores massas molares médias, o que pode ser explicado pela maior concentração local de iniciador, acarretando a formação de cadeias menores. Para os látices obtidos com o iniciador KPS, devido ao efeito gel, mencionado anteriormente, há um favorecimento do crescimento das cadeias devido ao aumento da viscosidade do meio e da diminuição da mobilidade das cadeias poliméricas vivas. O efeito de compartimentalização dos radicais, também acarreta no aumento da massa molar. Neste caso, devido ao volume restrito das partículas, o número de partículas de radicais do iniciador por partícula do polímero é sempre menor, suprimindo as reações de terminação e, conseqüentemente, aumentando a massa molar das cadeias poliméricas.<sup>202</sup>

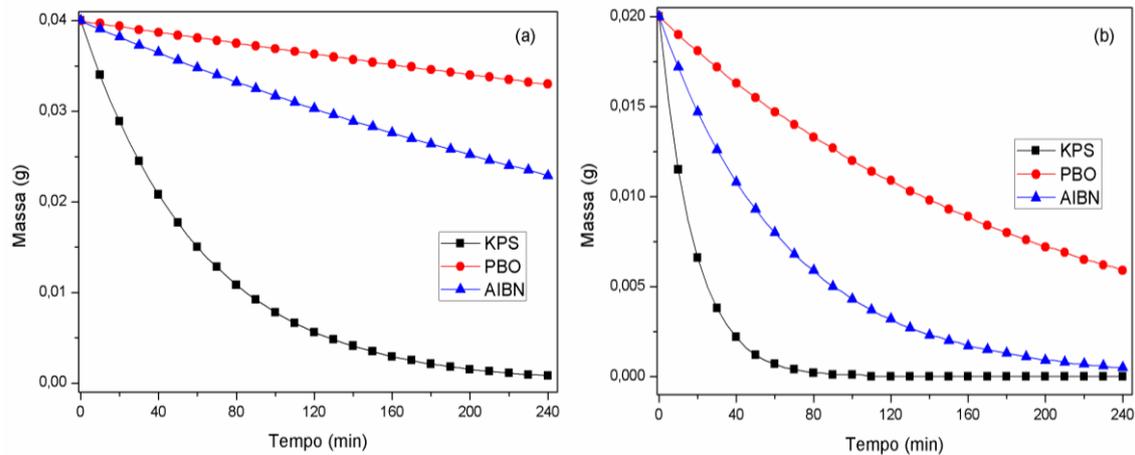
As amostras obtidas com o iniciador AIBN apresentaram massas molares médias semelhantes às amostras sintetizadas com KPS. Como observado na evolução da reação, houve um favorecimento da polimerização por nucleação homogênea, e como a eficiência do iniciador está associada ao seu *locus* de decomposição, este afeta o tamanho das cadeias poliméricas, e os resultados tornaram-se próximos aos obtidos com o uso do KPS.

Para compreensão do efeito do tipo de iniciador na cinética de polimerização, a Figura 19 ilustra os perfis de decomposição dos iniciadores a 70 e 85 °C. Esses perfis foram obtidos utilizando dados da literatura que correlacionam as constantes cinéticas de decomposição ( $K_d$ ) com a variação da temperatura baseados na equação de Arrhenius, conforme a Tabela 12. Os

parâmetros cinéticos das reações de decomposição dos iniciadores foram determinados ajustando-se uma função linear de 1º ordem, conforme a Equação 13.

$$[I] = [I]_0 \exp(-k_d \cdot t) \quad (\text{Eq. 13})$$

onde,  $[I]_0$  e  $[I]$  são as concentrações do iniciador no início da reação e no momento  $t$ , respectivamente,  $k_d$  é a constante de decomposição do iniciador e  $t$  é o tempo.



**Figura 19:** Perfis de decomposição dos iniciadores a (a) 70 °C e (b) 85 °C.

**Tabela 12:** Parâmetros cinéticos de decomposição dos iniciadores.

Iniciador	$K_d$ ( $s^{-1}$ )	Referência
KPS	$k_d = 1,345 \cdot 10^9 \exp\left(-\frac{83400}{8,315 T}\right)$	203
PBO	$k_d = 1,7 \cdot 10^{14} \exp\left(-\frac{30000}{1,98 T}\right)$	204
AIBN	$k_d = 3,2 \cdot 10^{15} \exp\left(-\frac{131100}{8,315 T}\right)$	203

\*onde T é a temperatura em Kelvin.

Como pode ser observado, o KPS apresenta uma taxa de decomposição bastante acentuada, quando comparada a observada para o PBO e para o AIBN. Estes resultados comparativos indicam que embora a concentração local de PBO nas gotas monoméricas seja maior, a formação de radicais de iniciador nestas gotas é bastante reduzida, devido ao menor valor da constante de decomposição térmica, resultando em uma menor taxa de reação. No caso do iniciador AIBN, este apresenta maior velocidade de decomposição quando comparado ao PBO e conseqüentemente sua velocidade de reação será maior. Devido à maior concentração de radicais livres nas gotas monoméricas em combinação com a nucleação

homogênea a taxa de reação se assemelha ao do KPS. Ao avaliarmos os valores das massas molares médias em número é possível observar que a menor geração de radicais do iniciador PBO resulta na formação de um número menor de cadeias poliméricas, embora a dispersão de massa molar ( $D_M$ ), dada pela razão  $M_w/M_n$ , seja equivalente aquela determinada para os polímeros obtidos com iniciadores KPS e AIBN, como mostra a Tabela 11.

O efeito da temperatura sobre a taxa de decomposição dos iniciadores KPS, PBO e AIBN pode também ser observado na Figura 19. Sabe-se que a temperatura desempenha um papel fundamental sobre a geração de radicais de iniciador no meio reacional, o que em última instância define o comportamento cinético da reação, principalmente em sistemas de polimerização de caráter compartimentalizado como o processo de polimerização em miniemulsão. De acordo com a Figura 19, a concentração de radicais de iniciador disponível para nucleação das gotas de monômero aumenta significativamente à medida que a temperatura do meio reacional aumenta. Além disso, considerando os perfis de decomposição do KPS na faixa de temperatura avaliada (70 e 85 °C), uma concentração elevada de radicais de iniciador estará presente no meio reacional nos instantes iniciais da polimerização, o que conduzirá a elevadas taxas de reação. Este comportamento de geração de radicais corrobora com os perfis de conversão obtidos nas reações conduzidas com KPS, cujas conversões máximas são alcançadas nos primeiros quinze minutos de reação.

A despeito do efeito significativo da temperatura sobre a decomposição do iniciador, a disponibilidade de radicais de PBO é menor em comparação aos demais iniciadores. De acordo com os perfis apresentados é esperado que essas reações de polimerizações apresentem menores taxas de reação, contudo conversões elevadas podem ser obtidas a medida que novos radicais de PBO sejam gerados ao longo do tempo. Por este motivo, as polimerizações conduzidas com esse iniciador necessitaram de um tempo de reação maior, quando comparado ao tempo necessário para obter conversões similares em polimerizações conduzidas com KPS ou AIBN, como mostra a Figura 17.

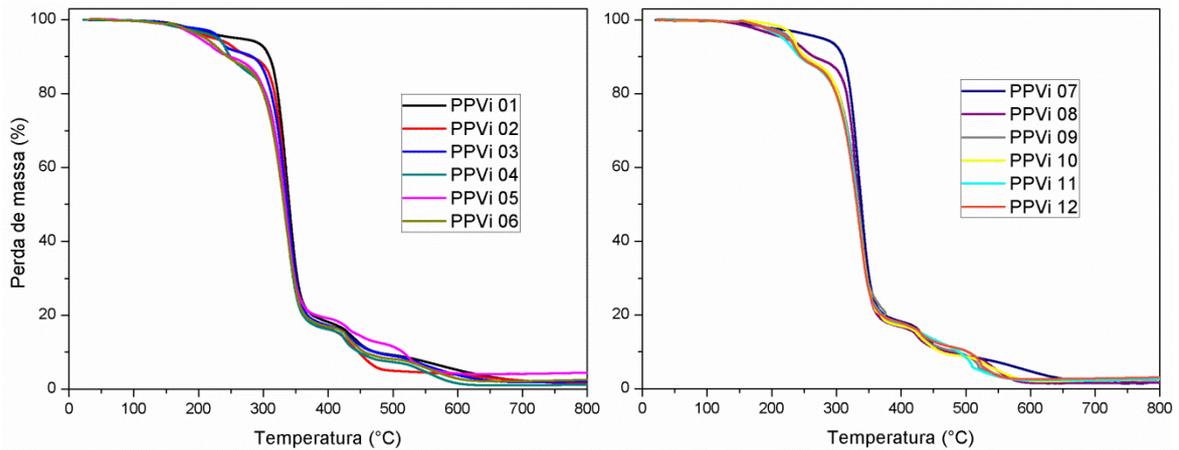
A Tabela 13 apresenta os valores das temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) dos látices obtidos através das curvas de DSC. A  $T_g$  é considerada um fenômeno de relaxamento, caracterizado por um aumento nos movimentos moleculares no polímero. Seus valores estão diretamente relacionados com a mobilidade das cadeias poliméricas amorfas e conseqüentemente espera-se que modifique com o tamanho das cadeias poliméricas, sendo obtidos, neste trabalho, valores entre 50 a 72 °C, dependendo das condições de polimerização. Assim, as amostras com menores massas molares apresentaram valores mais baixos de  $T_g$ , uma vez que apresentam maiores mobilidades moleculares.<sup>205</sup>

A temperatura de transição vítrea de todos os látices sintetizados neste trabalho foram inferiores em relação às amostras de PPVi obtidas por polimerização em suspensão ou em emulsão, na qual os valores de  $T_g$  foram em torno de  $81\text{ }^\circ\text{C}$ <sup>206, 207</sup> sob as mesmas faixas de massas molares médias. As reduções obtidas nos látices estão relacionadas ao processo de polimerização em miniemulsão, no qual se utiliza coestabilizador, hexadecano, que pode atuar no meio reacional como plastificante devido ser uma substância não volátil e permanecer na estrutura polimérica, ocasionando uma redução nas forças intermoleculares entre as cadeias, aumentando a mobilidade molecular e conseqüentemente reduzindo a  $T_g$ . O efeito plastificante também é notado nas miniemulsões obtidas com maiores quantidades de hexadecano, corroborando com os resultados anteriores, no qual há uma redução significativa da  $T_g$  com o aumento da concentração de coestabilizador.

**Tabela 13:** Temperaturas de transição vítrea das amostras de PPVi.

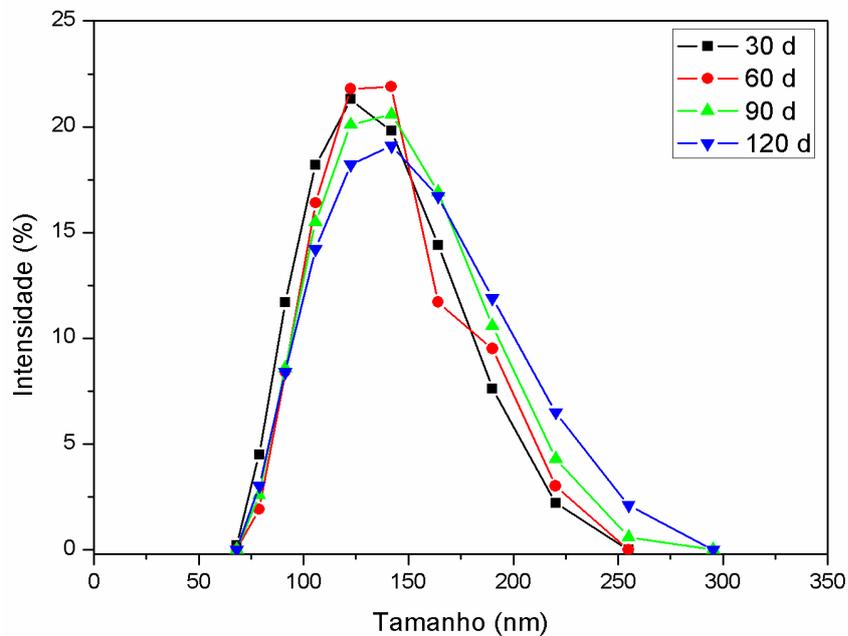
Ensaio	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	Ensaio	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )
PPVi – 01	69,7	PPVi – 07	68,0
PPVi – 02	60,3	PPVi – 08	59,7
PPVi – 03	62,8	PPVi – 09	62,2
PPVi – 04	54,5	PPVi – 10	50,6
PPVi – 05	71,7	PPVi – 11	72,3
PPVi – 06	70,1	PPVi – 12	60,5

A degradação térmica e a estabilidade dos látices obtidos foram avaliadas por análises termogravimétricas, sendo as curvas apresentadas na Figura 20. As amostras apresentaram perfis de decomposição semelhantes com quatro etapas de perda de massa distintas e elevada estabilidade térmica. A primeira etapa é atribuída à perda de água e de resíduos sólidos, correspondendo a uma perda de 6,5 - 10% até uma temperatura de  $300\text{ }^\circ\text{C}$ . A decomposição polimérica ocorre após a temperatura de  $300\text{ }^\circ\text{C}$  em três estágios. A segunda etapa observada no intervalo de  $300$  a  $400\text{ }^\circ\text{C}$  corresponde a principal perda de massa do polímero, aproximadamente 75%, sendo atribuída a eliminação das cadeias laterais do polímero, eliminação do grupo pivalato. A terceira e quarta etapa no intervalo de  $400$  a  $500\text{ }^\circ\text{C}$  e de  $500$  a  $700\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente, correspondendo a uma perda de aproximadamente 12% está relacionada à quebra do esqueleto polimérico e a decomposição da matéria orgânica.<sup>206, 207</sup> Devido a análise termogravimétrica ter sido realizada sob atmosfera inerte, observa-se um teor residual de 1,0 a 2,9% referente a resíduos carbonáceos do polímero.<sup>208</sup>



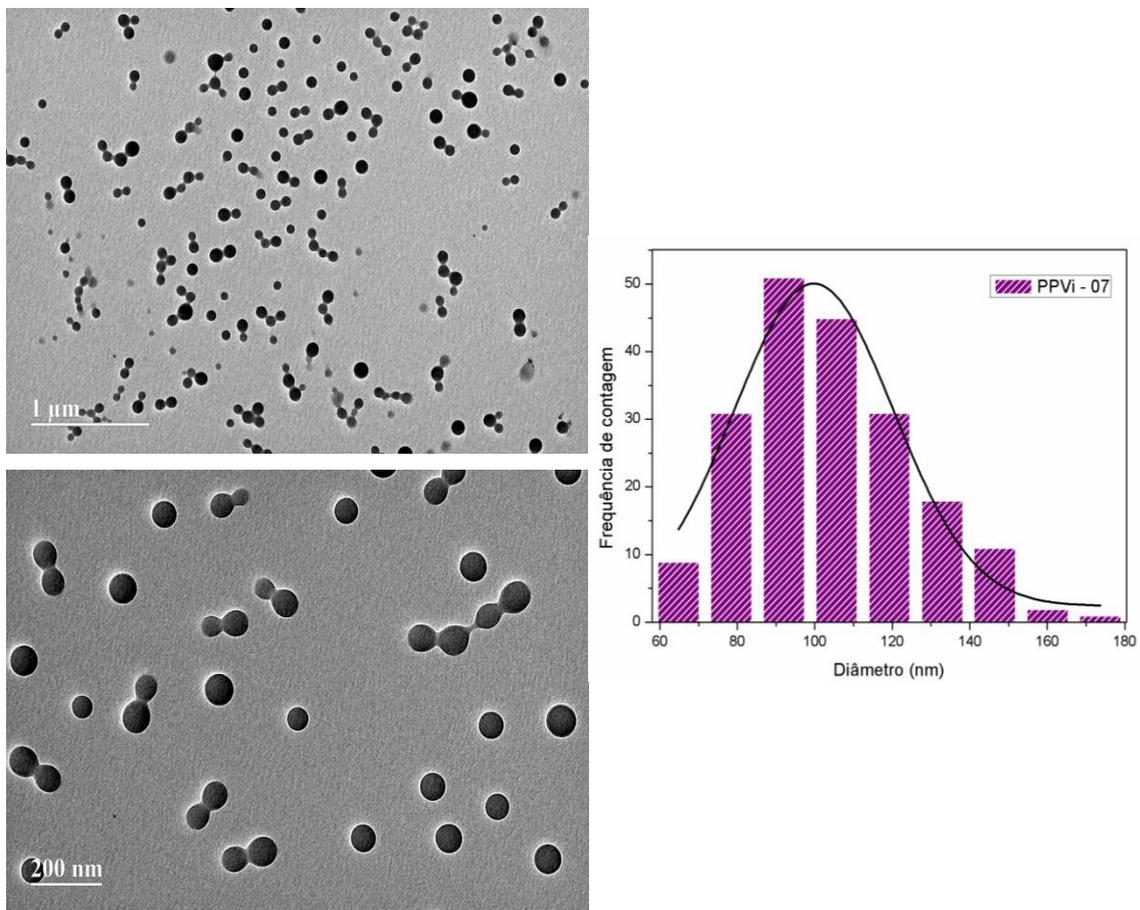
**Figura 20:** Curvas termogravimétricas das amostras de PPVi.

A estabilidade coloidal do PPVi foi analisada por espalhamento dinâmico de luz, determinando o  $D_p$  em diferentes intervalos de tempo, conforme mostra a Figura 21, sendo escolhida a amostra PPVi-11, pois os nanocompósitos magnéticos foram sintetizados baseando-se na formulação dessa amostra. Observa-se que o tamanho da partícula permaneceu praticamente constante após 120 dias de confinamento a temperatura ambiente. Esse resultado evidencia, portanto, a boa estabilidade do fluido polimérico.



**Figura 21:** Curvas de distribuição do tamanho de partícula do polímero PPVi-11 obtidas em diferentes intervalos de armazenamento.

A morfologia, o tamanho médio e a polidispersão da amostra de PPVi foi investigada pela técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET). A Figura 22 exibe as imagens MET das respectivas amostras e o histograma de distribuição de tamanho foi obtido medindo 200 partículas em 6 diferentes micrografias utilizando o *software ImageJ*. As micrografias mostram que o fluido polimérico apresenta dimensões nanométricas,  $97,2 \pm 21,8$  nm, de formato esférico bastante similar. O tamanho obtido por MET é um pouco menor quando comparado com o diâmetro médio hidrodinâmico obtido por DLS, isso ocorre, pois a técnica de espalhamento dinâmico de luz mede os movimentos brownianos e os relacionam ao tamanho da partícula.<sup>209</sup>

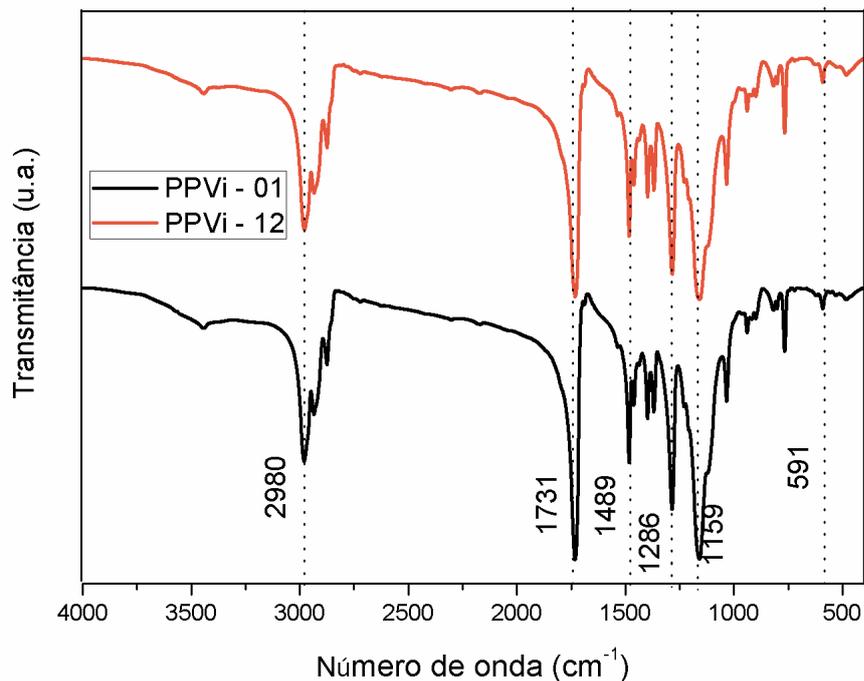


**Figura 22:** Micrografias obtidas por MET e histograma de distribuição de tamanho da amostra PPVi - 07.

Para a identificação e elucidação estrutural dos polímeros obtidos foram realizadas caracterizações usando as técnicas FTIR e  $^1\text{H}$ -RMN e  $^{13}\text{C}$ -RMN. A Figura 23 mostra o espectro vibracional na região do infravermelho das amostras PPVi - 01 e PPVi - 12. As

principais bandas de absorção e suas respectivas atribuições vibracionais estão apresentadas na Tabela 14.

O espectro vibracional das amostras apresentam bandas de absorção entre 2.980 e 2.870  $\text{cm}^{-1}$  característico de estiramento simétrico e assimétrico C-H  $\text{sp}^3$  ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ : 2.980  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ : 2.934  $\text{cm}^{-1}$  e  $\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$ : 2.870  $\text{cm}^{-1}$ ).<sup>206</sup> A banda em 1.731  $\text{cm}^{-1}$  e as bandas em 1.286 e 1.159  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas, respectivamente, ao estiramento C=O e C-O característico do grupamento éster presente na estrutura polimérica.<sup>196</sup> As absorções em 1.484 e 1.462  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à deformação angular de grupos metileno ( $\text{CH}_2$ ) e as bandas em 1.395 e 1.367  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à deformação angular  $-\text{CH}_3$  de grupos terc-butila.<sup>168</sup> As absorções em 940 e 591 são atribuídas à deformação angular fora do plano de C-H. A formação do polímero pode ser confirmada pela ausência de absorções em valores acima de 3.000  $\text{cm}^{-1}$  característico de estiramento de C-H  $\text{sp}^2$  e de bandas entre 1.660-1.600  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas ao estiramento da ligação C=C.<sup>210, 211</sup>



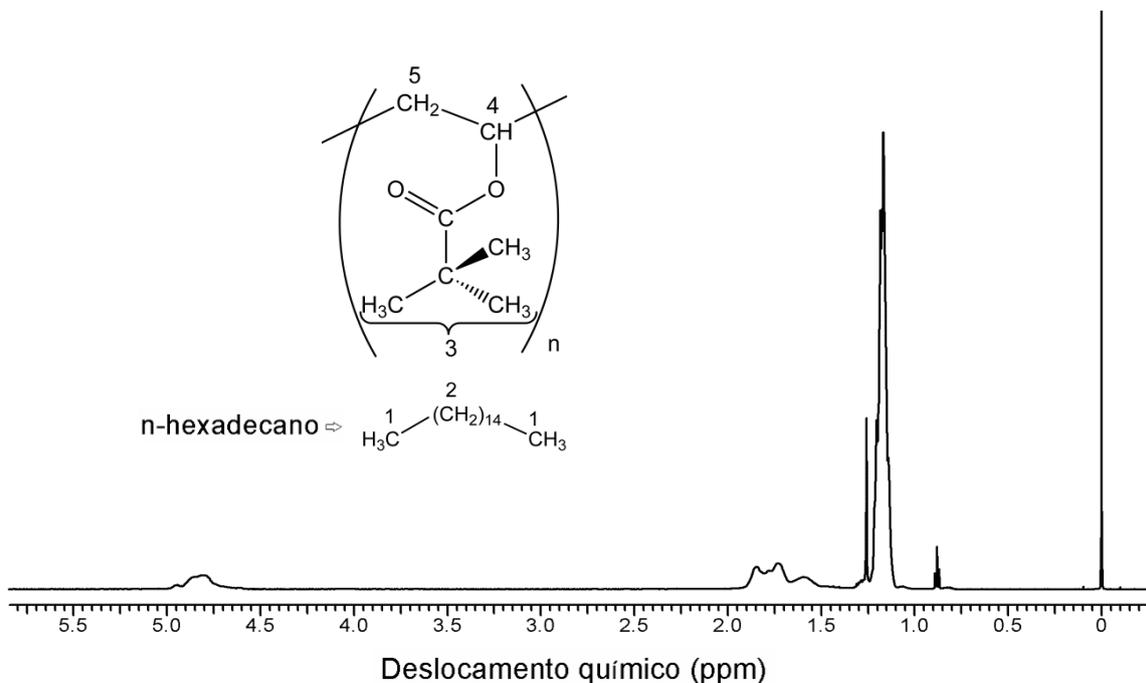
**Figura 23:** Espectros vibracionais das amostras PPVi - 01 e PPVi - 12 na região do infravermelho em pastilha de KBr.

**Tabela 14:** Principais bandas de absorção obtidas nos espectros FTIR relativas às amostras PPVi - 01 e PPVi - 12 e suas atribuições vibracionais.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições vibracionais
2.980-2.870	Vibrações de estiramento simétrico e assimétrico C-H sp <sup>3</sup>
1.731	Estiramento C=O de éster
1.484 e 1.462	Deformação angular de grupos metileno (CH <sub>2</sub> )
1.395 e 1.367	Deformação angular -CH <sub>3</sub> de grupos terc-butila
1.286 e 1.159	Estiramento C - O de éster
1.035	Deformação angular C - C
940 e 591	Deformação angular fora do plano C-H

A Figura 24 mostra o espectro de <sup>1</sup>H RMN da amostra PPVi - 02. O espectro exhibe picos característicos na região de 1,17 ppm atribuídos aos prótons situados no grupo terc-butila. O sinal em 1,78 ppm é indicativo dos prótons do grupo metileno (CH<sub>2</sub>) e o pico em 4,79 ppm é atribuído ao hidrogênio do grupo metino ligado ao oxigênio.<sup>196, 206</sup> A presença do coestabilizador, n-hexadecano, é confirmada pelos sinais em 0,88 e 1,26 ppm indicativo de grupos metila e metileno, respectivamente.<sup>168</sup> As respectivas atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios marcados nas estruturas da Figura 24 são apresentadas abaixo:

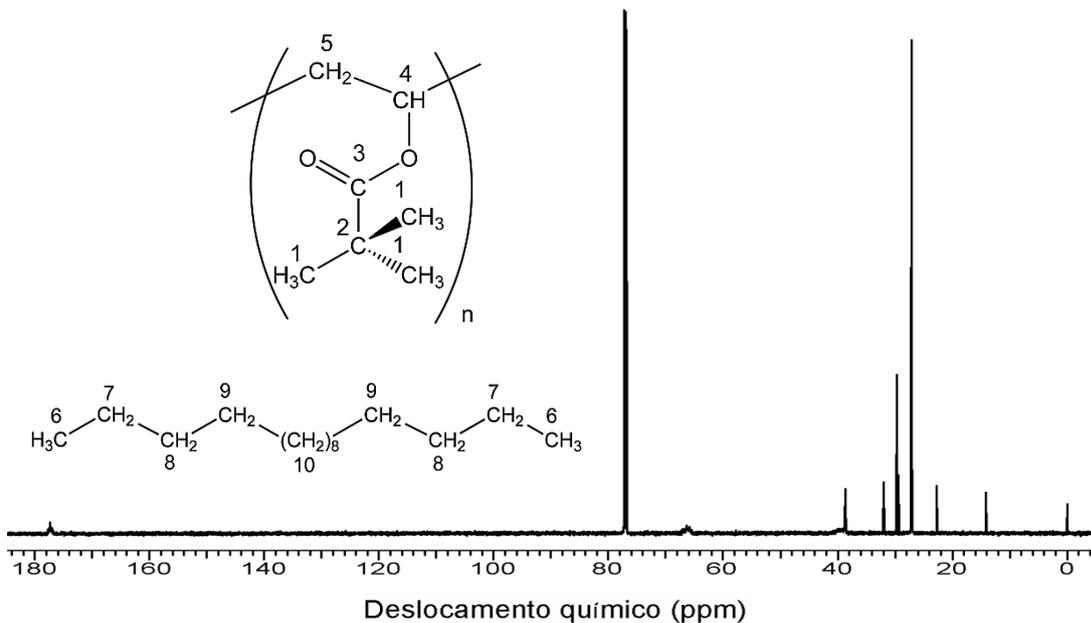
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) → ppm: 0.88 (6H, H<sub>1</sub>), 1.17 (9H, H<sub>3</sub>), 1.26 (28H, H<sub>2</sub>), 1.78 (2H, H<sub>5</sub>), 4.79 (1H, H<sub>4</sub>).



**Figura 24:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da amostra PPVi - 02.

A Figura 25 mostra o espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN da amostra de PPVi – 02. O pico localizado em 27,15 ppm é atribuído aos átomos de carbono ligados ao grupo terc-butila e o sinal em 38,65 ppm é referente ao carbono quaternário. Os carbonos metileno ( $\text{CH}_2$ ) e metino ( $\text{CH}$ ) do esqueleto polimérico aparecem, respectivamente, em 29,71 ppm e como um pico de baixa intensidade em 66,33 ppm. O pico de baixa intensidade em 177,12 é atribuído ao grupo carbonila do éster. A presença do coestabilizador, n-hexadecano, é confirmada pelos sinais em 14,13 ppm e entre 22,70 - 31,94 ppm indicativo dos grupos metila e metileno, respectivamente.<sup>168</sup> Esses resultados corroboram com os dados obtidos pela análise do espectro de  $^1\text{H}$  RMN, sendo atribuída a fórmula estrutural do PPVi e do hexadecano. As respectivas atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos marcados nas estruturas da Figura 25 são apresentadas abaixo:

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\rightarrow$  ppm: 14.13 ( $\text{C}_6$ ), 22.70 ( $\text{C}_7$ ), 27.15 ( $\text{C}_1$ ), 29.37 ( $\text{C}_9$ ), 29.66 ( $\text{C}_{10}$ ), 29.71 ( $\text{C}_5$ ), 31.94 ( $\text{C}_8$ ), 38.65 ( $\text{C}_2$ ), 66.33 ( $\text{C}_4$ ), 177.12 ( $\text{C}_3$ ).



**Figura 25:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da amostra PPVi – 02.

#### 5.4. Síntese de Nanocompósitos Magnetopoliméricos de Poli(pivalato de vinila) e nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico acrilado

O desenvolvimento de nanocompósitos magnetopoliméricos altamente estáveis, formados pela combinação de nanopartículas magnéticas dispersas em matrizes termoplásticas é bastante promissor para aplicações em diversas áreas tecnológicas e

biomédicas. Esses materiais apresentam propriedades desejáveis para a aplicação proposta como boa estabilidade térmica e coloidal, temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) satisfatória, tamanho nanométrico, possibilidade de obstrução mecânica necessária para embolização dos vasos sanguíneos que irrigam tecidos tumorais, capacidade de tratamento térmico sobre a área lesionada, entre outros.

Os nanocompósitos de PPVi/OM-AOA foram obtidos pela incorporação *in situ* de nanopartículas de OM-AOA em matrizes termoplásticas de poli(pivalato de vinila) através da técnica de polimerização em miniemulsão. A escolha do processo de polimerização se deve ao melhor controle do tamanho e do número de partícula e sua distribuição durante a polimerização e da morfologia e fração de polímero na dispersão coloidal quando comparados a outras técnicas de polimerização.

Na síntese de obtenção dos fluidos magnetopoliméricos, utilizou-se um menor tempo de reação (1 h) quando comparado as de obtenção do poli(pivalato de vinila), 4 h. Observou-se que as conversões máximas, para a formação dos nanocompósitos, foram alcançadas de forma abrupta entre 15 e 30 min de reação e que após esse período ocorreu a formação de um estado “borrachoso” que se aglomerou na hélice do reator. A formação desse material ocasionou erros na leitura para os cálculos da conversão, e esse fato pode ser explicado devido à temperatura de polimerização ser próxima à temperatura de transição vítrea do material polimérico e à presença das nanopartículas magnéticas que apresentam susceptibilidade à aglomeração.

Nessas sínteses, foi utilizado como iniciador o AIBN. Os iniciadores PBO e KPS não foram utilizados, devido ambos se comportarem como fortes oxidantes, fazendo como que os radicais desses iniciadores atuem na oxidação das nanopartículas, transformando-as em nanopartículas de magnetita parcialmente oxidadas. Esse fator ocasiona a diminuição significativa da conversão devido a carência de radicais de iniciador no meio reacional, uma vez que parte destes são utilizados na oxidação das nanopartículas magnéticas.<sup>206</sup>

Os nanocompósitos foram sintetizados usando diferentes proporções em massa de OM-AOA em relação ao teor de pivalato de vinila, 5,0 %, 10,0 % e 20,0 %. Observou-se em testes realizados, que a introdução de elevados teores de OM-AOA, como 50,0% em massa, ocasionava no final da síntese, apesar do cisalhamento, uma elevada quantidade de nanopartículas decantadas, que não foram encapsuladas com o PPVi e baixo rendimento.

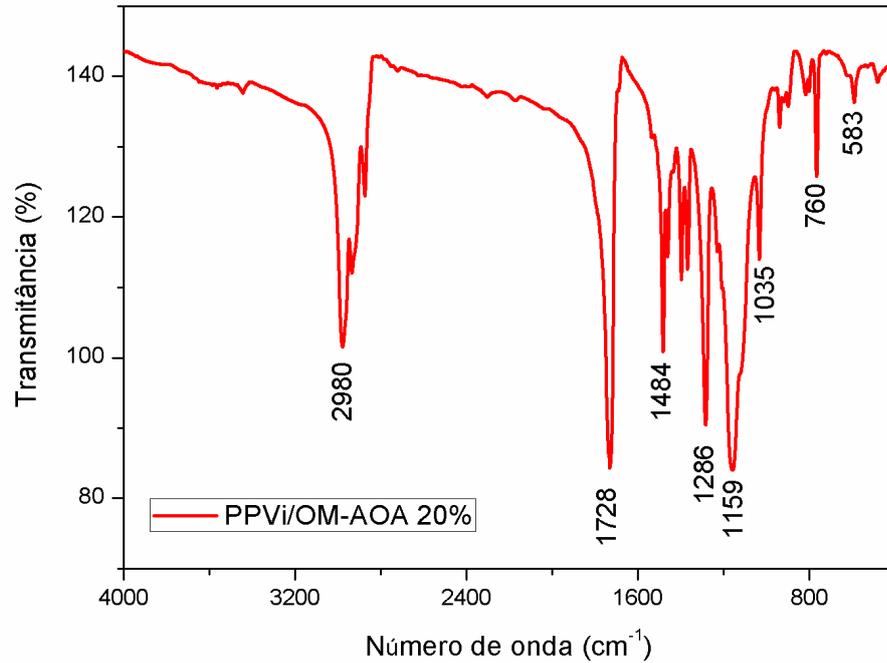
A Tabela 15 apresenta os valores da conversão, diâmetro médio e PDI inicial e final das gotas de monômero e dos nanocompósitos poliméricos. A conversão obtida foi inferior em relação ao látex, PPVi-11, com mesma formulação sem presença das nanopartículas

magnéticas. De forma similar aos látex obtidos com o uso do iniciador AIBN, verificou-se a diminuição do diâmetro médio das nanopartículas ao longo da reação.

**Tabela 15:** Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão (PDI) dos nanocompósitos obtidos.

Ensaio	Conversão (%)	Dp inicial (nm)	PdI inicial	Dp final (nm)	PdI Final
PPVi/OM-AOA 5%	82,0	172,1	0,255	163,7	0,145
PPVi/OM-AOA 10%	74,3	198,8	0,232	148,0	0,121
PPVi/OM-AOA 20%	72,0	187,2	0,195	173,6	0,131

A Figura 26 mostra o espectro vibracional na região do infravermelho da amostra PpVi/OM-AOA 20%. As principais bandas de absorção e suas respectivas atribuições vibracionais estão apresentadas na Tabela 16. O espectro apresenta bandas de absorção entre 2980 e 2865  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento simétrico e assimétrico C-H  $\text{sp}^3$  ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ : 2.980  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ : 2.925  $\text{cm}^{-1}$  e  $\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$ : 2.865  $\text{cm}^{-1}$ ) presente na matriz polimérica de PpVi e no material de revestimento das nanopartículas, ácido oleico acrilado.<sup>206</sup> A banda em 1.728  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento C=O e as bandas em 1.286 e 1.159  $\text{cm}^{-1}$  ao estiramento C-O, sendo característicos de grupamento éster presente na estrutura polimérica.<sup>196</sup> A absorção em 1.484  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à deformação angular de grupos metileno ( $\text{CH}_2$ ) e as bandas em 1.396 e 1.367  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à deformação angular  $-\text{CH}_3$  de grupos terc-butila.<sup>168</sup> A banda atribuída ao estiramento do grupo carboxilato ( $\text{COO}^-$ ), presente na estrutura OM-AOA, é sobreposta por essas duas últimas absorções. As bandas em 940 e 583  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à deformação angular fora do plano de C-H.<sup>210, 211</sup> A absorção em 583  $\text{cm}^{-1}$  é também atribuída ao estiramento Fe-O de sítios tetraédricos, no qual o aumento da intensidade comparado ao espectro do PpVi, Figura 23, confirma a presença das nanopartículas magnéticas na amostra.



**Figura 26:** Espectro vibracional da amostra PPVi/OM-AOA 20%, obtido em pastilha de KBr.

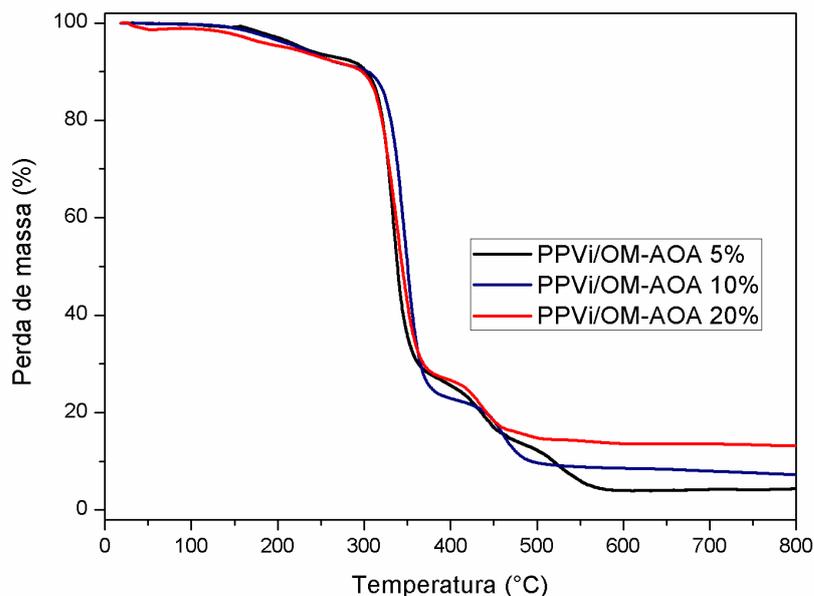
**Tabela 16:** Principais bandas de absorção obtidas no espectro FTIR relativas à amostra PPVi/OM-AOA 20%.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições vibracionais
2.980-2.870	Vibrações de estiramento simétrico e assimétrico C-H sp <sup>3</sup>
1.731	Estiramento C=O de éster
1.484 e 1.462	Deformação angular de grupos metileno (CH <sub>2</sub> )
1.395 e 1.367	Deformação angular -CH <sub>3</sub> de grupos terc-butila
1.286 e 1.159	Estiramento C-O de éster
1.035	Deformação angular C-C
940 e 583	Deformação angular fora do plano C-H
583	Estiramento Fe-O de sítios tetraédricos

A Figura 27 ilustra as curvas termogravimétricas das amostras PPVi/OM-AOA. Os nanocompósitos apresentaram perfis de decomposição semelhantes à matriz polimérica, com quatro etapas de perda de massa distintas com presença de massa residual referente ao material inorgânico. O primeiro evento térmico observado até temperatura de 300°C é atribuído à perda de água e de resíduos sólidos correspondendo a uma perda de aproximadamente 9,2%. A decomposição da matriz polimérica é observada em três estágios na faixa de temperatura de 300 a 700 °C, no qual o intervalo de 300 a 420 °C corresponde a

principal perda de massa, entre 58 a 70%, sendo atribuída à eliminação das cadeias laterais do polímero, eliminação do grupo pivalato. Nesta etapa também ocorre simultaneamente a decomposição do material de revestimento das nanopartículas magnéticas, ácido oleico acrilado. A terceira etapa no intervalo de 420 a 500 °C corresponde a quebra do esqueleto polimérico, com perda de massa entre 13 e 14%, e o quarto evento térmico, entre 500 a 700 °C, corresponde a decomposição da matéria orgânica, com perda de massa entre 3,0 e 8,2%.<sup>206</sup>

Considerando a oxidação total da matéria inorgânica, o percentual de resíduo com teores de 4,6% (PPVi/OM-AOA 5%), 6,6% (PPVi/OM-AOA 10%) e 13,2% (PPVi/OM-AOA 20%), corresponde ao material inorgânico, nanopartículas magnéticas, presente em diferentes proporções em massa nos nanocompósitos. A diminuição do teor de nanopartículas incorporadas a matriz polimérica, em relação à quantidade utilizada nas sínteses, está relacionada à perda do material durante o processo de polimerização.



**Figura 27:** Curva termogravimétrica das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%.

As  $T_g$  dos nanocompósitos de PPVi/OM-AOA foram determinadas por medidas de DSC e os resultados são apresentados na Tabela 17. Observa-se que as  $T_g$  dos nanocompósitos são menores quando comparadas ao valor obtido do polímero precursor, PPVi-11, o que resulta principalmente do aumento da concentração de AIBN, saindo de 0,02 g (PPVi puro) para 0,04 g (nanocompósitos). No entanto, nota-se também que o aumento de teor em massa das nanopartículas aumenta a  $T_g$  dos nanocompósitos. A presença das

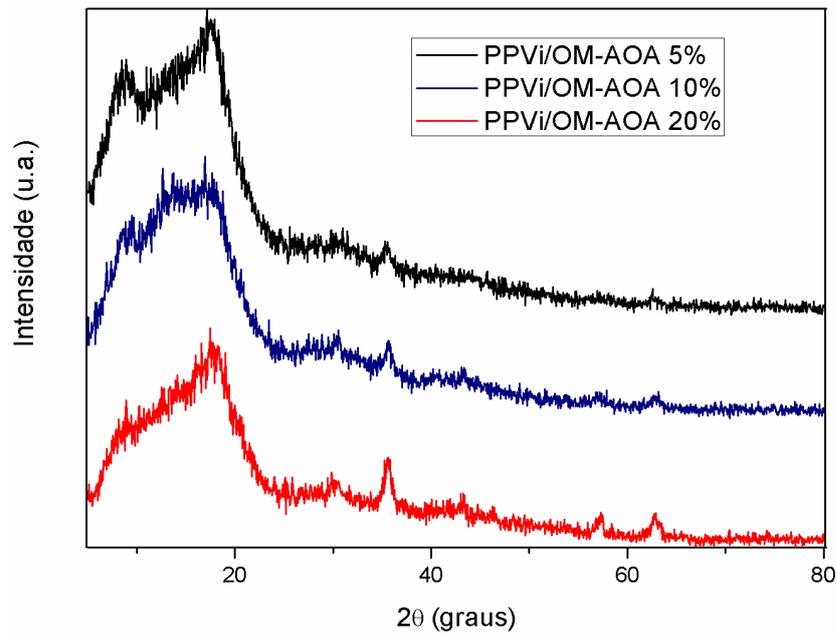
nanopartículas na matriz polimérica pode acarretar um efeito mútuo, isto é, reduzir ou aumentar a  $T_g$ . A diminuição está associada ao aumento da mobilidade das cadeias poliméricas devido à dificuldade de interação das cadeias de material, reduzindo a  $T_g$ . Considerando um aumento na proporção em massa do material magnético, a presença deste restringe movimentos das cadeias poliméricas durante o aquecimento e conseqüentemente aumenta  $T_g$  dos nanocompósitos resultantes.<sup>212, 213</sup> Outro fator a considerar, é a presença do material de revestimento, AOA, que apresenta em sua estrutura um grupo funcional reativo, ácido acrílico, que pode polimerizar com a espécie monomérica. Neste caso, a ocorrência da copolimerização altera significativamente a  $T_g$  do nanocompósito.<sup>44</sup>

**Tabela 17:** Temperaturas de transição vítrea das amostras de PPVi/OM-AOA.

Ensaio	Resíduo (%)	AIBN (g)	$T_g$ (°C)
PPVi	-----	AIBN – 0,02 g	71,7
PPVi/OM-AOA 5%	4,6	AIBN – 0,04g	56,2
PPVi/OM-AOA 10%	6,6	AIBN – 0,04 g	57,1
PPVi/OM-AOA 20%	13,2	AIBN – 0,04 g	62,5

A Figura 28 apresenta os difratogramas das amostras dos nanocompósitos de PPVi/OM-AOA. A presença do PPVi é evidenciada através do halo amorfo com picos em  $2\theta = 9,1^\circ$  e  $17,8^\circ$ .<sup>206</sup> A presença das nanopartículas magnéticas é confirmada através dos picos de difração em  $2\theta = 30,2^\circ$ ,  $35,5^\circ$ ,  $43,1^\circ$ ,  $57,2^\circ$  e  $62,6^\circ$ , os quais são referentes às reflexões dos planos cristalinos (220), (311), (400), (511) e (440), respectivamente, indicando a presença de estrutura cristalina cúbica do tipo espinélio típica de magnetita e/ou maguemita.<sup>55, 214</sup> A baixa intensidade dos picos referentes às nanopartículas magnéticas é explicada pela menor proporção dessas em relação a quantidade de PPVi nas amostras.

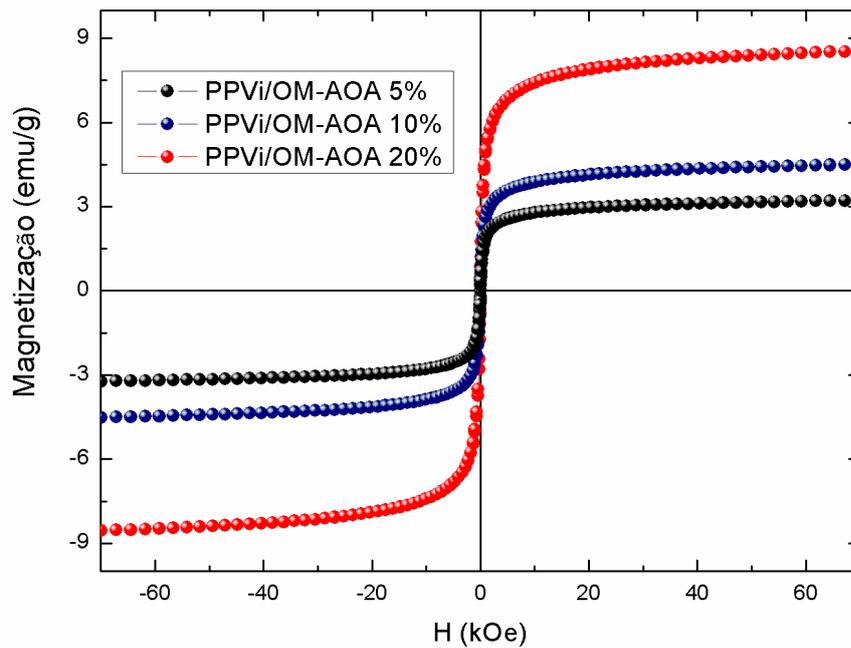
As estimativas dos parâmetros de rede (a), estequiometria e tamanho médio dos cristalitos ( $D_{DRX}$ ) foram determinados conforme descrito no item 5.2 (pág. 53 e 54) deste trabalho. Esses parâmetros foram determinados apenas para a amostra de PPVi/OM-AOA 20% devido os picos das nanopartículas serem mais intensos e apresentarem melhor relação sinal/ruído.



**Figura 28:** Difratogramas das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%.

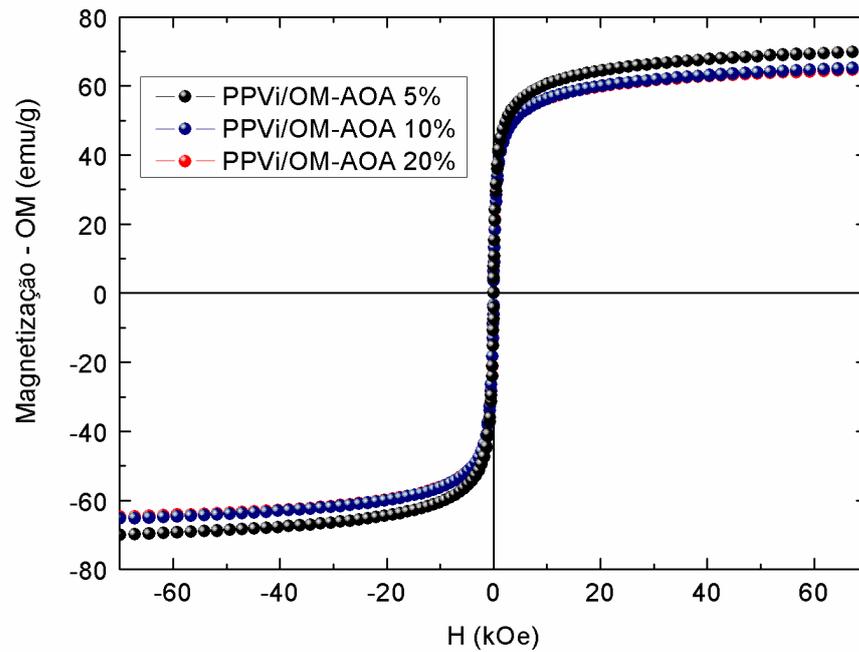
O parâmetro de rede ( $a$ ), a estequiometria e o tamanho médio dos cristalitos ( $D_{\text{DRX}}$ ) obtidos foram de, respectivamente, 8,371 Å,  $\text{Fe}_{2,88}\text{O}_4$  e 9,06 nm. Esses resultados ao serem comparados com os dados obtidos da amostra OM-AOA ( $a$ : 8,375 Å, estequiometria:  $\text{Fe}_{2,90}\text{O}_4$  e  $D_{\text{DRX}}$ : 9,99 nm) evidenciam que o processo de polimerização, usando os parâmetros reacionais, ocasionou pequena oxidação das nanopartículas.

O comportamento magnético dos nanocompósitos magnetopoliméricos de PPVi/OM-AOA à temperatura ambiente é mostrado na Figura 29. As amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20% apresentam magnetização de saturação ( $M_s$ ) de: 3,21, 4,41 e 8,52  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente. Observa-se que as curvas de magnetização não apresentam ciclo de histerese, com valores coercividade e magnetização remanescentes pouco significativos, indicando que as nanopartículas magnéticas presentes preservam comportamento superparamagnético. Os valores mais baixos da magnetização de saturação em comparação aos resultados obtidos para a amostra OM (68,7  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ ) é explicado pela existência de material não magnético, PPVi, presente nas amostras.



**Figura 29:** Curvas de saturação magnética à temperatura ambiente das amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%.

Como a magnetização de saturação é expressa em unidades eletromagnéticas por grama,  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ , foram determinados os valores de magnetização de saturação das nanopartículas magnéticas presente nos nanocompósitos utilizando os dados da análise termogravimétrica, no qual os nanocompósitos apresentaram 4,6% (PPVi/OM-AOA 5%), 6,6% (PPVi/OM-AOA 10%) e 13,2% (PPVi/OM-AOA 20%) de material inorgânico. A Figura 30 mostra o comportamento magnético das nanopartículas magnéticas presente nos nanocompósitos à temperatura ambiente. As curvas mostraram magnetização de saturação para nanopartículas magnéticas presente nos nanocompósitos de 68,2, 66,8 e 64,5  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$  para as amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%, respectivamente. Observa-se uma pequena diminuição da magnetização de saturação quando comparado à amostra OM (68,7  $\text{emu}\cdot\text{g}^{-1}$ ), o que indica parcial oxidação do material inorgânico.

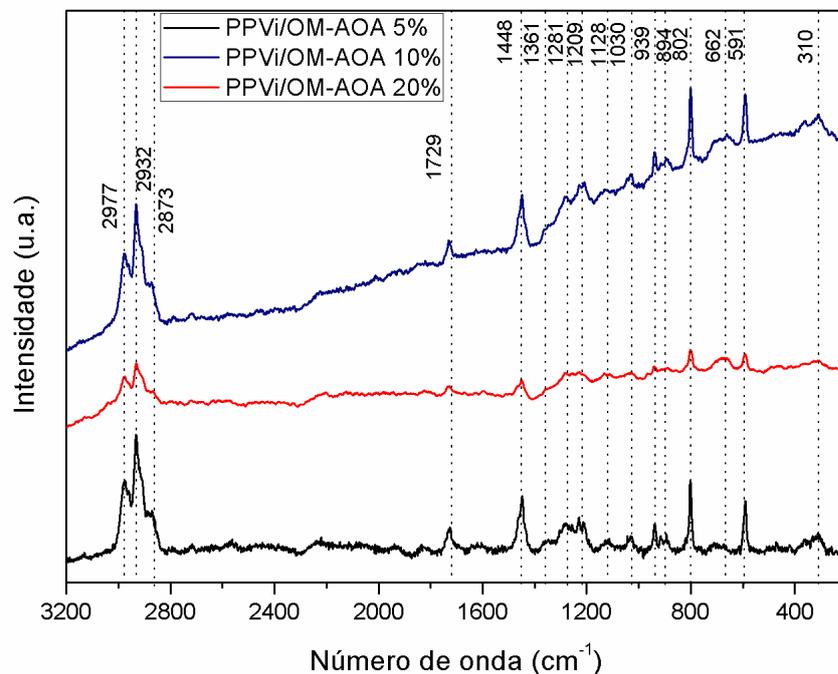


**Figura 30:** Curvas de saturação magnética à temperatura ambiente das nanopartículas magnéticas presentes nas amostras PPVi/OM-AOA 5%, PPVi/OM-AOA 10% e PPVi/OM-AOA 20%.

A espectroscopia Raman é uma ferramenta poderosa na caracterização de nanopartículas magnéticas dispersas em matrizes poliméricas, permitindo determinar, nos nanocompósitos de PPVi/OM-AOA, a interação do ácido oleico acrilado-óxido magnético e nanopartículas-polímero. A Figura 31 ilustra os espectros vibracionais Raman dos nanocompósitos. A presença de PPVi é evidenciada pelos modos entre  $3.000$  e  $2.800\text{ cm}^{-1}$  atribuídos ao estiramento C-H  $sp^3$ , em  $1.729$  e  $1.128\text{ cm}^{-1}$  característicos do estiramento C=O e C-O, respectivamente, do grupamento éster<sup>215</sup> e em  $1.281\text{ cm}^{-1}$  correspondendo a deformação angular do grupo  $CH_2$ <sup>216</sup> O modo de absorção em  $1.448\text{ cm}^{-1}$  corresponde à deformação angular do grupo O-H presente na estrutura do AOA.<sup>217</sup> A presença de OM é confirmada através das bandas em  $310$  e  $662\text{ cm}^{-1}$  referentes aos modos vibracionais  $E_g$  e  $A_{1g}$ , respectivamente, atribuídas à fase magnetita.<sup>218</sup>

A interação do AOA com as nanopartículas OM é definida pelo modo em  $1.361\text{ cm}^{-1}$  característico de estiramento do grupo carboxilato ( $COO^-$ ), corroborando com os resultados de FTIR (Figura 7), sugerindo que as interações ocorrem no grupo ácido carboxílico. A ausência do modo de estiramento C=C em torno de  $1.655\text{ cm}^{-1}$  pode indicar que a ligação dupla do AOA foi desfeita,<sup>219</sup> sugerindo uma copolimerização entre o material de revestimento das nanopartículas com o pivalato de vinila, o que pode explicar o aumento da  $T_g$  dos nanocompósitos (Tabela 17) à medida que a fração de nanopartículas magnéticas é

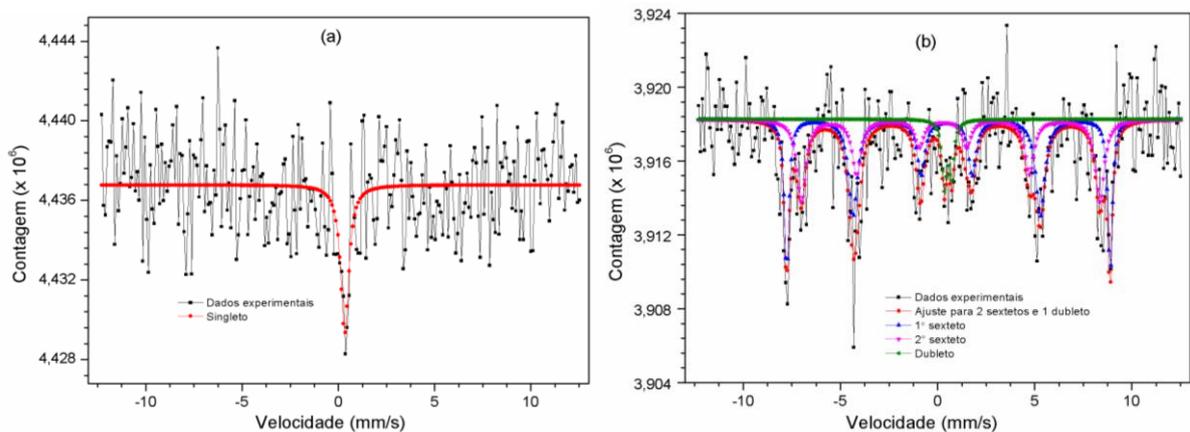
aumentada. A despeito disso, a  $T_g$  dos nanocompósitos é reduzida significativamente em comparação aos valores obtidos para as amostras dos homopolímeros de pivalato de vinila. É possível que esta redução na  $T_g$  resulte do efeito plastificante do ácido oleico acrilado, em pequeno excesso, oriundo da etapa de modificação superficial das nanopartículas magnéticas. Em trabalhos recentes do nosso grupo de pesquisa foram obtidos copolímeros utilizando monômeros derivados do ácido oleico, no qual apresentaram uma redução nos valores de  $T_g$  em relação ao homopolímero vinílico,<sup>44, 207, 220-223</sup> cujo comportamento é atribuído a um efeito combinado de reações de transferência de cadeia responsáveis pela formação de cadeias poliméricas de menor tamanho (e conseqüente redução da massa molar média) e ação plastificante do ácido modificado residual que aumenta a mobilidade molecular das cadeias poliméricas. Há relatos também do efeito estabilizante do ácido oleico sobre as gotas de monômero em polimerizações de estireno em processo de polimerização em suspensão, onde foi observada uma redução do tamanho das partículas poliméricas magnéticas à medida que o teor de nanopartículas magnéticas com superfície modificada com ácido oleico dispersas na fase orgânica foi aumentado.<sup>224</sup>



**Figura 31:** Espectros vibracionais Raman dos nanocompósitos PPVi/OM-AOA.

A Figura 32 mostra os espectros de Mössbauer obtido da amostra PPVi/OM-AOA 20% à temperatura ambiente e à temperatura de nitrogênio líquido e os parâmetros obtidos dos ajustes dos espectros são apresentados na Tabela 18. O espectro à temperatura ambiente foi ajustado em um único singleto. A presença do singleto pode ser explicado pela morfologia da amostra e ao pequeno tamanho das nanopartículas magnéticas.<sup>103, 225</sup> Desta forma, as nanopartículas superparamagnéticas ao serem encapsuladas à matriz polimérica apresentam pouca interação magnética e conseqüentemente as interações hiperfinas, desdobramento quadrupolar (DQ) e campo magnético hiperfino (Bhf), são nulas, acarretando a formação do singleto. Na literatura é relatado à temperatura ambiente em nanocompósitos de PPMA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> a presença de um singleto com  $DI = 0,32 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ .<sup>226</sup>

O espectro à temperatura de nitrogênio líquido foi ajustado em dois sextetos e um dubleto. Os dois sextetos correspondem aos sítios tetraédrico e octaédrico da magnetita com valores das interações hiperfinas de acordo com relatos da literatura referentes à magnetita.<sup>227</sup> A presença do dubleto se deve a característica do comportamento superparamagnético causada pela distribuição das nanopartículas de magnetita no nanocompósito.

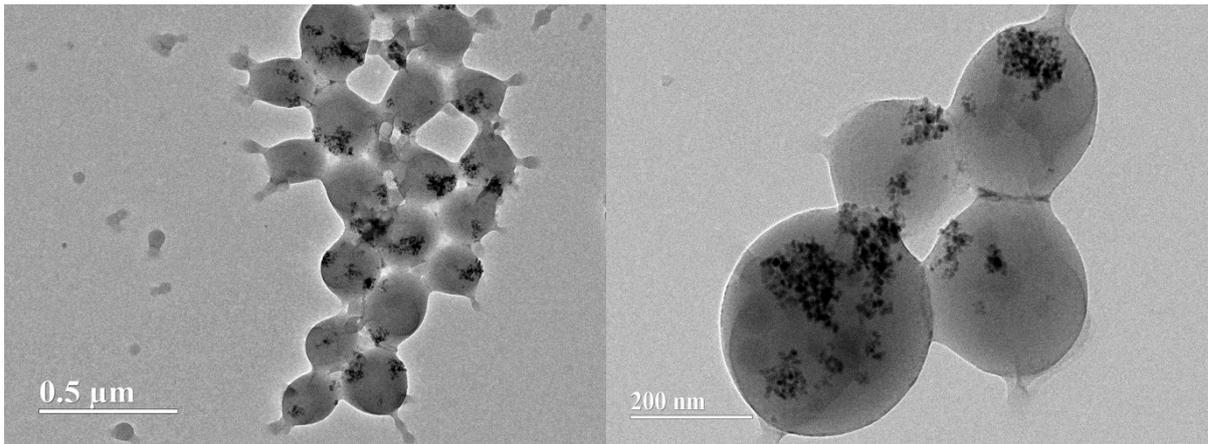


**Figura 32:** Espectros Mössbauer da amostra PPVi/OM-AOA 20% obtidos à temperatura ambiente (a) e à temperatura de nitrogênio líquido (b).

**Tabela 18:** Parâmetros obtidos dos ajustes do espectro Mössbauer registrado à temperatura ambiente e temperatura de nitrogênio líquido da amostra PPVi/OM-AOA 20%. Os valores de deslocamento isomérico (DI), desdobramento quadrupolar (DQ), campo magnético hiperfino ( $B_{hf}$ ) e área relativa (%).

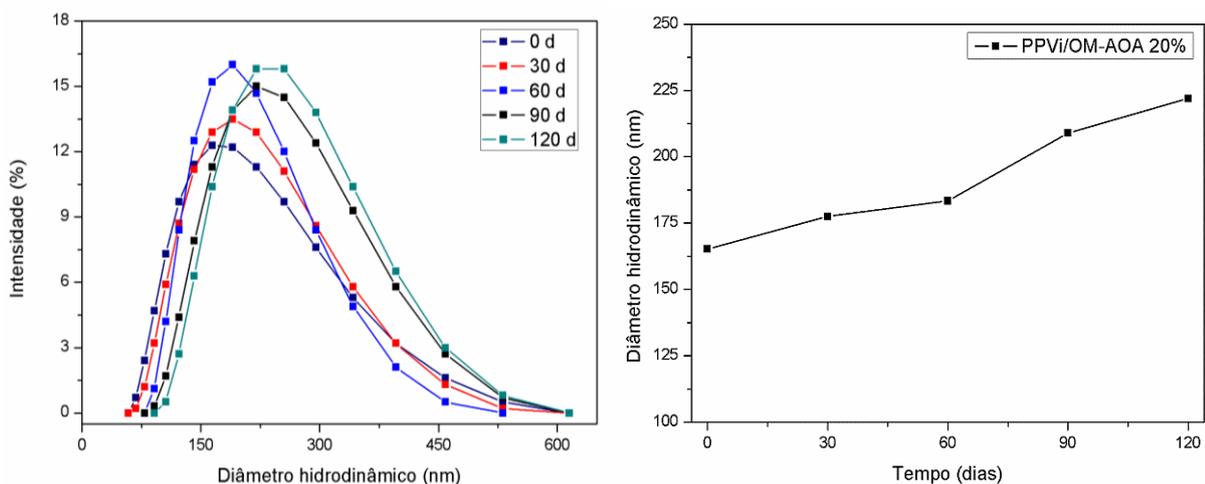
Componentes	DI ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ )	DQ ( $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ )	$B_{hf}$ (kOe)	Área (%)
Temperatura ambiente				
Singleto	0,34±0,050	0	0	100,0
Temperatura de nitrogênio líquido				
Sexteto 1	0,51±0,024	0,09±0,049	51,73±0,138	53,8
Sexteto 2	0,48±0,053	0,39±0,104	47,74±0,390	38,6
Dubleto	0,54±0,075	0,37±0,113	0	7,6

A morfologia do nanocompósito de PPVi/OM-AOA 20% foi investigada pela técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET). As micrografias do nanocompósito são mostradas na Figura 33. As imagens confirmam que a amostra PPVi/OM-AOA 20% apresenta dimensões nanométricas e formato esférico. Observa-se que as nanopartículas magnéticas estão encapsuladas na matriz polimérica. Não foi possível obter o histograma de distribuição de tamanho devido a quantidade insuficiente de partículas nas micrografias (menor que 300 partículas). O tamanho médio e o desvio padrão de 50 partículas foi de  $196 \pm 100,37$  nm. O alto desvio padrão medido indica alta dispersão do tamanho em relação à média obtida. É observado nas micrografias, que o material magnético interfere no tamanho final do nanocompósito, como mostra na Figura 33 à direita. Esse fato pode ser explicado pelos seguintes fatores: *i*) a tendência de aglomeração das nanopartículas magnéticas; *ii*) alta concentração de nanopartículas presentes; *iii*) insuficiência do processo de homogeneização e *iv*) baixa concentração de coestabilizador ocasionando a desestabilização das nanogotas.



**Figura 33:** Micrografias obtidas por MET da amostra PPVi/OM-AOA 20%.

A estabilidade coloidal do PPVi/OM-AOA 20% foi analisada no intervalo de 120 dias, no qual a amostra permaneceu armazenada a temperatura ambiente. A Figura 34 mostra as curvas de distribuição do tamanho do nanocompósito obtidas em diferentes intervalos de tempo, utilizando a técnica de DLS. Observou-se que o tamanho da nanopartícula permaneceu praticamente constante nos primeiros 60 dias e após esse período apresentou aumento relativo de aproximadamente 40 nm, indicando que a amostra apresenta estabilidade coloidal considerável e o aumento do tamanho está relacionado à tendência de aglomeração das nanopartículas.



**Figura 34:** Curvas de distribuição do tamanho de partícula do nanocompósito PPVi/OM-AOA 20% (à esquerda) e a respectiva variação do diâmetro hidrodinâmico (à direita) obtida em diferentes intervalos de tempo

### 5.5. Viabilidade celular do polímero PPVi e do nanocompósito PPVi/OM-AOA 20%

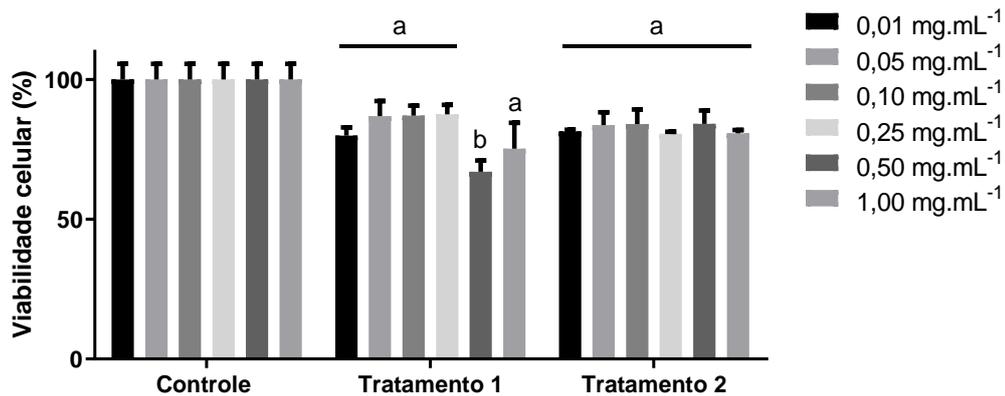
Os materiais obtidos, PPVi e PPVi/OM-AOA, apresentam propriedades físico-químicas promissoras para a aplicação biomédica desejada. No entanto, esses novos materiais necessitam de estudos referentes à sua citotoxicidade, toxicidade e biodistribuição, bem como, a realização de testes preliminares que indiquem ao material requisitos necessários para sua ação embolizante e aplicação em hipertermia.

Como mencionado anteriormente, atualmente há poucos relatos na literatura sobre o PPVi, a formação de nanocompósitos com essa matriz polimérica, bem como, estudos de viabilidade celular. A realização dos ensaios *in vitro* torna-se importante neste aspecto, pois avalia a toxicidade do material em relação a células específicas, apresentando dados estatísticos que predizem a compatibilidade deste com o organismo.

A possível atividade citotóxica do nanocompósito PPVi/OM-AOA 20% (tratamento 1) e do polímero PPVi-11 (tratamento 2) foi avaliada para linhagens tumorais murinas de adenocarcinoma mamário (4T1, ATCC<sup>®</sup> CRL-2539<sup>TM</sup>) transfectadas com a enzima luciferase (4T1-luciferase ou 4T1-luc), melanoma (B16F10), células de fibroblasto embrionário murinas (NIH/3T3, ATCC<sup>®</sup> CRL-1658<sup>TM</sup>) e queratinócitos humanos HaCat.

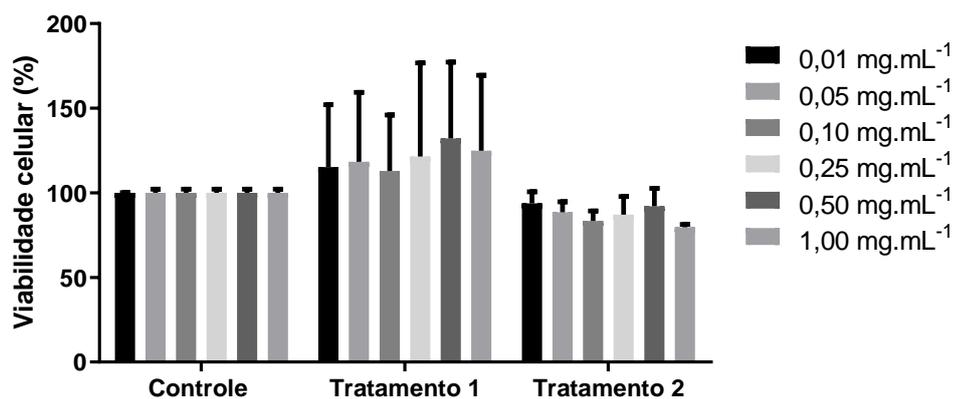
Foi testado o tempo de tratamento de 24 h para as linhagens citadas anteriormente utilizando as concentrações de 0,01 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,05 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,1 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg·mL<sup>-1</sup>, 0,5 mg·mL<sup>-1</sup> e 1,0 mg·mL<sup>-1</sup> do nanocompósito (tratamento 2) e do polímero (tratamento 1) e. Os ensaios foram realizados em triplicatas, bem como do experimento independente, uma vez que o controle é utilizado para comparação dos resultados, sendo este realizado com água ultrapura, representando 100% de viabilidade celular para cada linhagem utilizada.

A Figura 35 apresenta os resultados da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de melanoma murino B16F10. Nos testes realizados observa-se uma diminuição significativa da viabilidade celular após 24 h de exposição ( $p < 0,05$ ) quando comparado com o controle. Para o tratamento 1 observa-se que o ensaio realizado na concentração de 0,5 mg·mL<sup>-1</sup> ocasionou maior citotoxicidade com diminuição da viabilidade celular de 40%. As demais concentrações diminuíram a viabilidade celular em 20%. No tratamento 2, manteve-se uma diminuição em torno de 20% da viabilidade celular em todas as concentrações testadas.



**Figura 35:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de melanoma murino B16F10 após 24 h de exposição nas concentrações de  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $1,00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

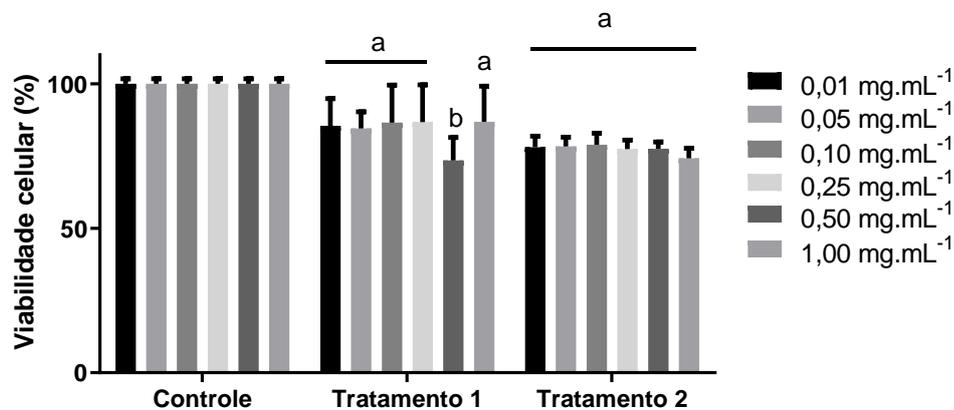
A Figura 36 apresenta os resultados da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de carcinoma mamário murino 4T1 Luciferase. Para esta linhagem observou-se que não houve diferença significativa nos ensaios após 24 h de exposição para os tratamentos 1 e 2 quando comparado com o controle. Entretanto, os dados referentes ao tratamento 1 apresentaram desvio padrão muito elevado podendo representar uma não reprodutibilidade para esta linhagem neste tempo analisado.



**Figura 36:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de carcinoma mamário murino 4T1 Luciferase após 24 h de exposição nas concentrações de  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $1,00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Como comparativo entre células tumorais e não tumorais, foram realizados ensaios com células não patológicas de fibroblasto embrionário murinas e queratinócitos humanos HaCat, no escopo de ponderar a especificidade da atividade em células tumorais, avaliando se nas células não-tumorais a pendência de citotoxicidade é igual, superior ou com nenhuma alteração com os mesmos tratamentos, tempo e concentrações de amostras utilizadas para as células tumorais citadas anteriormente.

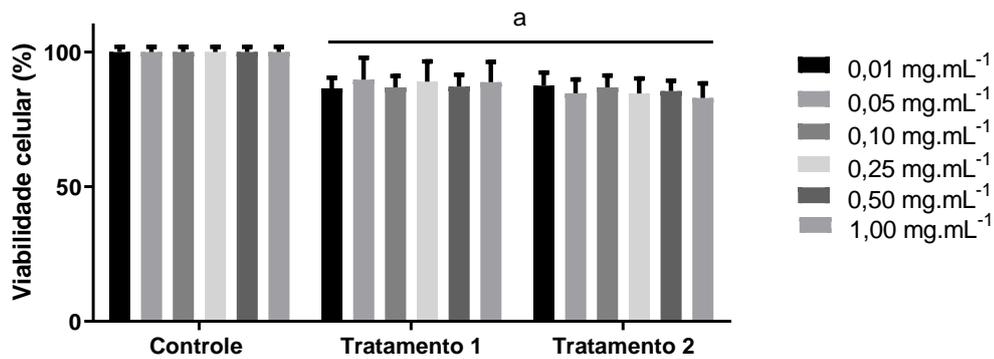
Células de fibroblasto embrionário murino foram utilizadas como comparativo com a linhagem tumoral de câncer de mama 4T1 Luciferase. A Figura 37 apresenta os resultados da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de fibroblasto embrionário murino. De acordo com os dados obtidos neste estudo, notou-se que ambos os tratamentos apresentaram diminuição significativa da viabilidade celular ( $p < 0,05$ ) quando comparado com o controle. O tratamento 1 apresentou maior citotoxicidade na concentração de  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  com diminuição da viabilidade celular de 30%. No tratamento 2 a redução foi igual para todas as concentrações no valor de 30%.



**Figura 37:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células de fibroblasto embrionário murinas NIH/3T3 após 24 h de exposição  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0,50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $1,00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

A linhagem celular de queratinócitos humanos (HaCat) foi inserida no contexto deste estudo como comparativo com a linhagem de B16F10, visto que esta última trata-se de um carcinoma de pele e a HaCat um queratinócito normal. Desta forma, associado aos dados obtidos dos ensaios com as células de fibroblasto embrionário poderá corroborar para a avaliação mais detalhada sobre citotoxicidade das amostras em estudo. A Figura 38 apresenta os resultados da atividade citotóxica das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e

PPVi-11 (tratamento 2) em células de queratinócitos humanos (HaCat). Após 24 horas de exposição aos dois tratamentos, foi possível observar que ambos tratamentos apresentam a mesma tendência comportamental com diminuição significativa da viabilidade celular de 20% em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ).



**Figura 38:** Avaliação da atividade citotóxica das amostras das amostras PPVI/OM-AOA 20% (tratamento 1) e PPVi-11 (tratamento 2) em células queratinócitos humanos (HaCat) após 24 h de exposição 0,01 mg.mL<sup>-1</sup>, 0,05 mg.mL<sup>-1</sup>, 0,10 mg.mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg.mL<sup>-1</sup>, 0,50 mg.mL<sup>-1</sup> e 1,00 mg.mL<sup>-1</sup>.

Como mencionado, não há relatos na literatura de ensaios de citotoxicidade das amostras analisadas no presente estudo. No entanto, nanocompósitos tem sido intensivamente investigados para diversas aplicações biomédicas, sendo necessário estudos referente a viabilidade celular do material. Kelshtkar et al.<sup>228</sup> avaliaram a citotoxicidade *in vitro* de nanopartículas magnéticas de magnetita e ouro (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au) conjugadas com o aptâmero AS1411 em células 4T1 e fibroblastos de prepúcio humano como controle (HFFF-PI6). Foi observada boa biocompatibilidade da amostra e não toxicidade significativa nas células 4T1 e HFFF-PI6 até a concentração de 45 e 60 µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Mahmoudi et al.<sup>229</sup> investigou os efeitos de biocompatibilidade/toxicidade celular de nanopartículas magnéticas revestidas com poli (álcool vinílico)-PVA em linhagem de fibroblastos L929. As amostras avaliadas, exceto as nanopartículas não revestidas, apresentaram baixo efeito tóxico na concentração aplicada mais alta de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (20 mmol.L<sup>-1</sup>).

Como observado em outros trabalhos, materiais com viabilidade celular superior a 80% podem ser considerados biocompatíveis.<sup>230</sup> Portanto, diante dos resultados obtidos com o estudo, pode-se considerar que as amostras não apresentam toxicidade representativa para células não tumorais e tumorais, podendo estas serem destinadas a outros estudos biológicos como ensaios *in vivo*, com finalidade mais específicas para determinada patologia pretendida.

## 6. CONCLUSÕES

A introdução de um grupo funcional reativo à cadeia do ácido oleico foi obtida através do processo de epoxidação seguido do processo de acrilção, que foram confirmados pelas técnicas de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear, sendo que estes processos ocorrem no carbono insaturado do ácido oleico. O ácido oleico acrilado obtido apresentou maior estabilidade térmica quando comparado ao seu precursor, ácido oleico.

As nanopartículas magnéticas revestidas com ácido oleico acrilado apresentaram estrutura cristalina cúbica do tipo espinélio com um teor de 10,3% de material orgânico revestindo suas superfícies, tamanho médio de 9,5 nm e morfologia esférica, magnetização de saturação de  $61,2 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$  e propriedades superparamagnéticas. O revestimento proporcionou biocompatibilidade, estabilidade térmica e aumento da eficiência de encapsulação em matrizes poliméricas. As propriedades estruturais, magnéticas e morfológicas do material magnético não foram afetadas significativamente durante o processo de revestimento.

Pelo processo de polimerização em miniemulsão obteve-se um fluido polimérico de PPVi altamente estável com conversões de aproximadamente 85%. Os efeitos do iniciador, da temperatura de polimerização e concentração do coestabilizador interferiram nas propriedades finais do polímero. A diminuição do diâmetro médio das partículas ao longo da reação foi observada nas formulações que usaram KPS e AIBN como iniciador, ocasionado pelo processo de nucleação homogênea. As maiores massas molares médias  $841$  e  $902 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ , foram observadas nas reações conduzidas em temperaturas mais baixas ( $70 \text{ }^\circ\text{C}$ ), com menor concentração de coestabilizador e com uso de KPS e AIBN. O uso do processo de miniemulsão ocasionou diminuição das temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) de todas as amostras obtidas, valores entre  $50$  a  $72 \text{ }^\circ\text{C}$ , quando comparada a outras técnicas de polimerização encontradas na literatura, como a polimerização em suspensão ou em emulsão, na qual os valores de  $T_g$  foram em torno de  $81 \text{ }^\circ\text{C}$ , apresentando um decréscimo entre 11% à 37%. A diminuição da  $T_g$  é explicada pelo uso do coestabilizador que atua no meio reacional como plastificante e permanece na estrutura polimérica, ocasionando uma redução nas forças intermoleculares entre as cadeias, aumentando a mobilidade molecular e consequentemente reduzindo a  $T_g$ .

Os nanocompósitos obtidos pela incorporação *in situ* de nanopartículas de OM-AOA em matrizes termoplásticas de poli(pivalato de vinila), PPVi, através da técnica de

polimerização em miniemulsão apresentaram altas conversões em poucos minutos de síntese e relativa estabilidade coloidal. O processo de polimerização em miniemulsão garantiu a encapsulação das nanopartículas magnéticas na matriz polimérica, mantendo suas propriedades estequiométricas, estruturais e cristalinas das nanopartículas. Os nanocompósitos apresentaram menores valores de  $T_g$  comparados ao precursor polimérico, PPVi, com resultados de espectroscopia Raman indicando uma possível copolimerização entre o material de revestimento, AOA, e o monômero vinílico.

A atividade citotóxica do polímero e do nanocompósito avaliada para linhagens tumorais murinas de adenocarcinoma mamário transfectadas com a enzima luciferase, melanoma, células de fibroblasto embrionário murina e queratinócitos humanos exibiu resultados que permitiram concluir que as amostras apresentam baixos índices de citotoxicidade, sendo indicada para estudos posteriores envolvendo os tratamentos de embolização vascular e hipertermia.

## 7. TRABALHOS FUTUROS

Visto a potencialidade dos fluídos magnetopoliméricos obtidos neste trabalho em relação ao seu uso no tratamento de tumores via procedimento de embolização intravascular e hipertermia, torna-se imprescindível uma abordagem mais profunda sobre as propriedades físico-químicas do nanocompósito, no qual poderá ser estudado a influência de diferentes proporções em massa do material magnético OM-AOA em relação ao teor de pivalato de vinila, da quantidade de coestabilizador, bem como, a busca de um melhoramento da dispersão das nanopartículas na matriz polimérica e da estabilidade coloidal e a realização de caracterizações como a determinação da taxa de absorção específica (SAR) para análise da eficácia no tratamento por hipertermia.

Em relação à aplicabilidade do material e do ótimo resultado obtido nos ensaios de viabilidade celular, como sugestão de continuação do estudo, a realização de testes *in vivo* para investigação da potencialidade do nanocompósito como agente embólico e seu uso em hipertermia.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] É.L.R. Dantas, F.H.d.L. Sá, S.M.d.F. Carvalho, A.P. Arruda, E.M. Ribeiro, E.M. Ribeiro. Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 2009; 55 (3): 263-269.
- [2] M.A.R. Martinez, G. Francisco, L.S. Cabral, I.R.G. Ruiz, C. Festa Neto. Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2006; 81 405-419.
- [3] W.A. Rivoire, E. Capp, H.v.E. Corleta, I.S.B.d. Silva. Bases Biomoleculares da Oncogênese Cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 2001; 47 (2): 179-184.
- [4] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 2018; 68 (6): 394-424.
- [5] INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**, 2017; Rio de Janeiro.
- [6] S.J. Sohl, J.B. Schnur, G.H. Montgomery. A meta-analysis of the relationship between response expectancies and cancer treatment-related side effects. **Journal of Pain and Symptom Management**, 2009; 38 (5): 775-784.
- [7] L. Wayteck, K. Breckpot, J. Demeester, S.C. De Smedt, K. Raemdonck. A personalized view on cancer immunotherapy. **Cancer Letters**, 2014; 352 (1): 113-125.
- [8] A.E. Deatsch, B.A. Evans. Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 354: 163-172.
- [9] G. Espinosa, L.C.d. Miranda, V.A.d.C. Matias, J.L.T.d. Fonseca, V.L.A. Chagas, F.L.D. Rocha. Pre operative embolization of renal tumors with microspherical particles of national technology (Spherus®-First line Brasil). **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, 2008; 35 (1): 51-55.
- [10] D.T. Ginat, W.E. Saad, U.C. Turba. Transcatheter renal artery embolization: clinical applications and techniques. **Techniques in vascular and interventional radiology**, 2009; 12 (4): 224-239.
- [11] V. Verret, M. Wassef, J.-P. Pelage, S.H. Ghegediban, L. Jouneau, L. Moine, D. Labarre, J. Golzarian, I. Schwartz-Cornil, A. Laurent. Influence of degradation on inflammatory profile of polyphosphazene coated PMMA and trisacryl gelatin

- microspheres in a sheep uterine artery embolization model. **Biomaterials**, 2011; 32 (2): 339-351.
- [12] E.M. Múzquiz-Ramos, V. Guerrero-Chávez, B.I. Macías-Martínez, C.M. López-Badillo, L.A. García-Cerda. Synthesis and characterization of maghemite nanoparticles for hyperthermia applications. **Ceramics International**, 2015; 41 (1, Part A): 397-402.
- [13] E. Burchardt, A. Roszak. Hyperthermia in cervical cancer – current status. **Reports of Practical Oncology & Radiotherapy**, 2018; 23 (6): 595-603.
- [14] K.T. Brown, L.A. Brody, D.R. Decorato, G.I. Getrajdman. Portal vein embolization with use of polyvinyl alcohol particles. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, 2001; 12 (7): 882-886.
- [15] L. Jianhong, H. Xianliang, J. Xuewu. Transcatheter arterial embolization in the treatment of extensive maxillofacial hemangioma in children. **World Journal of Surgery**, 2005; 29 (12): 1550-6.
- [16] J.K. Wu, A. Bisdorff, F. Gelbert, O. Enjolras, P.E. Burrows, J.B. Mulliken. Auricular arteriovenous malformation: evaluation, management, and outcome. **Plastic and reconstructive surgery**, 2005; 115 (4): 985-995.
- [17] G.R. Ferreira, T. Segura, F.G. de Souza Jr, A.P. Umpierre, F. Machado. Synthesis of poly(vinyl acetate)-based magnetic polymer microparticles. **European Polymer Journal**, 2012; 48 (12): 2050-2069.
- [18] M. Guzinski, J. Kurcz, K. Tupikowski, E. Antosz, P. Slowik, J. Garcarek. The Role of Transarterial Embolization in the Treatment of Renal Tumors. **Advances Clinical Experimental Medicine**, 2015; 24 (5): 837-843.
- [19] M.A. Sinkler, M. Bosley. Massive hepatic adenoma response to bland embolization: A case study. **Radiology Case Reports**, 2019; 14 (1): 48-51.
- [20] S.Q. Wolfe, H. Farhat, M.S. Elhammady, R. Moftakhar, M.A. Aziz-Sultan. Transarterial embolization of a scalp hemangioma presenting with Kasabach-Merritt syndrome. **Journal of Neurosurgery: Pediatrics**, 2009; 4 (5): 453-457.
- [21] L. Mordasini, L. Hechelhammer, P.-A. Diener, J. Diebold, A. Mattei, D. Engeler, G. Müllhaupt, S.-K. Kim, H.-P. Schmid, D. Abt. Prostatic Artery Embolization in the Treatment of Localized Prostate Cancer: A Bicentric Prospective Proof-of-Concept Study of 12 Patients. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, 2018; 29 (5): 589-597.

- [22] H. Rahimi, A.C. Venbrux, V. Obias. Successful embolization of a enterocutaneous fistula tract with Onyx 34 following low anterior resection for rectal cancer. **Radiology Case Reports**, 2018; 13 (3): 728-731.
- [23] P. Rasuli, I. Hammond, B. Al-Mutairi, G.J. French, J. Aquino, A. Hadziomerovic, S. Goulet, E.E. Jolly. Spherical versus conventional polyvinyl alcohol particles for uterine artery embolization. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, 2008; 19 (1): 42-46.
- [24] Y.S. Do, K.B. Park, H.S. Park, S.K. Cho, S.W. Shin, J.W. Moon, D.-I. Kim, Y.W. Kim, I.S. Chang, S.H. Lee, H.Y. Hwang, J.H. Hwang, I.-W. Choo. Extremity Arteriovenous Malformations Involving the Bone: Therapeutic Outcomes of Ethanol Embolotherapy. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, 2010; 21 (6): 807-816.
- [25] I.S. Smolkova, N.E. Kazantseva, K.N. Makoveckaya, P. Smolka, P. Saha, A.M. Granov. Maghemite based silicone composite for arterial embolization hyperthermia. **Materials Science and Engineering: C**, 2015; 48: 632-641.
- [26] J.M. Asua. Miniemulsion polymerization. **Progress in Polymer Science**, 2002; 27 (7): 1283-1346.
- [27] D. Ramimoghadam, S. Bagheri, S.B.A. Hamid. Progress in electrochemical synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 368: 207-229.
- [28] C. Yang, J. Wu, Y. Hou. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanostructures: synthesis, growth mechanism, properties and applications. **Chemical Communications**, 2011; 47 (18): 5130-5141.
- [29] Q.L. Jiang, S.W. Zheng, R.Y. Hong, S.M. Deng, L. Guo, R.L. Hu, B. Gao, M. Huang, L.F. Cheng, G.H. Liu, Y.Q. Wang. Folic acid-conjugated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for hyperthermia and MRI in vitro and in vivo. **Applied Surface Science**, 2014; 307: 224-233.
- [30] X. Chen, H. Lv, M. Ye, S. Wang, E. Ni, F. Zeng, C. Cao, F. Luo, J. Yan. Novel superparamagnetic iron oxide nanoparticles for tumor embolization application: preparation, characterization and double targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, 2012; 426 (1-2): 248-55.
- [31] IUPAC In: *Basic definitions of terms relating to polymers*; ed.<sup>^</sup>eds., **Macromolecular division: Comission on macromolecular nomenclature**, 1974; Vol., pp. 478-491.
- [32] F. Machado, E.L. Lima, J.C. Pinto. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. **Polímeros**, 2007; 17: 166-179.

- [33] D. Crespy, K. Landfester. Miniemulsion polymerization as a versatile tool for the synthesis of functionalized polymers. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, 2010; 6: 1132-1148.
- [34] F.J. Schork, Y. Luo, W. Smulders, J.P. Russum, A. Butté, K. Fontenot. **Miniemulsion Polymerization**, Advances in Polymer Science, 2005; 175: 129-255.
- [35] J. Ugelstad, M.S. El-Aasser, J.W. Vanderhoff. Emulsion polymerization: Initiation of polymerization in monomer droplets. **Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition**, 1973; 11 (8): 503-513.
- [36] A. Mahdieh, A.R. Mahdavian, H. Salehi-Mobarakeh. Chemical modification of magnetite nanoparticles and preparation of acrylic-base magnetic nanocomposite particles via miniemulsion polymerization. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2017; 426: 230-238.
- [37] M. Esfandyari-Manesh, B. Darvishi, F.A. Ishkuh, E. Shahmoradi, A. Mohammadi, M. Javanbakht, R. Dinarvand, F. Atyabi. Paclitaxel molecularly imprinted polymer-PEG-folate nanoparticles for targeting anticancer delivery: Characterization and cellular cytotoxicity. **Materials Science and Engineering: C**, 2016; 62: 626-633.
- [38] M. Elgammal, R. Schneider, M. Gradzielski. Development of self-curable hybrid pigment inks by miniemulsion polymerization for inkjet printing of cotton fabrics. **Dyes and Pigments**, 2016; 133: 467-478.
- [39] T. Aikawa, A. Mizuno, M. Kohri, T. Taniguchi, K. Kishikawa, T. Nakahira. Polystyrene latex particles containing europium complexes prepared by miniemulsion polymerization using bovine serum albumin as a surfactant for biochemical diagnosis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2016; 145: 152-159.
- [40] E. Baruch-Teblum, Y. Mastai, K. Landfester. Miniemulsion polymerization of cyclodextrin nanospheres for water purification from organic pollutants. **European Polymer Journal**, 2010; 46 (8): 1671-1678.
- [41] M.P. Oliveira. **Síntese de novos estabilizantes poliméricos do tipo poli(álcool vinílico-co-neo decanoato de vinila) para utilização na copolimerização em miniemulsão do acetato de vinila (VAc) com o neo-nonanoato de vinila (VEOVA-9)**. Escola de Engenharia de Lorena - USP, EEL, Brasil: Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais, 2010.
- [42] M. Antonietti, K. Landfester. Polyreactions in miniemulsions. **Progress in Polymer Science**, 2002; 27 (4): 689-757.
- [43] K. Landfester, F.J. Schork, V.A. Kusuma. Particle size distribution in mini-emulsion polymerization. **Comptes Rendus Chimie**, 2003; 6 (11-12): 1337-1342.

- [44] A.T. Jensen, C. Sayer, P.H.H. Araújo, F. Machado. Emulsion copolymerization of styrene and acrylated methyl oleate. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2014; 116 (1): 37-43.
- [45] L.I. Ronco, R.J. Minari, L.M. Gugliotta. Particle nucleation using different initiators in the miniemulsion polymerization of styrene. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 2015; 32: 191-200.
- [46] J.A. Rawlston, J. Guo, F.J. Schork, M.A. Grover. A kinetic Monte Carlo study on the nucleation mechanisms of oil-soluble initiators in the miniemulsion polymerization of styrene. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 2008; 46 (18): 6114-6128.
- [47] P.E. Feuser, A.C. Fernandes, M. Nele, A.d.C. Viegas, E. Ricci-Junior, A.C. Tedesco, C. Sayer, P.H.H. de Araújo. Simultaneous encapsulation of magnetic nanoparticles and zinc phthalocyanine in poly(methyl methacrylate) nanoparticles by miniemulsion polymerization and in vitro studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2015; 135: 357-364.
- [48] S. Hasany, I. Ahmed, J. Rajan, A. Rehman. Systematic review of the preparation techniques of iron oxide magnetic nanoparticles. **Nanoscience and Nanotechnology**, 2012; 2 (6): 148-158.
- [49] D.S. Mathew, R.-S. Juang. An overview of the structure and magnetism of spinel ferrite nanoparticles and their synthesis in microemulsions. **Chemical Engineering Journal**, 2007; 129 (1-3): 51-65.
- [50] C. Wang, S. Yang, H. Chang, Y. Peng, J. Li. Structural effects of iron spinel oxides doped with Mn, Co, Ni and Zn on selective catalytic reduction of NO with NH<sub>3</sub>. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 2013; 376: 13-21.
- [51] J. Xu, H. Yang, W. Fu, K. Du, Y. Sui, J. Chen, Y. Zeng, M. Li, G. Zou. Preparation and magnetic properties of magnetite nanoparticles by sol-gel method. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2007; 309 (2): 307-311.
- [52] C.J. Belle, A. Bonamin, U. Simon, J. Santoyo-Salazar, M. Pauly, S. Bégin-Colin, G. Pourroy. Size dependent gas sensing properties of spinel iron oxide nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2011; 160 (1): 942-950.
- [53] M. Morel, F. Martínez, E. Mosquera. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles from mineral magnetite. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2013; 343: 76-81.
- [54] M.D. Carvalho, F. Henriques, L.P. Ferreira, M. Godinho, M.M. Cruz. Iron oxide nanoparticles: the Influence of synthesis method and size on composition and magnetic properties. **Journal of Solid State Chemistry**, 2013; 201: 144-152.

- [55] J. Mürbe, A. Rechtenbach, J. Töpfer. Synthesis and physical characterization of magnetite nanoparticles for biomedical applications. **Materials Chemistry and Physics**, 2008; 110 (2–3): 426-433.
- [56] R.M. Cornell, U. Schwertmann. **The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses**. John Wiley & Sons, 2006.
- [57] W.S. Neto, A.T. Jensen, G.R. Ferreira, L.F. Valadares, R. Gambetta, S.B. Goncalves, F. Machado. A Survey on Synthesis Processes of Structured Materials for Biomedical Applications: Iron-based Magnetic Nanoparticles, Polymeric Materials and Polymerization Processes. **Current Pharmaceutical Design**, 2015; 21 (37): 5336-5358.
- [58] D. Gherca, N. Cornei, O. Mentré, H. Kabbour, S. Daviero-Minaud, A. Pui. In situ surface treatment of nanocrystalline  $MFe_2O_4$  (M= Co, Mg, Mn, Ni) spinel ferrites using linseed oil. **Applied Surface Science**, 2013; 287: 490-498.
- [59] J. de Castro Dias, I.M. Martin, E.L. Nohara, M.C. Rezende. Refletividade de Fótons Microondas por Tintas Poliuretânicas Aditadas com Ferritas de NiZn e MnZn. **Revista de Física Aplicada e Instrumentação**, 2005; 18 (1): 24-33.
- [60] J. Töpfer, A. Angermann. Nanocrystalline magnetite and Mn–Zn ferrite particles via the polyol process: Synthesis and magnetic properties. **Materials Chemistry and Physics**, 2011; 129 (1–2): 337-342.
- [61] K. Rajendran, V. Karunagaran, B. Mahanty, S. Sen. Biosynthesis of hematite nanoparticles and its cytotoxic effect on HepG2 cancer cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2015; 74: 376-381.
- [62] Z. Liao, H. Wang, X. Wang, C. Wang, X. Hu, X. Cao, J. Chang. Biocompatible surfactin-stabilized superparamagnetic iron oxide nanoparticles as contrast agents for magnetic resonance imaging. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2010; 370 (1–3): 1-5.
- [63] A. Yilmaz, S. Rösch, K. Klingel, R. Kandolf, X. Helluy, K.-H. Hiller, P.M. Jakob, U. Sechtem. Magnetic resonance imaging (MRI) of inflamed myocardium using iron oxide nanoparticles in patients with acute myocardial infarction—preliminary results. **International journal of cardiology**, 2013; 163 (2): 175-182.
- [64] A.H. Rezayan, M. Mousavi, S. Kheirjou, G. Amoabediny, M.S. Ardestani, J. Mohammadnejad. Monodisperse magnetite ( $Fe_3O_4$ ) nanoparticles modified with water soluble polymers for the diagnosis of breast cancer by MRI method. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2016; 420: 210-217.

- [65] P.N. Singh, D. Tiwary, I. Sinha. Improved removal of Cr(VI) by starch functionalized iron oxide nanoparticles. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2014; 2 (4): 2252-2258.
- [66] S.C. Tang, I.M. Lo. Magnetic nanoparticles: essential factors for sustainable environmental applications. **Water Research**, 2013; 47 (8): 2613-2632.
- [67] A. Marcu, S. Pop, F. Dumitrache, M. Mocanu, C.M. Niculite, M. Gherghiceanu, C.P. Lungu, C. Fleaca, R. Ianchis, A. Barbut, C. Grigoriu, I. Morjan. Magnetic iron oxide nanoparticles as drug delivery system in breast cancer. **Applied Surface Science**, 2013; 281: 60-65.
- [68] E. Casbeer, V.K. Sharma, X.-Z. Li. Synthesis and photocatalytic activity of ferrites under visible light: A review. **Separation and Purification Technology**, 2012; 87: 1-14.
- [69] A. Kaushik, P.R. Solanki, A.A. Ansari, G. Sumana, S. Ahmad, B.D. Malhotra. Iron oxide-chitosan nanobiocomposite for urea sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2009; 138 (2): 572-580.
- [70] A. Šutka, S. Lagzdina, T. Käämbre, R. Pärna, V. Kisand, J. Kleperis, M. Maiorov, A. Kikas, I. Kuusik, D. Jakovlevs. Study of the structural phase transformation of iron oxide nanoparticles from an Fe<sup>2+</sup> ion source by precipitation under various synthesis parameters and temperatures. **Materials Chemistry and Physics**, 2015; 149-150: 473-479.
- [71] S. Wagloehner, J.N. Baer, S. Kureti. Structure–activity relation of iron oxide catalysts in soot oxidation. **Applied Catalysis B: Environmental**, 2014; 147: 1000-1008.
- [72] A. Doaga, A.M. Cojocariu, W. Amin, F. Heib, P. Bender, R. Hempelmann, O.F. Caltun. Synthesis and characterizations of manganese ferrites for hyperthermia applications. **Materials Chemistry and Physics**, 2013; 143 (1): 305-310.
- [73] Q.L. Jiang, S.W. Zheng, R.Y. Hong, S.M. Deng, L. Guo, R.L. Hu, B. Gao, M. Huang, L.F. Cheng, G.H. Liu, Y.Q. Wang. Folic acid-conjugated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for hyperthermia and MRI in vitro and in vivo. **Applied Surface Science**, 2014; 307: 224-233.
- [74] M. El-Saadawy. DC conductivity for hexaferrites of the Zn<sub>2-x</sub>Cu<sub>x</sub>Ba<sub>1</sub>Fe<sub>16</sub>O<sub>27</sub> system. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2000; 219 (1): 69-72.
- [75] J.C. Apesteguy, S.E. Jacobo, N.N. Schegoleva, G.V. Kurlyandskaya. Characterization of nanosized spinel ferrite powders synthesized by coprecipitation and autocombustion method. **Journal of Alloys and Compounds**, 2010; 495 (2): 509-512.

- [76] H.-C. Roth, S.P. Schwaminger, M. Schindler, F.E. Wagner, S. Berensmeier. Influencing factors in the CO-precipitation process of superparamagnetic iron oxide nano particles: A model based study. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2015; 377: 81-89.
- [77] A.B. Salunkhe, V.M. Khot, M.R. Phadatare, S.H. Pawar. Combustion synthesis of cobalt ferrite nanoparticles - Influence of fuel to oxidizer ratio. **Journal of Alloys and Compounds**, 2012; 514: 91-96.
- [78] Z. Cao, M. Qin, B. Jia, Y. Gu, P. Chen, A.A. Volinsky, X. Qu. One pot solution combustion synthesis of highly mesoporous hematite for photocatalysis. **Ceramics International**, 2015; 41 (2, Part B): 2806-2812.
- [79] S.H. Xiao, K. Luo, L. Zhang. The structural and magnetic properties of cobalt ferrite nanoparticles formed in situ in silica matrix. **Materials Chemistry and Physics**, 2010; 123 (2–3): 385-389.
- [80] M.C. Mascolo, Y. Pei, T.A. Ring. Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases. **Materials**, 2013; 6 (12): 5549-5567.
- [81] M.M. El-Okr, M.A. Salem, M.S. Salim, R.M. El-Okr, M. Ashoush, H.M. Talaat. Synthesis of cobalt ferrite nano-particles and their magnetic characterization. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2011; 323 (7): 920-926.
- [82] W. Cai, J. Wan. Facile synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles in liquid polyols. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2007; 305 (2): 366-370.
- [83] G. Marchegiani, P. Imperatori, A. Mari, L. Pilloni, A. Chiolerio, P. Allia, P. Tiberto, L. Suber. Sonochemical synthesis of versatile hydrophilic magnetite nanoparticles. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2012; 19 (4): 877-882.
- [84] T.J. Daou, G. Pourroy, S. Bégin-Colin, J.M. Grenèche, C. Ulhaq-Bouillet, P. Legaré, P. Bernhardt, C. Leuvrey, G. Rogez. Hydrothermal Synthesis of Monodisperse Magnetite Nanoparticles. **Chemistry of Materials**, 2006; 18 (18): 4399-4404.
- [85] M. Starowicz, P. Starowicz, J. Żukrowski, J. Przewoźnik, A. Lemański, C. Kapusta, J. Banaś. Electrochemical synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles with controlled size. **Journal of Nanoparticle Research**, 2011; 13 (12): 7167-7176.
- [86] V. Pillai, D.O. Shah. Synthesis of high-coercivity cobalt ferrite particles using water-in-oil microemulsions. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 1996; 163 (1–2): 243-248.

- [87] J.C. Toniolo, A.S. Takimi, C.P. Bergmann. Nanostructured cobalt oxides ( $\text{Co}_3\text{O}_4$  and  $\text{CoO}$ ) and metallic Co powders synthesized by the solution combustion method. **Materials Research Bulletin**, 2010; 45 (6): 672-676.
- [88] I. Ganesh, R. Johnson, G.V.N. Rao, Y.R. Mahajan, S.S. Madavendra, B.M. Reddy. Microwave-assisted combustion synthesis of nanocrystalline  $\text{MgAl}_2\text{O}_4$  spinel powder. **Ceramics International**, 2005; 31 (1): 67-74.
- [89] D.-y. Li, Y.-k. Sun, P.-z. Gao, X.-l. Zhang, H.-l. Ge. Structural and magnetic properties of nickel ferrite nanoparticles synthesized via a template-assisted sol-gel method. **Ceramics International**, 2014; 40 (10, Part B): 16529-16534.
- [90] K. Raja, S. Verma, S. Karmakar, S. Kar, S.J. Das, K. Bartwal. Synthesis and characterization of magnetite nanocrystals. **Crystal Research and Technology**, 2011; 46 (5): 497-500.
- [91] N. Mahmed, O. Heczko, A. Lancok, S.P. Hannula. The magnetic and oxidation behavior of bare and silica-coated iron oxide nanoparticles synthesized by reverse coprecipitation of ferrous ion ( $\text{Fe}^{2+}$ ) in ambient atmosphere. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 353: 15-22.
- [92] F. Dang, N. Enomoto, J. Hojo, K. Enpuku. Sonochemical synthesis of monodispersed magnetite nanoparticles by using an ethanol-water mixed solvent. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2009; 16 (5): 649-654.
- [93] X. Chen, Z. Deng, Y. Li, Y. Li. Hydrothermal synthesis and superparamagnetic behaviors of a series of ferrite nanoparticles. **Chinese Journal of Inorganic Chemistry**, 2002; 18 (5): 460-464.
- [94] L. Cabrera, S. Gutierrez, N. Menendez, M.P. Morales, P. Herrasti. Magnetite nanoparticles: Electrochemical synthesis and characterization. **Electrochimica Acta**, 2008; 53 (8): 3436-3441.
- [95] A.B. Chin, I.I. Yaacob. Synthesis and characterization of magnetic iron oxide nanoparticles via w/o microemulsion and Massart's procedure. **Journal of Materials Processing Technology**, 2007; 191 (1-3): 235-237.
- [96] S. Amiri, H. Shokrollahi. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. **Materials Science and Engineering: C**, 2013; 33 (1): 1-8.
- [97] R. Raeisi Shahraki, M. Ebrahimi, S.A. Seyyed Ebrahimi, S.M. Masoudpanah. Structural characterization and magnetic properties of superparamagnetic zinc ferrite nanoparticles synthesized by the coprecipitation method. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2012; 324 (22): 3762-3765.

- [98] M. Abbas, B.P. Rao, S. Naga, M. Takahashi, C. Kim. Synthesis of high magnetization hydrophilic magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanoparticles in single reaction - Surfactantless polyol process. **Ceramics International**, 2013; 39 (7): 7605-7611.
- [99] B. Zhang, Z. Tu, F. Zhao, J. Wang. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles prepared by using an improved polyol method. **Applied Surface Science**, 2013; 266: 375-379.
- [100] A. Lungu, I. Malaescu, C.N. Marin, P. Vlazan, P. Sfirloaga. The electrical properties of manganese ferrite powders prepared by two different methods. **Physica B: Condensed Matter**, 2015; 462: 80-85.
- [101] M. Knobel. Partículas Finas: superparamagnetismo e magnetoresistência gigante. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, 2000; 22 (3): 387-395.
- [102] J. Bowles, M. Jackson, A. Chen, P. Solheid. Interpretation of low-temperature data part 1: superparamagnetism and paramagnetism. **The IRM Quarterly**, 2009; 19 (1): 7-11.
- [103] H. Maleki, A. Simchi, M. Imani, B.F.O. Costa. Size-controlled synthesis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles and their surface coating by gold for biomedical applications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2012; 324 (23): 3997-4005.
- [104] G.C. Papaefthymiou. Nanoparticle magnetism. **Nano Today**, 2009; 4 (5): 438-447.
- [105] R. Kodama. Magnetic nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 1999; 200 (1): 359-372.
- [106] A.S. Teja, P.-Y. Koh. Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, 2009; 55 (1-2): 22-45.
- [107] H.B. Na, I.C. Song, T. Hyeon. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. **Advanced Materials**, 2009; 21 (21): 2133-2148.
- [108] C. Scialabba, M. Licciardi, N. Mauro, F. Rocco, M. Ceruti, G. Giammona. Inulin-based polymer coated SPIONs as potential drug delivery systems for targeted cancer therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2014; 88 (3): 695-705.
- [109] R. Tietze, S. Lyer, S. Dürr, T. Struffert, T. Engelhorn, M. Schwarz, E. Eckert, T. Göen, S. Vasylyev, W. Peukert, F. Wiekhorst, L. Trahms, A. Dörfler, C. Alexiou. Efficient drug-delivery using magnetic nanoparticles - biodistribution and therapeutic effects in tumour bearing rabbits. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, 2013; 9 (7): 961-971.

- [110] M. Sun, A. Zhu, Q. Zhang, Q. Liu. A facile strategy to synthesize monodisperse superparamagnetic OA-modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with PEG assistant. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 369: 49-54.
- [111] V. Zamora-Mora, M. Fernández-Gutiérrez, J.S. Román, G. Goya, R. Hernández, C. Mijangos. Magnetic core-shell chitosan nanoparticles: Rheological characterization and hyperthermia application. **Carbohydrate Polymers**, 2014; 102: 691-698.
- [112] P.I.P. Soares, A.M.R. Alves, L.C.J. Pereira, J.T. Coutinho, I.M.M. Ferreira, C.M.M. Novo, J.P.M.R. Borges. Effects of surfactants on the magnetic properties of iron oxide colloids. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2014; 419: 46-51.
- [113] W. Wu, Q. He, C. Jiang. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. **Nanoscale Research Letters**, 2008; 3 (11): 397-415.
- [114] G.A. Kloster, N.E. Marcovich, M.A. Mosiewicki. Composite films based on chitosan and nanomagnetite. **European Polymer Journal**, 2015; 66: 386-396.
- [115] J. Rivas, M. Bañobre-López, Y. Piñeiro-Redondo, B. Rivas, M.A. López-Quintela. Magnetic nanoparticles for application in cancer therapy. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2012; 324 (21): 3499-3502.
- [116] O. Veisoh, J.W. Gunn, M. Zhang. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2010; 62 (3): 284-304.
- [117] K. Rudzka, J.L. Viota, J. Munoz-Gamez, A. Carazo, A. Ruiz-Extremera, Á.V. Delgado. Nanoengineering of doxorubicin delivery systems with functionalized maghemite nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2013; 111: 88-96.
- [118] S. Sundar, R. Mariappan, S. Piraman. Synthesis and characterization of amine modified magnetite nanoparticles as carriers of curcumin-anticancer drug. **Powder Technology**, 2014; 266: 321-328.
- [119] T.T.-D. Tran, T. Van Vo, P.H.-L. Tran. Design of iron oxide nanoparticles decorated oleic acid and bovine serum albumin for drug delivery. **Chemical Engineering Research and Design**, 2015; 94: 112-118.
- [120] S.N. Kale, A.D. Jadhav, S. Verma, S.J. Koppikar, R. Kaul-Ghanekar, S.D. Dhole, S.B. Ogale. Characterization of biocompatible NiCo<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for applications in hyperthermia and drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, 2012; 8 (4): 452-459.
- [121] K. Baluz, M.d.G.T. Carmo, G. Rosa. O papel do ácido fólico na prevenção e na terapêutica oncológica: revisão. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 2002; 48 (4): 597-607.

- [122] P.B. Shete, R.M. Patil, N.D. Thorat, A. Prasad, R.S. Ningthoujam, S.J. Ghosh, S.H. Pawar. Magnetic chitosan nanocomposite for hyperthermia therapy application: Preparation, characterization and in vitro experiments. **Applied Surface Science**, 2014; 288: 149-157.
- [123] D.H. Kim, S.H. Lee, K.H. Im, K.N. Kim, K.M. Kim, I.B. Shim, M.H. Lee, Y.K. Lee. Surface-modified magnetite nanoparticles for hyperthermia: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies. **Current Applied Physics**, 2006; 6, Supplement 1: e242-e246.
- [124] R.M. Patil, P.B. Shete, N.D. Thorat, S.V. Otari, K.C. Barick, A. Prasad, R.S. Ningthoujam, B.M. Tiwale, S.H. Pawar. Superparamagnetic iron oxide/chitosan core/shells for hyperthermia application: Improved colloidal stability and biocompatibility. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 355: 22-30.
- [125] T.-C. Lin, F.-H. Lin, J.-C. Lin. In vitro feasibility study of the use of a magnetic electrospun chitosan nanofiber composite for hyperthermia treatment of tumor cells. **Acta biomaterialia**, 2012; 8 (7): 2704-2711.
- [126] L.S. Peixoto, F.M. Silva, M.A. Niemeyer, G. Espinosa, P.A. Melo, M. Nele, J.C. Pinto. Synthesis of Poly (Vinyl Alcohol) and/or Poly (Vinyl Acetate) Particles with Spherical Morphology and Core-Shell Structure and its Use in Vascular Embolization. **Macromolecular Symposia**, 2006; 243 (1): 190-199.
- [127] Y.J. Li, D. Barthès-Biesel, A.V. Salsac. Polymerization kinetics of n-butyl cyanoacrylate glues used for vascular embolization. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 2017; 69: 307-317.
- [128] C. Abath, G. Andrade, D. Cavalcanti, N. Brito, R. Marques. Complex renal artery aneurysms: liquids or coils? **Techniques in vascular and interventional radiology**, 2007; 10 (4): 299-307.
- [129] A. Laurent, R. Beaujeux, M. Wassef, D. Rüfenacht, E. Boschetti, J.-J. Merland. Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, I: development and in vitro evaluation. **American journal of neuroradiology**, 1996; 17 (3): 533-540.
- [130] W. Cao, Y. Wan, Z.-H. Liang, Y.-Y. Duan, X. Liu, Z.-M. Wang, Y.-Y. Liu, J. Zhu, X.-T. Liu, H.-X. Zhang. Heated lipiodol as an embolization agent for transhepatic arterial embolization in VX2 rabbit liver cancer model. **European Journal of Radiology**, 2010; 73 (2): 412-419.
- [131] R. Kaneko, I. Tohnai, M. Ueda, M. Negoro, J. Yoshida, Y. Yamada. Curative treatment of central hemangioma in the mandible by direct puncture and embolisation with n-butyl-cyanoacrylate (NBCA). **Oral oncology**, 2001; 37 (7): 605-608.

- [132] K. Wright, J. Anderson, C. Gianturco, S. Wallace, V. Chuang. Partial splenic embolization using polyvinyl alcohol foam, dextran, polystyrene, or silicone. An experimental study in dogs. **Radiology**, 1982; 142 (2): 351-354.
- [133] B.S. Hurst, D.J. Stackhouse, M.L. Matthews, P.B. Marshburn. Uterine artery embolization for symptomatic uterine myomas. **Fertil Steril**, 2000; 74 (5): 855-869.
- [134] S. Gupta, J.C. Yao, K. Ahrar, M.J. Wallace, F.A. Morello, D.C. Madoff, R. Murthy, M.E. Hicks, J.A. Ajani. Hepatic artery embolization and chemoembolization for treatment of patients with metastatic carcinoid tumors: the M.D. Anderson experience. **Cancer Journal**, 2003; 9 (4): 261-267.
- [135] N. Kikuchi, R. Kuwatsuru, S. Kyogoku, A. Shiraishi, S. Okada, D. Tsuge, Y. Yamashiro. Embolization of spontaneous intratumoral hemorrhage with the hemodynamic characteristics of arteriovenous fistula in renal angiomyolipoma. **Case Reports in Nephrology and Dialysis**, 2015; 5 (1): 54-59.
- [136] J.A. Ellis, R. D'Amico, M.B. Sisti, J.N. Bruce, G.M. McKhann, S.D. Lavine, P.M. Meyers, D. Strozyk. Pre-operative intracranial meningioma embolization. **Expert review of neurotherapeutics**, 2011; 11 (4): 545-556.
- [137] J. Oechtering, P.J. Kirkpatrick, A.G. Ludolph, F.J. Hans, B. Sellhaus, A. Spiegelberg, T. Krings. Magnetic microparticles for endovascular aneurysm treatment: in vitro and in vivo experimental results. **Neurosurgery**, 2011; 68 (5): 1388-1397; discussion 1397-1398.
- [138] Z. Tannous, N. Rubeiz, A.G. Kibbi. Vascular anomalies: portwine stains and hemangiomas. **Journal of Cutaneous Pathology**, 2010; 37 Suppl 1: 88-95.
- [139] D.M. Coldwell, K.R. Stokes, W.F. Yakes. Embolotherapy: agents, clinical applications, and techniques. **Radiographics**, 1994; 14 (3): 623-643; quiz 645-646.
- [140] S.L. Schwaner, S.B. Haug, A.H. Matsumoto. Overview of Embolotherapy: Agents, Indications, Applications, and Nursing Management. **Perioperative Nursing Clinics**, 2010; 5 (2): 137-176.
- [141] J.A. Goode, M.B. Matson. Embolisation of cancer: what is the evidence? **Cancer Imaging**, 2004; 4 (2): 133-141.
- [142] K. Osuga, K. Mikami, H. Higashihara, N. Maeda, T. Tsuboyama, M. Kuwabara, H. Onishi, M. Hori, T. Kim, K. Tomoda, T. Murakami, H. Nakamura. Principles and techniques of transcatheter embolotherapy for peripheral vascular lesions. **Radiation Medicine**, 2006; 24 (4): 309-314.

- [143] O. Jordan, E. Doelker, D.A. Rufenacht. Biomaterials used in injectable implants (liquid embolics) for percutaneous filling of vascular spaces. **CardioVascular and Interventional Radiology**, 2005; 28 (5): 561-569.
- [144] M.H. Alves, B.E. Jensen, A.A. Smith, A.N. Zelikin. Poly(vinyl alcohol) physical hydrogels: new vista on a long serving biomaterial. **Macromolecular Bioscience**, 2011; 11 (10): 1293-1313.
- [145] C.P. Derdeyn, V.B. Graves, M.S. Salamat, A. Rappe. Collagen-coated acrylic microspheres for embolotherapy: in vivo and in vitro characteristics. **American Journal of Neuroradiology**, 1997; 18 (4): 647-653.
- [146] C.P. Derdeyn, C.J. Moran, D.T. Cross, H.H. Dietrich, R.G. Dacey, Jr. Polyvinyl alcohol particle size and suspension characteristics. **American Journal of Neuroradiology**, 1995; 16 (6): 1335-1343.
- [147] J. Golzarian, E. Lang, D. Hovsepian, T. Kroncke, L. Lampmann, P. Lohle, J.P. Pelage, R. Shlansky-Goldberg, D. Valenti, D. Vorwerk, J. Spies. Higher rate of partial devascularization and clinical failure after uterine artery embolization for fibroids with spherical polyvinyl alcohol. **CardioVascular and Interventional Radiology**, 2006; 29 (1): 1-3.
- [148] K. Saralidze, C.S. van Hooy-Corstjens, L.H. Koole, M.L. Knetsch. New acrylic microspheres for arterial embolization: combining radiopacity for precise localization with immobilized thrombin to trigger local blood coagulation. **Biomaterials**, 2007; 28 (15): 2457-2464.
- [149] K. Saralidze, L.H. Koole, M.L. Knetsch. Polymeric microspheres for medical applications. **Materials**, 2010; 3 (6): 3537-3564.
- [150] A. Alomari, J. Dubois. Interventional Management of Vascular Malformations. **Techniques in Vascular and Interventional Radiology**, 2011; 14 (1): 22-31.
- [151] H.S. Park, Y.S. Do, K.B. Park, D.I. Kim, Y.W. Kim, M.J. Kim, B.S. Shin, I.W. Choo. Ethanol embolotherapy of hand arteriovenous malformations. **Journal of Vascular Surgery**, 2011; 53 (3): 725-731.
- [152] L.M. Buckmiller, G.T. Richter, J.Y. Suen. Diagnosis and management of hemangiomas and vascular malformations of the head and neck. **Oral Diseases**, 2010; 16 (5): 405-418.
- [153] G.M. Legiehn, M.K. Heran. Classification, diagnosis, and interventional radiologic management of vascular malformations. **Orthopedic Clinics of North America**, 2006; 37 (3): 435-474, vii-viii.

- [154] P.A. Barral, M. Saeed-Kilani, F. Tradi, A. Dabadie, J. Izaaryene, J. Soussan, J.M. Bartoli, V. Vidal. Transcatheter arterial embolization with ethylene vinyl alcohol copolymer (Onyx) for the treatment of hemorrhage due to uterine arteriovenous malformations. **Diagnostic and Interventional Imaging**. 2017; 98(5): 415-421.
- [155] M. Mitsumori, M. Hiraoka, T. Shibata, Y. Okuno, S. Masunaga, M. Koishi, K. Okajima, Y. Nagata, Y. Nishimura, M. Abe, et al. Development of intra-arterial hyperthermia using a dextran-magnetite complex. **International Journal of Hyperthermia**, 1994; 10 (6): 785-793.
- [156] P. Moroz, S.K. Jones, J. Winter, B.N. Gray. Targeting liver tumors with hyperthermia: ferromagnetic embolization in a rabbit liver tumor model. **Journal of Surgical Oncology**, 2001; 78 (1): 22-29; discussion 30-31.
- [157] C. Oerlemans, P.R. Seevinck, G.H. van de Maat, H. Boukhrif, C.J. Bakker, W.E. Hennink, J.F. Nijssen. Alginate-lanthanide microspheres for MRI-guided embolotherapy. **Acta Biomaterials**, 2013; 9 (1): 4681-4687.
- [158] E.-Y. Chung, H.-M. Kim, G.-H. Lee, B.-K. Kwak, J.-S. Jung, H.-J. Kuh, J. Lee. Design of deformable chitosan microspheres loaded with superparamagnetic iron oxide nanoparticles for embolotherapy detectable by magnetic resonance imaging. **Carbohydrate Polymers**, 2012; 90 (4): 1725-1731.
- [159] H.S. Lee, E. Hee Kim, H. Shao, B. Kook Kwak. Synthesis of SPIO-chitosan microspheres for MRI-detectable embolotherapy. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2005; 293 (1): 102-105.
- [160] J.F. Hainfeld, L. Lin, D.N. Slatkin, F. Avraham Dilmanian, T.M. Vadas, H.M. Smilowitz. Gold nanoparticle hyperthermia reduces radiotherapy dose. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, 2014; 10 (8): 1609-1617.
- [161] R.K. Gilchrist, R. Medal, W.D. Shorey, R.C. Hanselman, J.C. Parrott, C.B. Taylor. Selective Inductive Heating of Lymph Nodes. **Annals of Surgery**, 1957; 146 (4): 596-606.
- [162] O.K. Arriortua, M. Insausti, L. Lezama, I. Gil de Muro, E. Garaio, J.M. de la Fuente, R.M. Fratila, M.P. Morales, R. Costa, M. Eceiza, M. Sagartzazu-Aizpurua, J.M. Aizpurua. RGD-Functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for magnetic hyperthermia. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2018; 165: 315-324.
- [163] M.S.A. Darwish, N.H.A. Nguyen, A. Ševců, I. Stibor, S.K. Smoukov. Dual-modality self-heating and antibacterial polymer-coated nanoparticles for magnetic hyperthermia. **Materials Science and Engineering: C**, 2016; 63: 88-95.
- [164] M. Cano, R. Nunez-Lozano, R. Lumbreras, V. Gonzalez-Rodriguez, A. Delgado-Garcia, J.M. Jimenez-Hoyuela, G. de la Cueva-Mendez. Partial PEGylation of

- superparamagnetic iron oxide nanoparticles thinly coated with amine-silane as a source of ultrastable tunable nanosystems for biomedical applications. **Nanoscale**, 2017; 9 (2): 812-822.
- [165] A. Nicolau, R.M. Mariath, E.A. Martini, D. dos Santos Martini, D. Samios. The polymerization products of epoxidized oleic acid and epoxidized methyl oleate with cis-1,2-cyclohexanedicarboxylic anhydride and triethylamine as the initiator: Chemical structures, thermal and electrical properties. **Materials Science and Engineering: C**, 2010; 30 (7): 951-962.
- [166] S.P. Bunker, R.P. Wool. Synthesis and characterization of monomers and polymers for adhesives from methyl oleate. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 2002; 40 (4): 451-458.
- [167] A.M.M.S. Medeiros, F. Machado, J.C. Rubim. Synthesis and characterization of a magnetic bio-nanocomposite based on magnetic nanoparticles modified by acrylated fatty acids derived from castor oil. **European Polymer Journal**, 2015; 71: 152-163.
- [168] G.M.L. Donald L. Pavia , George S. Kriz , James A. Vyvyan, **Introduction to Spectroscopy**. 4th Edition. Cengage Learning, 2010.
- [169] J.L. Scala, R.P. Wool. The effect of fatty acid composition on the acrylation kinetics of epoxidized triacylglycerols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 79 (1): 59-63.
- [170] A.M. Salih, M.B. Ahmad, N.A. Ibrahim, K.Z. Dahlan, R. Tajau, M.H. Mahmood, W.M. Yunus. Synthesis of Radiation Curable Palm Oil-Based Epoxy Acrylate: NMR and FTIR Spectroscopic Investigations. **Molecules**, 2015; 20 (8): 14191-211.
- [171] K. Petcharoen, A. Sirivat. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. **Materials Science and Engineering: B**, 2012; 177 (5): 421-427.
- [172] R.P. Araújo-Neto, E.L. Silva-Freitas, J.F. Carvalho, T.R.F. Pontes, K.L. Silva, I.H.M. Damasceno, E.S.T. Egitto, A.L. Dantas, M.A. Morales, A.S. Carriço. Monodisperse sodium oleate coated magnetite high susceptibility nanoparticles for hyperthermia applications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 364: 72-79.
- [173] M.A.G. Soler, G.B. Alcantara, F.Q. Soares, W.R. Viali, P.P.C. Sartoratto, J.R.L. Fernandez, S.W. da Silva, V.K. Garg, A.C. Oliveira, P.C. Morais. Study of molecular surface coating on the stability of maghemite nanoparticles. **Surface Science**, 2007; 601 (18): 3921-3925.
- [174] k. Nakamoto. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry**. Hoboken: John Wiley & Sons, New york, 2009.

- [175] H. Namduri, S. Nasrazadani. Quantitative analysis of iron oxides using Fourier transform infrared spectrophotometry. **Corrosion Science**, 2008; 50 (9): 2493-2497.
- [176] F. Ozel, H. Kockar, S. Beyaz, O. Karaagac, T. Tannrisever. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: effect of iron oleate precursors obtained with a simple way. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, 2013; 24 (8): 3073-3080.
- [177] P. Prieto, P. Ruiz, I.J. Ferrer, J. de la Figuera, J.F. Marco. Nanocrystalline magnetite thin films grown by dual ion-beam sputtering. **Journal of Alloys and Compounds**, 2015; 636: 150-155.
- [178] M. Földvári. **Handbook of Thermogravimetric System of Minerals and Its Use in Geological Practice**. Geological Institute of Hungary (Magyar Állami Földtani Intézet), 2011.
- [179] S. Rajput, C.U. Pittman Jr, D. Mohan. Magnetic magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticle synthesis and applications for lead (Pb<sup>2+</sup>) and chromium (Cr<sup>6+</sup>) removal from water. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2016; 468: 334-346.
- [180] M.D. Carvalho, F. Henriques, L.P. Ferreira, M. Godinho, M.M. Cruz. Iron oxide nanoparticles: the Influence of synthesis method and size on composition and magnetic properties. **Journal of Solid State Chemistry**, 2013; 201: 144-152.
- [181] F. Vereda, J. de Vicente, M.d.P. Morales, F. Rull, R. Hidalgo-Álvarez. Synthesis and Characterization of Single-Domain Monocrystalline Magnetite Particles by Oxidative Aging of Fe(OH)<sub>2</sub>. **The Journal of Physical Chemistry C**, 2008; 112 (15): 5843-5849.
- [182] N. Mahmed, O. Heczko, A. Lancok, S.P. Hannula. The magnetic and oxidation behavior of bare and silica-coated iron oxide nanoparticles synthesized by reverse coprecipitation of ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>) in ambient atmosphere. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014; 353: 15-22.
- [183] A. Gorski Christopher, M. Scherer Michelle. Determination of nanoparticulate magnetite stoichiometry by Mössbauer spectroscopy, acidic dissolution, and powder X-ray diffraction: A critical review. **American Mineralogist**, 2010; 95 (7): 1017-1026.
- [184] P. Brahma, S. Dutta, D. Dutta, S. Banerjee, A. Ghosh, D. Chakravorty. Electrical properties of nanocrystalline magnetite with large non-stoichiometry, near Verwey transition. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2009; 321 (8): 1045-1051.
- [185] Y.V. Kolen'ko, M. Bañobre-López, C. Rodríguez-Abreu, E. Carbó-Argibay, A. Sailsman, Y. Piñeiro-Redondo, M.F. Cerqueira, D.Y. Petrovykh, K. Kovnir, O.I. Lebedev, J. Rivas. Large-Scale Synthesis of Colloidal Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Exhibiting

- High Heating Efficiency in Magnetic Hyperthermia. **The Journal of Physical Chemistry C**, 2014; 118 (16): 8691-8701.
- [186] C. Guo, Y. Hu, H. Qian, J. Ning, S. Xu. Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) tetrakaidecahedral microcrystals: Synthesis, characterization, and micro-Raman study. **Materials Characterization**, 2011; 62 (1): 148-151.
- [187] O.N. Shebanova, P. Lazor. Raman study of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): laser-induced thermal effects and oxidation. **Journal of Raman Spectroscopy**, 2003; 34 (11): 845-852.
- [188] D. Maity, D.C. Agrawal. Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2007; 308 (1): 46-55.
- [189] G. Dodi, D. Hritcu, D. Draganescu, M.I. Popa. Iron oxide nanoparticles for magnetically assisted patterned coatings. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2015; 388: 49-58.
- [190] L. León-Félix, J. Chaker, M. Parise, J.A.H. Coaquira, L. De Los Santos Valladares, A. Bustamante, V.K. Garg, A.C. Oliveira, P.C. Morais. Synthesis and characterization of uncoated and gold-coated magnetite nanoparticles. **Hyperfine Interactions**, 2014; 224 (1): 179-188.
- [191] O.M. Lemine, K. Omri, B. Zhang, L. El Mir, M. Sajjedine, A. Alyamani, M. Bououdina. Sol-gel synthesis of 8 nm magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanoparticles and their magnetic properties. **Superlattices and Microstructures**, 2012; 52 (4): 793-799.
- [192] D. Kovacheva, T. Ruskov, P. Krystev, S. Asenov, N. Tanev, I. Mönch, R. Koseva, U. Wolff, T. Gemming, M. Markova-Velichkova. Synthesis and characterization of magnetic nano-sized  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ . **Bulgarian Chemical Communications**, 2012; 44: 90-97.
- [193] D. Szabó, I. Czakó-Nagy, M. Zrínyi, A. Vértes. Magnetic and Mossbauer studies of magnetite-loaded polyvinyl alcohol hydrogels. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2000; 221 (2): 166-172.
- [194] S. Babay, T. Mhiri, M. Toumi. Synthesis, structural and spectroscopic characterizations of maghemite  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  prepared by one-step coprecipitation route. **Journal of Molecular Structure**, 2015; 1085: 286-293.
- [195] E.L. Sprenkel-Segel. Recoilless resonance spectroscopy of meteoritic iron oxides. **Journal of Geophysical Research**, 1970; 75 (32): 6618-6630.
- [196] M.N. Islam, Y. Haldorai, V.H. Nguyen, J.-J. Shim. Synthesis of poly(vinyl pivalate) by atom transfer radical polymerization in supercritical carbon dioxide. **European Polymer Journal**, 2014; 61: 93-104.

- [197] W.S. Lyoo, J.W. Kwak, J.H. Yeum, B.C. Ji, C.J. Lee, S.K. Noh. Preparation of ultrahigh-molecular-weight syndiotactic poly(vinyl pivalate) monodisperse microspheres by low-temperature suspension polymerization of vinyl pivalate. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, 2005; 43 (4): 789-800.
- [198] N. Cai, Y. Xu, G. Jia, C. Yuan. Particle Nucleation Loci in Styrene-Butyl Acrylate Miniemulsion Copolymerization. **Polymer Bulletin**, 2007; 59 (4): 491-498.
- [199] M. Antonietti, J. Bibette, L.M. Bronstein, **Colloid Chemistry II**. Springer, 2003.
- [200] C.A. Capeletto, C. Costa, C. Sayer, P.H.H. Araújo. Mathematical modeling of molecular weight distribution in miniemulsion polymerization with oil-soluble initiator. **AIChE Journal**, 2017; 63 (6): 2128-2140.
- [201] F.B. Begnini. **Modelagem matemática de reações de polimerização em miniemulsão e simulação de reações sob irradiação micro-ondas**. Dissertação - Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Engenharia Química. 2017.
- [202] C. Costa, S.A.S. Timmermann, J.C. Pinto, P.H.H. Araujo, C. Sayer. Compartmentalization Effects on Miniemulsion Polymerization with Oil-Soluble Initiator. **Macromolecular Reaction Engineering**, 2013; 7 (5): 221-231.
- [203] J. Brandrup, E.H. Immergut, E.A. Grulke, **Polymer Handbook**, 2 Volumes Set. Wiley, 2003.
- [204] G. Kalfas, W.H. Ray. Modeling and experimental studies of aqueous suspension polymerization processes. 1. Modeling and simulations. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 1993; 32 (9): 1822-1830.
- [205] M. Sepe. Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science By T. Hatakeyama and F. X. Quinn (National Institute of Materials and Chemical Research). John Wiley & Sons: Chichester. **Journal of the American Chemical Society**, 1996; 118 (22): 5334-5334.
- [206] R.T. Araujo, G.R. Ferreira, T. Segura, F.G. Souza Jr, F. Machado. An experimental study on the synthesis of poly(vinyl pivalate)-based magnetic nanocomposites through suspension polymerization process. **European Polymer Journal**, 2015; 68: 441-459.
- [207] A.T. Jensen, A.C.C. de Oliveira, S.B. Gonçalves, R. Gambetta, F. Machado. Evaluation of the emulsion copolymerization of vinyl pivalate and methacrylated methyl oleate. **Journal of Applied Polymer Science**, 2016; 133 (45): 44129.
- [208] S. Canevarolo, **Técnicas De Caracterização de Polímeros**, 2004.
- [209] C.I.C. Crucho, M.T. Barros. Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. **Materials Science and Engineering: C**, 2017; 80: 771-784.

- [210] W.A. Lopes, M. Fascio. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, 2004; 27: 670-673.
- [211] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, J.A. Vyvyan, **Introduction to Spectroscopy**. Cengage Learning, 2008.
- [212] E.U.X. Péres, M.H. Sousa, F. Gomes de Souza Junior, F. Machado, P.A.Z. Suarez. Synthesis and characterization of a new biobased poly(urethane-ester) from ricinoleic acid and its use as biopolymeric matrix for magnetic nanocomposites. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2017; 119 (10): 1600451.
- [213] G. Qiu, Q. Wang, C. Wang, W. Lau, Y. Guo. Polystyrene/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic emulsion and nanocomposite prepared by ultrasonically initiated miniemulsion polymerization. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2007; 14 (1): 55-61.
- [214] W.S. Neto, G.V.S. Dutra, A.T. Jensen, O.A. Araújo, V. Garg, A.C. de Oliveira, L.F. Valadares, F.G. de Souza, F. Machado. Superparamagnetic nanoparticles stabilized with free-radical polymerizable oleic acid-based coating. **Journal of Alloys and Compounds**, 2018; 739: 1025-1036.
- [215] S. Selvasekarapandian, R. Baskaran, O. Kamishima, J. Kawamura, T. Hattori. Laser Raman and FTIR studies on Li<sup>+</sup> interaction in PVAc–LiClO<sub>4</sub> polymer electrolytes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2006; 65 (5): 1234-1240.
- [216] H. Sato, Y. Ozaki, J. Jiang, R.-Q. Yu, H. Shinzawa **In: Raman, Infrared, and Near-Infrared Chemical Imaging**; ed.<sup>^</sup>eds., 2011; Vol., pp. 261-281.
- [217] J.G. Durán-Guerrero, M.A. Martínez-Rodríguez, M.A. Garza-Navarro, V.A. González-González, A. Torres-Castro, J.R. De La Rosa. Magnetic nanofibrous materials based on CMC/PVA polymeric blends. **Carbohydrate Polymers**, 2018; 200: 289-296.
- [218] M.A.G. Soler. Layer-by-layer assembled iron oxide based polymeric nanocomposites. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2018; 467: 37-48.
- [219] J. Yong Lee, S. Joo Lee, K. Kim, Raman intensities of C=C stretching vibrational frequencies of polyenes: Nodal mode analysis. **The Journal of Chemical Physics**, 1997; 107(11):4112-4117.
- [220] J. Neves, L. Valadares, F. Machado, Tailoring Acrylated Soybean Oil-Containing Terpolymers through Emulsion Polymerization. **Colloids and Interfaces**, 2018; 2(4): 46-60
- [221] A.M.M.S. Medeiros, F. Machado, J.C. Rubim, T.F.L. McKenna. Bio-based copolymers obtained through miniemulsion copolymerization of methyl esters of

- acrylated fatty acids and styrene. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 2017; 55 (8): 1422-1432.
- [222] G.R. Ferreira, J.R. Braquehais, W.N. da Silva, F. Machado. Synthesis of soybean oil-based polymer lattices via emulsion polymerization process. **Industrial Crops and Products**, 2015; 65: 14-20.
- [223] L.S. Laurentino, A.M.M.S. Medeiros, F. Machado, C. Costa, P.H.H. Araújo, C. Sayer. Synthesis of a biobased monomer derived from castor oil and copolymerization in aqueous medium. **Chemical Engineering Research and Design**, 2018; 137: 213-220.
- [224] J.S. Neves, F.G. de Souza Jr., P.A.Z. Suarez, A.P. Umpierre, F. Machado. In situ Production of Polystyrene Magnetic Nanocomposites through a Batch Suspension Polymerization Process. **Macromolecular Materials and Engineering**, 2011; 296 (12): 1107-1118.
- [225] S.-H. Gee, Y. Hong, D. W. Erickson, M. H. Park, J. Sur, Synthesis and Aging Effect of Spherical Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) Nanoparticles for Biosensor Applications. **Journal of Applied Physics**, 2003; 93(10): 7560-7562.
- [226] H. Martínez, L. D'Onofrio, G. Gonzalez, Mössbauer study of a  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /PMMA nanocomposite synthesized by sonochemistry. **Hyperfine Interactions**, 2014; 224(1-3): 99-107.
- [227] R. Marques, A. Rodriguez, J. A. H. Coaquira, J. Santos, V. Garg, J. Miguel, S. Ribeiro, M. Verelst, J. Dexpert-Ghys, P. Morais. **In: Mössbauer spectroscopy study of iron oxide nanoparticles obtained by spray pyrolysis**; ed.^eds., 2009; Vol. 189, pp. 159-166.
- [228] M. Keshkar, D. Shahbazi-Gahrouei, S.M. Khoshfetrat, M.A. Mehrgardi, M. Aghaei. Aptamer-conjugated Magnetic Nanoparticles as Targeted Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent for Breast Cancer. **Journal of medical signals and sensors**, 2016; 6 (4): 243-247.
- [229] M. Mahmoudi, A. Simchi, A.S. Milani, P. Stroeve. Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. **J Colloid Interface Sci**, 2009; 336 (2): 510-8.
- [230] U.O. Häfeli, J. Aue, J. Damani. **In: The biocompatibility and toxicity of magnetic particles**; ed.^eds., Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier, 2007; Vol. 32, pp. 163-223.

## APÊNDICE

**Tabela A 1:** Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e número de partículas·g<sup>-1</sup> do látex obtidas das amostras de PPVi.

Ensaio	Conversão (%)	Dp inicial (nm)	PdI inicial	Dp final (nm)	PdI Final	Np do látex Inicial	Np do látex final
PPVi – 01	83	171,3	0,081	124,9	0,029	$5,54 \cdot 10^{13}$	$1,24 \cdot 10^{14}$
	84	165,7	0,162	109,8	0,049	$6,12 \cdot 10^{13}$	$1,82 \cdot 10^{14}$
	86	166,9	0,168	120,6	0,040	$5,99 \cdot 10^{13}$	$1,37 \cdot 10^{14}$
PPPi – 02	83	181,9	0,110	128,4	0,090	$4,80 \cdot 10^{13}$	$1,17 \cdot 10^{14}$
	84	156,0	0,061	131,9	0,030	$7,61 \cdot 10^{13}$	$1,08 \cdot 10^{14}$
	85	158,7	0,163	114,3	0,039	$5,26 \cdot 10^{13}$	$1,66 \cdot 10^{14}$
PPVi – 03	75	178,2	0,123	169,3	0,093	$4,97 \cdot 10^{13}$	$5,05 \cdot 10^{13}$
	77	169,5	0,103	153,7	0,084	$5,77 \cdot 10^{13}$	$6,73 \cdot 10^{13}$
	78	170,2	0,144	163,6	0,158	$5,40 \cdot 10^{13}$	$5,61 \cdot 10^{13}$
PPVi – 04	74	173,2	0,145	160,9	0,102	$5,57 \cdot 10^{13}$	$6,10 \cdot 10^{13}$
	75	169,4	0,153	154,3	0,110	$5,95 \cdot 10^{13}$	$6,91 \cdot 10^{13}$
	76	167,7	0,176	156,1	0,143	$6,14 \cdot 10^{13}$	$6,64 \cdot 10^{13}$
PPVi – 05	80	166,9	0,176	119,7	0,114	$6,05 \cdot 10^{13}$	$1,44 \cdot 10^{14}$
	81	176,0	0,111	131,0	0,150	$5,16 \cdot 10^{13}$	$1,10 \cdot 10^{14}$
	84	174,2	0,142	125,9	0,089	$5,32 \cdot 10^{13}$	$1,24 \cdot 10^{14}$
PPVi – 06	84	185,3	0,104	128,4	0,094	$4,55 \cdot 10^{13}$	$1,19 \cdot 10^{14}$
	87	167,4	0,229	124,8	0,061	$6,18 \cdot 10^{13}$	$1,28 \cdot 10^{14}$
	88	164,4	0,078	115,8	0,074	$6,52 \cdot 10^{13}$	$1,61 \cdot 10^{14}$
PPVi – 07	79	161,6	0,110	135,3	0,095	$6,65 \cdot 10^{13}$	$0,98 \cdot 10^{14}$
	80	169,7	0,123	119,5	0,074	$5,74 \cdot 10^{13}$	$1,43 \cdot 10^{14}$
	83	172,5	0,114	124,1	0,029	$5,47 \cdot 10^{13}$	$1,26 \cdot 10^{14}$
PPVi – 08	82	160,7	0,108	114,8	0,029	$6,99 \cdot 10^{13}$	$1,65 \cdot 10^{14}$
	84	169,7	0,063	109,8	0,098	$5,93 \cdot 10^{13}$	$1,88 \cdot 10^{14}$
	85	164,4	0,166	108,9	0,028	$6,53 \cdot 10^{13}$	$1,92 \cdot 10^{14}$
PPVi – 09	82	170,1	0,137	165,4	0,097	$5,71 \cdot 10^{13}$	$5,35 \cdot 10^{13}$
	83	160,8	0,205	160,7	0,135	$6,77 \cdot 10^{13}$	$5,81 \cdot 10^{13}$
	85	167,2	0,203	172,1	0,085	$6,02 \cdot 10^{13}$	$4,72 \cdot 10^{13}$

**Continuação da Tabela A 1:** Conversão polimérica, valores inicial e final do diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e número de partículas·g<sup>-1</sup> do látex obtidas das amostras de PPVi.

Ensaio	Conversão (%)	Dp inicial (nm)	PdI inicial	Dp final (nm)	PdI Final	Np do látex Inicial	Np do látex final
PPVi – 10	84	160,5	0,129	154,7	0,203	$7,02 \cdot 10^{13}$	$6,73 \cdot 10^{13}$
	87	160,7	0,170	160,2	0,117	$6,98 \cdot 10^{13}$	$5,97 \cdot 10^{13}$
	88	163,7	0,143	160,4	0,151	$6,61 \cdot 10^{13}$	$6,00 \cdot 10^{13}$
PPPi – 11	84	164,9	0,129	126,6	0,060	$6,26 \cdot 10^{13}$	$1,19 \cdot 10^{14}$
	85	179,4	0,044	131,0	0,231	$4,86 \cdot 10^{13}$	$1,07 \cdot 10^{14}$
	85	172	0,092	121,9	0,096	$5,51 \cdot 10^{13}$	$1,32 \cdot 10^{14}$
PPVi – 12	84	170,3	0,113	120,7	0,082	$5,87 \cdot 10^{13}$	$1,41 \cdot 10^{14}$
	86	175,3	0,123	118,4	0,092	$5,38 \cdot 10^{13}$	$1,49 \cdot 10^{14}$
	88	184,4	0,078	115,8	0,074	$4,63 \cdot 10^{13}$	$1,59 \cdot 10^{14}$