

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Roberta Viana Ferreira

**Síntese e Caracterização de
Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com
Núcleo Magnético de Magnetita**

Belo Horizonte
2009

UFMG/ICEX - DQ 450

D. 774

Roberta Viana Ferreira

**Síntese e Caracterização de Nanopartículas Magnéticas
Funcionalizadas com Núcleo Magnético de Magnetita**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Química do Instituto
de Ciências Exatas da Universidade
Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau
de Mestre em Química – Físico-
Química

Belo Horizonte
2009

Ferreira, Roberta Viana

F383s

2009

D

Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com núcleo magnético de magnetita. 2009.

93 f. : il.

Bibliografia: p.82-87

Orientadora: Rosana Zacarias Domingues

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1.Físico-Química - Teses 2.Magnetita - Teses
3.Liberação controlada de fármacos - Teses
I.Domingues, Rosana Zacarias, Orientadora II.Título

CDU 043



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEx
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3409-5732
FAX: 031 - 3409-5711
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br



**"Síntese e caracterização de Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com
Núcleo Magnético de Magnetita"**

Roberta Viana Ferreira

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Rosana Zacarias Domingues - Orientadora
UFMG

Prof. Wagner da Nova Mussel
UFMG

Dra. Adelina Pinheiro Santos
CNEN-CDTN

Belo Horizonte, 16 de julho de 2009.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais Mauro e Fátima pelos ensinamentos, pela paciência, incentivo constante, apoio irrestrito em todos os momentos inclusive os mais difíceis e por todo amor dedicado.

Ao Rodrigo pelo incentivo, apoio, paciência, ajuda, companheirismo, amizade, carinho que tornaram a caminhada mais fácil.

À professora Rosana Zacarias Domingues, pela orientação, apoio e confiança.

Ao professor José Domingos Fabris, pela atenção e cooperação durante toda a realização deste trabalho.

Ao pesquisador Max Passos Ferreira pelos ensinamentos, ajuda e sugestões durante a realização do trabalho.

Ao Lionel Gamarra pela colaboração.

Aos amigos que estiveram comigo desde os tempos da graduação em especial a Raquel Mambrini, Raquel Borges, Fábio Martins, Vitor Franco, Olídio Gomes, Sue Ellen Bottrel e aos amigos conquistados recentemente Gessy James, Taiane Guedes e Naira Torres pelo incentivo e inúmeros momentos de descontração durante este período.

Aos amigos e colegas do laboratório Ângela, Wallison e Diana pelo incentivo e colaboração durante o trabalho, à Isabela Lana pela amizade e colaboração no desenvolvimento deste trabalho. Aos amigos e colegas do Lampac Rosie-Marie, Tiago, Mariana e Márcia pela amizade e por todo o auxílio no laboratório. À Cíntia minha companheira de laboratório e Hosane pelo carinho, atenção, amizade e pelos vários momentos de descontração.

Aos amigos e colegas do laboratório de Mössbauer, em especial ao Luís pela ajuda na interpretação de resultados e disponibilidade sempre que necessário.

Aos 'vizinhos', principalmente à Taiane e à Raquel que sempre estiveram dispostas a ajudar, pelos 'bons dias' e 'boa noites' que muitas vezes tornaram os dias mais fáceis e divertidos.

Às secretárias de Pós-Graduação, pelo apoio e trabalho sempre eficiente.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Enfim, a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

Nanopartículas magnéticas revestidas com sílica tem sido alvo de extensivas, em muitos aspectos, e também intensivas investigações devido sua potencial aplicação em diferentes campos tecnológicos, particularmente em biomedicina. O carregamento de droga para específicos locais através da aplicação de um campo magnético tem sido estudado em biomedicina, como uma das aplicações de nanopartículas magnéticas, sendo uma promissora forma de resolver muitos problemas associados com a administração sistêmica de drogas.

Este trabalho foi dividido em; (i) síntese e caracterização da magnetita nanoparticulada, (ii) revestimento da magnetita com sílica, (iii) incorporação dos fármacos na partícula revestida com sílica e (iv) liberação controlada das drogas.

As nanopartículas magnéticas foram obtidas através do método de coprecipitação-redução e o revestimento com sílica foi realizado através do método sol-gel baseado na hidrólise do tetraetilortossilicato. Os materiais obtidos foram caracterizados por difração de raios-X, espectroscopia de mössbauer e de infravermelho, medidas de magnetização e medidas de potencial zeta. O tamanho da partícula foi obtido por microscopia de transmissão eletrônica (TEM).

Os fármacos, hidrocortisona, tetraciclina e paclitaxel, foram incorporados à nanopartícula durante o processo de revestimento. A verificação da incorporação foi avaliada através de espectroscopia de infravermelho, análise térmica e medidas de potencial zeta. As quantidades de drogas liberadas foram obtidas por espectroscopia de ultravioleta-visível nos comprimentos de onda

característicos de cada fármaco. O mecanismo de liberação foi avaliado aplicando modelos matemáticos, sendo o modelo de Korsmeyer-Peppas o mais adequado para descrever o perfil de liberação obtido para os três fármacos estudados.

Abstract

Magnetic nanoparticles coated with silica have been subjected of extensive, and, in many aspects, also intensive investigations because of their potential application in different technological fields, particularly in biomedicine. The drug delivery to the specific sites through the application of magnetic field have been studied for biomedicine applications and are very promising because can resolve many of the problems associated with systemic drug administration. This work was conceived and is being carried out in: (i) synthesis of the ferrimagnetic nanoparticles, specifically magnetite, (ii) coating these particles with tetraethyl orthosilicate (TEOS), (iii) drug incorporation in silica coated-magnetite and (iv) drug controlled release.

The nanosized magnetite sample was prepared by the reduction - precipitation and the nanomagnetite particles were coated by the sol-gel method, based on the hydrolysis of tetraethyl orthosilicate (TEOS). The so obtained materials were characterized with powder X-ray diffraction (XRD), FTIR spectroscopy, saturation magnetization measurements ^{57}Fe Mössbauer spectroscopy at room temperature, zeta potential and thermal analysis.

The drugs tetracycline, hydrocortisone or paclitaxel were incorporated in the particle during the magnetite coating process. The amounts of drugs delivered were monitored by ultraviolet spectrophotometry in the tetracycline, hydrocortisone and paclitaxel wavelengths. The summation until the end of release was considered 100%. The efficiency incorporation was analyzed with FTIR spectroscopy, zeta potential and thermal analysis. The release profile was analysed for application of mathematical model Korsmeyer-Peppas.

SUMÁRIO

<i>Lista de Figuras.....</i>	<i>i</i>
<i>Lista de Tabelas.....</i>	<i>v</i>
Capítulo 1 - Introdução	
1.1 Introdução e Objetivos.....	1
1.2 Revisão bibliográfica.....	3
1.2.1 Magnetismo.....	3
1.2.2 Propriedades magnéticas de nanopartículas.....	6
1.2.3 Ferritas.....	15
1.2.4 Métodos de síntese de nanopartículas magnéticas	19
1.2.5 Revestimentos.....	24
1.2.6 Aplicações de nanopartículas magnéticas.....	26
Capítulo 2 - Parte Experimental	
2- Parte Experimental.....	36
2.1 Reagentes.....	36
2.2 Síntese e revestimento da magnetita.....	37
2.3 Incorporação de fármacos.....	38
2.3.1 Liberação controlada de fármacos.....	39
2.4 Caracterização.....	39
2.4.1 Difração de raios-X.....	39
2.4.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho.....	39
2.4.3 Espectroscopia Mössbauer	40
2.4.4 Medidas de Magnetização	40

2.4.5 Potencial zeta.....	40
2.4.6 Microscopia eletrônica de transmissão.....	41
2.4.7 Análise termogravimétrica.....	41
2.5 Espectroscopia de Ultravioleta-visível.....	41

Capítulo 3 - Discussão dos Resultados – Síntese e revestimento da magnetita

3.1 Difração de raios-X.....	43
3.2 Espectroscopia Mossbauer	46
3.3 Medida de magnetização.....	51
3.4 Espectroscopia de absorção no infravermelho.....	52
3.5 Análise termogravimétrica.....	55
3.6 Potencial zeta.....	57
3.7 Microscopia eletrônica de transmissão.....	60

Capítulo 4 – Discussão dos Resultados – Incorporação dos fármacos e liberação controlada

4.1 Espectroscopia de infravermelho	62
4.2 Análise termogravimétrica.....	65
4.3 Potencial zeta.....	66
4.4 Liberação controlada.....	70
5. Considerações finais.....	80
6. Referências Bibliográficas.....	82

Artigos publicados

ANDRADE, A. L., MANZI, D., VASCONCELLOS, W. A., FERREIRA, R.V., DOMINGUES, R.Z., **Tetracycline and/or hydrocortisone incorporation and release by bioactive glasses compounds.** Journal of Non-Crystalline **Solids**, v.355, 811-816, 2009.

Artigos aceitos

R.V. Ferreira, I.L.S. Pereira, L.C.D. Cavalcante, L.F. Gamarra, S.M Carneiro, E. Amaro Jr, J.D. Fabris, R.Z. Domingues. **Synthesis and Characterization of Silica-Coated Nanoparticles of Magnetite.** Hyperfine Interactions.

L. F. Gamarra, J. B. Mamani, S. M. Carneiro, J. D. Fabris, R. V. Ferreira, R. Z. Domingues, D. R. Cornejo, E. Amaro Jr. **Characterization of superparamagnetic iron oxide coated with silicone used as contrast agent for magnetic resonance image for the gastrointestinal tract.** Journal of Nanoscience and Nanobiotechnology.

Participação em Congressos com apresentação de trabalho

R. V. FERREIRA, W. A. VASCONCELLOS, A. L. ANDRADE, D. MANZI, R. Z. DOMINGUES, J. C. BELCHIOR. **Tetracycline and hydrocortisone incorporation and release by bioactive glasses compounds.** VII Encontro SBPMat, 2008.

R. V. FERREIRA, J. D. FABRIS, R. Z. DOMINGUES. **Synthesis and Characterization of Silica-Coated Nanoparticles of Magnetite.** XI Latin American Conference on the Applications of the Mössbauer Effect, 09-14 de novembro.

Lista de Figuras

Fig. 1.1 – Representação da parede do domínio.....	7
Fig.1.2 - Curva de histerese magnética.....	8
Fig.1.3-Curva de histerese magnética de um material superparamagnético.....	11
Fig. 1.4 - Representação da estrutura cristalina da magnetita	16
Fig. 1.5 Representação dos spins da magnetita e interação supertroca...17	
Fig. 3.1 - Difração de raios-X para amostra Mag.....	44
Fig. 3.2 - Difração de raios-X para amostra Mag e MagSi.....	46
Fig.3.3 - Espectro Mössbauer a 298 K para a amostra Mag.....	47
Fig.3.4 - Perfis das probabilidades dos campos hiperfinos para (a) sítio A e (b) sítio B da amostra MagSi.....	47
Fig.3.5 - Espectro Mössbauer a 298 K para a amostra MagSi.....	48
Fig.3.6 - Perfis das probabilidades dos campos hiperfinos para (a) sítio A e (b) sítio B da amostra MagSi.....	48
Fig.3.7 - Espectro de FTIR para a amostra Mag.....	53
Fig.3.8 - Espectro de FTIR para a amostras silica.....	53
Fig. 3.9 - Espectro de FTIR para a amostra MagSi.....	55
Fig. 3.10 - Curva TG da amostra Mag.....	56
Fig. 3.11 - Curva TG da amostra MagSi.....	56

Fig. 3.12 - Curva do potencial zeta da magnetita em função do pH.....	58
Fig. 3.13 - Curva do potencial zeta da MagSi em função do pH.....	59
Fig. 3.14 - Micrografia da amostra Mag. Inset: Histograma para a distribuição de tamanho de partículas.....	60
Fig. 3.15 - Micrografia da amostra MagSi. Inset: Histograma para a distribuição de tamanho de partículas.....	61
Fig. 4.1. Espectro de FTIR da amostra MagSiT e da Tetraciclina.....	63
Fig. 4.2. Espectro de FTIR da amostra MagSiH e da Hidrocortisona.....	64
Fig. 4.3. Espectro de FTIR da amostra MagSiP e do Paclitaxel.....	64
Fig. 4.4. Curvas de TG das amostras MagSiT e MagSiH.....	65
Fig. 4.5. Curvas de TG das amostras MagSiP e MagSi.....	66
Fig.4.6. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiT em função do pH.....	67
Fig.4.7. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiH em função do pH.....	69
Fig.4.8. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiP em função do pH.....	69
Fig. 4.9. Curva da porcentagem da massa da tetraciclina liberada para a amostra MagSiT em função da tempo.....	70
Fig. 4.10. Curva da porcentagem da massa da hidrocortisona liberada para a amostra MagSiH em função da tempo.....	71
Fig. 4.11. Curvas da porcentagem da massa de hidrocortisona liberada para a amostra MagSiH e de tetraciclina liberada para a amostra MagSiT em função do tempo.....	72

Fig. 4.12. Curva da porcentagem da massa de paclitaxel liberada para a amostra MagSiP em função da tempo.....	73
Fig 4.13. Fórmula estrutural dos fármacos cloridrato de tetraciclina, succinato sódico de hidrocortisona e paclitaxel.....	77
Fig. 4.14. Curvas do potencial zeta das amostras MagSiT e MagSiH após a liberação controlada em função do pH.....	78
Fig. 4.15. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiP após a liberação controlada em função do pH.....	79

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 – Propriedades físicas da magnetita.....	18
Tabela 2.1 – Reagentes usados nos procedimentos experimentais.....	36
Tabela 3.1– Distância interplanar (<i>d</i>) para os diferentes planos cristalográficos e posição angular ($2\theta_B$) de cada pico para a amostra Mag e os respectivos valores esperados para a magnetita bulk	44
Tabela 3.2 Valores da largura a meia altura do pico mais intenso dos difratogramas das amostras Mag e MagSi e as larguras corrigidas (β), posições angulares dos picos ($2\theta_B$) e o valor do tamanho do cristalito obtido.....	45
Tabela 3.3 – Parâmetros hiperfinos Mössbauer a 298 K, deduzidos do ajuste numérico por distribuições de campos hiperfinos. $Fe^{3+/2+}$ = íon ferro de valência mista, em sítios octaédricos; Fe^{3+} íon ferro em sítios tetraédricos; $\bar{\delta}/\alpha Fe$ = deslocamento isomérico, médio relativo ao αFe; B_{hf}^{max} = campo hiperfino na probabilidade máxima e RA = área subespectral relativa. Os valores entre parênteses são incertezas experimentais, dadas pelo desvio padrão resultante do procedimento numérico dos mínimos quadrados, expressos como variação do último algarismo significativo do valor correspondente do parâmetro.....	49
Tabela 3.4 – Estimativa do tamanho médio (<i>D</i>) das partículas – (SPR) K_e (25 nm) = 5×10^4.....	51
Tabela 3.5 – Magnetização de saturação das amostras de magnetita e magnetita revestida com sílica.....	52
Tabela 3.6 – Bandas de absorção da Sílica.....	54

Tabela 4.1 Expoente de liberação (n) e o mecanismo de liberação controlada correspondente.....	75
Tabela 4.2 Coeficiente de correlação obtido para cada modelo matemático aplicado para as amostras MagSiT, MagSiH e MagSiP.....	75
Tabela 4.3 Valores do expoente de liberação e constante cinética K obtidos aplicando o modelo matemático de Korsmeyer-Peppas às amostras MagSiT, MagSiH e MagSiP.....	76

Capítulo 1 - Introdução

1.1 - Introdução

As nanopartículas magnéticas têm sido alvo de extensivas e em muitos aspectos, também intensivas investigações estimuladas por suas potenciais aplicações em diferentes campos tecnológicos, particularmente em biomedicina e bioengenharia; em tratamentos por magnetohipertermia, carregamento de droga magneticamente assistido, purificação biomacromolecular, biosensores e melhoria na qualidade das imagens por ressonância magnética nuclear. A magnetita nanoparticulada é particularmente interessante para estes propósitos porque ela apresenta comportamento superparamagnético, magnetização de saturação e susceptibilidade magnéticas relativamente altas, biocompatibilidade, além de ser menos sensível à oxidação que outros metais de transição magnéticos como cobalto, ferro e níquel. Entretanto, a magnetita nanoparticulada tende a se agregar em grandes “clusters” devido à atração anisotrópica dipolar, perdendo suas propriedades específicas associadas às estruturas de monodomínio magnético. As dimensões reduzidas aumentam a reatividade destas partículas que podem sofrer rápida degradação em ambientes biológicos (Berry and Curtis, 2003).

Para aplicações *in-vivo*, é importante envolver as nanopartículas com uma camada não magnética, prevenindo a agregação e a sedimentação, além de permitir a funcionalização para aplicações específicas e a redução a toxidez. O mais interessante revestimento inorgânico, levando em conta seu custo relativamente baixo e sua grande disponibilidade é a sílica. Na superfície de nanopartículas magnéticas, a sílica tende a favorecer a dispersão das partículas em meio líquido, tornar a superfície quimicamente funcional, reduzir

a toxidez, além de tornar as nanopartículas mais estáveis em relação à oxidação. A sílica apresenta em sua superfície grupos silanois que podem se ligar covalentemente com ligantes específicos de interesse para determinadas aplicações biomédicas.

Dentre as várias aplicações das nanopartículas magnéticas uma que se destaca é o transporte de fármacos. Estes materiais podem ser guiados ou localizados em um alvo específico por campos magnéticos externos. O carregamento de drogas por sistemas nanoparticulados é considerado uma técnica valiosa para otimizar a liberação controlada de drogas. Este trabalho é motivado pelas inúmeras vantagens da aplicação de sistemas de transporte de fármacos que utilizam nanopartículas magnéticas funcionalizadas, quando comparados a outros sistemas de dosagem convencional. É um trabalho inicial, visando elucidar os mecanismos de liberação dos fármacos na presença de partículas magnéticas.

Objetivos

O presente projeto de mestrado visa à busca de um sistema de liberação de fármacos em partículas com núcleo de magnetita e revestidas com sílica.

Os objetivos específicos incluem:

- Sintetizar a magnetita nanoparticulada com alta magnetização de saturação.
- Revestir a magnetita nanoparticulada com sílica sem provocar oxidação durante o processo de revestimento e ainda obter a melhor magnetização de saturação para este material.

- Incorporar os fármacos paclitaxel, succinato sódico de hidrocortizona e cloridrato de tetraciclina na magnetita revestida com sílica.
- Estudar o perfil da liberação controlada destes fármacos.

1.2 – Revisão bibliográfica

1.2.1 - Magnetismo

As propriedades magnéticas dos materiais devem-se ao movimento de partículas carregadas eletricamente. É um fenômeno que ocorre tanto para cargas movendo em um fio quanto para elétrons girando em torno do núcleo de um átomo. A existência do momento magnético em átomos, moléculas e sólidos é explicada por análises da estrutura eletrônica do material. Os movimentos dos elétrons que explicam o momento magnético são o movimento do elétron em torno do núcleo, dado pelo momento angular orbital e o movimento do elétron em torno do próprio eixo, dado pelo momento de spin dos elétrons. O spin é uma propriedade quântica apresentando orientação em duas direções, spin up (\uparrow) e spin down (\downarrow) (Cullity, 1972).

Termos magnéticos

Quando um material magnético é colocado em campo de intensidade H a resposta dos momentos magnéticos atômicos é dada pela indução magnética B .

$$B = H + 4\pi M \quad (1.1)$$

Onde M é a magnetização do material definida como a densidade da rede de momentos de dipolo magnéticos, equação (1.2).

$$M = \frac{\mu_{total}}{V} \quad (1.2)$$

Outras propriedades magnéticas importantes são a susceptibilidade e a permeabilidade magnética. A susceptibilidade magnética, (κ), é a medida da efetividade com que um campo magnético externo induz o dipolo magnético no material. A permeabilidade magnética é razão entre a indução magnética e a intensidade do campo magnético.

$$\kappa = \frac{M}{H} \qquad \mu = \frac{B}{H} \qquad (1.3)$$

Os materiais podem se classificados em termos da susceptibilidade magnética, (κ) que dá a magnetização de saturação em termos do campo H, equação (1.3). Materiais com valores de susceptibilidade magnética entre 10^{-6} e 10^{-3} , são classificados como diamagnéticos e aqueles com (κ) entre 10^{-6} e 10^{-1} são materiais paramagnéticos. Estes materiais apresentam resposta magnética fraca e somente na presença de campo. Já outros materiais podem exibir magnetismo na ausência do campo magnético externo sendo classificados como ferromagnéticos, ferrimagnéticos ou antiferromagnéticos (Ribeiro, 2000; Cullity, 1972).

Fases Magnéticas

Os materiais apresentam diferentes tipos de comportamentos magnéticos e são classificados de acordo com a resposta que apresentam diante da aplicação de um campo magnético externo. Os principais tipos de magnetismo são o diamagnetismo, o paramagnetismo, o ferromagnetismo, antiferromagnetismo e o ferrimagnetismo.

O diamagnetismo é uma forma muito fraca de magnetismo, sendo observada somente na presença de um campo magnético externo. Os átomos de

materiais diamagnéticos apresentam subníveis eletrônicos completos nos quais os momentos estão emparelhados e se cancelam, portanto não possuem magnetização. Quando materiais diamagnéticos são submetidos a um campo, os momentos de dipolo magnético dos átomos alinham-se no sentido contrário ao do campo aplicado o que faz com que valores de susceptibilidade magnética sejam negativos e pequenos.

Os outros comportamentos magnéticos são atribuídos à presença de elétrons não emparelhados nos níveis eletrônicos. Os materiais paramagnéticos são constituídos de átomos que possuem momentos magnéticos intrínsecos que não interagem entre si. Os momentos magnéticos encontram-se orientados aleatoriamente não havendo uma magnetização macroscópica líquida ou global, porém a aplicação de um campo magnético externo provoca o alinhamento dos dipolos na direção do campo. Como consequência o campo de indução é somado ao campo aplicado fazendo com que esses materiais apresentem valores de susceptibilidade magnética positivos, pequenos e dependentes da temperatura (Earnshaw, 1968).

Materiais ferromagnéticos apresentam momentos atômicos magnéticos alinhados e sua estrutura cristalina permite interações de acoplamento entre os momentos. Na presença de campo externo os dipolos magnéticos alinham na direção do campo aplicado, exibindo altos valores positivos de susceptibilidade magnética. A magnetização em materiais ferromagnéticos varia com a temperatura entre um valor máximo à $T = 0K$ até o valor zero na temperatura denominada T_C , temperatura de Curie ferromagnética. Acima desta temperatura os materiais ferromagnéticos tornam-se paramagnéticos. Outra importante característica de materiais ferromagnéticos é a presença de

domínios magnéticos que são pequenas regiões orientadas ao acaso umas em relação às outras nas quais os momentos de dipolo encontram-se alinhados em uma mesma direção.

O antiferromagnetismo ocorre quando os materiais têm momentos magnéticos alinhados em direções opostas, levando a uma magnetização nula. Quando expostos a um campo magnético externo os momentos alinham-se na direção do campo apresentando valores reduzidos e positivos de susceptibilidade magnética. Porém acima da temperatura de Néel o alinhamento antiparalelo desaparece e o material passa a exibir um comportamento paramagnético. O ferrimagnetismo é exibido por materiais que tem momentos magnéticos alinhados antiparalelamente e com diferentes magnitudes. Apresentam altos valores positivos de susceptibilidade magnética na presença de um campo magnético externo (Cullity, 1972).

1.2.2 - Propriedades magnéticas de nanopartículas

Domínios Magnéticos

As nanopartículas magnéticas apresentam pequenas regiões de magnetização uniforme que minimizam a energia magnetostática do material, denominadas domínios magnéticos (Guimarães, 2000). Os materiais podem ser monodomínios ou multidomínios. Para partículas multidomínios, existem regiões de fronteira entre os domínios nas quais a orientação destes varia gradualmente, diminuindo a energia mínima necessária para manter esta configuração, estas regiões são chamadas de paredes do domínio (Earnshaw, 1968).

Quando as partículas têm dimensões na faixa de 10 a 100 nm, a existência de somente um domínio é favorecida, pois a energia para produzir paredes de domínios torna-se maior que a redução da energia magnetostática. Para estes materiais, a magnetização de saturação é alcançada com menores campos magnéticos que para materiais macroscópicos análogos. A reversão da magnetização é dependente da rotação coerente dos momentos magnéticos o que resulta em uma grande coercividade. Os materiais monodomínios têm grande coercividade devido às anisotropias magnetocristalina, de forma para as partículas não esféricas, e também devido ao tamanho das partículas. Quanto menor o tamanho da partícula, menor será a sua coercividade (Earnshaw, 1968; Guimarães, 2000).

O processo de magnetização pode ocorrer pelo deslocamento das paredes de domínios ou por rotação dos momentos magnéticos dentro de cada domínio.

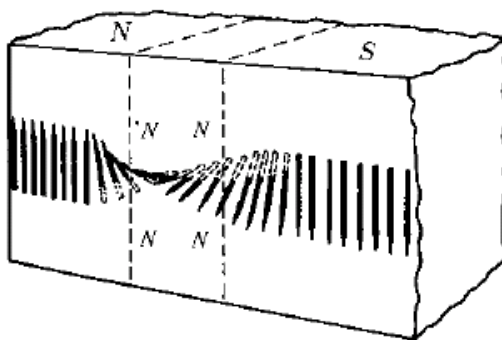


Figura 1.1: Representação da parede do domínio (Earnshaw, 1968)

Curva de histerese

A curva de histerese resume as propriedades magnéticas de materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos. Os spins paralelos desses materiais estão randomicamente orientados por todo o material e se cancelam, resultando em uma magnetização mínima ou nula. Aplicando-se um campo magnético externo

H suficientemente grande, os momentos magnéticos em cada domínio giram até se alinharem na direção do campo aplicado. A magnetização aumenta até atingir um valor máximo que é a magnetização de saturação (M_s). A figura 1.2 mostra uma curva de histerese.

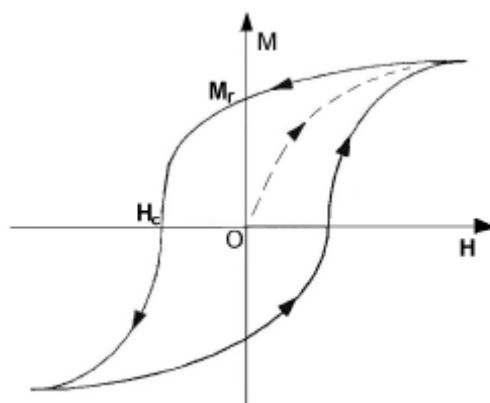


Figura 1.2: Curva de histerese magnética (Ribeiro, 2000)

Quando o campo magnético é reduzido, a magnetização diminui, porém se a curva de desmagnetização não acompanha a curva de magnetização inicial o material apresenta histerese. Diminuindo o campo a partir do valor de magnetização de saturação, obtém-se um valor residual de magnetização, magnetização remanente M_r , para o campo magnético nulo $H = 0$. Aplicando o campo no sentido contrário, a magnetização é reduzida a zero sendo o campo necessário para se atingir esse valor de magnetização denominado campo coercivo H_c . Variando novamente o módulo, chega-se a uma região de saturação e repetindo-se o ciclo no sentido inverso obtém-se a curva fechada, que é o ciclo de histerese.

Os processos envolvidos na varredura de M em função de H são os movimentos das paredes de domínios e a rotação dos momentos. Os movimentos das paredes ocorrem através do aumento das regiões que têm as

direções de magnetização alinhadas com o campo magnético aplicado. Quando este mecanismo não é mais possível ocorre rotação dos momentos magnéticos que se alinham com o campo aplicado. (Ribeiro, 2000)

A forma da curva é determinada, em parte, pelo tamanho da partícula. Para partículas grandes, multidomínios, a energia necessária para mover as paredes de domínio é pequena, o que faz com que a curva histerese seja estreita. Já as partículas pequenas, monodomínio, necessitam de uma energia mais alta para girar os momentos na direção do campo aplicado, portanto exibem uma curva de histerese larga (Cullity, 1972)

Anisotropia magnética

A anisotropia magnética define o alinhamento dos momentos magnéticos em uma direção preferencial. Para um sistema uniaxial a energia necessária para promover o alinhamento é definida pela equação (1.4).

$$E_a = K \sin^2 \theta \quad (1.4)$$

Onde K é a constante de energia de anisotropia magnética e θ o ângulo entre M_s e o eixo de fácil magnetização.

Para partículas monodomínios a anisotropia magnética está relacionada com a medida da dificuldade de reverter a direção de magnetização. Os três tipos mais importantes de anisotropia para os materiais granulados são a anisotropia cristalina, a anisotropia de forma e a anisotropia de tensão. Existem outras formas de anisotropia, porém somente a anisotropia cristalina é intrínseca do material sendo as outras induzidas ou extrínsecas (Guimarães, 2000).

Superparamagnetismo

As nanopartículas magnéticas apresentam uma propriedade exclusiva, o superparamagnetismo. Este termo refere-se à influência das flutuações térmicas sobre o momento magnético quando as nanopartículas monodomínio tem um diâmetro menor que o chamado diâmetro crítico, D_c . Nesta faixa de tamanho a energia associada à anisotropia diminui até que a energia térmica seja suficiente para superar a orientação preferencial do momento da partícula. Uma partícula superparamagnética alcança o equilíbrio de magnetização a temperaturas experimentais em um período de tempo relativamente curto.

A competição entre as energias térmica e magnética determina o estado no qual o material se encontra que pode ser o estado superparamagnético ou o estado bloqueado. Abaixo da temperatura de bloqueio T_B os momentos magnéticos encontram-se bloqueados. Acima de T_B , o material sai do estado bloqueado e pode comportar-se como um paramagneto devido ao alinhamento do momento em uma direção cristalográfica.

Nas partículas superparamagnéticas os momentos magnéticos atômicos estão alinhados paralelamente numa só direção não há histerese, assim a magnetização residual (M_r) e o campo coercivo (H_c) são nulos (figura 1.3). Estes materiais têm susceptibilidade magnética entre a dos materiais ferromagnéticos e paramagnéticos e seu comportamento pode ser afetado por fatores anisotrópicos (Cullity, 1972; Earnshaw, 1968; Pankhurst et al., 2003).

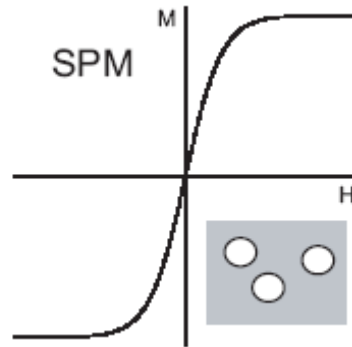


Figura 1.3: Curva de histerese magnética de um material superparamagnético (Pankhurst et al., 2003).

Relaxações magnéticas

Em presença de um campo magnético externo, os momentos das partículas superparamagnéticas alinham-se na direção do campo, quando este campo é removido. A frequência de reversão do modo termicamente ativado é dada pela equação (2.2.5).

$$f = f_0 e^{-E/KT} \quad (1.5)$$

Sendo f_0 a frequência de tentativa que é aproximadamente 10^9s^{-1} . A frequência f é a taxa com que as partículas aproximam-se do equilíbrio térmico. Para o tempo de relaxação de aproximadamente 100 segundos a barreira de energia para equilíbrios térmicos é:

$$\Delta E = \ln(tf_0)kT = 25kT \quad (1.6)$$

O superparamagnetismo é observado em partículas com anisotropia uniaxial que exibem coercividade igual a zero, sendo dada pela equação:

$$KV = 25kT \quad (1.7)$$

Sendo K a constante de energia da anisotropia magnética efetiva, V o volume da partícula e kT a energia térmica.

Partículas com tempos de relaxação maiores que 100 segundos ou com diâmetros maiores que os valores críticos são partículas bloqueadas. A temperatura de bloqueio T_B do material é dada por:

$$T_B = \frac{KV}{25k} \quad (1.8)$$

Abaixo de T_B a anisotropia da partícula bloqueia o movimento livre do momento magnético. Acima de T_B o momento é livre para alinhar na direção do campo magnético externo aplicado e a partícula se torna superparamagnética.

Aplicando um campo em uma temperatura T , assumindo que os momentos das partículas alcançam um nível de equilíbrio térmico, existirá uma distribuição de Boltzman dos momentos alinhados na direção do campo aplicado. Esta relação é o caso clássico para o paramagnetismo, onde a orientação é dada pela função de Langevin, equação (1.9).

$$m_{av} = m(\coth \alpha - 1/\alpha) \quad (1.9)$$

Onde $\alpha = mH / kT$ m_{av} é o momento magnético médio, k é a constante de Boltzman e T é a temperatura absoluta. A diferença é que para o caso paramagnético o momento é de um átomo, e no caso descrito, o momento considerado é de uma partícula monodomínio que contém mais que 10^5 átomos acoplados ferro ou ferrimagneticamente.

O tempo de relaxação em relação ao tempo experimental é fator determinante do superparamagnetismo das partículas. A natureza superparamagnética das partículas é derivada da randomização dos spins alinhados governadas pelo

movimento Browniano e rotação de Néel, quando o gradiente do campo é removido. O tempo de relaxação do movimento Browniano é dado pela equação (1.10).

$$\tau_B = \frac{3V'\eta}{kT} \quad (1.10)$$

Onde V' é o volume hidrodinâmico da partícula, η é a viscosidade dinâmica, k é a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta. A relaxação de Néel atribuída a rotação do vetor magnetização na partícula com tempo de relaxação é mostrada na equação (2.11).

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{kT}\right) \quad (1.11)$$

Sendo $\Delta E = KV(1-h)^2$. Onde τ_0 é estimado como 10^{-9} s, ΔE a energia de ativação assumindo uma interação uniaxial não interagente entre as partículas, $h = H/H_k$ é o campo magnético reduzido e H_k o campo magnético interno devido à anisotropia. As condições experimentais que mostram que o material é superparamagnético são o tempo de relaxação mais rápido que o tempo de medida, aproximadamente 100 s e a ausência de histerese. (Cullity, 1972; Panhkusrt et al., 2003)

Influência do tamanho da partícula na magnetização

Vários estudos permitem verificar que a magnetização, em materiais nanoparticulados, é menor que aquela obtida para os respectivos materiais macroscópicos. Um exemplo é a magnetita nanoparticulada que apresenta magnetização de saturação entre 30-60 emu/g, enquanto que o material macroscópico tem a magnetização maior que 92 emu/g. Foram propostos

alguns modelos para explicar a relação entre o comportamento das nanopartículas que consideram a dependência da magnetização com a região superficial das partículas, onde os spins estão ordenados aleatoriamente.

De acordo com estes estudos, a superfície das partículas é desordenada devido à presença de vacâncias, ligações rompidas e à anisotropia com intensidade e direção definida para cada sítio. Em materiais macroscópicos este efeito não é tão pronunciado, porém com a redução do tamanho das partículas, a relação área/volume aumenta significativamente tornando os momentos magnéticos das camadas superficiais tão importantes quanto os momentos ordenados do interior da partícula (Coey, 1971; Kodama et al., 1996).

Morales et al. realizaram estudos sobre as propriedades magnéticas das nanopartículas de óxido de ferro obtidas por diferentes métodos de síntese por meio de medidas de difração de raios X, microscopia de transmissão eletrônica e magnetometria de amostra vibrante. Os resultados obtidos sugerem que a relação entre a magnetização de saturação e o tamanho da partícula é linear e os desvios dessa linearidade são observados para partículas de natureza amorfa. Neste estudo, os defeitos na superfície das partículas e a ordem-desordem estrutural também são considerados como responsáveis pelas alterações observadas nas propriedades magnéticas (Morales et al., 1999).

Outras teorias propõem a existência de fronteiras não magnéticas entre os cristalitos. Sato et al. afirmam que a redução da magnetização é provocada pela presença de camadas magneticamente mortas com espessura de aproximadamente 1 nm, que apresentam menor constante de anisotropia magnetocristalina devido à superfície assimétrica dos átomos. Berkowitz and

Schuele observaram uma relação linear entre a redução do tamanho e da magnetização, e também explicam este fato pela presença das fronteiras não magnéticas entre os cristalitos (Sato et al., 1987; Berkowitz and Schuele, 1968).

Existem várias teorias e interpretações experimentais sobre as causas da redução da magnetização com a redução do tamanho das partículas, porém elas são ainda contestáveis exigindo estudos mais aprofundados.

1.2.3 - Ferritas

Os óxidos de ferro aparecem com variadas composições químicas e diferentes propriedades magnéticas. As ferritas são óxidos de ferro ferrimagnéticos que exibem magnetização espontânea, porém com resposta magnética menor que a dos materiais ferromagnéticos, como os metais de transição. São divididas cristalograficamente em dois grupos principais; cúbico e hexagonal e sua fórmula molecular é do tipo $MO.Fe_2O_3$, onde M é um metal no estado de oxidação 2^+ , podendo ser Mn, Co, Ni, Cu ou Fe.

São materiais que despertam um grande interesse para a aplicação em diversas áreas, inclusive nas áreas biológicas e biomédicas que exigem maior estabilidade e menor toxidez do material, características estas exibidas por grande parte das ferritas, principalmente magnetita e maghemita. Neste trabalho será enfatizado o estudo da magnetita (Pankhurst et al., 2003; Valenzuela, 1994).

Magnetita

Propriedades magnéticas e cristalinas

A magnetita é um óxido de ferro magnético de valência mista com estrutura cúbica de espinélio inverso, sua fórmula química é melhor representada por $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$.

A estrutura do tipo espinélio tem fórmula geral dada por $(\text{A})[\text{B}]_2\text{O}_4$. Cada célula unitária é constituída pela fórmula $\text{A}_8\text{B}_{12}\text{O}_{32}$ e apresenta os íons oxigênio regularmente distribuídos em posições cúbicas ao longo do eixo $[111]$. Os cátions divalentes, no caso da magnetita Fe^{2+} , e os cátions Fe^{3+} ocupam os espaços entre os íons oxigênio, sendo estes espaços de dois tipos, os sítios tetraédricos e os octaédricos. O sítio tetraédrico ou sítio (A) é assim chamado porque o cátion encontra-se no centro do tetraedro que tem como vértices os íons oxigênio. O sítio octaédrico tem os oxigênios ocupando os vértices de um octaedro e os cátions ocupando os espaços entre eles. A magnetita apresenta metade dos íons Fe^{3+} coordenados tetraedricamente, a outra metade ocupa os sítios octaédricos juntamente com os íons Fe^{2+} .

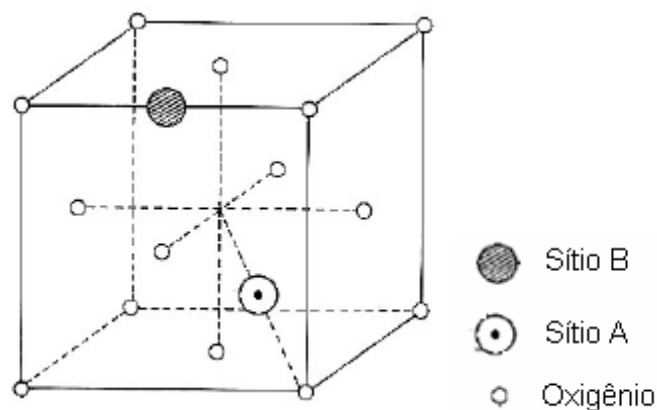


Figura 1.4: Representação da estrutura cristalina da magnetita. (Treble and Craick, 1969; Harris, 2002)

A magnetita exibe magnetização espontânea devido a sua estrutura de espinélio inverso. Existe uma forte interação de intercâmbio entre os cátions

tetraédricos e octaédricos devido à geometria dos orbitais envolvidos, que podem ser interações do tipo A-O-B ou interações B-O-B. Interações do tipo A-O-B com ângulos próximos de 135° são dominantes na estrutura de espinélio inverso, levando a uma magnetização de saturação, na temperatura 0K. Esta magnetização depende somente dos íons Fe^{2+} , já que os spins dos cátions Fe^{3+} coordenados octaedricamente se cancelam com os spins do Fe^{3+} do sítio tetraédrico por serem antiparalelos.

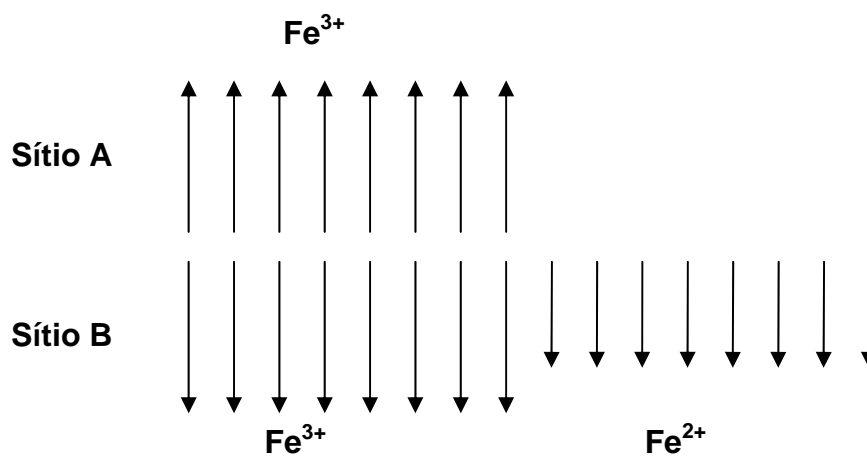


Figura 1.5: Representação dos spins da magnetita (Harris, 2002)

Cada elétron desemparelhado dos íons Fe^{2+} produz um momento magnético, medido como magnéton Bohr e para transformá-los em magnetização de saturação em unidades A/m, é usada a equação 1.12.

$$M_s = \frac{8n\mu_B}{V} \quad (1.12)$$

Onde n é o número de momentos magnéticos por unidade e V é o volume da célula unitária.

O eixo fácil de magnetização é a extremidade do cubo. A constante de anisotropia cristalina K é $1,4 \times 10^5 \text{ erg/cm}^3$ e o tamanho crítico da partícula

abaixo do qual ela apresenta superparamagnetismo, estimado de $KV \sim 25kT$, é aproximadamente 25 nm, tamanho menor que 128 nm que é o tamanho obtido para o monodomínio (Pankhurst et al., 2003; Valenzuela, 1994).

Algumas constantes importantes da magnetita relacionadas com suas propriedades magnéticas e cristalinas são mostradas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1: Propriedades físicas da magnetita

Parâmetro de rede (a)	8,393 – 8,3963 Å
Magnetização de saturação (M_s)	92 emu/g
Constantes de anisotropia magnetocristalina a 300 K	$K_1 = -1,35 \times 10^5 \text{ erg/cm}^3$ $K_2 = -0,44 \times 10^5 \text{ erg/cm}^3$
Temperatura de Curie (θ_C)	847 K

Superfície química da magnetita

A superfície da magnetita tem átomos de ferro que não estão ligados aos átomos de oxigênio e podem agir como ácidos de Lewis coordenando as moléculas que podem doar par de elétrons (bases de Lewis). Em sistemas aquosos, os átomos de ferro coordenam-se com moléculas de água, que se dissociam deixando a superfície do óxido de ferro funcionalizada com grupos hidroxila, que podem reagir com ácidos ou bases devido seu caráter anfótero.

A superfície da magnetita pode ser positiva ou negativa em dispersões aquosas dependendo do pH da solução. O pH no qual a superfície tem o mesmo número de cargas positivas e negativas é o chamado ponto isoelétrico, que é 6.8, para a magnetita.

A magnetita nanoparticulada pode ser estabilizada por estabilização estérica ou por modificação do ponto isoelétrico com revestimentos diversos como, por

exemplo, a sílica. A estabilização é necessária para a obtenção de ferrofluidos estáveis contra agregação na presença de campo magnético. (Harris, 2002).

1.2.4 - Métodos de síntese de magnetita nanoparticulada

A síntese de nanopartículas magnéticas com propriedades magnéticas desejadas, tamanho e forma controlados tem sido um desafio científico e tecnológico. Vários métodos foram desenvolvidos incluindo procedimentos bastante elaborados como *gas-condensation* e *aerosol reduction* (Laurent et al., 2008). Porém estes métodos não permitem um controle das propriedades morfológicas e melhores resultados são obtidos por rotas sintéticas úmidas. Estas rotas incluem síntese por microemulsão, síntese pelo método sol-gel, reações hidrotérmicas e coprecipitação. O método de síntese mais utilizado é a coprecipitação de sais de ferro divalentes e trivalentes em presença de base forte devido à simplicidade e eficiência da técnica (Laurent et al., 2008; Gupta and Gupta, 2005).

Importantes propriedades magnéticas das nanopartículas que influenciam bastante no seu comportamento e definem sua aplicação são diretamente afetadas por alguns parâmetros das nanopartículas como o tamanho, a morfologia e uniformidade dos grãos que devem ser controlados durante a síntese. A determinação de condições experimentais que levem a obtenção de partículas com um controle dos parâmetros citados não é tão simples e tem sido um desafio para a pesquisa de nanopartículas magnéticas (Gupta and Gupta, 2005).

O método de coprecipitação será mais bem discutido, já que foi utilizado para realizar a síntese de nanopartículas magnéticas no presente trabalho.

Método de coprecipitação

A síntese por coprecipitação consiste basicamente da mistura de sais de ferro em solução aquosa e posterior precipitação com hidróxido. É um método bastante simples e eficiente para obter partículas com um largo espectro de tamanho de 5-180 nm (Sato et al., 1987).

O processo de coprecipitação apresenta um grande número de vantagens como homogeneidade química, baixas temperaturas de reação e sinterização, obtenção de partículas finas, produtos com boa reatividade e uniformidade, pouca aglomeração, tempo de reação relativamente pequeno, baixo custo, possibilidade de processamento em grande escala, além da possibilidade de obtenção de uma grande quantidade de partículas (Gupta and Gupta, 2005; Tarat et al., 2005).

O crescimento do cristal é determinado por fatores cinéticos que dificultam o controle da distribuição de tamanho. O processo ocorre em duas etapas: a nucleação e o subsequente crescimento das partículas. A nucleação é um processo rápido que ocorre quando a concentração dos íons alcança uma supersaturação crítica. Posteriormente, ocorre o crescimento lento dos núcleos por difusão na superfície dos cristais. As taxas relativas de nucleação e crescimento das partículas controlam o tamanho e a polidispersão das partículas. Quando o processo de nucleação predomina são obtidas partículas pequenas em grande quantidade, porém, se o processo de crescimento for predominante, será obtido um pequeno número de partículas com grande tamanho (Laurent et al., 2008).

Propriedades como natureza, homogeneidade, tamanho, comportamento magnético e energia superficial das partículas são afetadas pelas condições

nas quais as partículas são formadas, sendo necessário o controle de alguns parâmetros da síntese. Estes parâmetros incluem o pH final da solução de precipitação, força iônica do meio, ordem de adição dos reagentes, concentração e razão molar dos íons, temperaturas de precipitação e velocidade de agitação (Gupta and Gupta, 2005; Laurent et al., 2008).

A obtenção de magnetita com alto grau de pureza é diretamente influenciada pela razão estequiométrica dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} . A fórmula da magnetita $FeO.Fe_2O_3$ mostra que são necessários 2 mols de íons Fe^{3+} para cada mol de íon Fe^{2+} , porém a alta instabilidade dos íons Fe^{2+} diminui a concentração deste durante o processo de síntese. Jolivet et al. estudaram a influência da razão Fe^{2+} / Fe^{3+} obtiveram magnetita estequiométrica com partículas homogêneas em tamanho e composição quando esta razão foi igual a 0,5. Quando esta razão citou-se em torno de 0,3 foram obtidas duas fases distintas uma de oxihidróxido e outra constituída de magnetita não estequiométrica. Já pequenos valores da razão Fe^{2+} / Fe^{3+} levaram a formação de goetita (Jolivet et al., 1992). Alguns autores sugerem o uso de uma quantidade maior de Fe^{2+} para manter a estequiometria final. Quando síntese é realizada em meio livre de oxigênio, melhores resultados são obtidos mantendo a razão dos íons $Fe^{2+} / Fe^{3+} = 0,5$ (Harris, 2002).

Estudos realizados por Qu, sugerem que o aumento da força iônica do meio diminui o tamanho da partícula e como conseqüência há também uma redução da magnetização de saturação. A relação entre a força iônica e o processo de síntese da magnetita ainda não é muito bem definida, já que muitos outros

estudos mostram que não há alterações no produto final quando força iônica é alterada (Laurent et al., 2008).

A velocidade de agitação e a ordem de adição dos reagentes também influenciam as propriedades do produto obtido. A agitação deve ser rápida para que partículas com menores diâmetros sejam obtidas (Babes et al., 1999; Laurent et al., 2008).

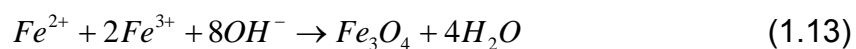
A ordem de adição dos reagentes é outro fator que influencia a síntese de nanopartículas. Estudos mostram que a base deve ser adicionada a uma solução que contém os íons férrico e ferroso até que a solução atinja pH entre 9 e 14. A taxa de adição deve ser rápida, entre 1s e 2s para impedir que sejam criadas regiões não homogêneas e de espécies de óxido de ferro hidratadas, levando a obtenção de óxidos de ferro não magnéticos. A relação do produto obtido com a concentração dos íons na solução inicial ainda não é muito bem definida, porém alguns estudos mostram que uma concentração muito alta dos reagentes impede que a água participe da hidrólise, limitando a mobilidade dos íons ferro e, como consequência, limitando também a policondensação das partículas (Babes et al., 1999).

As propriedades magnéticas e cristalinas do produto da síntese são influenciadas pela natureza da base utilizada, porém a concentração da base não influencia significativamente as propriedades do produto, como sugerido em alguns estudos. Óxidos de ferro não magnéticos são formados quando bases muito fortes são utilizadas, como hidróxido de potássio e hidróxido de sódio. A magnetização de saturação é maior quando é utilizado o hidróxido de amônio se comparada com a magnetização de saturação das magnetitas obtidas em sínteses com hidróxido de potássio ou hidróxido de sódio. De

acordo com Gribanov et al. as bases fortes levam a mistura a um pH ~ 14, criando complexos de ferro hidratados que não são capazes de formar magnetita. A faixa de pH ideal para produzir óxidos de ferro magnéticos está entre 8,5 e 10 (Gribanov et al., 1999).

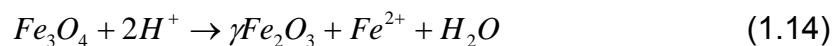
O efeito da temperatura sobre a formação da magnetita está fundamentado na teoria da nucleação e crescimento das partículas. Alguns trabalhos investigam a influência da temperatura no tempo de formação das partículas e mostram que altas temperaturas levam à formação mais rápida das espécies magnéticas. A temperatura usada na síntese não pode ser maior que 343 K, uma vez que acima desta temperatura a formação de magnetita fica prejudicada, obtendo-se produtos com menor grau de pureza. (Sun and Zeng, 2002; Laurent et al., 2008).

A formação da magnetita pode ser descrita pela equação (1.13).



A precipitação completa ocorre em pH entre 8 e 14, com razão molar $Fe^{2+}/Fe^{3+} = 0,5$, em ambiente não oxidante. Em presença de oxigênio a magnetita pode sofrer oxidação sendo transformada em maghemita.

Além da oxidação em meio oxidante, outros mecanismos podem ser responsáveis pela transformação de magnetita em maghemita. Processos de transferência de íons ou elétrons dependentes do pH da suspensão estão envolvidos na oxidação da magnetita. Em meios ácidos e anaeróbicos os íons Fe^{2+} da superfície das partículas são desorvidos, formando complexos hexa-aqua em solução. Em meio básico a oxidação da magnetita envolve a oxidação-redução da superfície (Gupta and Gupta, 2005; Laurent et al., 2008).



Alguns métodos alternativos de coprecipitação também têm sido explorados na busca de melhorias das propriedades das nanopartículas. Um dos métodos consiste da preparação de solução aquosa de íons ferrosos que são parcialmente oxidados por diferentes tipos de agentes oxidantes. Usando este método foram obtidas partículas esféricas com diâmetro entre 30 e 100 nm a partir de íons Fe(II), hidróxido e íons nitrato como agente oxidante (Sugimoto and Matijevic, 1980).

Outra variação do método de coprecipitação é obtida utilizando soluções de íons Fe^{3+} e agentes redutores. Partículas com tamanho médio de 10 nm puderam ser preparadas através deste método, utilizando soluções de cloreto férrico e sulfito de sódio com em meio básico (Qui et al., 1999).

1.2.5 Revestimentos

Os materiais utilizados para revestir a superfície das nanopartículas de óxido de ferro com função de evitar a agregação e sedimentação das partículas, bem como conceder a elas propriedades superficiais para aplicações específicas, incluem estabilizadores monoméricos e poliméricos e também certos materiais inorgânicos.

Os estabilizadores monoméricos mais utilizados compreendem moléculas que apresentam grupos funcionais como carboxilatos, fosfatos e sulfatos. Já os revestimentos poliméricos mais comuns na literatura são dextran, polietileno glicol, álcool polivinílico, quitosano entre outros (Laurent et al., 2008; Faraji and Wipf, 2009).

Materiais cerâmicos, como sílica, e metálicos, como ouro e gadolínio, têm sido investigados como revestimentos para nanopartículas magnéticas. Estes revestimentos permitem a ligação de ligantes biológico à superfície das nanopartículas, além de estabilizarem as partículas em solução. (Gupta and Gupta, 2005; Faraji and Wipf, 2009).

Sílica

O mais interessante revestimento inorgânico, levando-se em conta seu custo relativamente baixo e sua grande disponibilidade, é a sílica. Na superfície de nanopartículas magnéticas, a sílica tende a favorecer a dispersão das partículas em meio líquido, tornar a superfície quimicamente funcional, reduzir a toxicidade, além de deixar as nanopartículas mais estáveis em relação à oxidação. A sílica apresenta em sua superfície grupos silanóis que podem se ligar covalentemente com ligantes específicos de interesse para aplicações biomédicas (Berry and Curtis, 2003).

A estabilização da magnetita pela sílica ocorre de duas formas; redução das interações dipolo-magnético entre as partículas e aumento da repulsão coulombiana. No primeiro caso a sílica cria uma camada na superfície da magnetita protegendo-a das interações dipolo-magnético. O aumento da repulsão coulombiana entre as partículas da magnetita revestidas ocorre porque a superfície da sílica é negativamente carregada (Deng et al., 2005).

A deposição de sílica na superfície das nanopartículas pode ser realizada por diferentes métodos sendo os principais deles o método Stöber, a deposição de ácido silícico em solução ácida e o método de emulsão (Laurent et al., 2008)

No método Stöber a sílica é formada in situ através da hidrólise e condensação de um precursor como o TEOS – tetraetilortosilicato. É um processo que depende da concentração das nanopartículas magnéticas e do tipo de solvente.

O método baseado na deposição de ácido silícico sobre as nanopartículas para a formação de sílica tem sido considerado em alguns estudos como um método mais eficiente de revestimento de uma grande quantidade de magnetita. Permite também um controle maior da espessura do revestimento através da relação entre a quantidade de magnetita e sílica ou ainda por repetição do procedimento.

O último método usa o método das micelas ou micelas reversas para confinar e controlar o revestimento de sílica. Este método envolve uso de surfactantes na emulsão utilizada para promover o revestimento, sendo necessário ao final da síntese um processo de separação para obter somente as partículas revestidas (Laurent et al., 2008).

1.2.6 - Aplicações de Nanopartículas Magnéticas em Diagnóstico e

Tratamento

Carregadores de fármacos

Dentre as várias aplicações das nanopartículas magnéticas uma que se destaca é o transporte de fármacos através da aplicação de um campo magnético que permite direcionar sua localização para um alvo específico.

A utilização de nanopartículas magnéticas como carregadores de fármacos visa a redução de muitos problemas relacionados à administração sistêmica de fármacos. Estes problemas incluem a biodistribuição de fármaco no corpo, a falta de especificidade, a necessidade de grandes doses para alcançar altas

concentrações locais e outros efeitos colaterais derivados de altas doses de fármaco (Berry and Curtis, 2003; Faraji and Wipf, 2009).

São inúmeras as vantagens da utilização do sistema de liberação controlada de fármacos magneticamente direcionada quando comparados a outros de dosagem convencional. As vantagens da utilização destes sistemas incluem a maior eficácia terapêutica, redução significativa da toxidez e maior tempo de permanência na circulação; administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses); direcionamento a alvos específicos; incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas (Laurent et al., 2008; Berry and Curtis, 2003).

O sistema básico para liberação magneticamente direcionada de fármacos consiste de um núcleo magnético revestido por um material biocompatível, no qual a droga encontra-se imobilizada. O núcleo magnético normalmente é um óxido de ferro, como magnetita ou maghemita. O revestimento tem a função de proteger a nanopartícula magnética do meio e acoplar a droga citotóxica ou anticorpos específicos a tal partícula. Este acoplamento pode ocorrer através de ligações da droga com grupos funcionais localizados na superfície do revestimento, ou ainda por imobilização da droga no interior dos poros do material. É necessário que os materiais do revestimento sejam biocompatíveis, sendo comum a utilização de polímeros como PVA ou dextran, além de materiais inorgânicos como a sílica (Laurent et al., 2008).

O complexo droga-carregador, usualmente na forma de ferrofluido biocompatível, é injetado na corrente sanguínea e arrastado até o alvo específico através da aplicação de um campo magnético. A droga concentrada

no alvo é liberada por atividade enzimática ou mudanças nas condições fisiológicas como pH ou temperatura.

Os princípios físicos envolvidos no processo de liberação dependem da força magnética exercida na nanopartícula superparamagnética por um gradiente de campo magnético.

A efetividade do tratamento depende de parâmetros físicos como a força do campo magnético aplicado e propriedades magnéticas das nanopartículas. Parâmetros hidrodinâmicos como a taxa de fluxo de sangue, concentração do ferrofluido, rota de infusão e tempo de circulação também devem ser considerados, já que as partículas são administradas intravenosamente ou intra-arterialmente. Os parâmetros fisiológicos como a profundidade do tecido alvo, força da ligação droga-carregador e volume do tumor também contribuem para uma maior ou menor eficácia do tratamento.

Em geral grandes partículas ou aglomerados de partículas superparamagnéticas, resistem ao fluxo dinâmico dentro do sistema circulatório, principalmente em grandes veias e artérias. As partículas com diâmetros em torno de 200 nm, são facilmente sequestradas pelo fígado e eventualmente removidas por células de fagocitose do sistema e, portanto seu tempo de circulação no sangue será reduzido. Já partículas menores que 10 nm, são rapidamente removidas através de liberação renal. As partículas que têm diâmetros entre 10 e 100 nm são pequenas o suficiente para penetrar pequenos capilares dos tecidos, oferecendo uma distribuição mais efetiva nos tecidos, além de apresentam um maior tempo de circulação no sangue (Pankhurst et al., 2003, Berry and Curtis, 2003).

Hipertermia magnética

Outra importante aplicação das nanopartículas magnéticas é no tratamento de câncer por hipertermia artificialmente induzida. O tratamento consiste na dispersão de partículas magnéticas no tecido doente e aplicação de um campo magnético alternado com intensidade e frequência suficientes para provocar o aquecimento das partículas. Este tratamento está baseado na observação de que células tumorais são menos resistentes ao aumento da temperatura quando comparadas com uma célula saudável. A temperaturas em torno de 41-42°C haverá lise das células tumorais sem haver danos às células normais. Além disso, a hipertermia pode ser aplicada junto com outros tratamentos, como radioterapia e quimioterapia potencializando os efeitos. (Pankhurst et al., 2003, Berry and Curtis, 2003).

O método é baseado no princípio da geração de calor por uma nanopartícula magnética devido à perda de histerese na presença de um campo magnético alternado (Berry and Curtis, 2003)

Para que as nanopartículas sejam utilizadas no tratamento são exigidas algumas propriedades com baixa toxicidade, biocompatibilidade, injetabilidade, alto nível de acumulação no tumor alvo e efetiva absorção de energia do campo magnético alternado (Ito et al., 2005). As nanopartículas mais estudadas para esta aplicação são a magnetita e a maghemita devido às suas propriedades magnéticas adequadas combinadas com a compatibilidade biológica. As partículas menores que 100 nm têm um tamanho suficiente para serem levadas até o local do câncer via encapsulação ou por meio de suspensões. Para permitir uma melhor especificidade as nanopartículas

podem ser acopladas a anticorpos, podendo ser levadas a células individuais e específicas (Laurent et al., 2008).

As partículas utilizadas para o tratamento por hipertermia podem ser ferromagnéticas ou ferrimagnéticas, monodomínio ou multi-domínio ou ainda superparamagnéticas, sendo que cada tipo oferece vantagens e desvantagens em relação ao tratamento e tem diferentes mecanismos de aquecimento (Pankhurst et al., 2003).

O sucesso do tratamento está baseado na escolha de partículas magnéticas com alta capacidade de responder ao campo magnético externo aplicado, além do controle da intensidade e da frequência do campo magnético externo usadas para gerar o calor. O uso de campos magnéticos de altas intensidades e frequências é limitado por provocar respostas danosas ao organismo como a estimulação dos músculos periféricos e esqueléticos, estímulo cardíaco e possível arritmia e também o aquecimento de tecidos não desejados (Pankhurst et al., 2003, Berry and Curtis, 2003).

O método de injeção das nanopartículas também influencia a quantidade de calor gerada durante o tratamento. A injeção intravenosa direcionada por anticorpos não é capaz de provocar um aquecimento tão eficaz no tumor quanto o aquecimento obtido por partículas injetadas diretamente no tecido alvo, já que este método permite que uma maior quantidade de partícula seja localizada no tecido de interesse.

As partículas introduzidas no tumor produzem uma quantidade de calor após aplicação do campo magnético alternado que depende das propriedades magnéticas do material, da intensidade do campo, da frequência de oscilação e da capacidade de aquecimento do fluxo de sangue em torno do tumor.

O calor gerado no tecido é quantificado pela taxa de absorção específica, SAR, equação (1.15), que é a taxa com que a energia eletromagnética é absorvida por unidade de massa do material biológico.

$$SAR = 4,1868P / m_e = C_e \Delta T / \Delta t \quad (1.15)$$

Sendo P é a fonte emissora da onda eletromagnética absorvida pela amostra, m_e a massa da amostra e C_e a capacidade calorífica da amostra. Em materiais superparamagnéticos, o volume do material no tecido determina o calor gerado. Uma relação obtida por Rosensweig, prova que há uma relação entre a SAR do material e sua relaxação magnética (Laurent et al., 2008; Rosensweig, 1987).

Os primeiros experimentos de hipertermia magnética realizados em 1957 por Gilchrist et al. consistiram do aquecimento de amostras de tecidos com partículas de maghemita de 20 – 100nm expostas a campos de 1,2 MHz (Gilchrist et al., 1957).

Um dos desafios deste tipo de tratamento é a obtenção da quantidade adequada de partículas magnéticas que aqueça suficientemente o tecido tumoral, usando-se um campo magnético alternado em condições clinicamente aceitáveis. Alguns estudos sugerem que o controle ideal da aplicação de nanopartículas magnéticas no tecido é obtido usando frequências entre 100 – 1000 KHz. As pesquisas em animais têm mostrado que as condições aplicadas para que o tumor seja destruído não são condições seguras para a aplicação em humanos (Pankhurst et al., 2003, Tarat et al., 2005).

Um tipo de aplicação promissora que pode ser somada à hipertermia, é a liberação de drogas encapsuladas em lipossomas junto com as nanopartículas

magnéticas. A exposição desse sistema a um campo magnético alternado aumentaria a temperatura, podendo provocar a transição de fase da lipossoma que levaria a liberação da droga na área submetida ao campo (Laurent et al., 2008).

O uso de nanopartículas magnéticas em hipertermia é bastante promissor, porém são exigidas melhorias na reprodutibilidade dos experimentos e melhorias no controle de tamanho das partículas durante a síntese.

Contraste para imagem por ressonância magnética

O uso de nanopartículas magnéticas como agente de contraste em ressonância magnética por imagem (MRI) tem sido bastante pesquisado nos últimos anos.

A ressonância magnética por imagem é uma das mais poderosas técnicas de diagnóstico utilizadas atualmente em medicina, sendo inclusive uma técnica não invasiva. É baseada nos princípios da ressonância magnética nuclear. Os prótons hidrogênio alinham e precessam em torno de um campo magnético aplicado B_0 . Quando um pulso de radiofrequência transversa ao campo é aplicado, os prótons sofrem uma perturbação em relação a B_0 e ao retornarem ao estado inicial, emitem radiação eletromagnética que é registrada e convertida em uma imagem. O processo pelo qual os prótons retornam ao seu estado inicial é chamado de fenômeno de relaxação, sendo duas as relaxações sofridas por eles, a relaxação longitudinal e a relaxação transversal (Laurent et al., 2008).

Para B_0 paralelo ao eixo z os sinais de relaxação são dados por:

$$\begin{aligned} m_z &= m(1 - e^{-t/T_1}) \\ m_{x,y} &= m \operatorname{sen}(\omega_0 t + \phi) e^{-t/T_2} \end{aligned} \quad (1.16)$$

Onde T_1 e T_2 são os tempos de relaxação longitudinal e transversal, respectivamente, e ϕ é a constante de fase. A relaxação longitudinal reflete a perda de energia, com aquecimento, do sistema para sua vizinhança, sendo uma medida do acoplamento dipolar dos momentos dos prótons na vizinhança. A relaxação transversal é relativamente rápida e dirigida pela perda da coerência da fase nos prótons precessando devido a sua interação com cada outro e com outros momentos flutuantes no tecido.

A densidade do próton e o tempo de relaxação magnética são responsáveis pela imagem. Cada tecido produz um sinal com diferente intensidade como resposta ao pulso de radiofrequência.

O interesse na aplicação de nanopartículas magnéticas, principalmente os óxidos de ferro, como agentes de contraste tem aumentado nos últimos anos devido às vantagens apresentadas por estes materiais em relação a outros agentes de contraste. O aumento da intensidade do sinal é obtido quando são usadas nanopartículas magnéticas devido à redução dos tempos de relaxação T_1 e T_2 . Este efeito de redução do tempo de relaxação pode ser explicado por dois prováveis mecanismos. O processo de redução de T_1 exige uma interação próxima entre os prótons e agentes T_1 , porém a interação pode ser impedida pela espessura do revestimento da nanopartícula. O efeito na redução de T_2 deve-se à grande diferença de susceptibilidade que existe entre as partículas magnéticas e a vizinhança, levando a um gradiente de campo magnético microscópico. A difusão dos prótons através deste gradiente de campo magnético resulta em uma perda irreversível da coerência de fase, diminuindo o T_2 . Sendo assim os tecidos que contêm óxidos de ferro aparecem na imagem

de MRI relativamente mais escuros que os tecidos vizinhos (Pankhurst et al., 2003).

A aplicação das nanopartículas como agente de contraste requer que as nanopartículas apresentem certas características como biocompatibilidade e superparamagnetismo, além disso, é desejável que não haja agregação entre as partículas.

Para que seja obtida maior biocompatibilidade e menor agregação as partículas podem ser revestidas com materiais inorgânicos como ouro, sílica ou ainda por polímeros biocompatíveis como dextran (Laurent et al., 2008). Uma outra condição importante para que as nanopartículas sejam utilizadas como agentes de contrastes é que estas não apresentem magnetização remanente após a retirada do campo magnético, ou seja as partículas devem ser superparamagnéticas (Pankhurst et al., 2008).

Estas partículas são divididas em dois grupos, de acordo o tempo de meia vida no plasma sanguíneo, o tamanho e a distribuição de tamanho, além do campo de aplicação. Os óxidos de ferro superparamagnéticos, cujas nanopartículas têm tamanhos maiores que 50 nm, incluindo o revestimento são classificados como SPIOs, enquanto que óxidos menores que 50 nm são denominados USPIOs.

As partículas quando injetadas na corrente sanguínea são carregadas pelo sistema reticuloendotelial, uma rede de células que reveste os vasos sanguíneos com a função de remover substâncias estranhas do sangue. O tamanho das partículas influencia diretamente o modo pelo qual estas partículas serão distribuídas nos tecidos. Partículas com tamanhos em torno de

30 nm são reconhecidas pelo fígado e pelo baço, porém as partículas com tamanho abaixo de 10 nm não são reconhecidas por estes órgãos.

O sistema reticuloendotelial das células tumorais é menos efetivo que o das células saudáveis o que faz com que o tempo de relaxação não seja alterado pelo uso de agentes de contraste. Esta característica das células tumorais tem sido usada na identificação de nodos linfáticos malignos, tumores de fígado e tumores de cérebro (Pankhurst et al., 2003).

O desenvolvimento de equipamentos e materiais adequados permitirá a combinação de diagnóstico e terapia para os agentes de contraste baseados em nanopartículas magnéticas. Usando materiais capazes de fornecer contraste adequado e gerar calor suficiente, seria possível, em uma só sessão, obter imagens e tratar tecidos tumorais.

Capítulo 2 – Parte Experimental

2.1 - Reagentes

Os reagentes utilizados no desenvolvimento do presente trabalho estão listados na tabela 2.1 Não foram realizados tratamentos prévios para a utilização dos reagentes nos procedimentos experimentais.

Tabela 2.1 – Reagentes usados nos procedimentos experimentais.

Reagente	Fórmula molecular	Procedência
Cloreto férrico hexahidratado	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	Vetec
Sulfito de sódio	Na_2SO_3	Vetec
Hidróxido de amônio	NH_4OH	Vetec
Tetraetilortossilicato	$Si(OC_2H_5)_4$	Fluka
Etanol	C_2H_5OH	Synth
Propanona	C_3H_6O	Vetec
Ácido clorídrico	HCl	Synth
Cloridrato de tetraciclina	$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$	Drogaria Araújo
Succinato sódico de hidrocortisona	$C_{25}H_{33}NaO_8$	Cellofarm
Paclitaxel from <i>Taxus brevifolia</i>	$C_{47}H_{51}NO_{14}$	Sigma
Cloreto de sódio	$NaCl$	Vetec
Bicarbonato de sódio	$NaHCO_3$	Vetec
Cloreto de potássio	KCl	Synth
Fosfato de potássio dibásico	K_2HPO_4	Synth
Cloreto de magnésio hexahidratado	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Synth
Cloreto de cálcio	$CaCl_2$	Synth
Sulfato de sódio	Na_2SO_3	Synth
Tris (Hidroximetil) Amino Metano	$C_4H_{11}NO_3$	Vetec

2.2 – Síntese e revestimento da magnetita

Síntese da magnetita por coprecipitação-redução

A magnetita foi obtida seguindo o método precipitação-redução desenvolvido por Qu et al com algumas modificações (Qu et al., 1999).

Inicialmente foram preparadas soluções de HCl (0,5 mol/L), $FeCl_3$ (2,67 mol/L) e Na_2SO_3 (1,00 mol/L) utilizando água desgaseificada, à temperatura ambiente e sob agitação.

Para a preparação da solução de $FeCl_3$ foram dissolvidos 5,41 g do reagente em 7,5 mL da solução de HCl . A solução de Na_2SO_3 foi preparada dissolvendo 1,26 g de Na_2SO_3 em 10 mL de água desgaseificada à temperatura ambiente e sob agitação.

As partículas de magnetita foram sintetizadas à temperatura ambiente sob atmosfera de N_2 . Dentro de uma *glove-bag* foram misturados 7,5 mL da solução de $FeCl_3$, de cor amarela e 5 mL da solução de Na_2SO_3 . Esta solução, inicialmente vermelha, foi deixada sob agitação durante 20 minutos até que fosse observada a mudança para a cor amarela, igual à inicial. Após os 20 minutos, foram adicionados 400 mL da solução de NH_4OH e foi mantida a agitação durante 30 minutos. A solução foi centrifugada e o precipitado foi lavado sete vezes com água e uma vez com acetona. O precipitado obtido foi seco sob vácuo. O produto foi chamado Mag.

Revestimento da magnetita com sílica

A magnetita revestida com sílica (MagSi) foi preparada de acordo com o método desenvolvido por Stöber et al., seguindo algumas modificações (Stöber

et al., 1968). 0,04 g da amostra Mag foram adicionados a 160 mL de etanol, a dispersão foi homogenizada em um banho de ultrassom durante 20 minutos. Foram adicionados 40 mL de água, 5 mL de amônia e 1 mL de TEOS à dispersão que foi agitada mecanicamente durante 24 h. O produto obtido foi lavado com água e colocado sob atmosfera úmida. Após 12 h foi seco sob vácuo. O material obtido foi chamado MagSil.

Síntese da sílica

A sílica preparada foi usada como uma amostra comparativa. Utilizando um agitador magnético foram misturados 1,44 mL de uma solução aquosa de HCl (pH = 1,7), 4,64 mL de etanol e 4,46 mL de TEOS. A solução foi agitada até se tornar viscosa. O material foi deixado em atmosfera úmida durante 12 horas e sob atmosfera de vácuo por 24 horas (Andrade et al., 2006).

2.3 – Incorporação dos fármacos

Incorporação de tetraciclina à magnetita revestida com sílica

Foram adicionados 1,38g de cloridrato tetraciclina a 160 mL de etanol. Após a dissolução da tetraciclina, foram adicionados 0,04 g de magnetita e a dispersão obtida foi deixada em banho de ultrassom durante 20 minutos. Foram adicionados 40 mL de água, 5 mL de amônia e 1 mL de TEOS à dispersão que foi agitada mecanicamente durante 24 h. O produto obtido foi colocado sob atmosfera úmida e após, 12 h, foi lavado com água e seco sob vácuo. O material obtido foi chamado MagSiT.

Incorporação de hidrocortisona à magnetita revestida com sílica e do paclitaxel à magnetita revestida com sílica

O mesmo procedimento utilizado para a incorporação de tetraciclina à magnetita revestida com sílica foi aplicado para a obtenção da incorporação do succinato sódico de hidrocortisona e do paclitaxel. Os materiais obtidos foram chamados MagSiH e MagSiP, respectivamente.

2.3.1 – Liberação controlada

Tetraciclina

0,03 g da amostra MagSiT foram colocados em um béquer (x mL) com 4 mL de fluido corpóreo simulado (SBF) e deixados em banho de 37°C. Após 2, 4, 6, 8, 10, 24, 34, 48, 72, 96, 120 horas, 7 e 30 dias a solução foi completamente removida do béquer para análise e substituída por outra de mesmo volume. As concentrações de tetraciclina liberadas nas soluções foram determinadas por espectroscopia de absorção ultravioleta-vísivel.

Hidrocortisona e Paclitaxel

O procedimento realizado para a liberação da tetraciclina foi repetido para as amostras MagSiH e MagSiP.

2.4 – Caracterização

2.4.1 – Difração de raios X

Os difratogramas de raios-X foram obtidos em um difratômetro Rigaku modelo Geigerflex usando radiação $Co(K\alpha)$, no intervalo de 20 a 80° (2 θ) a uma velocidade de varredura de 4° por minutos, com silício como padrão externo.

2.4.2 – Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos no modo de transmissão em um espectrômetro Perkin-Elmer Spectrum GX. As amostras foram trituradas, dispersas em KBr e prensadas na forma de pastilhas. Os espectros foram registrados no intervalo de 4000-380 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

2.4.3 – Espectroscopia Mössbauer

Os espectros Mössbauer foram coletados utilizando o modo de transmissão com aceleração constante e fonte de Co^{57}/Rh , de aproximadamente 15mCi. O espectrômetro equipado com um transdutor (CMTE modelo MA250) controlado por uma função linear (CMTE modelo MR351) foi usado para obter o espectro a 298 K. Os deslocamentos isoméricos foram corrigidos em relação à folha de $\alpha\text{-Fe}$, padrão também utilizado para a calibração da escala de velocidade Doppler. O programa utilizado para o ajuste dos espectros foi o NORMOSTM-90.

2.4.4 – Medida de magnetização

A medida de magnetização de saturação (σ) foi realizada com um magnetômetro portátil, a campo fixo de 0,3 T calibrado com Ni metálico (Fabris and Coey, 2002).

2.4.5 – Potencial Zeta

O potencial zeta (ξ) foi determinado em um equipamento NANO SIZE ZS. O material foi suspenso em uma solução aquosa de KNO_3 10^{-3} mol.L^{-1} e homogeneizado com ultrassom durante 15 minutos. O pH da solução foi medido e ajustado com soluções aquosas de NaOH e HNO_3 10^{-3} mol.L^{-1} . O (ξ) foi medido em função do pH.

2.4.6 – Microscopia eletrônica de transmissão – MET

As amostras foram dispersas em grades de cobre e examinadas em um microscópio de transmissão eletrônica Leo 906E (Zeiss) MET a 80kV. A polidispersividade das nanopartículas foi analisada a partir das micrografias obtidas por MET, utilizando o programa de análise e processamento de imagem em Java version of Image J v 1.33u (Rasvand, 2004). O diâmetro médio das partículas foi obtido com a aplicação da função de distribuição log-normal, como sugerido por O'Grady e Bradbury (O'Grady e Bradbury, 1983)

$$f(D_p) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}D_p\omega_p} \exp\left(-\frac{(\ln D_p - \ln D_p^0)^2}{2\omega_p^2}\right), \quad (2.4.1)$$

Com diâmetro médio $\langle D_p \rangle = D_p^0 \exp(\omega_p^2 / 2)$ e ω_p como desvio padrão em torno de $\ln D_p^0$. O desvio padrão do diâmetro médio é dado por $\sigma_p = D_p^0 [\exp(2\omega_p^2) - \exp(\omega_p^2)]^{1/2}$.

2.4.7 – Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica das amostras foi realizada em uma termobalança Netzsch STA 409EP sob fluxo de N₂. As massas iniciais em torno de 10 mg foram aquecidas de 30°C a 750°C a uma taxa de 10 °C/min com fluxo do gás de 100 mL/min.

2.4.8 – Espectroscopia de Ultravioleta-Visível

A concentração das drogas liberadas foram determinadas em um espectrômetro UV-visível Hewlett Packard 8452 A de duplo feixe com detetor de fotodiodo.

A determinação das concentrações foi baseada na Lei de Lambert-Beer. A absorvância total da solução pode ser avaliada pela contribuição das espécies usando a equação (5.4.3):

$$A = \varepsilon_x b[X] + \varepsilon_y b[Y] + \varepsilon_z b[Z] + \dots, \quad (2.4.2)$$

Onde ε é a absorvidade molar de cada espécie a um dado comprimento de onda, b é o caminho óptico dentro da parede e as letras dentro dos parênteses representam a concentração das espécies X, Y e Z. Se o espectro individual é conhecido a contribuição para uma dada espécie pode ser obtida por deconvolução da absorvância. A concentração da droga liberada na solução SBF foi avaliada nos comprimentos de onda 268 nm para a tetraciclina, 250 nm para a hidrocortisona e 230 nm. Para avaliar a concentração de paclitaxel liberada na solução SBF, a solução foi evaporada a uma temperatura igual a 35° C em uma estufa com corrente de ar. O pó obtido foi rediluído em 1 mL de etanol e a concentração foi avaliada no comprimento de onda igual a 230 nm.

Capítulo 3 - Discussão dos Resultados – Síntese da magnetita e revestimento com sílica

A primeira parte do presente trabalho tem como objetivo a síntese e o revestimento da magnetita nanoparticulada para a posterior incorporação de fármacos. Esta etapa inicial foi dividida em duas partes: a síntese e caracterização do núcleo de magnetita e o revestimento com sílica. O revestimento com a sílica evita a agregação e sedimentação das partículas bem como concede a elas propriedades superficiais para aplicações específicas, sendo no caso do deste trabalho, para permitir a incorporação de fármacos.

3.1 - Difração de raios-X

O difratograma de raios-X obtido para a amostra Mag (Figura 3.1) mostrou picos consideravelmente alargados devido à dimensão nanométrica dos cristalitos que causa a redução no número de planos cristalinos. Nesta escala, a distinção entre magnetita e maghemita torna-se dificultada e a confirmação da fase presente deve ser feita através de outras técnicas de caracterização como a espectroscopia Mössbauer (Daou et al., 2006).

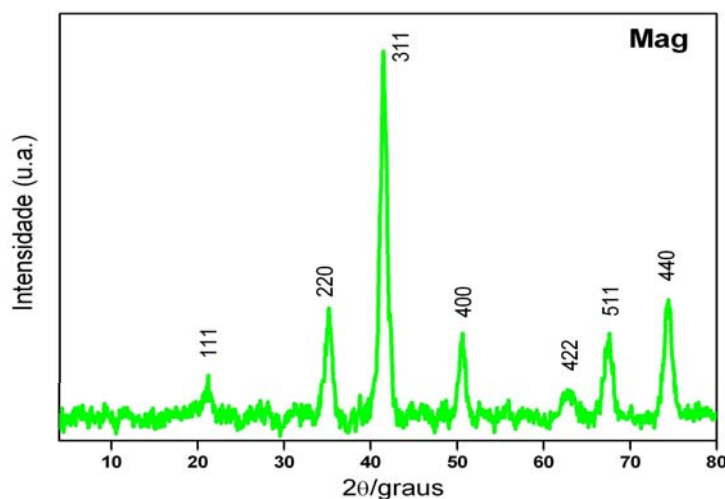


Figura 3.1. Difratoograma de raios-X para amostra Mag obtido com radiação Co ($K\alpha$).

As distâncias interplanares (d) foram estimadas a partir das posições angulares dos picos observados no difratograma da amostra Mag, aplicando a lei de Bragg (3.1), os valores encontram-se na tabela 3.1, juntamente com os valores padrões da magnetita obtidos da ficha cristalográfica JCPDS # 19-629.

$$\lambda = 2d \sin \theta_B \quad (3.1)$$

Tabela 3.1 Distância interplanar (d) para os diferentes planos cristalográficos e posição angular ($2\theta_B$) de cada pico para a amostra Mag e os respectivos valores esperados para a magnetita bulk.

Plano	$2\theta_{B(\text{Mag})}$	$2\theta_{B(\text{esperado})}$	$d_{\text{Mag}}(\text{Å})$	$d_{(\text{esperado})}(\text{Å})$
111	21,20	21,25	4,86	4,85
220	35,19	35,09	2,96	2,97
311	41,39	41,38	2,53	2,53
400	50,46	50,44	2,10	2,10
422	62,88	62,89	1,72	1,72
511	67,16	67,23	1,62	1,62
440	74,19	74,11	1,48	1,48

O parâmetro de rede da amostra Mag foi estimado a partir do valor da distância interplanar d do plano cristalino (311) e da equação:

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} \quad (3.2)$$

As posições dos picos de difração obtidos para a amostra Mag e o valor do parâmetro de rede obtido $a = 0,8395$ nm estão em boa concordância com os padrões da estrutura da magnetita bulk, ficha de referência JCPDS # 19-629 ($a = 0.8396$ nm).

Os tamanhos médios dos cristalitos foram calculados a partir da medida da largura a meia altura do pico que corresponde à linha de reflexão (311) do difratograma da magnetita, usando a fórmula de Scherrer.

$$d_{(311)} = \frac{0,9 \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (3.3)$$

Sendo $d_{(311)}$ é o diâmetro do cristalito, λ é o comprimento de onda dos raios-X em nm ($\lambda_{Co} = 1,788965$ Å), $\beta = \sqrt{B^2 - b^2}$ sendo B a largura a meia altura do pico mais intenso, b, a largura intrínseca do cristal de Silício e θ , o ângulo de difração. Para obter B e θ_B foram feitos ajustes no difratograma com a função Lorentziana através do programa *Origin 7.1*. Os valores obtidos com esta análise são mostrados na tabela 3.2.

Tabela 3.2 Valores da largura a meia altura do pico mais intenso dos difratogramas das amostras Mag e MagSi, as larguras corrigidas (β), posições angulares dos picos ($2\theta_B$) e o valor do tamanho do cristalito obtido.

Amostra	$B(^{\circ})$	$2\theta_B$	B	d_{XRD} (nm)
Mag	0,96	41,45	0,94	12,6
MagSi	0,96	41,51	0,92	13,4

O difratograma (Figura 3.2) obtido para a magnetita revestida com sílica ($a = 0,83904$ nm) é similar ao difratograma da partícula sem revestimento, podendo indicar que a amostra Mag não sofreu processos oxidativos durante o revestimento.

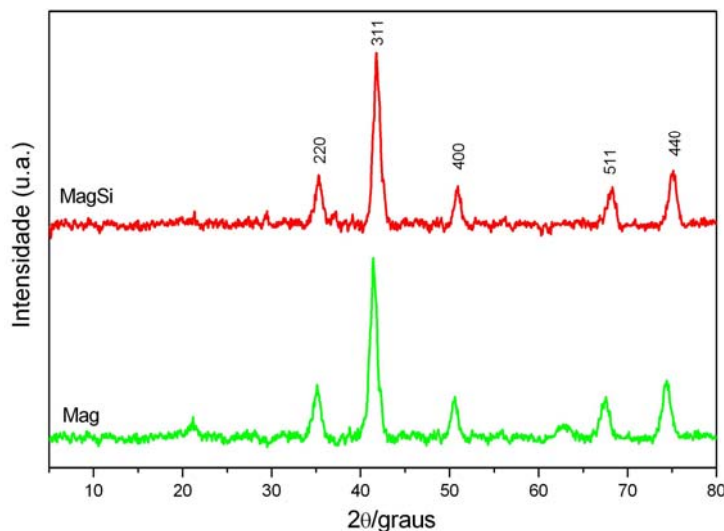


Figura 3.2. Difração de raios-X para amostra Mag e MagSi.

3.2 - Espectroscopia Mössbauer

A magnetita é um óxido de ferro ferrimagnético, em que a estrutura química é formada por duas simetrias de coordenação Fe-O: uma tetraédrica (comumente, denominados sítios A) e outra octaédrica (sítios B). Da sonda nuclear ^{57}Fe , cada um dos sítios apresenta um campo hiperfino característico.

A temperaturas acima da $T_V \approx 120$ K da transição de Verwey, ocorre rápida flutuação de cargas (*electron hopping*) entre os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} , ambos em coordenação octaédrica, de tal sorte que o sub-espectro Mössbauer correspondente aparece como devido a um único estado, de valência intermediária (Long and Gradjean, 1989).

O espectro Mössbauer da magnetita mostra tipicamente dois sextetos: um correspondente à contribuição da interação hiperfina magnética de Fe^{3+} , nos

sítios A, e outro ao acoplamento $[\text{Fe}^{3+} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}]$, nos sítios B, da estrutura do espinélio inverso (AB_2O_4).

Os espectros experimentais (Figura 3.3 e Figura 3.5) obtidos para cada uma das amostras estudadas foi numericamente ajustado pelo método de mínimos quadrados, com dois blocos de distribuição de campo hiperfino: um para os sítios A e outro para os sítios B, da magnetita.

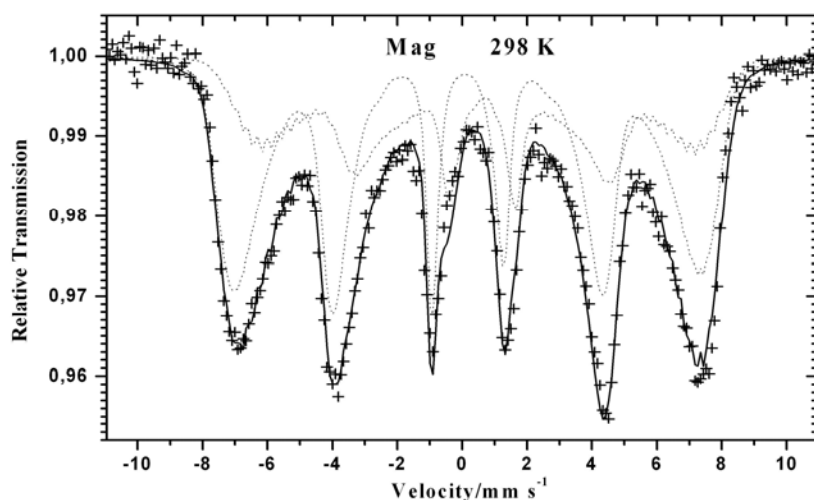


Figura 3.3. Espectro Mössbauer a 298 K para a amostra Mag.

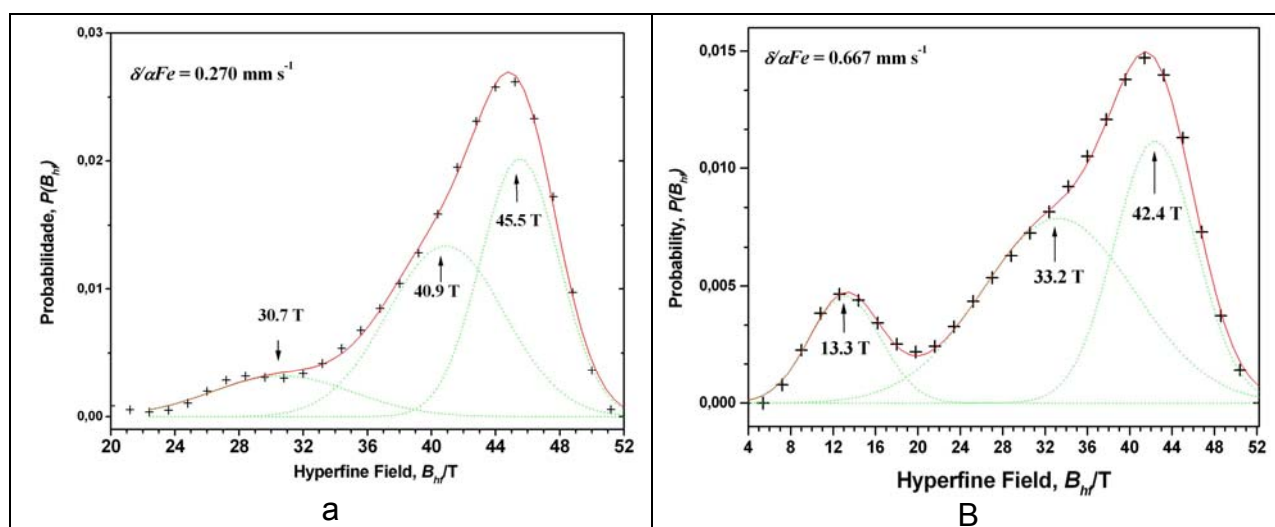


Figura 3.4. Perfis das probabilidades dos campos hiperfinos para (a) sítio A e (b) sítio B da amostra Mag.

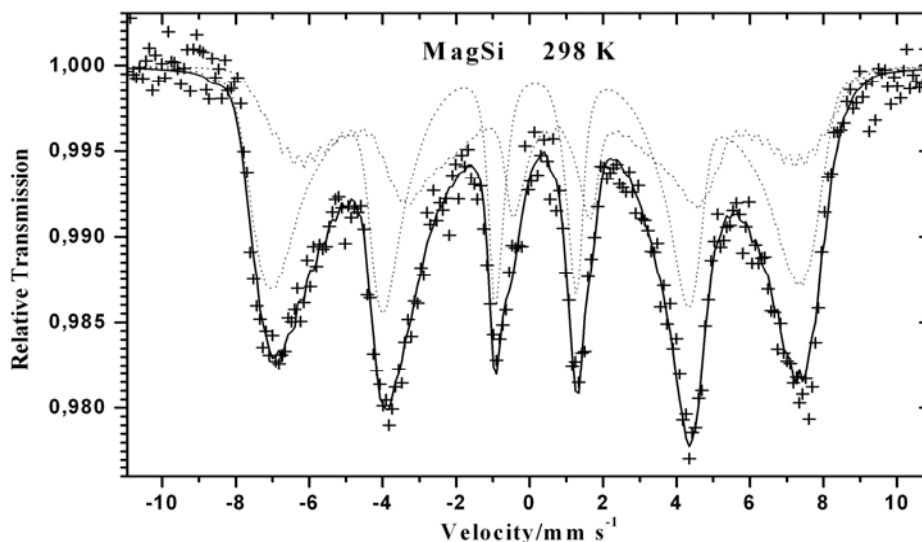


Figura 3.5. Espectro Mössbauer a 298 K para a amostra MagSi.

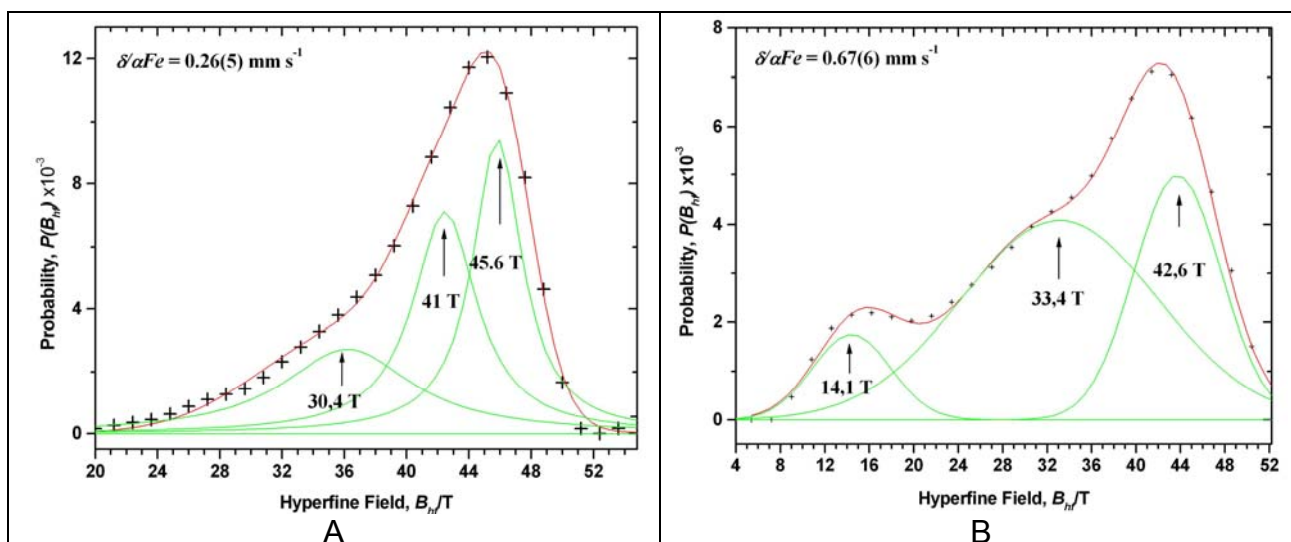


Figura 3.6. Perfis das probabilidades dos campos hiperfinos para (a) sítio A e (b) sítio B da amostra MagSi.

Os valores de campos hiperfinos na probabilidade máxima, B_{hf}^{\max} , deslocamento isomérico relativo ao αFe , $\bar{\delta}/\text{Fe}$ e áreas relativas do subspectro para sítios octaédricos e tetraédricos são apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 Parâmetros hiperfinos Mössbauer a 298 K, deduzidos do ajuste numérico por distribuições de campos hiperfinos. $\text{Fe}^{3+/2+}$ = íon ferro de valência mista, em sítios octaédricos; Fe^{3+} íon ferro em sítios tetraédricos; $\bar{\delta}/\alpha\text{Fe}$ = deslocamento isomérico, médio relativo ao αFe ; B_{hf}^{max} = campo hiperfino na probabilidade máxima e RA = área subspectral relativa. Os valores entre parênteses são incertezas experimentais, dadas pelo desvio padrão resultante do procedimento numérico dos mínimos quadrados, expressos como variação do último algarismo significativo do valor correspondente do parâmetro.

Amostra	Sítio	$\bar{\delta}/\alpha\text{Fe}$	B_{hf}^{max}	$RA/\%$
Mag	$\text{Fe}^{3+/2+}$	0.77(4)	13.1(2)	5.43(1)
		0.70(4)	33.2(1)	19.96(2)
		0.67(4)	42.4(1)	15.22(2)
	Fe^{3+}	0.16(2)	30.7(3)	7.39(2)
		0.23(2)	40.9(3)	25.8(1)
		0.27(2)	45.5(4)	26.2(1)
MagSi	$\text{Fe}^{3+/2+}$	0.62(4)	14.1(3)	7.00(3)
		0.62(4)	33.4(3)	22.70(4)
		0.62(4)	42.6(4)	21.19(3)
	Fe^{3+}	0.15(4)	30.4(1)	5.07(1)
		0.24(4)	41.0(2)	22.75(4)
		0.28(4)	45.6(3)	21.29(4)

Os valores de campo hiperfino encontrados, para os íons ferro tetraédricos e para os íons ferro octaédricos, são bastante reduzidos, se comparados aos campos característicos correspondentes, para a magnetita pura, *bulk*. São identificados três campos hiperfinos de probabilidade máxima, para cada sítio de coordenação de íons ferro, da estrutura da magnetita. À temperatura do ambiente, os padrões espectrais sugerem efeitos parciais de relaxação superparamagnética, devidos à distribuição de pequenos (escala nanométrica)

tamanhos de partículas. A redução do valor do campo hiperfino pode ser explicada pelo modelo de excitação magnética coletiva Morup et al., 1976; (Morup, 1983): flutuações da magnetização, em torno de direções próximas ao eixo de fácil magnetização. De acordo com o modelo, abaixo de uma temperatura característica de bloqueio, T_B (que depende do tamanho médio das partículas), o espectro é governado por uma distribuição de campos hiperfinos, devido a diferentes tamanhos de partículas presentes na amostra (Morup, 1983; Long and Grandjean, 1989). O valor de campo hiperfino varia com o tamanho da partícula e da temperatura, de acordo com a expressão:

$$B_{hf}(V, T) = B_{hf}(V = \infty, T)(1 - kT / 2K_e V), \quad (3.4)$$

em que $B_{hf}(V = \infty, T)$ é o valor de campo hiperfino de uma partícula grande (*bulk*), na temperatura especificada, e K_e é a constante de anisotropia magnética.

Aplicando a equação (3.4), com valor da constante de anisotropia magnética ($K_e(25 \text{ nm}) = 5 \times 10^4$) obtido por Topose et al., e considerando que a partícula é uma esfera, foi possível obter o tamanho médio estimado para grupos de tamanhos de partículas, de acordo com os valores de campo hiperfino médios, estimados do perfil de probabilidade da distribuição de campos hiperfinos. (Topsoe et al., 1974; Morup, 1983; Long and Grandjean, 1989).

Tabela 3.4. Estimativa do tamanho médio (D) das partículas – (SPR) K_e (25 nm) = 5×10^4

Amostra	Fe ^{3+/2+}	Fe ³⁺	D/nm
Mag	13,10	30,70	24,8
	33,20	40,90	33,6
	42,40	45,50	49,3
MagSi	14,10	30,40	24,8
	33,40	41,00	33,8
	42,60	45,60	50,1

O alargamento assimétrico das linhas de ressonância dos dois espectros, comparadas com a forma lorentziana, tipicamente simétrica, da magnetita *bulk*, é atribuído aos efeitos de relaxação superparamagnética e à excitação magnética coletiva (Morup et al., 1976).

O espectro obtido para a amostra Mag a 298 K (Figura 3.3) é muito similar ao obtido para a amostra MagSi (Figura 3.5). Nenhuma diferença substancial foi observada nos parâmetros Mössbauer, após revestimento com sílica, indicando que o estado de oxidação dos íons ferro foi preservado, no procedimento de recobrimento. Este resultado está em boa concordância com resultados previamente relatados por outros autores (Pârvulescu et al., 2006).

3.3 - Magnetização de saturação

O valor obtido para a magnetização de saturação da amostra Mag ($67 \text{ J T}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) foi menor que o valor teórico apresentado pela magnetita *bulk* ($92 \text{ J T}^{-1} \text{ kg}^{-1}$).

Este resultado está de acordo com os valores obtidos na literatura e pode ser justificado, considerando-se a existência de uma camada magneticamente desordenada na superfície das partículas, onde os spins estão aleatoriamente orientados. A origem desta desordem é ainda controversa, porém alguns

autores têm associado este comportamento à presença de vacâncias, ligações rompidas e a anisotropia com intensidade e direção definida para cada sítio na superfície das partículas. Geralmente as partículas sintetizadas por co-precipitação exibem estes defeitos devido às baixas temperaturas empregadas durante o processo de síntese (Coey, 1971) (Kodama et al., 1996).

A magnetização de saturação também foi medida para a MagSi e o valor obtido foi menor que a magnetização da amostra não revestida (Tabela 3.5). Esta medida pode estar relacionada com processos de oxidação durante a síntese de revestimento ou ainda pode estar relacionado com a espessura da camada de sílica sobre a partícula, que mascara o valor real da magnetização (Souza et al., 2008).

Tabela 3.5 Magnetização de saturação das amostras de magnetita e magnetita revestida com sílica.

Amostra	$\sigma/J T^{-1} kg^{-1}$
Mag	$67,00 \pm 0.01$
MagSi	$57,51 \pm 0.05$

3.4 - Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia no infravermelho foi usada para caracterizar as nanopartículas de magnetita e o revestimento de sílica, bem como investigar a interação entre a magnetita e a sílica. A magnetita apresenta a estrutura do espinélio inverso $Fe^{III}(Fe^{II}Fe^{III})O_4$ e a análise de grupo mostra a existência de quatro modos ativos no espectro de infravermelho para esta estrutura, mas em

muitos casos dois modos são muito fracos e observados somente em baixos números de onda (Guillot et al., 1983).

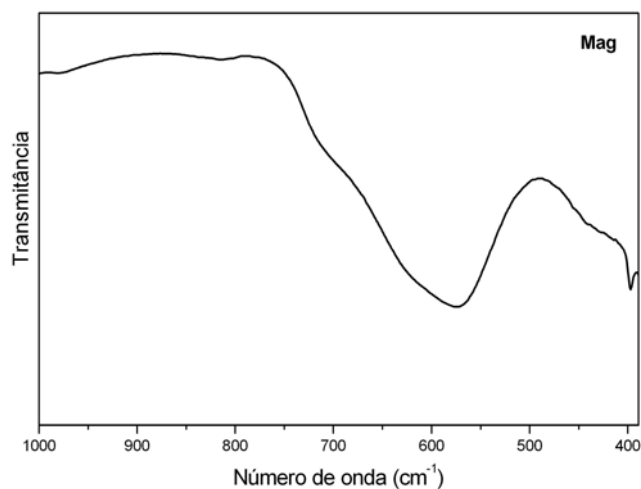


Figura 3.7. Espectro de FTIR para as amostras Mag.

O espectro de infravermelho da magnetita (Figura 3.7) apresentou duas bandas de absorção principais em 580 e 390 cm⁻¹, vibrações características do modo de estiramento Fe-O da magnetita em boa concordância com dados obtidos por outros autores (Roca et al., 2007) (Souza et al., 2008).

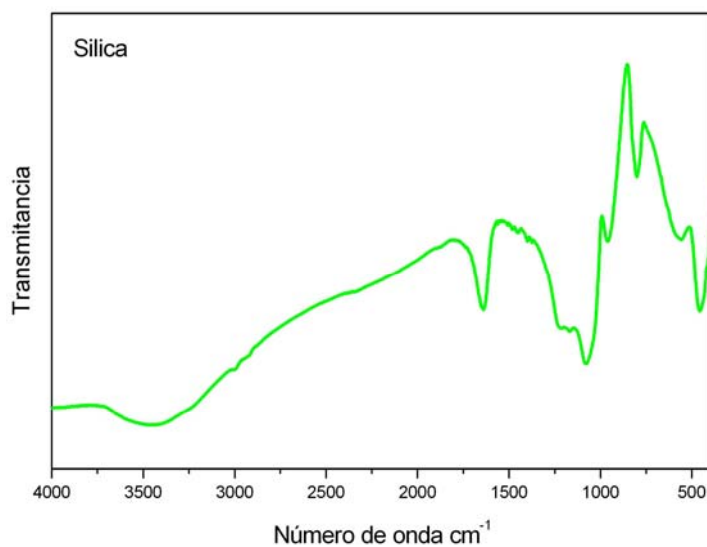


Figura 3.8. Espectro de FTIR para a amostra silica.

A verificação da modificação da superfície da magnetita pela deposição de sílica pode ser feita pelo estudo dos espectros de FTIR. A amostra sílica foi também caracterizada por espectroscopia de infravermelho a fim de se realizar a comparação deste material com o revestimento da magnetita. As bandas de absorção obtidas são mostradas na Tabela 3.6.

Tabela 3.6: Bandas de absorção da Sílica

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
458	Deformação Si-O-Si
790	Estiramento simétrico Si-O
950	Estiramento assimétrico Si-OH
1030-1230	Estiramento assimétrico Si-O-Si
1640	Deformação de H-O-H
3680-3200	Estiramento dos grupos -OH

O espectro da amostra MagSi mostrou uma banda larga 1240–1050 cm⁻¹ características do estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si (Bruni et al., 1999). A banda observada em 810 cm⁻¹ é associada ao estiramento simétrico da ligação Si-O e a banda 470 cm⁻¹ está relacionada com o modo de vibração da deformação Si-O-Si. A presença dos grupos silanóis –Si-OH livres na superfície da partícula é confirmada pela banda 945 cm⁻¹ mostrada no espectro.

A banda larga 3680-3090 cm⁻¹ relativa ao estiramento dos grupos –OH e a banda em 1620 cm⁻¹ atribuída a deformação da ligação H-O-H sugerem a existência de água adsorvida na superfície das partículas (Chenéac et al. 1996).

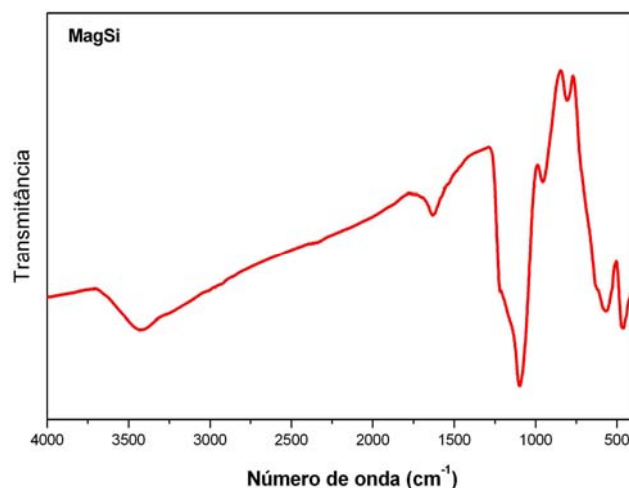


Figura 3.9. Espectro de FTIR para a amostra MagSi.

A sílica é adsorvida na superfície da magnetita por meio de ligações Fe-O-Si, porém no espectro da MagSi não foi possível observar a banda relativa a tal ligação. Isto pode ser justificado por uma provável sobreposição da banda relativa à ligação Fe-O-Si com a banda relativa ao estiramento da ligação Fe-O da magnetita (Bruni et al., 1999).

As bandas em 580 e 390 cm^{-1} associadas com a magnetita também aparecem no espectro da MagSi, evidenciando a presença do óxido.

3.5 - Análise térmica

Os resultados das análises térmicas estão representados nas figuras 3.10 e 3.11.

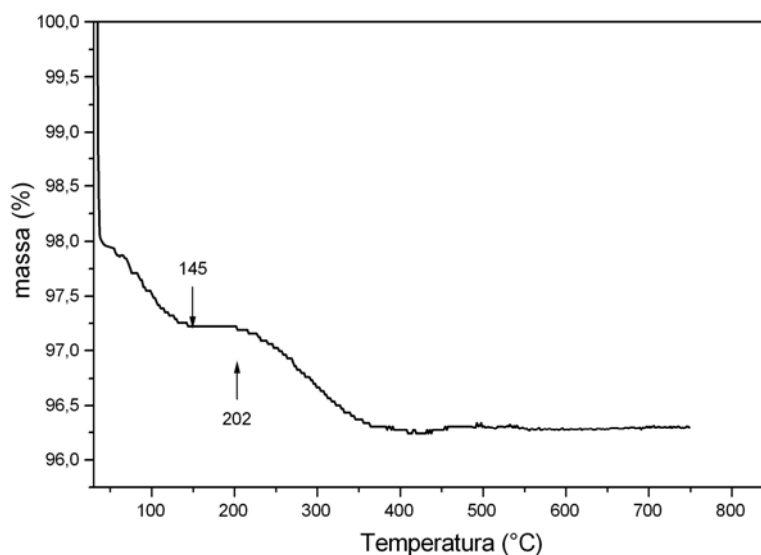


Figura 3.10. Curva TG da amostra Mag

A curva termogravimétrica da amostra Mag, mostra duas etapas de perda de massa. Na Figura 3.8 verificou-se uma perda inicial de massa até 145 °C. Essa redução de cerca de 2,8% da massa total pode ser atribuída à perda de moléculas de água adsorvida na superfície da magnetita. A partir de 202 °C é observada uma perda de massa de aproximadamente 1 % que pode estar associada à combustão de material orgânico residual (Tatsuo et al., 1998; Ishikawa et al., 1998).

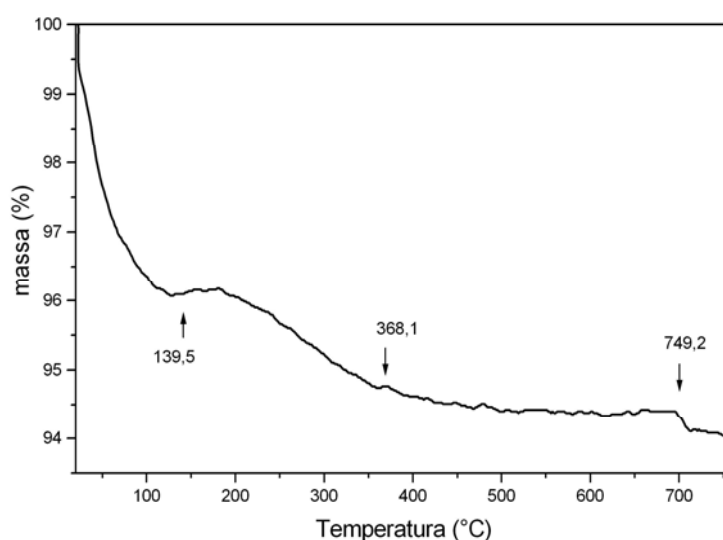


Figura 3.11. Curva TG da amostra MagSi

A curva TG obtida para a magnetita revestida com sílica mostra três etapas de perda de massa, com uma redução total de 5,8% da massa. A primeira redução ocorre até 139°C e pode ser atribuída a perda de moléculas de água e de álcool adsorvidas na superfície da sílica.

A segunda redução de massa que ocorre a partir de 180 °C, sendo finalizada em 368° C é atribuída à combustão de material orgânico residual, observa-se uma redução de 1,4 % da massa. A terceira etapa que ocorre a partir de 749° C pode estar relacionada com a condensação dos grupos silanóis que se encontram dentro dos poros da sílica, o que torna a remoção destes grupos mais dificultada, justificando a alta temperatura em que o processo ocorre (Hong et al., 2008; Jitianu et al., 2006).

3.6 - Potencial Zeta

As características da superfície das partículas revestidas e não revestidas foram estudadas através de curvas de potencial zeta em função do pH da solução (Figura 3.12 e Figura 3.13).

Em meio aquoso, as partículas de magnetita estão hidratadas e sua superfície encontra-se completamente coberta por grupos FeOH. Estes sítios hidroxilados podem dissociar liberando H⁺ ou OH⁻, deixando a superfície carregada negativa ou positivamente.



A curva de potencial zeta em função do pH mostra que em pH neutro (7) a superfície da magnetita apresenta carga negativa e que a reversão potencial zeta, ou seja, o ponto isoeletrônico (IEP) tem pH_{IEP} igual a 6. Este resultado está de acordo com aqueles obtidos por alguns autores para a magnetita

(Souza et al., 2008; Gómez-Lopera et al., 2001; Kolarik et al., 1980). Porém foram obtidos diversos valores de pH_{IEP} por vários autores para cada tipo de magnetita. As variações ocorrem porque este pH depende de vários fatores como a composição da amostra, a preparação do material para a medida, o tipo de modelo utilizado para interpretar os dados e a origem da magnetita; sintética ou natural (Erdemoglu and Sarikaya, 2006).

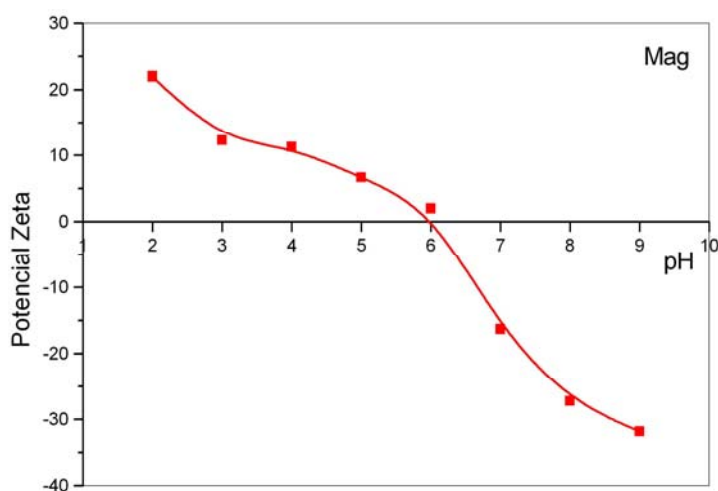


Figura 3.12. Curva do potencial zeta da magnetita em função do pH.

O estudo da curva do potencial zeta da magnetita permitiu a caracterização desta partícula, além de fornecer informações sobre a estabilidade da suspensão em água. Altos valores de potencial zeta indicam uma maior estabilidade da suspensão. Quando as partículas têm altos valores (positivo ou negativo) de potencial zeta elas tendem a repelir umas as outras e neste sistema reduzindo a tendência de aglomeração. Normalmente suspensões com valores de potencial zeta maiores que 30 mV ou menores que -30mV são consideradas estáveis. A observação da curva da magnetita sugere que a suspensão da magnetita em água será estável em soluções de $\text{pH} > 8$, o que não é um bom resultado para o propósito deste trabalho, pois buscamos aplicações biológicas que exigem suspensões estáveis em pH próximo de 7.

A magnetita além de apresentar cargas em sua superfície, dificultando a sua estabilização em solução aquosa também apresenta atração entre os dipolos magnéticos o que aumenta sua capacidade de aglomeração. O revestimento da partícula com sílica pode reduzir essa atração devido à espessura da sua camada e também modificar o potencial zeta da superfície da magnetita (Scherrer and Neto, 2005).

A forma da curva de potencial zeta da amostra MagSi em função do pH e o valor obtido para o pH_{IEP} mostram as modificações na superfície da magnetita e a eficiência do método de revestimento. A partícula revestida com sílica mostrou uma dependência do pH similar a aquela da sílica pura, como mostrado nas curvas da Figura 3.11. O pH_{IEP} obtido para a sílica foi 2,1 enquanto a magnetita revestida com sílica apresentou pH_{IEP} igual a 2,8, indicando que a superfície da MagSi é mais parecida com a superfície da sílica que da partícula não revestida.

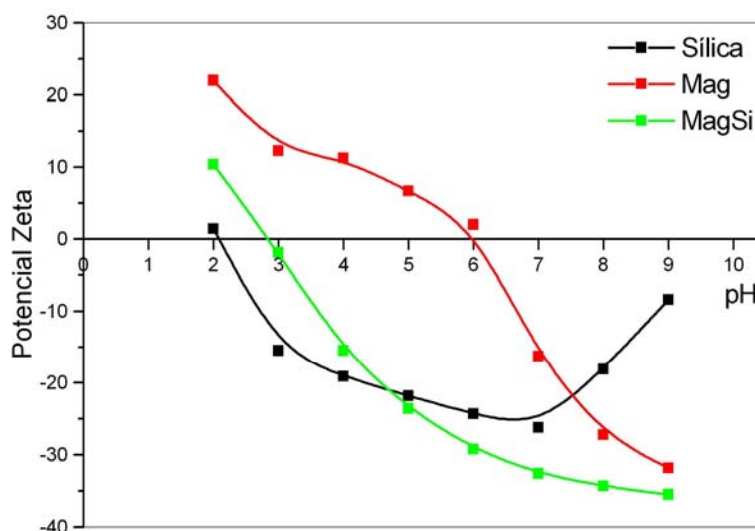


Figura 3.13. Potencial Zeta em função de pH para as amostras Mag, Sílica e MagSi.

A observação da curva mostra que acima do $pH = 6$ já é possível obter suspensões estáveis da magnetita revestida com sílica em água. O potencial

zeta em pH neutro mudou de -16 mV, na partícula sem revestimento, para -32 mV quando a partícula foi revestida com sílica, indicando a possibilidade de formação de suspensões em meio aquoso no pH adequado para aplicações biológicas.

3.7 – Microscopia eletrônica de transmissão - MET

A análise de polidispersividade para a amostra Mag e sua distribuição indicaram que o diâmetro médio é $\langle D_p \rangle = 31,5 \text{ nm}$ desvio padrão $\sigma_p = 0,3 \text{ nm}$. Para a amostra MagSi foram obtidos $\langle D_p \rangle = 43,3 \text{ nm}$ e $\sigma_p = 0,6 \text{ nm}$. A análise foi baseada no histograma (Figura 3.14 e Figura 3.15) onde foram usadas mais de 500 partículas para a amostra Mag e mais de 230 partículas para a magnetita revestida com sílica.

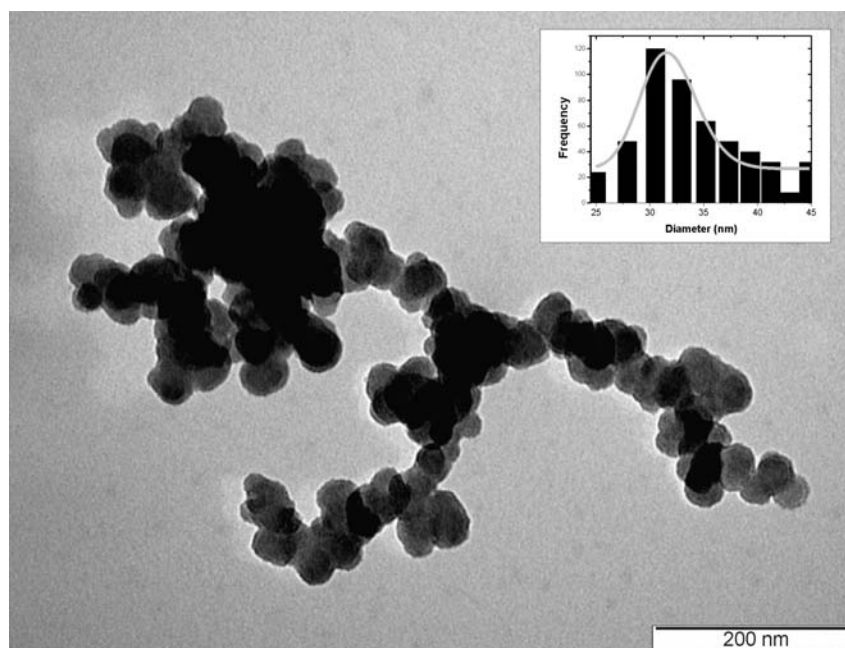


Figure3.14. Micrografia da amostra Mag. Inset: Histograma para a distribuição de tamanho de partículas.

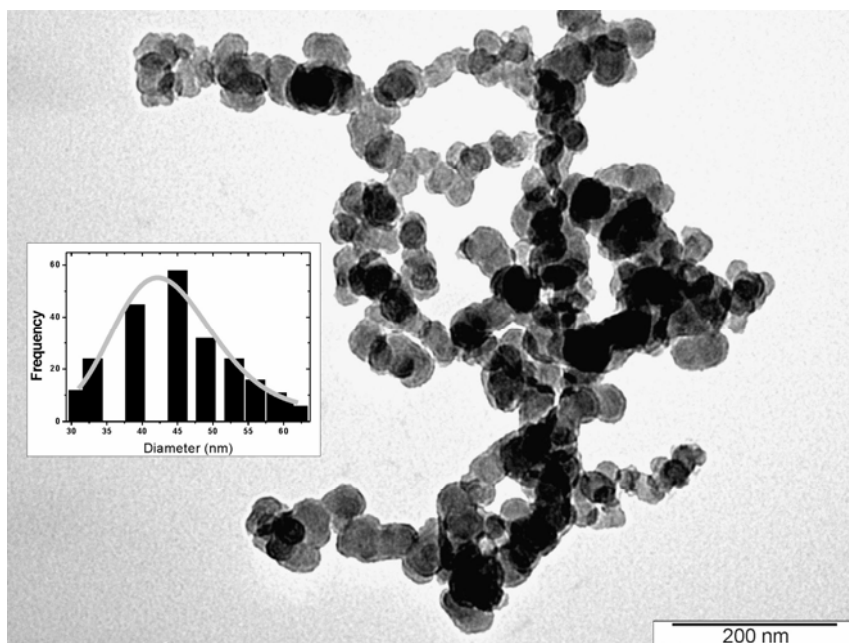


Figure 3.15. Micrografia da amostra MagSi. Inset: Histograma para a distribuição de tamanho de partículas.

Os valores de tamanho de partícula, bem como a distribuição de tamanho prevista pela espectroscopia de mössbauer pôde ser confirmada pela análise das imagens de microscopia eletrônica de transmissão. Os valores obtidos por espectroscopia Mössbauer mostraram-se em boa concordância com os valores dados pelo tratamento das imagens.

4. Discussão dos resultados - Incorporação de fármacos e liberação controlada

4.1 – Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho foi utilizada para verificar as modificações na superfície da partícula de magnetita revestida, após a incorporação dos fármacos ao sistema. A figura 4.1, mostra os espectros obtidos para a amostra MagSiT e para a tetraciclina.

O espectro da amostra MagSiT mostrou bandas de absorção relacionadas com a sílica, além das bandas que podem ser atribuídas à magnetita (Figura 4.1). Algumas diferenças foram observadas comparando-se os espectros das amostras MagSi e MagSiT. A presença do fármaco na MagSi é confirmada pelas bandas atribuídas aos grupos funcionais presentes na tetraciclina. O surgimento das bandas 2925 e 2850 cm^{-1} associadas ao estiramento da ligação C-H indica a presença do fármaco incorporado ao material. Além disso, o espectro mostra bandas relativas à deformação angular dos grupos $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ em 1450 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} , respectivamente. O espectro mostra uma banda larga na região 1710 - 1500 cm^{-1} que provavelmente é uma sobreposição das bandas relativas à deformação angular N-H e aos estiramentos C=O e C=C dos grupos aromáticos. A banda larga em 3640 – 3230 cm^{-1} está relacionada com ao estiramento da ligação -OH existentes no fármaco, além daqueles grupos silanol e da água que ainda pode estar adsorvida no material. (Silverstein and Webster, 1998).

A espectroscopia de infravermelho possibilitou a verificação da presença da tetraciclina nas partículas de magnetita revestidas com sílica, porém não foi possível observar o tipo de interação que liga os fármacos a estas partículas, já

que não foram observadas mudanças nas formas das bandas de absorção, nem deslocamentos de tais bandas para outras frequências.

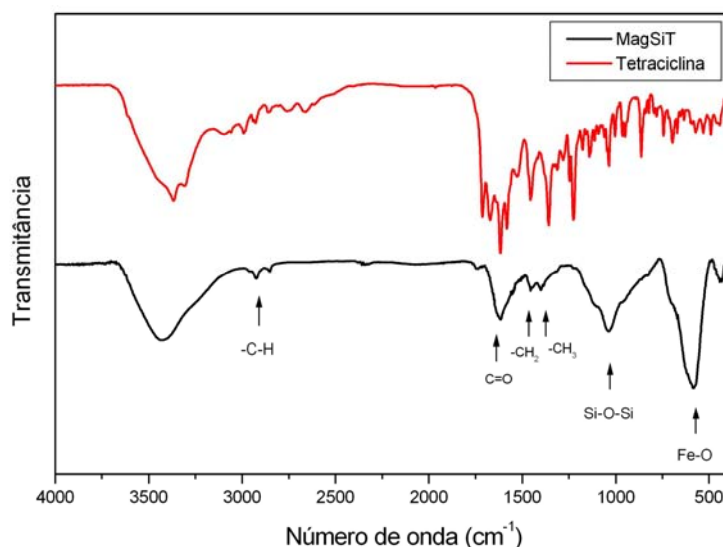


Figura 4.1. Espectro de FTIR da amostra MagSiT e da Tetraciclina.

A figura 4.2 mostra o espectro de infravermelho da amostra MagSiH. A incorporação do fármaco à magnetita revestida com sílica também pôde ser confirmada pela presença dos grupos funcionais da hidrocortisona. As principais diferenças observadas entre os espectros das amostras MagSi e MagSiH foram a presença das bandas 2924 e 2852 cm^{-1} associadas aos estiramentos C-H e 1714 cm^{-1} relacionada ao estiramento C=O. Além disso, foram observadas bandas em 1227 e 1364 cm^{-1} , relativas aos estiramento C-O e a vibração O-H do grupo funcional álcool. Comparando o espectro da amostra MagSiH com o espectro do fármaco isolado pode se observar o deslocamento da banda 1658 cm^{-1} para 1631 cm^{-1} e da banda 1413 cm^{-1} para 1364 cm^{-1} . O deslocamento observado para a banda relativa à ligação C=C e a mudança na forma das bandas de estiramento C-H podem estar relacionados com alguma interação entre a hidrocortisona e os precursores da sílica durante a síntese. (Sieminska and Zerda, 1996; Andrade et al., 2008). Já o deslocamento da banda de absorção relacionada com a vibração O-H pode

estar relacionado com algum tipo de interação de hidrogênio entre o grupo funcional álcool e os grupos silanóis da superfície da sílica. Outra evidência da formação de ligação entre os grupos silanóis da superfície da sílica e o fármaco é o desaparecimento da banda relativa à ligação Si-OH no espectro da amostra MagSiH (Seminska and Zerda, 1996). As bandas relativas à sílica e a magnetita também foram observadas no espectro da amostra MagSiH.

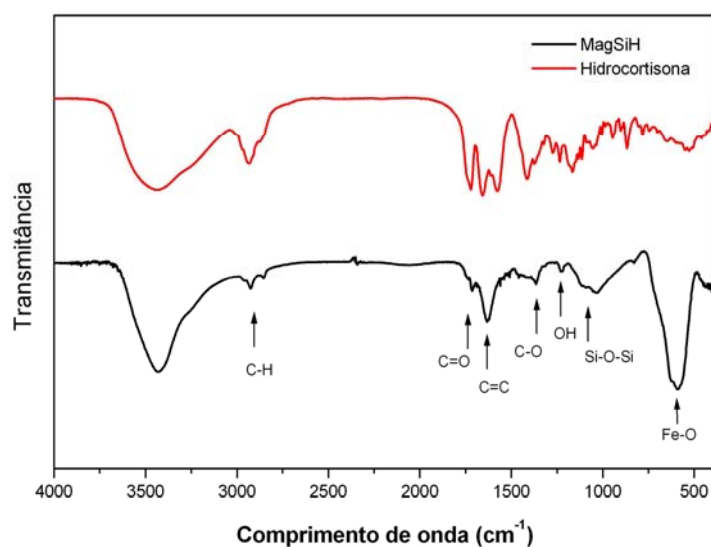


Figura 4.2. Espectro de FTIR para a amostra MagSiH e hidrocortisona

As principais bandas que confirmam a presença do paclitaxel na partícula estão indicadas no espectro da figura 4.3.

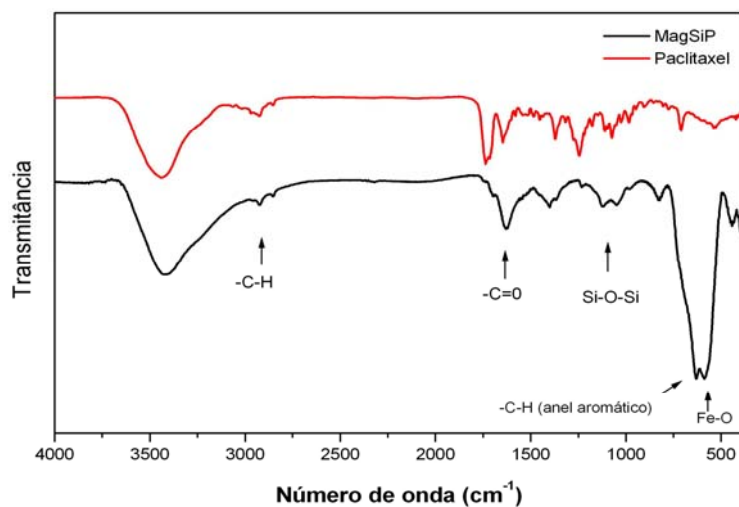


Figura 4.3. Espectro de FTIR para a amostra MagSiP e paclitaxel.

O espectro apresentado para a amostra MagSiP mostrou bandas associadas ao estiramento C-H em 2926 e 2847 cm^{-1} e também a banda relativa à deformação de grupos C-H aromáticos em 630 cm^{-1} . A banda relativa ao estiramento C=O de amida que ocorre em 1625 cm^{-1} mostrou-se consideravelmente alargada e deslocada em relação à banda do fármaco que aparece em 1645 cm^{-1} . O deslocamento e a mudança de forma da banda podem estar relacionados com a interação de hidrogênio entre a superfície da sílica e os grupos funcionais do fármaco. Além disso, pode ser também observada a banda relativa à deformação $-\text{CH}_3$ que ocorre em 1370 cm^{-1} . Em todos os casos não foram observadas evidências de formação de ligações do fármaco com a magnetita.

Análise Térmica

As curvas de análise térmica são mostradas nas figuras 4.4, 4.5.

As amostras MagSiT e MagSiH mostraram uma perda de massa de 8,56% e 11,36% da massa total, respectivamente entre a temperatura ambiente e 500 $^{\circ}\text{C}$. A redução de massa abaixo de 100 $^{\circ}\text{C}$ foi atribuída à perda de moléculas de água até em torno de 100 $^{\circ}\text{C}$. Acima de tal temperatura ocorre a combustão dos fármacos, hidrocortisona e tetraciclina, incorporados à partícula (MagSi).

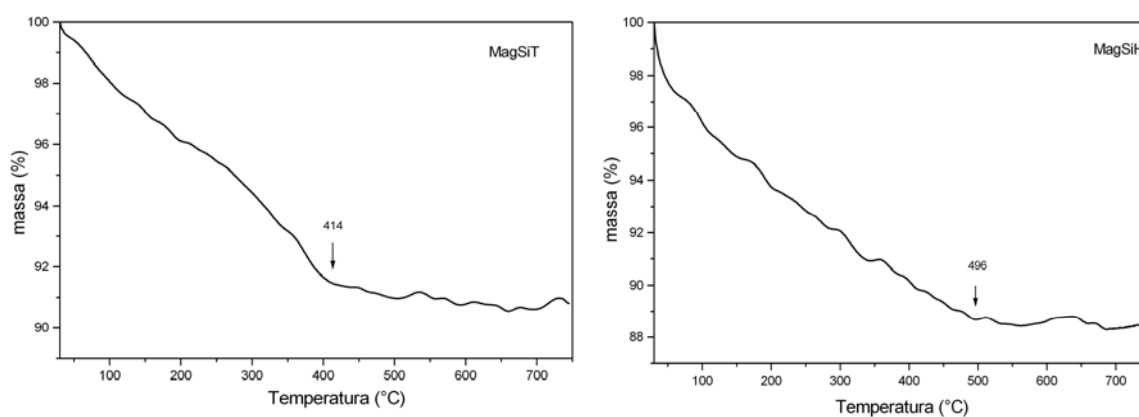


Figura 4.4. Curvas de TG das amostras MagSiT e MagSiH.

A amostra MagSiP mostrou duas reduções de massa, sendo a redução total igual a 8,4% da massa inicial. A primeira perda de massa ocorre até a temperatura de 96° C e é atribuída à eliminação de moléculas de água adsorvidas na superfície da partícula. A partir de 96° C, observou-se outra perda de massa que ocorreu até 660° C, sendo associada à combustão das moléculas do fármaco paclitaxel.

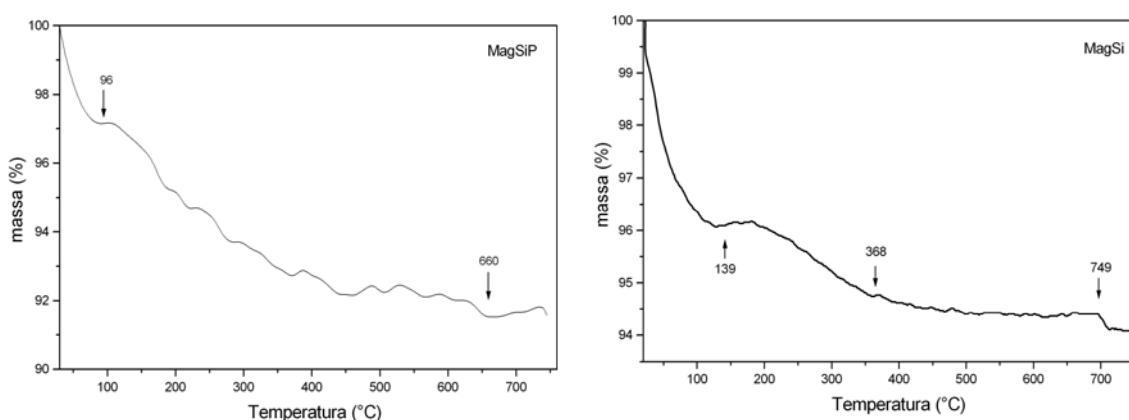


Figura 4.5. Curvas de TG das amostras MagSiP e MagSi.

Comparando a redução de massa obtida para a amostra MagSi e as amostras que contêm fármacos (MagSiT, MagSiH e MagSiP) foi possível observar que a amostra sem os fármacos apresentou uma menor redução de massa. Estes resultados, juntamente com os espectros de infravermelho, confirmaram a incorporação dos fármacos nas nanopartículas revestidas com sílica.

Potencial Zeta

A curva do potencial zeta em função do pH também foi utilizada para observar mudanças ocorridas na superfície da partícula revestida com sílica. A figura 4.6

mostra as diferenças observadas entre as curvas da magnetita, magnetita revestida e a amostra MgSiT. Pôde ser observado o deslocamento do pH do ponto isoeletrônico quando foi adicionado o fármaco à partícula revestida, evidenciando alguma modificação na carga da superfície. As mudanças observadas sugerem que todos os fármacos ligam, pelo menos em parte, à superfície da partícula.

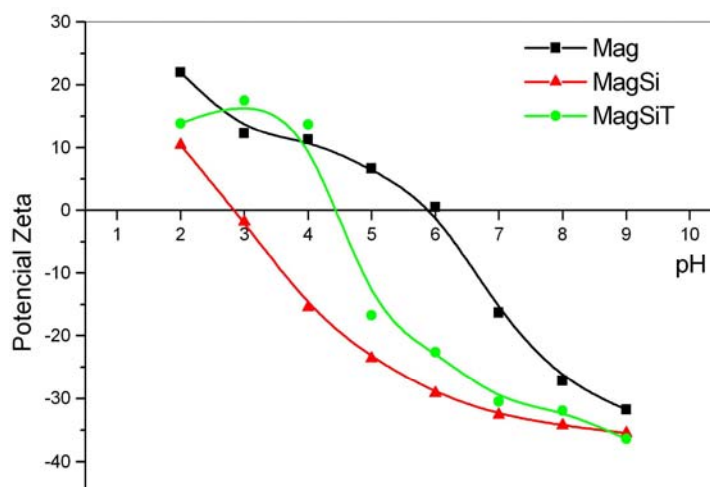


Figura 4.6. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiT em função do pH.

A tetraciclina é uma molécula anfótera devido a presença de grupos funcionais que são ácidos e bases de Lewis que podem estar na forma de cátions, zwitterions (+ - 0) ou ainda na forma de ânions, dependendo do pH no qual a molécula se encontra. Em pH's básicos os grupos OH estarão fortemente negativos e o grupo $-NH_2$ da amida encontra-se desprotonado, refletindo valores altos e negativos de potencial zeta. Entre pH's 5,5 e 7 predominam espécies neutras e negativas levando o potencial zeta a valores menos negativos, como pode ser observado na curva da figura 4.6. Abaixo do pH 5,5, as espécies predominantes da tetraciclina são positivas ou neutras, sendo esperado um valor positivo de potencial zeta [Wang et al., 2008]. Porém

observa-se que até o pH 4,4 o potencial zeta é ainda negativo, uma possível justificativa seria o recobrimento parcial da superfície da magnetita revestida pelo fármaco deixando parte da superfície de sílica exposta o que pode causar alguma influência na medida do potencial zeta. A variação do potencial zeta da amostra MagSiT com o pH está de acordo com o comportamento esperado para a tetraciclina, indicando a presença do fármaco na superfície da magnetita revestida com sílica. Outro comportamento observado é o deslocamento do ponto isoeletrônico PI. Para a magnetita revestida com sílica, o pH_{PI} é igual a 2,8 e para partícula na qual tetraciclina foi adicionada, o valor obtido foi de 4,4.

O potencial zeta máximo da amostra MagSiT foi obtido nos pH's 3 e 9 (18 mV e 36 mV em módulo), além disso o gráfico da figura 4.6 indica que a partir do pH = 7 a suspensão em água já se torna estável (potencial zeta ~ -30 mV).

As curvas do potencial zeta em função do pH das amostras MagSiH e MagSiP são mostradas nas figuras 4.7 e 4.8. Para as duas amostras também foi possível observar o deslocamento do PI em relação ao PI da magnetita revestida com sílica, indicando o recobrimento da superfície da sílica com os fármacos. A curva obtida para a partícula com hidrocortisona apresenta um comportamento parecido com aquele observado para a partícula com tetraciclina. O ponto isoeletrônico para esta amostra foi obtido em pH 3,8 e de acordo com os valores de potencial zeta obtidos a suspensão deste material em água é estável acima do pH = 8 (potencial zeta ~ -30 mV).

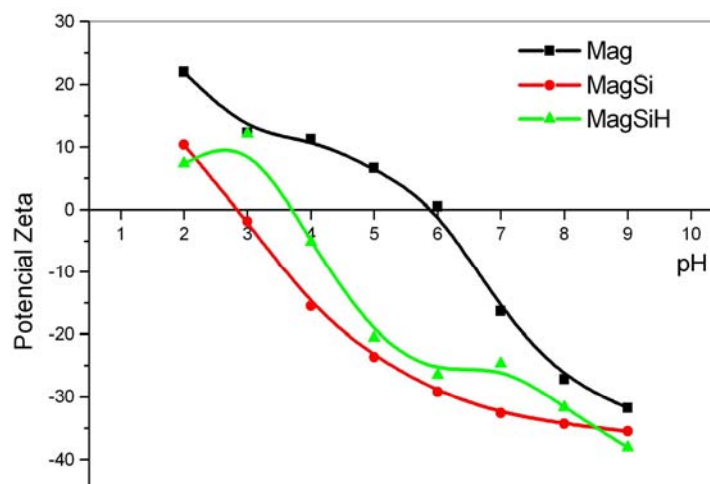


Figura 4.7. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSiH e MagSi em função do pH.

Apesar da amostra MagSiP apresentar o menor deslocamento do ponto isoelétrico ($\text{pH}_{\text{PI}} = 3,3$) em relação à sílica o perfil da curva de potencial zeta em função do pH mostrou-se diferente daquele observado para a curva da amostra MagSi (figura 4.8), o que permite concluir que há paclitaxel na superfície da partícula MagSiP. A suspensão da amostra MagSiP não se mostrou estável na faixa de pH na qual o potencial zeta foi medido.

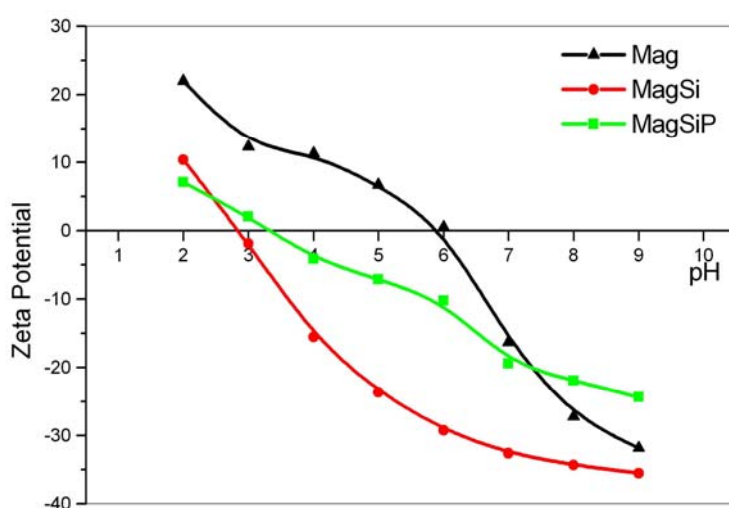


Figura 4.8. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSiP e MagSi em função do pH.

Liberação controlada

Os perfis da liberação controlada dos fármacos em solução SBF a 37°C estudados em função do tempo são mostrados nas figuras 4.9, 4.10 e 4.12.

A figura 4.9 mostra que a curva de liberação da tetraciclina apresentou um padrão trifásico.

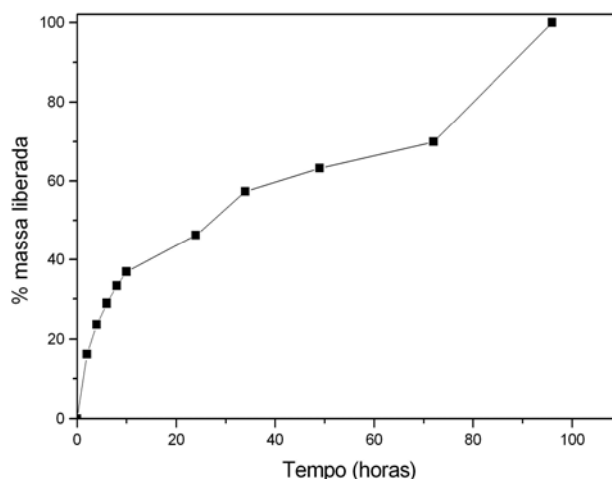


Figura 4.9. Curva da porcentagem da massa da tetraciclina liberada para a amostra MagSiT em função da tempo.

Inicialmente foi observado um rápido aumento da quantidade de fármaco liberada. Após 10 horas, é observada uma mudança na inclinação da curva, indicando uma redução da taxa de liberação. O comportamento da curva muda novamente quando a liberação atinge 72 horas, mostrando um aumento da taxa de liberação até 96 horas, quando é observado o final da liberação. A liberação da tetraciclina alcança 50% nas primeiras 24 horas. Este aumento rápido nas primeiras horas, denominado *burst effect* é atribuído à dissolução da droga localizada na superfície da partícula e está de acordo com os resultados de potencial zeta que indicam que há tetraciclina na superfície da amostra MagSiT (Andrade et al., 2008). Até 72 horas são liberados em torno de 65% do fármaco.

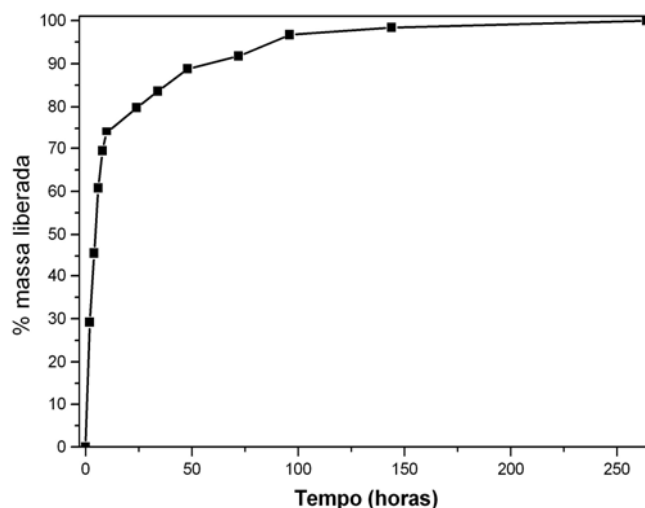


Figura 4.10. Curva da porcentagem da massa de hidrocortisona liberada para a amostra MagSiH em função da tempo.

A curva de liberação controlada da hidrocortisona também exibiu um comportamento trifásico. A primeira etapa da liberação mostra um *burst effect* até o tempo igual a 10 horas, sendo liberados em torno de 75% da massa de hidrocortisona. Após esta etapa, observa-se uma mudança na inclinação da curva, indicando uma redução da quantidade de massa liberada, até o tempo $t = 96$ horas, com uma liberação de cerca de 95%. A partir de 96 horas, a curva atinge um patamar, sendo observado o mesmo perfil até o final da liberação ($t = 264$ horas). O *burst effect* mostra-se mais acentuado que aquele obtido para a tetraciclina, como pode ser observado na figura 4.10 podendo ser atribuído a uma maior quantidade de moléculas de hidrocortisona distribuídas na superfície da partícula. Apesar do *burst effect* mais acentuado a hidrocortisona foi liberada em um tempo maior que o dobro do tempo gasto para a liberação da tetraciclina. Comparando as duas curvas pôde-se observar que no tempo $t = 24$ horas cerca de 80 % da massa de hidrocortisona já se encontra liberada, enquanto que para a curva da tetraciclina apenas 43% da massa total foi liberada. Nas quatro primeiras horas de liberação, pôde-se observar que houve

a liberação de cerca de 45% da hidrocortisona. A liberação atinge 90% da massa total da hidrocortisona em 72 horas.

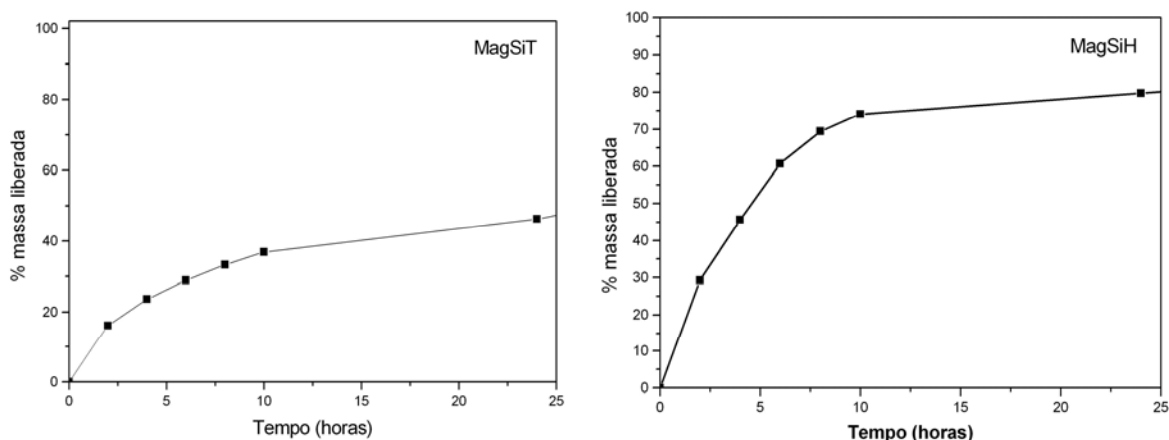


Figura 4.11. Curvas da porcentagem da massa de hidrocortisona liberada para a amostra MagSiH e de tetraciclina liberada para a amostra MagSiT em função do tempo.

A curva de liberação controlada do paclitaxel mostrou um perfil muito diferente daquelas curvas obtidas para a tetraciclina e a hidrocortisona. A curva da figura 4.12 mostra uma liberação inicialmente rápida seguida por uma liberação muito lenta quando comparada com os outros fármacos. Nas primeiras 24 horas é observada a liberação de aproximadamente 35% do fármaco que continua aumentando consideravelmente até o 21º dia (504 horas), quando cerca de 90% do fármaco foi liberado. Depois é observada uma liberação lenta e contínua até 42º dia (1008 horas). Este perfil de liberação está associado com a baixa solubilidade do paclitaxel em água. (Jain et al., 2008; Hamoudeh et al., 2008). A liberação inicial rápida pode ser associada ao *burst effect*, este efeito obtido nas primeiras 24 horas pode ser interessante, já que é clinicamente desejável para o tratamento de câncer alcançar altas concentrações da droga no tumor no início do tratamento, seguida por uma prolongada liberação de

drogas a uma taxa suficiente para manter os níveis terapêuticos de droga constantes no tumor. (Hamoudeh et al., 2008).

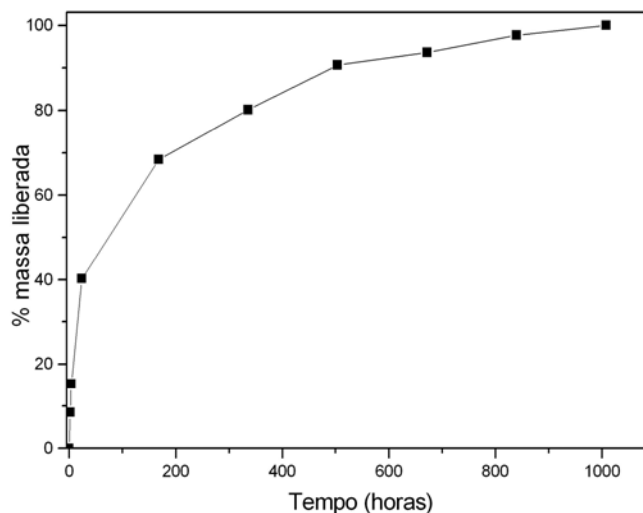


Figura 4.12. Curva da porcentagem da massa do paclitaxel liberado para a amostra MagSiP em função da tempo.

Para avaliar o mecanismo envolvido na liberação foram aplicados três modelos matemáticos para a interpretação da cinética de dissolução dos sistemas de liberação controlada de fármacos. Os modelos aplicados são o modelo de ordem zero, o modelo de primeira ordem e o modelo de Korsmeyer-Peppas baseado no modelo de Higuchi. O modelo de ordem zero pode ser expresso pela equação 4.1.

$$Q_t = K_0 t \quad (4.1)$$

Onde Q_t é a quantidade do fármaco liberado no tempo t e K_0 a constante de velocidade de dissolução. O gráfico da fração de fármaco liberada em função do tempo será linear se a liberação controlada seguir um mecanismo de ordem zero. (Costa e Lobo, 2001)

Um sistema de liberação controlada que segue uma cinética de primeira ordem é descrito pela equação 4.2.

$$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2,303} \quad (4.2)$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco liberada no tempo t , Q_0 a quantidade inicial de fármaco na solução e K_1 a constante de liberação de primeira ordem. O gráfico do logaritmo decimal da quantidade de fármaco liberada em função do tempo decorrido de ensaio deverá ser linear para um sistema de liberação controlada de primeira ordem (Costa e Lobo, 2001).

O modelo de Higuchi foi desenvolvido para estudar a liberação de fármacos solúveis e pouco solúveis incorporados em matrizes sólidas ou semi-sólidas. De acordo com o modelo de Higuchi a droga na camada superficial do sistema dissolvida na matriz difunde para fora desta após o contato com a solução usada como meio de liberação. A cinética da liberação é descrita pela equação 4.3, sendo esperada uma reta para a quantidade de fármaco liberada em função da raiz quadrada do tempo.

$$Q_t = Kt^{1/2} \quad (4.3)$$

Onde Q_t é a quantidade total da droga liberada, K a constante de liberação e t é o tempo. A partir do modelo de Higuchi foi desenvolvido o modelo de Korsmeyer-Peppas, equação 4.4, que inclui outros mecanismos de liberação além da difusão fickiana, como os processos anômalos e caso II e pode ser aplicado a materiais com diversas geometrias, incluindo a geometria esférica.

$$Q_t / Q_\infty = Kt^n \quad (4.4)$$

Onde Q_t / Q_∞ é a liberação fracional do soluto, t é o tempo de liberação, K é uma constante que incorpora características estruturais e geométricas da forma farmacêutica e n é o expoente de liberação, característico do mecanismo de

liberação. Esta equação deve ser aplicada até 60% da quantidade do fármaco liberado. O parâmetro n é dado como a inclinação da curva $\ln(M_t / M_\infty)$ versus $\ln(t)$ (Costa e Lobo, 2001).

Tabela 4.1 Expoente de liberação (n) e o mecanismo de liberação controlada correspondente

Expoente de liberação (n)	Mecanismo de liberação do fármaco
0,43	Difusão de acordo com a lei de Fick
$0,43 < n < 1,0$	Transporte anômalo
1,0	Ordem zero – transporte do caso II

Os valores do coeficiente de correlação (R^2) obtidos para cada modelo aplicado a cada tipo de fármaco são representados na tabela 4.2. O modelo matemático se aplica ao sistema quando $R^2 \geq 0,99$.

Tabela 4.2 Coeficiente de correlação obtido para cada modelo matemático aplicado para as amostras MagSiT, MagSiH e MagSiP.

Amostra	Coeficiente de correlação R^2		
	Ordem zero	Primeira ordem	Korsmeyer-Peppas
MagSiT	0,919	0,886	0,998
MagSiH	0,984	0,895	0,989
MagSiP	0,948	0,888	0,999

De acordo com os valores obtidos para os coeficientes de correlação o modelo matemático que melhor descreve a liberação controlada de todas as amostras

estudadas é o modelo de Korsmeyer-Peppas. Os valores obtidos para o expoente de liberação são mostrados na tabela 4.3.

Tabela 4.3 Valores do expoente de liberação e constante cinética K obtidos aplicando o modelo matemático de Korsmeyer-Peppas às amostras MagSiT, MagSiH e MagSiP.

Amostra	n	K	Mecanismo
MagSiT	0,51	11	Transporte anômalo
MagSiH	0,66	6	Transporte anômalo
MagSiP	0,60	18	Transporte anômalo

Para a liberação dos sistemas estudados os valores de n estão em boa concordância com o n para uma partícula esférica no qual o mecanismo é um transporte anômalo, ou seja, a liberação segue um modelo não-Fickiano. Um padrão de transporte anômalo é aquele que combina o mecanismo de difusão Fickiano e o fenômeno de liberação mediante erosão da matriz. (Lopez et al., 2005; Costa and Lobo, 2001). O mecanismo de liberação mediante erosão, chamado modelo do caso II, para os casos estudados estão associados com a aglomeração das partículas do sistema nanopartículas revestidas-fármacos. De acordo com Domingues et al., o solvente penetra nas partículas que sofrem desaglomeração através do processo de erosão, levando a um aumento da área superficial com conseqüente dissolução dos fármacos, pelo processo de difusão (Domingues et al., 2008).

Como pôde ser observado com os resultados acima as amostras MagSiT, MagSiH e MagSiP apresentaram diferentes perfis de liberação controlada, apesar da liberação envolver o mesmo tipo de mecanismo nos três casos. As diferentes características estruturais dos fármacos implicam em diferentes

interação fármaco – partícula (MagSi) e fármaco – solvente, afetando o perfil e a velocidade da liberação. A figura 4.13 mostra as moléculas dos fármacos, succinato sódico de hidrocortisona, cloridrato de tetraciclina e paclitaxel.

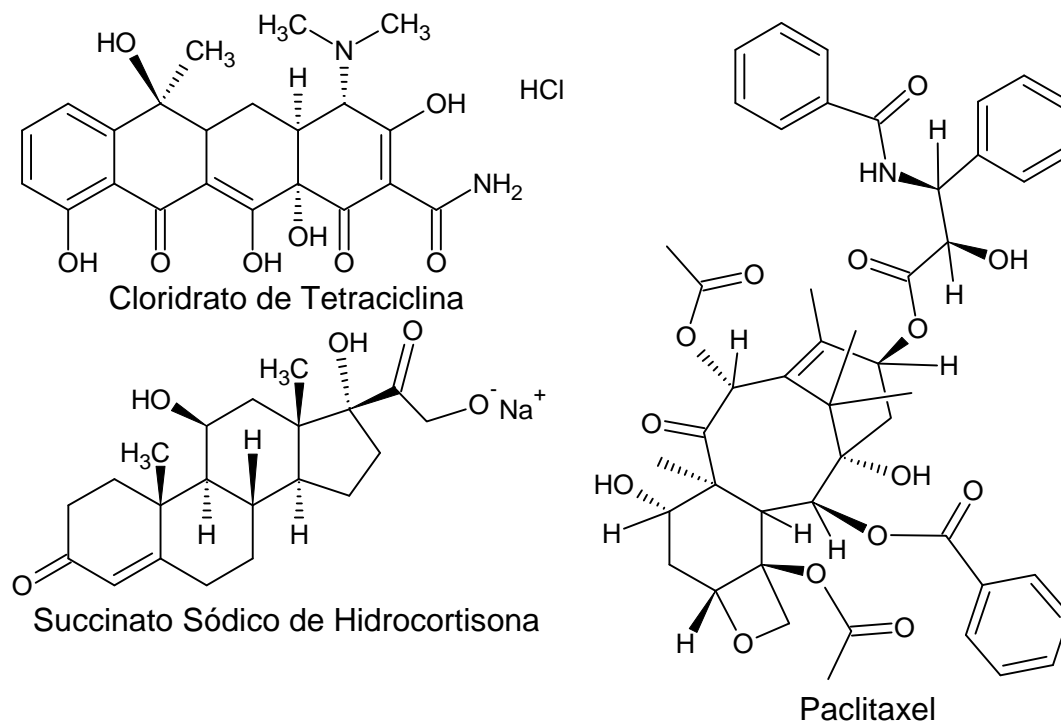


Figura 4.13. Fórmula estrutural dos fármacos cloridrato de tetraciclina, succinato sódico de hidrocortisona e paclitaxel.

As diferenças observadas entre a liberação da tetraciclina (MagSiT) e da hidrocortisona (MagSiH) podem estar relacionadas com o tipo de ligação entre os fármacos e as partículas. O estudo por espectroscopia de infravermelho da amostra MagSiT não foi suficiente para mostrar o tipo de interação da partícula MagSi com a tetraciclina, porém este fármaco apresenta muitos grupos que podem interagir por meio de interação de hidrogênio com a sílica, podendo-se assumir que este tipo de interação está presente na partícula MagSiT. Os dados de infravermelho bem como resultados obtidos por outros autores (Andrade et al., 2008; Sieminska and Zerda, 1996) sugerem que a molécula de hidrocortisona pode reagir com os precursores da sílica formando algum tipo de

ligação desconhecida, além disso, os dados também sugerem formação de ligação de hidrogênio, isto pode indicar uma interação de natureza mais forte da hidrocortisona com a partícula (MagSi) que a interação observada para o fármaco cloridrato de tetraciclina, explicando a liberação mais lenta da hidrocortisona quando comparada com a tetraciclina.

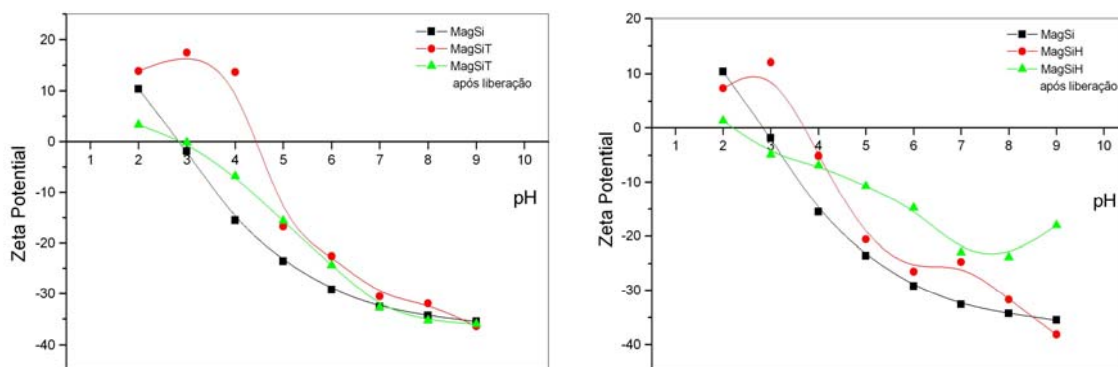


Figura 4.14. Curvas do potencial zeta das amostras MagSiT e MagSiH após a liberação controlada em função do pH.

As curvas de potencial zeta em função do pH obtidas para as amostras após a liberação controlada são também indicativas das diferentes interações. A curva obtida para a amostra MagSiT após a liberação controlada mostra um perfil muito parecido com a curva de potencial zeta da amostra MagSi, indicando que provavelmente a maior parte da tetraciclina foi liberada, possivelmente devido a interação mais fraca do fármaco com partícula. Já a curva MaSiH após a liberação controlada tem alguma similaridade com a curva da amostras antes da liberação controlada, apesar de haver o deslocamento do ponto isoeletrônico indicando que certa quantidade do fármaco pode ainda estar presentes nas amostras mesmo após a liberação controlada, o que reforça a observação de interação mais forte.

Como não foram observadas evidências de formação de ligações entre a molécula do paclitaxel e a partícula MagSi, além de ligações de hidrogênio,

através dos espectros de infravermelho a liberação lenta do paclitaxel (MagSiP) em relação aos outros fármacos foi associada somente a baixa solubilidade do fármaco em água. A curva de potencial zeta em função do pH da amostra MagSiP após a liberação controlada é mostrada na figura 4.15. A curva obtida apresentou o deslocamento do ponto isoeletrônico, porém mostrou um perfil parecido com o obtido para a amostra MagSiP, indicando assim como para a amostra MagSiH, que, mesmo após a liberação controlada, há uma certa quantidade de fármaco presente na amostra. Neste caso a permanência de certa quantidade de fármaco na partícula pode ser relacionada à baixa solubilidade do fármaco.

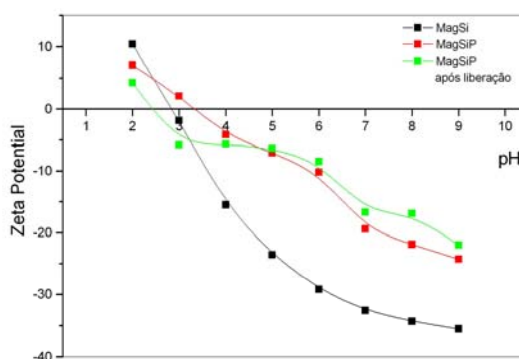


Figura 4.15. Curva do potencial zeta das amostras Mag, MagSi e MagSiP após a liberação controlada em função do pH.

5 - Considerações finais

Neste trabalho foi sintetizada a magnetita em escala nanométrica pelo método de redução-precipitação. As caracterizações por difração de raios-X e espectroscopia Mossbäuer sugerem que há magnetita na fase magnética formada.

Através de espectroscopia Mossbäuer e imagens de microscopia eletrônica de transmissão foi mostrado que as partículas foram sintetizadas com uma distribuição de tamanho e as duas técnicas mostraram valores próximos entre si, porém consideravelmente discrepantes do valor obtido por difração de raios-X.

O revestimento da magnetita com sílica através do método sol-gel também foi realizado e as mudanças na superfície após este revestimento foram confirmadas por variações na curva de potencial zeta em função do pH. Os estudos por espectroscopia no infravermelho também mostraram-se úteis na confirmação da eficiência do processo de revestimento. Além disso, os resultados de espectroscopia Mossbäuer e difração de raios-X indicaram que o processo de revestimento não afetou o estado de oxidação da magnetita.

A segunda parte do trabalho que consistiu do estudo da incorporação de fármacos e liberação controlada foi realizada com sucesso. Nesta etapa, a incorporação dos fármacos foi estudada pelas técnicas de espectroscopia no infravermelho, análise termogravimétrica e medidas de potencial zeta. A tetraciclina foi incorporada à magnetita revestida com sílica, porém as técnicas de caracterização utilizadas não permitiram verificar qual tipo de interação ocorre entre este fármaco e a sílica. Os fármacos hidrocortisona e paclitaxel

também foram incorporados à nanopartícula magnética revestida e os estudos realizados por espectroscopia no infravermelho sugerem que estes fármacos interagem com a magnetita revestida com sílica através de interação de hidrogênio.

O comportamento das curvas de liberação controlada mostrou uma forte dependência com o tipo de fármaco. O modelo matemático que melhor descreve a liberação controlada de todas as amostras estudadas é o modelo de Korsmeyer-Peppas, descrevendo um mecanismo de liberação anômalo que combina o mecanismo de liberação fickiano e a liberação mediante erosão do revestimento de sílica.

Propostas futuras

- ✓ Síntese da magnetita através de outras rotas sintéticas a fim de comparar qual o método mais adequado para a obtenção de partículas menores e com distribuição de tamanho mais uniforme.
- ✓ Estudos sobre a estabilidade das suspensões da magnetita nanoparticulada revestida com sílica e não revestida.
- ✓ Estudos para avaliar a quantidade do fármaco incorporada na partícula.
- ✓ Realização dos experimentos de liberação controlada dos fármacos em presença de campo magnético.
- ✓ Estudos mais detalhados sobre o tipo de interação dos fármacos com a sílica e a interação dos fármacos com a magnetita.
- ✓ Testes de bioatividade e biocompatibilidade.

6 – Referências bibliográficas

ANDRADE, A. L., MANZI, D., DOMINGUES, R.Z., Tetracycline and própolis incorporation and release by bioactive glassy compounds. ***Journal of Non-Crystalline Solids***, v. 352, 3502-3507, 2006.

ANDRADE, A. L., MANZI, D., VASCONCELLOS, W. A., FERREIRA, R.V., DOMINGUES, R.Z., Tetracycline and/or hydrocortisone incorporation and release by bioactive glasses compounds. ***Journal of Non-Crystalline Solids***, v.355, 811-816, 2009.

BABES, L., DENIZOT, B., TANGUY, G., LE JEUNE, J. J., JALLET, P., Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: a parametric study. ***Journal of Colloid Interface and Science***, v. 212, 474-482, 1999.

BERKOWITZ A.J. SCHUELE, W. J., Influence of Crystallite Size on the Magnetic Properties of Acicular γ -Fe₂O₃ particles. ***Journal of Applied Physics***, v. 39, 1261-1263, 1968.

BERRY, C.C.; CURTIS, A.S.G. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. ***Journal of Physics D: Applied Physics***, v. 36, p. 198-206, 2003.

COEY, J.M.D., Noncollinear spin arrangement in ultrafine ferrimagnetic ***Crystallites***. ***Physical Review Letters***, v.27, 1140-1142, 1971.

COSTA P., LOBO J. M. S., Modeling and comparison of dissolution profiles. ***European Journal of Pharmaceutical Sciences***, v. 13, 123-133, 2001.

CULLITY, B.D. Introduction to magnetic materials. Addison Wesley Publishing Company, 1972.

DENG H. Y., WANG, C. C., HU, J. H., YANG, W. L., FU, S. K. Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel, approach. ***Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects***, v. 262, 87-93, 2005.

DOMINGUES, G. S., GUTERRES, S.S., BECK, R.C.R., POHLMANN, A. R., Micropartículas nanorrevestidas contendo um fármaco modelo hidrofóbico: preparação em etapa única e caracterização biofarmacêutica. **Química Nova**, v.31, 1966-1972, 2008.

EARNSHAW, A. Introduction to magnetochemistry. Academic Press Inc., 1968.

FABRIS, J.D., COEY, J.M.D. Espectroscopia Mössbauer do ^{57}Fe e Medidas Magnéticas na Análise de Geomateriais. Tópicos em Ciências do Solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2:47-102 (2002).

FARAJI, A.H., WIPF, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, 2950-2962, 2009.

GILCHRIST, R. K., MEDAL, R., SHOREY, W. D., HANSELMAN, R. C., PARROT, J.C., TAYLOR, C. B. Selective inductive heating of lymph nodes. **Annals of Surgery**, v.146, 596-606, 1957.

GRIBANOV, N. M., BIBIK, E. E., BUZUNOV, O. V., NAUMOV, V. N., Physico-chemical regularities of obtaining highly dispersed magnetite by the method of chemical condensation. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 85, 7-10, 1990.

GUIMARÃES, A.P. Propriedades magnéticas de sistemas granulares. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 22, 382-386, 2000.

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

HAMOUEDEH, M., DIAB, R., FESSI, H., DUMONTET, C., CUCHET, D., Paclitaxel-loaded microparticles for intratumoral administration via the TMT technique: preparation, characterization, and preliminary antitumoral evaluation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, 698-707, 2008.

HARRIS, A.L. Polymer stabilized magnetite nanoparticles and poly(propylene oxide) modified styrene-dimethacrylate networks. Tese, 2002.

HONG, R.Y., FU, H.P., DI, G.Q., ZHENG, Y., WEI, D.G. Facile route to γ -Fe₂O₃/SiO₂ nanocomposite used as a precursor of magnetic fluid. **Materials Chemistry and Physics**, v. 108, 132-141, 2008.

ISHIKAWA, T., NAKAZAKI, H., YASUKAWA, A., KANDORI, K., SETO, M., Structure and properties of magnetite formed in the presence of nickel(ii) ions. **Material Research Bulletin**, v. 33, 1609-1619, 1998.

ITO, A.; SHINKAI M.; HONDA H.; KOBAYASHI T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.100, 1-11, 2005.

JAIN, T.K., RICHEY, J., STRAND, M., LESLIE-PELECKY, D.L., FLASK, C.A., LABHASESTWAR, V., Magnetic nanoparticles with dual functional properties: Drug delivery and magnetic resonance imaging. **Biomaterials**, v. 29, 4012-4021, 2008.

JITIANU, A., RAILEANU, M., CRISAN, M., PREDOI, D., JITANU, M., STANCIU, L., ZAHARESCU, M., Fe₃O₄-SiO₂ nanocomposites obtained via alkoxide and colloidal route. **Journal Sol-Gel Science Technology**, v. 40, 317-323, 2006.

JOLIVET, J.P., BELLEVILLE, P., LIVAGE, J. Influence of Fe(II) on the formation of the spinel iron oxide in alkaline medium. **Clays Clay Minerals**, v. 40, 531-539, 1992.

KODAMA, R.H., BERKOWITZ, A.E., MCNIFF, E.J. and FONER, S., Surface spin disorder in NiFe₂O₄ nanoparticles. **Physical Review Letters**, v. 77, 394-397, 1996.

LAURENT, S.; FORGE, D.; PORT, M.; ROCH, A.; ROBIC, C.; ELST, L.V.; MULLER, R.N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical Review**, v. 108, p. 2064-2010, 2008.

LOPES C. M., LOBO J. M. S., COSTA P., Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.41, 143-154, 2005.

MORALES, M. P., ANDRES-VERGES, M., VEINTEMILLAS-VENDAGUER, S., MONTERO, M. I., SERNA, C. J. Structural effects on the magnetic properties of γ -Fe₂O₃. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v.203, 146-152, 1999.

MORUP, S., Mössbauer spectroscopy studies of suspensions of Fe₃O₄ microcrystals. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 39, 45-47, 1983.

O'GRADY, K.; BRADBURY, A., Particle size analysis in ferrofluids. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v.39, 91-94, 1983.

PANKHURST, Q. A., CONNOLLY, J. JONES, S. K. DOBSON, J., Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, 167-181, 2003.

PARDOE, H., CHUA-ANUSORN, W., ST. PIERRE, T. G., DOBSON, J. Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 225, 41-46, 2001.

QU, S., YANG, H., REN, S., KAN, S., ZOU, G., LI, D., LI, M., Magnetite nanoparticles prepared by precipitation from partially reduced ferric chloride aqueous solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 215, 190-192, 1999.

RASVAND, W. Image processing and analysis in Java URL <http://rsb.info.nih.gov/ij> 06-10-2004.

REZENDE, S. M. Física de materiais e dispositivos eletrônicos, Ed. UFPE, 1996.

RIBEIRO, G. A. P. As propriedades magnéticas da matéria: Um primeiro contato. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 22, 299-305, 2000.

ROSENSWEIG, R. E., Magnetic fluids, **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 19, 437-463, 1987.

SATO T., IJIMA, T., SEKIN, M. INAGAKI, N., Magnetic properties of ultrafine ferrite particles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 65, 252-256, 1987.

SCHERER, C., NETO, A. M. F. Ferrofluids: properties and applications. **Brazilian Journal of Physics**, v. 35, 718-729, 2005.

SHINKAI, M. Functional magnetic particles for medical application. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.94, 606-613, 2002.

SIEMINSKA, L., ZERDA, T.W., Diffusion of Steroids from Sol-Gel Glass. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, 4591-4597, 1996.

SILVERSTEIN, R., M., WEBSTER, F., X., Spectrophotometric identification of organic compounds. John Wiley & Sons, Inc, 6th edition, 1998.

SOUZA, K. C., Síntese e Caracterização de Nanocompositos de Sílica Mesoporosa com Partículas Magnéticas para Dispositivos de Liberação Controlada de Fármacos, Dissertação de Mestrado, 2007.

STÖBER, W., FINK, A., BOHN, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 26, 62-69, 1968.

SUGIMOTO, T., MATIJEVIC, E., Formation of uniform spherical magnetite particles by crystallization from ferrous hydroxide gels. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.74, 227-243, 1980.

SUN, S., ZENG, H., Size-Controlled synthesis of magnetite nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, 8204-8205, 2002.

TARAT, P., MORALES, M. P., GONZÁLEZ-CARRENO, T., VEINTEMILLAS-VERDAGUER, S., SERNA, C.J. Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, v. 290, 28-34, 2005.

TEBBLE R. S., CRAIK D. J., *Magnetic Materials*, Wiley-Interscience, London, **1969**.

TOPSOE, H., DUMESIC, J.A., BOUDART, M., Mössbauer spectra of stoichiometric and nonstoichiometric Fe₃O₄ microcrystals. ***Journal de Physique Colloques***, v. 35, 411-413, 1974.

VALENZUELA, R. *Magnetic Ceramics*, Cambridge University Press, 1994.

WANG, Y.J., JIA, D. A., SUN, R. J., ZHU, H.W., ZHOU, D.M., Adsorption and cosorption of tetracycline and copper(II) on montmorillonite as affected by solution pH. ***Environment Science Technology***, v. 42, 3254-3259, 2008.

XIANG, C. C., QIAO, S.Z., YU, C.Z., ISMADJI, S., LU, G.Q.M., Periodic mesoporous silica and organosilica with controlled morphologies as carriers for drug release. *Microporous and Mesoporous Materials*, v.117, v.213-219, 2009.