UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

CAMPUS POÇOS DE CALDAS

JULIANA CRISTINA DE FREITAS

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

POÇOS DE CALDAS/MG

2015

JULIANA CRISTINA DE FREITAS

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.
Orientador: Rodrigo Fernando Costa Marques.
Co-orientadora: Maria Gabriela Nogueira Campos.

Poços de Caldas/MG

2015

F866n Freitas, Juliana Cristina de.
Nanopartículas magnéticas aplicadas na liberação controlada de fármacos / Juliana Cristina de Freitas. – Poços de Caldas, 2015.
92 f. -

Orientador: Rodrigo Fernando Costa Marques.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.
Bibliografia.

1. Nanopartículas. 2. Liberação controlada de fármacos. 3. Polímeros. I. Marques, Rodrigo Fernando Costa. II. Título.

CDD: 620.192

JULIANA CRISTINA DE FREITAS

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

A banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Alfenas.

Área de Concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.

Aprovada em: 31 de julho de 2015.

Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP

Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda

Instituição: Universidade Estadual de São Paulo – USP

Profa. Dra. Tânia Regina Giraldi

Instituição: Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais e ao meu irmão, pelo amor incondicional e todo o apoio durante essa jornada.

Ao meu noivo, pela paciência e compreensão.

Ao meu orientador, Rodrigo Marques, pela oportunidade, pelos ensinamentos e por ter me apresentado a nanotecnologia já na iniciação científica.

À minha co-orientadora, Maria Gabriela, pelos ensinamentos e conselhos.

Ao professor Miguel Jafelicci, por toda contribuição com o trabalho.

Aos meus sobrinhos, que compreenderam minha ausência em muitas ocasiões.

À UNIFAL, pela oportunidade e materiais oferecidos.

Aos amigos de laboratório, de Poços e Araraquara, em especial Jef, Rafa, Carol, Ju, Taci, Rodolfo, Jayme e Caio.

Á CAPES, pela bolsa concedida.

Ao grupo LME-IQ (UNESP/Araraquara) pela disponibilidade de utilização do microscópio eletrônico de varredura.

Á coordenação do programa e todos os professores, por todo o conhecimento adquirido durante a pós.

Muito obrigada!

RESUMO

Segundo dados do INCA, o câncer é a segunda maior causa de morte no país, sendo que os tratamentos convencionais para a doença, quimioterapia e radioterapia, não são capazes de selecionar as células doentes, o que leva a efeitos indesejáveis para o paciente. Com o intuito de otimizar o tratamento do câncer, bem como de outras doenças, nanodispositivos vêm sendo estudados para aplicação na liberação controlada de fármacos. Neles, as nanopartículas magnéticas são usadas como núcleos magnéticos, para direcionar o fármaco até a região desejada. Um polímero é utilizado como material biocompatível, o qual é responsável pela imobilização do fármaco nas nanopartículas e permite sua liberação mediante um estímulo externo (aquecimento). Com o intuito de se desenvolver tais nanodispositivos, nanopartículas magnéticas de óxido de ferro foram sintetizadas através da técnica de coprecipitação (sonoquimicamente assistida ou não) e funcionalizadas com alcoxisilanos (APTMS e MPTS), o que permitiu seu encapsulamento com diferentes polímeros como poli(n-isopropilacrilamida) e policaprolactona. A caracterização dos nanodispositivos foi realizada através das técnicas de DRX, MEV e DLS, confirmando o desenvolvimento de um dispositivo de escala reduzida, com estreita faixa de distribuição de tamanhos e com estabilidade adequada para aplicação requerida na área da biomedicina. A técnica de espectroscopia na região do infravermelho, bem como a curva de titulação potenciométrica, foi utilizada para confirmar a funcionalização das partículas e seu posterior encapsulamento.

Palavras-chave: Nanopartículas magnéticas. Liberação controlada de fármacos. Polímeros termossensíveis.

ABSTRACT

According to INCA, cancer is the second biggest cause of death in the country. Furthermore, conventional treatments for the disease, chemotherapy and radiotherapy, are not able to select the diseased cells, which leads to undesirable effects for the patient. In order to optimize the treatment of cancer and other diseases, nanodevices have been studied for application in controlled release of drugs. Magnetic nanoparticles are used as magnetic cores, in order to direct the drug to the desired area. A polymer is used as biocompatible material, which is responsible for encapsulating the drug in the nanoparticles and allowing its release by an external stimulus (heating). In order to develop a nanodevice, magnetic iron oxide nanoparticles were synthesized by coprecipitation technique (sonochemically assisted or not) and functionalized with alkoxysilanes (APMTS and MPTS), which allowed it encapsulation in different polymers, like poly(N-isopropylacrylamide) and polycaprolactone. The characterization of the nanodevices was carried out by XRD, SEM and DLS techniques, among others, confirming the development of a small-scale device with a narrow range of size distribution and adequate stability required for application in the biomedical field. The spectroscopy in the infrared region, and the potentiometric titration curve, was used to confirm the functionalization of the particles and their subsequent encapsulation.

Keywords: Magnetic nanoparticles. Controlled drug delivery. Thermosensitive polymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração de diversas orientações de dipolos magnéticos em materiais: 13
Figura 2 - Ciclo de histerese presente em materiais ferromagnéticos e antiferromagnéticos. 14
Figura 3 - Curva de magnetização em materiais com monodomínio. 15
Figura 4 - Representação das duas zonas de reação sonoquímica. 18
Figura 5 - Policondensação dos silanóis na funcionalização de nanopartículas comAPTES. 21
Figura 6 - Fórmula estrutural do APTMS. 22
Figura 7 - Fórmula estrutural do MPTS. 22
Figura 8 - Sistema de liberação controlada de fármacos baseado em solução polimérica LCST 26
Figura 9 - Estrutura da PNIPAAm acima e abaixo de sua LCST (32ºC). 27
Figura 10 - Gráfico típico da distribuição de tamanhos de partículas 31
Figura 11 - Ilustração da camada elétrica na superfície de uma partícula. 33
Figura 12 - Curva de potencial zeta em função do pH, indicando o potencial zeta. 34
Figura 13 - Organograma do procedimento experimental utilizado 40
Figura 14 - Reação de polimerização do NIPAAm na presença dos grupos tiol. 43
Figura 15 – Copolimerização de DMAAm e NIPAAm na presença dos grupos tiol. 44
Figura 16 - Espectro de FTIR das amostras NP-CO e NP-CO-SQ. 46
Figura 17 - Difratograma das amostras NP-CO e NP-CO-SQ. 47
Figura 18 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-CO e NP-CO-SQ 48
Figura 19 - Curva do potencial zeta das amostras NP-CO e NP-CO-SQ em função do pH. 49
Figura 20 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina. 50
Figura 21 - Histograma da distribuição de tamanhos das partículas na amostra NP-amina. 51
Figura 22 - Curva do potencial zeta da amostra NP-amina em função do pH. 52
Figura 23 - Estrutura do APTMS 53
Figura 24 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO@MPTS A. 54
Figura 25 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO@MPTS B. 55
Figura 26 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-CO@MPTS b. 56
Figura 27 - Curva do potencial zeta da amostra NP-CO@MPTS B em função do pH. 56
Figura 28 - Estrutura do MPTS, destacando o grupo tiol e seu caráter ácido. 57
Figura 29 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO-SQ@MPTS. 58
Figura 30 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-CO-SQ@MPTS. 59
Figura 31 - Curva do potencial zeta da amostra NP-CO-SQ@MPTS em função do pH. 59
Figura 32 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP-CO-SQ@MPTS com aumento de 200000x. 60
Figura 33 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP-CO-SQ@MPTS com aumento de 25000x. 61
Figura 34 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL1. 62
Figura 35 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL2. 63
Figura 36 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-amina@PCL 2. 64
Figura 37 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL3. 65
Figura 38 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-amina@PCL3. 66
Figura 39 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL4. 67
Figura 40 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-amina@PCL4. 68
Figura 41 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@Quit. 69
Figura 42 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas em NP-amina@Quit. 70
Figura 43 - Espectro de FTIR da amostra NP@PNIPAAm 1. 71
Figura 44 - Raio Hidrodinâmico da amostra NP@PNIPAAm 1 em função da temperatura. 72
Figura 45 - Curva do potencial zeta da amostra NP@PNIPAAm 1 em função do pH. 73
Figura 46 - Espectro de FTIR da amostra NP@PNIPAAm 2. 74

Figura 47 - Estrutura da PNIPAAm, destacando-se as ligações verificadas por FTIR. 74
Figura 48 - Raio hidrodinâmico da amostra NP@PNIPAAm 2 em função da temperatura. 75
Figura 49 - Curva de titulação potenciométrica da amostra NP@PNIPAAm 2. 76
Figura 50 - Espectro de FTIR da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm). 77
Figura 51 - Estrutura do copolímero P(NIPAAm-co-DMAAm) 77
Figura 52 - Raio Hidrodinâmico de NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) em função da temperatura. 78
Figura 53 - Curva de titulação potenciométrica da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm). 79
Figura 54 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) - 33000x. 80
Figura 55 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) - 100000x. 80
Figura 56 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) - 300000x. 81
Figura 57 - Espectro de UV-Vis obtido para o excesso de DOX (não encapsulado). 82
Figura 58 - Espectro de UV-Vis obtido para os sobrenadantes a 25 e 45ºC. 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Polímeros Inteligentes e os estímulos aos quais são sensíveis. 25
Tabela 2 - Proporções dos reagentes utilizados nos testes de recobrimento 42
Tabela 3 - Quantidades de reagentes utilizadas na polimerização NP@PNIPAAm. 44
Tabela 4 - Diâmetros de cristalitos e valores utilizados nos cálculos. 48

SUMÁRIO

1 Introdução 11

2 Revisão Bibliográfica 12

2.1 Nanopartículas Magnéticas 12

2.2 Propriedades Magnéticas dos Materiais 12

2.2.1 O Superparamagnetismo 14

2.3 Síntese de Nanopartículas Magnéticas 16

2.3.1 Coprecipitação 16

2.3.2 Coprecipitação Homogênea 17

2.3.3 Sonoquímica 18

2.4 Funcionalização da Superfície das Nanopartículas com alcoxisilanos 19

2.4.1 APTMS 21

2.4.2 MPTS 22

2.5 Modificação da Superfície das Nanopartículas com Polímeros 23

2.6 Polímeros Inteligentes na liberação controlada de fármacos 24

2.6.1 Polímeros termossensíveis *25*

2.7 Fármaco para Liberação Controlada 28

2.7.1 Doxorrubicina (DOX) 28

3 Objetivos 29

3.1 Geral 29

3.2 Específicos 29

4 Justificativa 30

5 Metodologia 31

5.1 Técnicas de Caracterização 31

5.1.1 Espalhamento dinâmico da Luz (DLS) 31

5.1.2 Potencial Zeta 32

5.1.3 Difração de Raios X 34

5.1.4 Espectroscopia na região do Infra-Vermelho 36

5.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 37

5.1.6 Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis) 38

5.2 Parte Experimental 39

5.2.1 Síntese de Nanopartículas Magnéticas por coprecipitação *40*

5.2.2 Funcionalização da superfície das nanopartículas *41*

5.2.3 Modificação das nanopartículas com polímeros 42

5.2.4 Encapsulamento e Liberação de Doxorrubicina 45

6 Resultados e Discussões 46
6.1 Nanopartículas Magnéticas 46
6.2 Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas 50
6.2.1 Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com APTMS (NP-amina) 50
6.2.2 Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com MPTS 53
6.3 Nanopartículas magnéticas modificadas com polímeros 61
6.3.1 Modificação com PCL 61
6.3.2 Modificação com Quitosana 68
6.3.3 Modificação com PNIPAAm 70
6.3.4 Modificação com poli(NIPAAm-co-DMAAm) 76
6.4 Liberação de Doxorrubicina 81
7 Conclusões 84
8 Perspectivas Futuras 85
REFERÊNCIAS 86

1 INTRODUÇÃO

Sistemas de liberação controlada de fármacos vem sendo amplamente estudados nos últimos anos, neste contexto surge o interesse em partículas com dimensões nanométricas. A utilização de nanopartículas como um sistema de liberação de fármacos vem melhorando o controle da liberação, a estabilidade e a toxicidade do princípio ativo [1].

Estudos mais recentes empregam nanopartículas magnéticas como carreadores de fármacos, sendo a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita (γ-Fe_2O_3) os materiais mais utilizados nas aplicações *in vivo*. Cobalto, cromo e níquel, entre outros materiais, devem ser evitados para tais aplicações, visto que apresentam alta toxicidade e podem acarretar em mudanças em longo prazo na cinética enzimática [2].

A elevada reatividade físico-química na superfície das nanopartículas magnéticas e o risco de corrosão das mesmas levam a necessidade de encapsulá-las ou revesti-las com materiais de proteção, como polímeros [1]. Polímeros como poli(isopropil acrilamida), policaprolactona e quitosana são comumente utilizados na biomedicina, graças a sua não toxicidade e biocompatibilidade, o que permite a proteção das nanopartículas e a elevação do tempo de permanência do fármaco no organismo, sem prejudicar o paciente.

Neste trabalho, nanopartículas magnéticas de óxido de ferro foram sintetizadas através do método da coprecipitação (sonoquimicamente assistida ou não) e posteriormente funcionalizadas com alcoxisilanos, o que permitiu sua encapsulação nos polímeros desejados. Os dispositivos obtidos foram caracterizados por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia na região do infravermelho, entre outras técnicas.

Ao decorrer da revisão bibliográfica serão melhor discutidas as propriedades e aplicações das nanopartículas magnéticas, bem como métodos de síntese e funcionalização das mesmas. Também serão apresentadas mais informações a respeito de sistemas de liberação controlada de fármacos e dos polímeros utilizados para o desenvolvimento dos nanodispositivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

O termo nanopartículas faz referência a partículas com dimensões da ordem um bilionésimo de metro, tamanho no qual tais partículas apresentam propriedades peculiares como resistência a temperatura, cor e condutividade elétrica distintas das presentes em partículas de dimensão micrométrica [3].

Recentemente, com o surgimento de novas sínteses e técnicas melhoradas de determinação da distribuição de tamanhos das nanopartículas, estas receberam uma nova definição: nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas (*SPION*s). Algumas propriedades das *SPION*s estão relacionadas à sua alta irreversibilidade de campo, alto campo de saturação e a ausência de interação magnética após a remoção do campo magnético externo. Sendo assim, são mais vantajosas para aplicações *in vivo* em comparação as ferromagnéticas, que tendem a se aglomerar por apresentarem dipolo magnético permanente [1].

O superparamagnetismo dessas partículas será melhor discutido no próximo tópico.

2.2 PROPRIEDADES MAGNÉTICAS DOS MATERIAIS

Os materiais são classificados quanto ao seu magnetismo em função do tipo de arranjo de seus dipolos magnéticos, conforme pode ser observado na Figura 1. Sendo assim, de acordo com a origem microscópica de sua magnetização, bem como com as interações internas, os materiais são em geral classificados em paramagnéticos, diamagnéticos, ferromagnéticos, ferrimagnéticos e antiferromagnéticos [4,5].

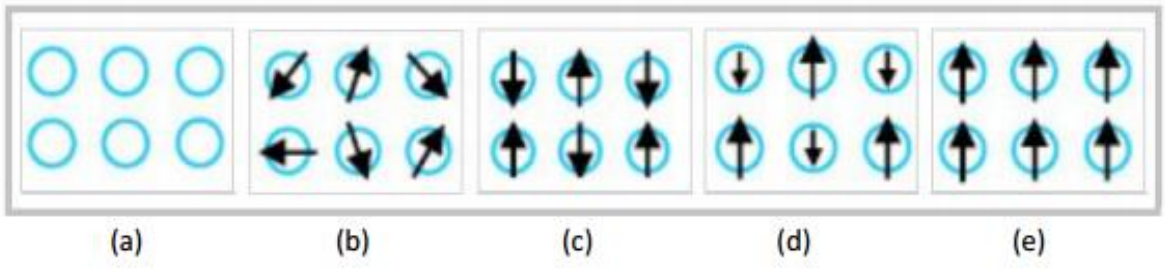


Figura 1 - Ilustração de diversas orientações de dipolos magnéticos em materiais:
(a) diamagnéticos;
(b) paramagnéticos;
(c) anti-ferromagnéticos;
(d) ferrimagnéticos;
(e) ferromagnéticos.
Fonte: COSTA (2013, p. 29).

Os materiais ditos paramagnéticos apresentam momentos de dipolo magnético permanentes, os quais, na ausência da aplicação de um campo, se encontram orientados de maneira aleatória, acarretando em uma magnetização resultante nula. Ao se aplicar um campo magnético, os dipolos tendem a se alinhar na mesma direção, o que leva a uma magnetização resultante diferente de zero [4,5].

O diamagnetismo, por outro lado, está presente em todos os materiais, embora não possa ser facilmente observado em materiais paramagnéticos, por apresentar menor intensidade que este tipo de magnetismo. O campo magnético externo induz o movimento dos elétrons no material, criando um novo campo magnético com direção oposta ao ímã, o que acarreta na ausência de um momento magnético resultante [4,5,6].

Assim como o paramagnetismo, o ferromagnetismo está presente em materiais que possuam momentos de dipolo magnético resultante, sendo diferenciados pelo fato de que no segundo a orientação destes dipolos é mantida após a retirada do campo magnético externo. Tal comportamento acarreta em uma alta magnetização [4,5,6].

Quanto aos ferrimagnéticos, os momentos de dipolo permanente presentes nos átomos interagem entre si, levando a um alinhamento antiparalelo e desigual. Em condições ambientes, os materiais ferrimagnéticos possuem magnetização espontânea e forte magnetização permanente [4,5,6].

O antiferromagnetismo consiste no ordenamento magnético dos momentos magnéticos de um material em mesma direção e sentido oposto [5,6].

Em geral, materiais ferromagnéticos e antiferromagnéticos, podem ser caracterizados através da curva de histerese, que representa o modo como estes reagem quando expostos a um campo magnético e quando este é retirado. A Figura 2 ilustra um modelo geral de um ciclo de histerese, relacionando-se a magnetização (M) em função do campo aplicado (H) [7,8,9].

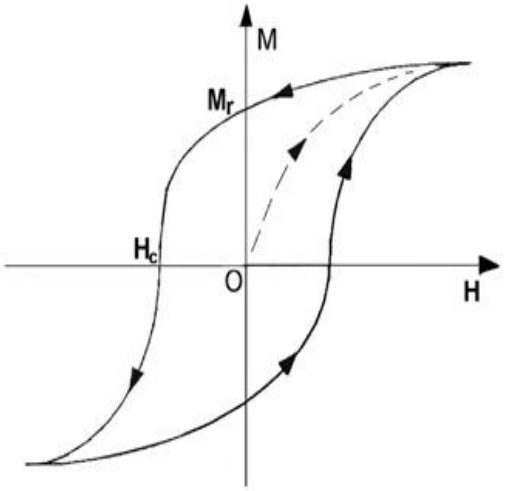


Figura 2 - Ciclo de histerese presente em materiais ferromagnéticos e antiferromagnéticos.
Fonte: RIBEIRO (2000, p. 303).

Conforme pode ser observado na Figura 2, ao se aplicar um campo magnético ao material, este tende a responder com uma magnetização crescente até atingir um patamar constante denominado magnetização de saturação (MS). Com a diminuição da intensidade do campo magnético, a magnetização do material tende a decrescer, apresentando uma magnetização residual (magnetização remanente) mesmo na ausência do campo magnético. Com a inversão da direção do campo aplicado, o valor da magnetização passa a decrescer até apresentar o chamado campo coercivo (HC), que seria o valor do campo quando a magnetização do material é nula [8].

2.2.1 O SUPERPARAMAGNETISMO

Nos materiais, existem regiões em que seus momentos magnéticos estão alinhados paralelamente, tais regiões são denominadas domínios magnéticos. As

nanopartículas com dimensões inferiores a determinado diâmetro crítico, valor que varia de acordo com o material utilizado, apresentam o chamado superparamagnetismo. Isso acontece porque concomitantemente à diminuição de tamanho das partículas, observa-se a diminuição dos domínios magnéticos, o que modifica a estrutura e a largura das paredes que delimitam o domínio e caracteriza o chamado monodomínio. Para partículas de óxido de ferro o diâmetro crítico varia de 5 a 20 nm [9,10].

Como as nanopartículas superparamagnéticas apresentam monodomínio, ou seja, têm seus momentos magnéticos alinhados paralelamente em uma única direção, estas não apresentam a magnetização residual (Mr) nem o campo coercivo (Hc) como as demais partículas e, portanto, sua curva de magnetização não é representada por um ciclo de histerese, como o da Figura 2 [10].

A Figura 3 ilustra a curva de magnetização em materiais com monodomínio.

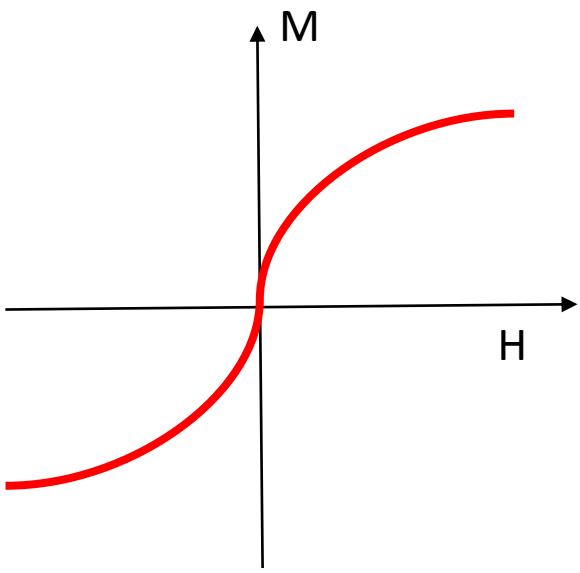


Figura 3 - Curva de magnetização em materiais com monodomínio.
Fonte: próprio autor.

Por apenas agirem como materiais magnéticos mediante a exposição a um campo magnético, materiais superparamagnéticos não se aglomeram, ao contrário dos ferromagnéticos. É justamente essa característica que faz com que tais partículas sejam indicadas para aplicações na biomedicina, pois impedem o risco de auto-atração entre as partículas, permitem o direcionamento das mesmas e evitam danos à saúde, como a embolia capilar [10].

As propriedades superparamagnéticas das nanopartículas estão relacionadas ao diâmetro das mesmas e, assim, suas aplicabilidades podem ser limitadas em função das suas dimensões. Deste modo, o controle de parâmetros, como tamanho e forma das partículas, se faz necessário durante o processo de síntese das mesmas [11,12].

2.3 Síntese de Nanopartículas Magnéticas

Com o crescente interesse dos pesquisadores neste tipo de partículas e a necessidade do controle dos parâmetros de síntese, conforme citado anteriormente, diversos métodos de síntese surgiram ao longo dos anos para sua fabricação. Neste tópico serão descritas três destas técnicas, apresentando as vantagens e desafios encontrados em sua realização.

2.3.1 Coprecipitação

A técnica de síntese de nanopartículas de óxido de ferro por coprecipitção é relativamente simples e se baseia na adição de uma base em solução aquosa contendo íons Fe^{2+}/Fe^{3+}, mediante aquecimento ou temperatura ambiente [13].

Certos fatores da síntese tais como o sal utilizado, a proporção de Fe^{2+}/Fe^{3+} utilizada, a temperatura de reação, o pH do meio e a força iônica podem influenciar o tamanho, a forma e a composição das nanopartículas resultantes [13,14].

O principal desafio encontrado na coprecipitação está relacionado ao controle do tamanho e forma das nanopartículas, fatores que limitam sua biodistribuição. Em geral, as nanopartículas sintetizadas através desta técnica apresentam diâmetros entre 2 e 50 nm e tendem a ser bastante polidispersas [14].

Tendo em vista essas dificuldades, as partículas devem ser preparadas a partir de óxido de ferro monodisperso, de modo que seu crescimento possa ser controlado. O procedimento se baseia na adição da solução precursora de ferro em uma solução

básica e aquecida a cerca de 60ºC, mediante agitação. Ao final da precipitação, as partículas devem ser separadas magneticamente do meio e lavadas com água destilada [13,14,15].

Em condições ambientes, as nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) são pouco estáveis, sendo facilmente oxidadas ou se dissolvendo em meio aquoso. Deste modo tais partículas, se submetidas a oxidação, podem ser convertidas em maghemita (γ-Fe_2O_3). A estabilização das partículas pode ser realizada através de surfactantes, como o ácido oleico, que as mantem monodispersas em solução [14,15].

Dentre as vantagens existentes nesse método pode-se citar a homogeneidade química, as baixas temperaturas de síntese, baixa aglomeração, tempo curto de reação e o baixo custo [14,15].

A Equação 1 apresenta a reação de formação da magnetita [16].

$$Fe^{2+}{}_{(aq)} + 2Fe^{3+}{}_{(aq)} + 8OH^{-}{}_{(aq)} \rightarrow Fe_3O_{4_{(s)}} + 4H_2O_{(l)} \quad (1)$$

Métodos alternativos baseados na coprecipitação vem sendo estudados com a intenção de se atingir nanopartículas com melhores propriedades. Um desses métodos consiste na utilização de solução de Fe^{3+} e agentes redutores e o resultado obtido foi de partículas com diâmetro médio de 10 nm [15,16].

2.3.2 COPRECIPITAÇÃO HOMOGÊNEA

A coprecipitação homogênea envolve a hidrólise da ureia, a aproximadamente 80ºC, que leva à liberação de CO_2 e NH_3, e, consequentemente, ao aumento gradativo do pH. As reações envolvidas no processo podem ser observadas nas Equações 2, 3 e 4 [17,18].

$$CO(NH_2)_{2(aq)} + H_2O_{(l)} \rightarrow CO_{2(g)} + 2NH_{3(aq)} \quad (2)$$

$$NH_{3(aq)} + H_2O_{(l)} \rightarrow NH_4^+{}_{(aq)} + OH^-{}_{(aq)} \quad (3)$$

$$Fe^{3+}{}_{(aq)} + 3\ OH^-{}_{(aq)} \rightarrow Fe(OH)_{3(s)} \quad (4)$$

Em seguida é necessário realizar a filtração, centrifugação e aquecimento do hidróxido de ferro a 60ºC para liberação da água e formação de nanopartículas de Fe_2O_3 e Fe_3O_4. [17,18]

O método da coprecipitação com uréia fornece partículas de dimensões nanométricas e com distribuição de tamanho uniforme, o que classifica o método como potencialmente adequado para a obtenção de materiais nanométricos [17,18].

2.3.3 SONOQUÍMICA

O termo sonoquímica se refere ao estudo de reações químicas na presença de radiação ultra-som na faixa de 20 KHz a 10MHz [19,20].

A radiação de 20 kHz é capaz de romper ligações químicas. Diversas teorias tentam explicar este fenômeno, sendo todas elas baseadas no crescimento e colapso de uma cavidade de gás que se desenvolve no interior do líquido. O crescimento da cavidade ocorre pela difusão de vapor de solvente, o que é constante até que a cavidade atinja sua dimensão máxima, sofrendo um colapso [21].

Vários autores estudaram a existência das duas regiões de reatividade sonoquímica em meio homogêneo. Como pode ser observado na Figura 4, existe uma região gasosa (interior da cavidade), que é envolta por uma camada líquida [20,21].

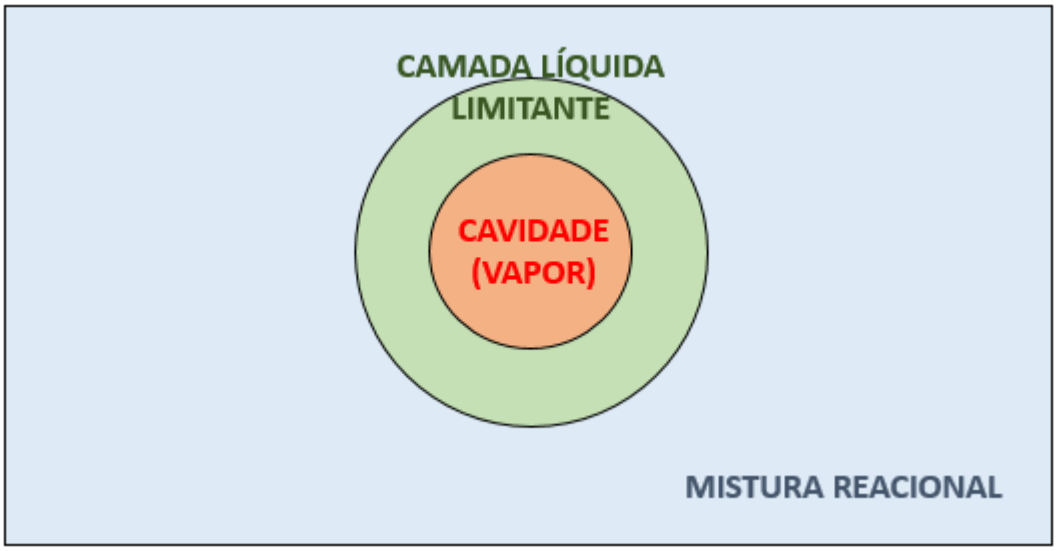


Figura 4 - Representação das duas zonas de reação sonoquímica.
Fonte: próprio autor.

Uma das teorias que explica o rompimento de ligações químicas após o colapso da bolha é o chamado ponto quente (*hot spot*). Ela se baseia no fato de altas

temperaturas serem atingidas durante o colapso, de 5000 a 25000 K, assim como altas taxas de resfriamento, de cerca de 1010 K/s. Sendo o arrefecimento muito rápido, não é possível obter uma boa organização e cristalização dos produtos, por isso, com a utilização de precursores voláteis, dá-se origem a nanopartículas amorfas [20,21].

Para precursores não-voláteis, por outro lado, a reação sonoquímica acontece em fase líquida, sendo possível sintetizar nanopartículas amorfas e as vezes cristalinas [20].

Nas reações sonoquímicas a partir de produtos inorgânicos são, em geral, obtidos materiais de dimensões nanométricas, embora estes possam apresentar variações quanto à forma, estrutura e distribuição de tamanhos [21,22].

O ultrassom apresenta outra funcionalidade, a de dispersão, que se faz necessária uma vez que as nanopartículas tendem a se aglomerar. Neste contexto, a sonoquímica pode ser considerada uma das técnicas mais adequadas para obtenção de nanopartículas com distribuição homogênea e, consequentemente, adequadas para aplicação como carreadores de fármacos, se comparada aos homogeneizadores de pistão e moinhos [21,22].

2.4 FUNCIONALIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DAS NANOPARTÍCULAS COM ALCOXISILANOS

Para permitir a ancoragem do fármaco na superfície das nanopartículas, sem que sua estrutura seja modificada, é realizada a chamada funcionalização. Os principais compostos utilizados na funcionalização da superfície das nanopartículas, introduzindo função orgânica às mesmas, são os organossilanos ou alcoxissilanos [23].

Neste contexto, os alcoxissilanos são capazes de se ligar à superfície dielétrica como a de óxidos de ferro, através de reações de hidrólise e condensação dos grupos alcóxidos. Suas moléculas também possuem um grupo terminal não hidrolisável, o qual não reagirá, sendo responsável pela ancoragem de um fármaco ou pela ligação cruzada com um polímero [23,24].

Os organossilanos podem ser representados pela fórmula geral $R_nSiX_{(4-n)}$, na qual X corresponde ao grupo hidrolisável e R ao grupo não hidrolisável (grupo

terminal). Deste modo, a funcionalização acontece através de reações de hidrólise e condensação, originando ligações Si-O-Fe [24,25,26].

A reação de hidrólise é realizada através de mecanismos de reações de substituição nucleofílica, através da adsorção de água e liberação de etanol, hidrolisando-se as ligações do grupo X e, consequentemente, formando os silanóis (Si-OH). Através do aquecimento, passa a ocorrer a reação de condensação dos silanóis, o que se deve à evolução destas forças a ligações covalentes e acarreta na formação de siloxanos (Si-O-Si), com a formação de água como subproduto [24,27].

Em condições ambientes, a sílica se apresenta hidroxilada, o que permite a adsorção de água através de ligações de hidrogênio. Mediante aquecimento de 100 a 200ºC ocorre a desidratação. Acima dessa faixa de temperaturas, inicia-se a condensação dos silanóis, formando os siloxanos, mediante a liberação de água (processo de desidroxilação) [24,25 ,26,27].

De acordo com esse processo, um problema relacionado a funcionalização com alcoxisilanos é a possibilidade de ocorrer a policondensação dos silanóis, o que geraria ligações do tipo Si-O-Si e antes da formação de ligações Si-O-Fe. A Figura 5 ilustra todo o processo de funcionalização da superfície das nanopartículas com alcoxisilanos, incluindo o problema da policondensação [25,26].

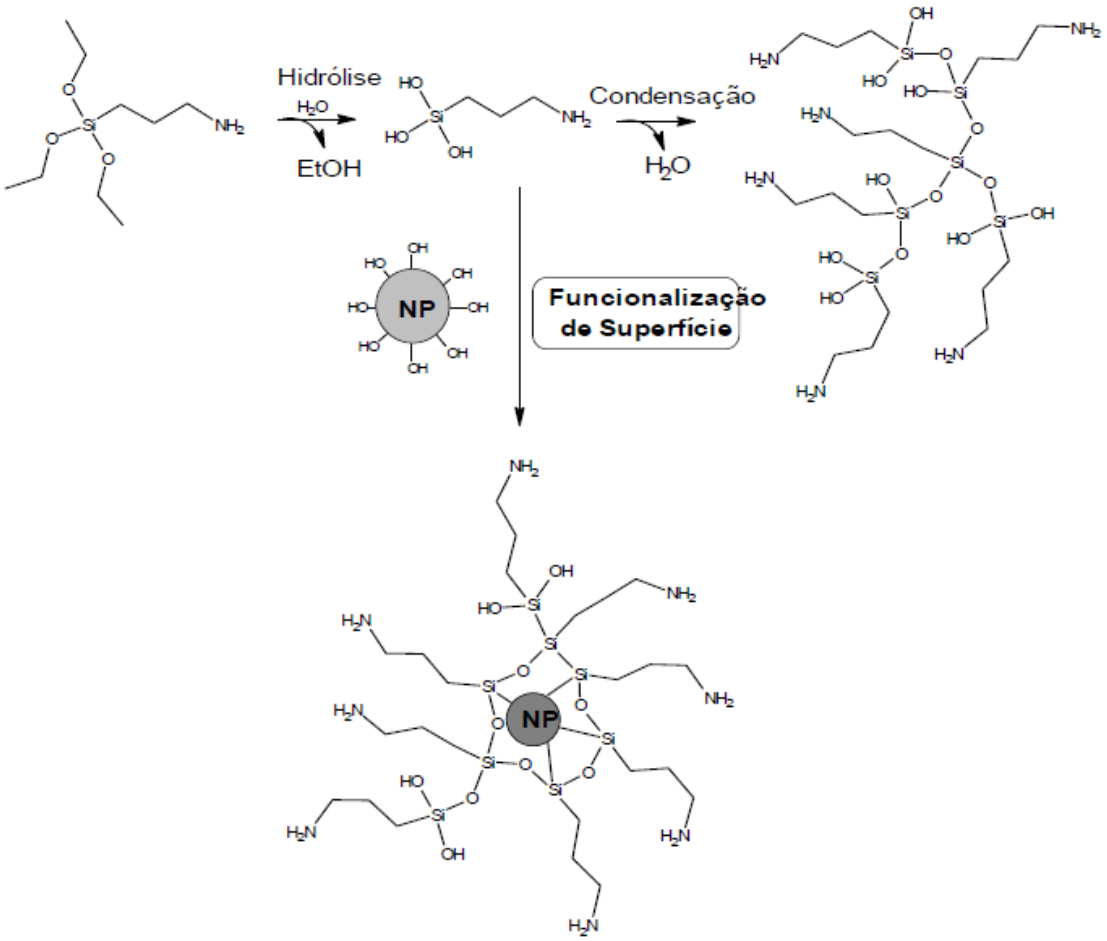


Figura 5 - Policondensação dos silanóis na funcionalização de nanopartículas comAPTES.
Fonte: MARQUES (2010).

Visto que a superfície das nanopartículas magnéticas foi funcionalizada com *3-aminopropiltrimetoxisilano* (APTMS) e *3-mercaptopropriltrimetoxisilano* (MPTS), faz-se necessária uma melhor abordagem a respeito destes organosilanos.

2.4.1 APTMS

Com citado anteriormente, o APTMS (*3-aminopropiltrimetoxisilano*) é um organosilano capaz de introduzir funções orgânicas a superfície das nanopartículas. A Figura 6 ilustra a estrutura do APTMS [23].

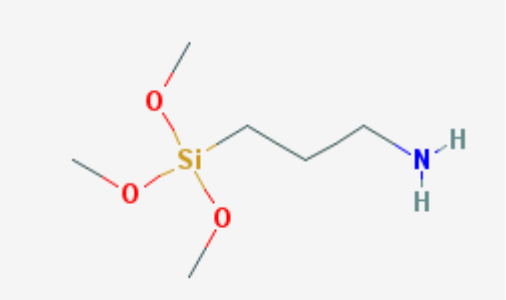


Figura 6 - Fórmula estrutural do APTMS.
Fonte: BINI et al (2012, p. 535).

Durante a funcionalização das nanopartículas de óxido de ferro com APTMS ocorre a formação de Si-O-Fe, mediante reações de hidrólise e condensação, sendo que durante a hidrólise há liberação de etanol e silanol. O silanol formado é condensado através de aquecimento e, assim, ocorre o processo de funcionalização da superfície [23].

Deste modo, as nanopartículas magnéticas passam a apresentar grupos amina em sua superfície, o que acarreta em um caráter nucleofílico. Ou seja, o ponto isoelétrico das partículas tende a se tornar mais básico, fato que pode ser utilizado para se caracterizar a funcionalização das partículas [28].

2.4.2 MPTS

Assim, como o APTMS, o MPTS (3-mercaptopropril trimetoxisilano) consiste em um organosilano comumente utilizado na introdução de funções orgânicas à superfície de nanopartículas.

A estrutura do MPTS pode ser observada na Figura 7 [29].

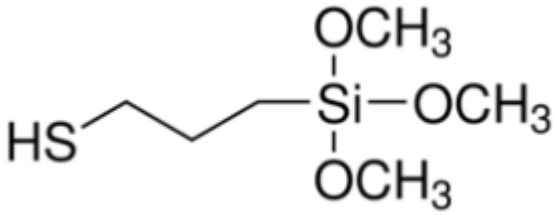


Figura 7 - Fórmula estrutural do MPTS.
Fonte: SIGMA-ALDRICH (2014).

Conforme pode ser observado na estrutura do MPTS, sua molécula apresenta um grupo tiol (-SH), um grupo propil como espaçador, além de uma parte hidrolisável $Si(OCH_3)_3$ [30].

Assim como na funcionalização com APTMS, ocorrerão ligações Si-O-Fe, de modo que a superfície das nanopartículas apresentará grupos tiol (-SH). Estes grupos são caracterizados por seu caráter eletrofílico, ao contrário dos grupos amina. Sendo assim, as partículas funcionalizadas com MPTS tendem a apresentar um ponto isoelétrico mais ácido [28,29,30].

2.5 Modificação da Superfície das Nanopartículas com Polímeros

A utilização de nanopartículas magnéticas na liberação controlada de fármacos envolve o emprego de um dispositivo composto por um núcleo magnético revestido com um material biocompatível (polímero), no qual o fármaco é imobilizado [15]. O revestimento com polímero tem como finalidade a proteção das nanopartículas, aumentando sua estabilidade e tempo de permanência na corrente sanguínea, além de proporcionar a ligação destas com o fármaco [31].

Com tal objetivo, os polímeros são selecionados tendo em vista a formulação e o mecanismo de liberação pretendidos. As propriedades físico-químicas do polímero determinam sua utilização, sendo dependente da natureza química dos meros, da técnica utilizada para síntese do polímero, do peso molecular e da estrutura macromolecular do mesmo. As propriedades físicas estão relacionadas à resistência das ligações covalentes, à rigidez dos segmentos na cadeia polimérica, além da resistência das forças intermoleculares [32,33].

Para a aplicação de polímeros na liberação controlada de fármacos é necessário levar em consideração os seus efeitos no corpo humano. Estes devem apresentar biocompatibilidade adequada, ser excretados sem permanência excessiva para que não se acumulem nos tecidos, além de serem atóxicos. Outras características almejadas são a capacidade de encapsular uma dose efetiva de agente ativo, boa estabilidade, facilidade de administração e custo acessível. Neste contexto, polímeros como a policaprolactona e a quitosana são comumente utilizados na biomedicina [33].

A policaprolactona (PCL) é um polímero sintético e biocompatível, apresentando potencial para aplicação na liberação controlada de fármacos. Este polímero apresenta como características sua fusão a aproximadamente 60ºC, alta solubilidade em solventes orgânicos, como diclorometano e clorofórmio, e elevada hidrofobicidade (o que permite a liberação de fármacos hidrofóbicos). A PCL pode sofrer hidrólise, liberando ácido ε-hidroxicaproico. No entanto, essa reação é limitada justamente pela sua hidrofobicidade, que não dificulta a penetração de água na molécula [34].

A quitosana, por outro lado, é um polímero natural derivado do processo de desacetilação da quitina. Este polímero, assim como a PCL, é biocompatível e apresenta potencial para aplicação na liberação de fármacos, sendo aplicado neste ramo desde a década de 1980, quando foi proposto seu uso na liberação controlada de medicamentos no sistema gastrintestinal, por ser um material seletivamente permeável. A quitosana é uma base fraca, insolúvel em água e bases, porém solúvel em soluções ácidas diluídas de ácidos orgânico, como de ácido acético [35].

Polímeros inteligentes também vêm sendo amplamente estudados para essa aplicação. Estes são capazes de responder a estímulos como temperatura e pH, por exemplo, sofrendo alterações em sua microestrutura e permitindo, assim, a liberação do fármaco neles imobilizado [33].

2.6 POLÍMEROS INTELIGENTES NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

O termo “polímeros inteligentes” faz referência a polímeros capazes de sofrerem modificações mediante variações ambientais. Deste modo, um polímero sensível a estímulos é capaz liberar um fármaco, nele imobilizado, em função de estímulos, através de modificações físicas ou químicas em sua estrutura [34,35].

Dentre as características dessa classe de polímeros que os tornam apropriados para o uso na biomedicina, pode-se citar a biocompatibilidade, resistência, flexibilidade, capacidade de manter a estabilidade do fármaco. Sendo assim, sua conjugação com moléculas de fármaco permite uma administração eficaz do mesmo em intervalo de tempo e local adequados para minimização dos efeitos adversos e da dose necessária [36,37].

Quanto aos estímulos utilizados, estes podem ser classificados como físicos (temperatura, luz), químicos (pH, força iônica) e biológicos (enzimas); podendo ser aplicados externamente, como com o uso de um campo magnético, ou ser baseados em variações naturais do corpo humano, como a alteração de pH em determinados órgãos ou temperatura quando em regiões inflamadas [37,38].

Alguns exemplos de polímeros, bem como os estímulos aos quais estes respondem, estão expostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Polímeros Inteligentes e os estímulos aos quais são sensíveis.

Tipo de Estímulo	Exemplos de Polímeros
pH	Poli(ácido acrílico)
	Copolímero PMMA-PEG
Temperatura	PNIPAAm
	Poloxâmeros
Campo magnético	Hidrogéis de PNIPAAm contendo material ferromagnético
Luz	PEG

Fonte: Adaptado de Almeida, 2012.

2.6.1 POLÍMEROS TERMOSSENSÍVEIS

Polímero termossensível consiste em um polímero que apresenta expansão e contração da rede polimérica mediante variação na temperatura, permitindo a liberação do fármaco nele imobilizado. Para aplicações biomédicas, apenas sistemas aquosos devem ser considerados. A solubilidade de um polímero em sistemas aquosos está relacionada a fatores como peso molecular, temperatura e adição de um co-solvente ou aditivo [39].

Uma pequena variação na temperatura do meio, quando próxima da chamada temperatura crítica do polímero, é capaz de provocar mudanças no ajuste entre interações hidrofílicas e hidrofóbicas da cadeia do mesmo. Uma solução polimérica

denominada LCST (Low Critical Solution Temperature) geralmente sofre uma transição de fase quando aquecida a temperatura superior à sua temperatura crítica, se tornando insolúvel, um exemplo é a poli(n-isopropilacrilamida) [38,39,40]. A explicação para este fenômeno é que, em temperaturas inferiores à LCST, as ligações de hidrogênio presentes entre a parte hidrofílica do polímero e o meio aquoso, permitem a dissolução do sistema. Com o aquecimento, no entanto, tais ligações se tornam desfavoráveis em vista do fortalecimento dos segmentos hidrofóbicos, o que acarreta em uma separação de fases. Deste modo, outra forma de se reconhecer este tipo de solução polimérica é a observação de um sistema monofásico até a temperatura crítica e a de um sistema bifásico acima da mesma [41,42,43].

Soluções poliméricas UCST (Upper Critical Solution Temperature), tais como a poliacrilamida, por outro lado, são estimulados a uma temperatura inferior ao seu ponto de conforto. Ambos os sistemas podem ser utilizados para fins de entrega de drogas, no entanto LCST são mais comumente utilizados [42,43].

A Figura 8 apresenta um esquema da mudança na cadeia polimérica de uma solução polimérica LCST, na qual é possível perceber a liberação do fármaco em temperaturas superiores à temperatura crítica do polímero [41].

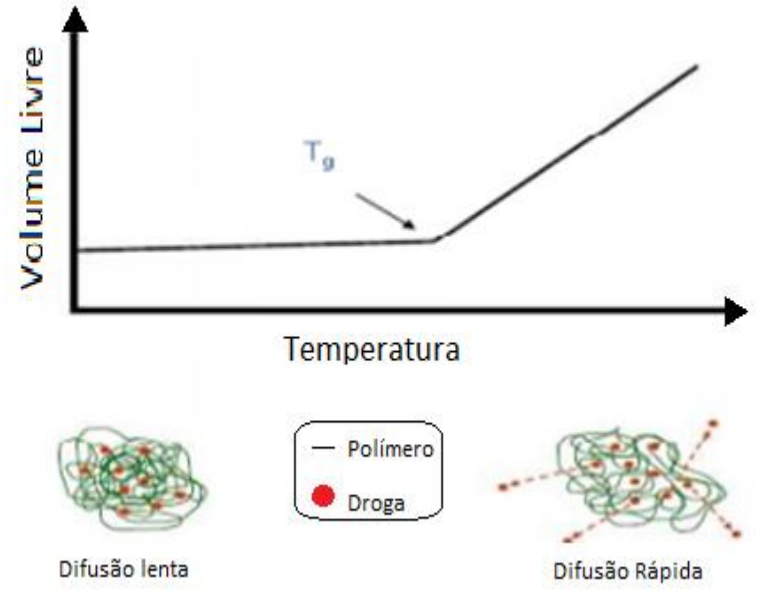


Figura 8 - Sistema de liberação controlada de fármacos baseado em uma solução polimérica LCST.
Fonte: ALMEIDA (2012, p. 16).

Também é relevante citar que as mudanças provocadas nos polímeros são reversíveis, de modo que ao se retirar o estímulo, estes podem retornar à sua forma inicial, o que controla a liberação do fármaco [41].

a) Poli(N-isoproprilacrilamida) – PNIPAAm

O PNIPAAm é um polímero termossensível que vem sendo bastante investigado. Abaixo de sua LCST, a aproximadamente 32ºC em água, esse polímero é solúvel, com predominância de interações hidrofílicas provenientes da ligação de hidrogênio. Enquanto que acima dessa temperatura suas cadeias se colapsam abruptamente para um glóbulo hidrofóbico. A natureza desse volume de transição de fase resulta do balanço hidrofílico/hidrofóbico das cadeias do polímero, que são moduladas pela criação contínua e perturbação das interações hidrofóbicas e eletrostáticas intra e intermolecular [44,45].

A Figura 9 ilustra a estrutura do polímero abaixo da sua LCST, com característica hidrofílica, e após o aquecimento, atingindo uma temperatura superior à LCST e obtendo um caráter hidrofóbico [45].

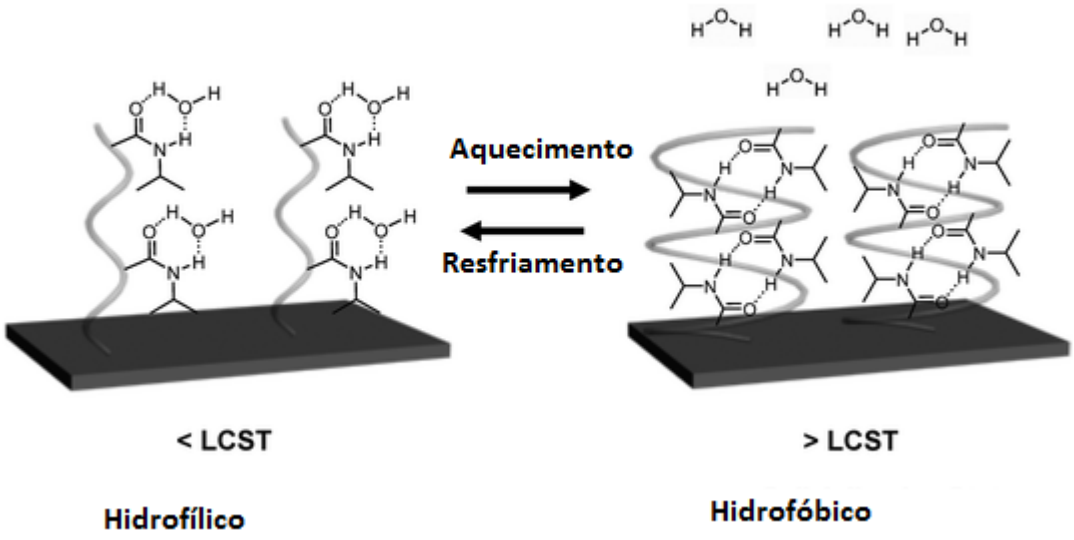


Figura 9 - Estrutura da PNIPAAm acima e abaixo de sua LCST (32ºC).
Fonte: MENDES (2008, p. 2515).

b) Copolímero poli(NIPAAm-co-DMAAm)

Como citado no tópico anterior, homopolímeros PNIPAAm são polímeros termossensíveis caracterizados por uma LCST em solução aquosa, que provoca mudanças em seu volume e forma reversivelmente mediante pequenas variações próximas à sua temperatura crítica. O mesmo é válido para os copolímeros à base de PNIPAAm [45].

Sua LCST pode ser ajustada para uma temperatura superior à temperatura corporal (37ºC) através da copolimerização com DMAAm (N-N dimetriacrilamida), por exemplo, afim de torná-lo atrativo para a liberação controlada de fármacos. Em outras palavras, o aumento da LCST é desejado, pois é necessária a ausência de liberação do fármaco na temperatura fisiológica do corpo durante seu transporte até a região desejada, de modo que este apenas seja liberado nas células-alvo mediante pequeno aquecimento do polímero [46].

2.7 Fármaco para Liberação Controlada

2.7.1 Doxorrubicina (DOX)

A doxorrubicia é um fármaco utilizado para tratamento de diversos tipos de cânceres, como de mama, pulmão e tireóide. Seu mecanismo de ação envolve a inibição da transcrição, síntese e replicação do DNA [47].

Seu uso, no entanto, é limitado devido a sua cardiotoxicidade. Tal efeito está relacionado à concentração do fármaco, ou seja, dosagens superiores a 250 mg/m² acarretam em danos ao miocárdio. Neste aspecto, a liberação controlada da doxorrubicina se torna interessante, uma vez que requer menor dosagem do fármaco [48].

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

O objetivo geral desta dissertação consiste no desenvolvimento de um nanodispositivo constituído de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro modificadas com polímeros para a liberação controlada de fármacos, no tratamento de tumores e outras doenças.

3.2 ESPECÍFICOS

- Síntese de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro pelo método da coprecipitação;
- Síntese de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro através do método da coprecipitação sonoquimicamente assistida;
- Controle da forma e do tamanho das NP obtidas;
- Funcionalização da superfície das nanopartículas com APTMS;
- Funcionalização da superfície das nanopartículas com MPTS;
- Modificação da superfície das nanopartículas com diferentes polímeros;
- Estudo sobre sistemas de liberação controlada de fármacos;
- Encapsulação e liberação de DOX do nanodispositivo;
- Caracterização através das técnicas DLS, IV, DRX, MEV e potencial zeta.

4 JUSTIFICATIVA

Segundo a OMS, até dezembro de 2013 havia 14 milhões de pessoas com câncer no mundo, sendo o câncer de pulmão o tipo encontrado com maior frequência, representando aproximadamente 13% do total [49].

Também em 2013, o INCA, Instituto Nacional de Câncer, divulgou um relatório, no qual foi citada uma estimativa de 576.580 novos casos de câncer diagnosticados no Brasil para 2014, sendo os mais frequentes o câncer de pele, de próstata e de mama. Essa estimativa corresponde a um aumento de 11% em relação aos novos casos esperados para o ano de 2012 (520 mil) [50].

De acordo com o Ministério da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no país [50]. Sendo assim, torna-se necessário um maior estudo a respeito da doença, além do desenvolvimento de novos métodos de tratamento.

Como exposto anteriormente, a doxorrubicina é usado no tratamento do câncer, mas acarreta em efeitos colaterais para o paciente por danificar as células saudáveis. Deste modo, a liberação controlada deste fármaco diminuiria esses efeitos, o que levaria a um tratamento mais eficiente e a possibilidade de aplicação de doses menores.

O nanodispositivo proposto neste projeto poderá ser empregado na liberação de outros fármacos e aplicado no tratamento de outras doenças além do câncer.

5 METODOLOGIA

5.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

5.1.1 ESPALHAMENTO DINÂMICO DA LUZ (DLS)

O espalhamento dinâmico da luz, ou em inglês *Dynamic Light Scattering*, é uma técnica usada para medição do diâmetro de partículas. Nesta técnica, o movimento Browniano das partículas é medido e relacionado com seu tamanho, através da iluminação das mesmas com um laser e da análise das flutuações de intensidade da luz dispersa [51,52].

As partículas em solução estão em constante movimento, devido ao chamado Movimento Browniano, que se deve à colisão aleatória das mesmas com as moléculas do líquido. É importante ressaltar que partículas grandes se movem mais lentamente em relação às partículas pequenas. Essa relação entre diâmetro hidrodinâmico (D_H) e movimento Browniano é dada pela equação de Stokes-Einstein (Equação 5), que é usada, portanto, para o cálculo do tamanho das partículas [51,52].

$$D_H = \frac{k\,T}{6\,\pi\,\eta\,D}, \tag{5}$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, η é a viscosidade e D é o coeficiente de difusão translacional.

O histograma gerado relaciona a distribuição de classes de tamanho (eixo x) com a intensidade relativa da luz dispersa (eixo y), conforme pode ser observado na Figura 10.



Figura 10 - Gráfico típico da distribuição de tamanhos das partículas em função da intensidade da luz dispersa.
Fonte: MALVERN (2005, p. 4).

A intensidade da luz dispersa pode ser convertida, através da teoria de Mie, para uma distribuição de volume e de número. A última, no entanto, é limitada, pois pequenos erros durante a coleta de dados podem acarretar em erros drásticos nos resultados [51,52].

A interação entre uma onda eletromagnética plana e partículas esféricas é descrita pela chamada teoria de Mie. Essa teoria é válida para partículas com diâmetro próximo ao comprimento de onda da luz e com distribuição de diâmetros monodispersa, sendo necessário o índice de refração da partícula. Segundo Mie, a turbidez de uma suspensão coloidal se deve à redução na intensidade do feixe de luz incidente, causada pelo espalhamento de luz [53].

Vale ressaltar que a precisão da medida é diretamente afetada pela presença de aglomerados e cargas na superfície. Além disso, uma boa medição exige uma concentração de partículas entre 10^4 e 10^8 por mL. Assim, a amostra a ser analisada deve estar sem agregados, bolhas ou pó e deve ser estável na temperatura da análise, para que não haja degradação [54].

Nas análises, o equipamento utilizado foi o *Malvern Zetasizer Nano ZS particle analyzer*, da *Malvern Instruments Ltd*. Para a análise, as amostras foram diluídas em água destilada a uma concentração de aproximadamente 0,1 mg/mL e em pH neutro.

5.1.2 Potencial Zeta

O potencial zeta é calculado em função da mobilidade eletroforética e aplicação da equação de Henry (Equação 6) [55,56].

$$\mu = \frac{2\,\varepsilon\,\zeta\,f(kR)}{3\,\eta}, \qquad (6)$$

onde μ consiste na mobilidade eletroforética, ε na constante dielétrica, ζ no potencial zeta, f(kR) na função de Henry e η na viscosidade.

Existe uma camada elétrica dupla em torno de cada partícula, devido ao desenvolvimento de uma carga útil em sua superfície, que atinge a distribuição de íons na região circundante da interface. A camada é, portanto, dividida em duas partes: região interna, que apresenta forte ligação de íons, e região externa, mais difusa. Nesta região difusa, existe um limite teórico, dentro do qual íons e partículas formam uma entidade estável. O movimento de uma partícula, leva ao movimento

simultâneo dos íons nesta região, no entanto não ocorre o movimento de íons além do limite teórico. Este limite pode ser denominado plano de cisalhamento e seu potencial é conhecido como potencial zeta [55,56].

A Figura 11 ilustra a camada elétrica na superfície de uma partícula, bem como a região de limite, onde se encontra o potencial zeta.

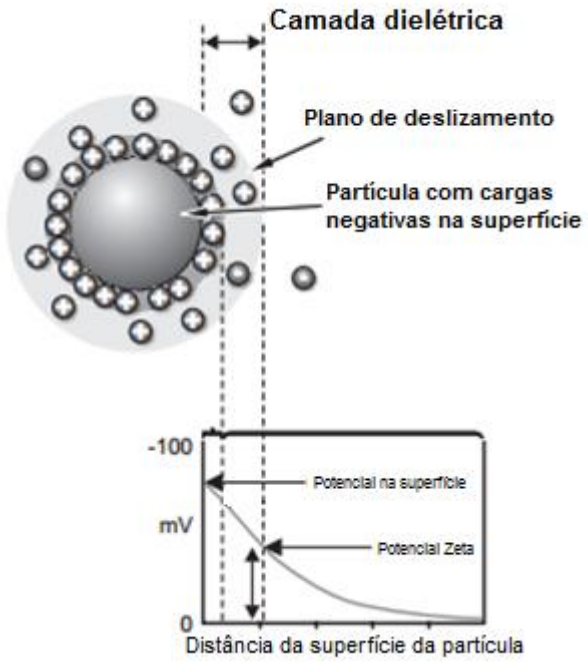


Figura 11 - Ilustração da camada elétrica na superfície de uma partícula.
Fonte: MALVERN (2005, p. 2).

A magnitude do potencial zeta está relacionada à estabilidade do sistema coloidal. Quando as partículas em suspensão apresentam elevado módulo de potencial zeta, estas tendem a se repelir, o que evita a aglomeração. Para valores mais baixos do potencial, por outro lado, a força não é suficiente para impedir a floculação das partículas. Em geral, partículas com valores de potenciais zeta acima de +30mV e abaixo de -30mV são consideradas estáveis [55,56].

O potencial é influenciado pelo pH e força iônica do meio, uma vez que este é capaz de alterar a carga da superfície das partículas. Por exemplo, partículas em suspensão coloidal com potencial zeta negativo tendem a se tornarem mais negativas com a adição de base [55,56].

Em geral, uma curva de potencial zeta em função do pH tende a ser positiva para meios ácidos e negativa para meios alcalinos, sendo o ponto onde se encontra o

potencial zero denominado ponto isoelétrico. Sendo assim, o ponto isoelétrico é geralmente o ponto mais instável do sistema coloidal [55,56].

A Figura 12 ilustra um gráfico típico de zeta potencial em função do pH.

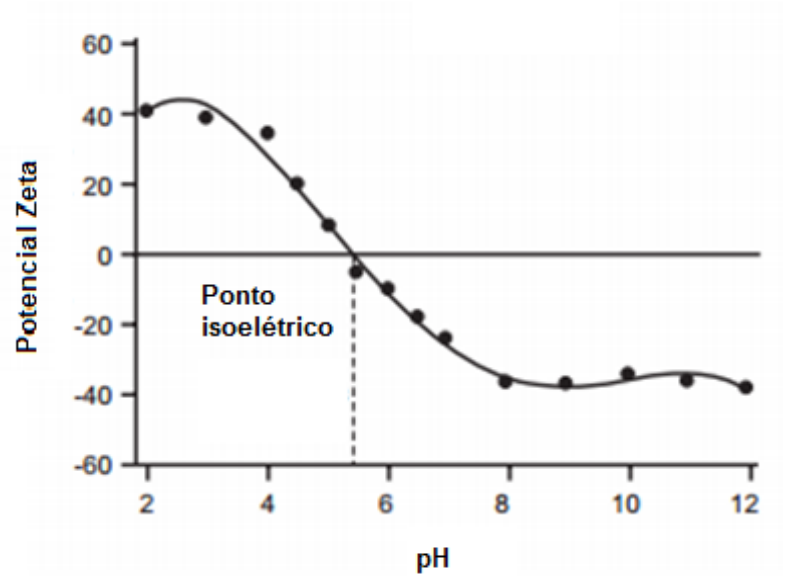


Figura 12 - Curva de potencial zeta em função do pH, indicando o potencial zeta.
Fonte: MALVERN (2005, p. 3).

Para as caracterizações o equipamento *Zetasizer ZS* da *Malvern* foi novamente utilizado. As amostras foram previamente sonicadas na concentração de 0,1 mg/mL em uma solução de NaCl $1x10^{-3}$ mol/L. O pH foi variado pela adição de ácido clorídrico e hidróxido de sódio, ambos nas concentrações de 0,1 e 0,01 mol/L.

5.1.3 Difração de Raios X

Raios X consistem em ondas eletromagnéticas, cujos comprimentos de onda variam de 0,05 a 0,25 nm, o que compreende as distâncias interplanares presentes em estruturas cristalinas. Essas ondas podem ser produzidas pelo choque de um feixe de elétrons com um ânodo, levando a retirada de um elétron de sua órbita. Quando

esse elétron desocupa seu sítio, outro elétron de uma camada mais externa o preencherá, emitindo energia. Essa energia é o raio X [57].

A difração de raios X é uma técnica muito usada para determinação de fases cristalinas de materiais, isso porque, na maioria dos sólidos, os átomos se ordenam em planos cristalinos afastados em uma distância de ordem de grandeza igual ao comprimento de onda dos raios X [58].

Sendo assim, a incidência de um feixe de raios X leva a uma interação com os átomos presentes no cristal, acarretando na difração. O fenômeno da difração obedece a Lei de Bragg, Equação 7, que relaciona o ângulo de difração com a distância interplanar. Vale ressaltar que essa distância é característica de cada fase cristalina, podendo ser usada, portanto, na caracterização de materiais [58].

$$n\,\lambda = 2\,d\,\sin\theta, \tag{7}$$

onde n é um número inteiro, λ é o comprimento de onda dos raios X incidentes, d é a distância interplanar e θ é o ângulo de difração [58].

A técnica da difração de raios X apresenta como vantagens sua simplicidade e rapidez, a confiabilidade dos resultados e a capacidade de se analisar misturas de fases [58].

O difratograma fornece certas características importantes das amostras, tais como: intensidade relativa, parâmetro de rede (h k l), tamanho de cristalito e distância interplanar [59].

O tamanho de cristalito (diâmetro médio das partículas) pode ser calculado através da equação de Scherrer (Equação 8), que relaciona o comprimento de onda da radiação eletromagnética (λ), com a largura na metade da altura do pico de difração (β) e o ângulo de difração (θ) [59].

$$D_{h\,k\,l} = \frac{K\lambda}{\beta\,\cos(\Theta)}, \tag{8}$$

Onde K é uma constante relacionada à forma das partículas (para partículas com formato esférico K é igual a 0,94) [59].

As análises foram realizadas em um equipamento *Rigaku Rint 2000* (IQ-UNESP Araraquara), com radiação CuKα (λ = 1,5418 Å), mediante voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA e velocidade de varredura de 0,2 º min^{-1}. As amostras foram preparadas a partir da amostra sólida em porta amostra de vidro.

5.1.4 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRA-VERMELHO

A espectroscopia é responsável pelo estudo da interação entre a radiação eletromagnética e a matéria. Em geral, as transições eletrônicas ocorrem na região do ultravioleta e do visível, enquanto as transições vibracionais ocorrem na região do infravermelho e as rotacionais na região de micro-ondas [60].

O infravermelho compreende a faixa de 0,75 μm até 1 mm, sendo o segmento mais usado pelos químicos entre 2,5 e 25μm. O espectro infravermelho pode ser usado na identificação de compostos químicos, uma vez que este é característico de cada composto [60].

A Lei de Hooke, exposta na Equação 9, propõe uma relação entre a frequência de oscilação, as massas atômicas e a constante de força de ligação.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\,\pi\,c}\,\sqrt{\frac{f}{(MxMy)/(Mx+My)}}, \qquad (9)$$

onde $\bar{\nu}$ é a freqüência vibracional (cm^{-1}), c é a velocidade da luz (cm/s), f é a constante de força de ligação (dyn/cm), Mx e My são respectivamente as massas (g) dos átomos x e y, e f é igual a 5 x 10^5 dyn/cm para ligações simples, duas vezes este valor para ligações duplas ou três vezes para ligações triplas [60].

Entre as vantagens desse método, pode-se citar o fato de que a maioria das amostras pode ser avaliada, a necessidade de pouca ou nenhuma preparação da amostra e a sua rapidez [61].

A espectroscopia por reflexão difusa no infravermelho com transformada de Fourier, ou Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS), consiste na técnica de espectroscopia no infravermelho, no qual o raio é focado em áreas de pequenas dimensões na amostra. Ao ser dispersada na superfície da amostra, a radiação é coletada pelos espelhos e concentrada, para que posteriormente possa ser detectada [62].

Essa técnica é adequada para análise de substratos contínuos ou em forma de pó, uma vez que a reflexão difusa se apresenta em superfícies não totalmente planas [62].

Para as análises as amostras foram diluídas em brometo de potássio (KBr) na proporção de 10:1 e foram analisadas em um espectrômetro FTIR *Vertex 70* da

Bruker, usando-se o acessório EasiDiff (Pike Technology) de reflectância difusa em uma faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1}.

5.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As microscopias ótica e eletrônica são comumente empregadas na análise microestrutural, com a intenção de compreender as correlações microestrutura-defeitos-propriedades [63].

A microscopia ótica apresenta algumas limitações como o fato de atingir um aumento máximo de 2000 vezes e, por isso, alguns detalhes estruturais não podem ser detectados nesta técnica. Assim, a microscopia eletrônica de varredura se torna mais vantajosa, permitindo um maior aumento. Em comparação com a microscopia eletrônica de transmissão, o MEV apresenta como vantagem a facilidade de preparação das amostras, além de proporcionar uma imagem com aspecto tridimensional [63].

Na microscopia eletrônica, a região da amostra a ser analisada é irradiada com um feixe de elétrons (não com luz, como na ótica), emitindo várias radiações como elétrons secundários, retroespalhados, raios X característicos, etc. [63].

Na microscopia eletrônica de varredura, a imagem é formada principalmente por elétrons secundários e retroespalhados. Os elétrons secundários são responsáveis pela imagem de topografia da superfície da amostra, fornecendo imagens de alta resolução, enquanto os retroespalhados permitem a obtenção de imagens características de variação de composição [63].

O MEV é composto basicamente por uma coluna ótico-eletrônica, onde se encontra o canhão de elétrons e o sistema de demagnificação, a unidade de varredura, a câmara de amostra, o sistema de detectores e o sistema de visualização da imagem [63].

Atualmente, a maioria dos microscópios eletrônicos de varredura apresentam detectores de raios X a eles acoplados, permitindo uma análise química da amostra [63].

Os microscópios eletrônicos de varredura de alta resolução (MEV-FEG) apresentam um canhão de emissão de campo, ou Field Emission Gun (FEG). Este canhão apresenta como características o fato de seu brilho ser superior ao das outras fontes, além de uma menor redução do potencial de aceleração. A emissão a frio, presente neste tipo de equipamento, permite uma menor variação da energia dos elétrons (ΔE), o que é importante, visto que a baixas voltagens, um alto valor de ΔE pode implicar no efeito da aberração cromática. Tal efeito é responsável por limitar o poder de resolução nas condições já citadas [64].

As análises foram realizadas em um Microscópio de Varredura de Alta Resolução (FEG-MEV; *JEOL modelo 7500F*), instalado no Laboratório de Microscopia Avançada (LMA) no IQ-UNESP.

5.1.6 Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis)

A espectroscopia de absorção molecular é aplicada na identificação de grupos funcionais em uma molécula, além da determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes [61].

A região ultravioleta do espectro apresenta comprimentos de onda na faixa de 200 a 400 nm, enquanto a região do visível varia de 400 a 800 nm. [61].

A absorção nas regiões do visível e ultravioleta está relacionada ao número e ao arranjo dos elétrons nas moléculas, por isso, o pico de absorção pode depender do tipo de ligação existente na amostra [61,65].

Através da Lei de Lambert-Beer é possível determinar a quantidade de luz absorvida pela amostra. Essa lei está expressa na Equação 10.

$$\log(I_0/I) = A = \varepsilon\, c\, l, \qquad (10)$$

onde I_0 é a intensidade de luz incidente, I é a intensidade da luz que sai da solução, A é a absorbância, ε é a absorvidade molecular, c é a concentração do material e l é a espessura da amostra [61,65].

Tanto em compostos orgânicos como em compostos inorgânicos, a absorção está relacionada com a deficiência de elétrons na molécula, sendo que nos inorgânicos, o comprimento de onda de absorção das transições do tipo d-d depende

do metal envolvido, do número de grupos coordenados, da basicidade, entre outros fatores. Enquanto, para os orgânicos, a dupla ligação acarreta em uma forte absorção do ultravioleta remoto e as ligações conjugadas produzem absorção em comprimentos de ondas superiores [61,65].

Sendo assim, espectrofotômetros são os instrumentos que registram os dados de absorbância em função do comprimento de onda, o que é denominado espectro de absorção. Tal espectro é característico de cada espécie química e, consequentemente, sua obtenção torna possível a identificação da espécie presente na amostra [61,65].

Nesses instrumentos, um monocromador seleciona a radiação monocromática, permitindo determinações quantitativas de acordo com a Lei de Lambert-Beer. No caso da região UV-Vis, usam-se componentes óticos de quartzo e detectores de alta sensitividade para detecção das radiações nessa faixa. Assim, os espectrômetros são compostos basicamente por uma fonte de radiação, um monocromador, um compartimento onde a amostra fica contida, detectores e indicadores de sinal [61,65].

O equipamento utilizado foi um Espectrofotômetro de feixe duplo *Perkin Elmer Lambda 1050* com esfera integradora.

5.2 PARTE EXPERIMENTAL

O procedimento experimental foi dividido basicamente em três partes: síntese de nanopartículas, funcionalização da superfície e modificação com polímeros, conforme pode ser observado no organograma da Figura 13.

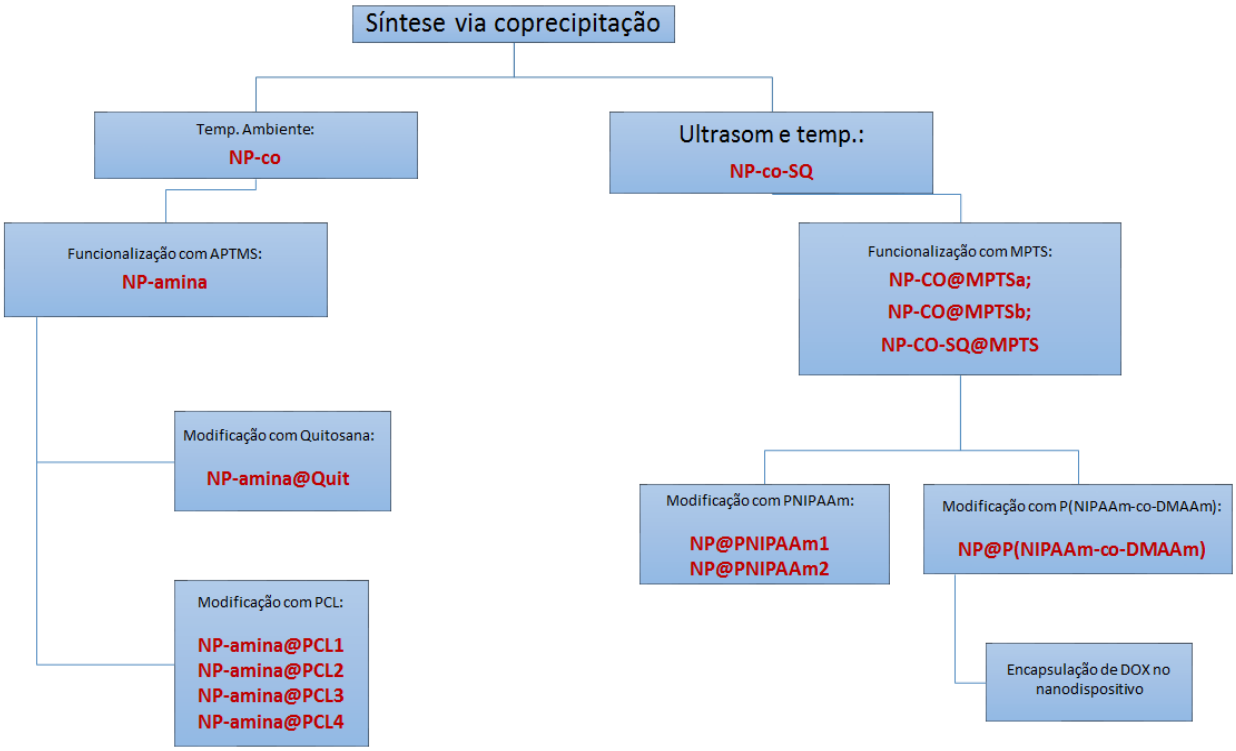


Figura 13 - Organograma do procedimento experimental utilizado.
Fonte: próprio autor.

5.2.1 Síntese de Nanopartículas Magnéticas por Coprecipitação

A síntese de nanopartículas magnéticas foi realizada através do método da coprecipitação, no qual ocorre a precipitação de nanopartículas em meio básico através da adição de sais precursores de ferro.

Primeiramente foi preparada a solução precursora de ferro. Para tanto, foram dissolvidos 4 g de $FeCl_2.4H_2O$ e 11 g de $FeCl_3.6H_2O$ em 450 mL de água destilada borbulhada em argônio. Em seguida, adicionou-se 4 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado.

Após agitação, foram adicionados 24 mL de uma solução 25% de hidróxido de amônio, tendo em vista que a síntese de nanopartículas por coprecipitação ocorre em pH básico. A solução resultante foi mantida sob agitação durante 20 minutos e, para finalizar, foi lavada com água destilada, separando-se as nanopartículas do meio com auxílio de um ímã, até obtenção de pH neutro.

Duas amostras foram preparadas por esse procedimento: NP-CO e NP-CO-SQ. Na primeira a reação ocorreu em temperatura ambiente, enquanto a segunda foi sonoquimicamente assistida (com 30% de amplitude e ciclo direto) sob aquecimento.

5.2.2 FUNCIONALIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DAS NANOPARTÍCULAS

a) Funcionalização com APTMS (NP-amina)

A funcionalização foi realizada durante o processo de síntese no item 5.2.1. O APTMS foi adicionado após 10 minutos da reação sonoquimicamente assistida.

A solução resultante foi mantida sob efeito do ultrassom, aquecimento e agitação por trinta minutos. Para finalizar, as partículas foram separadas magneticamente e lavadas com água até pH neutro.

b) Funcionalização com MPTS

A funcionalização da superfície das partículas com MPTS foi conduzida conforme descrito por Kraus et. al (2009) [66]. Sendo assim, 1 g da amostra NP-CO foi dispersa em 50 mL de água destilada, com o auxílio de um ultrassom.

Em seguida, 0,2 mL de MPTS foram adicionados à solução, que foi aquecida a 90ºC e agitada, por três horas, sob atmosfera de nitrogênio. A amostra foi nomeada NP-CO@MPTS a.

Ao final da funcionalização, as partículas foram precipitadas magneticamente e lavadas com água destilada e etanol.

Uma segunda amostra foi preparada pelo mesmo método, aumentando-se o volume de MPTS na reação para 0,8 mL (Amostra NP-CO@MPTS b).

As nanopartículas obtidas por coprecipitação sonoquimicamente assistida também foram funcionalizadas com MPTS. Para tanto, assim como na funcionalização com APTMS, 0,8 mL de MPTS foram adicionados após 10 minutos de reação, ainda no processo de síntese das nanoparticulas. A solução resultante foi mantida sob efeito do ultrassom, aquecimento e agitação durante trinta minutos. Para finalizar, as partículas foram separadas magneticamente e lavadas com água até atingir pH neutro. A amostra foi denominada NP-CO-SQ@MPTS.

5.2.3 MODIFICAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS COM POLÍMEROS

a) Recobrimento com Policaprolactona (PCL)

A policaprolactona é um polímero hidrofóbico, que pode ser empregado na liberação de fármacos hidrofóbicos, como o metotrexato. Para o recobrimento das nanopartículas magnéticas com PCL diferentes proporções do polímero foram testadas, a fim de se obter uma fina camada do mesmo ao redor das partículas.

Para tanto, as nanopartículas foram lavadas com diclorometano cinco vezes, para que toda a água fosse retirada, e dissolvidas na solução de PCL em diclorometano. Gotejou-se, então, água destilada com a intenção de que o polímero hidrofóbico precipitasse sobre as nanopartículas. O precipitado foi lavado e amostrado para análise. As proporções utilizadas estão expostas na *Tabela 2*.

Tabela 2 - Proporções dos reagentes utilizados nos testes de recobrimento

Amostra	**Massas utilizadas (g)**	
	NP-amina	PCL
NP-amina@PCL 1	0,30	1,50
NP-amina@PCL 2	0,30	1,50
NP-amina@PCL 3	0,60	0,10
NP-amina@PCL 4	0,60	0,05

Fonte: Próprio autor.

Na primeira amostra, NP-amina@PCL 1, a lavagem do precipitado foi realizada com acetona e dioxano. Nas demais amostras, a lavagem foi realizada apenas com dioxano.

b) Recobrimento com Quitosana

A quitosana é um polímero hidrofílico, biocompatível, muito utilizado na liberação de fármacos hidrofílicos, como o diclofenaco sódico.

Primeiramente a quitosana foi dissolvida em HCl 0,1 mol/L, em seguida adicionou-se a 4 mL da solução de nanopartículas. A concentração utilizada foi 0,01 g de quitosana em 10 mL de ácido.

Então, foi gotejada uma solução de NaOH na mistura com a intenção de que o polímero encapsulasse as nanopartículas. Foi separada uma amostra para análise.

c) Polimerização de NIPAAm na superfície das nanopartículas

A polimerização na superfície das nanopartículas foi realizada através de uma adaptação do método proposto por Yeh *at al*. (2013), o qual utilizou os grupos tiol presentes na molécula de 3-mercaptopropionato de metilo para controlar a polimerização do monômero NIPAAm [67]. Nas nanopartículas, estes grupos tiol já haviam sido adicionados ao funcionalizá-las com MPTS. A reação pode ser visualizada na Figura 14.

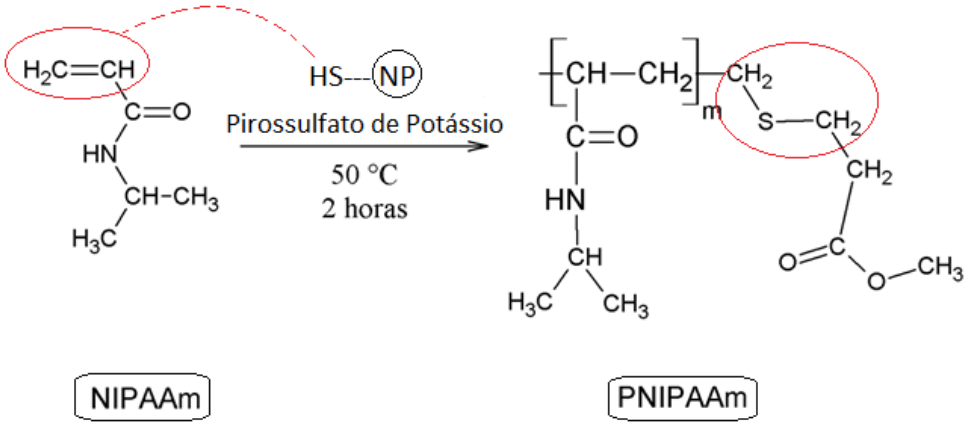


Figura 14 - Reação de polimerização do NIPAAm na presença dos grupos tiol.
Fonte: próprio autor.

Deste modo, 0,41 g de NIPAAm e 0,1 g de NP-CO-SQ@MPTS foram dissolvidos em 40 mL de água deionizada. A solução foi levada ao ultrassom durante 5 minutos para evitar a formação de aglomerados. Em seguida, borbulhou-se gás argônio durante 30 minutos.

A solução foi, então, aquecida a 50ºC e adicionou-se uma solução de pirossulfato de potássio (0,03 g em 10 mL de água deionizada) para se iniciar a polimerização. A reação ocorreu em 2 horas.

Ao final, as partículas foram precipitadas em meio básico e separadas magneticamente, lavando com água destilada para retirar o excesso de monômero.

Outra amostra foi feita pelo mesmo método, variando-se apenas as concentrações de monômero e nanopartículas. As massas utilizadas em cada amostra podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Quantidades de reagentes utilizadas na polimerização de NIPAAm na superfície das nanopartículas.

Amostra	NIPAAm (g)	NP-CO-SQ@MPTS (g)
NP@PNIPAAm1	0,40	0,1
NP@PNIPAAm2	0,60	0,1

Fonte: próprio autor.

d) Copolimerização de NIPAAm-co-DMAAm na superfície das nanopartículas

A copolimerização na superfície das nanopartículas foi realizada através do método descrito por Yeh at al. (2013). O procedimento foi similar ao utilizado para a polimerização de NIPAAm, diferindo apenas na adição do monômero dimetilacrilamida (DMAAm) [67]. A reação pode ser visualizada na Figura 15.

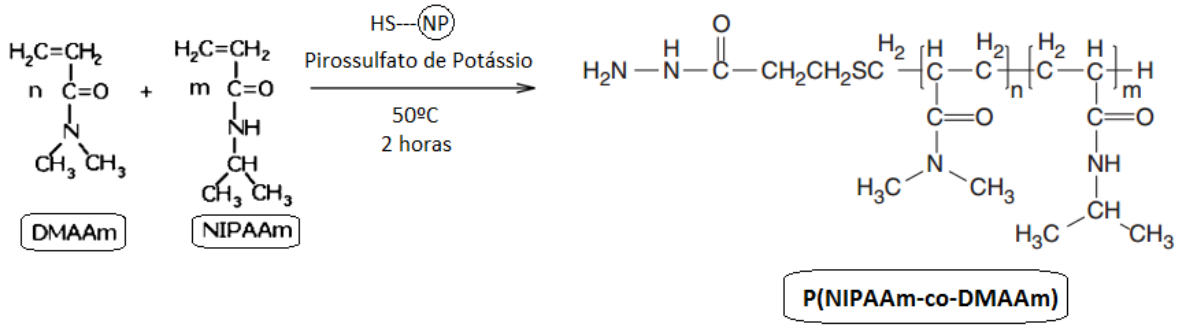


Figura 15 – Copolimerização de DMAAm e NIPAAm na presença dos grupos tiol.
Fonte: próprio autor.

Deste modo, 0,6 g de NIPAAm, 100 µL de DMAAm e 0,1 g de NP-CO-SQ@MPTS foram dissolvidos em 40 mL de água deionizada. A solução foi levada ao ultrassom durante 5 minutos para evitar a formação de aglomerados. Em seguida, borbulhou-se gás argônio durante 30 minutos.

A solução foi, então, aquecida a 50ºC e adicionou-se uma solução de pirossulfato de potássio (0,03 g em 10 mL de água deionizada) para se iniciar a polimerização. A reação ocorreu em 2 horas.

Ao final, as partículas foram precipitadas em meio básico e separadas magneticamente, lavando com água destilada para retirar o excesso de monômero [67].

5.2.4 Encapsulamento e Liberação de Doxorrubicina

O encapsulamento de doxorrubicina na amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) foi realizado pelo seguinte procedimento: primeiramente, 20 mL da amostra foram aquecidos a 45ºC, temperatura superior à sua LCST. Assim, 2 mg de cloridato de doxorrubicina foram adicionados à solução, que foi agitada a temperatura constante de 45ºC durante 20 minutos. Para finalizar, a solução foi levada a um banho de gelo, ajustando-se rapidamente para a temperatura de 21ºC.

As partículas foram separadas magneticamente a temperatura ambiente e o sobrenadante com o excesso de fármaco (não encapsulado) foi caracterizado por espectroscopia no UV-Vis.

As NP magnéticas foram lavadas com água destilada 5 vezes, as partículas separadas magneticamente e o sobrenadante a temperatura ambiente foi amostrado para caracterização por espectroscopia no UV-Vis, a fim de se avaliar se o fármaco está sendo liberado abaixo da LCST.

A amostra foi, então, aquecida a 45ºC por 20 minutos e o procedimento de separação das partículas foi repetido para avaliar a liberação do fármaco acima da LCST do polímero pela mesma técnica.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

As amostras de nanopartículas magnéticas foram caracterizadas por FTIR, conforme pode ser visualizado na figura abaixo.

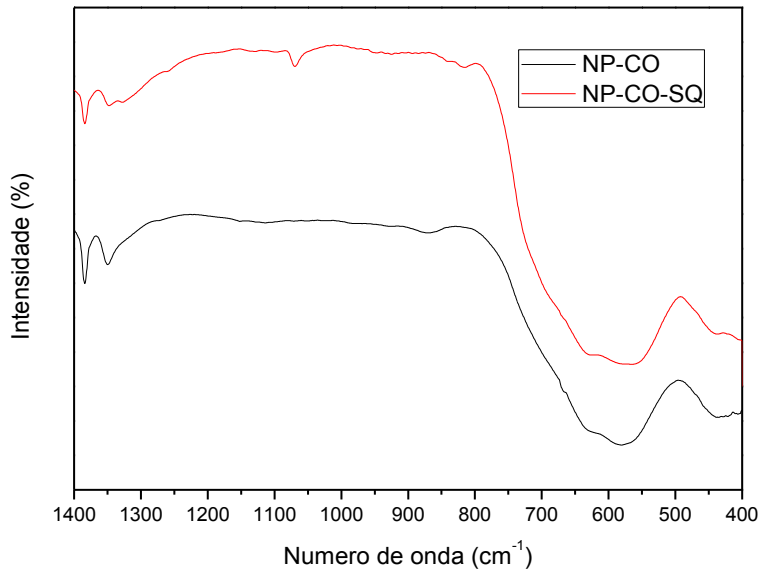


Figura 16 - Espectro de FTIR das amostras NP-CO e NP-CO-SQ.
Fonte: próprio autor.

Na literatura especializada, as bandas de absorção das ligações Fe-O ocorrem em 570 e 375 cm^{-1}. No entanto, as nanopartículas de óxido de ferro, devido ao seu diâmetro reduzido e o consequente aumento da constante de força de ligação, apresentam um deslocamento dessas bandas, que passam a ocorrer em 600 e 440 cm^{-1}, o que é compatível com os valores encontrados. [27,61]. Na Figura 16 é possível perceber, inclusive, espectros bastante semelhantes entre as duas amostras, o que indica que ambas apresentam as mesmas ligações químicas.

As amostras NP-CO e NP-CO-SQ foram caracterizadas, então, por difração de raios X a fim de se verificar a formação de magnetita, além de permitir o cálculo do diâmetro de cristalito através da Equação 8.

Na Figura 17 é possível observar os difratogramas obtidos para cada amostra, bem como o perfil de difração característico da magnetita.

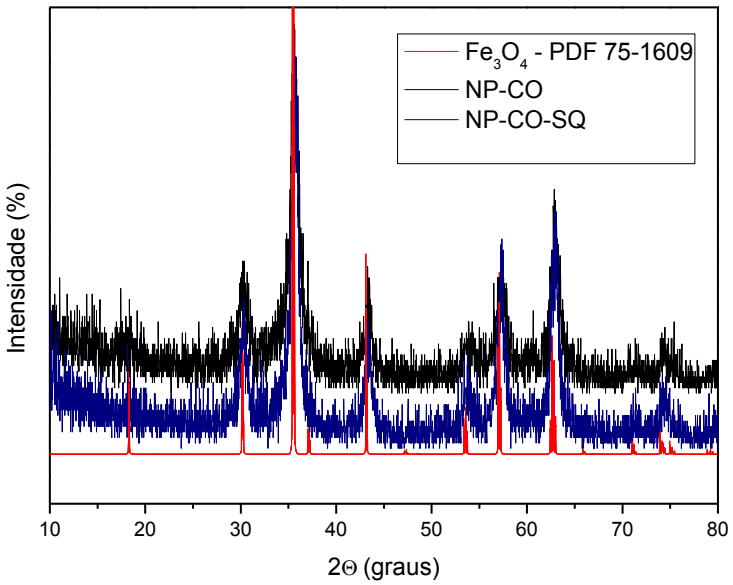


Figura 17 - Difratograma das amostras NP-CO e NP-CO-SQ.
Fonte: próprio autor.

Conforme pode ser observado na figura acima, houve a formação de uma fase correspondente à da magnetita em ambas as amostras. É importante ressaltar que γ-Fe_2O_3 (maghemita) possui o mesmo perfil de difração de raios X que o Fe_3O_4 (magnetita), não sendo possível afirmar qual dessas fases realmente foi formada nas amostras apenas através desta técnica. Uma alternativa seria a caracterização por espectroscopia de Mossbauer. No entanto, a formação de maghemita não inviabilizaria a aplicação da técnica, uma vez que esta, assim como a magnetita, é biocompatível e magnética.

O cálculo dos tamanhos médios de cristalito nas amostras foi realizado através da Equação de Scherrer (Equação 8), com base na medida da largura a meia altura do pico de maior expressão de cada difratograma obtido na análise. Os parâmetros β e θ foram encontrados a partir do programa Origin 7.1, que faz um ajuste dos picos para uma função de distribuição gaussiana, de modo a se encontrar os parâmetros necessários para aplicação da Equação de Scherrer. Os parâmetros encontrados e os diâmetros calculados podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 4 – Diâmetro de cristalitos e valores utilizados nos cálculos.

Amostras	β (rad)	Θ (rad)	D (nm)
NP-CO	0,018	0,311	9,40
NP-CO-SQ	0,016	0,310	8,04

Fonte: próprio autor.

Para os cálculos foi considerado λ=0,1542 nm (tubo de cobre) e k=0,9.

Através da análise do diâmetro hidrodinâmico das partículas via DLS, foram obtidos os histogramas presentes na Figura 18.

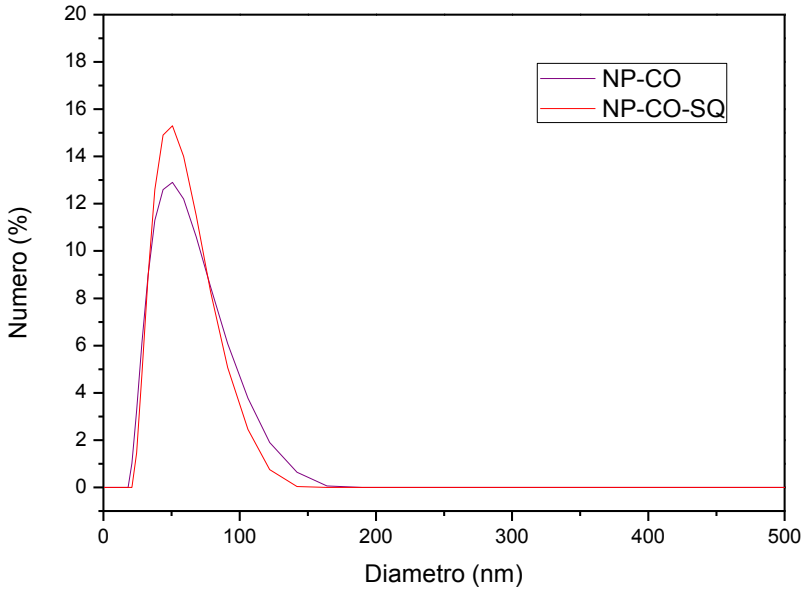


Figura 18 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas nas amostras NP-CO e NP-CO-SQ.
Fonte: próprio autor

Analisando-se a figura, percebe-se que a distribuição de tamanhos de partículas se encontra na dimensão nanométrica, o que é adequado para a aplicação pretendida. É importante considerar que esta é a medida do diâmetro hidrodinâmico das partículas e não seu diâmetro real, que tem dimensão bastante inferior. O diâmetro hidrodinâmico médio foi de 75,2 nm para a amostra NP-CO e de 70,7 nm para a amostra NP-CO-SQ, valores bastante próximos.

Também foi realizada a titulação das amostras, obtendo-se uma curva de potencial zeta em função do pH, com a intenção de se encontrar o ponto isoelétrico e os valores de pH que proporcionem a maior estabilidade para as partículas. A Figura 19 ilustra as curvas obtidas para as amostras NP-CO e NP-CO-SQ. O valor do ponto isoelétrico de nanopartículas de magnetita encontrado na literatura varia entre 6 e 7, quando sintetizadas a partir de soluções de cloreto, o que é compatível com o encontrado para cada amostra [55,68]. Na amostra NP-CO o valor encontrado foi de 5,7, enquanto para a amostra NP-CO-SQ foi 6,4.

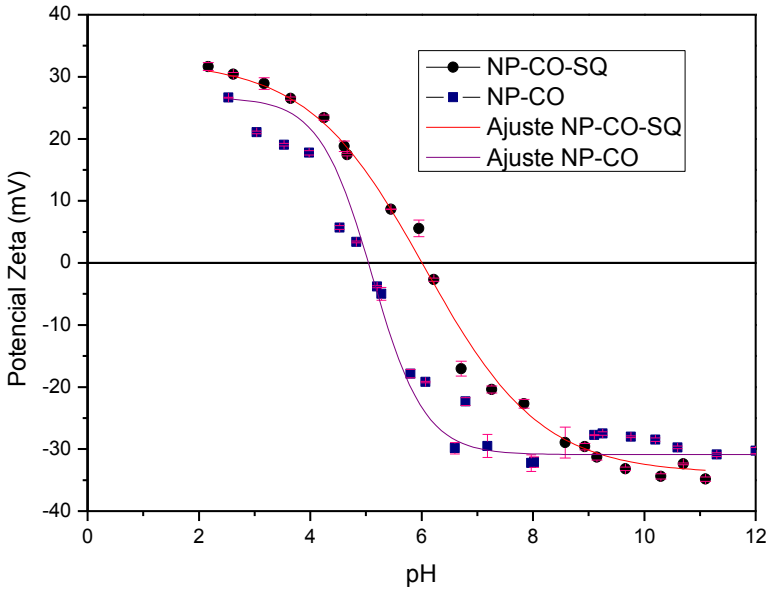


Figura 19 - Curva do potencial zeta das amostras NP-CO e NP-CO-SQ em função do pH.
Fonte: próprio autor.

Analisando a figura, é possível concluir que ambas as amostras tendem a ser mais estável para valores de pH inferiores a 2,5 e superiores a 8,0. Isso porque partículas com elevados valores de potencial zeta, tanto negativos quanto positivos, tendem a se repelir, diminuindo probabilidade de formar agregados e, consequentemente, aumentando a estabilidade em suspensão.

6.2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FUNCIONALIZADAS

6.2.1 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FUNCIONALIZADAS COM APTMS (NP-AMINA)

Na caracterização por FTIR foi possível observar as bandas relativas aos óxidos de ferro da nanopartícula, bem como as bandas da ligação Si-O e do grupo amina, comprovando a funcionalização das partículas com APTS.

A Figura 20 apresenta o gráfico obtido na análise.

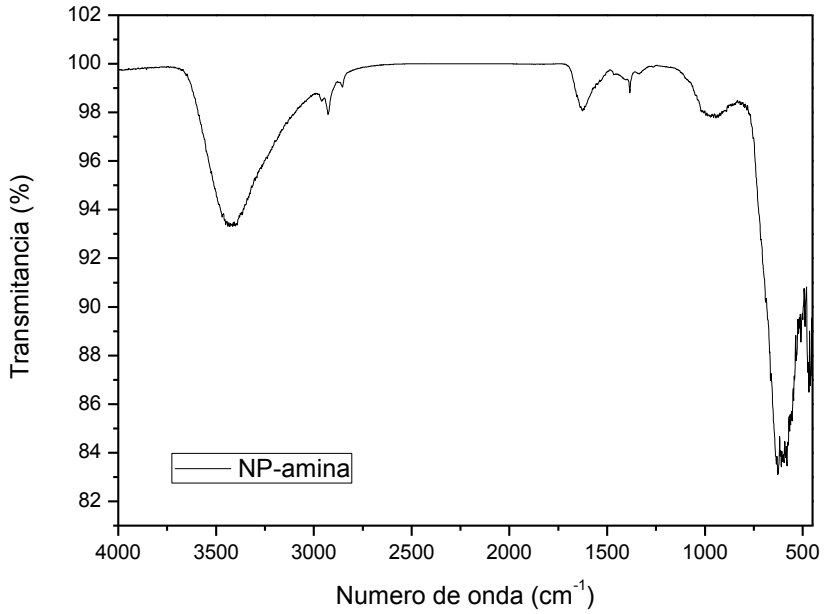


Figura 20 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina.
Fonte: próprio autor.

No espectro de infravermelho da amostra NP-amina, foi possível observar bandas nas regiões em torno de 1600, 920 e 550 cm^{-1}, que correspondem às ligações $R\text{-}NH_2$, Si-O e Fe-O, respectivamente, comprovando a eficiente funcionalização da superfície das nanopartículas. Na literatura, os grupos amina apresentam bandas na faixa de 1670 e 1590 cm^{-1}, que indicam que este grupo está livre, compatível com o valor encontrado e citado anteriormente [27,61].

O processo de funcionalização pode levar à formação de ligações de hidrogênio entre o grupo amina do APTMS e a superfície das nanopartículas de magnetita, o que pode ser observado na região entre 3370 e 3300 cm^{-1}. Analisando-se o gráfico, uma banda de absorção em torno de 3400 cm^{-1} foi observada, o que pode estar relacionado a tais ligações [27,61].

As vibrações das ligações C-H, dos grupos propil presentes no APTMS, são caracterizadas por uma banda dupla na região entre 3000 e 2800 cm^{-1}. Esta banda também pôde ser observada no espectro obtido [27,61].

As nanopartículas funcionalizadas com APTMS foram caracterizadas por DLS. O diâmetro hidrodinâmico médio de partículas na amostra NP-amina é de 78,8 nm, valor próximo ao obtido para as nanopartículas antes da funcionalização. Isso já era esperado, pois a quantidade de grupos amina adicionada foi pequena, de modo que não deveria interferir consideravelmente na dimensão das partículas. O histograma de distribuição de tamanhos das partículas pode ser visualizado na Figura 21.

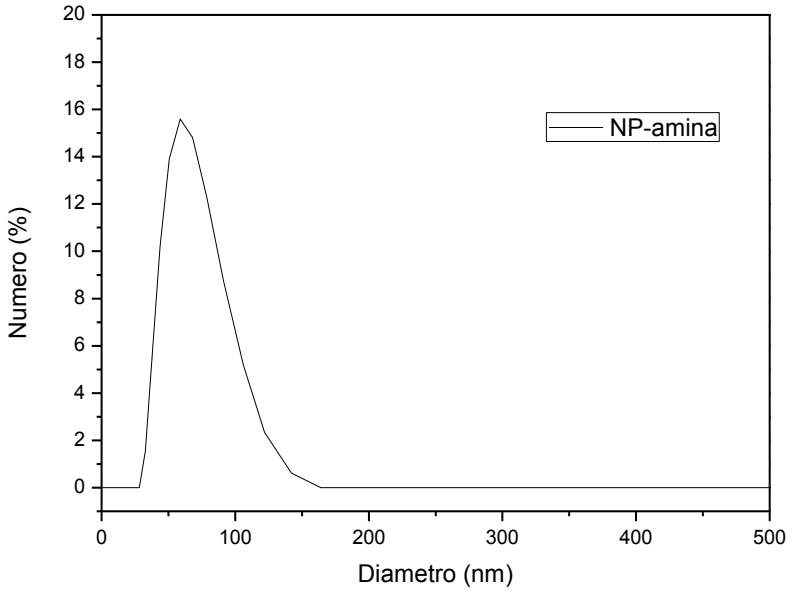


Figura 21 - Histograma da distribuição de tamanhos das partículas na amostra NP-amina.
Fonte: próprio autor.

No histograma é possível observar que as partículas, mesmo aglomeradas, se encontram em dimensão nanométrica.

A curva do potencial zeta em função do pH, obtida pela titulação da amostra NP-amina, pode ser observada na Figura 22.

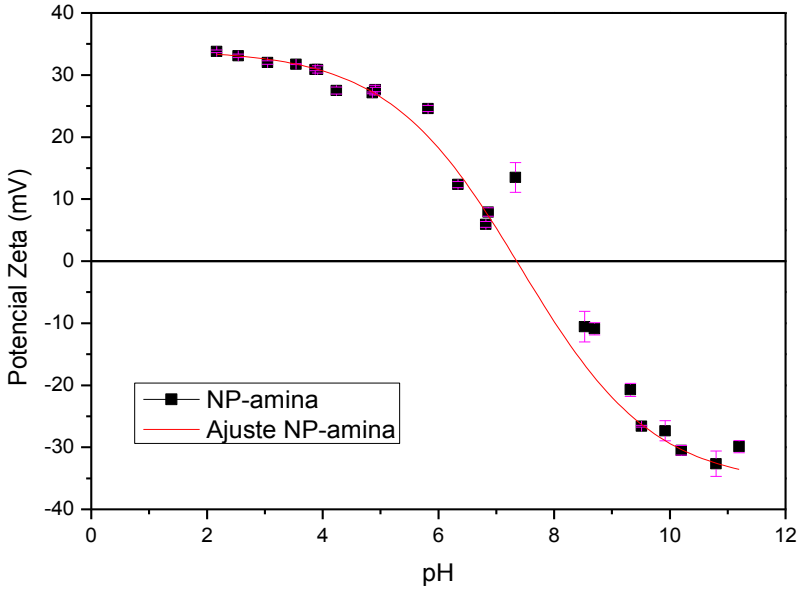


Figura 22 - Curva do potencial zeta da amostra NP-amina em função do pH.
Fonte: próprio autor.

O ponto isoelétrico foi encontrado próximo a 7,54, ponto superior ao encontrado para as partículas antes da funcionalização. Essa mudança no ponto isoelétrico está compatível ao esperado na teoria, devido a introdução de grupos amina ($-NH_2$), grupo não hidrolisável na molécula do alcoxissilano, na superfície das partículas. Grupos amina apresentam caráter básico, uma vez que, de acordo com a teoria de Lewis, bases são espécies capazes de doar elétrons. A Figura 23 ilustra a estrutura do APTMS, destacando o grupo amina e o par de elétrons livres que o confere um caráter básico [28].

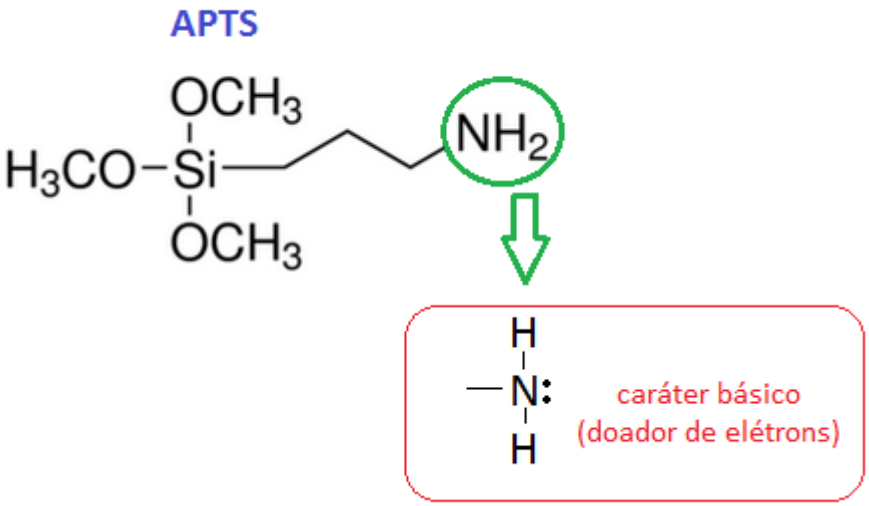


Figura 23 - Estrutura do APTMS.
Fonte: próprio autor.

6.2.2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FUNCIONALIZADAS COM MPTS

a) Amostra NP-CO@MPTS A

O espectro obtido na análise por FTIR da amostra NP-CO@MPTS A, pode ser observado na Figura 24.

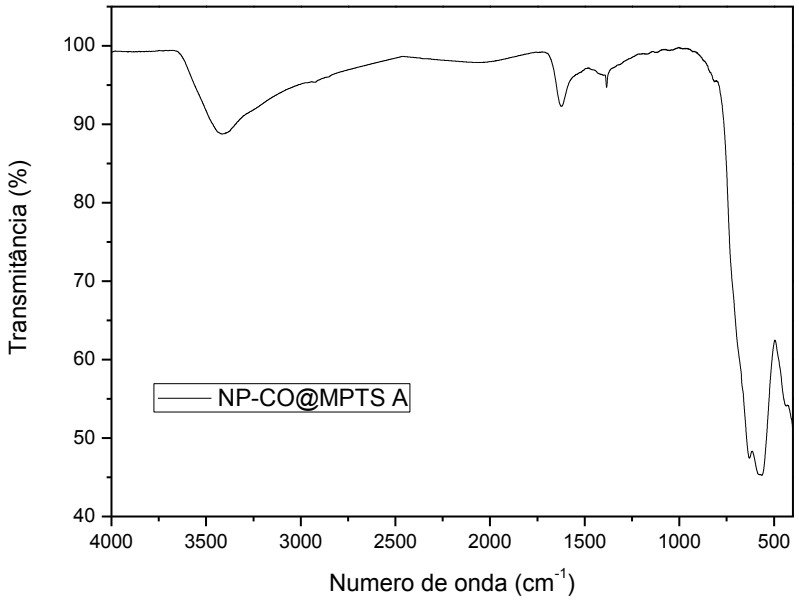


Figura 24 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO@MPTS A.
Fonte: próprio autor.

Na análise foi possível observar bandas relativas às ligações Fe-O, correspondentes as nanopartículas de óxido de ferro. No entanto não é possível observar bandas na região entre 2800 e 3000 cm^{-1}, correspondentes às ligações C-H que deveriam estar ligadas a superfície das nanopartículas, assim como não são observadas bandas na região próxima a 1000 cm^{-1}, correspondente a ligação Si-O, presente no MPTS [61].

Assim, pôde-se concluir que a superfície das nanopartículas não foi funcionalizada com MPTS. Assumiu-se que a quantidade de MPTS utilizada não foi suficiente para funcionalização.

b) Amostra NP-CO@MPTS B

A amostra NP-CO@MPTS B foi caracterizada por FTIR. A Figura 25 apresenta o espectro obtido na análise.

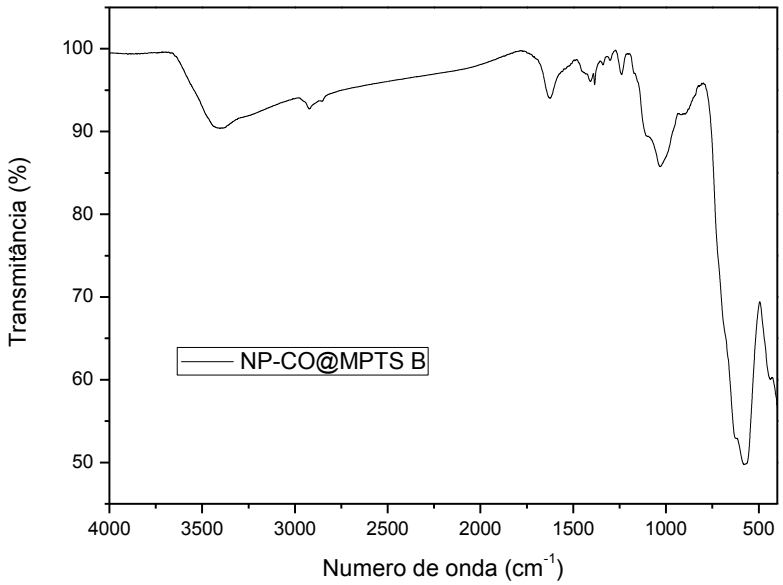


Figura 25 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO@MPTS B.
Fonte: próprio autor.

Ao contrário da amostra anterior, nesta é possível observar uma leve banda próxima a 3000 cm^{-1}, correspondente às ligações C-H, além da banda próxima a 1030 cm^{-1} correspondente às ligações Si-O, presentes na molécula de MPTS [61]. Assim, pode-se afirmar que as nanopartículas foram funcionalizadas satisfatoriamente.

As nanopartículas obtidas por coprecipitação e funcionalizadas com MPTS também foram caracterizadas por DLS, encontrando-se um diâmetro hidrodinâmico médio de 98,8 nm, valor um pouco superior ao obtido anteriormente à funcionalização. O histograma de distribuição de tamanhos das partículas pode ser visualizado na Figura 26.

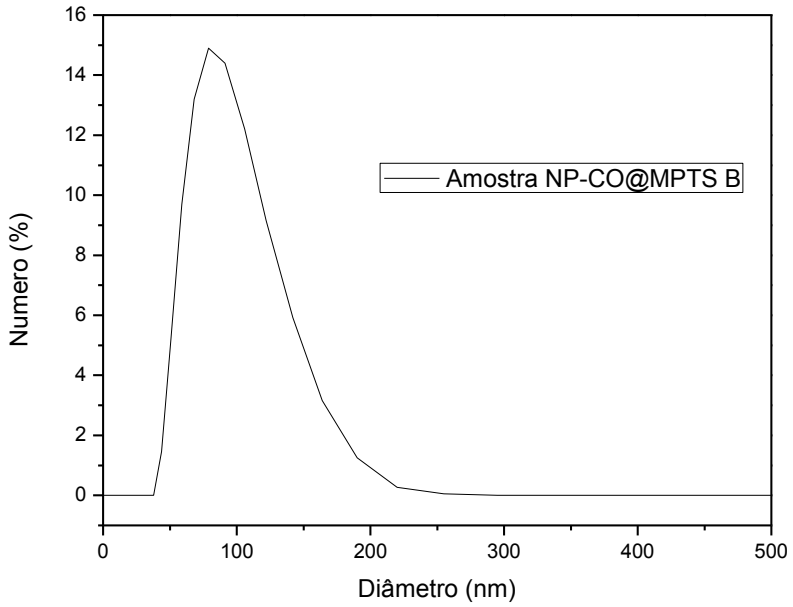


Figura 26 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-CO@MPTS b.
Fonte: próprio autor.

A curva do potencial zeta em função do pH, obtida através da titulação da amostra é apresentada na Figura 27.

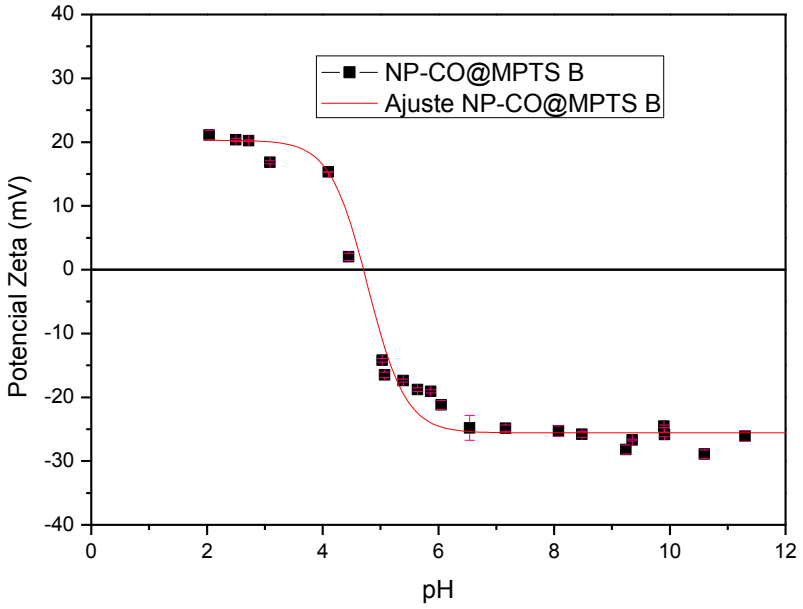


Figura 27 - Curva do potencial zeta da amostra NP-CO@MPTS B em função do pH.
Fonte: próprio autor.

O ponto isoelétrico foi encontrado próximo a 4,9, ponto inferior ao encontrado para as partículas antes da funcionalização. Essa mudança no ponto isoelétrico está compatível ao esperado na teoria, devido a introdução de grupos tiol (-SH) na superfície das partículas. Esses grupos são provenientes da parte não hidrolisável do MPTS, a qual é responsável pela funcionalização da superfície das nanopartículas. O enxofre pertence à mesma família na Tabela Periódica que o oxigênio, sendo um átomo maior e mais polarizado que o último. Deste modo, os compostos de enxofre possuem caráter básico mais acentuado e compostos contendo grupo tiol são ácidos (receptores de elétrons) mais fortes que seus análogos de oxigênio. Sendo assim, a introdução destes grupos na superfície das nanopartículas confere às mesmas um caráter mais ácido [28]. A Figura 28 ilustra a estrutura do MPTS, destacando o grupo não hidrolisável –SH, responsável pela diminuição no ponto isoelétrico da amostra.

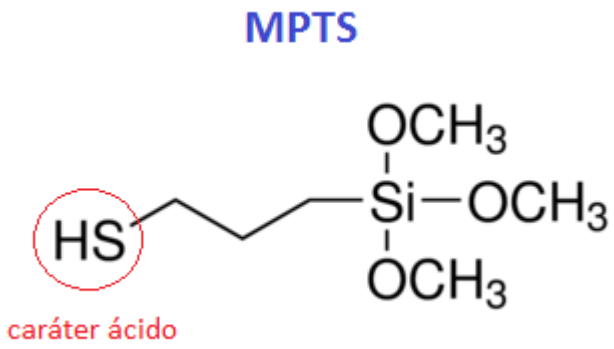


Figura 28 - Estrutura do MPTS, destacando o grupo tiol e seu caráter ácido.
Fonte: próprio autor.

c) Amostra NP-CO-SQ@MPTS

A Figura 29 apresenta o espectro obtido na caracterização por FTIR da amostra de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com MPTS na presença de ultrassom.

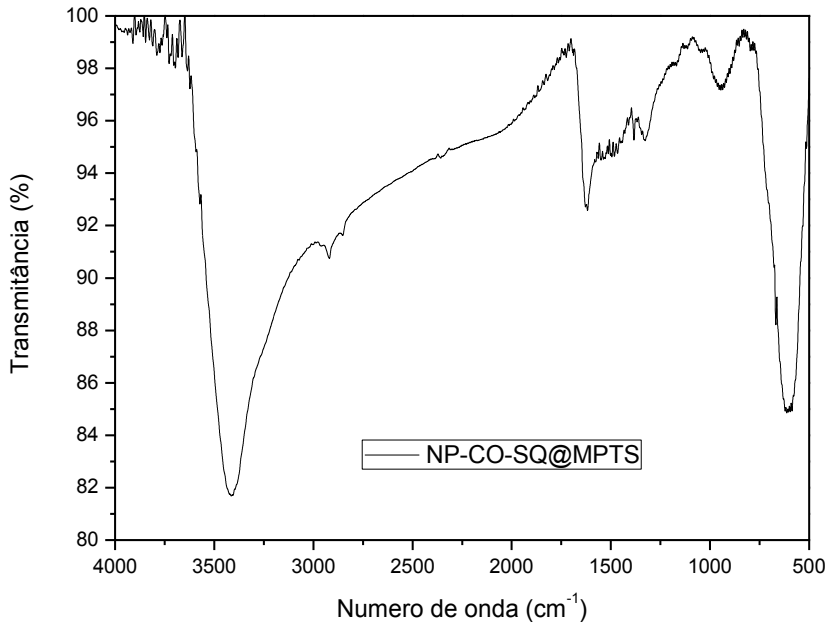


Figura 29 - Espectro de FTIR da amostra NP-CO-SQ@MPTS.
Fonte: próprio autor.

Na figura é possível observar uma leve banda em 2900 cm^{-1}, correspondente às ligações C-H, além da banda próxima a 960 cm^{-1} correspondente às ligações Si-O, presentes na molécula de MPTS. Assim, pode-se afirmar que as nanopartículas foram funcionalizadas satisfatoriamente. A banda encontrada em 3500 cm^{-1}, relacionada ao estiramento dos grupos –OH, bem como a banda em 1600 cm^{-1}, relativa às ligações H-O-H, sugerem a presença de água adsorvida na superfície das nanopartículas [61].

A amostra também foi caracterizada por DLS, obtendo-se um diâmetro hidrodinâmico médio de 105,2 nm. O histograma de distribuição de tamanhos das partículas, que pode ser visualizado na Figura 30.

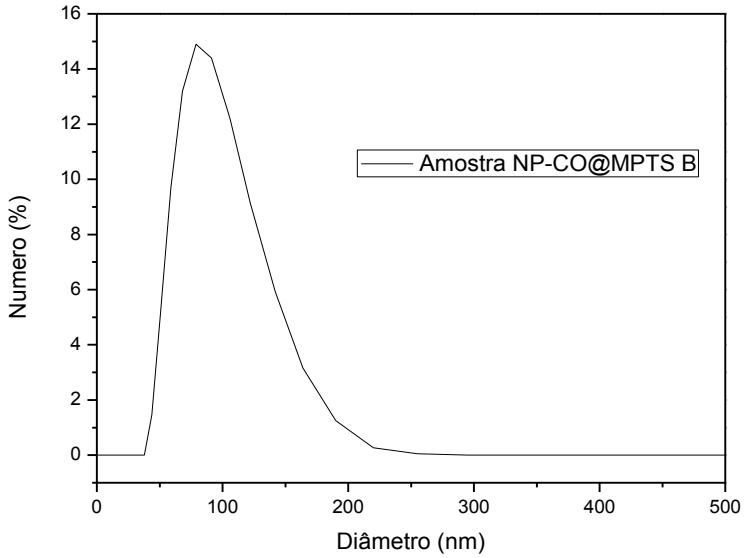


Figura 30 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-CO-SQ@MPTS.
Fonte: próprio autor.

No histograma da Figura 30, é possível observar novamente a dimensão nanométrica das partículas.

A curva da variação do potencial zeta em função do pH da amostra pode ser observada na Figura 31.

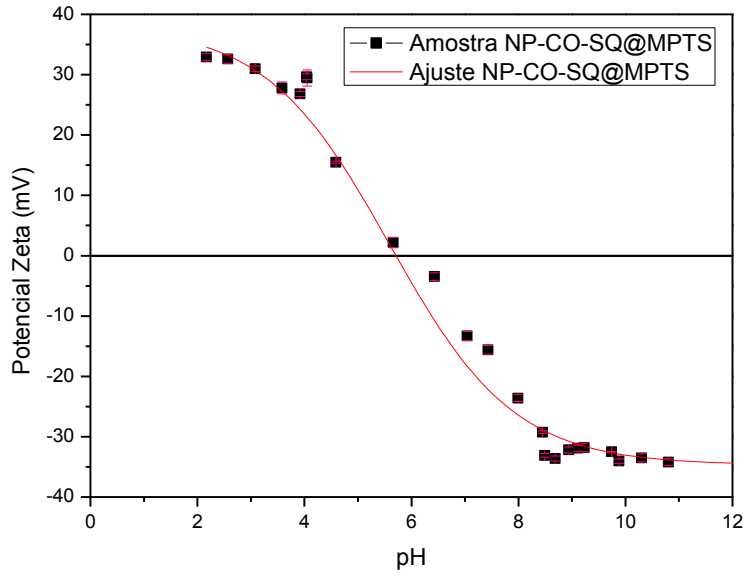


Figura 31 - Curva do potencial zeta da amostra NP-CO-SQ@MPTS em função do pH.
Fonte: próprio autor.

O ponto isoelétrico foi encontrado próximo a 5,9, ponto mais ácido em relação ao encontrado para as nanopartículas anteriormente à funcionalização (pH de 6,5). Essa mudança no ponto isoelétrico está compatível ao esperado na teoria, devido a introdução de grupos tiol, que são ácidos, na superfície das partículas.

As imagens de MEV-FEG obtidas para as nanopartículas podem ser visualizadas nas figuras abaixo.

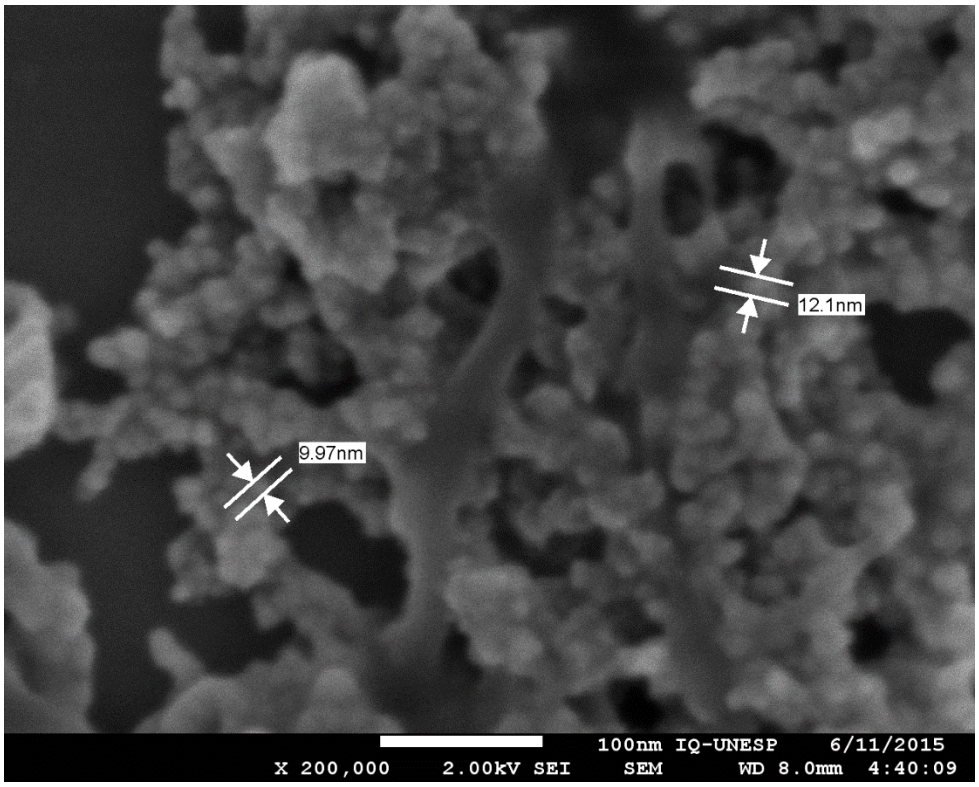


Figura 32 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP-CO-SQ@MPTS com aumento de 200000x.
Fonte: próprio autor.

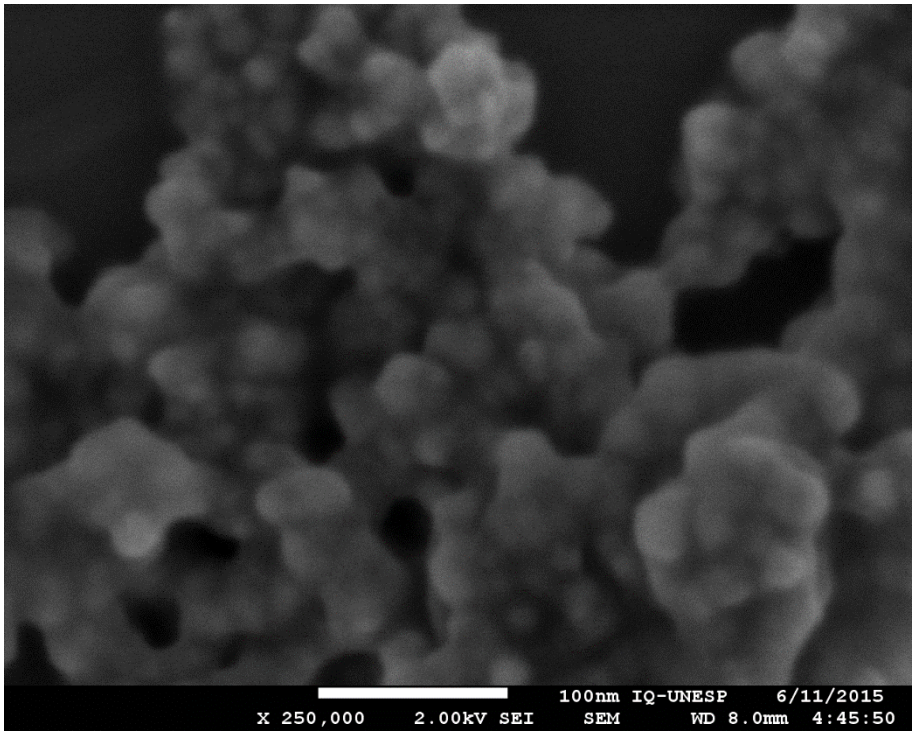


Figura 33 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP-CO-SQ@MPTS com aumento de 25000x.
Fonte: próprio autor.

Nas imagens é possível observar partículas de aproximadamente 10 nm de diâmetro, compatível com o esperado pela caracterização por DRX das nanopartículas antes da funcionalização. No entanto as partículas se encontram bastante aglomeradas, o que pode ser resultado do processo de secagem utilizado para a preparação da amostra. É possível que haja condensação de grupos tiol nesse processo, o que leva a tal aglomeração.

6.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS MODIFICADAS COM POLÍMEROS

6.3.1 MODIFICAÇÃO COM PCL

a) Amostra NP-amina@PCL 1

Através da análise via FTIR foi possível observar as bandas relativas aos óxidos de ferro das nanopartículas, em 600 cm^{-1} (compatível com o esperado pela literatura, devido ao deslocamento mencionado anteriormente). Além dos grupos R-NH_2 livres e

ligados através de ligações de hidrogênio, como já havia sido encontrado na amostra NP-amina anteriormente à adição do polímero [61,69].

No entanto, não há traços do polímero na amostra, uma vez que não apresenta, por exemplo, a banda dupla correspondente aos grupos C-H, que ocorre entre 3000 e 2800 cm^{-1} [61]. Essa análise indica que não houve recobrimento das nanopartículas com PCL.

A Figura 34 apresenta o gráfico obtido na análise.

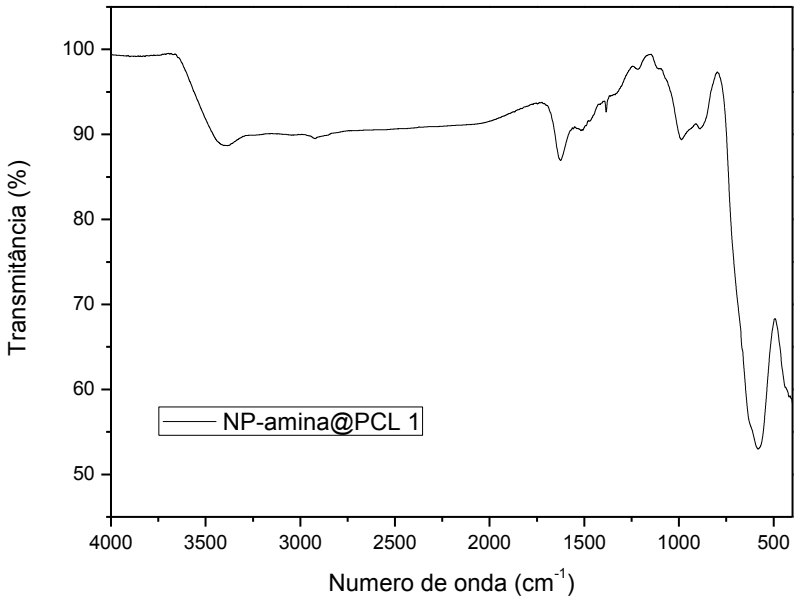


Figura 34 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL1.
Fonte: próprio autor.

É provável que o polímero tenha sido removido durante o processo de lavagem com acetona e dioxano e, deste modo, este processo foi alterado nas lavagens posteriores.

b) Amostra NP-amina@PCL 2

A Figura 35 apresenta o espectro obtido por FTIR.

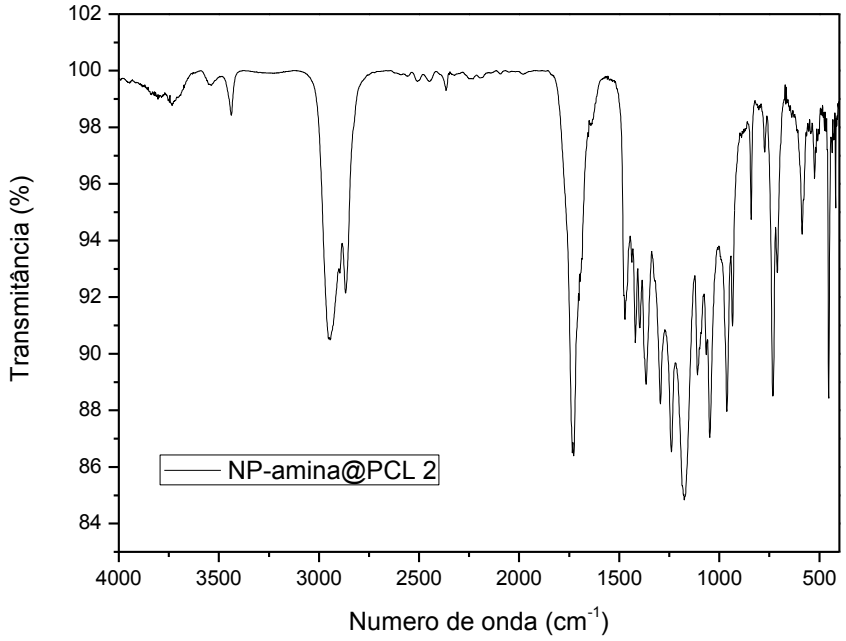


Figura 35 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL2.
Fonte: próprio autor.

Nesta amostra, observou-se a banda dupla entre 3000 e 2800 cm^{-1}, característica das ligações C-H do polímero. Os grupos carbonila (C=O), presentes na PCL, também puderam ser observados próximos a 1730 cm^{-1} [61]. Pode-se afirmar, portanto, que o recobrimento foi satisfatório.

O histograma da distribuição de tamanhos de partículas, obtido por DLS, está ilustrado na Figura 36.

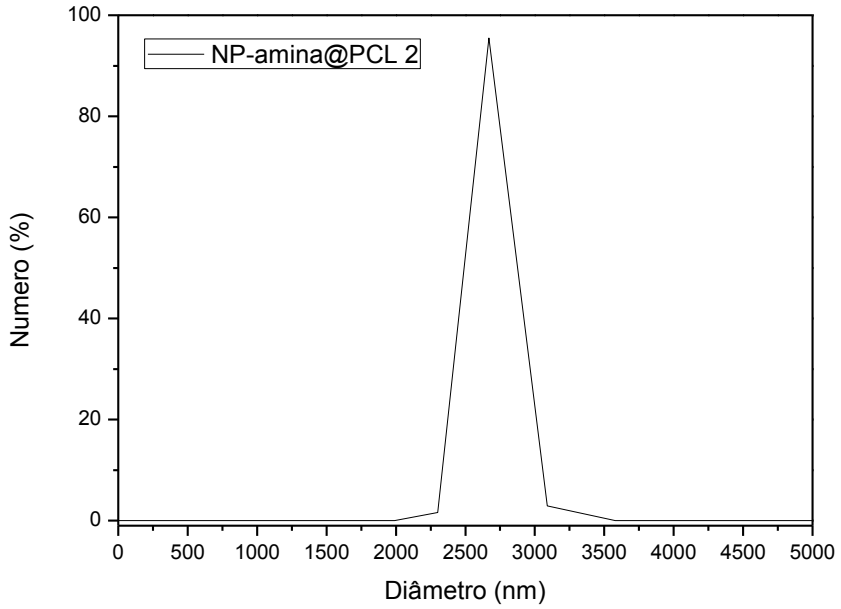


Figura 36 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-amina@PCL 2.
Fonte: próprio autor.

Conforme pode ser observado, houve um aumento significativo no tamanho das partículas, o que indica um satisfatório recobrimento das mesmas com o polímero. Porém, foram obtidas partículas de dimensões micrométricas, não sendo compatível com aplicações em biomedicina. De qualquer forma, esta técnica se mostrou viável para o recobrimento com PCL, necessitando de uma otimização nos parâmetros de síntese para o controle do tamanho do nanodispositivo.

c) Amostra NP-amina@PCL 3

A Figura 37 apresenta o gráfico obtido por FTIR.

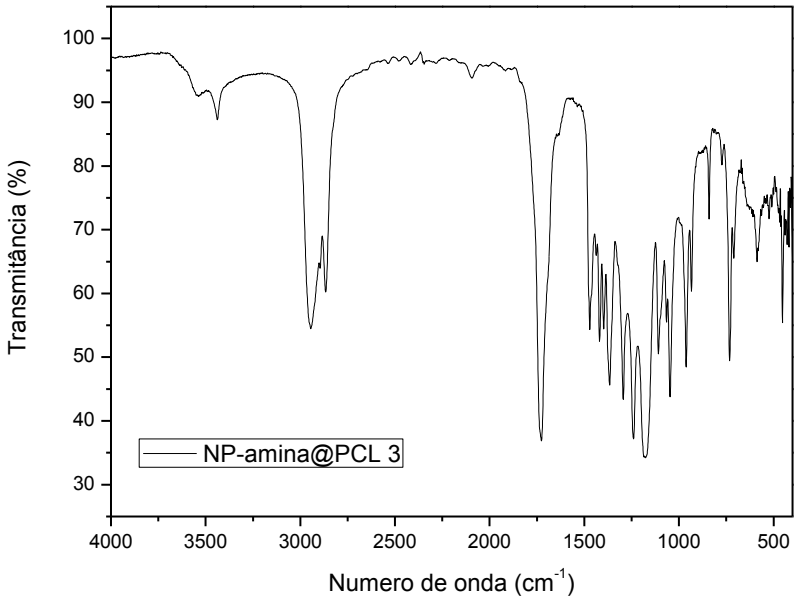


Figura 37 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL3.
Fonte: próprio autor.

O espectro obtido foi semelhante ao da amostra anterior, sendo possível observar novamente alguns grupos típicos da policaprolactona, como as bandas da carbonila e a banda dupla característica do grupo C-H, comprovando-se, assim, o recobrimento das partículas com o polímero.

O histograma da distribuição de tamanhos das partículas da amostra NP-amina@PCL 3, obtido por DLS, pode ser observado na Figura 38.

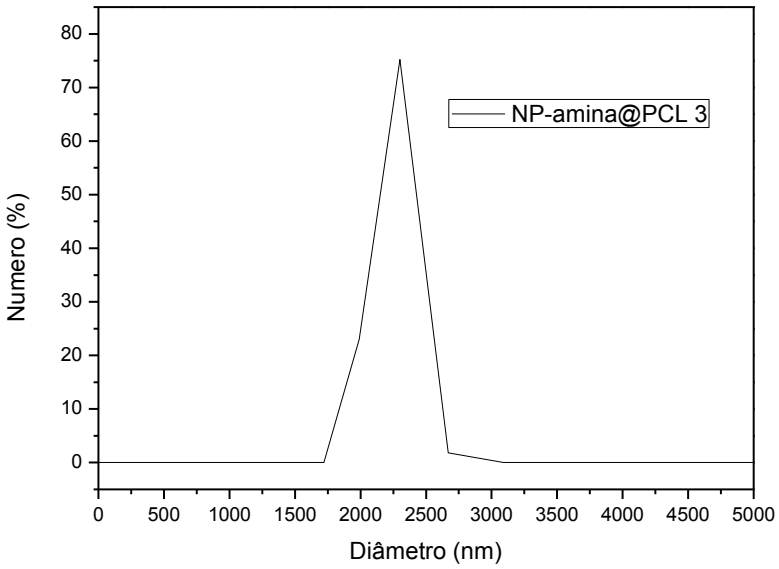


Figura 38 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-amina@PCL3.
Fonte: próprio autor.

Pôde-se observar um aumento significativo no diâmetro das partículas NP-amina, provavelmente causado pela encapsulação destas no polímero. Em comparação à amostra NP-amina@PCL 2, no entanto, se observou uma distribuição de tamanhos mais estreita e com partículas menores.

d) Amostra NP-amina@PCL 4

A Figura 39 apresenta o espectro obtido por FTIR.

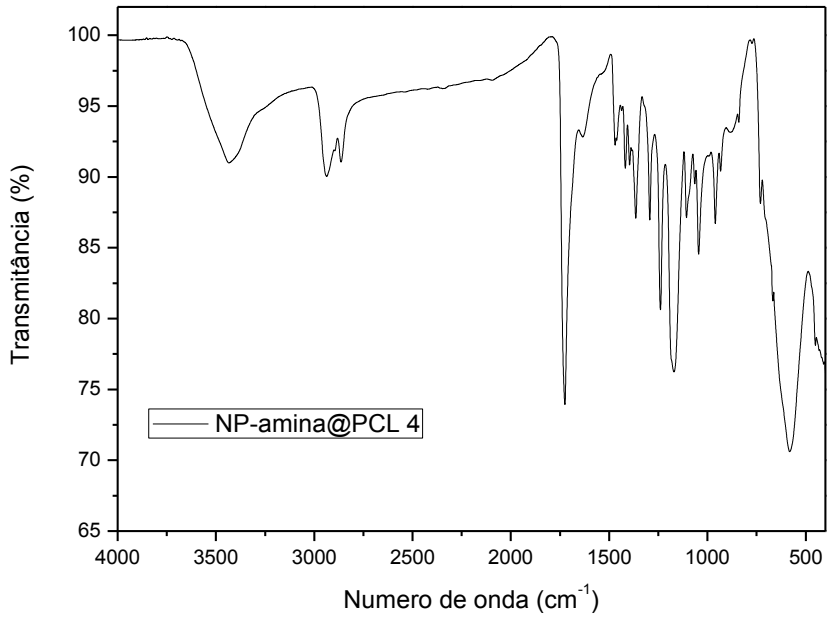


Figura 39 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@PCL4.
Fonte: próprio autor.

O espectro obtido foi semelhante aos espectros das amostras anteriores, sendo mais uma vez possível observar alguns grupos típicos da policaprolactona, assim como dos óxidos de ferro funcionalizados com APTMS, comprovando-se, portanto, o recobrimento das nanopartículas com o polímero.

O histograma da distribuição de tamanhos das partículas da amostra NP-amina@PCL 4, obtido por DLS, pode ser observado na Figura 40.

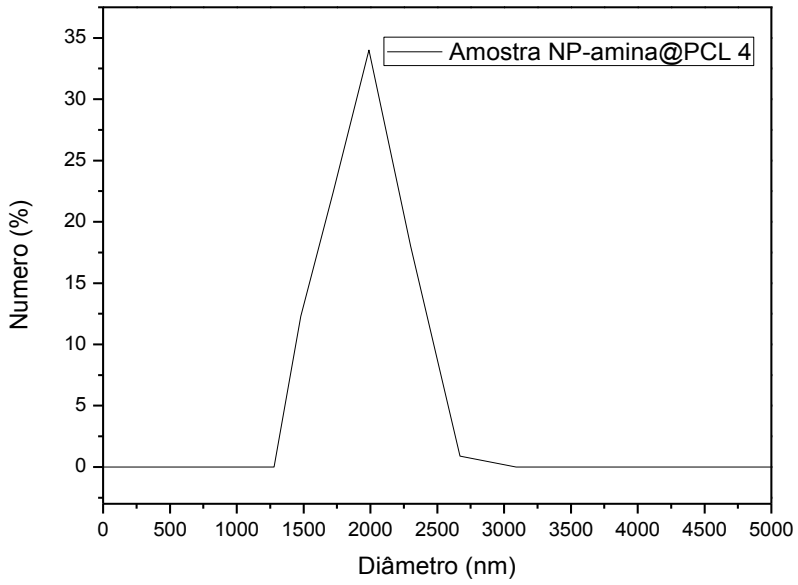


Figura 40 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-amina@PCL4.
Fonte: próprio autor.

Pôde-se observar um aumento significativo no diâmetro das partículas NP-amina, provavelmente causado pela encapsulação destas no polímero. No entanto, a distribuição de tamanhos foi próxima à obtida para a amostra NP-amina@PCL 3, ou seja, mesmo com a diminuição da quantidade de polímero utilizada, este método não permite a formação de partículas inferiores a 2,0 µm, o que a inviabiliza para o uso na liberação controlada de fármacos. A técnica deve, portanto, ser utilizada em outras aplicações que não exijam partículas nanométricas.

6.3.2 MODIFICAÇÃO COM QUITOSANA

A Figura 41 apresenta o espectro obtido por FTIR da amostra recoberta com quitosana.

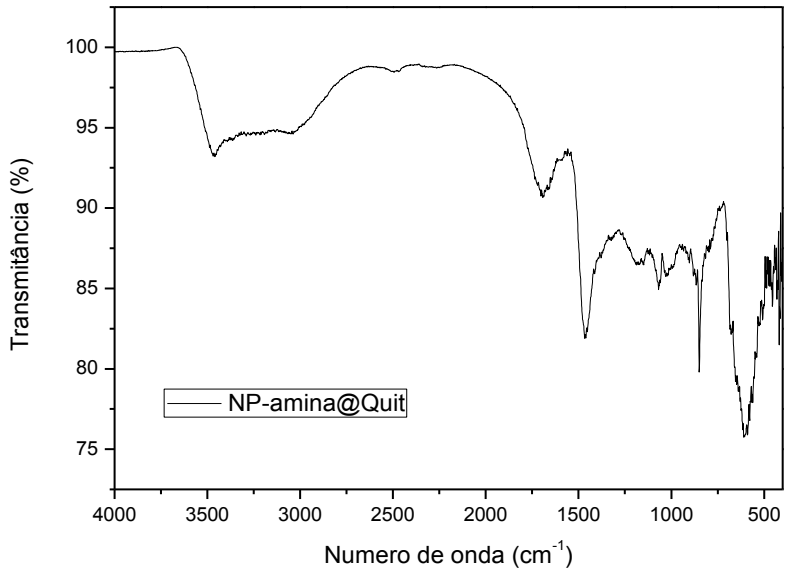


Figura 41 - Espectro de FTIR da amostra NP-amina@Quit.
Fonte: próprio autor.

No espectro acima, pode-se observar as bandas características das NP-amina, bem como bandas típicas de carbonila e amida, provenientes da quitosana. A banda de carbonila foi observada próxima a 1730 cm^{-1} e o grupo $R\text{-}NH_2$ foi observado livre em 1680 cm^{-1} e ligado a superfície das partículas em 3400 cm^{-1}. Comprovou-se, assim, o encapsulamento das partículas com o polímero [61].

A Figura 42 ilustra a distribuição de tamanhos das partículas da amostra, obtida por DLS.

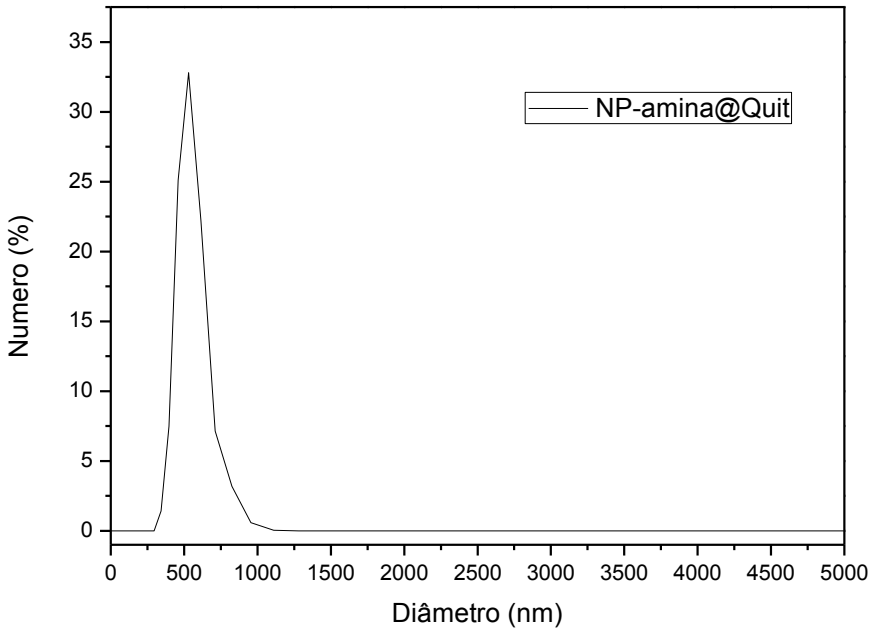


Figura 42 - Histograma da distribuição de tamanhos de partículas na amostra NP-amina@Quit.
Fonte: próprio autor.

Pôde-se observar um aumento significativo no diâmetro das partículas, provavelmente causado pela encapsulação destas no polímero. O diâmetro hidrodinâmico médio, de 620 nm, está mais adequado em relação ao das partículas encapsuladas em PCL.

6.3.3 MODIFICAÇÃO COM PNIPAAM

a) Amostra NP-PNIPAM 1

O gráfico obtido na análise por FTIR da amostra NP@PNIPAAm 1, pode ser observado na Figura 43.

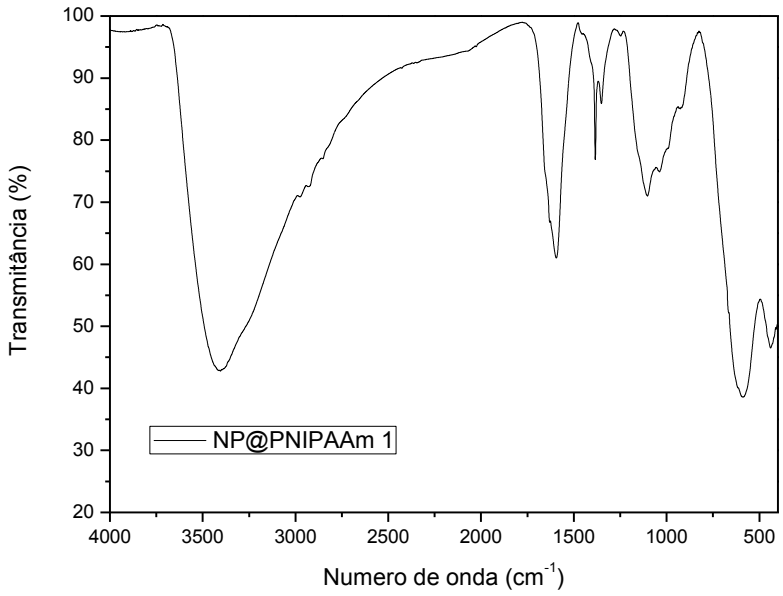


Figura 43 - Espectro de FTIR da amostra NP@PNIPAAm 1.
Fonte: próprio autor.

A principal diferença em relação às nanopartículas antes da polimerização foi o aparecimento de uma banda relativa à carbonila (C=O), que pode ser visualizada em 1650 cm^{-1}. Além da banda relativa à ligação C-N, também presente no polímero, que é encontrada em 1450 cm^{-1}. De acordo com a literatura esses valores eram esperados, respectivamente, em 1650 e 1440 cm^{-1} [61,69]. A princípio a polimerização de NIPAAm na superfície das nanopartículas teria sido satisfatória. No entanto, mais testes foram necessários para se garantir que os grupos encontrados estivessem realmente ligados à superfície das nanopartículas e não se tratassem de monômeros livres.

O raio hidrodinâmico da amostra foi, então, analisado em função da temperatura, através da técnica do DLS, afim de se avaliar a termossensibilidade do polímero.

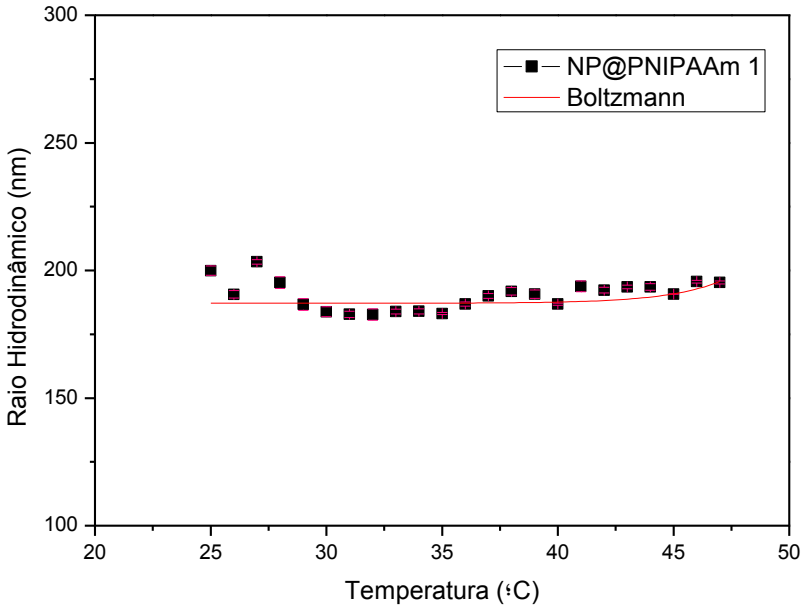


Figura 44 - Raio Hidrodinâmico da amostra NP@PNIPAAm 1 em função da temperatura. Fonte: próprio autor.

Através da análise da Figura 44 foi possível concluir que a amostra não possui sensibilidade à temperatura. Uma possível explicação é que a polimerização não tenha ocorrido, estando presente na solução de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com MPTS uma pequena quantidade de monômero que não sofreu reação.

De qualquer modo, o potencial zeta das partículas foi medido em função do pH do meio, resultando na curva da Figura 45.

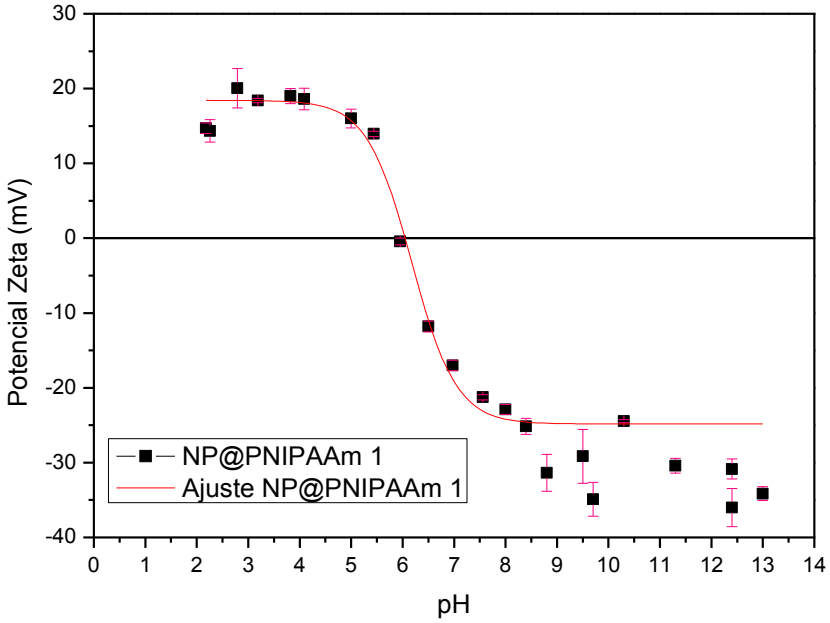


Figura 45 - Curva do potencial zeta da amostra NP@PNIPAAm 1 em função do pH.
Fonte: próprio autor.

Observando-se a figura acima, é possível concluir que a curva de titulação é bastante semelhante à obtida para as partículas anteriormente à reação de polimerização, com ponto isoelétrico próximo a 6. Isso indica que a polimerização não foi adequada, uma vez que a ausência de grupos ionizáveis no polímero impede que o potencial zeta varie significativamente com o pH.

Desta forma, outra amostra foi sintetizada com diferentes proporções de NP/NIPAAm com o intuito de se promover a polimerização.

b) Amostra NP-PNIPAM 2

O gráfico obtido na análise por FTIR da amostra NP@PNIPAAm 2, pode ser observado na Figura 46.

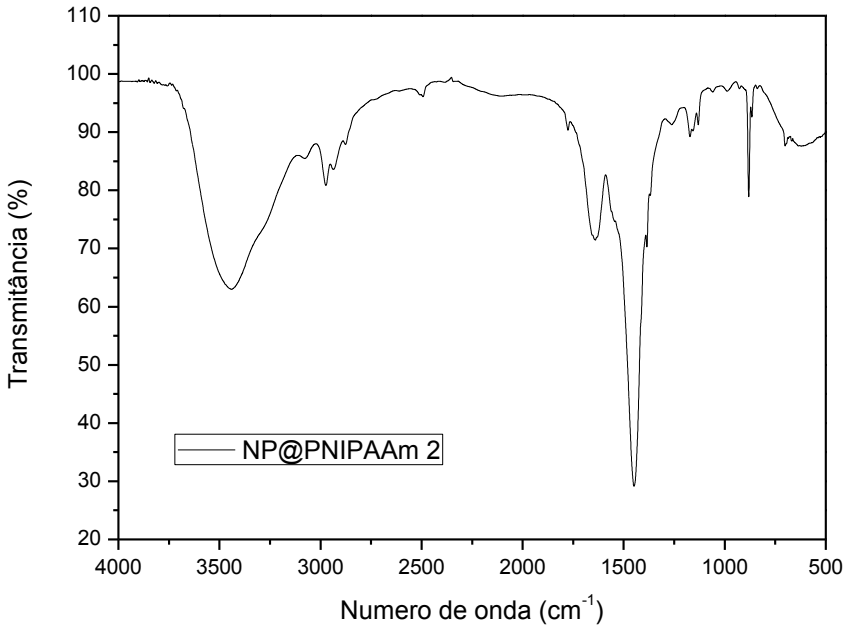
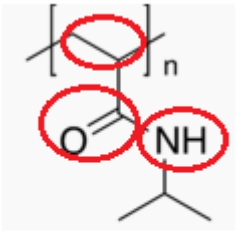


Figura 46 - Espectro de FTIR da amostra NP@PNIPAAm 2.
Fonte: próprio autor.

Na Figura 46 é possível observar a banda dupla relativa às ligações C-H presentes no polímero entre 2800 e 3000 cm^{-1}. Outras bandas observadas foram a do grupo carbonila (C=O) em 1700 e das ligações C-N próximo a 1500 cm^{-1} [61,70]. Todas essas ligações estão presentes no polímero sintetizado, conforme pode ser observado em sua estrutura, ilustra na Figura 47.



PNIPAAm

Figura 47 - Estrutura da PNIPAAm, destacando-se as ligações verificadas por FTIR.
Fonte: próprio autor.

Em seguida, o raio hidrodinâmico da amostra foi, caracterizado em função da temperatura, através da técnica do DLS, avaliando-se a termossensibilidade do polímero. A Figura 48 ilustra o gráfico obtido em tal análise.

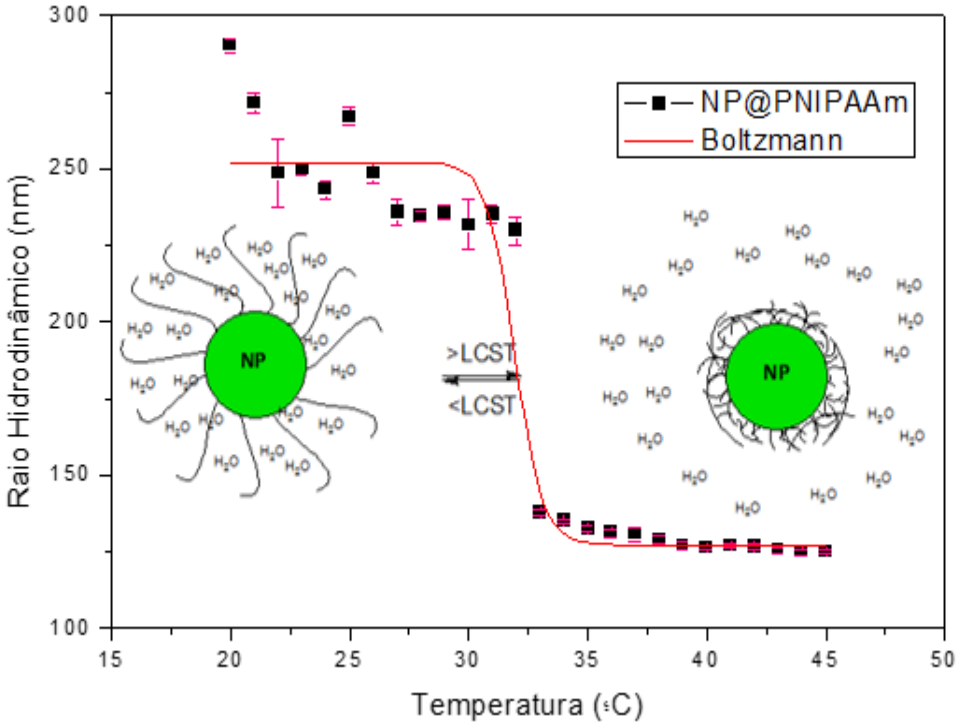


Figura 48 - Raio hidrodinâmico da amostra NP@PNIPAAm 2 em função da temperatura.
Fonte: próprio autor.

Analisando-se a Figura 48 é possível observar o comportamento termossensível da amostra, o que indica que a polimerização de NIPAAm na superfície das nanopartículas foi satisfatória. De acordo com a literatura, o LCST da PNIPAAm é de aproximadamente 32ºC, o que é compatível com o encontrado na análise (32,4ºC) [67,70].

O comportamento do gráfico, indica que acima de seu LCST, o polímero tende a expulsar moléculas de água intercadeias reduzindo sua espessura na superfície das partículas, o que acarreta em uma redução no seu raio hidrodinâmico.

Além disso, os raios encontrados foram de no máximo 300 nm, incluindo os aglomerados, o que viabiliza o uso de tais partículas na biomedicina.

A curva do potencial zeta obtida por tituação da amostra está ilustrada na Figura 49.

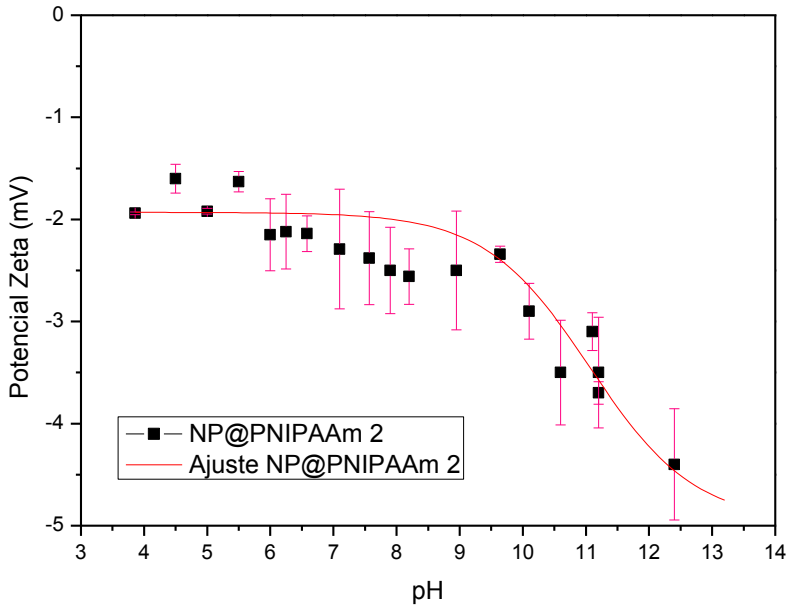


Figura 49 - Curva de titulação potenciométrica da amostra NP@PNIPAAm 2.
Fonte: próprio autor.

Na figura acima é possível perceber que a amostra não apresenta um ponto isoelétrico, aliás, os valores de potencial zeta variam pouco em função do pH do meio, o que é compatível com o encontrado na teoria e se deve provavelmente pela ausência de grupos ionizáveis em sua estrutura molecular e a presença de polímeros na superfície das nanopartículas [71].

6.3.4 Modificação com poli(NIPAAm-co-DMAAm)

O espectro obtido na análise por FTIR da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm), pode ser observado na Figura 50.

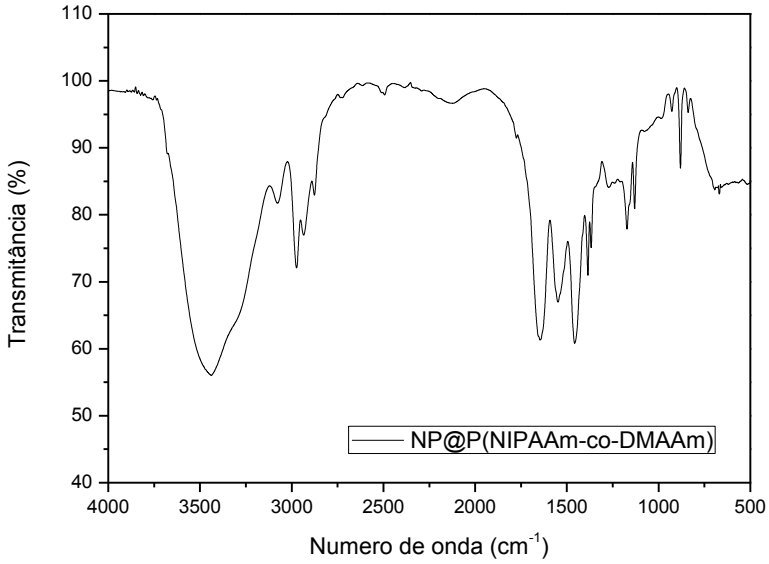


Figura 50 - Espectro de FTIR da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm).
Fonte: próprio autor.

No espectro obtido é possível perceber a banda dupla entre 2800 e 3000 cm^{-1}, relativa às ligações C-H presentes no copolímero, além de bandas em 3500, 1650, 1540, 1270 e 700 relativas, respectivamente, às ligações O-H (presença de água adsorvida na superfície), C=O, N-H, C-O-CH_2- e C-S [61,72]. Todas estas ligações estão presentes na estrutura do copolímero desejado, conforme pode ser visualizado na Figura 51, o que indica que a copolimerização de NIPAAm-co-DMAAm foi satisfatória.

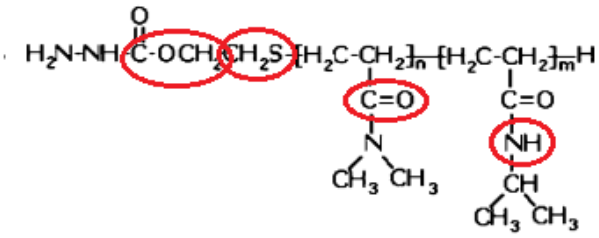


Figura 51 - Estrutura do copolímero P(NIPAAm-co-DMAAm) realçando-se as ligações encontradas no IV.
Fonte: próprio autor.

Em seguida, o raio hidrodinâmico da amostra foi, caracterizado em função da temperatura, por meio da técnica do DLS, avaliando-se a termossensibilidade do polímero.

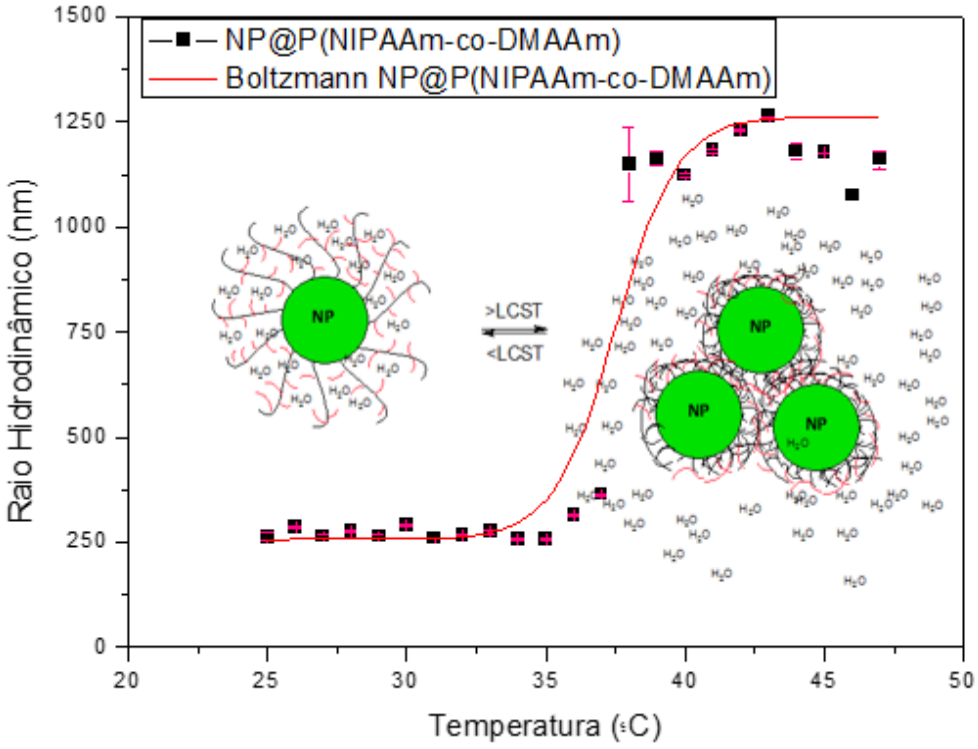


Figura 52 - Raio Hidrodinâmico da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) em função da temperatura.
Fonte: próprio autor.

Analisando-se a figura acima é possível observar o comportamento termossensível da amostra, o que indica que a copolimerização de NIPAAm com DMAAm na superfície das nanopartículas foi satisfatória. De acordo com a literatura, o LCST deste copolímero varia entre 37 e 45ºC de acordo com a proporção utilizada [67]. Na amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) o LCST encontrado foi de 37,9ºC, valor adequado para aplicação no corpo humano e compatível com o esperado pela teoria.

O comportamento do gráfico, indica que acima de seu LCST, o polímero tende a se depositar na superfície das partícula, o que leva à formação de aglomerados. Isto acarreta em um raio hidrodinâmico bastante superior acima de sua temperatura de transição. Este resultado sugere que o copolímero possui estrutura ramificada e que os grupos provenientes do DMAAm possam estar se orientando nas cadeias de forma a sofrerem uma maior repulsão eletrostática ou impedimento estérico após a expulsão

das moléculas de água acima de LCST. Este é um resultado novo na literatura pesquisada e novos estudos serão realizados no grupo de pesquisa em Materiais Magnéticos e Colóides para elucidar o fenômeno observado e a influência do polímero DMAAm na LCST de NIPAAm.

A curva do potencial zeta em função do pH da amostra pode ser visualizada na Figura 53.

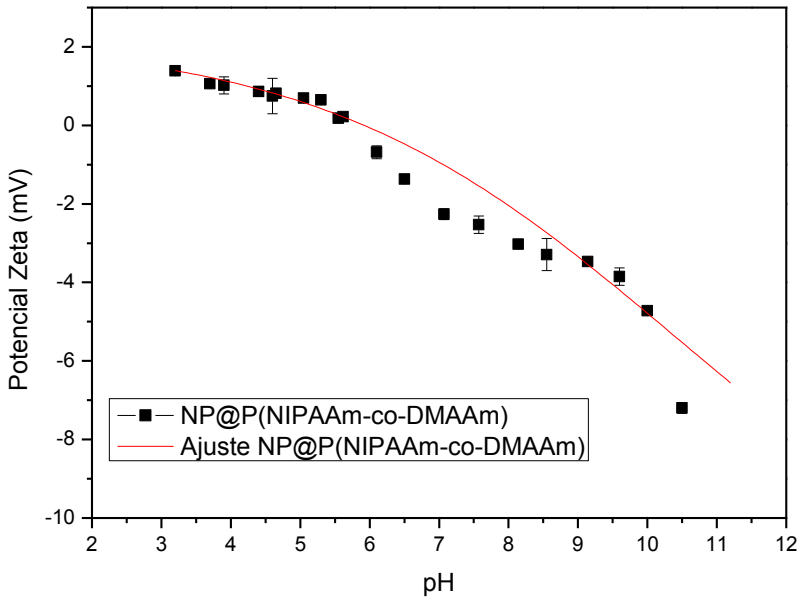


Figura 53 - Curva de titulação potenciométrica da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm).
Fonte: próprio autor.

A curva obtida para o copolímero é bastante semelhante à encontrada para a PNIPAAm. Isso indica que ambos, por não apresentarem grupos ionizáveis, não apresentam variação significativa em seu potencial zeta em função do pH.

As imagens de MEV-FEG da amostra podem ser visualizadas nas figuras abaixo.

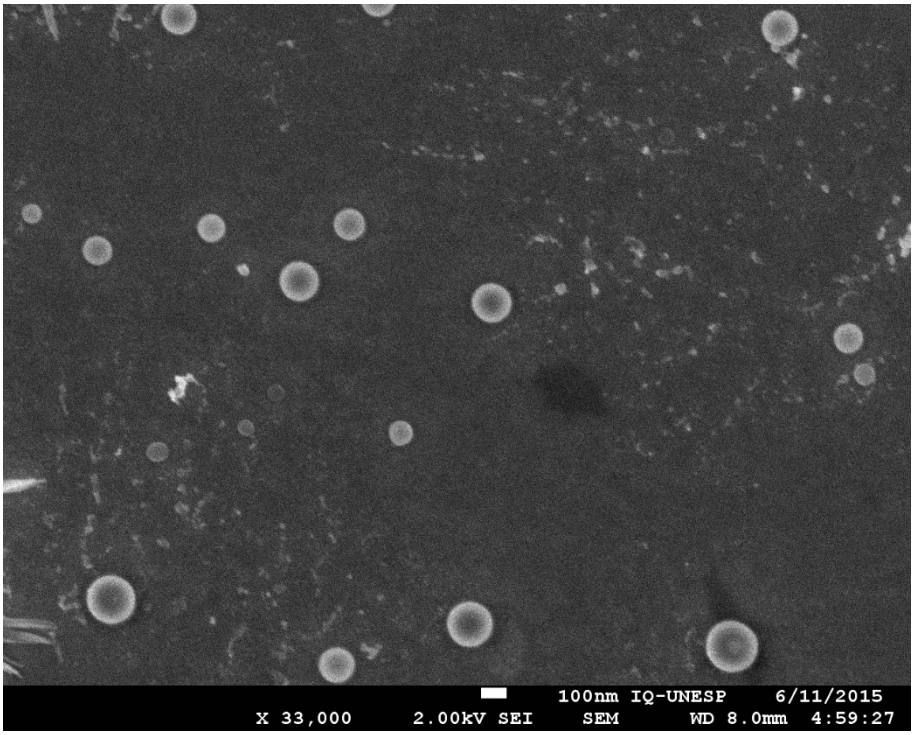


Figura 54 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) com aumento de 33000x.
Fonte: próprio autor.

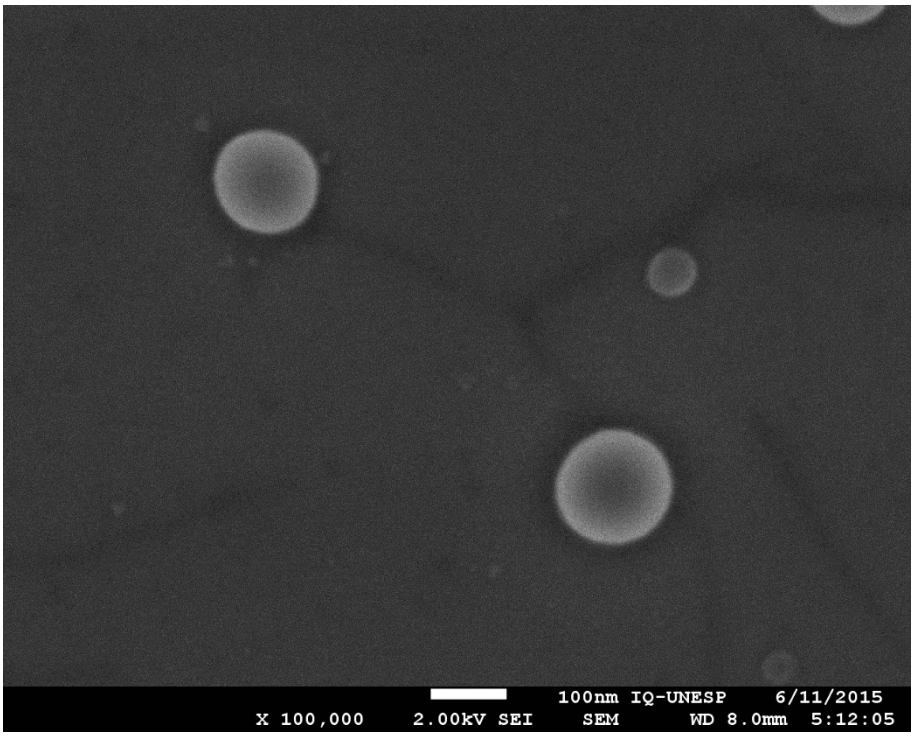


Figura 55 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) com aumento de 100000x.
Fonte: próprio autor.

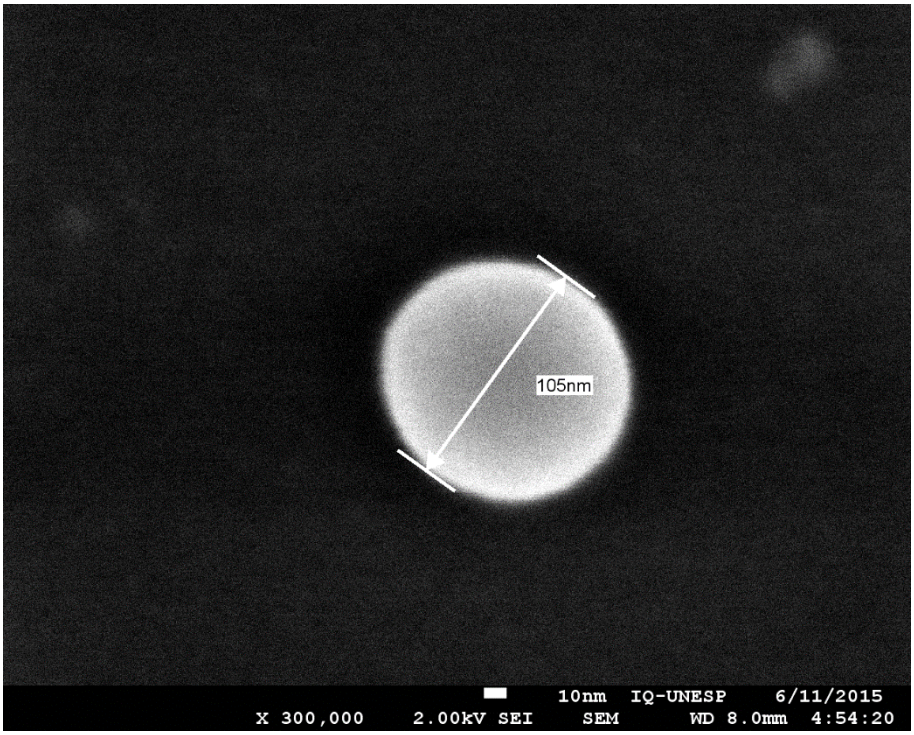


Figura 56 - Imagem de MEV-FEG da amostra NP@P(NIPAAm-co-DMAAm) com aumento de 300000x.
Fonte: próprio autor.

Nas imagens, é possível observar partículas bastante esféricas de polímero, com diâmetro de aproximadamente 100 nm. Não é possível observar a existência de nanopartículas magnéticas no interior do polímero através das imagens, no entanto isso foi confirmado ao se separar as partículas do meio na presença de um ímã.

6.4 LIBERAÇÃO DE DOXORRUBICINA

O sobrenadante com excesso de fármaco, coletado antes da lavagem das partículas, foi analisado por espectroscopia no UV-Vis, e o resultado obtido pode ser observado na Figura 57.

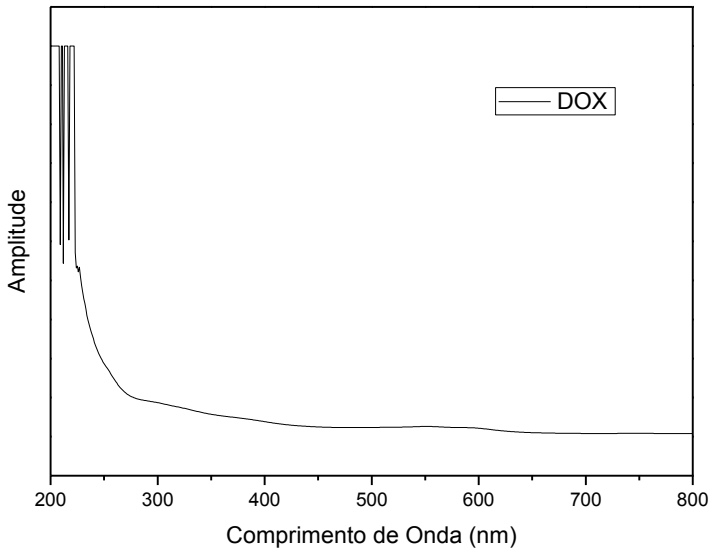


Figura 57 - Espectro de UV-Vis obtido para o excesso de DOX (não encapsulado).
Fonte: próprio autor.

No espectro da figura acima é possível observar que a absorção de DOX ocorre em torno de 245 nm, o que é compatível com o encontrado na literatura (λ= 264 nm) [46].

Deste modo, essa foi a região observada na análise dos sobrenadantes amostrados para a amostra a temperatura ambiente e acima da LCST (45ºC). Os espectros obtidos podem ser visualizados na Figura 58.

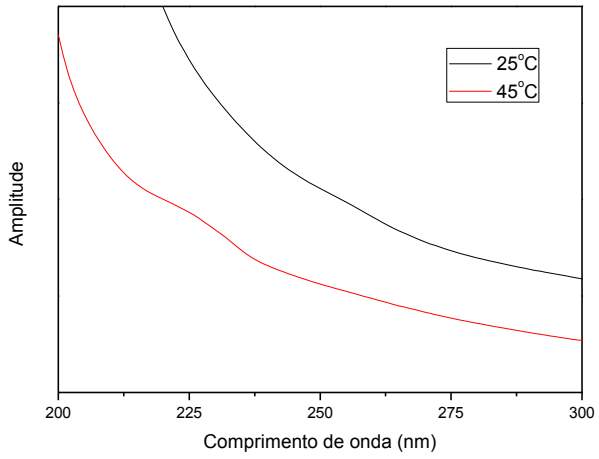


Figura 58 - Espectro de UV-Vis obtido para os sobrenadantes a 25 e 45ºC.
Fonte: próprio autor.

Observando-se os espectros acima, é possível notar que a temperatura ambiente não há vestígios de fármaco, o que prova que este não está sendo liberado. No entanto, a 45ºC uma leve banda passa a surgir em torno de 235 nm, o que pode indicar que a liberação deste foi iniciada.

O fato de a banda ser pouco acentuada pode ser explicado devido ao tempo curto de 20 minutos para aquecimento em 45°C, utilizado para a liberação. Na literatura o tempo utilizado para liberação da DOX do copolímero P(NIPAAm-co-DMAAm) chega a 10 horas [46]. Além disso, a concentração de fármaco encapsulado pode ter sido baixa e/ou a quantidade de nanopartícula-polímero utilizadas nas soluções testadas foi baixa. Novos estudos serão conduzidos para avaliar a eficiência da encapsulação do fármaco pelas nanopartículas modificadas com polímeros bem como para otimizar os testes de liberação.

7 CONCLUSÕES

Através deste trabalho, pôde-se sintetizar nanopartículas magnéticas de magnetita, com diâmetro médio de aproximadamente 10 nm, através do método da coprecipitação sonoquimicamente assistida ou não. As nanopartículas sintetizadas apresentaram boa estabilidade e distribuição de tamanhos adequada para aplicação na biomedicina, conforme pretendido. Os dois métodos utilizados acarretaram em nanopartículas de dimensões e propriedades bastante semelhantes.

Também foi realizada satisfatoriamente a funcionalização da superfície das nanopartículas com dois alcoxisilanos, MPTS e APTMS, os quais são responsáveis por aumentar a estabilidade das mesmas no meio, além de promover sua ligação com outras substâncias, como polímeros.

Para a aplicação na liberação controlada de fármacos, as nanopartículas necessitam estar recobertas em um material biocompatível, que será responsável por imobilizar o fármaco, além de permitir o direcionamento e liberação do mesmo no corpo humano. Neste contexto, as nanopartículas sintetizadas e funcionalizadas foram encapsuladas em diferentes polímeros (PCL, PNIPAAm, P(NIPAAm-co-DMAAm e Quitosana), para posteriormente imobilização de fármacos adequados nos mesmos. No caso da policaprolactona, o recobrimento resultou em partículas de dimensões micrométricas, o que inviabiliza seu uso in vivo, no entanto esta pode ser utilizada em outras aplicações que não exijam dimensões tão pequenas. A quitosana, por outro lado, apresentou faixa de distribuição de tamanhos adequada para sua utilização na liberação controlada de fármacos, a qual pode ser realizada utilizando sua sensibilidade ao pH como mecanismo de liberação.

As polimerização de NIPAAm e NIPAAm-co-DMAAm na superfície das nanopartículas funcionalizadas com grupos tiol foram satisfatórias. No primeiro caso, as partículas tendem a diminuir de tamanho acima de sua LCST, que é de 32ºC. Para aplicações na liberação controlada de fármacos, no entanto, é desejável que esta temperatura seja superior à do corpo humano (37ºC). Neste contexto, a copolimerização realizada foi adequada, acarretando em uma LCST de aproximadamente 38ºC, a partir da qual o polímero tende a formar aglomerados, conforme se torna hidrofóbico.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

As perspectivas futuras para o trabalho são:

- Novos estudos sobre a polimerização de NIPAAm e NIPAAm-co-DMAAm na superfície das nanopartículas;
- Testes de liberação de fármacos mais aprofundados;
- Análises de citoxicidade.

REFERÊNCIAS

1. MARSZALL, Michal Piotr. The development of magnetic drug delivery and disposition. **The delivery of nanoparticles**, v. 1, n. 5, p.95-110, 16 maio 2012. InTech. DOI: 10.5772/34768.

2. CADIOLI, Luiz Paulo; SALLA, Luzia Dizulina. Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. **Revista de Ciências Exatas e Tecnologia,** Londrina, v. 1, n. 1, p.98-105, jan. 2006.

3. SHAPIRA, Alina et al. Nanomedicine for targeted cancer therapy: Towards the overcoming of drug resistance. **Drug Resistance Updates,** v. 14, n. 3, p.150-163, jun. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.drup.2011.01.003.

4. CULLITY, B. D.; GRAHAM, C. D. **Introduction to magnetic materials.** 2. ed.: Wiley-ieee Press, 2008. 568 p.

5. COSTA, Tharsia Cristiany de Carvalho. **Síntese de nanopartículas de magnetita via decomposição térmica em meio não-aquoso.** 2013. 116 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

6. JILES, David C. **Introduction to magnetism and magnetic materials.** 2. ed.: Crc Press, 1998. 570 p.

7. CHIKAZUMI, Soshin. **Physics of ferromagnetism.** 2. ed.: Oxford Science Publications, 1994. 715 p.

8. RIBEIRO, Giuliano Augustus Pavan. As propriedades magnéticas da matéria: um primeiro contato, **Revista brasileira de ensino de física**, v. 22, n. 3, p. 299-305, set. 2000.

9. LEFEBURE, S. et al. Monodisperse magnetic nanoparticles: Preparation and dispersion in water and oils. **Journal Of materials research**, v. 13, n. 10, p.2975-2981, out. 1998. Cambridge University Press (CUP). DOI: 10.1557/jmr.1998.0407.

10. BEAN, C. P.; LIVINGSTON, J. D.. Superparamagnetism. **J. Appl. Phys.**, v. 30, n. 4, p.120-129, abr. 1959. AIP Publishing. DOI: 10.1063/1.2185850.

11. LEE, Jiwon; ISOBE, Tetsuhiko; SENNA, Mamoru. Magnetic properties of ultrafine magnetite particles and their slurries prepared via in-situ precipitation. **Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, v. 109, p.121-127, abr. 1996. Elsevier BV. DOI: 10.1016/0927-7757(95)03479-x.

12. QIAO, Ruirui; YANG, Chunhui; GAO, Mingyuan. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. **Journal of materials chemistry**, v. 19, n. 35, p.6274-6293, maio 2009. Royal Society of Chemistry (RSC). DOI: 10.1039/b902394a.

13. AHN, Taebin et al. Formation pathways of magnetite nanoparticles by coprecipitation method. **J. Phys. Chem. C**, v. 116, n. 10, p.6069-6076, 15 mar. 2012. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/jp211843g.

14. FREIRE, Renato S.; PESSOA, Christiana A.; KUBOTA, Lauro T.. Emprego de monocamadas auto-organizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p.381-389, jun. 2003. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0100-40422003000300016.

15. FERREIRA, Roberta Viana. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com núcleo magnético de magnetita.** 2009. 104 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

16. LIU, Z. L. et al. Synthesis and Magnetic Properties of Fe3O4 Nanoparticles. **Journal of materials synthesis and processing**, v. 10, n. 2, p.83-87, mar. 2002. Springer Science + Business Media. DOI: 10.1023/a:1021231527095.

17. SHAW, William H. R.; BORDEAUX, John J. The decomposition of urea in aqueous media. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 77, n. 18, p.4729-4733, set. 1955. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/ja01623a011.

18. BRANCO, Rogério Mendes. **Nanopartículas magnéticas obtidas por coprecipitação homogênea sonoquimicamente assistida.** 2013. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2013.

19. SHAFI, K.v.p.m.; GEDANKEN, A.. Sonochemical approach to the preparation of barium hexaferrite nanoparticles. **Nanostructured Materials**, v. 12, n. 1-4, p.29-34, jan. 1999. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0965-9773(99)00060-4.

20. BARBOZA, J. C. S.; SERRA, A. A. Ultra-Som: Influência do ultra-som na química. **Química Nova**, 15, rev. 1992. pp. 302-315.

21. NOVIK, A. A. **Applying of ultrasound for production of nanomaterials**. In: SESSION OF THE RUSSIAN ACOUSTICAL SOCIETY, 22. 2010, Moscow. p. 15-17.

22. GEDANKEN, A. Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. **Ultrasonics Sonochemistry,** v. 11, n. 2, p.47-55, abr. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2004.01.037.

23. BINI, Rafael A. et al. Synthesis and functionalization of magnetite nanoparticles with different amino-functional alkoxysilanes. **Journal of magnetism and magnetic materials**, v. 324, n. 4, p.534-539, fev. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jmmm.2011.08.035.

24. COSTA, Taciane Pereira. Nanopartículas Magnéticas de óxido de Ferro: Funcionalização de Superfície com alcoxisilanos para controle de densidade de amina. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP (Pôster), 21. 2009, Araraquara.

25. HAENSCH, Claudia; HOEPPENER, Stephanie; SCHUBERT, Ulrich S.. Chemical modification of self-assembled silane based monolayers by surface reactions. **Chemical society reviews**, v. 39, n. 6, p.2323-2334, abr. 2010. Royal Society of Chemistry (RSC). DOI: 10.1039/b920491a.

26. MARQUES, Rodrigo Fernando Costa. **Notas de Aula da Disciplina Projeto Multidisciplinar I.** Poços de Caldas: Universidade Federal de Alfenas, 2009. Color.

27. BINI, Rafael Admar. **Síntese e funcionalização de superfície de óxidos de ferro superparamagnéticos.** 2011. 122 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2011.

28. SOLOMONS, T. W. Graham; FRYHLE, Craig B. **Química Orgânica.** 7. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 2002. 484 p.

29. SIGMA-ALDRICH. **(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane.** Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/175617?lang=pt®ion=BR>. Acesso em: 04 nov. 2014.

30. YONG-IL, Park. Modification of Nafion(R) using 3-mercaptopropyl Trimethoxysilane. **J. Korean Phys. Soc.,** v. 56, n. 4, p.1215-1222, abr. 2010. Korean Physical Society. DOI: 10.3938/jkps.56.1215.

31. SPEISER, P. P.. Nanoparticles and liposomes: a state of the art. **Met. Find Exper. Clin. Pharmacol,** v. 5, n. 13, p.337-342, jun. 1991.

32. REDESCHI, Maria Carolina Moro. **Preparação e caracterização de filmes a base de xiloglucana extraída de sementes de hymenaea courbaril (jatobá).** 2006. 113 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

33. LEITE, Helena Maria Erbetta. **Formulação e caracterização de matrizes de polihidroxibutirato para liberação controlada de fármacos.** 2004. 92 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Materiais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2004.

34. MENDES, Jessica Bitencourt Emilio. **Desenvolvimento e avaliação de micropartículas poliméricas contendo resveratrol.** 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2011.

35. SILVA, Raimundo Lopes da. S**istemas de liberação controlada de quitosana contendo antigeno capsular vi de Salmonella Typhi.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

36. ARMAS, Maria Rosa Aguilar et al. Smart polymers and their applications as biomaterials. In: ASHAMMAKHI, Edson N (Ed.). **Topics in Tissue Engineering.** 3. ed. Madrid: Bte, 2007. Cap. 6. p. 1-27.

37. ALMEIDA, Hugo Emanuel Pereira Pinto de Jesus. **Polímeros Inteligentes:** Classificação e Aplicação em sistemas de libertação modificada de fármacos. 2012. 66 f. Tese (Doutorado em Farmácia) - Universidade do Porto, Porto, 2012.

38. SCHMALJOHANN, D. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, n. 15, p.1655-1670, dez. 2006. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.addr.2006.09.020.

39. BAUDIS, Stefan; BEHL, Marc; LENDLEIN, Andreas. Smart polymers for biomedical applications. **Macromol. Chem. Phys**, v. 215, n. 24, p.2399-2402, dez. 2014. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1002/macp.201400561.

40. HOOGENBOOM, R.. Temperature-responsive polymers: properties, synthesis and applications. **Smart Polymers And Their Applications**, p.15-44, 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1533/9780857097026.1.15.

41. ALMEIDA, Hugo Emanuel Pereira Pinto de Jesus. **Polímeros inteligentes: classificação e aplicação em sistemas de libertação modificada de fármacos.** 2012. 66 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Porto, Porto, 2012.

42. WARD, Mark A.; GEORGIOU, Theoni K.. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. **Polymers**, v. 3, n. 4, p.1215-1242, 3 ago. 2011. MDPI AG. DOI: 10.3390/polym3031215.

43. LIECHTY, William B. et al. Polymers for drug delivery systems. **Annual review of chemical and biomolecular engineering**, v. 1, n. 1, p.149-173, jun. 2010. Annual Reviews. DOI: 10.1146/annurev-chembioeng-073009-100847.

44. FITZPATRICK, Scott D et al. Temperature-sensitive polymers for drug delivery. **Expert Review Of Medical Devices**, v. 9, n. 4, p.339-351, jul. 2012. Informa Healthcare. DOI: 10.1586/erd.12.24.

45. MENDES, Paula M. Stimuli-responsive surfaces for bio-applications. **Chemical Society Reviews,** v. 37, n. 11, p.2512-2529, set. 2008. Royal Society of Chemistry (RSC). DOI: 10.1039/b714635n.

46. ZHANG, J.; MISRA, R.d.k.. Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer: Core–shell nanoparticle carrier and drug release response. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 6, p.838-850, nov. 2007. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.actbio.2007.05.011.

47. MEDICANET. **Doxorrubicina.** Disponível em: <http://www.medicinanet.com.br/bula/2080/doxorrubicina.htm>. Acesso em: 15 jun. 2015.

48. MOURA, Léa Resende de. **Cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina: mecanismos de lesão e terapias antioxidantes.** 2011. 26 f. Seminário (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

49. BBC. **OMS: 14 milhões de pessoas têm cancer no mundo.** 2013. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2013/>. Acesso em: 17 set. 2014.

50. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **INCA e Ministério da Saúde apresentam estimativas de câncer para 2014.** 2013. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/>. Acesso em: 17 set. 2014.

51. CHU, Benjamin. **Laser light scattering.** San Diego: Academic Press Inc, 1991. 343 p.

52. MALVERN. Size theory. In: MALVERN. **Zetasizer Nano Series user manual.** Worcestershire: Malvern Instruments Ltd., 2005. p. 223-232.

53. MARCO, Samuel Luiz de. **Propriedades físico-químicas de nanocápsulas contendo um antioxidante e um filtro solar químico co-encapsulados.** 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

54. BORGES, Prof. Dr. Júlio César. **Introdução à hidrodinâmica.** São Carlos: Grupo de biologia molecular e bioquímica, 2011. Color.

55. SHAW, D.J. Introdução à química dos colóides e de superfícies. São Paulo: Edgar Blucher Ltda. 1975.

56. MALVERN. Zeta Potential theory. In: MALVERN. **Zetasizer Nano Series user manual.** Worcestershire: Malvern Instruments Ltd., 2005. p. 241-254.

57. MALISKA, Ana Maria; PRATES, Patricia Bodanese. **Difratometria de raios X.** Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. Color.

58. ALBERS, A. P. F. et al. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v. 48, n. 305, p.34-37, jan. 2002. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0366-69132002000100008.

59. ARANDA, Prof. Donato. **Difração de raios X.** Rio de Janeiro: Greentec Ufrj, 2007. Color.

60. PONTIFÍCIA CATÓLICA DO RIO DE JANEIRO (Rio de Janeiro). **Espectroscopia no infravermelho.** Disponível em: <http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas>. Acesso em: 13 nov. 2013.

61. SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C**., Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994, 387 p.

62. PARISOTTO, Graciele et al. Desenvolvimento de metodologias no infravermelho aplicadas para a quantificação de cloridrato de metformina em formulações farmacêuticas. **Orbital: The electronic journal of chemistry.** Santa Maria, p. 38-48. fev. 2009.

63. MALISKA, Ana Maria. **Microscopia eletrônica de varredura.** Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010. Color.

64. KESTENBACH, Hans-jürgen et al. Resolução lamelar num novo microscópio eletrônico de varredura. **Polímeros**, v. 7, n. 1, p.58-66, mar. 1997. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0104-14281997000100010.

65. VINADE, Maria Elisabeth do Canto; VINADÉ, Elsa Regina do Canto. **Métodos espectroscópicos de analise quantitativa.** Santa Maria: Editora Ufsm, 2005. 272 p.

66. KRAUS, Andrea et al. Synthesis of MPTS-modified cobalt ferrite nanoparticles and their adsorption properties in relation to Au(III). **Journal of colloid and interface**

science, v. 338, n. 2, p.359-365, out. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jcis.2009.06.045.

67. YEH, Jih-chao et al. Synthesis and characteristics of biodegradable and temperature responsive polymeric micelles based on poly(aspartic acid)-g-poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide). **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 421, p.1-8, mar. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.12.014.

68. CHANG, Yang-chuang; CHEN, Dong-hwang. Preparation and adsorption properties of monodisperse chitosan-bound Fe3O4 magnetic nanoparticles for removal of Cu(II) ions. **Journal Of Colloid And Interface Science**, v. 283, n. 2, p.446-451, mar. 2005. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.09.010.

69. IGNACIO, Carlos. D**esenvolvimento de curativos para cicatrização de feridas por segunda intenção baseados em biomateriais capazes de promoverem resposta celular controlada via estímulo externo.** 2009. 129 f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

70. LV, Shao-nan et al. Temperature-switched controlled release nanosystems based on molecular recognition and polymer phase transition. **Rsc Adv.,** Beijing, v. 5, n. 5, p.3248-3259, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). DOI: 10.1039/c4ra11075g.

71. SERRANO-MEDINA, A.; CORNEJO-BRAVO, J.m.; LICEA-CLAVERÍE, A.. Synthesis of pH and temperature sensitive, core–shell nano/microgels, by one pot, soap-free emulsion polymerization. **Journal Of Colloid And Interface Science,** Tijuana, v. 369, n. 1, p.82-90, mar. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.12.045.

72. ZHANG, J. L.; SRIVASTAVA, R. S.; MISRA, R. D. K.. Core−Shell Magnetite Nanoparticles Surface Encapsulated with Smart Stimuli-Responsive Polymer: Synthesis, Characterization, and LCST of Viable Drug-Targeting Delivery System. **Langmuir,** Louisiana, v. 23, n. 11, p.6342-6351, maio 2007. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/la0636199.