



Bianca Almeida da Silva

**Nanopartículas à base de óxidos de elementos
terras raras com aplicação em terapia
fotodinâmica para tratamento de câncer**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Química da PUC-Rio como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Jiang Kai

Rio de Janeiro
Julho de 2019



Bianca Almeida da Silva

**Nanopartículas à base de óxidos de elementos
terras raras com aplicação em terapia
fotodinâmica para tratamento de câncer**

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela
Comissão Examinadora abaixo.

Prof. Jiang Kai

Orientador

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof^a. Cecília Vilani

Departamento de Engenharia Química e de Materiais - PUC-Rio

Prof. Gustavo Bezerra da Silva

Instituto de Química - UFRRJ

Dr. Mykhailo Nazarkovskyi

Departamento de Química - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 18 de julho de 2019

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Bianca Almeida da Silva

Técnica em Química pelo Instituto Federal do Rio de Janeiro. Graduou-se em Química Industrial pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2017. Atua na área de Química Inorgânica.

Ficha Catalográfica

Silva, Bianca Almeida da

Nanopartículas à base de óxidos de elementos terras raras com aplicação em terapia fotodinâmica para tratamento de câncer / Bianca Almeida da Silva; orientador: Jiang Kai. – 2019.

132 f.: il. color.; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2019.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Nanopartículas. 3. Óxidos de terras raras. 4. Terapia fotodinâmica. 5. Câncer. I. Kai, Jiang. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Dedico esta dissertação à minha mãe, Eliana, que, além de sempre me apoiar e torcer por cada conquista minha, cuida de mim como ninguém.

Dedico também ao LabLumin, que me acolheu e me ajudou na realização deste trabalho.

Faço uma dedicatória especial às minhas amigas, que acreditaram em mim quando eu mesma não acreditei.

Por fim, dedico a cada um dos professores que já passaram pela minha vida, contribuindo para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui.

Agradeço ao CNPq e à FAPERJ pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Agradeço à PUC-Rio por ter me recebido e me dado a oportunidade de viver novas experiências, conhecendo e aprendendo coisas que nunca imaginei.

Agradeço em especial ao Departamento de Química e a todos os seus professores e funcionários, em especial à Fátima, por todo o suporte e ajuda sempre que precisei.

Agradeço ao LabLumin por ter me acolhido e me aturado por todo esse tempo. Sei que algumas - muitas - vezes surtei, mas trabalhar rodeada de homens (Helmut, Marcelo, Ian, Gabriel e Pedro) que não colaboravam com meus TOCs era um desafio. Ainda assim, admito que, apesar de fazerem tudo ser mais bagunçado e desorganizado, vocês também fizeram tudo ser bem mais fácil e leve. Obrigada por tudo!

Agradeço ao Helmut por toda ajuda e, principalmente, por ter iniciado este trabalho, me dando uma direção a seguir. Faço também um agradecimento especial ao Marcelo, por ter me ajudado todas as vezes que precisei, seja para ligar a estufa ou desligar uma reação. Esse trabalho não seria possível sem vocês, muito obrigada!

Agradeço ao meu orientador, Jiang Kai, por desde o início ter acreditado em mim, sempre tão tranquilo e amigo, me ensinando coisas novas e me confiando a oportunidade de desenvolver esse projeto.

Agradeço à banca (Cecília, Gustavo e Mykhailo) por terem aceito, tão gentilmente, o convite para contribuir com este trabalho.

Agradeço também ao Dr. Mykhailo Nazarkovskyi por me acompanhar nas sínteses envolvendo o óxido de silício.

Agradeço ao CNPEM por me proporcionar a incrível experiência de conhecer o LNLS e à Dr^a. Verônica de Carvalho Teixeira por todo ensinamento e paciência enquanto nos auxiliava na análise de fotoluminescência.

Agradeço ao professor Marco Cremona pelas análises de fotoluminescência e ao seu aluno, Dr. Rafael dos Santos Carvalho, pela disponibilidade e tempo em realizá-las comigo.

Agradeço ao professor Fernando Aparecido Sigoli pela realização da análise de decaimento de fotoluminescência.

Agradeço, em especial, ao professor Yutao Xing, não só pela realização das análises de MEV e MET, mas por me ensinar e me permitir conhecer mais sobre essas técnicas. Também faço um agradecimento especial ao seu aluno, Cauê Nogueira; só posso agradecer - e me desculpar - por todo ensinamento, ajuda e paciência incondicional que você teve todas as vezes em que precisei desesperadamente realizar uma análise de MEV. Obrigada!

Agradeço à Dr^a. Liu Liying pela análise estrutural de DRX de pó.

Agradeço a todo o pessoal da Fiocruz envolvido nesse trabalho, em especial ao Luiz, Alejandra e Heber. Obrigada pela parceria, pela confiança, e por toda a colaboração para que esse projeto fosse possível.

Agradeço a todos os amigos que tive a oportunidade de fazer na PUC, tornando essa caminhada mais fácil. Um agradecimento especial à minha turma, por ter sido tão maravilhosa e unida. Saiba que vocês me surpreenderam, e devo cada crédito conquistado a vocês. Também agradeço ao Júlio, Francesca, Cayque, Lina e Matheus por sempre me salvarem nas medidas de DLS. E agradeço à Karmel por, de certa forma, ter sido a responsável por eu ir parar na PUC. Obrigada por tudo!

Agradeço aos meus familiares que me apoiam e acreditam nos meus sonhos. Obrigada por toda ajuda e por todo amor que me dão. Amo vocês.

Agradeço a todos os meus amigos por confiarem e acreditarem em mim. Eu amo muito vocês e sem vocês nada faria sentido. Vocês me inspiram!

Agradeço também todo o carinho e admiração daqueles que tanto torcem por mim. Vocês não imaginam o quanto isso me incentiva. Muito obrigada. Espero que eu possa orgulhar todos vocês, e a mim, cada dia mais.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma maneira, contribuíram para que eu chegasse até aqui. Sei que muitas vezes foi preciso paciência para lidar com todo meu desespero, surtos e chatices, mas nada seria possível sem vocês.

Resumo

Silva, Bianca Almeida da; Kai, Jiang. **Nanopartículas à base de óxidos de elementos terras raras com aplicação em terapia fotodinâmica para tratamento de câncer.** Rio de Janeiro, 2019. 132p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neste trabalho foi realizada a síntese e caracterização de nanopartículas à base de óxidos de elementos terras raras, para aplicação em terapia fotodinâmica. Nesta, um material fotossensibilizador, ao ser excitado com luz ultravioleta-visível, gera espécies reativas de oxigênio, como oxigênio singleto, um importante agente citotóxico que destrói células cancerígenas. Portanto, nosso principal objetivo é a síntese de nanopartículas cintiladoras, capazes de converter radiação raios X em luz UV-Vis, para posterior funcionalização com o fotossensibilizador azul de metileno, e uso em tratamento de câncer. Assim, nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com íons európio e samário foram obtidas através de uma síntese sol-gel. Nanopartículas híbridas de sílica com óxido de gadolínio dopado com íon európio(III) em diferentes concentrações também foram obtidas através de um método denominado de impregnação. Elas foram caracterizadas por diferentes técnicas físico-químicas e de elucidação estrutural, como microscopias eletrônicas de varredura e transmissão, espectroscopia no infravermelho e difração de raios X de pó, comprovando-se a formação das nanopartículas com cristalinidade e propriedades morfológicas adequadas para aplicações no sistemas biológico proposto. Além disso, foram submetidas a análises de fotoluminescência, no qual foi possível obter espectros de excitação e emissão, confirmando a compatibilidade destes materiais com o fotossensibilizador a ser utilizado. Estudos de citotoxicidade, para garantir o uso clínico destas nanopartículas, também foram realizados; os resultados mostraram que elas não são consideradas tóxicas em concentrações de 10-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentando alta viabilidade celular. Por fim, testes de liberação de espécies reativas de oxigênio estão sendo realizados na ausência e na presença do fotossensibilizador. Com tudo isto, acredita-se que as nanopartículas aqui obtidas tenham grande potencial para uso em terapia fotodinâmica como alternativa para tratamento de câncer.

Palavras-chave

Nanopartículas; Óxidos de Terras Raras; Terapia Fotodinâmica; Câncer.

Abstract

Silva, Bianca Almeida da; Kai, Jiang (Advisor). **Rare earth oxides-based nanoparticles for application in photodynamic cancer therapy.** Rio de Janeiro, 2019. 132p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Herein, rare earth oxides-based nanoparticles were synthesized and characterized for the use in photodynamic therapy. In this approach, a photosensitizer material, when excited with ultraviolet-visible light, generates reactive oxygen species, such singlet oxygen, which is an important cytotoxic agent that destroys cancer cells. Therefore, our main objective is the synthesis of scintillating nanoparticles, capable of converting X-ray radiation into UV-Vis light, designed for further functionalization with the methylene blue photosensitizer and use in cancer treatment. Thus, nanoparticles of gadolinium oxide doped with europium and samarium ions were obtained by sol-gel synthesis. Hybrid nanoparticles of silica with europium(III)-doped gadolinium oxide were also obtained with different doping concentration through the impregnation method. They were characterized with various physicochemical techniques and structural determination involving following instrumentalities: scanning and transmission electronic microscopies, infrared spectroscopy and powder X-ray diffraction, confirming the formation of nanoparticles with crystallinity and morphological properties suitable for applications in the biological system desired. In addition, photoluminescence analyses were conducted, where was possible to record excitation and emission spectra, confirming the compatibility of these materials with the photosensitizer to be used. To ensure the clinical safety of these nanoparticles, cytotoxicity studies were also carried out; results have shown that these materials did not appear to be toxic in concentrations of 10-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, presenting high cellular viability. Moreover, the reactive oxygen species generation assays are under investigation in the absence and presence of the photosensitizer. In summary, it is believed that the nanoparticles obtained have a great potential for application in photodynamic therapy as an alternative for cancer treatment.

Keywords

Nanoparticles; Rare Earth Oxides; Photodynamic Therapy; Cancer.

Sumário

1 Introdução	20
1.1 Objetivo Geral	22
1.2 Objetivos Específicos	22
2 Revisão bibliográfica	23
2.1 Câncer	23
2.1.1 Causas e Prevenção	24
2.1.2 Tipos e Tratamentos	26
2.2 Terapia Fotodinâmica	29
2.2.1 Uso Estratégico de Nanopartículas na Terapia Fotodinâmica	32
2.2.2 Processos de Geração de ERO	38
2.3 Terras Raras	41
2.3.1 Características dos Elementos Lantanídeos	43
2.3.2 Toxicidade dos ETR	45
3 Metodologia	48
3.1 Reagentes e Solventes	48
3.2 Equipamentos	48
3.3 Caracterização das Nanopartículas	49
3.3.1 Estudos de Fotoluminescência	49
3.3.1.1 Espectroscopia de Fotoluminescência (Excitação Total, Excitação e Emissão)	49
3.3.1.2 Decaimento de Fotoluminescência (Tempo de Vida)	49
3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
3.3.3 Difração de Raios X de Pó (DRX)	50
3.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	50
3.3.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)	51
3.3.6 Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)	51
3.3.7 Potencial Zeta (ζ)	51
3.4 Procedimento experimental	52
3.4.1 Síntese de sais de cloreto dos elementos terras raras	52
3.4.2 Síntese de sais de acetato dos elementos terras raras	52
3.4.3 Síntese de nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com íon lantanídeo pela técnica sol-gel assistida por PVA	53
3.4.4 Síntese de nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com európio pela metodologia one-pot	54
3.4.5 Síntese de nanopartículas de SiO ₂ com óxido de gadolínio dopado com európio, através do método por impregnação	55

3.4.6 Síntese de nanopartículas de SiO ₂ com óxido de gadolínio dopado com európio, através do método por ultrassom	56
3.4.7 Encapsulamento das nanopartículas obtidas pela síntese sol-gel assistida por PVA	58
3.5 Estudo de Atividade Citotóxica	59
3.5.1 Cultura Celular	59
3.5.2 Avaliação de citotoxicidade pelo método de redução do MTT	59
3.5.3 Análise Estatística	60
4 Resultados e discussão	61
4.1 Obtenção dos sais de elementos terras raras	61
4.2 Obtenção das nanopartículas de óxido de terras raras	61
4.3 Caracterização das nanopartículas de óxido de terras raras	65
4.3.1 Estudos de Fotoluminescência	65
4.3.1.1 Espectroscopia de Fotoluminescência (Excitação Total, Excitação e Emissão)	65
4.3.1.2 Decaimento de Fotoluminescência (Tempo de Vida)	76
4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	77
4.3.2 Difração de Raios X de Pó (DRX)	87
4.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	89
4.3.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)	96
4.3.6 Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)	102
4.3.7 Potencial Zeta (ζ)	104
4.4 Estudo de Atividade Citotóxica	107
5 Conclusões	109
6 Sugestões para a continuação deste trabalho	112
7 Referências bibliográficas	113
8 Apêndice	121
Apêndices A Obtenção das nanopartículas de óxido de terras raras	121
Apêndices B Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	124
Apêndices C Difração de Raios X de Pó (DRX)	125
Apêndices D Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	126
Apêndices E Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)	127
Apêndices F. Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)	130
Apêndices G. Potencial Zeta (ζ)	132

Lista de Figuras

Figura 1: Processo de formação do câncer - Crescimento desordenado de células após a ação de um agente cancerígeno, levando à formação de um tumor.	23
Figura 2: Representação de um tumor sólido, mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância aos vasos capilares	27
Figura 3: Esquema de nanopartículas cintiladoras fotossensibilizadas, sendo ativadas por Raios X e transferindo energia para o FS, que produz ERO	36
Figura 4: Diagrama de Jablonski modificado para mostrar os processos que ocorrem após irradiação de um fotossensibilizador	39
Figura 5: Tabela Periódica, com ênfase nos elementos terras raras	41
Figura 6: Fluxograma da metodologia de síntese sol-gel assistida por PVA.	53
Figura 7: Fluxograma das nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel assistida por PVA.	54
Figura 8: Fluxograma da metodologia de síntese one-pot.	55
Figura 9: Fluxograma da síntese do método por impregnação.	56
Figura 10: Fluxograma da síntese do método por ultrassom.	57
Figura 11: Fluxograma do encapsulamento das nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel assistida por PVA.	58
Figura 12: Espectros de excitação total observados para as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel.	65
Figura 13: Espectros de excitação e emissão das nanopartículas obtidas na síntese sol-gel.	67
Figura 14: Espectro de absorção do corante azul de metileno. (FONTE: SCHIAVO; PEREZ; KUBOTA, 2000 - Adaptada).	68
Figura 15: Espectro de excitação das nanopartículas de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	69
Figura 16: Espectro de excitação das nanopartículas de $Gd_2O_3:Sm^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	70
Figura 17: Espectro de excitação das nanopartículas de $Gd_2O_3:Eu^{3+}, Sm^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	71

Figura 18: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	72
Figura 19: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	73
Figura 20: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}, \text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	74
Figura 21: Espectros de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas nas sínteses por impregnação em diferentes concentrações de íon európio, e na síntese por ultrassom.	75
Figura 22: Gráfico do decaimento de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.	77
Figura 23: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, a partir do cloreto como sal precursor.	78
Figura 24: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, a partir do cloreto como sal precursor.	78
Figura 25: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor.	79
Figura 26: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 500 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor.	80
Figura 27: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 750 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor.	80
Figura 28: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 3h, a partir do acetato como sal precursor.	80
Figura 29: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese one-pot.	82
Figura 30: Imagens das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	82
Figura 31: Imagens das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese por ultrassom.	83
Figura 32: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, obtidas a partir da síntese sol-gel, encapsuladas.	84
Figura 33: Mapa de distribuição dos elementos das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	85

Figura 34: Mapa dos elementos das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	85
Figura 35: Mapa de distribuição dos elementos das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	86
Figura 36: Mapa dos elementos das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	86
Figura 47: Difractograma das nanopartículas obtidas a partir (a) da síntese por impregnação e (b) da síntese sol-gel, e dos padrões (c) de Gd_2O_3 e (d) de Eu_2O_3 .	88
Figura 48: Estruturas cúbicas dos óxidos de gadolínio e európio, respectivamente. (FONTE: Base de dados ICSD).	88
Figura 37: Imagens de MET das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	90
Figura 38: Imagem de MET em baixo aumento das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (esquerda) e imagem de alta resolução da região indicada à esquerda pelo quadro mostrando os contornos de grãos observados (direita).	90
Figura 39: Imagens de MET em alta resolução das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$.	91
Figura 40: Imagens de MET das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$.	91
Figura 41: Fases cristalina (esquerda) e amorfa (direita) observadas nas nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$.	92
Figura 42: Imagens de campo claro (esquerda) e HAADF em modo de STEM para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ (direita).	93
Figura 43: Distribuição do tamanho das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	94
Figura 44: Mapa dos elementos das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$.	95
Figura 45: Mapa de distribuição dos elementos Gd, O e Eu, respectivamente, das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	95
Figura 46: Mapa de distribuição dos elementos Si e O das Nps de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	96
Figura 49: Espectro de infravermelho do $\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ utilizado como precursor.	97

Figura 50: Espectro de infravermelho das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	98
Figura 51: Espectros de infravermelho das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas em diferentes tempos e temperaturas.	100
Figura 52: Espectro de infravermelho das NPs obtidas a partir da síntese por impregnação, com íons európio dopantes na concentração de 1%.	101
Figura 53: Distribuição de raio hidrodinâmico, em triplicata, das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	102
Figura 54: Distribuição de raio hidrodinâmico, em triplicata, das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	103
Figura 55: Valores de potencial zeta, em triplicata, das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.	104
Figura 56: Valores de potencial zeta, em triplicata, das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese por impregnação.	105
Figura 57: Citotoxicidade contra células GL261 de glioblastoma de camundongo.	107

Lista de Tabelas

Tabela 1: Critérios comparativos utilizados para a(s) escolha(s) das sínteses realizadas.	62
Tabela 2: Resumo das sínteses realizadas para obtenção das nanopartículas.	64
Tabela 3: Atribuições das principais bandas de IV dos sais de acetato.	98
Tabela 4: Valores das bandas referentes à ligação Ln-O.	99
Tabela 5: Valores de potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das sínteses sol-gel e por impregnação.	105

Lista de Siglas e Abreviaturas

AM	– Azul de Metileno
ATR	– Refletância Total Atenuada (<i>Attenuated Total Reflectance</i>)
DLS	– Espalhamento Dinâmico de Luz (<i>Dynamic Light Scattering</i>)
DRX	– Difração de Raios X
EDS	– Espectroscopia de Raios X por Dispersão de Energia (<i>Energy Dispersion Spectroscopy</i>)
EPR	– Efeito Aumentado de Permeabilidade e Retenção (<i>Enhanced Permeability and Retention Effect</i>)
ERO	– Espécies Reativas de Oxigênio (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
TR	– Terras Raras
Eu	– Európio (Elemento Químico)
FS	– Fotossensibilizador
FTIR	– Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
Gd	– Gadolínio (Elemento Químico)
HAADF	– Imagens por Campo Escuro Anular em Alto Ângulo (<i>High Angle Annular Dark Field</i>)
HRTEM	– Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução (<i>High-Resolution Transmission Electron Microscopy</i>)
MET	– Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	– Microscopia Eletrônica de Varredura
NP	– Nanopartícula
PCL	– Policaprolactona (Polímero)
PVA	– Poliacetato de Vinila (<i>Polyvinyl Acetate</i>) (Polímero)
SDD	– Detector de Desvio de Silício (<i>Silicon Drift Detector</i>)
Sm	– Samário (Elemento Químico)
STEM	– Microscopia Eletrônica de Transmissão por Varredura (<i>Scanning Transmission Electron Microscope</i>)
Tb	– Térbio (Elemento Químico)
TEG	– Trietilenoglicol
TFD	– Terapia Fotodinâmica
Tm	– Túlio (Elemento Químico)
UV-Vis	– Região do espectro eletromagnético entre o ultravioleta e o visível

*“A educação é a arma mais poderosa que
você pode usar para mudar o mundo”*

Nelson Mandela

1

Introdução

Sabe-se que, atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte em todo o mundo, entretanto, os principais tratamentos ainda são pouco seletivos e apresentam grandes efeitos colaterais (HASSANPOUR; DEHGHANI, 2017; VAHED et al., 2017). Sendo assim, uma opção interessante para o tratamento dessas neoplasias malignas é a Terapia Fotodinâmica (TFD), uma técnica não invasiva e já aprovada para o tratamento do câncer, mais seletiva e com poucos efeitos colaterais quando comparada com outros tratamentos convencionais (KAMKAEW et al., 2016).

Nesta técnica, um fotossensibilizador é ativado localmente com fótons de comprimento de onda específicos para gerar espécies reativas, como o oxigênio singlete, que é tóxico e induz a morte celular. Na maioria das vezes, o fotossensibilizador absorve os fótons da região de luz ultravioleta ou visível, que podem ser absorvidos pelo nosso tecido. Isto dificulta a penetração da luz em tumores mais profundos, o que limita essa estratégia (KAMKAEW et al., 2016; ^ALIU et al., 2008).

O corpo humano, porém, é bastante transparente para a radiação de raios X. Então, para resolver essa questão da baixa penetração da luz na TFD convencional, a preparação de nanopartículas cintiladoras se torna uma excelente alternativa. Essas nanopartículas, uma vez excitadas por raios X de baixa energia, podem emitir luz de comprimento de onda adequada e ativar o fotossensibilizador, gerando espécies reativas localmente para a eliminação de células tumorais (KAMKAEW et al., 2016; YANO et al., 2011).

Na literatura, há alguns exemplos de terapia fotodinâmica aplicando compostos à base de elementos terras raras devido às características intrínsecas de luminescência destes elementos (^ALIU et al., 2008). Além

disso, as propriedades de luminescência das nanopartículas de materiais de terras raras são bem conhecidas e têm uma ampla gama de aplicações (como em displays e bioimagem), sendo exploradas sua boa fotoestabilidade e longo tempo de vida luminescente (DONG et al., 2015).

Porém, dois problemas estão limitando o uso desta classe de material: i) a maioria destes sistemas são baseados nos fluoretos de elementos terras raras, que exigem procedimentos caros e trabalhosos de preparação e ii) a energia de ativação dos fluoretos geralmente está na região do UV-Vis, que apresenta baixa poder de penetração nos tecidos, como mencionado (SILVA et al., 2015; WANG; DENG; LIU, 2014). Por isso, nosso foco é sintetizar e otimizar nanopartículas à base de óxidos de terras raras, dopados com íons lantanídeos que, quando excitadas por raios X, emitam na região visível, ativando assim o fotossensibilizador.

Entre os fotossensibilizadores utilizados, um que se destaca é o azul de metileno, por possuir propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas estabelecidas, além de já ser aprovado para o uso clínico em outras doenças (JESUS et al., 2018; TARDIVO et al., 2005). Logo, para a sintonia total entre a absorção de raios X pela matriz, posterior emissão de luz e absorção desta pelo azul de metileno, foram preparadas nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com íons terras raras trivalentes, investigando as suas propriedades físicas, químicas, morfológicas e terapêuticas.

1.1

Objetivo Geral

Sintetizar nanopartículas à base de elementos terras raras com propriedades cintiladoras, visando aplicação em terapia fotodinâmica para tratamento de câncer, utilizando azul de metileno como fotossensibilizador.

1.2

Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas de óxido de gadolínio (Gd_2O_3) dopado com diferentes íons lantanídeos (Eu^{3+} , Sm^{3+} , Tb^{3+} , Tm^{3+}); e sintetizar nanopartículas híbridas de sílica com óxido de gadolínio dopado com íons Eu^{3+} em diferentes concentrações;
- Testar diferentes metodologias de sínteses e definir a mais adequada, levando em conta a aplicação desejada neste trabalho;
- Realizar medidas espectroscópicas de fotoluminescências como excitação total, excitação e emissão, e decaimento de fotoluminescência;
- Caracterizar estas nanopartículas através de análises estruturais, como: MEV, MET, EDS, DRX em pó e FTIR;
- Confirmar se as nanopartículas obtidas apresentam o tamanho desejado (10–200 nm) através de técnicas como DLS (em meio aquoso), assim como MEV e MET (estado sólido);
- Verificar a estabilidade destas nanopartículas através de medidas como potencial zeta;
- Testar a citotoxicidade dessas nanopartículas;
- Analisar a capacidade das nanopartículas de liberarem ERO antes e após sua funcionalização com o azul de metileno;
- Avaliar a eficiência de converter radiação raios X para luz UV-Vis destas nanopartículas;
- Funcionalizar as nanopartículas obtidas utilizando azul de metileno como fotossensibilizador, e verificar a viabilidade celular após irradiação com raios X.

2

Revisão bibliográfica

2.1

Câncer

Atualmente, o câncer é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. Mais especificamente, é a segunda maior causa de mortes, atingindo igualmente homens e mulheres (HASSANPOUR; DEHGhani, 2017; KHAN et al., 2017).

Ele ocorre devido uma série de mutações sucessivas e irreparáveis em genes de células normais, alterando as funções celulares. Deste modo, os mecanismos de controle que evitam a divisão descontrolada e o crescimento excessivo das células ficam desativados (HASSANPOUR; DEHGhani, 2017). Isto gera um crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, de maneira rápida e agressiva, provocando a formação de tumores (Figura 1). Além disso, estas células podem se espalhar para outras regiões do corpo, em um processo denominado de metástase (INCA, 2019). O tumor formado, entretanto, pode ser considerado benigno, isto é, um amontoado de células que se multiplicam lentamente e assemelham-se ao tecido original, sem normalmente causar risco de vida.

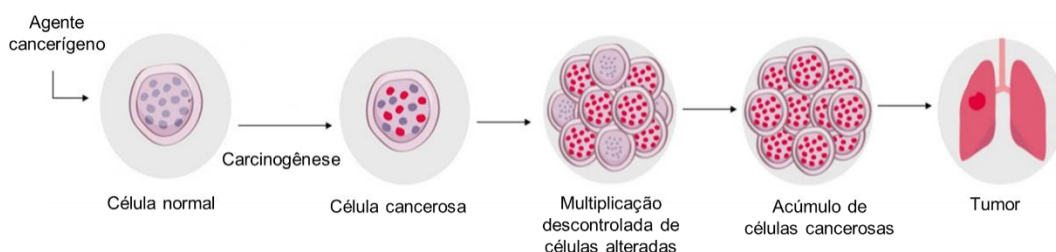


Figura 1: Processo de formação do câncer - Crescimento desordenado de células após a ação de um agente cancerígeno, levando à formação de um tumor. (FONTE: INCA, 2019 - Adaptada).

Este processo de formação do câncer, também conhecido como carcinogênese ou oncogênese, costuma ocorrer de forma lenta e pode,

inclusive, levar muitos anos para ocorrer. Isto significa que o processo em que uma célula cancerosa se prolifera até dar origem a um tumor visível pode ser muito demorado (INCA, 2019).

2.1.1

Causas e Prevenção

O câncer se dá devido a uma mutação genética, isto é, uma alteração que ocorre no DNA da célula, perturbando as relações celulares e causando a disfunção de genes vitais. Isso faz com que a célula receba, erroneamente, as instruções que precisa para a realização de suas atividades, afetando o ciclo celular e provocando uma proliferação anormal de células. Mais especificamente, todas essas alterações ocorrem em genes inativos de células normais, chamados de proto-oncogenes. Quando são ativados, esses genes transformam as células normais em células cancerígenas, recebendo então o nome de oncogenes (HASSANPOUR; DEHGHANI, 2017; INCA, 2019).

Esse processo de formação do câncer (carcinogênese) ocorre pela exposição a diferentes agentes cancerígenos pelo qual o ser humano é submetido. Os efeitos desses agentes ao longo do tempo são os responsáveis pelo início e desenvolvimento, assim como pela inibição, de um tumor. Sendo assim, a carcinogênese irá depender da frequência, do tempo e da interação existente entre esses agentes. (INCA, 2019).

O câncer, então, não ocorre devido a um fator específico. Ele pode ser causado tanto por fatores externos (relacionados ao meio ambiente) quanto internos (como condições imunológicas e hormonais), sendo cerca de 85% relacionado com os fatores externos. Apesar de importante, são raros os cânceres que ocorrem somente devido a fatores genéticos, entretanto, eles podem tornar certos indivíduos mais propensos à ação de agentes cancerígenos ambientais. Sendo assim, quando se fala sobre as causas do câncer, é importante considerar as características particulares de cada indivíduo, que podem facilitar ou dificultar que as células venham a sofrer algum tipo de dano (INCA, 2019).

Sabe-se também que as substâncias químicas influenciam diretamente na formação de mutações genéticas e, conseqüentemente, na formação de células cancerosas. Dessa forma, substâncias químicas ambientais com propriedades carcinogênicas podem levar a distúrbios genéticos (HASSANPOUR; DEHGHANI, 2017). Certos hábitos também podem levar à formação de um câncer. O hábito de fumar, por exemplo, é um grande fator carcinogênico e acaba levando ao câncer de pulmão, uma vez que o cigarro possui mais de 70 substâncias químicas carcinogênicas (AIZAWA et al., 2016).

O envelhecimento também aumenta a propensão ao câncer, uma vez que causa mudanças inevitáveis nas células; além disso, por terem maior idade, isso significa que pessoas idosas estão mais tempo expostas a agentes cancerígenos (INCA, 2019). Alguns outros fatores que também levam à carcinogênese são as bactérias, os vírus e os raios de radiação. Eles correspondem a cerca de 7% de todos os cânceres existentes (PARKIN, 2006).

Fatores como tabagismo e obesidade são considerados fatores de risco, isto é, fatores associados ao desenvolvimento de uma doença, como o câncer. Diferentes fatores de risco podem estar associados a uma mesma doença, por exemplo. As manifestações nas doenças crônicas, como é o caso do câncer, podem surgir somente depois de muitos anos de exposição aos fatores de risco. Estas exposições podem ser únicas ou contínuas (INCA, 2019).

Desta forma, a melhor maneira de se prevenir o câncer, segundo o INCA, é fazendo o possível para minimizar o risco de se ter a doença, como criar hábitos saudáveis - não fumar, fazer atividades físicas, se alimentar bem, tomar vacinas, entre outros. Primeiramente, para que o câncer não possa se desenvolver; e segundo, para que se possa detectar doenças que tenham potencial para se tornarem malignas, assim como cânceres assintomáticos que estejam em estágio inicial, de modo que seja possível tratá-los logo no início.

2.1.2 Tipos e Tratamentos

Pelo fato de diferentes fatores serem capazes de ocasionar e afetar esta doença, o câncer é considerado um fenômeno biocomplexo (VAHED et al., 2017), estando relacionado a um conjunto de mais de 100 doenças, no qual todas elas têm em comum o crescimento desordenado de células (INCA, 2019).

Sendo assim, existem diferentes tipos de câncer que se diferenciam de acordo com a velocidade de multiplicação das células. Por isto, estão relacionados com os diferentes tipos de células existentes no nosso corpo e, conseqüentemente, podem surgir em qualquer parte do mesmo. Desta forma, são classificados de acordo com a localização primário do tumor nos seguintes tipos: câncer de pele, câncer de pulmão, câncer de mama, câncer de próstata, câncer de colo de útero, câncer de fígado, câncer de boca, câncer de estômago, tumor intracraniano, leucemia, entre outros. Contudo, alguns órgãos acabam sendo mais afetados que outros, podendo cada um deles apresentar diferentes tipos de tumores com agressividades distintas (HASSANPOUR; DEGHANI, 2017; INCA, 2019).

Devido a toda essa complexidade, diferentes estratégias para o tratamento do câncer foram e têm sido desenvolvidas ao longo dos anos. Entre elas, podemos citar a quimioterapia, radioterapia, imunoterapia, terapia hormonal, e até mesmo cirurgias (KENNEDY et al., 1980; OLIVEIRA; ALVES, 2002; VAHED et al., 2017). Essas estratégias podem ser utilizadas tanto isoladamente quanto de maneira combinada.

A utilização de diferentes agentes anticâncer é denominada de terapia combinada, e é desenvolvida com o objetivo de tentar se otimizar o tratamento do câncer. Esta estratégia se mostrou viável, uma vez que proporciona a inibição de vários mecanismos ou então de múltiplos pontos de conexão de um único mecanismo. Além disso, as vantagens deste tipo de terapia são apoiadas por estudos clínicos que provam o seu efeito sinérgico, isto é, quando o efeito da terapia é maior que a soma dos

resultados terapêuticos de cada medicamento isoladamente (VAHED et al., 2017).

Dentre os tratamentos citados, a quimioterapia e a radioterapia ainda são os mais utilizados no tratamento do câncer. A quimioterapia, principalmente, ainda é a escolha final no tratamento de diferentes tipos de câncer. Entretanto, ambos os tratamentos apresentam limitações específicas quanto a seu uso, principalmente devido às regiões em hipóxia existentes nos tumores (BUSTAMANTE et al., 2009; KENNEDY et al., 1980; VAHED et al., 2017). Diferente das células que se encontram na parte externa do tumor e são oxigenadas pelos vasos capilares, as regiões de hipóxia apresentam uma baixa concentração de oxigênio nas células devido ao crescimento rápido e desordenado das mesmas, criando uma região pouco vascularizada nos tumores (BUSTAMANTE et al., 2009), como podemos observar na Figura 2.

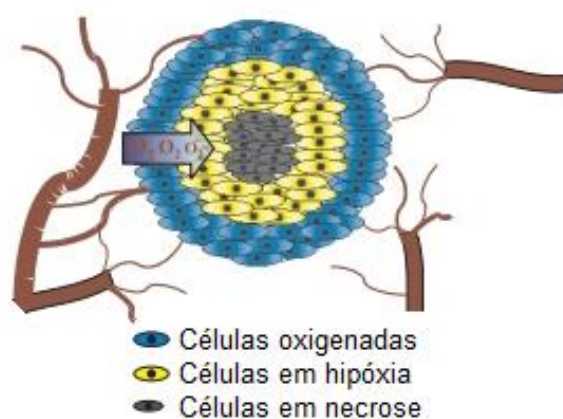


Figura 2: Representação de um tumor sólido, mostrando a diminuição da concentração de oxigênio em relação à distância aos vasos capilares. (FONTE: OLIVEIRA; ALVES, 2002 - Adaptada).

Assim, na quimioterapia, o fármaco apresenta eficiência reduzida, pois tem dificuldades em chegar nessas células em hipóxia por causa da baixa vascularização existente no meio. Isto porque ele precisa enfrentar várias barreiras para alcançar essas células em condições consideradas terapêuticas. Além disso, essa baixa concentração de oxigênio também reduz o processo de proliferação celular, fazendo com que agentes quimioterápicos que atuam no ciclo celular, e estes são a maioria, sejam

menos tóxicos e, conseqüentemente, eficientes nas células dessa região (BUSTAMANTE et al., 2009; OLIVEIRA; ALVES, 2002; PARKER et al., 2004).

Sendo assim, os tumores sólidos (câncer de mama e pulmão, por exemplo), que constituem mais de 90% dos tipos de câncer existentes, não respondem de maneira eficiente aos fármacos existentes, uma vez que seu processo de divisão celular é considerado lento. Isto faz com que os tratamentos utilizados, mesmo que de maneira combinada, ainda sejam bastante limitados (OLIVEIRA; ALVES, 2002).

Por isto, muitas vezes a radioterapia é utilizada em concomitância com a quimioterapia, pois ela gera oxigênio molecular através da incidência de radiação. Com isso, os agentes anticâncer que necessitam de oxigênio molecular para atuar, e que também são a maioria, podem gerar radicais livres que combatam células tumorais (BUSTAMANTE et al., 2009).

Além dos fatores mencionados, a quimioterapia também apresenta outras limitações críticas, como o desenvolvimento de resistência a medicamentos, falta de especificidade e efeitos colaterais, uma vez que muitos dos agentes anticancerígenos utilizados circulam pelo sistema mesmo em tecidos não tumorais, tornando-os altamente tóxicos para os pacientes. Sendo assim, esta difusão generalizada de fármacos acabada resultando tanto em atividades anticancerígenas desejadas, como também em atividades adversas fora do alvo indesejadas (OLIVEIRA; ALVES, 2002; VAHED et al., 2017). Por isso, esses medicamentos requerem muita atenção e devem ser administrados com bastante cuidado.

A radioterapia também depende da concentração de oxigênio existente no tecido alvo. Neste tipo de terapia, a incidência de radiação nos tecidos é o que irá gerar espécies reativas de oxigênio. Primeiramente, são gerados os radicais superóxidos ($O_2^{\cdot-}$) e depois radicais peroxila (ROO^{\cdot}) e hidroxila (HO^{\cdot}); estes provocam a destruição de moléculas essenciais. Como regiões em hipóxia possuem baixa concentração de oxigênio, menor é a quantidade de radicais formados, logo, menor a eficiência da radioterapia. Isto acaba fazendo com que as células se tornem resistentes

a esse tipo de terapia (ABREU; FERRAZ; GOULART, 2002; BUSTAMANTE et al., 2009; PARKER et al., 2004).

Estas regiões de hipóxia, então, acabam dificultando os tratamentos do câncer, se tornando um grande desafio na terapia dessa doença (PARKER et al., 2004).

2.2

Terapia Fotodinâmica

Um tratamento alternativo para o câncer é a Terapia Fotodinâmica (TFD), uma estratégia pouco invasiva e bem estabelecida, já aprovada na medicina. Além de ser relativamente barata, ela não necessita de cirurgias para sua ocorrência, e também apresenta a vantagem de suprimir diferentes tumores multirresistentes (LIM et al., 2013; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015; YU et al., 2017).

A TFD requer três componentes essenciais para o seu desenvolvimento: uma fonte de luz, oxigênio molecular, e um fotossensibilizador (FS). Este último consiste de um corante absorvedor de luz, que é ativado por um determinado comprimento de onda. Quando isto ocorre, ele transfere a energia do fóton que absorveu para moléculas de oxigênio ao redor, gerando espécies reativas de oxigênio (ERO), como o oxigênio singleto, um importante agente tóxico (CHEN et al., 2015; KAMKAEW et al., 2016; LIM et al., 2013; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Existem diferentes classes e tipos de fotossensibilizadores, como os tetrapirróis, que fazem parte da primeira geração de FSs, e o meso-tetra(hidroxifenil) clorina, a ftalocianina e o ácido δ -aminolevulínico, que fazem parte da segunda geração. Entretanto, somente alguns são interessantes para a TFD devido ao alto custo envolvido nos testes clínicos dessas substâncias. Assim, apenas FSs com propriedades promissoras são investigados. Entre eles, podemos destacar o Azul de Metileno (AM), um corante barato, com baixa toxicidade, e já aprovado para uso clínico e

uso em TFD como fotossensibilizador (ALVES et al., 2018; TARDIVO et al., 2005; YU et al., 2017).

Segundo ROBLERO-BARTOLÓN & RAMÓN-GALLEGOS (2015), a aplicação clínica da TFD ocorre da seguinte maneira: primeiramente, o fotossensibilizador é administrado topicamente ou sistematicamente no paciente; após, espera-se que o mesmo se acumule de forma seletiva nas células tumorais ou que estejam afetadas por outras condições - nesta etapa, a fluorescência pode ser medida-; em seguida, uma fibra ótica é introduzida na cavidade do paciente para levar a luz até o tumor; por fim, o tumor é irradiado localmente com um laser ou outra fonte de luz.

Todavia, para que a TFD seja eficaz, diferentes parâmetros importantes devem ser considerados, como: o tipo e a concentração de fotossensibilizador, assim como seu acúmulo de forma seletiva nas células malignas; comprimento de onda e localização específicos na irradiação de luz; intensidade de iluminação da fonte de luz; a entrega eficiente da luz ao fotossensibilizador; disponibilidade de oxigênio molecular nas células, entre outros (CLEMENT et al., 2016; KAMKAEW et al., 2016; LIM et al., 2013; YU et al., 2017).

Também é importante que o fotossensibilizador seja tóxico aos tecidos normais apenas quando ativados pela luz, e que os danos causados por ele ocorram sem aumento da temperatura, o que acontece na chamada terapia fototermal (YU et al., 2017).

A entrega eficiente da luz ao fotossensibilizador, entretanto, é um grande desafio. Isto porque, na maioria dos casos, os FSs absorvem luz na região do ultravioleta-visível ou infravermelho próximo, que também é absorvida pelos tecidos do corpo humano, devido à melanina e outros cromóforos existentes na pele. Assim, a profundidade de penetração da luz é limitada, fazendo com que esta técnica não seja eficaz para tumores que se encontrem localizados muito abaixo da pele e, consequentemente, dificultando o uso clínico da mesma. A maior parte dos estudos feitos com TFD, inclusive, focam em cânceres mais superficiais, como o de pele (KAMKAEW et al., 2016; YU et al., 2017).

Desta forma, diferentes tecnologias são estudadas para se contornar este problema. Como o corpo humano é bastante transparente para fótons em regiões acima do infravermelho próximo (700 a 1100 nm), o desenvolvimento de fotossensibilizadores que possam ser ativados nessa região é uma das soluções à limitação da TFD mencionada acima. Deste modo, eles conseguem penetrar mais profundamente nos tecidos do que a luz ultravioleta e visível. O uso de nanopartículas de *upconversion* que possam ser excitadas no infravermelho próximo, emitindo luz na faixa do UV-Vis, também tem sido estudado. Entretanto, ambas as tecnologias ainda possuem limitações em relação à profundidade de penetração da luz nos tecidos. Além disso, é muito difícil encontrar um fotossensibilizador que absorva luz em um comprimento de onda maior que 700 nm (HOMAYONI et al., 2016; KAMKAEW et al.).

Como alternativa, o uso de nanopartículas (NPs) cintiladoras portadoras de fotossensibilizadores tem sido altamente explorado e relatado para uso em terapia fotodinâmica como materiais conversores de energia. Elas são capazes de converter radiação raios X para luz UV-Vis (HOMAYONI et al., 2016; ^BLIU et al., 2008; STANTON; AYRES; THERIEN, 2012).

Como não existem fotossensibilizadores capazes de absorver diretamente radiação raios X, estes têm um grande potencial de penetração nos tecidos, fazendo com que o uso destas nanopartículas seja bastante promissor. Desta maneira, a utilização de raios X como fonte de luz na aplicação da terapia fotodinâmica se torna possível, permitindo o tratamento, assim como o diagnóstico, de diferentes tipos de tumor (CLEMENT et al., 2016; KAMKAEW et al., 2016; ^BLIU et al., 2008). Logo, a combinação da radiação com a TFD poderia fornecer um melhor resultado terapêutico para tumores mais profundos.

Vale ressaltar que na radioterapia convencional, diferentes faixas de energia de raios X são utilizadas de acordo com o tipo de câncer que se quer tratar. Os feixes de baixa energia (40–100 kV) têm poucas aplicações, sendo úteis apenas para câncer de pele, como melanomas, porque

somente podem penetrar a uma profundidade menor que 5 mm, enquanto os tumores subcutâneos requerem energias médias (200 kV a 1 MV). Já os feixes de mais alta energia (4–25 MV) são os mais utilizados, pois permitem tratar mesmo os tumores mais profundos, com profundidade maior que 2 cm (KAMKAEW et al., 2016; RETIF et al., 2015).

Entretanto, com o uso de materiais nanocintiladores na terapia fotodinâmica alternativa, é possível utilizar feixes de raios X de baixa energia, mesmo para tumores mais profundos, com cerca de 300 KeV. Esta é uma das grandes vantagens deste tipo de terapia. Além disso, a focalização e irradiação do feixe de luz é específica, fazendo com que essa terapia seja mais seletiva. A irradiação também é aplicada de modo que se passe por diferentes pontos do tumor e não agrida em demasia uma única região. Tudo isto acaba provocando menos efeitos colaterais quando comparado com tratamentos convencionais já existentes (ALVES et al., 2018).

Como esses diferentes tipos de radiação produzem diferentes efeitos biológicos, a aplicação da radiação deve ser desenvolvida de modo a se minimizar o risco de exposição ao se maximizar o benefício. Além disso, a alta penetrabilidade das radiações raios X podem levar a danos na superfície dos tecidos, o que faz com que a especificidade do FS a ser utilizado também seja um fator importante na TFD. Também há uma relação entre a energia de radiosensibilização e as nanopartículas, de modo que é importante se ter o cuidado para que as NPs radiosensibilizadas se concentrem no tumor e não nos órgãos saudáveis também seja necessário (RETIF et al., 2015; YU et al., 2017).

2.2.1

Uso Estratégico de Nanopartículas na Terapia Fotodinâmica

A nanotecnologia é um ramo da ciência que cria e usa materiais e sistemas cujas dimensões se encontram em uma escala nanométrica, mais especificamente, na faixa de 0,1–100 nm, existindo algumas exceções. É um ramo que tem se desenvolvido e avançado consideravelmente, no qual nanopartículas têm sido aplicadas em diferentes áreas, como a medicinal

e a alimentar, devido suas características físicas, químicas e biológicas, que são consideradas únicas (DAYEM et al., 2017; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

De acordo com a sua preparação, as nanopartículas podem ser classificadas em dois diferentes tipos: NPs inorgânicas (como metálicas, magnéticas, óxidos metálicos e pontos quânticos) e NPs orgânicas (como lipossomas, micelas poliméricas e nanomateriais à base de carbono) (DAYEM et al., 2017).

Na medicina, a internalização das nanopartículas pode ser feita por diferentes vias, como inalação, ingestão e mesmo absorção através da pele. Após serem captadas, elas vão para o meio biológico e interagem com diferentes moléculas celulares que estão presentes nos nossos fluidos corporais. Sendo assim, o uso de NPs podem ser tóxico e provocar inflamações, danos genéticos, estresses oxidativos, assim como inibição e morte celulares. Logo, é necessário investigar a toxicidade desses materiais para que se possa desenvolvê-lo e utilizá-lo de forma segura (DAYEM et al., 2017).

Como já mencionado, o uso de nanopartículas cintiladoras, capazes de converter energia, é uma possível alternativa para a entrega da luz de forma eficiente para tratamento de tumores na terapia fotodinâmica. Elas também são conhecidas como materiais nanocintiladores, e funcionam como carreadores de moléculas de FSs. São capazes de aumentar a capacidade quântica e, conseqüentemente, a eficiência da terapia, além de dispersar o FS remanescente para outras regiões do corpo (HOMAYONI et al., 2016; MORGAN et al., 2009; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015). Este último fator é de fundamental importância, uma vez que os FSs tendem a se acumular em tecidos específicos, como o rim e o fígado, afetando não só os tecidos doentes, como também os tecidos saudáveis (YU et al., 2017).

Outra das grandes vantagens de se utilizar materiais nanocarreadores se deve ao fato do microambiente que envolve o tumor. Este é um ambiente

único, em que o rápido crescimento das células cancerígenas faz com que se torne ácido. Logo, a entrada do fármaco nessas células irá depender das propriedades morfológicas, físicas e químicas dos nanocarreadores, levando em conta os aspectos fisiológicos do organismo (LIM et al., 2013).

Esses nanocarreadores possuem alta capacidade de segmentação e efeito de permeabilidade e retenção aumentados (EPR) quando comparado com certos microcarreadores, por exemplo, podendo se acumular em tecidos específicos. Também apresentam um processo de carregamento simples e um desempenho aprimorado. Além disso, se apresentarem tamanhos apropriados, nanopartículas também são capazes de circular por mais tempo no plasma, diminuindo sua eliminação para o organismo e, conseqüentemente, sua citotoxicidade em outros órgãos. Em solução, elas também podem reduzir a sedimentação nos tecidos, através de formação de complexos mais estáveis. Por fim, elas ainda têm a grande vantagem de poderem sofrer modificações com adição de grupos químicos em sua superfície, como moléculas que sofram alterações em determinadas condições (LIM et al., 2013; YU et al., 2017).

Materiais nanocarreadores de silicato inorgânico (SiO_2) também possuem altas vantagens, como propriedades estáveis e inertes (apresentam um potencial não reativo à enzimas e micróbios), e natureza não tóxica. Também são sensíveis às variações de pH e temperatura. Dessa forma, as características físicas desses materiais se mantêm inalteradas durante o processo de transporte na terapia (BECHET et al., 2008; LIM et al., 2013).

Aplicações biológica desses materiais (nanopartículas de sílicas porosas - SNPs) já são estudadas em bioimagem, liberação de fármacos e marcação de células. O pequeno tamanho dessas partículas, assim como seu alto volume de poros, faz com que essas NPs tenham uma grande capacidade de carrear FSs, contribuindo com a eficácia da TFD. Entretanto, deve-se ter um bom controle do tamanho desse material, uma vez que não são biodegradáveis e podem ser facilmente capturados pelo sistema

retículoendotelial e eliminados do corpo através do rim (BECHET et al., 2008; LIM et al., 2013).

Além disso, NPs tendem a ter maiores tempo de circulação e se concentrar mais em ambientes tumorais, devido ao maior efeito EPR. Elas também podem ter suas superfícies modificadas, de modo a aumentarem sua sua captação. Por tudo isso, diferentes nanopartículas têm sido investigadas como uma forma de melhorar a entrega dos FSs na terapia fotodinâmica convencional (KAMKAEW et al., 2016).

Nanopartículas cintiladoras à base de elementos TR funcionalizadas com diferentes FSs, por exemplo, já são reportadas na literatura em diferentes estudos biológicos. Alguns desses estudos envolvem: NPs de $Gd_2O_2S:Tb$ que se mostraram capazes de ativar a Fotofrina II, um FS utilizado em TFD, para geração de ERO; e NPs de Y_2O_3 funcionalizadas com o FS Psolareno, que apresentaram ter potencial aplicação contra o câncer, ao exibirem morte ou inibição do crescimento celular, após irradiação com raios X (ABLIZ et al., 2011; SCAFFIDI et al., 2011).

Os FSs, todavia, também têm suas vantagens; alguns já apresentam bons resultados clínicos em oncologia aplicados em TFD e, inclusive, já são comercialmente acessíveis (ALLISON et al., 2004). Além disso, esses agentes fotodinâmicos, capazes de absorver luz UV e transferir o excesso de energia para células ao redor, possuem uma importante propriedade de se acumularem preferencialmente no microambiente do tumor (ABLIZ et al., 2011). Entretanto, além da limitação de penetração nos tecidos, a maioria dos FSs são hidrofóbicos e ficam parcialmente retidos nos tecidos normais não se acumulando de forma seletiva e considerável nos tecidos doentes para uso clínico. Eles também apresentam tempo de vida curto e efeitos colaterais tóxicos, sendo relativamente instáveis e difíceis de sintetizar (HOMAYONI et al., 2018; LIM et al., 2013; MORGAN et al., 2009; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Desta forma, diferentes formas de se modificar um fotossensibilizador e melhorar sua eficiência também vem sendo estudada, principalmente

pelo fato dos FSs, de modo geral, serem pouco alergênicos, não mutagênicos, rentáveis e fáceis de se reconstituir. Contudo, o uso de NPs ainda apresenta a vantagem de o FS ser entregue de maneira mais seletiva, causando menos danos aos tecidos saudáveis (ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Na TFD alternativa, esses fotossensibilizadores se ligam na superfície dos materiais nanocintiladores, que são posteriormente ativados por emissão de luz, e transferem a energia que receberam para o FS. Como consequência, radicais livres tóxicos são produzidos localmente (KAMKAEW et al., 2016; MORGAN et al., 2009).

Um resumo desse processo pode ser observado na Figura 3.

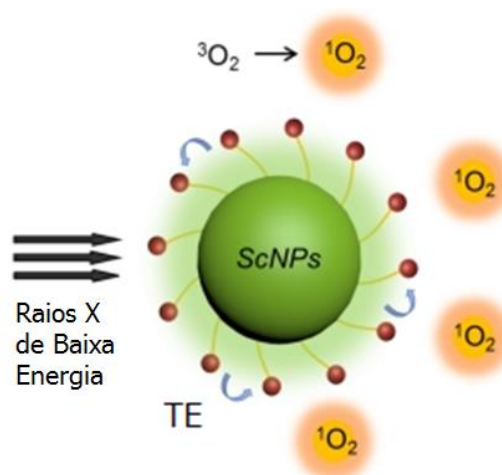


Figura 3: Esquema de nanopartículas cintiladoras fotossensibilizadas, sendo ativadas por Raios X e transferindo energia para o FS, que produz ERO (FONTE: KAMKAEW et al., 2016 - Adaptada).

Após a acumulação dos materiais nanossensibilizados no local específico do tumor, raios X são aplicados para estimular a emissão de luz. Esta pode ser capturada para ativar um FS que esteja próximo. Materiais de maior *bandgap* são utilizados para transformar fótons de alta energia em luz UV-Vis. A ativação do FS leva à geração de ERO, que são altamente tóxicas para as células (KAMKAEW et al., 2016).

Com isto, essas ERO geradas podem dar início a uma sequência de patologias distintas, como inflamação, carcinogênese e fibrose. E elas vão

dependem das características físico-químicas das NPs, como carga, tamanho e estrutura. Além disso, ainda faltam metodologias consideradas rigorosas e sistemáticas para que se possa avaliar a eficiência das NPs em usos clínicos. Com NPs de alto peso molecular, por exemplo, os números de estudos clínicos são muito poucos, apesar da grandeza de dados pré-clínicos desses materiais como radiosensibilizadores eficientes (COULTER et al., 2012; DAYEM et al., 2017; RETIF et al., 2015). Tudo isto enfatiza a importância do cuidado no desenvolvimento e uso desses materiais.

Além desta problemática, também existe a dificuldade em se criar produções de NPs em larga escala que apresentem características adaptáveis, sem contar que todo o processo de criação destes materiais também costuma ser bem alto. Tudo isto, provavelmente, é o que faz com que ainda existam poucas NPs disponíveis no mercado (RETIF et al., 2015).

Vale ressaltar que o mecanismo responsável pela formação de ERO varia entre os diferentes tipos de NPs existentes, como veremos adiante. Entretanto, apesar de o efeito de citotoxicidade das ERO na TFD ser ilustrado, muitos caminhos são envolvidos nesse processo, sendo eles bastante complexos e controversos. Assim, o principal mecanismo celular envolvendo a produção de ERO ainda se mantém inexplicado (DAYEM et al., 2017; YU et al., 2017).

Dependendo da natureza química das NPs, podem haver diferentes mecanismos de interação entre elas e os raios X. Neste trabalho, há a combinação de dois desses mecanismos: o da terapia fotodinâmica, que gera as ERO, como vimos; e o de alto número atômico Z, em que as NPs aumentam o efeito fotoelétrico, maximizando a eficiência da radioterapia. Isto porque as NPs usadas na terapia fotodinâmica normalmente são feitas de um núcleo com alto valor de Z, como os elementos lantanídeos. Sendo assim, além de gerar ERO, essas NPs também aumentam a radiação da terapia. NPs à base de gadolínio, por exemplo, além de terem um alto valor de Z, também tem a capacidade de atuarem como agentes de contraste

em ressonância magnética, apresentando assim uma abordagem bastante inovadora (RETIF et al., 2015).

2.2.2

Processos de Geração de ERO

O mecanismo fotofísico na terapia fotodinâmica envolve a absorção e a consequente transferência de energia pela molécula do fotossensibilizador, gerando espécies reativas de oxigênio. Após essa absorção de energia, o FS excitado pode gerar as ERO por meio de dois tipos de reação (CLEMENT et al., 2016; KAMKAEW et al., 2016).

Mais especificamente, a absorção de luz pelo FS é o que dá início ao processo de fotossensibilização, promovendo a transição dos seus elétrons do estado singleto fundamental para o seu primeiro estado excitado, o singleto excitado. Assim, esse FS excitado pode voltar ao seu estado fundamental emitindo a energia absorvida na forma de fluorescência ou por meio de conversão interna. Paralelamente, parte dessa energia também pode ser liberada através de um processo chamado cruzamento intersistemas, em que o elétron excitado será transferido para um estado tripleto excitado. Como esse estado excitado tem um tempo de vida consideravelmente maior, ele pode interagir com moléculas que estejam ao redor, provocando reações fotooxidativas conhecidas como reações do Tipo I e Tipo II (KAMKAEW et al., 2016; LIM et al., 2013; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Vale ressaltar que o cruzamento intersistemas é uma transição proibida por spin, entretanto, um bom fotossensibilizador pode atingir altos níveis de rendimento quântico (ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Esses processos fotofísicos mencionados envolvendo a geração de ERO encontram-se ilustrados no Diagrama de Jablonski (Figura 4).

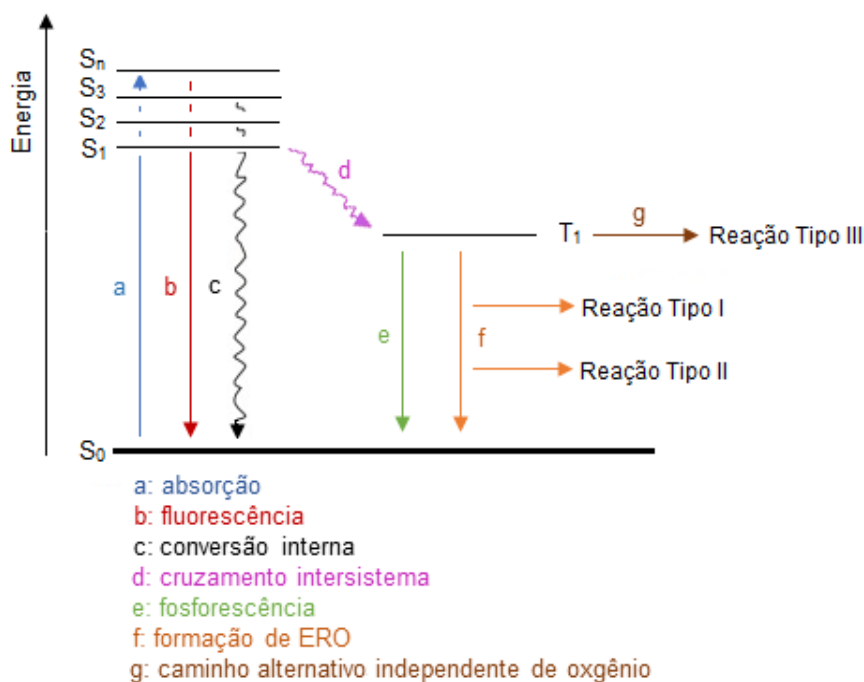


Figura 4: Diagrama de Jablonski modificado para mostrar os processos que ocorrem após irradiação de um fotossensibilizador (FONTE: HOUSECROFT; SHARPE, 2013 - Adaptada).

Neste Diagrama, é possível observar um resumo do esquema de fotossensibilização que leva a diferentes tipos de reação, como já mencionado.

Na reação do Tipo I, um elétron pode ser transferido a partir do estado tripleto excitado do FS para um substrato (uma molécula de água ou uma biomolécula) ao redor. Também pode haver a transferência de átomos de hidrogênio, levando à adição de um próton. Em ambos os casos há geração de radicais livres, que podem interagir com oxigênio disponível do meio e produzir espécies reativas de oxigênio, como peróxidos, superóxidos e radicais hidroxila e de oxigênio, poderosamente oxidativas. Já no Tipo II, ocorre a transferência de energia do elétron no estado tripleto excitado do FS para o oxigênio molecular no estado tripleto fundamental ($^3\text{O}_2$), que está presente nas células ou tecidos ao redor. Isto leva à formação das espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), que é altamente reativo e tóxico (CLEMENT et al., 2016; KAMKAEW et al., 2016; LIM et al., 2013; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Na Figura 4, pode-se notar que também existe um caminho alternativo de reação, denominado Tipo III. Neste, ocorre a reação direta do fotossensibilizador no estado tripleto com diferentes biomoléculas, por meio de uma via independente de oxigênio (ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Além disso, as reações do Tipo I e II ocorrem simultaneamente. A razão em que cada um desses processos irá ocorrer, entretanto, irá depender do tipo de FS utilizado, assim como das concentrações de substrato e oxigênio presentes no meio. Contudo, a reação do Tipo II é o principal processo de formação de ERO que ocorre na TFD, devido à grande interação que o oxigênio singleto apresenta com moléculas biológicas. Entretanto, a TFD só é eficaz quando no meio de uma área de produção de ERO, uma vez que o oxigênio singleto tem um tempo de meia-vida curto em sistemas biológicos (KAMKAEW et al., 2016).

Por fim, o FS no estado tripleto excitado pode retornar ao seu estado fundamental ao emitir um fóton (fosforescência), que é degradado pela luz em um processo denominado de fotobranqueamento (ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015).

Com tudo isso, podemos observar que grande parte do processo fotodinâmico é mediado pelo fotossensibilizador no seu estado energético. Além disso, o oxigênio singleto é a principal espécie responsável pela fototoxicidade da TFD (LIM et al., 2013; ROBLERO-BARTOLÓN; RAMÓN-GALLEGOS, 2015). Ele causa danos letais às células, como a danificação das membranas celulares, levando à apoptose ou necrose das células malignas (CLEMENT et al., 2016; LIM et al., 2013).

Desta forma, a eficiência da geração de oxigênios singletos governa a fototoxicidade da TFD e pode ser aprimorada de diferentes formas, de modo a se melhorar as características fotofísicas dos FSs (LIM et al., 2013).

2.3 Terras Raras

Os elementos Terras Raras (TR) constituem um grupo de 17 elementos químicos similares, que costumam existir na forma de cátions trivalentes. Fazem parte desse grupo os elementos lantanídeos (do lantânio ao lutécio) mais o escândio e o ítrio (Figura 5), que possuem propriedades similares a desse grupo de elementos (GAI et al., 2014; HASKIN, PASTER, 1979).

Eles são encontrados em misturas complexas em rochas e minerais, com exceção do elemento promécio, que não ocorre na natureza. Devido à grande similaridade física e química que estes elementos apresentam entre si, eles podem facilmente serem substituídos uns pelos outros, entretanto, torna-se muito difícil e caro separá-los (FILHO; SERRA, 2014; POWELL, 1979; SPEDDING et al., 1952).

1 H hidrogênio 1,00784(7)																	13 Al alumínio 26,9815386(8)	14 Si silício 28,0855836(2)	15 P fósforo 30,973761998(5)	16 S enxofre 32,06(5)	17 Cl cloro 35,45(3)	18 Ar argônio 39,948(1)							
3 Li lítio 6,94(1)	4 Be berílio 9,012182(2)											19 K potássio 39,0983(1)	20 Ca cálcio 40,078(4)	21 Sc escândio 44,955912(2)	22 Ti titânio 47,88(1)	23 V vanádio 50,9415(1)	24 Cr cromo 51,9961(6)	25 Mn manganês 54,938044(3)	26 Fe ferro 55,845(2)	27 Co cobalto 58,933194(5)	28 Ni níquel 58,6934(4)	29 Cu cúprico 63,546(3)	30 Zn zinco 65,38(2)	31 Ga gálio 69,723(1)	32 Ge germânio 72,630(8)	33 As arsênio 74,921595(6)	34 Se selênio 78,9718(8)	35 Br bromo 79,904(1)	36 Kr krônio 83,798(4)
11 Na sódio 22,98976928(2)	12 Mg magnésio 24,304(6)	21 Sc escândio 44,955912(2)	22 Ti titânio 47,88(1)	23 V vanádio 50,9415(1)	24 Cr cromo 51,9961(6)	25 Mn manganês 54,938044(3)	26 Fe ferro 55,845(2)	27 Co cobalto 58,933194(5)	28 Ni níquel 58,6934(4)	29 Cu cúprico 63,546(3)	30 Zn zinco 65,38(2)	31 Ga gálio 69,723(1)	32 Ge germânio 72,630(8)	33 As arsênio 74,921595(6)	34 Se selênio 78,9718(8)	35 Br bromo 79,904(1)	36 Kr krônio 83,798(4)												
37 Rb rubídio 85,4678(3)	38 Sr estrôncio 87,62(1)	39 Y ítrio 88,90584(2)	40 Zr zircônio 91,224(2)	41 Nb nióbio 92,90638(2)	42 Mo molibdênio 95,94(1)	43 Tc tecnécio 98,90625(1)	44 Ru rútenio 101,07(2)	45 Rh ródio 102,90550(2)	46 Pd paládio 106,90509(2)	47 Ag prata 107,8682(1)	48 Cd cádmio 112,411(8)	49 In índio 114,818(8)	50 Sn estanho 118,710(7)	51 Sb antimônio 121,757(1)	52 Te telúrio 127,603(1)	53 I iodo 126,90509(2)	54 Xe xenônio 131,29(1)												
55 Cs césio 132,90545196(3)	56 Ba bário 137,327(7)	57-71 Lantanídeos	72 Hf hafnânio 178,49(2)	73 Ta tântalo 180,94788(2)	74 W tungstênio 183,84(1)	75 Re rênio 186,207(1)	76 Os ósio 190,23(2)	77 Ir írio 192,222(1)	78 Pt platina 195,084(2)	79 Au ouro 196,966569(5)	80 Hg mercúrio 200,59(2)	81 Tl talitânio 204,38(3)	82 Pb chumbo 207,2(1)	83 Bi bismuto 208,9803987(4)	84 Po polônio 209	85 At ástato 210	86 Rn radônio 222												
87 Fr frâncio 223	88 Ra rádio 226	89-103 Atômicos	104 Rf rúfênio 261	105 Db dubnônio 262	106 Sg seaborgônio 266	107 Bh bohrio 264	108 Hs hásio 277	109 Mt mítênio 268	110 Ds darmsháio 271	111 Rg rógênio 272	112 Cn copernício 285	113 Nh nihônio 284	114 Fl flúvônio 289	115 Mc moscóvio 288	116 Lv livermório 293	117 Ts tenessônio 294	118 Og óganesson 294												

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

5</

Figura 5: Tabela Periódica, com ênfase nos elementos terras raras (FONTE: IUPAC - Adaptada).

Diferente do que se imagina, a abundância desses elementos na crosta terrestre é consideravelmente alta. O termo “terras raras” é considerado um termo equivocado, e provém da decorrente raridade dos

minerais em que eles foram originalmente isolados. De acordo com FILHO & SERRA (2014), esse termo se dá pelo fato desses elementos terem sido isolados, nos séculos XVII e XIX, na forma de óxido, a partir de alguns poucos minerais encontrados em regiões da Suécia. Na época, a palavra terra servia para designar óxidos metálicos de uma forma geral.

Em termos de comparação, os elementos célio, neodímio e lantânio são mais abundantes do que os elementos chumbo e níquel; já os elementos túlio e lutécio, os mais raros, ocorrem em maior quantidade do que a prata e os metais do grupo da platina. Na crosta continental, a porcentagem dos elementos TR é estabelecida entre 10 a 25%. Além disso, apesar de pouco conhecidos nos meios não acadêmicos, esses elementos estão muito presentes no nosso cotidiano (FILHO; SERRA, 2014; RUDNICK; GAO, 2013).

De modo geral, a configuração eletrônica desses elementos pode ser descrita da seguinte forma: $[Xe]4f^n5d^16s^2$, onde n varia de 0 a 14. Na sua forma trivalente comum, eles apresentam a configuração eletrônica $[Xe]4f^n$, onde há a perda dos seus três elétrons de valência (THOMPSON, 1979).

Esses elementos apresentam propriedades eletrônicas únicas devido ao fenômeno de contração lantanídica que sofrem. Neste processo, ao se aumentar o número atômico do elemento, ocorre uma diminuição uniforme do tamanho atômico e iônico do mesmo. Isto porque o aumento do número atômico faz com que os orbitais 4f sejam preenchidos; como esses possuem menor capacidade de blindagem do que os elétrons nos orbitais s, p ou d, a carga nuclear efetiva sobre os elétrons 4f irá aumentar e será maior que a repulsão intereletrônica. Como a blindagem do núcleo por elétrons da mesma camada é pequena, haverá maior atração pelos elétrons 5s e 5p, o que irá provocar uma diminuição no tamanho dos raios atômicos e iônicos do elemento. Este fenômeno também se deve a efeitos relativísticos causados pela maior vulnerabilidade desses elétrons s e p (FILHO; SERRA, 2014; SASTRI et al., 2003).

Além disso, eles apresentam densidade eletrônica mais interna na subcamada 4f semipreenchida do que nas subcamadas 5s e 5p preenchidas, sendo assim chamados de metais de transição interna. Entretanto, apesar dessa natureza mais interna dos elétrons 4f, o elétron desse orbital está mais disponível do que os elétrons dos orbitais 5s e 5p, uma vez que esses possuem baixa penetrabilidade. Além disso, esses elétrons também estão mais suscetíveis aos efeitos da contração relativística. Tudo isto contribui para que esses elementos formem, em sua maioria, cátions trivalentes (FILHO; SERRA, 2014; SOUZA, 2013). Todos esses fatores acabam sendo responsáveis por uma série de propriedades intrínsecas na química dos lantanídeos, tornando-os peculiares.

2.3.1

Características dos Elementos Lantanídeos

Devido à configuração interna única e abundante do orbital f que os íons lantanídeos (Ln^{3+}) possuem, eles, com exceção dos íons La^{3+} e Lu^{3+} , são capazes de exibir diferentes emissões de luminescência através das suas transições 4f–5d ou intra-4f. Além disso, possuem estados excitados duradouros em seus orbitais 4f. Tais características fazem com que eles sejam muito utilizados como espécies emissores em diferentes materiais luminescentes, também chamados de fósforos. Estes materiais são sólidos capazes de absorver e converter determinados tipos de energia em radiação de luz (GAI et al., 2014; YANG et al., 2014).

Entretanto, as transições 4f apresentam um caráter proibido, não sendo eficiente a excitação direta desses íons. Deste modo, para se obter materiais com características luminescentes desejadas, utiliza-se uma técnica de dopagem no qual uma baixa concentração de átomos ou íons lantanídeos é incorporada em uma rede hospedeira (orgânica ou inorgânica). Assim, se produz um material híbrido dopado com Ln^{3+} , em que as redes hospedeiras possuem um coeficiente de absorção maior que o íon lantanídeo emissor, funcionando como um microambiente constante para esse íon. Em outras palavras, a rede hospedeira transfere energia para os íons Ln^{3+} fazendo com que, quando excitados, esses materiais

apresentem emissões de luminescência bastante eficientes (GAI et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Desta maneira, comparando-se com outros materiais, esses híbridos têm as vantagens de possuírem um espectro de emissão estreito, alta estabilidade fotoquímica, um tempo de vida longo, baixa toxicidade, entre outras. Isto tudo faz com que esses materiais sejam bastante promissores para aplicação em diferentes dispositivos, como displays, lasers, sensores, células solares, e mesmo em diferentes áreas (GAI et al., 2014).

Alguns íons lantanídeos, inclusive, devido suas propriedades óticas singulares e baixa toxicidade, são fortes candidatos na medicina, sendo muito utilizados como agentes de contraste em ressonância magnética e imagem ótica (ZHANG et al., 2014). Estudos feitos com nanopartículas de óxido de gadolínio, por exemplo, o consideraram um potencial agente de contraste em imagem de ressonância magnética (CARR et al., 1984; XU et al., 2016).

De modo geral, nanopartículas que possuem boa solubilidade em água, ampla aplicabilidade e alta biocompatibilidade, são de grande interesse na área da biomedicina em nanoescala. Assim, nanomateriais à base de lantanídeos têm sido amplamente estudados nessa área, principalmente pela sua ampla aplicabilidade (SUDHEENDRA et al., 2014; XU et al., 2016).

Além do uso já visto em terapia fotodinâmica, essas nanopartículas são utilizadas em terapia fototermal e como antioxidantes. Também têm se estudado o uso de muitos nanomateriais multifuncionais à base de íons Ln^{3+} em bioimagem multimodal e para administração e entrega controlado de fármacos (YANG et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Sendo assim, pode-se dizer que esses materiais são criados para gerar mais plataformas multifuncionais do que qualquer outra classe de materiais. Entretanto, suas propriedades físico-químicas singulares, além de fazerem esses nanomateriais promissores na medicina, também podem os fazer um perigo potencial para a saúde (ZHANG et al., 2014).

2.3.2 Toxicidade dos ETR

A necessidade de se estudar a toxicidade dos elementos terras raras vêm crescendo conforme se aumenta o desenvolvimento e o uso desses materiais. Esses elementos têm sido utilizados em diferentes áreas, como na industrial, agricultura e médica. Eles são muito empregados em dispositivos eletrônicos, como computadores, câmeras e televisores devido suas propriedades luminescentes, que os permitem exibir diferentes cores. Também são muito utilizados em carros, vidros e cerâmicas. Desta maneira, não só os seres humanos ficam expostos a esses elementos, mas também diversos organismos terrestres e aquáticos (PAGANO et al., 2015; RIM; KOO; PARK, 2013).

Estudos feitos em animais expostos a ETR, a curto e a médio prazo, mostraram evidências de estresse oxidativo, bioacumulação e danos em tecidos como fígado e pulmão, alteração na resposta imune e inflamações. Entretanto, além de ainda falarem estudos a longo prazo, principalmente quando comparado com outros metais pesados, os existentes são limitados a determinados ETR, como Ce, La e Gd, mais comumente utilizados. Além disso, mecanismos de ação associados a esses elementos são relacionados com atividades redox e formação de ERO (PAGANO et al., 2015).

Resultados forneceram evidências de que os elementos TR são metabolizados e considerados biopersistentes no trato respiratório humano, causando lesões granulomatosas no pulmão ou pneumoconiose quando inalados (HIRANO; SUZUKI, 1996; RIM; KOO; PARK, 2013).

Entretanto, como já visto, esses elementos também podem apresentar resultados satisfatórios na medicina. É reportado que o Ce é um potente fármaco contra bactérias Gram-negativas e fungos, por exemplo. Outro estudo realizado também mostrou que carbonato de lantânio foi eficiente no controle de hiperfosfatemia em pacientes com doenças crônicas nos rins (MONAFO et al., 1976; TAKAHARA et al., 2014).

Além disso, alguns estudos de mortalidade feitos com alguns elementos TR nas formas iônicas e queladas revelaram que eles foram pouco tóxicos em relação à sua dose letal mediana (DL_{50}) (HIRANO; SUZUKI, 1996).

Nesse trabalho, os três elementos terras raras mais utilizados serão o Gd, Eu e Sm. Como já visto, o gadolínio é muito utilizado como agente de contraste em ressonância magnética na medicina. Isto porque, apesar de seu íon livre ser altamente tóxico, seu composto quelato (forma em que é usado), é considerado suficientemente seguro; assim sendo, a toxicidade irá depender da força do agente quelante. Entretanto, se tem pouca informação sobre a origem de seus papéis biológicos. Sobre o európio, não há uma evidência clara de que este elemento seja consideravelmente tóxico quando comparado com outros elementos pesados, por exemplo. Já em relação ao samário, sabe-se que seu papel biológico no corpo humano ainda é controverso (RIM; KOO; PARK, 2013).

As formas químicas dos compostos de terras raras irão determinar, principalmente, a deposição e a retenção dos mesmos após a exposição oral, intravenosa e inalatória. A depuração do corpo do terra rara quelado irá depender da estabilidade dos complexos. Os elementos quelados são excretados rapidamente pela urina, enquanto os iônicos formam facilmente coloide no sangue, sendo esse material coloidal absorvido pelas células fagocitárias do fígado e do baço (HIRANO; SUZUKI, 1996).

O nível de elemento terra rara presente no cabelo de uma pessoa pode ser usado como um biomarcador para refletir o nível de exposição ao qual essa pessoa sofreu a este elemento. Sabe-se também que o osso é um dos grandes alvos das terras raras no organismo e que sua absorção pela pele pode ser considerada insignificante, entretanto, se esta estiver ferida, esses elementos poderão ser absorvidos pelo corpo até determinado ponto (HIRANO; SUZUKI, 1996; RIM; KOO; PARK, 2013).

Sendo assim, estudos toxicológicos envolvendo os elementos terras raras são essenciais, tanto do ponto de vista medicinal, quanto do ponto de vista industrial e ambiental. Em se tratando do primeiro, apesar das

aplicações empregadas desses elementos nessa área, são necessários estudos cada vez mais aprofundados, principalmente no que diz respeito à exposição crônica desses elementos.

3

Metodologia

3.1

Reagentes e Solventes

Todos os óxidos de elementos terras raras foram adquiridos da empresa Cstarm, com 99,99% de pureza. Os reagentes SiO₂ e PCL (massa molecular de 70000–90000 u) foram obtidos através da Aldrich, e a Dextrana (peso molecular médio igual a 15000 u) da Sigma. O NaOH e o PVA foram adquiridos pela ISO FAR. O solvente etanol e o ácido clorídrico foram adquiridos da Qhemis. O ácido acético foi obtido pela Vetec e o peróxido de hidrogênio pela Synth. O trietilenoglicol e o clorofórmio foram adquiridos pela Sigma-Aldrich. As águas utilizadas para as reações e análises foram destiladas ou Mili-Q e obtidas em laboratórios do Departamento de Química da PUC-Rio. Todos os reagentes e solventes foram utilizados como recebidos, sem tratamento prévio.

3.2

Equipamentos

Para a realização das sínteses foi utilizada uma balança analítica da marca Shimadzu e modelo ATX224 e, quando necessário, uma chapa de aquecimento da marca Ika, modelo C-MAG. Para as sínteses em que também foi necessário o uso de um ultrassom, foram utilizados uma lavadora ultrassônica Q1.8L da Eco-Sonics (Ultronique) e um processador ultrassônico UP200S da Hielscher de 200 watts de potência, com 70% de força.

3.3 **Caracterização das Nanopartículas**

3.3.1 **Estudos de Fotoluminescência**

3.3.1.1 **Espectroscopia de Fotoluminescência (Excitação Total, Excitação e Emissão)**

Estas análises foram realizadas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS - CNPEM), na linha de luz TGM (*Toroidal Grating Monochromator*), no modo 3D, com auxílio da pesquisadora Dr^a. Verônica de Carvalho Teixeira. A luminescência visível foi seguida durante uma varredura de energia na faixa espectral de 4,5 a 8,0 eV, na região do UV-extremo (275 a 155 nm), com excitação a cada 0,05 eV, e emissão a cada 0,5 nm, na faixa de 1000 a 200 nm.

Também foram feitas análises de fotoluminescência em um espectrofluorômetro de UV-Vis, modelo QuantaMaster 40 (QM 40) da marca Photon Technology International (PTI), com lâmpada Xe como fonte de excitação. Elas foram auxiliadas pelo pesquisador Dr. Rafael dos Santos Carvalho, no Laboratório de Optoeletrônica Orgânica e Molecular (LOEM) do Departamento de Física da PUC-Rio, coordenado pelo Prof. Marco Cremona.

3.3.1.2 **Decaimento de Fotoluminescência (Tempo de Vida)**

Os dados de decaimento de fotoluminescência foram obtidos em um espectrofluorímetro Fluorolog-3 (Horiba FL3-22-iHR320), com grades duplas (1200 g.mm⁻¹, blaze 330 nm) no monocromador de excitação e grades duplas (1200 g.mm⁻¹, blaze 500 nm) no monocromador de emissão. Um laser de 980 nm com potência variável (Crystalaser DL980-1WT0) foi utilizado como fonte de excitação. O equipamento pertence ao Laboratório Multiusuário de Espectroscopia Óptica Avançada (LMEOA) e a análise foi feita em colaboração com o Prof. Fernando Aparecido Sigoli (IQ-Unicamp).

3.3.2

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As medidas foram feitas no equipamento JEOL JSM 7100F no LaMAR-CAIPE da UFF, com auxílio do aluno Cauê Nogueira, e em colaboração com o Prof. Yutao Xing. As voltagens de trabalho usadas foram de 1,00 kV e 15,0 kV. Foi utilizado um canhão de emissão de campo elétrico. A técnica de dispersão de energia característica de raios X (EDS) foi feita utilizando-se detector EDS do tipo SDD (*Silicon Drift Detector*), e com voltagens de trabalho de 15,0 kV. As amostras foram preparadas adicionando-as, na forma de sólido, em uma fita de carbono ou em silício monocristalino, ambos presos em um stub de latão.

3.3.3

Difração de Raios X de Pó (DRX)

As medidas foram realizadas em um difratômetro de raios X do modelo X' Pert Pro da marca PANalytical, pertencente ao Laboratório de Cristalografia e Difração de Raios X do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas - CBPF, auxiliadas pela pesquisadora Dr^a. Liu Liying.

3.3.4

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As análises foram feitas no equipamento JEOL JEM 2100F do LaMAR/CAIPE da UFF, em colaboração com o Prof. Yutao Xing. Elas foram realizadas nos modos convencional (CTEM), alta resolução (HRTEM) e modo varredura (STEM). Acoplado com as técnicas espectroscópicas de dispersão de energia característica de raios X (EDS), o MET se mostra um poderoso instrumento para análise química, qualitativa e quantitativa, com alta resolução espacial. As voltagens de trabalho usadas foram de 200 kV, e o detector EDS utilizado é do tipo SDD (*Silicon Drift Detector*), com área de 100 mm². As amostras foram dispersas em água destilada e depois pingadas em uma pequena grade de Cu com suporte de filme de carbono. As gradinhas contendo as amostras foram tratadas a uma temperatura de ~ 90 °C por 30 min para evaporação completa da água.

A análise da distribuição de tamanho das nanopartículas foi realizada com o programa ImageJ e resumida por meio de estatística descritiva avaliando todos os quartis ($d_{25\%}$, $d_{50\%}$, $d_{75\%}$) com definição do diâmetro médio, $d_{médio}$, juntamente com a normalidade da dispersão. O teste de D'Agostino-Pearson ($p_{D'A-P}$) foi preferido no nível de significância $\alpha = 0,05$ como critério de normalidade. A distribuição das nanopartículas de óxidos de terras raras foi visualizada em um histograma por meio de um software registrado de código aberto Python “Plotus 2.0” (<https://plotus.xyz/>).

3.3.5

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)

As análises foram realizadas em um espectrômetro FT-IR, de modelo Spectrum Two da Perkin-Elmer, pertencente ao Laboratório Multiusuário do Departamento de Física da PUC-Rio. Elas foram feitas na região do infravermelho médio ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) utilizando-se o modo ATR (*Attenuated Total Reflectance*).

3.3.6

Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)

As medidas foram obtidas no equipamento SZ-100 da Horiba, coordenado pela Prof. Ana Percebon, presente na Central Analítica do Departamento de Química da PUC-Rio. As análises foram feitas em triplicata, com duração de 120 segundos cada amostra, a uma temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e com ângulo de 90° . As amostras foram previamente preparadas em um banho ultrassom. Primeiramente, ficaram por 10 minutos em uma lavadora ultrassônica Q1.8L da Eco-Sonics (Ultronique) por 10 minutos e depois foram ultrassonicadas em um processador ultrassônico UP200S da Hielscher de 200 watts de potência, utilizando-se 0,5 ciclo e amplitude de 60%, por 20 minutos.

3.3.7

Potencial Zeta (ζ)

As amostras também foram analisadas no equipamento SZ-100 da Horiba, coordenado pela Prof. Ana Percebon, mencionado acima.

Novamente, ficaram por 10 minutos em uma lavadora ultrassônica Q1.8L da Eco-Sonics (Ultronique) por 10 minutos e depois ultrassonicadas em um processador ultrassônico UP200S da Hielscher de 200 watts de potência, utilizando-se 0,5 ciclo e amplitude de 60%, por 20 minutos. Também foram feitas medidas em triplicata e à temperatura de 25 °C.

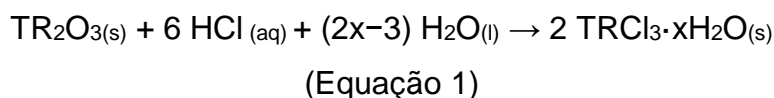
3.4

Procedimento experimental

3.4.1

Síntese de sais de cloreto dos elementos terras raras

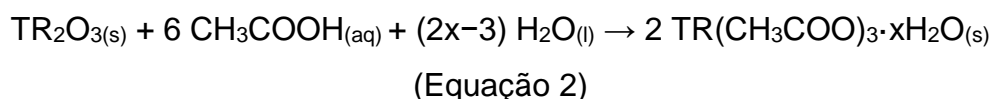
Pesou-se 0,2 g de TR_2O_3 (TR = Gd, Eu, Sm, Tm, Tb) em um béquer, acrescentando-se 1,0 mL de água. Adicionou-se, aos poucos, uma solução de HCl 6,0 mol.L⁻¹, observando-se a formação de uma suspensão. Esta reação ocorreu sob agitação constante a uma temperatura de 90 °C, por 2h, até que a formação de uma solução totalmente límpida fosse observada. Deixou-se que a reação permanecesse a 60 °C até que o solvente fosse evaporado. No final, o sal $\text{TRCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (onde $x = 6$ ou 7) obtido na forma de sólido foi guardado em um dessecador para retirada do solvente restante. Esta reação é representada segundo a equação abaixo:



3.4.2

Síntese de sais de acetato dos elementos terras raras

Pesou-se 0,2 g de TR_2O_3 (TR = Gd, Eu, Sm), acrescentando-se 1,0 mL de água. Em seguida, adicionou-se, aos poucos, 10,0 mL de ácido acético P.A., e deixou-se a reação ocorrer sob agitação à temperatura de 90 °C. Após 5h, quando a solução se tornou límpida, deixou-se o solvente evaporar a 60 °C. Por fim, se obteve o sal $\text{TR}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ na forma de um sólido, que também foi guardado em um dessecador para a retirada do solvente restante. A reação que ocorre encontra-se equacionada abaixo:



3.4.3

Síntese de nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com íon lantanídeo pela técnica sol-gel assistida por PVA

Primeiramente, misturou-se, em um cadinho de porcelana, 0,2 g de $Gd(Z)_3 \cdot xH_2O$ (onde $Z = Cl$ ou OAc e $x = 6$ ou 7) com 0,002 g de $Ln(Z)_3 \cdot xH_2O$ (onde $Ln = Eu, Tb, Tm, Sm$), acrescentando-se 2,0 mL de água. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL de solução de PVA 10% (p/v), e homogeneizou-se. Deixou-se então esta solução sob agitação constante e à temperatura ambiente por 30 min. Após, colocou-se na estufa a 100 °C por 24h, depois deixou-se por mais 5h a 200 °C e, por fim, calcinou-se em uma mufla a diferentes temperaturas (500 °C, 750 °C e 1000 °C) e em diferentes tempos (3h e 5h). Foi obtido um sólido branco, que foi reservado para análises posteriores (SOBRAL et al., 2016 - Adaptada).

Um fluxograma resumido dessa síntese encontra-se presente na Figura 6 a seguir.

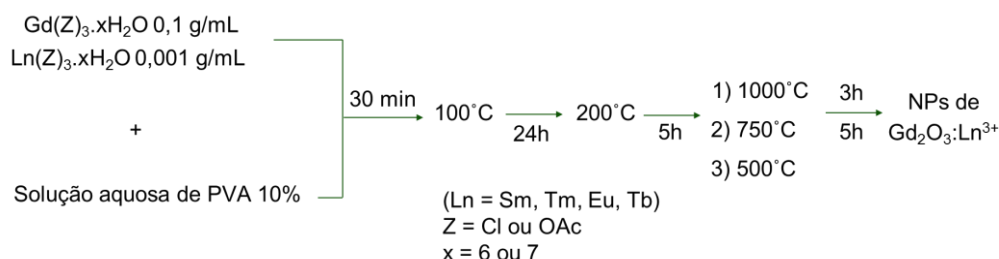


Figura 6: Fluxograma da metodologia de síntese sol-gel assistida por PVA.

Também foi feito um fluxograma de todas as nanopartículas obtidas a partir desta síntese (Figura 7). Com exceção das nanopartículas de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ da síntese a partir do acetato como sal precursor, que tiveram diferentes tempos e temperaturas de calcinação, todas as outras foram calcinadas a 1000 °C por 5h.

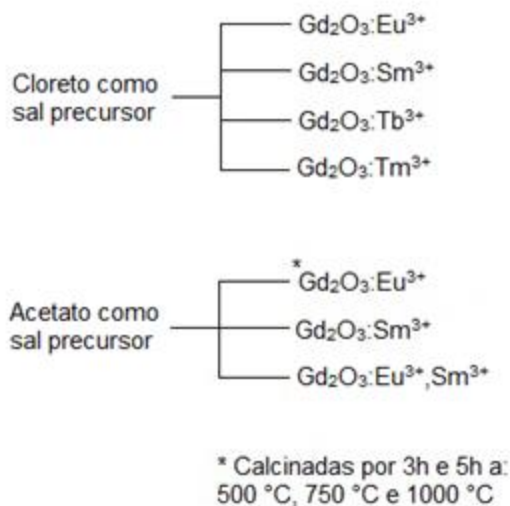


Figura 7: Fluxograma das nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel assistida por PVA.

Estas sínteses apresentaram rendimentos na faixa de 80–95%.

3.4.4

Síntese de nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com európio pela metodologia *one-pot*

Primeiramente, pesou-se 0,3 g de $\text{Gd}(\text{Cl})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (onde $x = 6$ ou 7) e 0,003 g de $\text{Eu}(\text{Cl})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ em um béquer, adicionando-se 20 mL de trietilenoglicol (TEG). Deixou-se sob agitação a 40 °C até que todo o sal dissolvesse. Paralelamente, misturou-se, em outro béquer, 120 mg de NaOH com 10 mL de trietilenoglicol, e esta reação também permaneceu sob agitação a 40 °C até que todo o hidróxido de sódio solubilizasse. Após, ambas as soluções foram misturadas, obtendo-se uma solução única de coloração amarelada característica do trietilenoglicol, e a reação permaneceu sob agitação a 80 °C por mais 2h. Em seguida, adicionou-se 3,5 mL de H_2O_2 , sendo possível observar a liberação de bolhas e a formação de uma suspensão leitosa. Esta, se manteve por mais 2h. Após, acrescentou-se 32 mg de dextrana e não se observou nenhuma mudança na reação. Após 12h, se obteve uma suspensão de nanopartículas, que foram posteriormente isoladas. Primeiramente, a suspensão foi lavada com cerca de 300 mL de etanol e deixada em repouso por, aproximadamente, uma semana até que todas as nanopartículas decantassem. A solução sobrenadante então foi descartada e este procedimento foi repetido por

mais duas vezes. Por fim, após a solução sobrenadante ter sido descartada, as nanopartículas remanescentes ficaram em forma de gel. Elas então foram guardadas em um dessecador a vácuo até que secassem por completo. No final, foram obtidas nanopartículas do tipo $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, na forma de um sólido amarelado (XU et al., 2016).

O fluxograma resumido desta síntese encontra-se presente na Figura 8.

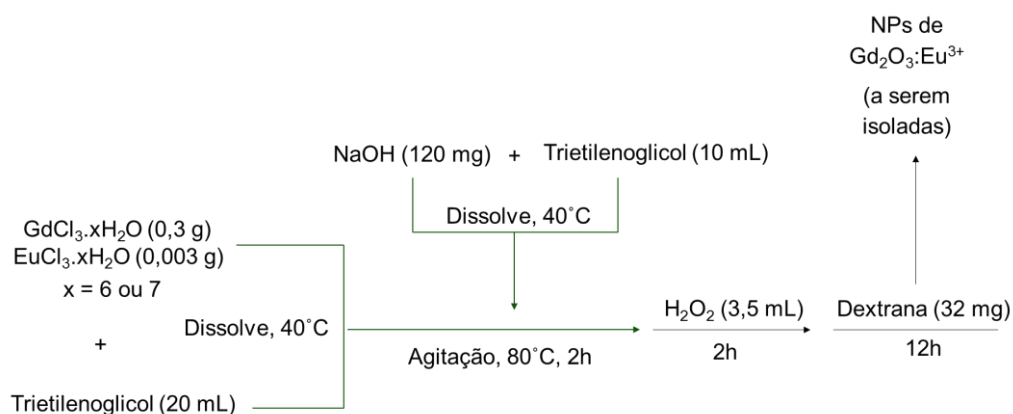


Figura 8: Fluxograma da metodologia de síntese one-pot.

Esta síntese apresentou um rendimento de 28%.

3.4.5

Síntese de nanopartículas de SiO_2 com óxido de gadolínio dopado com európio, através do método por impregnação

Foram pesados 256 mg de SiO_2 em um cadinho de porcelana. Paralelamente, uma solução de $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ($x = 6$ ou 7) foi preparada, pesando-se 0,7 mg deste sal e solubilizando-o na menor quantidade possível de água. Em seguida, adicionou-se essa solução na sílica e deixou-se esta mistura na estufa a 100°C até que secasse. Após, preparou-se uma solução de $\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, pesando-se 70 mg deste sal e dissolvendo-o na menor quantidade possível de água, com auxílio de um banho ultrassônico. Depois, adicionou-se um pouco desta solução na sílica já contendo o íon európio, e deixou-se secar novamente na estufa. Este processo foi repetido quatro vezes, até que toda a solução do sal de gadolínio terminasse e a mistura se encontrasse totalmente seca. O

material obtido foi levado para a mufla por 1h a 200 °C, após, a 400 °C também por 1h e, então, a 500 °C por mais 1h. Por fim, calcinou-se a 600 °C por 3h, obtendo-se um sólido branco.

Um fluxograma desta síntese encontra-se resumido na Figura 9 abaixo.

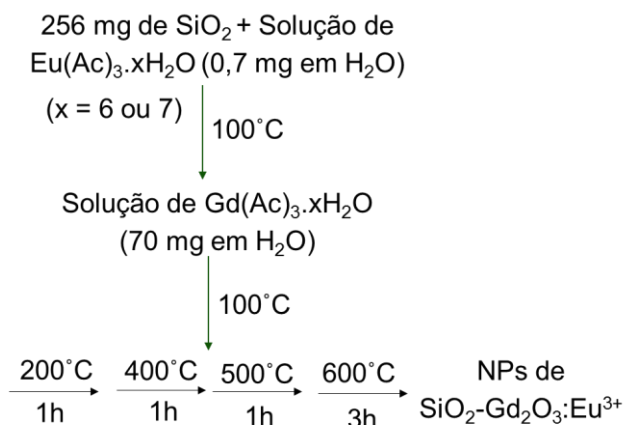


Figura 9: Fluxograma da síntese do método por impregnação.

Além desta síntese utilizando-se európio na concentração de 1% em relação ao gadolínio, também foram realizadas outras duas sínteses semelhantes, porém com európio nas concentrações de 3% e 5% em relação ao gadolínio.

Sendo assim, ao final desta síntese, foram obtidas as seguintes nanopartículas: SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺(1%), SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺(3%) e SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺(5%).

Essas sínteses apresentaram um rendimento médio de 95%.

3.4.6

Síntese de nanopartículas de SiO₂ com óxido de gadolínio dopado com európio, através do método por ultrassom

Nesta síntese, primeiramente, a sílica foi aquecida a 300 °C na mufla. Após, foi pesada 456 mg desta e transferida para um béquer, adicionando-se, em seguida, uma solução de Eu(OAc)₃.xH₂O (x = 6 ou 7), contendo 1,3 mg deste sal solubilizado em uma quantidade mínima de água. Deixou-se esta reação sob agitação por 20 min e, em seguida, uma solução de

$\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, contendo 120 mg deste sal também dissolvido em uma quantidade mínima de água foi preparada com auxílio de um banho ultrassônico. Esta solução foi adicionada à mistura de óxido de silício contendo íons európios. A reação ficou sob agitação por 10 min, sendo levada para um processador ultrassônico, com 70% de força por 5 min e depois por mais 5 min nesta mesma força, com vibração. Por fim, transferiu-se o material obtido para uma placa de Petri e deixou-se secando à temperatura ambiente por 5 dias. Foi formado um produto na forma de gel, que foi levado à estufa a 100 °C por 1h, até que o material ficasse completamente seco. Em seguida, esse foi levado para a mufla por 1h a 200 °C, depois a 400 °C também por 1h e, então, a 500 °C por mais 1h. No final, foi calcinado a 600 °C por 3h, no qual nanopartículas do tipo $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ foram obtidas na forma de um pó branco.

Um fluxograma desta síntese encontra-se resumido na Figura 10.



Figura 10: Fluxograma da síntese do método por ultrassom.

Essa síntese apresentou um rendimento de 91%.

3.4.7

Encapsulamento das nanopartículas obtidas pela síntese sol-gel assistida por PVA

Pesou-se 25 mg das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h, tendo-se o acetato como sal precursor. Em seguida, estas NPs foram dispersas em 5,0 mL de clorofórmio e, paralelamente, solubilizou-se 0,5 mg de PCL em 5,0 mL de clorofórmio. Ambas as suspensões ficaram em um banho ultrassônico até que os reagentes fossem dispersos. Em seguida, elas foram misturadas e permaneceram no banho por mais alguns minutos. Após, colocou-se 10,0 mL de uma solução de PVA 0,5%, previamente preparada, em um processador ultrassônico, adicionando-se a esta, a solução de nanopartículas com PCL preparadas anteriormente. Deixou-se essa mistura por mais 10 min no processador ultrassônico e, por fim, evaporou-se todo o clorofórmio em um rotaevaporador, restando as NPs encapsuladas com PCL, em água. Estas foram centrifugadas e lavadas com água por mais três vezes. O sobrenadante foi então descartado e o produto formado foi reservado para secagem. No final, foram obtidas nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ encapsuladas.

O fluxograma desse encapsulamento está presente na Figura 11.

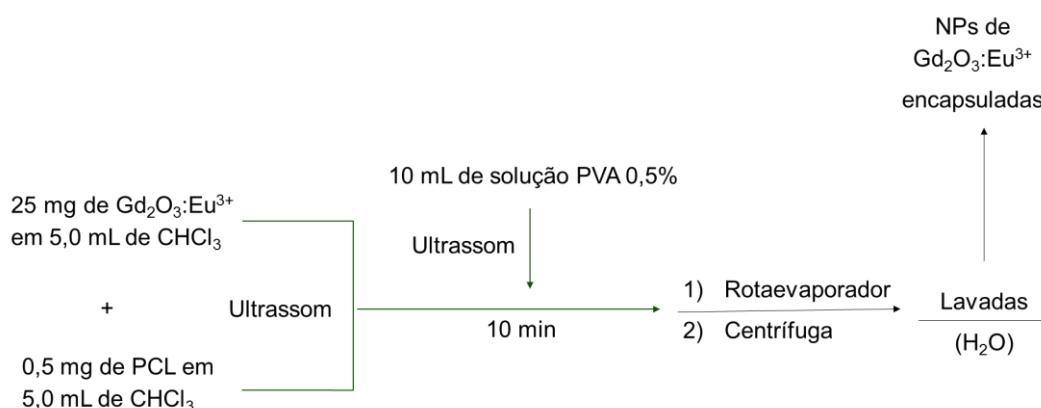


Figura 11: Fluxograma do encapsulamento das nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel assistida por PVA.

3.5

Estudo de Atividade Citotóxica

O estudo de atividade citotóxica das nanopartículas foi realizado no IOC/Fiocruz, pela pesquisadora Edith Alejandra Carreño Mendivelso, no Laboratório de Comunicação Celular (LCC) coordenado pelo Dr. Luiz Anastácio Alves, em uma parceria com o nosso projeto.

3.5.1

Cultura Celular

A linhagem celular de glioblastoma de camundongo GL261 foi cultivada em meio DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), penicilina 100 U.mL^{-1} e 100 ug.mL^{-1} de estreptomicina, e incubadas a 37°C e 5% de CO_2 , conforme as recomendações da ATCC. Para os experimentos, as células foram previamente cultivadas em placas de 96 poços (Grenier) na quantidade de 1×10^4 e assim mantidas por 48h antes de cada ensaio (5% de CO_2 a 37°C). A padronização das condições experimentais do ensaio de MTT foi previamente definida para a linhagem celular GL261.

3.5.2

Avaliação de citotoxicidade pelo método de redução do MTT

Para a avaliação da citotoxicidade, as células (1×10^4 por poço) foram incubadas (37°C e 5% CO_2) em estufa durante 24h, com diferentes concentrações das nanopartículas (10 até $500 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$) de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel e calcinadas a 1000°C por 5h, tendo-se o acetato como sal precursor. Depois deste tempo, as células foram lavadas 3 vezes com PBS para eliminar qualquer resíduo de nanopartículas. Em seguida, o meio foi trocado ($180 \text{ }\mu\text{L}$), adicionando-se $20 \text{ }\mu\text{L}$ de sal MTT (5 mg.mL^{-1} , Sigma®), e então as células foram novamente incubadas por mais 3h. Após, o meio foi removido, e adicionou-se $100 \text{ }\mu\text{L}$ de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma®) para solubilização dos

cristais de formazan¹ formados. A absorbância foi medida no leitor de placas (Spectramax) a 570 nm. Os experimentos foram realizados em quadruplicada (n=12). Células sem tratamento foram utilizadas como branco, e como controle positivo de morte foi usado Tritón-X a 0,4%. O cálculo da viabilidade celular foi feito, como descrito por RISS et al., 2004-2013: % Viabilidade = (Abs. Tratamento / Média Abs. Células sem Tratamento) x 100.

3.5.3 Análise Estatística

Todos os dados foram expressos, em um gráfico, através da média aritmética \pm SEM (erro padrão). Antes de se iniciar os testes de inferência estatística, foi verificado se a amostra descrevia uma distribuição normal com o teste de D'Agostino-Pearson, seguido do teste de Bartlett para estabelecer a homogeneidade das variâncias. Assim sendo, para avaliar a diferença entre os tratamentos, foi aplicado o teste não paramétrico, Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparação múltipla de Dunn. Os testes utilizados também foram indicados na legenda das figuras. O nível de significância adotado foi (alfa) de 5 % ($P < 0.05$), e todos os testes utilizados são bicaudais. Os gráficos e testes foram realizados com o programa GraphPad PRISM 7 (San Diego, Califórnia, USA).

¹ Produtos cromogênicos formados a partir da redução de sais triazólio por enzimas, utilizados como referência em ensaios de viabilidade celular.

4

Resultados e discussão

4.1

Obtenção dos sais de elementos terras raras

Como os óxidos de terras raras são pouco solúveis, é mais viável que os reagentes se encontrem na forma de sais. Sendo assim, as sínteses das nanopartículas são feitas a partir dos sais destes elementos. Então, tanto os cloretos quanto os acetatos dos elementos terras raras - $\text{TRCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ e $\text{TR}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, onde $x = 6$ ou 7 - são obtidos a partir dos óxidos destes elementos (TR_2O_3), para a posterior realização das sínteses das nanopartículas.

4.2

Obtenção das nanopartículas de óxido de terras raras

Foram feitas diferentes sínteses a fim de se avaliar a mais viável para o trabalho aqui proposto, assim como o nanomaterial mais adequado. Além de uma boa uniformidade e tamanhos por volta de 10–200 nm, era desejado um material com boa estabilidade e dispersão em solução aquosa. Isto é importante, pois, nanopartículas muito pequenas são depuradas muito rapidamente do organismo enquanto nanopartículas maiores são depuradas mais lentamente, podendo se acumular de forma não desejável no organismo. Nanopartículas pouco estáveis também podem se acumular fora do local específico e provocar efeitos colaterais durante o tratamento da terapia fotodinâmica. Entretanto, para garantir as propriedades desejadas e se ter um controle destas, apenas com a realização de testes *in vivo*.

Além destes fatores, também era importante que as nanopartículas obtidas apresentassem um espectro de emissão compatível com o de absorção do azul de metileno, fotossensibilizador a ser utilizado.

A partir disto, foram definidos parâmetros de sínteses a serem considerados, levando em conta o trabalho aqui proposto. Estes, encontram-se presente na Tabela 1.

Tabela 1: Critérios comparativos utilizados para a(s) escolha(s) das sínteses realizadas.

Parâmetros	Propriedade Desejada
Espectro de emissão	Compatível com o espectro de absorção do AM
Tamanho das NPs	10 – 200 nm
Distribuição de tamanho	Homogênea e uniforme
Material orgânico	Eliminação total
Dispersabilidade	Boa em meio aquoso
Estabilidade	Não se aglomerar/precipitar

Desta forma, foram realizadas 4 diferentes metodologias de síntese, de modo a se obter nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com diferentes íons lantanídeos.

A primeira, síntese sol-gel, é uma metodologia muito utilizada para a obtenção de matérias inorgânicos, em que há a transformação de uma suspensão coloidal de um sistema sol (sólido disperso em um líquido) para um sistema gel (líquido disperso em um sólido). Neste trabalho, ela foi assistida por uma solução de PVA, que foi utilizado na etapa de polimerização.

Também foi feita a síntese *one-pot*, isto é, uma síntese que ocorre em uma única etapa. Nela, à medida que os intermediários são sendo formados, eles sofrem uma série de reações químicas sucessivas, reagindo entre si, para formar o produto final. Essa é uma estratégia utilizada para melhorar a eficiência de uma reação, uma vez que se tem uma diminuição do número de etapas reacionais e menos resíduos são gerados no processo. Além disso, foi-se utilizada a dextrana, um polímero formado por moléculas de glicose, com o intuito de se inibir a agregação das NP, tornando-as mais hidrofílicas.

As sínteses contendo SiO_2 foram realizadas com o objetivo de se incorporar o Gd_2O_3 na matriz do mesmo. Isto também foi feito para tentar melhorar a estabilidade e a dispersão das nanopartículas, uma vez que a sílica apresenta maior afinidade com a água. A síntese por impregnação recebe este nome, pois, o gadolínio vai sendo incorporado, isto é, impregnado, aos poucos na matriz da sílica, para garantir que sua distribuição seja uniforme ao longo da mesma. Já a síntese por ultrassom foi feita com o auxílio de um processador ultrassônico para garantir a boa dispersão dos reagentes e aumentar a eficiência da reação. Para essas sínteses, as massas foram calculadas para se obter, no final, 10% de Gd_2O_3 em relação ao SiO_2 .

Nota-se que em todas as sínteses o európio foi utilizado na proporção de 1% em relação ao gadolínio. Na síntese por impregnação, a fins de comparação, também foi utilizado európio como dopante nas concentrações de 3% e 5%, uma vez que, nesta síntese, a proporção de íons európio na amostra é consideravelmente menor. Sendo assim, é importante se avaliar o efeito da luminescência com diferentes porcentagens de íons európios para essa amostra.

Além destas sínteses mencionadas, também decidiu-se encapsular as nanopartículas obtidas na síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor. Isto também foi feito com o objetivo de tentar melhorar a dispersão deste material, e mantê-lo mais uniforme.

Um resumo dessas sínteses, encontra-se presente na Tabela 2.

Tabela 2: Resumo das sínteses realizadas para obtenção das nanopartículas.

Síntese	Reagentes	Produtos
Sol-gel	Gd(Z) ₃ .xH ₂ O (Z = Cl ou OAc) Ln(Z) ₃ .xH ₂ O (Ln = Eu, Sm, Tb, Tm) PVA 10%	NPs de Gd ₂ O ₃ :Ln ³⁺
One-pot	GdCl ₃ .xH ₂ O EuCl ₃ .xH ₂ O TEG NaOH H ₂ O ₂ Dextrana	NPs de Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ recobertas com dextrana
Impregnação	SiO ₂ Eu(Ac) ₃ .xH ₂ O Gd(Ac) ₃ .xH ₂ O	SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ (1%) SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ (3%) SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ (5%)
Ultrassom	SiO ₂ Eu(Ac) ₃ .xH ₂ O Gd(Ac) ₃ .xH ₂ O	SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ (1%)
Encapsulamento	NPs de Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ PCL PVA 0,5% CHCl ₃	NPs de Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ encapsuladas

As nanopartículas sintetizadas foram submetidas a uma lâmpada de UV-A, no comprimento de onda de 365 nm. As imagens obtidas encontram-se no Apêndice A (Figuras A.1–A.6).

4.3

Caracterização das nanopartículas de óxido de terras raras

4.3.1

Estudos de Fotoluminescência

4.3.1.1

Espectroscopia de Fotoluminescência (Excitação Total, Excitação e Emissão)

Primeiramente, para se conhecer o *bandgap*² das nanopartículas sintetizadas, foi realizada a análise de excitação total destes materiais, utilizando-se luz Síncroton como fonte de excitação.

As medidas foram feitas para as nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com diferentes íons lantanídeos (Eu, Tb, Sm e Tm), obtidas a partir da síntese sol-gel, tendo-se o cloreto como sal precursor. Os espectros de excitação obtidos encontram-se na Figura 12 a seguir.

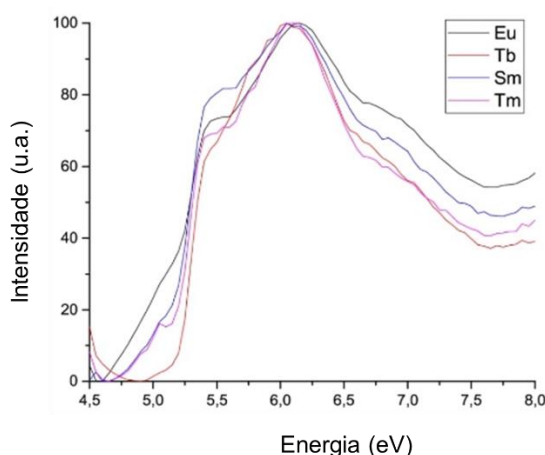


Figura 12: Espectros de excitação total observados para as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel.

Nesta técnica, se mede a corrente de um fotomultiplicador, que recebe toda a emissão do material em função da energia de excitação.

² Faixa de energia entre a banda de valência e a banda de condução dos elétrons de um material no estado sólido. Em português, também é conhecida como “banda proibida”.

A partir destes resultados, observa-se que o *bandgap* destas nanopartículas é de cerca de 5,25 eV, energia equivalente a uma irradiação eletromagnética de comprimento de onda 236,2 nm. Desta forma, qualquer luminescência proveniente de uma excitação com energia superior a esse valor é considerada cintilante. Além disso, nota-se que o *bandgap* deste material depende apenas da matriz de óxido de gadolínio, uma vez que, mesmo com íon dopantes diferentes, todas as amostras apresentaram praticamente o mesmo valor.

A partir disso, foram feitos os espectros de excitação e emissão destas nanopartículas, que se encontra presentes na Figura 13 a seguir. Estas medidas foram feitas para se determinar o material com o espectro de emissão mais compatível com o de absorção do azul de metileno, fotossensibilizador a ser utilizado neste trabalho.

O AM foi escolhido pois, além de ser um corante barato, apresenta poucos efeitos colaterais e baixa toxicidade. Além disso, já existem estudos relacionados com sua atuação na TFD, se mostrando bastante promissor no tratamento de diversas doenças (TARDIVO et al., 2005).

Escolheu-se, então, uma faixa (4,5–8,0 eV) para a medida de excitação que abrangesse o valor de 5,25 eV encontrado acima. Também foi utilizada luz Síncrotron como fonte de excitação.

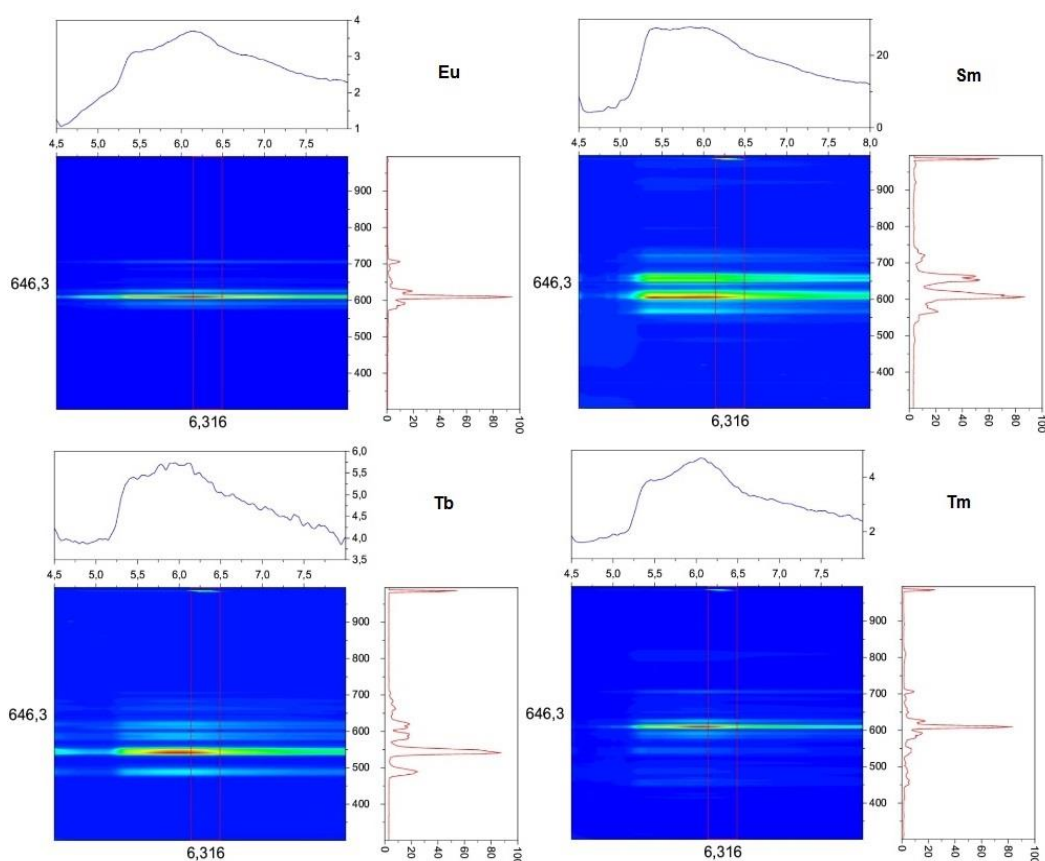


Figura 13: Espectros de excitação e emissão das nanopartículas obtidas na síntese sol-gel.

É possível observar que a nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com íons samário apresentaram o espectro mais compatível com o do azul de metileno (que possui sua banda de absorção mais intensa em 664 nm – Figura 14), com duas bandas de emissão intensas entre 600 e 700 nm.

As nanopartículas com íons európio, além de se mostraram adequadas para a sensibilização com o azul de metileno (com intensa banda de emissão por volta de 600 nm), também apresentaram maior intensidade de emissão.

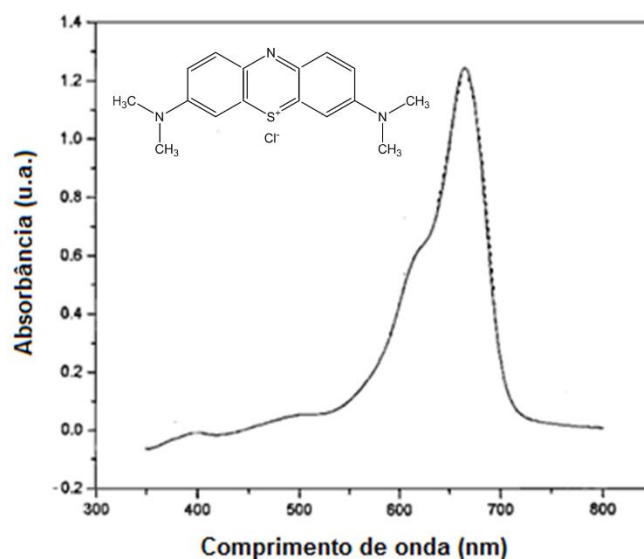


Figura 14: Espectro de absorção do corante azul de metileno. (FONTE: SCHIAVO; PEREZ; KUBOTA, 2000 - Adaptada).

O material contendo térbio como íons dopantes apresentou sua banda de maior intensidade abaixo de 600 nm, não se mostrando adequado para a funcionalização com o azul de metileno. Já as nanopartículas contendo íons túlio aparentam estar contaminadas com íons európio, pois, além de ser possível observar um espectro bastante similar com o de európio na região de 550 a 700 nm, sabe-se que o túlio apresenta bandas de emissão características por volta de 480 nm, 650 nm e 780 nm (GUEDES et al., 2011). Esta contaminação pode ter ocorrido tanto durante a preparação das nanopartículas, tanto quanto durante a própria realização da medida.

Sendo assim, entre os materiais cintilantes baseados em elementos terras raras, a combinação de Gadolínio-Európio e Gadolínio-Samário como matriz-dopantes foram consideradas as melhores. Isto se deve ao fato de que as transições energéticas emissoras do Gd^{3+} podem se acoplar ressonantemente com os estados excitados dos íons Eu^{3+} e Sm^{3+} , resultando em um alto rendimento quântico de emissão vermelha (KAMKAEW et al., 2016).

Vale ressaltar que as escolhas dos materiais luminescentes levaram em conta o FS a ser aqui utilizado, assim, caso outro FS tivesse sido escolhido, o uso de outros materiais poderia ser mais adequado.

A partir disso, levando-se em conta o parâmetro referente ao espectro de emissão do material obtido presente na Tabela 1 (item 4.2), as nanopartículas de óxido de gadolínio dopado com os íons Tm^{3+} e Tb^{3+} foram descartadas.

Assim, foram feitos novos espectros de excitação e emissão apenas das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ e $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+},\text{Sm}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (calcinadas a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h), porém, agora, tendo-se o acetato como sal precursor. Eles foram feitos com o objetivo de se caracterizar esses materiais, confirmando as transições características dos íons Eu^{3+} e Sm^{3+} nos espectros de excitação e emissão, importantes para a posterior funcionalização com o azul de metileno. Estes espectros foram registrados à temperatura ambiente, utilizando-se uma lâmpada de Xe como fonte de excitação.

Na Figura 15 abaixo, observa-se o espectro de excitação das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$. Ele foi obtido em um comprimento de onda de emissão de 610 nm, referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ do íon európio.

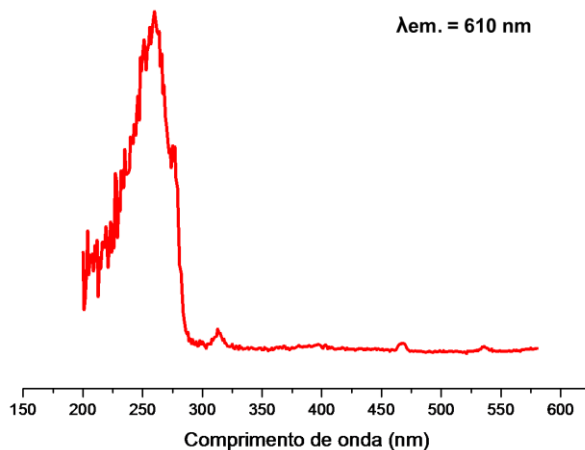


Figura 15: Espectro de excitação das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Observa-se uma larga banda de absorção em 260 nm, referente à transição TCLM (Transferência de Carga Ligante-Metal) do O^{2-} (2p) para o íon Eu^{3+} (4f⁶) (TCLM $\text{O}^{2-} \rightarrow \text{Eu}^{3+}$). As transições $^8\text{S}_{7/2} \rightarrow ^6\text{I}_{7/2,9/2,17/2}$, referentes aos íons de Gd^{3+} , se sobrepõem com a TCLM e aparecem como

um ombro por volta de 280 nm. Em 313 nm, a banda observada é decorrente de transições eletrônicas do íon Gd^{3+} , mais especificamente, das transições $^8\text{S}_{7/2} \rightarrow ^6\text{P}_{7/2,5/2,3/2}$. As bandas de absorção em 467 nm e 536 nm são atribuídas às transições $^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_2$ e $^7\text{F}_{0,1} \rightarrow ^5\text{D}_1$, respectivamente, do íon Eu^{3+} , características de espectros de excitação de materiais do tipo $\text{TR}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (SILVA et al., 2015).

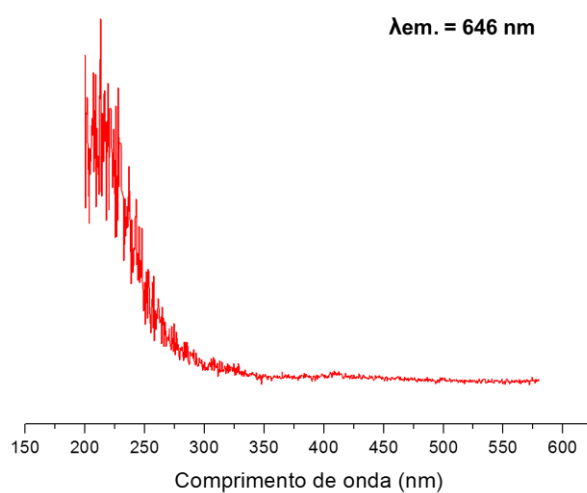


Figura 16: Espectro de excitação das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Não foi possível observar nenhuma banda bem definida no espectro de excitação das nanopartículas com íons Sm^{3+} (Figura 16). O espectro foi obtido em um comprimento de onda de emissão de 646 nm, referente à transição $^4\text{G}_{5/2} \rightarrow ^6\text{H}_{9/2}$ característica do íon Sm^{3+} (HERRMANN et al., 2013; KAI, 2009). Acredita-se que, como a luminescência do samário é bem menos intensa que a do európio, seria necessário aumentar a concentração do mesmo para se obter um bom espectro. Nota-se que na medida feita com nanopartículas de Gd_2O_3 dopado com íons Sm^{3+} na mesma concentração, obtidas a partir da síntese sol-gel (calcinadas a 1000 °C por 5h), porém, tendo-se o cloreto como sal precursor, foi possível observar um espectro característico do íon samário. Isto porque, naquela medida, a fonte de excitação utilizada era proveniente de uma fonte de luz Síncrotron, mais intensa que a da lâmpada de Xe aqui utilizada.

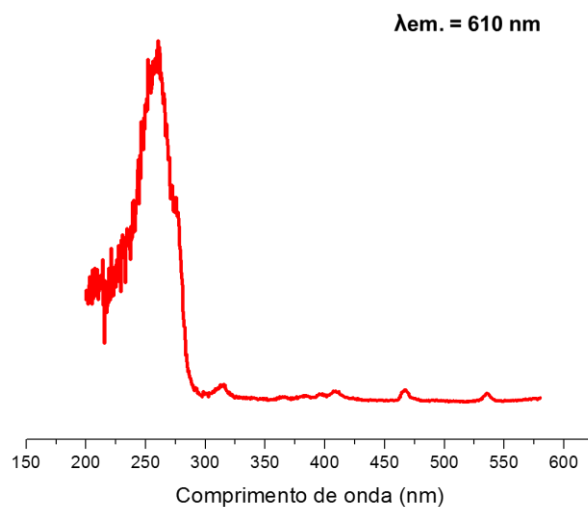


Figura 17: Espectro de excitação das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}, \text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Nota-se que o espectro de excitação das nanopartículas contendo íons európio e samário (Figura 17) é bastante similar ao das nanopartículas com íon európio, apenas (Figura 15). Isto já era esperado devido à alta intensidade de absorção do íon európio. Novamente, se observam todas as transições características dos íons Eu^{3+} e Gd^{3+} .

A partir disso, foram obtidos os espectros de emissão dessas nanopartículas, registrados à temperatura ambiente. Na Figura 18 observa-se o espectro das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, com excitação em um comprimento de onda de 260 nm, referente à transição TCLM do O^{2-} para o íon Eu^{3+} (SILVA et al., 2015).

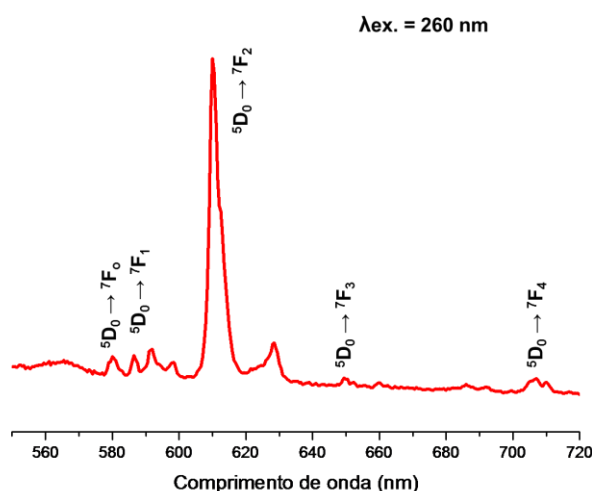


Figura 18: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Neste espectro, é possível observar as bandas de emissão bem definidas e características do íon európio. Todas essas transições começam a partir do estado $^5\text{D}_0$, uma vez que transições de estados mais excitados como $^5\text{D}_1$, $^5\text{D}_2$ e $^5\text{D}_3$ são muito menos comuns (BINNEMANS, 2015). Mais especificamente, as bandas observadas são referentes às transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_J$ ($J = 0$ a 4) do íon európio. Essas transições são: $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ (580 nm), $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ (591 nm), $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ (610 nm), $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ (649 nm) e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ (707 nm), e se encontram destacadas na Figura 18. As transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_5$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_6$ não são observadas, pois caem na região do infravermelho. Além disso, as intensidades dessas transições são muito baixas (BINNEMANS, 2015).

Espectros de fotoluminescência de complexos contendo európio apresentam picos de emissão similares (BINNEMANS, 2015), assim como outros nanomateriais de óxido de gadolínio dopados com íons európio. (DHANANJAYA, 2014).

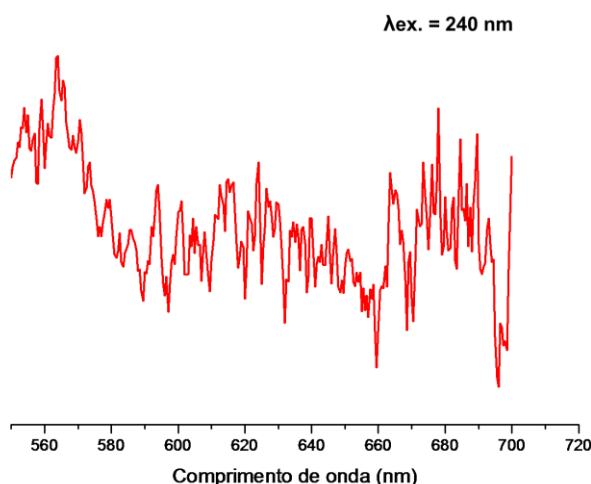


Figura 19: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

As nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ foram excitadas em um comprimento de onda de 240 nm, onde foi identificada a banda de maior intensidade de absorção no espectro de excitação. É possível observar que o espectro de emissão das nanopartículas dopada com samário (Figura 19) também não apresentou nenhuma banda bem definida. A baixa intensidade das bandas de emissão, tanto das de excitação, se deve à fonte de excitação, como mencionado, uma lâmpada de Xe de 150 W, que não possui bom desempenho em comprimentos de ondas menores. É possível notar, entretanto, a banda referente à transição $^4\text{G}_{5/2} \rightarrow ^6\text{H}_{5/2}$ do íon samário em 560 nm. Não foi possível notar a banda por volta de 600 nm referente à transição $^4\text{G}_{5/2} \rightarrow ^6\text{H}_{7/2}$ característica deste íon e nem a banda na região de 646 nm (HERRMANN et al., 2013).

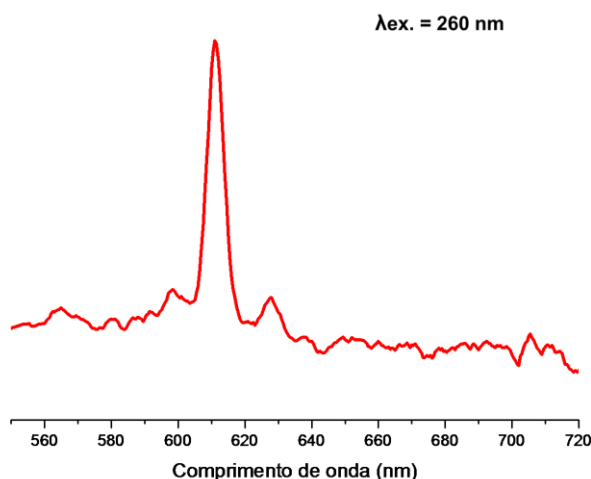


Figura 20: Espectro de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}, \text{Sm}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Como esperado, no espectro de emissão das nanopartículas contendo os íons európio e samário (Figura 20), observa-se um espectro muito similar ao das NPs contendo apenas o íon európio (Figura 18). Isto porque, como mencionado, a intensidade de luminescência do íon európio é muito maior que a do samário. Além disso, as bandas de emissão do íon samário não foram observadas no seu espectro, com exceção da banda em 560 nm, que também pode ser notada aqui (HERRMANN et al., 2013).

Em seguida, também foram feitos os espectros de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir das sínteses por impregnação e por ultrassom, e estes encontram-se presentes na Figura 21. Todos foram registrados à temperatura ambiente, em uma faixa espectral de 550 nm a 720 nm, com excitação em um comprimento de onda de 260 nm.

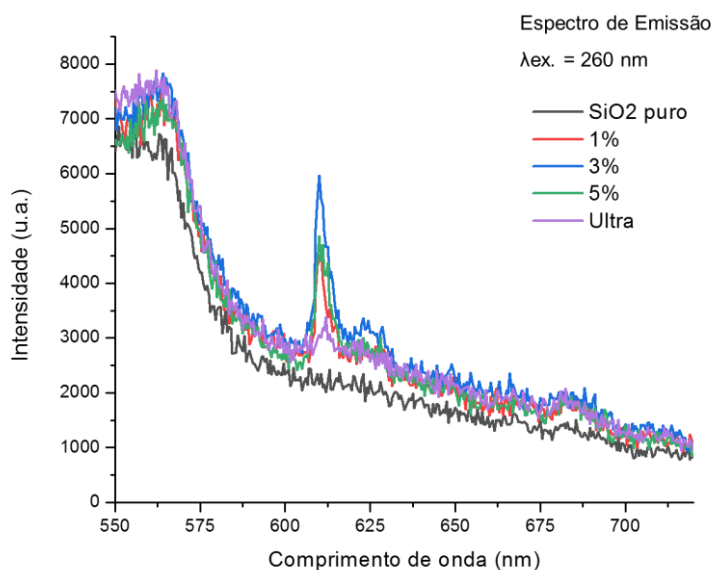


Figura 21: Espectros de emissão de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ obtidas nas sínteses por impregnação em diferentes concentrações de íon európio, e na síntese por ultrassom.

Em todos os espectros de emissão das nanopartículas, observa-se a banda mais intensa característica do íon európio em 610 nm. Como neste material os íons európio se encontram presentes em menor proporção, as outras bandas de absorção referentes a esse íon tornam-se muito pouco intensas para serem observadas. E, como imaginado, não se observou nenhuma banda de absorção no espectro do SiO_2 puro.

Comparando-se os espectros das nanopartículas obtidas pelos métodos de sínteses por impregnação e por ultrassom, ambas com íons európio na concentração de 1%, observa-se que as bandas de emissão das nanopartículas obtidas pelo método da impregnação foram muito mais intensos. Ao se aumentar a concentração do íon európio nesta síntese para 3%, nota-se aumento na intensidade do sinal do espectro. Entretanto, aumentando-se ainda mais a concentração do íon európio para 5%, houve diminuição do sinal (que foi maior que o do íon európio na concentração de 1%, porém menor que o de 3%).

Este tipo de comportamento indica que houve o fenômeno de supressão da luminescência induzido pela concentração.

O processo de luminescência aumenta proporcionalmente com a concentração de íons Eu^{3+} , entretanto, chega um momento em que há uma saturação do sistema, havendo uma supressão na emissão. Isto se deve ao fato dos íons Eu^{3+} se tornarem muito próximos, favorecendo os processos de decaimentos não radiativos, como a relaxação cruzada. Assim, esses processos se tornam dominantes em relação à luminescência, o principal processo de decaimento radiativo dos íons európios, diminuindo assim a sua eficiência (KAI, 2009; PADILHA, 2017).

Apesar das nanopartículas contendo íons Eu^{3+} na concentração de 3% terem sido as mais luminescentes, as análises posteriores referentes às nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ foram feitas, em sua maioria, com os íons európio na concentração de 1% apenas, por uma questão de padronização e comparação com as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$.

4.3.1.2

Decaimento de Fotoluminescência (Tempo de Vida)

A medida de decaimento de fotoluminescência foi feita com o objetivo de se obter o tempo de vida das nanopartículas. Ela foi feita para as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, 1000 °C por 5h), e o gráfico referente ao decaimento de fotoluminescência pode ser observado na Figura 22 a seguir.

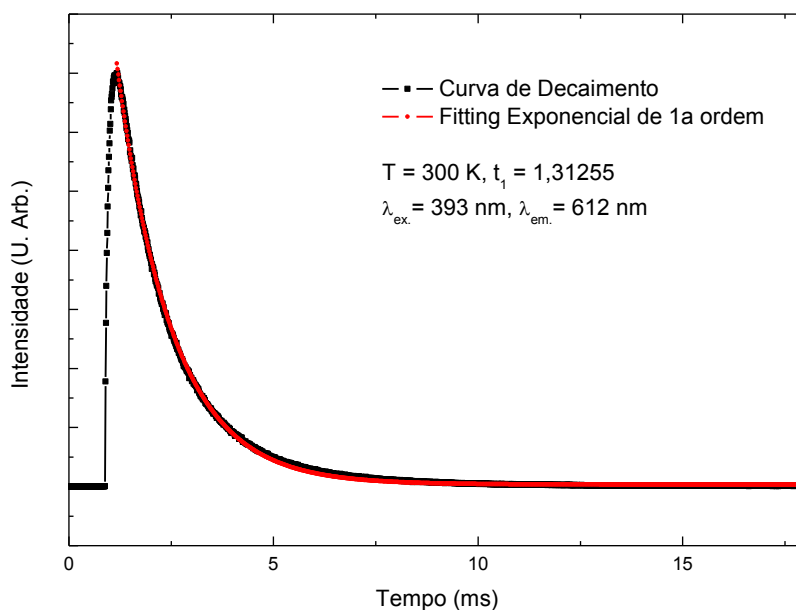


Figura 22: Gráfico do decaimento de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas na síntese sol-gel.

Com esta análise, foi possível determinar que o tempo de vida do nível excitado de Eu^{3+} das nanopartículas analisadas foi $\tau = 1,31 \text{ ms}$. Este valor se encontra presente no gráfico como t_1 . Os dados reportados na literatura para este mesmo tipo de material são similares com o valor aqui encontrado (SILVA et al., 2015). Neste estudo, realizado com nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a diferentes temperaturas de calcinação, foram reportados valores de tempos de vida variando na faixa de 1,4 ms a 1,7 ms, aproximadamente. Este resultado evidencia que o material obtido apresenta comportamento de fotoluminescência compatível com o sistema nanoparticulado proposto. Além disso, o fato de o decaimento exponencial ser de 1ª ordem, indica pureza do material analisado.

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A MEV é uma técnica utilizada para se obter imagens de alta resolução da superfície de uma amostra, podendo-se avaliar a estrutura e a forma do material produzido. A partir disto, ela foi feita, primeiramente, para as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel (calcinações a 1000°C por 5h), tendo-se tanto os sais de cloreto quanto os sais de acetato

como precursores. As Figuras 23, 24 e 25 mostram as imagens obtidas por meio destas análises.

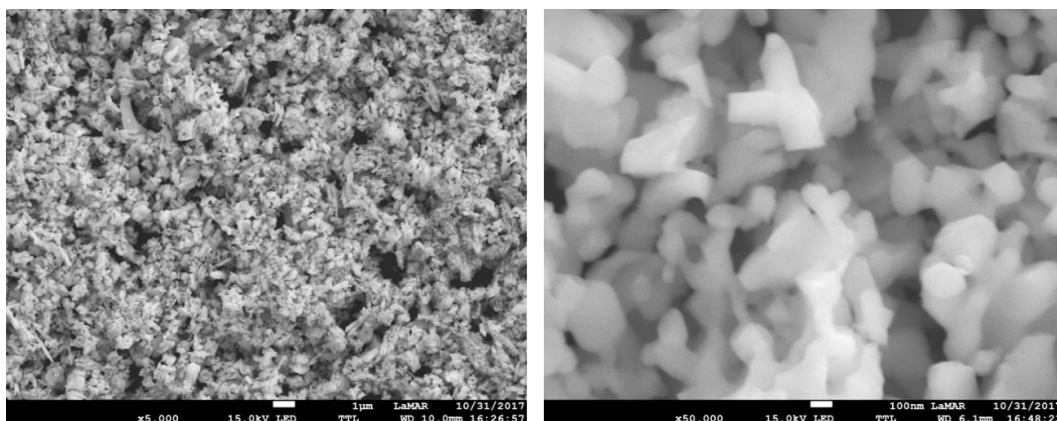


Figura 23: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, a partir do cloreto como sal precursor.

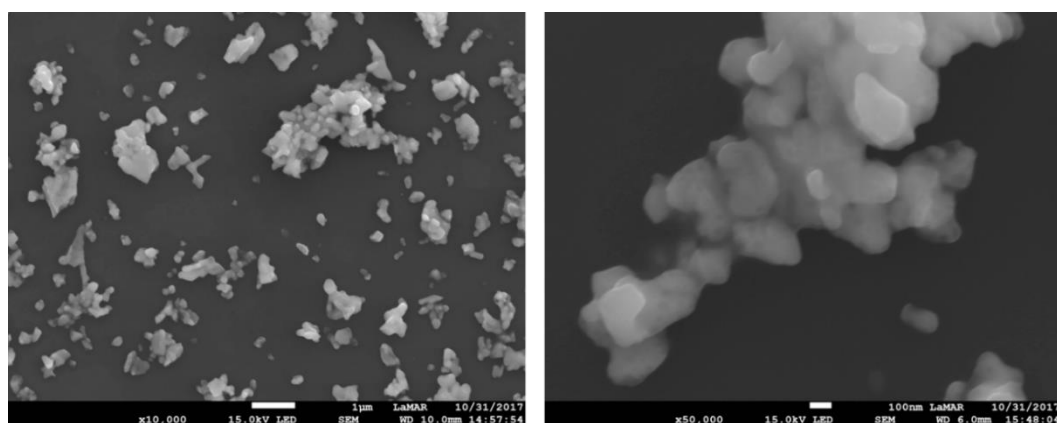


Figura 24: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, a partir do cloreto como sal precursor.

A partir destas imagens é possível observar que as nanopartículas sintetizadas a partir dos sais de cloreto como precursores, tanto as com íons európio quanto as com íons samário, não apresentaram uma distribuição homogênea e nem formatos bem definidos.

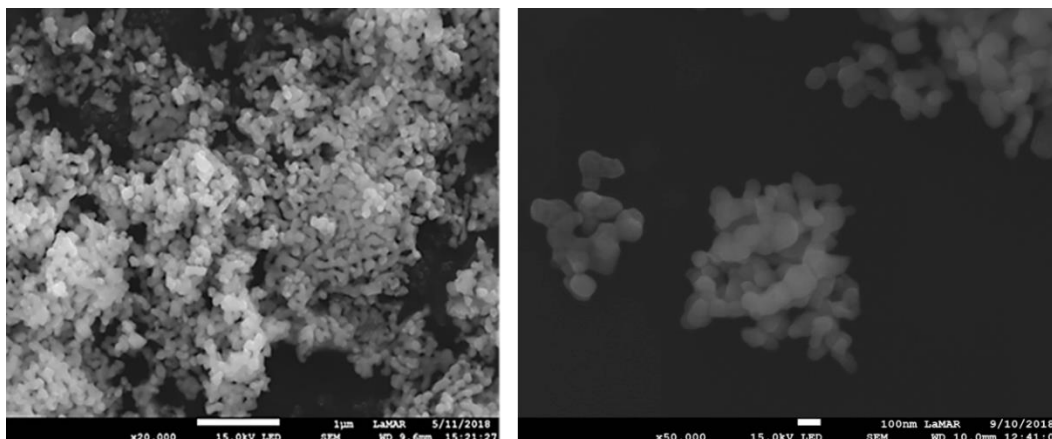


Figura 25: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h, a partir do acetato como sal precursor.

Já as nanopartículas sintetizadas a partir do sal de acetato como precursor se mostraram mais uniformes e com distribuições de tamanho mais regulares. Elas apresentaram partículas arredondadas e homogêneas.

Acredita-se que esta diferença seja pelo fato do ácido acético ser um ácido orgânico. Assim, durante o processo de calcinação, há primeiro a evaporação das moléculas de água, restando acetato no meio. Desta maneira, a presença deste impede que as nanopartículas se aglomerem por completo. Com isto, é possível a formação de nanopartículas menores e mais uniformes.

Após esses resultados, decidiu-se, então, alterar o tempo e as temperaturas de calcinação, para estudar como estes poderiam influenciar na estrutura destas nanopartículas. Para isto, foram utilizadas as nanopartículas obtidas a partir do sal de acetato, uma vez que estas se mostraram mais uniformes. As Figuras 26, 27 e 28 mostram o resultado deste estudo.

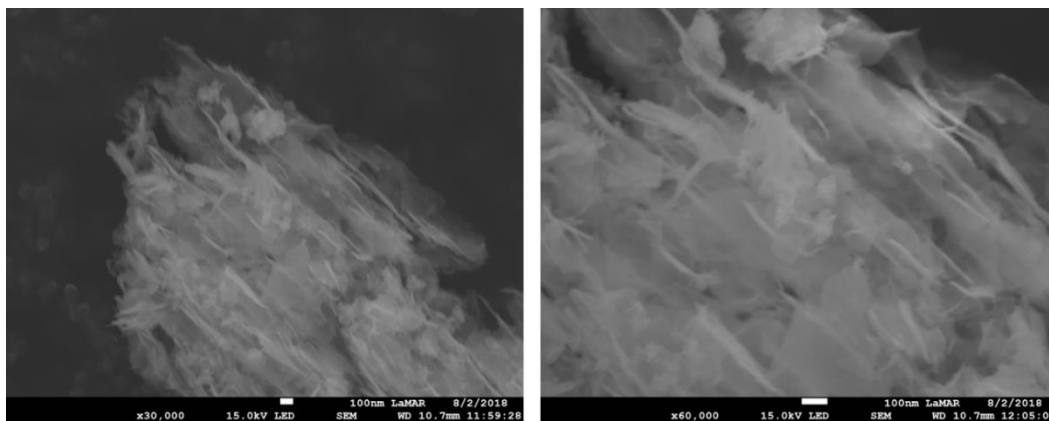


Figura 26: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 500 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor.

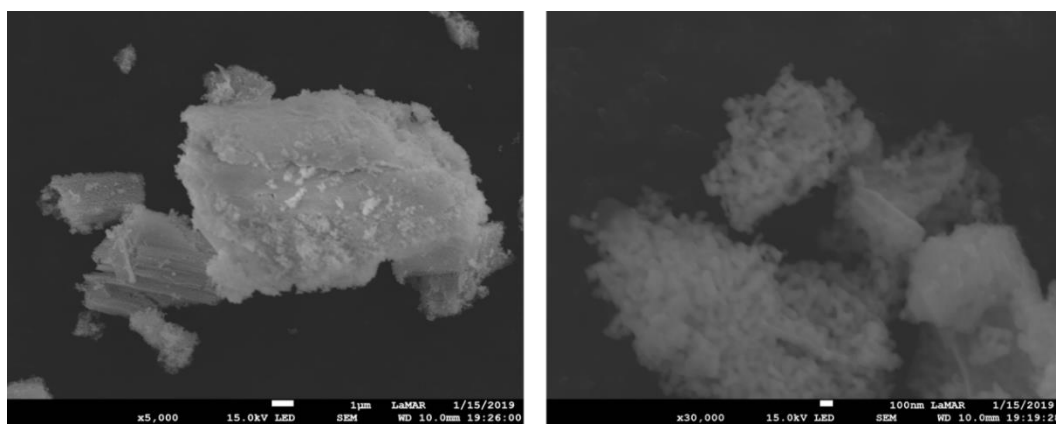


Figura 27: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 750 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor.

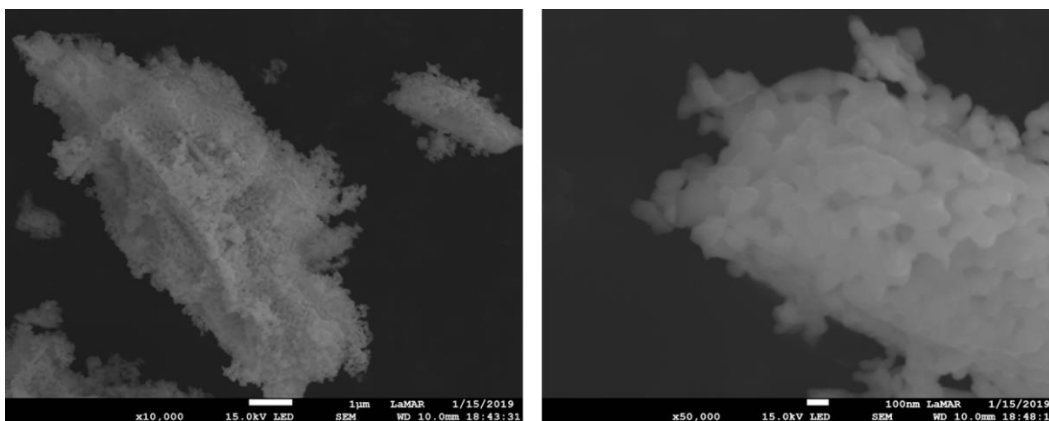


Figura 28: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas pela síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 3h, a partir do acetato como sal precursor.

Com estas imagens, foi possível notar que as nanopartículas calcinadas a 500 °C não apresentam uma estrutura bem definida. Isso se deve à temperatura de transformação em que o óxido vai da fase amorfa

para a cristalina. No caso de um óxido de terra rara, a transformação de fase depende do método de preparação do mesmo, entretanto, o calor de cristalização tem grande contribuição nessa transformação. Nanomaterias de Gd_2O_3 reportados na literatura, por exemplo, apresentaram transformação da fase amorfa para a fase cúbica a uma temperatura mais baixa que 650 °C (IL'VES et al., 2013). Assim, fica evidente que no método de síntese utilizado neste trabalho, essa transformação ocorre em temperaturas mais altas que 500 °C.

A uma temperatura de calcinação de 750 °C, pode-se notar que as nanopartículas aqui sintetizadas apresentam tamanhos e formas bem definidos, indicando que, nesta temperatura, já houve a transformação da fase amorfa para a fase cúbica. Isto mostra a importância e a influência da temperatura de calcinação para esses materiais.

Por fim, as nanopartículas calcinadas a 1000 °C foram as que apresentaram maior uniformidade e definição, mesmo as calcinadas apenas por 3h. Deve-se levar em conta que o tempo de calcinação também afeta a temperatura para que haja a transformação de fases (IL'VES et al., 2013).

Sendo assim, é possível concluir que tanto os reagentes utilizados, assim como o tempo e a temperatura de calcinação, são fatores que influenciam diretamente na estrutura das nanopartículas, alterando seu tamanho e sua uniformidade.

Neste trabalho nota-se, então, que as nanopartículas obtidas na síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, e tendo-se o acetato como sal precursor, apresentaram melhor homogeneidade e uniformidade. Levando-se então esses critérios mencionados na Tabela 1 (item 4.2), as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel, tendo-se o cloreto como sal precursor, foram descartadas.

Após, também foi realizada a MEV das outras nanopartículas sintetizadas. Na Figura 29 observa-se as imagens das NPs obtidas a partir da síntese *one-pot*.

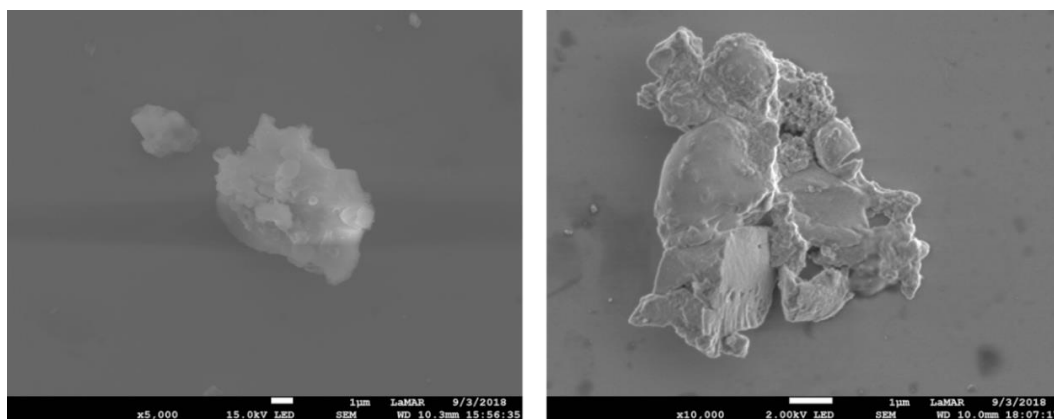


Figura 29: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese *one-pot*.

A partir destas imagens, observa-se que o produto obtido a partir da síntese *one-pot* não possui forma nem tamanho definidos, sendo apenas um material aglomerado. Isto provavelmente se deve ao alto peso molecular da dextrana utilizada. Além disso, o rendimento desta síntese não foi satisfatório. Logo, de acordo com os critérios presentes na Tabela 1 (item 4.2), esta metodologia de síntese também foi descartada.

As análises de MEV para as nanopartículas obtidas a partir das sínteses por impregnação e por ultrassom encontram-se nas Figuras 30 e 31 a seguir.

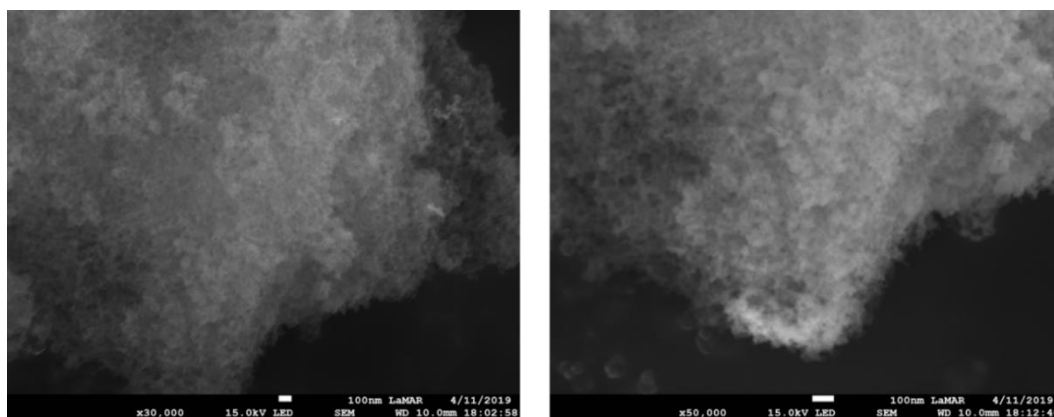


Figura 30: Imagens das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

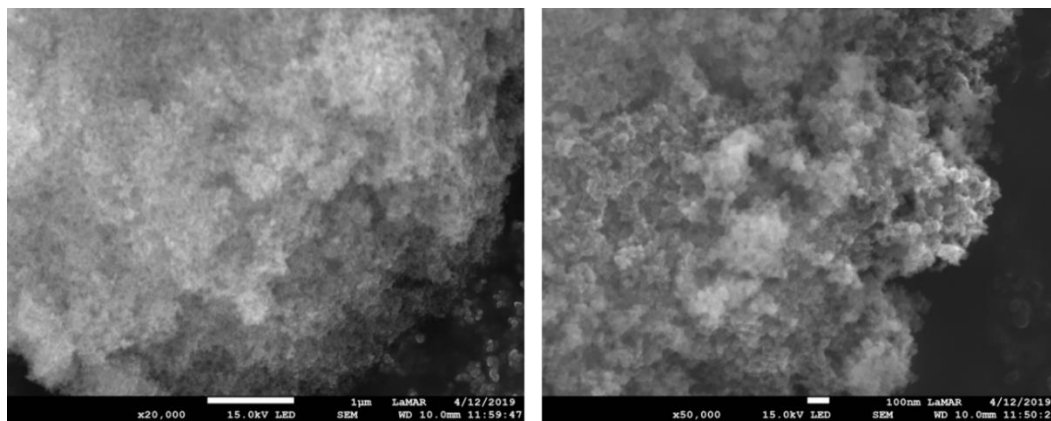


Figura 31: Imagens das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese por ultrassom.

Nota-se que as NPs obtidas a partir das sínteses contendo sílica apresentam estruturas muito similares. Além disso, elas também apresentaram boa homogeneidade e tamanhos regulares.

A MEV também foi feita para as nanopartículas obtidas a partir da síntese por impregnação com íons európio dopantes nas concentrações de 3% e 5%. Entretanto, não se notou diferença nas estruturas destas, nem entre si e nem em comparação com as contendo íons európio na concentração de 1%. As imagens obtidas encontram-se no Apêndice B (Figuras B.1 e B.2).

Vale ressaltar que a aglomeração das amostras também pode estar relacionada com o método de preparação das amostras na MEV.

Por fim, realizou-se a MEV das nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, a partir do acetato como sal precursor, e encapsuladas (Figura 32).

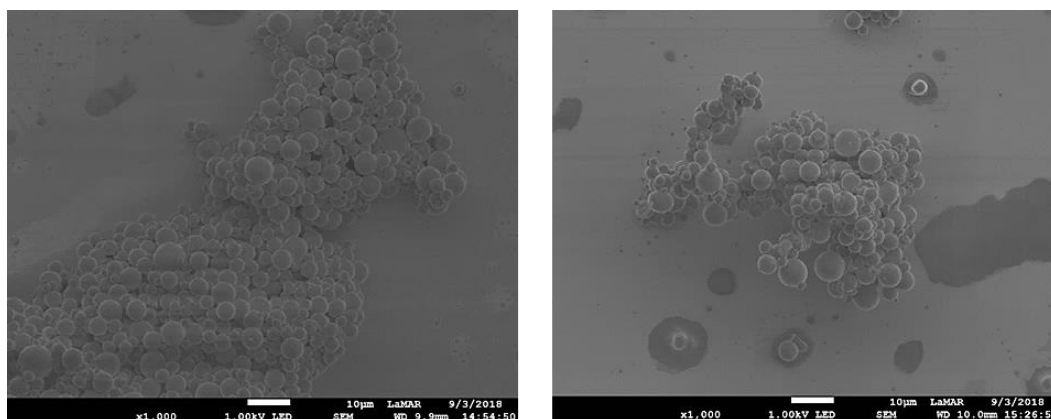


Figura 32: Imagens das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, obtidas a partir da síntese sol-gel, encapsuladas.

Após o encapsulamento, observa-se que as nanopartículas apresentaram distribuição de tamanho mais homogêneas e formato arredondado, como desejado. Entretanto, elas deixaram de ser nano, apresentando tamanhos maiores e entrando na ordem de escala do micro, o que não é adequado para este trabalho. Sendo assim, a possibilidade de se encapsular as nanopartículas também foi descartada, como previsto pelo critério de tamanho presente na Tabela 1 (item 4.2).

A partir destes resultados obtidos na MEV, as análises posteriores foram feitas, principalmente, com as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel (calcinadas a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h), a partir do acetato como sal precursor, e com as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir dos métodos de sínteses por impregnação e por ultrassom.

Sendo assim, realizou-se a técnica de EDS para as seguintes nanopartículas: NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h); NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação. Esta é uma técnica utilizada para se confirmar os elementos químicos presentes em uma amostra. As imagens obtidas, assim como um mapa dos elementos presentes nas NPs, se encontram presente nas Figuras 33–36.

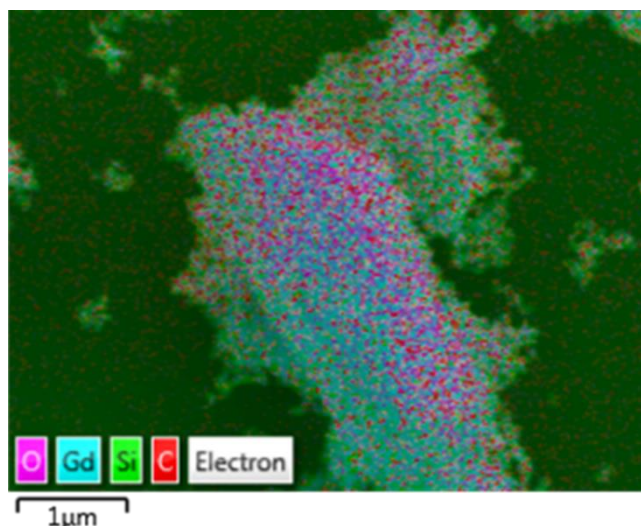


Figura 33: Mapa de distribuição dos elementos das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

Pelo mapa acima, é possível observar que há uma distribuição uniforme e homogênea dos elementos ao longo da estrutura das nanopartículas.

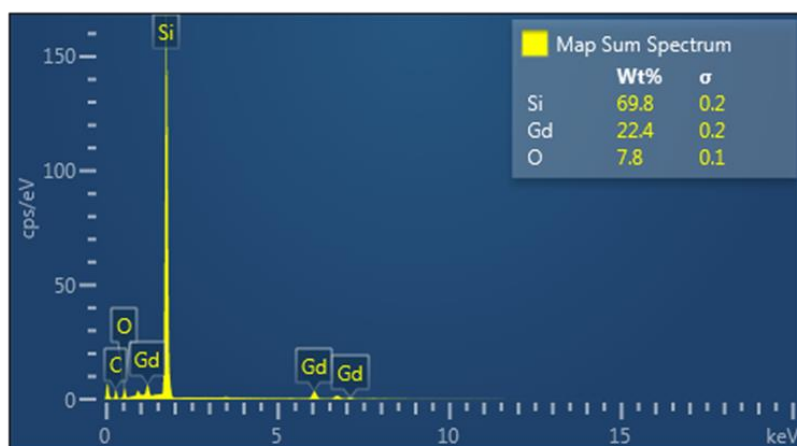


Figura 34: Mapa dos elementos das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

A partir dos resultados apresentados nas imagens acima, observa-se a presença dos elementos gadolínio e oxigênio, como esperado. Também se observa a presença de silício, entretanto, este não provém da amostra, mas sim do suporte utilizado para a fixação da amostra (silício monocristalino). Não se observou a presença do elemento európio, uma vez que este está presente em uma concentração muito baixa, dificilmente sendo detectado por esta análise. Entretanto, ele aparece na técnica de

MET realizada posteriormente para esta amostra. A pequena quantidade de carbono observada, provavelmente, se deve ao fato do feixe de elétron utilizado no processo depositar carbono na amostra.

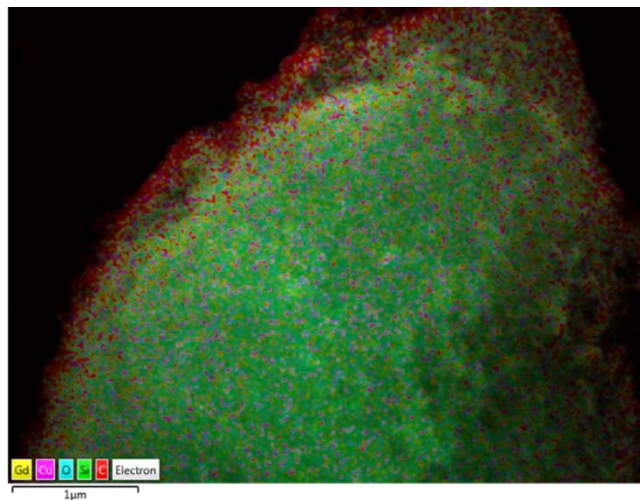


Figura 35: Mapa de distribuição dos elementos das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Uma distribuição uniforme e homogênea dos elementos por toda a estrutura também é observada nessa amostra.

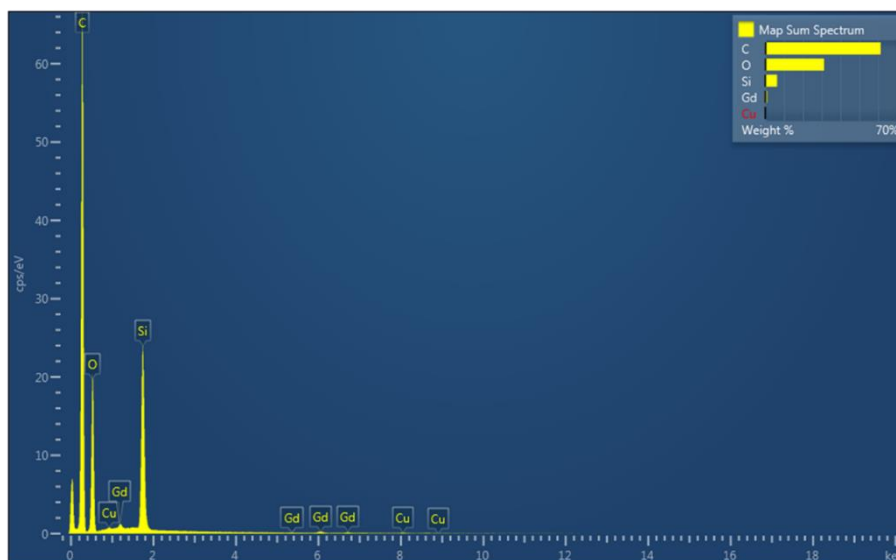


Figura 36: Mapa dos elementos das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Analisando-se os resultados destas NPs, também se observa a presença dos elementos gadolínio e oxigênio. Desta vez, o gadolínio aparece em concentrações mais baixas, uma vez que a matriz principal do

material não é mais o Gd_2O_3 , mas sim o SiO_2 . Isto também provocou aumento da concentração do oxigênio. Neste caso, a presença do silício provém da amostra, como esperado, uma vez que, neste caso, o suporte utilizado para fixar a amostra foi uma fita de carbono. Isto justifica o alto percentual de carbono que aparece nesta amostra. Já a presença do cobre é explicada pelo stub utilizado no procedimento, que é feito de latão (mistura de cobre, zinco, entre outros elementos). Também não é possível detectar a presença do elemento európio nesta amostra, porém, novamente, ele aparece na técnica de MET posteriormente realizada.

4.3.2

Difração de Raios X de Pó (DRX)

A Difração de Raios X de pó é uma técnica de determinação estrutural utilizada para caracterizar diferentes materiais e que permite a identificação de espécies cristalinas e amorfas. A partir dos resultados obtidos acima, esta medida foi feita então para as seguintes nanopartículas: $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, 1000 °C por 5h); $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (1%) obtidas a partir da síntese por impregnação; e $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtida a partir da síntese por ultrassom. Os difratogramas obtidos encontram-se presentes na Figura 37. Nesta, também se encontram presentes padrões de Gd_2O_3 e Eu_2O_3 em pó.

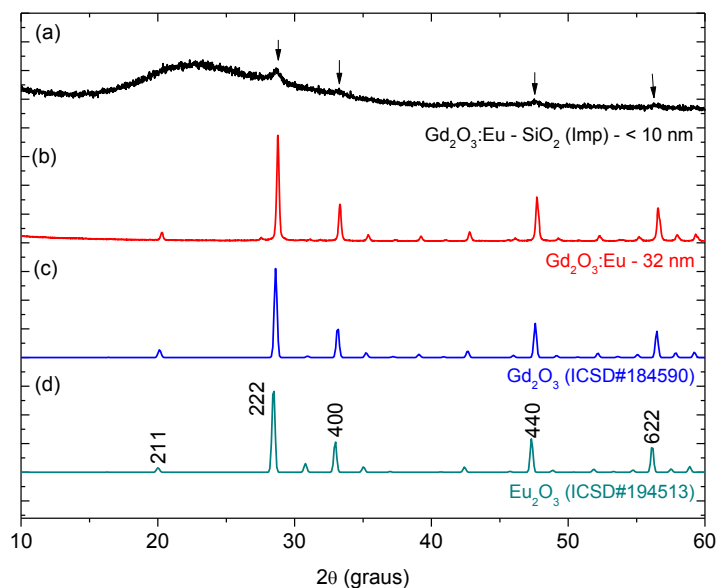


Figura 37: Difratoograma das nanopartículas obtidas a partir (a) da síntese por impregnação e (b) da síntese sol-gel, e dos padrões (c) de Gd_2O_3 e (d) de Eu_2O_3 .

Além da similaridade com o padrão da Figura 37 (c), observa-se no difratograma da Figura 37 (b) o surgimento de picos em 20,3, 28,8, 33,3, 47,7 e 56,6° referente aos planos de reflexão (211), (222), (400), (440) e (622), associados à fase cúbica do Gd_2O_3 . O não aparecimento de picos adicionais indica que se formou uma fase cúbica pura (AHRÉN et al., 2012; JIANG et al., 2016; TAMRAKAR; BISEN, 2015).

Nota-se também que os padrões de DRX dos Gd_2O_3 e Eu_2O_3 apresentam pouquíssimas diferenças entre si. Isto se deve ao fato de as estruturas cristalinas e os parâmetros de rede desses materiais serem bastante similares, como é possível observar na Figura 38.

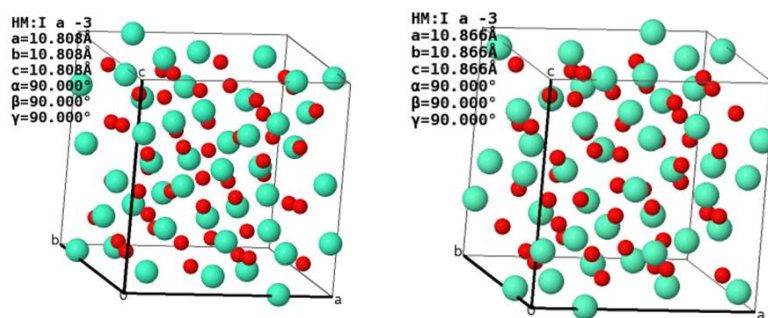


Figura 38: Estruturas cúbicas dos óxidos de gadolínio e európio, respectivamente. (FONTE: Base de dados ICSD).

Além disso, os picos fortes e estreitos indicam que a amostra obtida apresenta alta cristalinidade. Com isto, podemos concluir que o processo de calcinação, além de eliminar o material orgânico, também permitiu a formação de estruturas cristalinas.

Para a amostras contendo silício obtida a partir da síntese por impregnação, foi observada uma banda larga e intensa por volta de 20° a 25° que é característica do SiO_2 amorfo (LIANG et al., 2012; ZHANG et al., 2011). Observa-se também os quatro picos característicos do óxido de gadolínio, porém alargados e com intensidades reduzidas (ver setas na Figura 37 (a)). Isto é uma consequência da menor concentração da fase cristalina do Gd_2O_3 (apenas 10% em relação ao material total) e do tamanho cristalito reduzido destes óxidos (quanto menor o tamanho destes, mais alargados os picos nos difratogramas).

Para a amostra de silício obtida a partir da síntese por ultrassom, também foi feita a medida de DRX. No difratograma deste material, que se encontra no Apêndice C (Figura C.1), não foi possível observar os picos da fase cristalina do Gd_2O_3 , indicando que esta não foi formada. Logo, este método de síntese foi descartado para a aplicação desejada.

4.3.4 **Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

A partir da técnica de MET, é possível se obter uma imagem ampliada e com alta resolução da amostra que está sendo analisada. Muito útil para se estudar a morfologia de um material, assim como o seu tamanho. Como a síntese por ultrassom foi descartada no item acima, ela foi realizada apenas para as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, 1000°C por 5h), e para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (1%) obtidas a partir da síntese por impregnação.

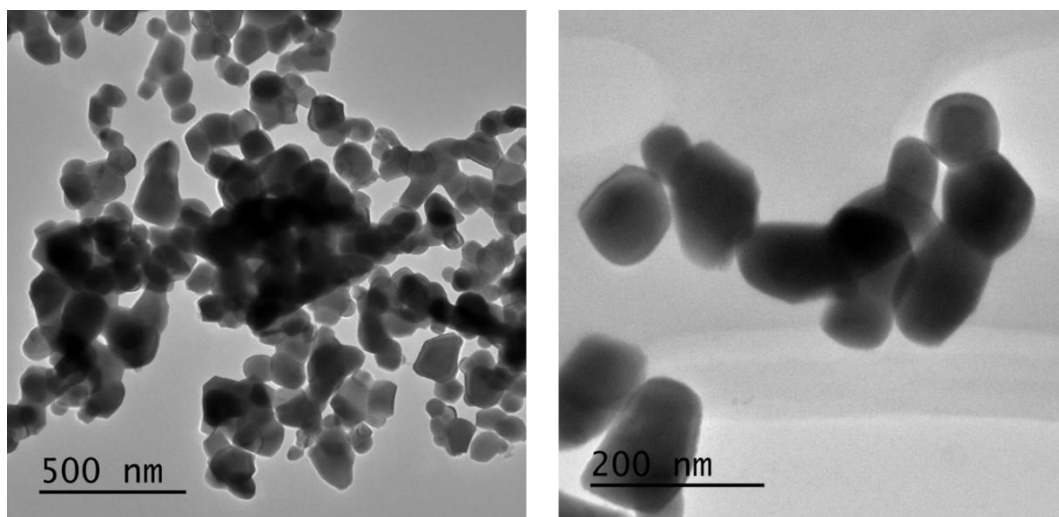


Figura 39: Imagens de MET das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

As imagens obtidas a partir da MET mostram que as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ apresentaram boa dispersão em solução aquosa (Figura 39). Observa-se também que elas se mostraram bastante homogêneas, com distribuição de tamanhos uniformes. Além disso, nota-se que elas possuem um tamanho médio de aproximadamente 100 nm.

Na Figura 40 abaixo é possível ver o contorno de grão dessas nanopartículas, mostrando que elas são bem delimitadas e definidas.

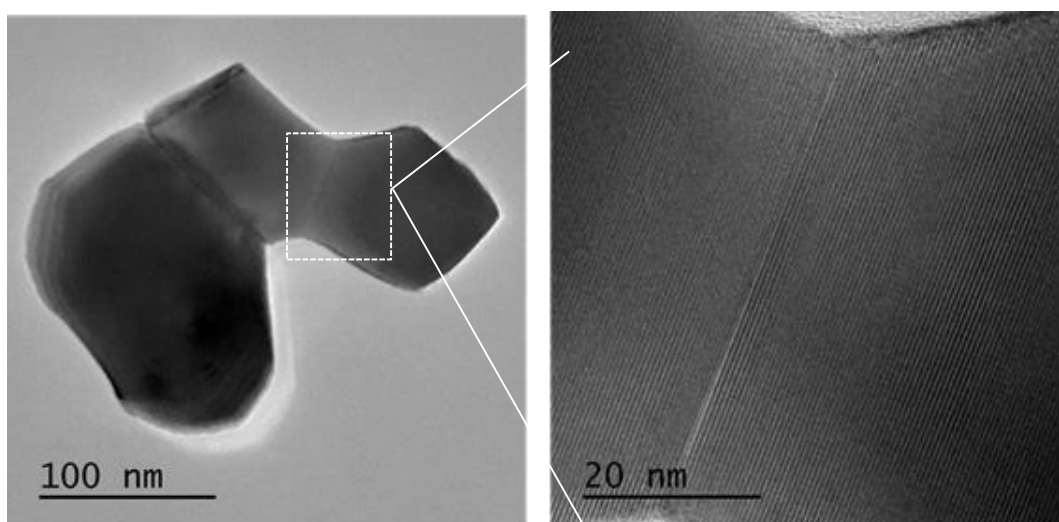


Figura 40: Imagem de MET em baixo aumento das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (esquerda) e imagem de alta resolução da região indicada à esquerda pelo quadro mostrando os contornos de grãos observados (direita).

Nestas imagens obtidas a partir da microscopia realizada, também é possível notar os planos formados pelas células unitárias do Gd_2O_3 , indicando que elas são altamente cristalinas, corroborando o resultado obtido através da técnica de DRX. A Figura 41 também evidencia esses planos.

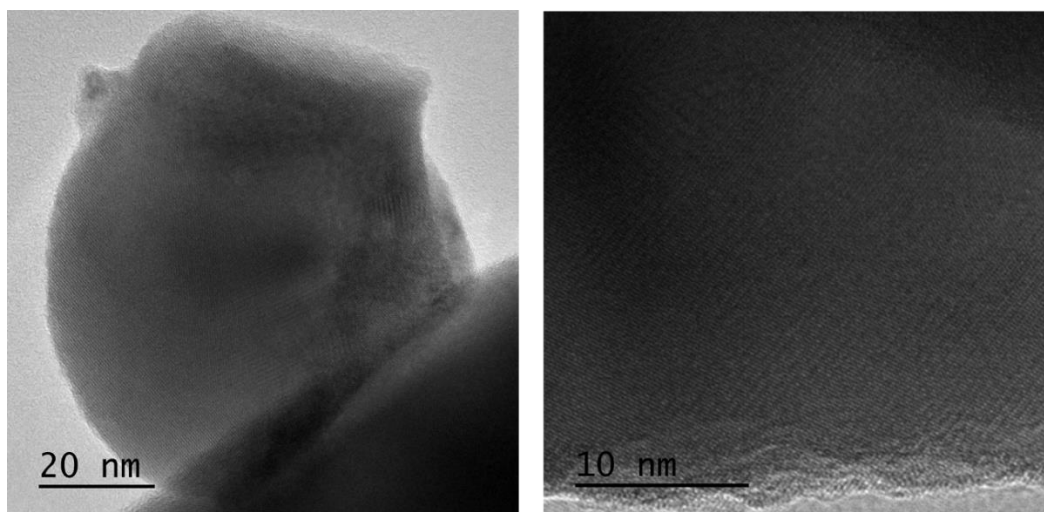


Figura 41: Imagens de MET em alta resolução das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$.

Para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$, as imagens de MET mostraram propriedades interessantes (Figura 42), no qual se observam bem distintamente o óxido de silício do óxido de gadolínio.

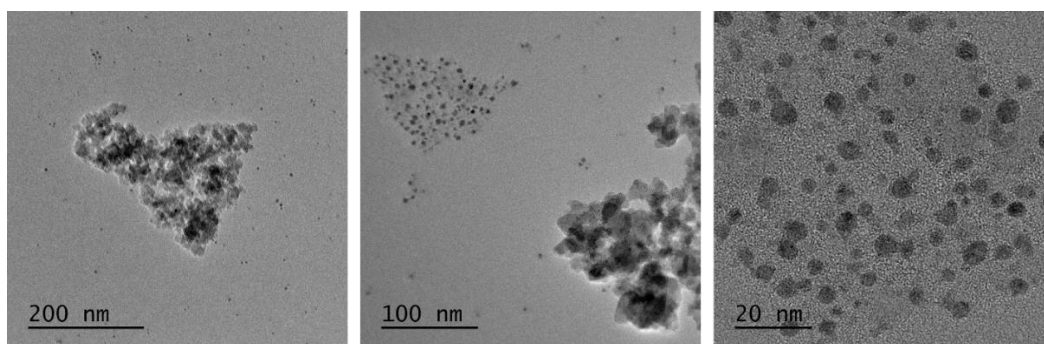


Figura 42: Imagens de MET das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$.

De forma geral, este material também apresentou boa dispersão em solução aquosa e formas regulares (Figura 42, à esquerda). Além disso, a partir destas imagens de MET, é possível observar que as nanopartículas apresentaram dois grupos de formato, um de diâmetros menores e outro de diâmetro maiores (Figura 42, meio). A Figura 42 à direita mostra uma colônia de NPs menores, que possuem distribuição de tamanho uniforme,

com diâmetro médio < 10 nm. Entretanto, apenas com os resultados de baixo aumento não é possível identificar as nanopartículas de óxido de gadolínio e de silício. Assim, imagens de alta resolução (HRTEM) foram feitas e os resultados encontram-se na Figura 43.

Pode-se observar, além da fase cristalina já comentada do Gd_2O_3 , a fase amorfa característica do SiO_2 . Na fase amorfa, não é possível identificar os planos formados pelas células unitárias. Logo, o resultado mostra que as nanopartículas menores são de óxido de gadolínio e maiores são de óxido de silício. Esses dois tipos de nanopartículas são bem separados entre si.

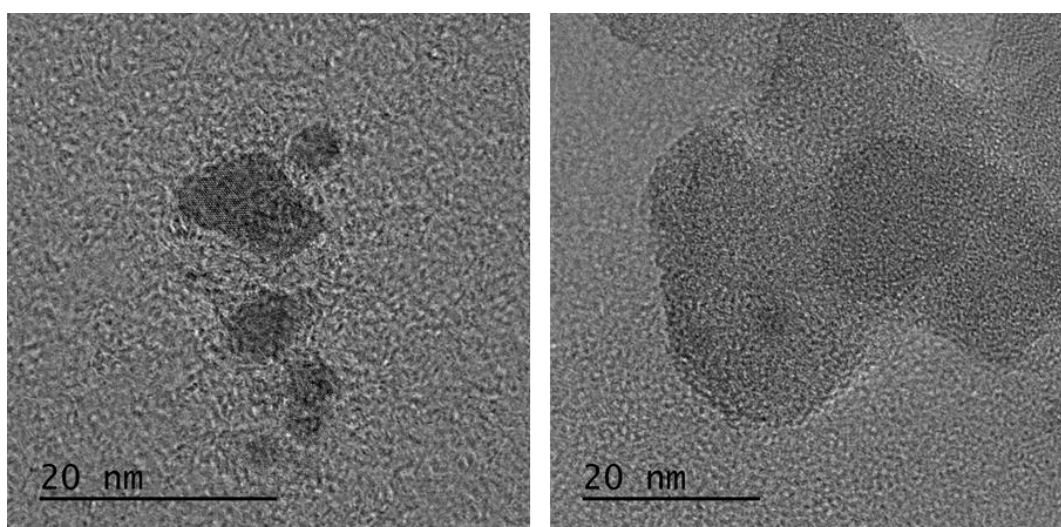


Figura 43: Fases cristalina (esquerda) e amorfa (direita) observadas nas nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$.

Por fim, as imagens de transmissão por varredura (STEM) foram feitas em campo claro e em campo escuro (HAADF) para se observar nitidamente o contraste entre o Gd_2O_3 e o SiO_2 (Figura 44).

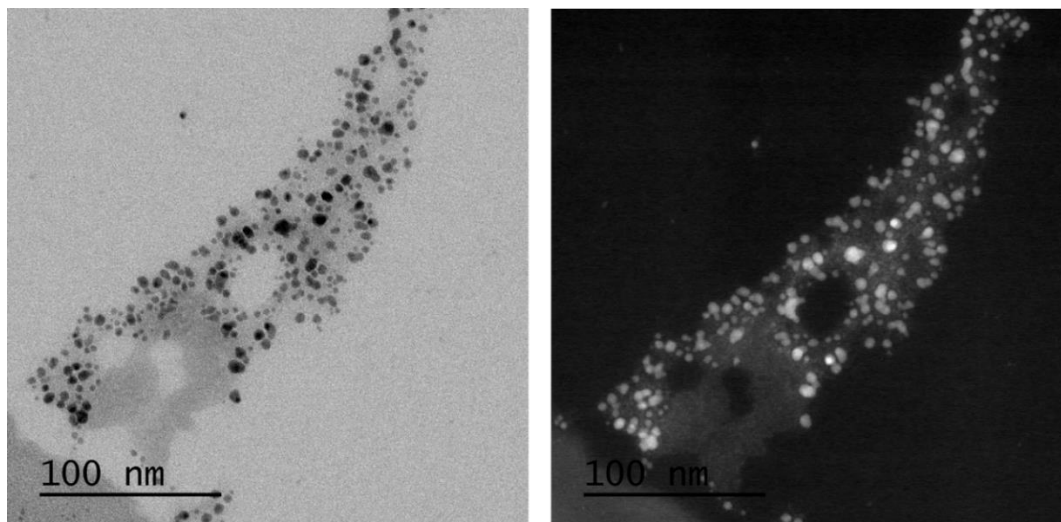


Figura 44: Imagens de campo claro (esquerda) e HAADF em modo de STEM para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ (direita).

Na imagem de campo claro, observa-se que existem nanopartículas escuras menores e umas nanopartículas maiores de cor cinza. Na imagem de HAADF, Figura 44 à direita, observa-se que as nanopartículas menores são bastante brilhantes enquanto as maiores não. A imagem de HAADF mostra contraste de número atômico, em que os átomos mais pesados são mais brilhantes. Isto acontece, pois, os elementos mais pesados espalham mais os elétrons. Na nossa amostra, os elementos de terras raras são mais pesados que o Si, assim, podemos confirmar que as nanopartículas menores e brilhantes são de óxido de gadolínio enquanto as nanopartículas maiores são de óxido de silício. Ao fundo, nota-se o carbono do suporte com coloração mais escura, sendo este um átomo mais leve que o Si.

Também foi realizada uma análise da distribuição do tamanho das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$. O histograma obtido encontra-se presente na Figura 45, demonstrando desvio do caráter normal de distribuição indicado por $p_{D'A-P} < 0,05$.

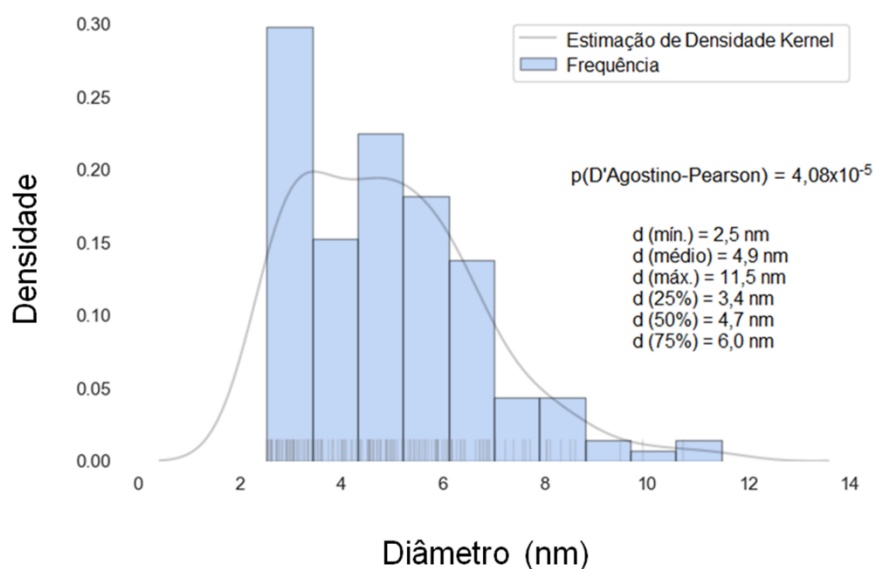


Figura 45: Distribuição do tamanho das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Isso significa que o tamanho médio das partículas não pode ser calculado simplesmente como a média aritmética dos valores mínimo ($d = 2.5 \text{ nm}$) e máximo ($d = 11.5 \text{ nm}$), assim como todos os três quartis, $d_{25\%}$, $d_{50\%}$ e $d_{75\%}$, são encontrados em uma faixa menor, 3,4, 4,7 e 6,0 nm, respectivamente.

O mapa dos elementos obtido a partir da técnica de EDS para as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ encontra-se na Figura 46 a seguir.

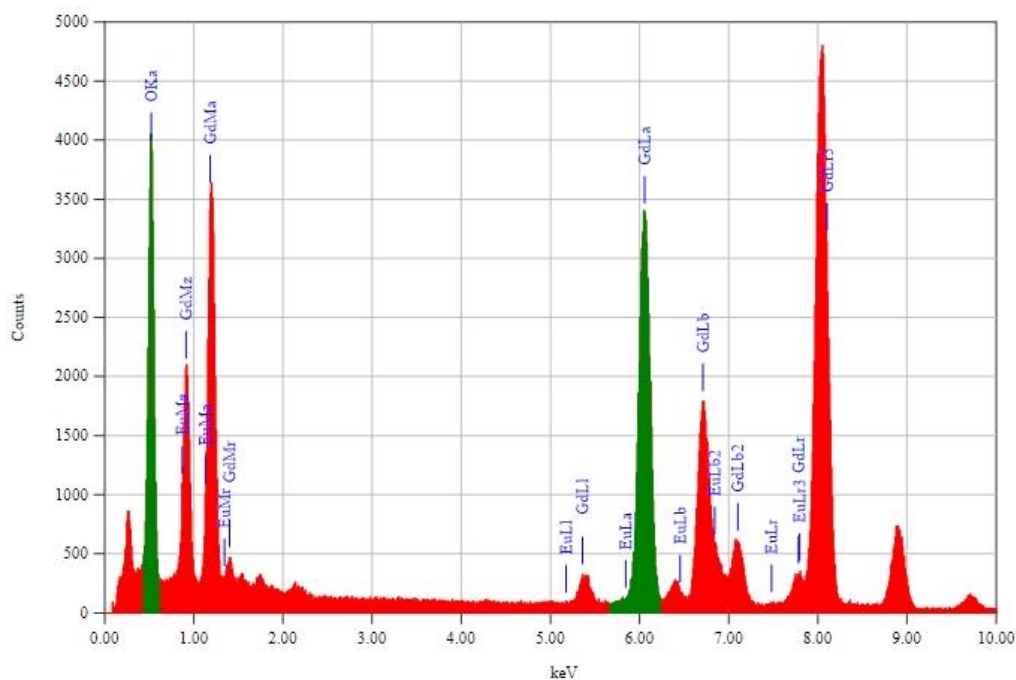


Figura 46: Mapa dos elementos das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$.

A partir desse resultado, é possível confirmar a presença dos elementos gadolínio, európio e oxigênio, como esperado.

Também foi feito um mapeamento da distribuição dos elementos presentes nessas nanopartículas, evidenciando-se a presença dos elementos Gd, O e Eu (Figura 47).

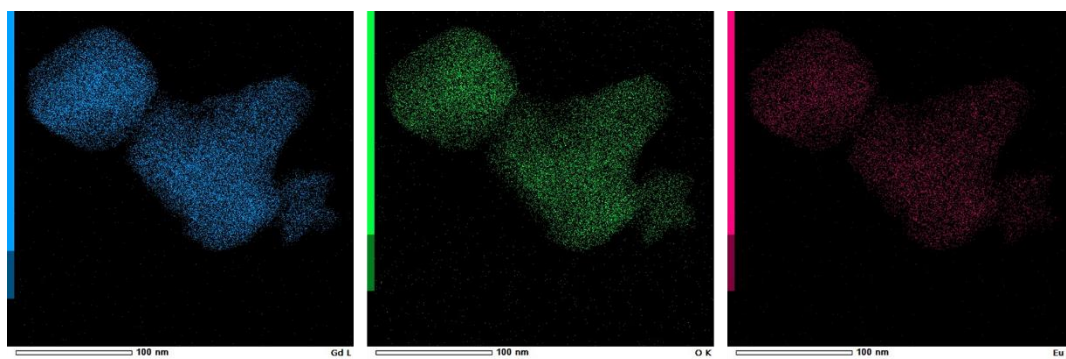


Figura 47: Mapa de distribuição dos elementos Gd, O e Eu, respectivamente, das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

Para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$, a técnica de EDS também foi realizada. Devido às quantidades utilizadas na síntese dessas NPs, o silício e o oxigênio foram os mais visíveis (Figura 48).

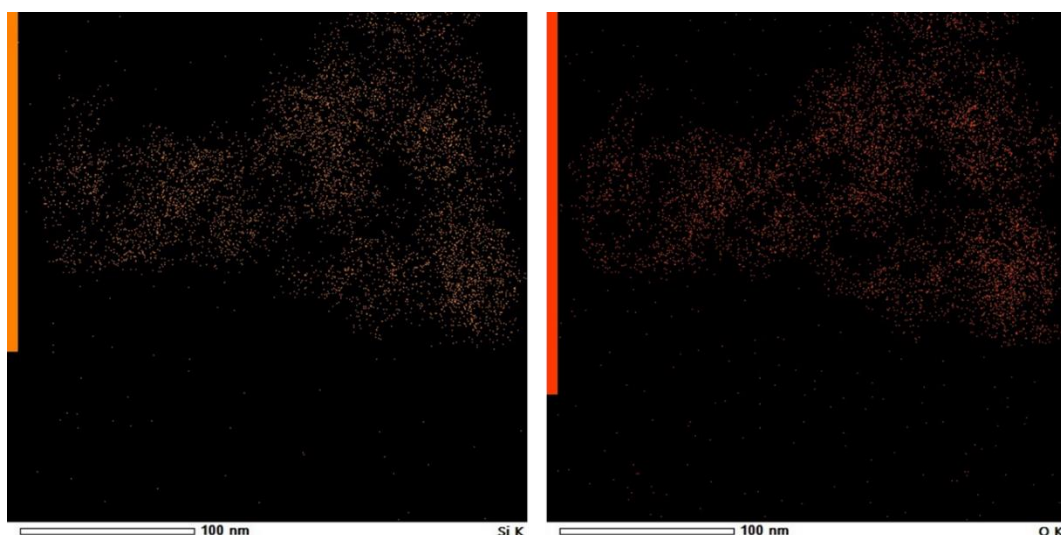


Figura 48: Mapa de distribuição dos elementos Si e O das Nps de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Os mapas de distribuição dos elementos Gd e Eu encontram-se na Figura D.1 do Apêndice D.

4.3.5

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica espectroscópica em que a absorção de energia ocorre nesta região. Ela é utilizada para a identificação de grupos funcionais presentes em uma amostra, permitindo identificar uma determinada substância ou sua composição, através das características estruturais que a mesma apresenta. Sendo assim, ela foi, primeiramente, realizada para os sais de acetato utilizados como precursores na síntese sol-gel das nanopartículas (Figura 49).

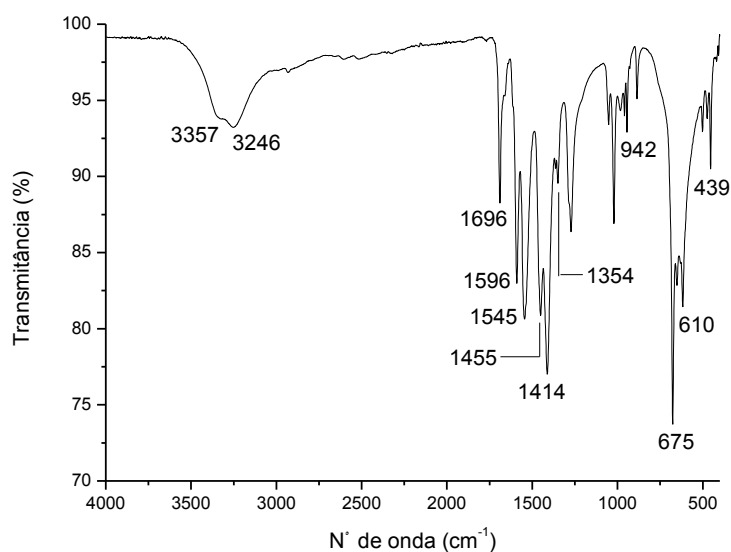


Figura 49: Espectro de infravermelho do $\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ utilizado como precursor.

É possível notar a sobreposição de duas bandas de absorção em 3357 cm^{-1} e 3246 cm^{-1} referentes à ligação O-H, provavelmente de moléculas de água livres e complexadas na estrutura (DHANANJAYA et al., 2014). Também se observam duas bandas em 1696 cm^{-1} e 1596 cm^{-1} referentes ao $\delta_s(\text{H}_2\text{O})$. A banda em 1545 cm^{-1} é atribuída ao $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ em ponte do acetato enquanto a banda em 1455 cm^{-1} é atribuída ao $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ tanto em ponte quanto bidentado deste. As bandas em 1414 cm^{-1} e 1354 cm^{-1} são referentes aos $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ e $\delta_s(\text{CH}_3)$, respectivamente. Já a banda em 942 cm^{-1} é referente ao $\nu(\text{C-C})$. Em 675 cm^{-1} e 610 cm^{-1} estão as bandas atribuídas ao $\delta(\text{O-C-O})$. Por fim, tem-se em 439 cm^{-1} a banda referente à ligação Ln-O (Ln = Gd, Eu); como Gd e Eu apresentaram massa atômica e energia de ligação próximos, a banda referente às ligações Gd-O e Eu-O caem na mesma região. Todas essas bandas estão condizentes com as encontradas para este sal descrito na literatura (AHRÉN et al., 2012).

Os espectros dos sais $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Sm}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ são bastante parecidos entre si e com o do sal $\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, como esperado. Eles se encontram no Apêndice E (Figuras E.1 e E.2).

Na Tabela 3, encontram-se resumidas as atribuições das principais bandas desses sais de acetato.

Tabela 3: Atribuições das principais bandas de IV dos sais de acetato.

Acetatos Precursores	Valores de estiramento (ν) e dobramento (δ) das ligações (cm^{-1})						
	$\nu(\text{OH})$	$\delta_s(\text{H}_2\text{O})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	$\delta_{\text{as}}/\delta_s(\text{CH}_3)$	$\nu(\text{C-C})$	$\delta(\text{O-C-O})$	*Ln-O
Gd(OAc) $_3$ ·xH $_2$ O	3357/3246	1969/1596	1545/1455	1414/1354	942	675/610	451
Eu(OAc) $_3$ ·xH $_2$ O	3356/3249	1697/1596	1547/1456	1416/1356	943	673/612	451
Gd(OAc) $_3$ ·xH $_2$ O	3356/3249	1697/1597	1547/1456	1416/1356	943	672/612	451

*Ln = Gd, Eu, Sm

Em seguida, esta mesma técnica foi realizada para as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel (calcinadas a 1000 °C por 5h), e tendo-se o acetato como sal precursor. O espectro obtido para as nanopartículas de Gd $_2$ O $_3$:Eu $^{3+}$ encontra-se presente na Figura 50.

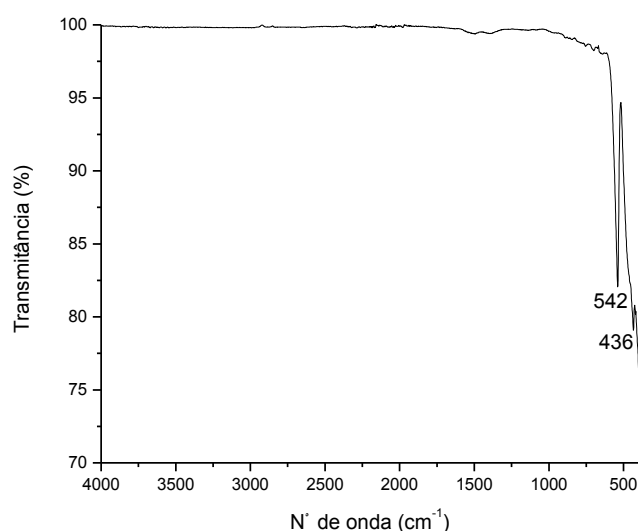


Figura 50: Espectro de infravermelho das NPs de Gd $_2$ O $_3$:Eu $^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

No espectro acima, observam-se apenas duas bandas, uma em 542 cm^{-1} e uma em 436 cm^{-1} , que são bandas características de vibrações Gd-O (TAMRAKAR; BISEN, 2015). Todavia, como mencionado, bandas referentes à ligação Eu-O também caem nessa região. Nanomateriais de Gd $_2$ O $_3$ reportados na literatura também apresentaram uma banda de absorção forte por volta de 540 cm^{-1} , relatada como uma banda típica de

vibração da ligação Gd-O. A banda em 436 cm^{-1} apareceu no sal precursor em 439 cm^{-1} (DHANANJAYA et al., 2014; JIANG et al., 2016). Não se observaram bandas de O-H, indicando que não há presença de água nas nanopartículas. Também não há evidência de nenhum intermediário orgânico na amostra.

Os espectros das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$ e $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+},\text{Sm}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel também foram bastante parecidos com o do $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$. Eles apresentaram as bandas características da ligação Ln-O em 540 cm^{-1} e 439 cm^{-1} , e se encontram presentes no Apêndice E (Figuras E.3 e E.4).

Os valores de ligação dessas bandas encontram-se resumidos na Tabela 4.

Tabela 4: Valores das bandas referentes à ligação Ln-O.

Nanopartículas (sol-gel)	Valores de ligação (cm^{-1}) Ln-O
$\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$	542/436
$\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$	540/439
$\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+},\text{Sm}^{3+}$	540/439

Também foi feita, a fins de comparação, a espectroscopia no infravermelho das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor), calcinadas em diferentes tempos e temperaturas (Figura 51).

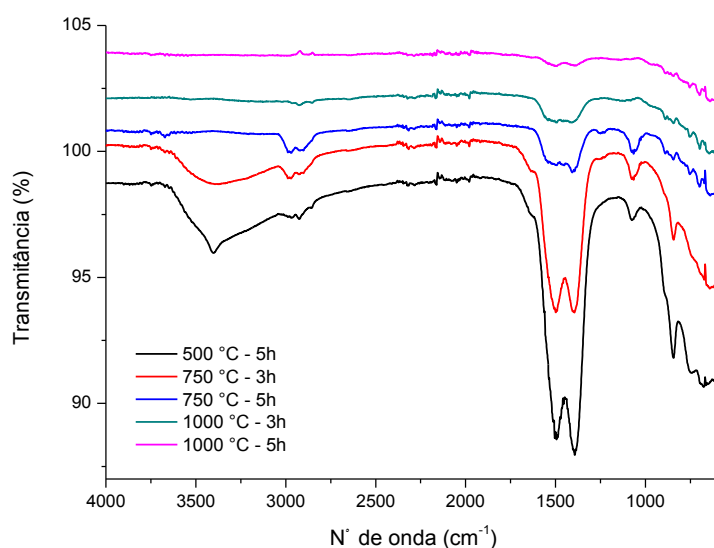


Figura 51: Espectros de infravermelho das NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas em diferentes tempos e temperaturas.

Neste espectro, é possível observar a banda em 3410 cm^{-1} referente à absorção da H_2O . Também se observam bandas por volta de $1500\text{--}1390\text{ cm}^{-1}$ e uma banda em 847 cm^{-1} , atribuídas ao ânion carbonato (CO_3^{2-}), que se forma ao longo do processo de calcinação (AHRÉN et al., 2012; DHANANJAYA et al., 2014). Também se observam duas bandas pouco antes de 3000 cm^{-1} , características de estiramento CH_2 e de estiramento assimétrico de grupos CH_3 , evidenciando os grupos orgânicos (RUIZ et al., 2007; ZHANG et al., 2011). Nota-se que as bandas na região de $1500\text{--}1390\text{ cm}^{-1}$ também foram observadas no espectro da Figura 49 acima.

Assim sendo, a diminuição na intensidade e o desaparecimento dessas bandas de absorção conforme se aumenta o tempo e a temperatura de calcinação das nanopartículas confirmam que a água e o material orgânico são totalmente eliminados com a calcinação. Além disso, esses resultados corroboraram o encontrado no MEV, de que as nanopartículas obtidas na síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, foram as mais satisfatórias para este trabalho. Por isto, as nanopartículas calcinadas a diferentes tempos e temperaturas foram descartadas e não foram realizadas outras caracterizações.

Nos espectros das nanopartículas obtidas na síntese por impregnação, além de uma das bandas características da ligação do gadolínio com oxigênio, também foi possível identificar duas novas bandas referentes à estrutura do SiO_2 (Figura 52).

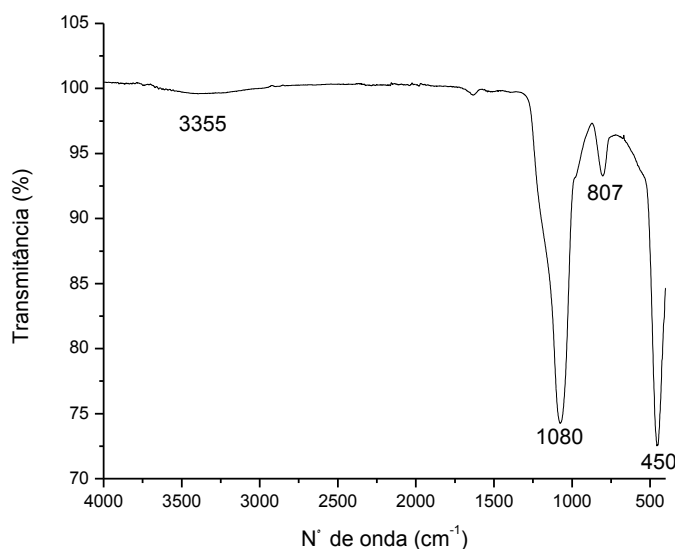


Figura 52: Espectro de infravermelho das NPs obtidas a partir da síntese por impregnação, com íons európio dopantes na concentração de 1%.

A banda intensa observada em 1080 cm^{-1} é referente à vibração de estiramento assimétrico da ligação Si-O-Si, já a banda em 807 cm^{-1} é atribuída à vibração de estiramento simétrico desta ligação. Nanopartículas de sílica reportadas na literatura também apresentaram estas bandas características (LIANG et al., 2012; PORTOLÉS et al., 2010; ZHANG et al., 2011).

Nota-se também outra banda nova, larga e de baixa intensidade, em 3355 cm^{-1} , característica de OH^- , indicando que a amostra apresenta certa umidade (AHMAD et al., 2015; JIANG et al., 2016; SILVA et al., 2015). A banda característica da vibração da ligação Ln-O aparece aqui em maior número de onda, 450 cm^{-1} , provavelmente devido ao fato da vibração da ligação Si-O cair em 470 cm^{-1} . Logo, deve haver uma sobreposição dessas bandas, que, inclusive, se mostra bem mais intensa do que no espectro das nanopartículas que não contém sílica (LIANG et al., 2012).

O espectro de infravermelho para as NPs obtidas a partir da síntese por ultrassom também foi feito a fins de comparação e se mostrou bastante similar ao das NPs obtidas a partir da síntese por impregnação. Ele encontra-se presente na Figura E.5 do Apêndice E.

4.3.6 Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)

Para saber o tamanho hidrodinâmico das nanopartículas sintetizadas foi realizada a medida de DLS. Nesta, além do tamanho hidrodinâmico de um material, também é possível se obter a distribuição deste quando dissolvido ou disperso em um meio líquido.

O DLS é uma técnica que se baseia no movimento Browniano de partículas ou moléculas em suspensão, que espalham a luz laser em diferentes direções e com diferentes intensidades. Isto causa flutuações nas partículas, tornando possível se calcular o tamanho delas.

Nesta análise, foram estudadas as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, 1000 °C por 5h), e as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação (Figuras 53 e 54).

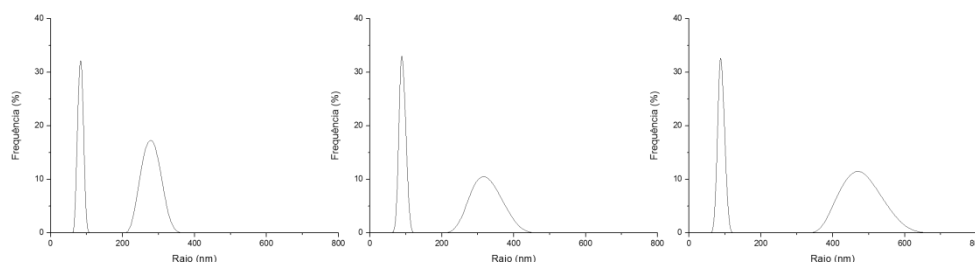


Figura 53: Distribuição de raio hidrodinâmico, em triplicata, das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

É possível notar que as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ apresentaram duas diferentes distribuições de tamanho, no qual o primeiro pico indica um raio hidrodinâmico médio de 81,3 nm, e o segundo um raio hidrodinâmico médio de 333,7 nm. A partir deste resultado, acredita-se que essas

nanopartículas se agreguem em solução aquosa, formando um aglomerado. Assim, o primeiro pico seria referente às nanopartículas individuais, pois, além de se manter constante ao longo da triplicata, ele aparece com maior frequência. Isto justificaria a variação no tamanho do raio hidrodinâmico encontrado no segundo pico, uma vez que essas NPs podem se agregar formando aglomerados de tamanhos distintos.

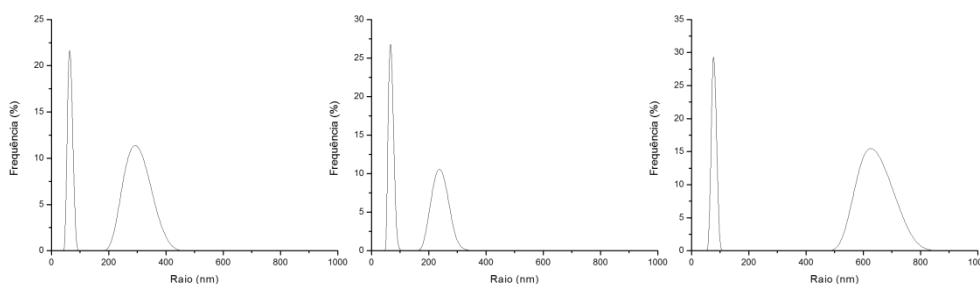


Figura 54: Distribuição de raio hidrodinâmico, em triplicata, das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Assim como para as nanopartículas sem sílica, também se observaram duas diferentes distribuições de tamanho, onde o primeiro pico fornece um valor de raio hidrodinâmico médio de 65,7 nm e o segundo de 365,6 nm. Também se acredita que estas nanopartículas estejam se agregando em solução aquosa, no qual o primeiro pico seria correspondente ao tamanho das nanopartículas sozinhas. Novamente, o segundo pico variou mais que o primeiro e apareceu com menor frequência.

Sendo assim, essas nanopartículas não parecem apresentar muita estabilidade em solução aquosa, tendendo a se agregar e, conseqüentemente, precipitar. Essa agregação, entretanto, não é desejável na aplicação da terapia fotodinâmica, como já mencionado, uma vez que, quando agregadas, elas podem se alojar em locais não desejados no organismo, acarretando problemas ou provocando efeitos colaterais. Sendo assim, a estabilidade dessas nanopartículas precisa ser aprimorada.

As funções de correlação (Figuras F.1 e F.2), assim como informações adicionais referentes a essas medidas (Tabela F.1), encontram-se no Apêndice F.

4.3.7 Potencial Zeta (ζ)

O valor de potencial zeta é muito utilizado como indicador de estabilidade de uma dispersão, logo, a estabilidade das nanopartículas em uma suspensão estará diretamente ligada com o valor do seu potencial zeta. Isto porque a carga eletrostática presente na superfície das NPs tem influência na estabilidade dos aglomerados formados. A partir desta medida, também é possível saber qual carga superficial (positiva ou negativa) da partícula.

Esta análise também foi feita para as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel (acetato precursor, 1000 °C por 5h), e para as nanopartículas $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (1%) obtidas a partir da síntese por impregnação. Os resultados obtidos encontram-se presentes nas Figuras 55 e 56 a seguir.

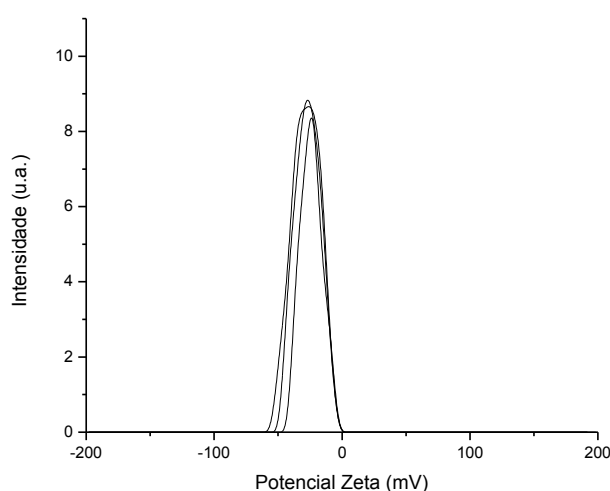


Figura 55: Valores de de potencial zeta, em triplicata, das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

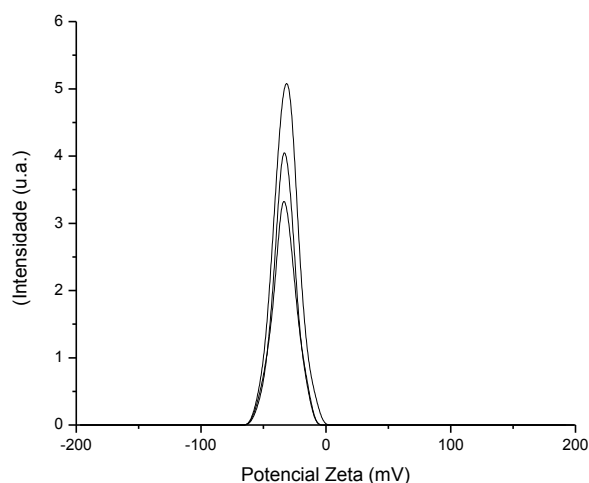


Figura 56: Valores de potencial zeta, em triplicata, das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Sabe-se que quanto maior o valor do potencial zeta de uma dispersão, maior a repulsão eletrostática existente entre as partículas do material e, consequentemente, mais estável é esta dispersão, pois a repulsão está superando a tendência natural dos materiais de se aglomerarem. Desta forma, em se tratando das forças eletrostáticas, considera-se que um sistema é mais estável quando apresenta um valor de potencial zeta maior que ± 30 mV (BARRANCO, 2018).

Na Tabela 5 abaixo encontram-se todos os valores, assim como o valor médio, dos potenciais zeta obtidos nas análises realizadas.

Tabela 5: Valores de potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das sínteses sol-gel e por impregnação.

Nanopartículas	Potenciais Zeta (mV)	
	Síntese sol-gel	Síntese por impregnação
Análise 1	-24,7	-31,7
Análise 2	-24,8	-31,8
Análise 3	-25,3	-32,2
Média	-24,9	-31,9

Observa-se que as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel apresentaram um valor médio de potencial zeta de $-24,9$ mV. Como este valor está abaixo de -30 mV, isto indica que ele não é muito estável em relação às suas forças eletrostáticas. Já as nanopartículas obtidas a partir da síntese por impregnação apresentaram um valor médio de potencial zeta de $-31,9$ mV, apresentando maior estabilidade em relação às forças eletrostáticas mencionadas.

Além disso, o fato de um sistema apresentar um valor de potencial zeta dentro da faixa de -30 mV a $+30$ mV também tem a ver com o aumento da velocidade de aglomeração das partículas, e indica que ele tende a precipitar. Como as NPs $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ apresentaram um valor de potencial um pouco abaixo desta faixa e as NPs $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ apresentaram um valor no limite dela, acredita-se que elas estejam de fato se agregando e precipitando em solução, como imaginado a partir da análise de DLS.

No Apêndice G, encontra-se a Tabela G.1 com informações adicionais a cerca dessas análises.

Por fim, observa-se que, de fato, a presença do SiO_2 na estrutura das nanopartículas proporcionou uma maior estabilidade às mesmas, mesmo que pequena. Vale ressaltar que é possível fazer esta comparação uma vez que as ambas as nanopartículas obtidas foram dispersas em água, apenas.

Além disso, é possível notar que ambas as nanopartículas apresentam uma carga negativa na sua superfície. Acredita-se que moléculas de água adsorvidas nas superfícies dos óxidos sofram hidrólise (essas NP, quando dispersas em água, formam soluções ácidas, com valor de pH igual a 4,5) formando íons OH^- , que seriam responsáveis pelo valor negativo do potencial encontrado. No caso das nanopartículas contendo sílica, o grupo silanol (SiOH) provavelmente se desprotona formando íons SiO^- , uma vez que o ponto isoelétrico do SiO_2 é aproximadamente 3 em uma faixa de pH entre 2 e 4 (BARRANCO, 2018). Isso também contribuiria para o valor negativo encontrado para estas NPs.

4.4 Estudo de Atividade Citotóxica

O estudo de citotoxicidade foi realizado *in vitro* utilizando-se uma linhagem celular de glioblastoma de camundongo GL261. Ele foi feito com as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ (acetato precursor, 1000 °C por 5h). O resultado obtido encontra-se presente na Figura 57.

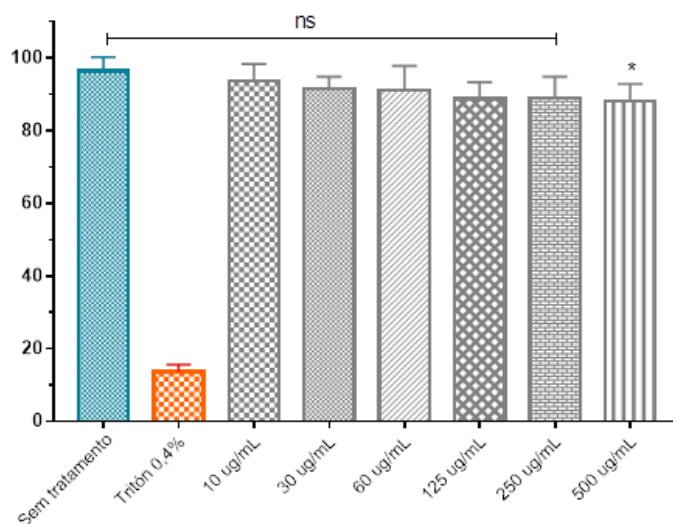


Figura 57: Citotoxicidade contra células GL261 de glioblastoma de camundongo. [% Viabilidade = (Abs. Tratamento / Média Abs. Células sem Tratamento) x 100; Valor de P a partir do teste não paramétrico Kruskal-Wallis e do teste de comparação múltipla de Dunn: $P > 0.05$ (ns = não significativa), $P < 0.05$ (significativa), onde * = pouco significativa].

O gráfico acima mostra a viabilidade celular versus a concentração das nanopartículas testadas. A partir dele é possível notar que, em comparação com os controles utilizados (células sem tratamento e Triton-X 0,4%), as células analisadas mostraram uma viabilidade celular próxima a 100% (> 90%) quando tratadas em diferentes concentrações de nanopartículas (10–500 µg/mL). Especificamente, em concentrações de 10–250 µg/mL, as nanopartículas não apresentaram toxicidade significativa e em concentrações de 500 µg/mL elas mostraram uma toxicidade pouco significativa.

Sendo assim, pode-se afirmar que as nanopartículas nas concentrações aqui analisadas não apresentaram toxicidade considerável

contra as células de glioblastoma GL261. Este resultado já era esperado, uma vez que nanopartículas de Gd_2O_3 reportadas na literatura também não se mostraram tóxicas. Elas foram testadas contra a linhagem celular DU425 de câncer de próstata humano e contra a linhagem celular normal NCTC1469 de hepatócito de rato; as concentrações variaram de 10–500 μM e até 100 μM . Todas elas apresentaram alta viabilidade celular (AHMAD et al., 2015; XU et al., 2016).

Neste trabalho, a linhagem celular GL261 foi escolhida por ser bem estabelecida e frequentemente utilizada, no qual os tumores GL261 são invasivos, não metastáticos e não regredem de forma espontânea. Além disso, o tempo de vida de um paciente com glioblastoma é de cerca de 1 ano e meio, no máximo, por isso havendo grande importância em se estudar e buscar tratamentos com enfoque nesse tipo de tumor.

Desta maneira, estes resultados se mostraram muito importantes, pois permitem iniciar os testes para avaliar o comportamento dessas nanopartículas no tratamento de tumores, inclusive tumores intracraniais, levando em conta a linhagem celular utilizada. Além disso, esses resultados também permitem que estas nanopartículas sejam utilizadas em outras aplicações biológicas de interesse.

5 Conclusões

Foram sintetizadas nanopartículas de Gd_2O_3 dopado com diferentes íons lantanídeos (Eu, Sm, Tb, Tm), por meio de metodologias de sínteses diversas, no qual a metodologia sol-gel mostrou-se a mais adequada. Além de simples e eficiente, este método de síntese se mostrou bastante reprodutível e relativamente rápido. Nesta síntese, utilizaram-se dois diferentes sais como precursores - cloreto e acetato - e diferentes tempos e temperaturas de calcinação.

Neste trabalho, também foram obtidas nanopartículas do tipo $SiO_2-Gd_2O_3$ dopados com íons európio em diferentes concentrações (1%, 3% e 5%). Foram utilizados dois diferentes métodos de síntese, por impregnação e por ultrassom.

A confirmação das estruturas das nanopartículas obtidas nas sínteses sol-gel, por impregnação e por ultrassom, foi feita através de diferentes técnicas de determinação e elucidação estruturais, sendo elas: MEV, MET, EDS, FTIR, DRX e DLS. Essas técnicas também permitiram estimar o tamanho médio das nanopartículas sintetizadas e garantiram a pureza das mesmas.

As análises de fotoluminescência (excitação e emissão) mostraram que as nanopartículas contendo os íons európio e samário, foram as mais adequadas para a funcionalização com o azul de metileno, apresentando os espectros de emissão mais sobreponíveis com o de absorção do mesmo. Já para as nanopartículas obtidas a partir da síntese por impregnação, as contendo íons európio na concentração de 3% foram as que apresentaram maior intensidade de luminescência. A partir do estudo de decaimento de fotoluminescência também foi possível determinar o tempo de vida ($\tau = 1,31$ ms) das nanopartículas de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel e confirmar a pureza desse material.

A partir da técnica de MEV, notou-se que o material obtido a partir da síntese *one-pot* não apresentou uma estrutura bem definida e adequada para este trabalho e que o material obtido a partir do encapsulamento das nanopartículas da síntese sol-gel apresentou tamanho maior que o desejado. Esta técnica também revelou que as nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel tendo-se o acetato como sal precursor apresentaram estruturas mais uniformes do que as tendo o cloreto como sal precursor, com partículas arredondas e homogêneas. Junto com a FTIR, ela também mostrou que as nanopartículas calcinadas em maior temperatura e por mais tempo (1000 °C por 5h), apresentaram uma estrutura mais bem definida, assim como a total eliminação de moléculas de água e material orgânico das NPs. Para as nanopartículas obtidas nas sínteses por impregnação e por ultrassom, a análise de MEV mostrou que elas apresentaram estruturas arredondadas, similares e homogêneas.

A técnica de DRX confirmou a fase cúbica das nanopartículas de Gd_2O_3 obtidas a partir da síntese sol-gel e a fase amorfa do SiO_2 na estrutura das nanopartículas obtidas a partir da síntese por impregnação. Para as nanopartículas obtidas na síntese por ultrassom, entretanto, notou-se apenas a fase amorfa característica do SiO_2 , indicando que o Gd_2O_3 não chegou a formar uma fase cristalina. Esta análise também confirmou a pureza das amostras obtidas.

A análise de MET mostrou que as nanopartículas apresentaram boa dispersão e homogeneidade, e evidenciou a fase cristalina das nanopartículas de Gd_2O_3 e a fase amorfa das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3$. A partir dela, foi possível confirmar o tamanho das NPs obtidas (cerca de 100 nm para as nanopartículas obtidas na síntese sol-gel e de 10 nm para as nanopartículas obtidas na síntese por impregnação). Para as nanopartículas do tipo $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^3$, ela também evidenciou a perfeita separação dos óxidos de silício e gadolínio.

As análises de EDS confirmaram os elementos presentes nas nanopartículas, assim como a distribuição uniforme e homogênea dos mesmos ao longo da estrutura das NPs.

A medida de DLS indicou um raio hidrodinâmico com valor dentro da faixa desejada (50–100 nm), tanto para as nanopartículas de óxido de gadolínio puro tanto para as nanopartículas contendo sílica. Entretanto, também mostrou que essas nanopartículas parecem estar se agregando em solução, indicando pouca estabilidade em água pura.

A partir da medida de potencial zeta, observou-se que as NPs contendo sílica apresentaram maior estabilidade, em meio aquoso, com relação às suas forças eletrostáticas. Elas apresentaram um valor médio de potencial zeta de $-31,9$ mV, enquanto as NPs sem sílica apresentaram um valor médio de potencial zeta de $-24,9$ mV.

O estudo de citotoxicidade realizado com as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel mostrou que estas não se mostraram tóxicas, em concentrações de $10\text{--}500\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, contra as células GL261 de glioblastoma de camundongo. Esse resultado é bastante importante para a aplicação desses nanomateriais em uso clínico, garantindo uma alta viabilidade celular.

Em resumo, pode-se concluir que as nanopartículas mais promissoras para este trabalho foram: $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 5h, e tendo-se o acetato como sal precursor; e $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}(3\%)$ obtidas a partir da síntese por imrpegação.

Por fim, pode-se concluir que foi possível sintetizar e caracterizar nanopartículas à base de elementos terras raras, com propriedades luminescentes comprovadas e potencial aplicação em terapia fotodinâmica. Entretanto, certas propriedades devem ser aprimoradas. Além disso, algumas análises ainda precisam ser realizadas, e os estudos biológicos aprofundados.

Sugestões para a continuação deste trabalho

O trabalho aqui realizado permite um amplo campo de investigação em relação a nanopartículas à base de elementos terras raras para aplicação em terapia fotodinâmica. A síntese e a caracterização desses materiais ainda requerem a realização de análises que não foram feitas, assim como o aprimoramento de algumas outras já realizadas. Sendo assim, para se continuar o desenvolvimento deste projeto, é interessante:

- Sintetizar nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ em diferentes concentrações, assim como foi feito para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$; após, realizar novas medidas de fotoluminescência;
- Aprofundar os estudos de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Sm}^{3+}$, alterando as concentrações do íon dopante; fazer o mesmo com as nanopartículas de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, Sm^{3+} ;
- Medir também o tempo de decaimento de fotoluminescência das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$;
- Melhorar a dispersão e estabilidade das nanopartículas sintetizadas, de modo a evitar que se agreguem, investigando seus comportamentos em diferentes meios (testar diferentes tipos de soluções, como soluções salinas, e surfactantes, por exemplo); em seguida, realizar novas medidas de DLS e potencial zeta;
- Investigar também a citotoxicidade das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$;
- Confirmar a capacidade das nanopartículas de Gd_2O_3 (dopado e codopado com os íons európio e samário) assim como das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ de converterem radiação raios X para luz UV-Vis;
- Verificar a liberação de ERO pelas nanopartículas sintetizadas na ausência e na presença do fotossensibilizador azul de metileno;
- Por fim, avaliar a viabilidade celular das nanopartículas funcionalizadas após radiação com raios X.

ABLIZ, E. et al. Novel applications of diagnostic X-rays in activating a clinical photodynamic drug: Photofrin II through X-ray induced visible luminescence from “rare-earth” formulated particles. **Journal of X-Ray Science and Technology**, v. 19, p. 521–530, 2011.

ABREU, F. C.; FERRAZ, P. A. L.; GOULART, M. O. F. Some Applications of Electrochemistry in Biomedical Chemistry. Emphasis on the Correlation of Electrochemical and Bioactive Properties. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 1, p. 19–35, 2002.

AHMAD, M. W. et al. Potential dual imaging nanoparticle: Gd_2O_3 nanoparticle. **Scientific Reports**, v. 5, n. 8549, p. 1–11, 2015.

AHRÉN, M. et al. A simple polyol-free synthesis route to Gd_2O_3 nanoparticles for MRI applications: an experimental and theoretical study. **Journal of nanoparticle research**, v. 14, n. 8, 2012.

AIZAWA, K. et al. Tobacco carcinogen induces both lung cancer and non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinomas in ferrets which can be attenuated by lycopene supplementation. **International Journal of Cancer**, v. 139, p. 1171–1181, 2016.

ALLISON, R. R. et al. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 1, p. 27–42, 2004.

ALVES, L. A. et al. Pore forming channels as a drug delivery system for photodynamic therapy in cancer associated with nanoscintillators. **Oncotarget**, v. 9, n. 38, p. 25342–25354, 2018.

BARRANCO, L. M D. Nanopartículas de sílica funcionalizadas com grupos amônio e polímeros aniônicos para estabilização de emulsões *Pickering* O/A contendo repelente de insetos. Rio de Janeiro, 2018. 100p.

Dissertação (mestra em química) – Departamento de Química – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

BECHET, D. et al. Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agentes. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 11, p. 612–621, 2008.

BINNEMANS, K. Interpretation of europium(III) spectra. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 295, p. 1–45, 2015.

BUSTAMANTE, F. L. S. et al. Complexos Ativados por Hipóxia: uma Estratégia para o Combate ao Câncer. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 2, p. 138–148, 2009.

CARR, D. H. et al. Gadolinium-DTPA as a Contrast Agent in MRI: Initial Clinical Experience in 20 Patients. **American Journal of Roentgenology**, v. 143, n. 2, p. 215–224, 1984.

CHEN, H. et al. Nanoscintillator-Mediated X-ray Inducible Photodynamic Therapy for In Vivo Cancer Treatment. **Nano Letters**, v. 15, p. 2249–2256, 2015.

CLEMENT, S. et al. X-ray induced singlet oxygen generation by nanoparticle-photosensitizer conjugates for photodynamic therapy: determination of singlet oxygen quantum yield. **Scientific Reports**, v. 6, n. 19954, 2016.

COULTER, J. A. et al. Cell type-dependent uptake, localization, and cytotoxicity of 1.9 nm gold nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 2673–2685, 2012.

DAYEM, A. A. et al. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, 2017.

DHANANJAYA, N. et al. Hydrothermal synthesis of $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ nanophosphors: Effect of surfactant on structural and luminescence properties. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 587, p. 755–762, 2014.

DONG, H. et al. Lanthanide Nanoparticles: From Design toward Bioimaging and Therapy. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 19, p. 10725–10815, 2015.

FILHO, P. C. S.; SERRA, O. A. TERRAS RARAS NO BRASIL: HISTÓRICO, PRODUÇÃO E PERSPECTIVAS. **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 753–760, 2014.

GAI, S. et al. Recent Progress in Rare Earth Micro/Nanocrystals: Soft Chemical Synthesis, Luminescent Properties, and Biomedical Applications. **Chemical Reviews**, n. 114, p. 2343–2389, 2014.

GUEDES, M. A. et al. Synthesis, characterization and spectroscopic investigation of new tetrakis(acetylacetonato)thulate(III) complexes containing alkaline metals as countercations. **Journal of Luminescence**, v. 131, p. 99–103, 2011.

HASKIN, L. A.; PASTER, T. P. GEOCHEMISTRY AND MINERALOGY OF THE RARE EARTHS. **Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths**, cap. 21, 1979.

HASSANPOUR, S. H.; DEHGHANI, M. Review of cancer from perspective of molecular. **Journal of Cancer Research and Practice**, v. 4, p. 127–129, 2017.

HERRMANN, A. et al. Cubic and Hexagonal NaGdF₄ Crystals Precipitated from an Aluminosilicate Glass: Preparation and Luminescence Properties. **Chemistry of Materials**, v. 25, p. 2878–2884, 2013.

HIRANO, S.; SUZUKI, K. T. Exposure, Metabolism, and Toxicity of Rare Earths and Related Compounds. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, p. 85–95, 1996.

HOMAYONI, H. et al. Synthesis and conjugation of Sr₂MgSi₂O₇:Eu²⁺,Dy³⁺ water soluble afterglow nanoparticles for photodynamic activation. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 16, p. 90–99, 2016.

HOMAYONI, H. et al. X-ray excited luminescence and persistent luminescence of Sr₂MgSi₂O₇:Eu²⁺,Dy³⁺ and their associations with synthesis conditions. **Journal of Luminescence**, v. 198, p. 132–137, 2018.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Química Inorgânica**. 4. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013.

IL'VES, V. G. et al. Properties of the Amorphous–Nanocrystalline Gd_2O_3 Powder Prepared by Pulsed Electron Beam Evaporation. **Physics of the Solid State**, v. 55, n. 6, p. 1262–1271, 2013.

JESUS, V. P. S. et al. Nanoparticles and Methylene Blue for Enhancement Photodynamic Therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 23, p. 212–217, 2018.

JIANG, X. et al. Synthesis and Characterization of Gd_2O_3 Hollow Microspheres Using a Template-Directed Method. **Materials**, v. 9, n. 5, p. 1–11, 2016.

PADILHA, J. S. Estudo da fotoluminescência de filmes de 1,7-polioxepan-2-ona dopados com complexos trisacetilacetatos de terras raras. Rio de Janeiro, 2017. 112p. Dissertação (Mestra em Química) – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

KAI, J. Desenvolvimento de sistemas luminescentes à base dos polímeros PHB e PMMA dopados com complexos de terras raras. São Paulo, 2009. 193p. Tese (Doutor em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo.

KAMKAEW, A. et al. Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy. **ACS Nano**, v. 10, p. 3918–3935, 2016.

KENNEDY, K. A. THE HYPOXIC TUMOR CELL: A TARGET FOR SELECTIVE CANCER CHEMOTHERAPY. **Biochemical Pharmacology**, v. 29, p. 1–8, 1980.

KHAN, I. U. et al. Co-delivery Strategies to Overcome Multidrug Resistance in Ovarian Cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 533, n. 1, p. 111–124, 2017.

LIANG, Y. et al. Synthesis and characterization of core-shell structures $\text{SiO}_2@\text{YVO}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ microspheres. **Applied Surface Science**, v. 258, p. 3689–3694, 2012.

LIM, C-K. et al. Nanophotosensitizers toward advanced photodynamic therapy of Cancer. **Cancer Letters**, v. 334, p. 176–187, 2013.

^ALIU, Y. et al. Investigation of water-soluble x-ray luminescence nanoparticles for photodynamic activation. **Applied Physics Letters**, v. 92, n. 043901, p. 1–4, 2008.

^BLIU, Y. et al. X-ray luminescence of $\text{LaF}_3:\text{Tb}^{3+}$ and $\text{LaF}_3:\text{Ce}^{3+},\text{Tb}^{3+}$ water-soluble nanoparticles. **Journal of Applied Physics**, v. 103, n. 063105, 2008.

MONAFO, W. W. et al. Cerium nitrate: a new topical antiseptic for extensive burns. **Surgery**, v. 80, n. 4, p. 465–473, 1976.

MORGAN, N. Y. et al. Nanoscintillator Conjugates as Photodynamic Therapy-Based Radiosensitizers: Calculation of Required Physical Parameters. **Radiation Research Society**, v. 171, p. 236–244, 2009.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. AGENTES ANTINEOPLÁSICOS BIORREDUTÍVEIS: UMA NOVA ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO DE TUMORES SÓLIDOS. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 976–984, 2002.

PAGANO, G. et al. Rare earth elements in human and animal health: State of art and research priorities. **Environmental Research**, v. 142, p. 215–220, 2015.

PARKER, L. L. et al. A Novel Design Strategy for Stable Metal Complexes of Nitrogen Mustards as Bioreductive Prodrugs. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 5683–5689, 2004.

PARKIN, D. M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. **International Journal of Cancer**, v. 118, p. 3030–3044, 2006.

PORTOLÉS, M. J. L. et al. Silicon Nanoparticle Photophysics and Singlet Oxygen Generation. **Langmuir**, v. 26, n. 13, p. 10953–10960, 2010.

POWELL, J. E. SEPARATION CHEMISTRY. **Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths**, cap. 22, 1979.

RETIF, P. et al. Nanoparticles for Radiation Therapy Enhancement: the Key Parameters. **Theranostics**, v. 5, n. 9, p. 1030–1044, 2015.

RIM, K. T.; KOO, K. H.; PARK, J. S. Toxicological Evaluations of Rare Earths and Their Health Impacts to Workers: A Literature Review. **Safety and Health at Work**, v. 4, p. 12–26, 2013.

RISS, T. L. et al. Cell Viability Assays. **Assay Guidance Manual**. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, Bethesda (MD), 2004–2013.

ROBLERO-BARTOLÓN, G. V.; RAMÓN-GALLEGOS, E. Use of nanoparticles (NP) in photodynamic therapy (PDT) against cancer. **Gaceta Médica de México**, v. 151, p. 78–89, 2015.

RUDNICK, R. L.; GAO, S. Composition of the Continental Crust. **Treatise on Geochemistry**, v. 3, p. 1–64, 2003.

RUIZ, A. E. et al. Synthesis and Characterization of Butoxylated Silica Nanoparticles. Reaction with Benzophenone Triplet States. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 21, p. 7623–7628, 2007.

SASTRI, V. S. et al. **Modern Aspects of Rare Earths and their Complexes**. Amsterdam: North-Holland, 2003.

SCAFFIDI, J. P. et al. Activity of Psoralen-Functionalized Nanoscintillators against Cancer Cells upon X-ray Excitation. **ASC Nano**, v. 5, n. 6, p. 4679–4687, 2011.

SCHIAVO, D. A.; PEREZ, E. F.; KUBOTA, L. T. ESTUDO ELETROQUÍMICO DO AZUL DE METILENO ADSORVIDO SOBRE SÍLICA GEL QUIMICAMENTE MODIFICADA COM ÓXIDO DE NIÓBIO. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 832–834, 2000.

SILVA, I. G. N. et al. Low temperature synthesis and optical properties of the $R_2O_3:Eu^{3+}$ nanophosphors (R^{3+} : Y, Gd and Lu) using TMA complexes as precursors. **Optical Materials**, v. 40, p. 41–148, 2015.

SOBRAL, G. A. et al. Tailoring red-green-blue emission from Er^{3+} , Eu^{3+} and Tb^{3+} doped Y_2O_3 nanocrystals produced via PVA-assisted sol-gel route. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 98, p. 81–90, 2016.

SOUZA, E. R. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE COMPLEXOS DE GADOLÍNIO, EUROPIO E TÉRBIO TRIVALENTES CONTENDO GRUPOS AMINO E TIOL LIVRES. Campinas, 2013. 258p. Tese (Doutor em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

SPEEDING, F. H. et al. Production of Pure Rare Earth Metals. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 553–556, 1952.

Site do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>. Acesso em junho de 2019.

Site da *International Union of Pure and Applied Chemistry*. Disponível em: <https://iupac.org/what-we-do/periodic-table-of-elements/>. Acesso em agosto de 2019.

STANTON, I. N.; AYRES, J. A.; THERIEN, M. J. Dual energy converting nano-phosphors: upconversion luminescence and X-ray excited scintillation from a single composition of lanthanide-doped yttrium oxide. **Dalton Transactions**, v. 41, p. 11576–11578, 2012.

SUDHEENDRA, L. et al. NaGdF₄:Eu³⁺ Nanoparticles for Enhanced X - ray Excited Optical Imaging. **Chemistry of Materials**, v. 26, p. 1881–1888, 2014.

TAKARA, Y. et al. Efficacy and safety of lanthanum carbonate in pre-dialysis CKD patients with hyperphosphatemia: a randomized trial. **Clinical Nephrology**, v. 82, n. 3, p. 181–190, 2014.

TAMRAKAR, R. K.; BISEN, D. P. Thermoluminescence studies of ultraviolet and gamma irradiated erbium(III)- and ytterbium(III)-doped gadolinium oxide phosphors. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 33, p. 169–188, 2015.

TARDIVO, J. P. et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 2, p. 175–191, 2005.

THOMPSON, L. C. **Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths**, v. 3; **Complexes** (Eds. K. A. Gschneidner Jr., and L. R. Eyring), p. 209–217. Amsterdam: North-Holland, 1979.

VAHED, S. Z. et al. Liposome-based drug co-delivery systems in cancer cells. **Materials Science and Engineering C**, v. 71, p. 1327–1341, 2017.

WANG, F.; DENG, R.; LIU, X. Preparation of core-shell NaGdF₄ nanoparticles doped with luminescent lanthanide ions to be used as upconversion-based probes. **Nature Protocols**, v. 9, n. 7, p. 1634–1644, 2014.

XU, W. et al. Dextran-Coated Ultrasmall Gd₂O₃ Nanoparticles as Potential T₁ MRI Contrast Agent. **ChemistrySelect**, v. 1, p. 6086–6091, 2016.

YANG, D. et al. Current advances in lanthanide ion (Ln³⁺)-based upconversion nanomaterials for drug delivery. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 1416–1448, 2015.

YANO, S. et al. Current states and future views in photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 12, p.46–67, 2011.

YU, W. et al. A review and outlook in the treatment of osteosarcoma and other deep tumors with photodynamic therapy: from basic to deep. **Oncotarget**, v. 8, n. 24, p. 39833–39848, 2017.

ZHANG, Q. Facile preparation of highly-dispersed cobalt-silicon mixed oxide nanosphere and its catalytic application in cyclohexane selective oxidation. **Nanoscale Research Letters**, v. 6, n. 586, p. 1–7, 2011.

ZHANG, Y. Engineering lanthanide-based materials for nanomedicine. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 20, p. 71–96, 2014.

8 Apêndice

Apêndices A

Obtenção das nanopartículas de óxido de terras raras

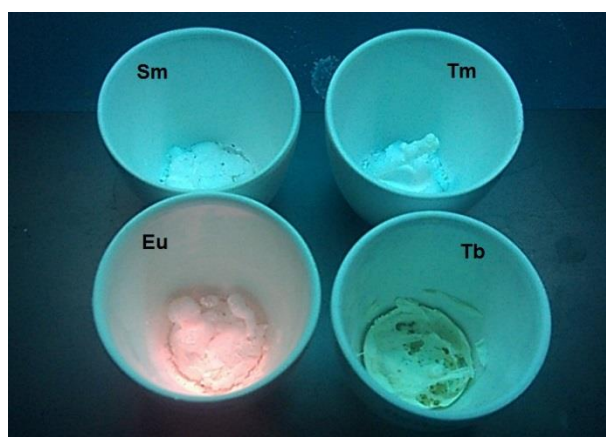


Figura A.1. Nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel, tendo-se o cloreto como sal precursor



Figura A.2. Nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel, calcinadas a 1000 °C por 5h, tendo-se o acetato como sal precursor.



Figura A.3. Nanopartículas obtidas a partir da síntese *one-pot*.



Figura A.4. Nanopartículas obtidas a partir da síntese por impregnação, com íons európio em diferentes concentrações.



Figura A.5. Nanopartículas obtidas a partir da síntese por ultrassom.



Figura A.6. Nanopartículas obtidas a partir da síntese sol-gel após encapsulamento.

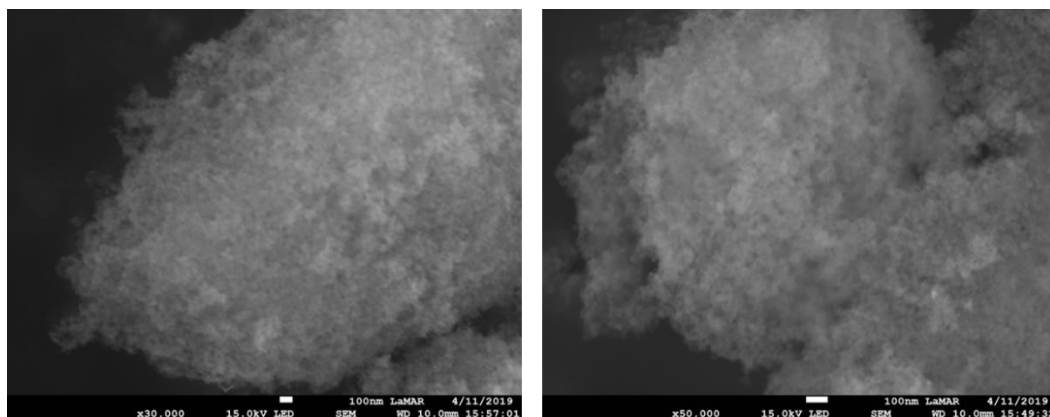
Apêndices B**Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Figura B. 1. Imagens das NPs de SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺ obtidas a partir da síntese por impregnação, com íons európio na concentração de 3%.

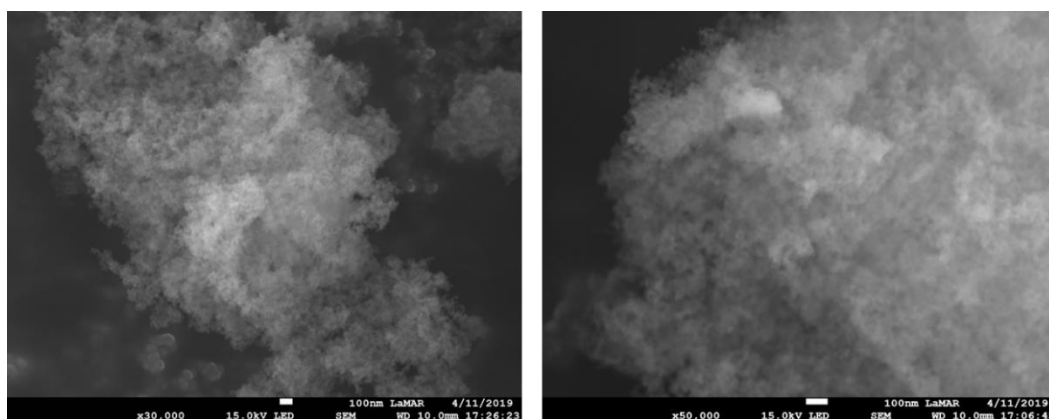


Figura B. 2. Imagens das NPs de SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺ obtidas a partir da síntese por impregnação, com íons európio na concentração de 5%.

Apêndices C

Difração de Raios X de Pó (DRX)

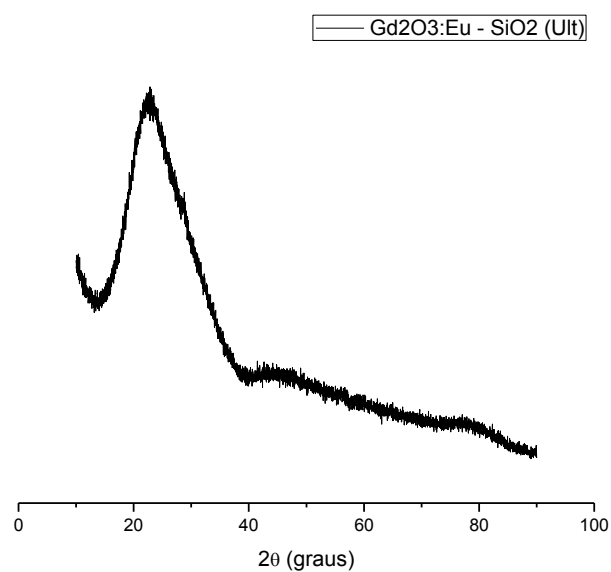


Figura C.1. Difratoograma das nanopartículas SiO₂-Gd₂O₃:Eu³⁺ obtidas a partir da síntese por ultrassom.

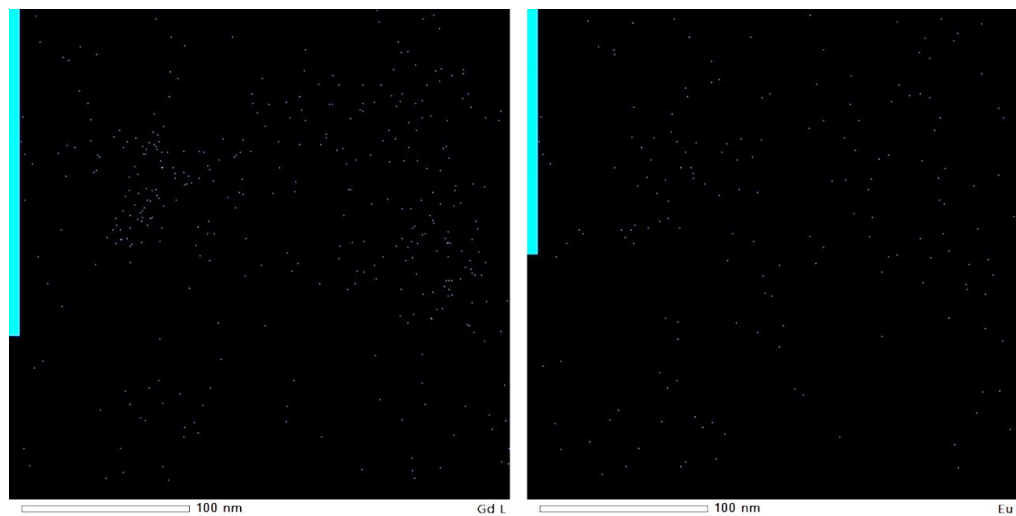
Apêndices D**Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

Figura D.1. Mapa de distribuição dos elementos Gd e Eu das NPs de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

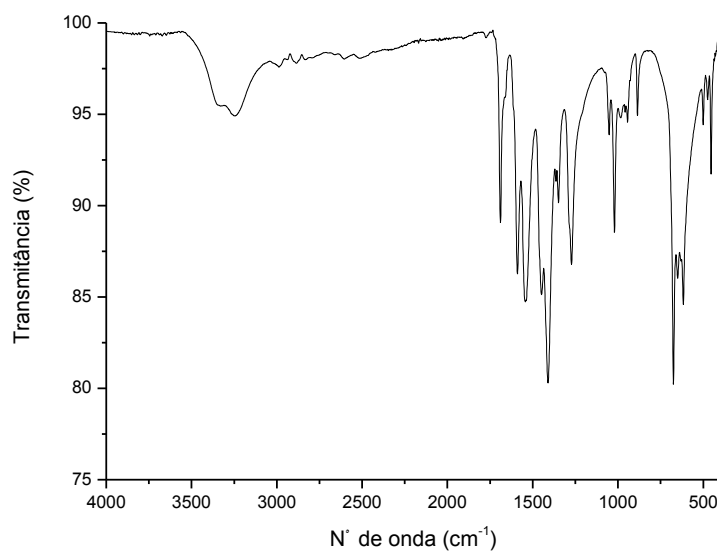
Apêndices E**Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)**

Figura E. 1. Espectro de infravermelho do $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ utilizado como precursor nas sínteses sol-gel.

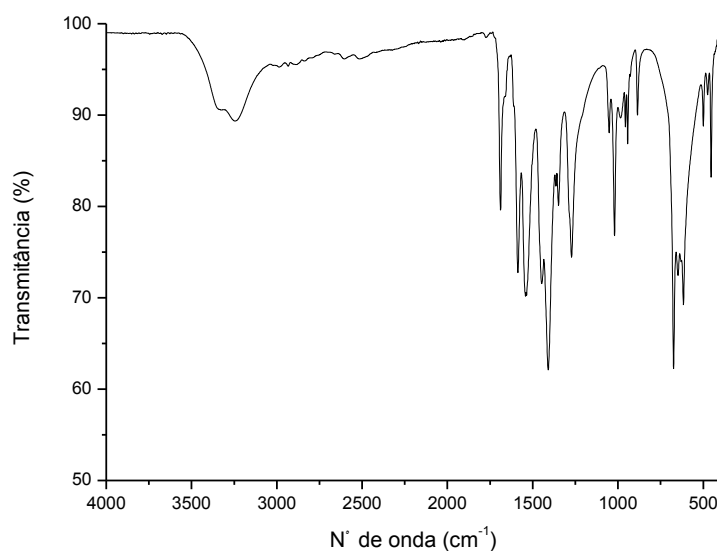


Figura E. 2. Espectro de infravermelho do $\text{Sm}(\text{OAc})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ utilizado como precursor nas sínteses sol-gel.

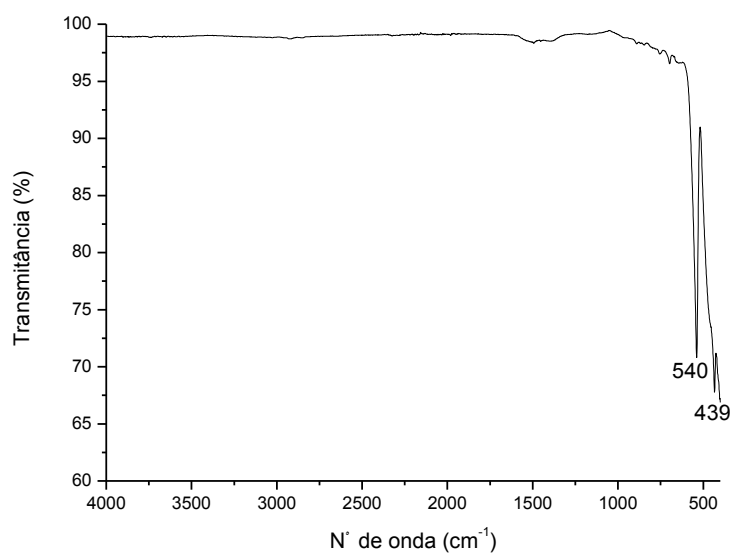


Figura E. 3. Espectro de infravermelho das NPs de Gd₂O₃:Sm³⁺ obtidas a partir da síntese sol-gel.

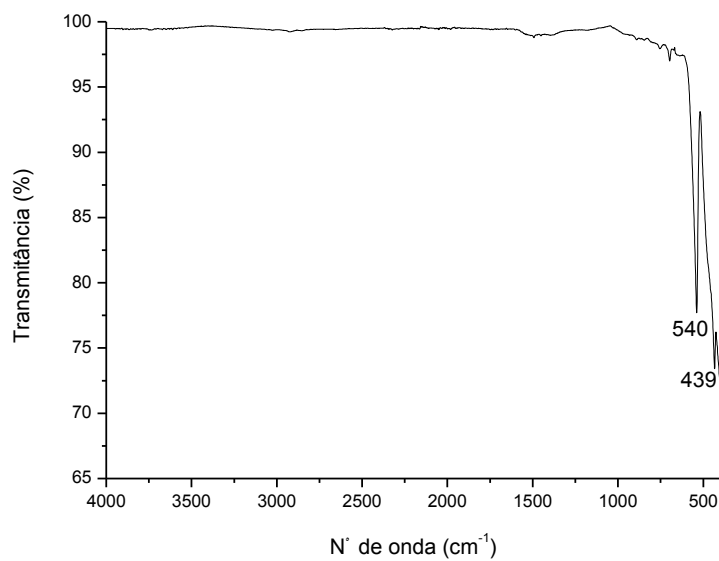


Figura E. 4. Espectro de infravermelho das NPs de Gd₂O₃:Eu³⁺,Sm³⁺ obtidas a partir da síntese sol-gel.

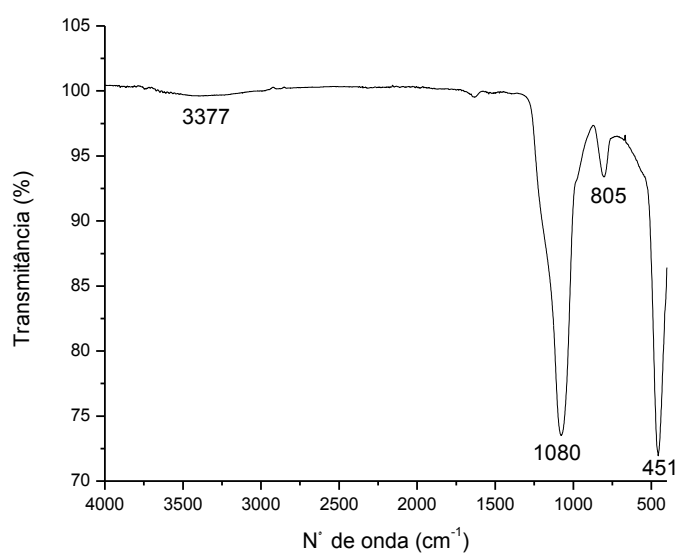


Figura E. 5. Espectro de infravermelho das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Gd}_2\text{O}_3\text{:Eu}^{3+}$ obtidas a partir da síntese por ultrassom.

Apêndices F.

Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)

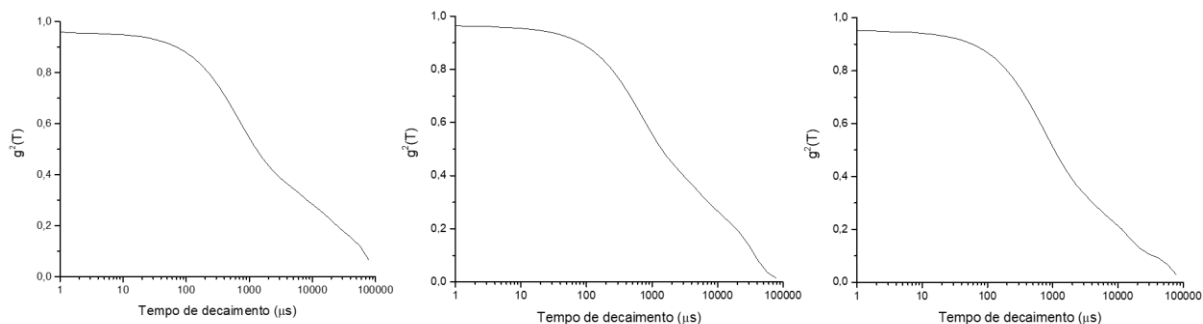


Figura F.1. Funções de autocorrelação referentes às análises de DLS das nanopartículas de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ obtidas a partir da síntese sol-gel.

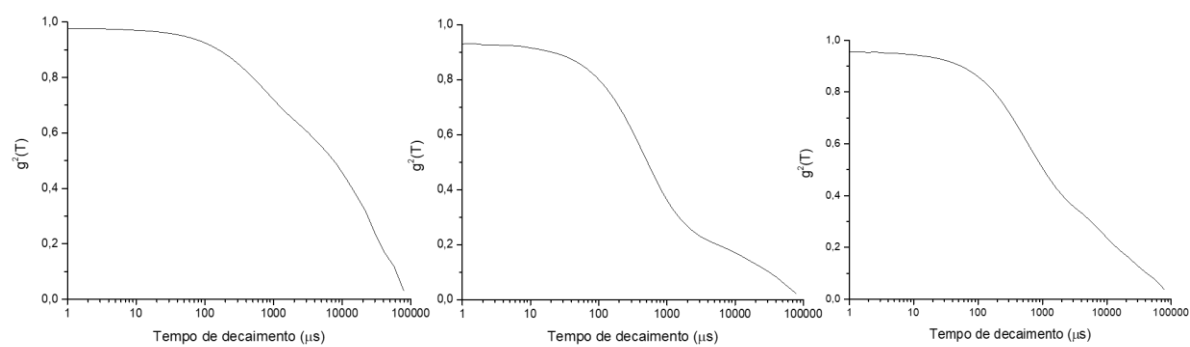


Figura F.2. Funções de autocorrelação referentes às análises de DLS das nanopartículas de $SiO_2-Gd_2O_3:Eu^{3+}(1\%)$ obtidas a partir da síntese por impregnação.

Tabela F. 1. Espalhamento de luz dinâmica das nanopartículas obtidas a partir das sínteses sol-gel e impregnação.

Amostra	Tamanho (nm)	SD	Índice de Polidispersão	Proporção do Pico
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	77,1	4,5	0,914	0,64
	259,2	15,6		0,36
	82,9	6,3	0,807	0,71
	443,4	39,5		0,29
	83,8	5,9	0,739	0,71
	298,6	31,9		0,29
SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	60,5	6,7	1,306	0,62
	277,2	36,7		0,38
	63,6	6,5	0,553	0,73
	222,2	21,2		0,27
	72,9	6,0	0,735	0,69
	597,5	36,2		0,31

Apêndices G.**Potencial Zeta (ζ)****Tabela G. 1.** Potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das sínteses sol-gel e impregnação.

Amostra	Potencial zeta (mv)	Mobilidade electroforetica (cm²/Vs)	Conductividade (mS/cm)
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	-24,7	-0,000191	0,068
	-24,8	-0,000192	0,068
	-25,3	-0,000196	0,068
SiO ₂ - Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ (1%)	-31,7	-0,000246	0,065
	-31,8	-0,000246	0,065
	-32,2	-0,000250	0,065