

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/06/2016.

Rodolfo Debone Piazza

“Modificação da superfície de óxidos de ferro por dextrana derivatizada
para aplicações em liberação de fármaco”

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Química.

Orientador: Profº Dr. Miguel Jafelicci Junior.

Araraquara

2014

P584m

Piazza, Rodolfo Debone

Modificação da superfície de óxidos de ferro por dextrana derivatizada para aplicações em liberação de fármaco / Rodolfo Debone Piazza. –

Araraquara : [s.n], 2014

100 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Miguel Jafelicci Junior

1. Físico-química. 2. Nanopartícula magnética.
3. Dextrano. 4. Polimerização. I. Título.

RODOLFO DEBONE PIAZZA


Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 18 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Miguel Jafelicci Junior (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Marcio José Tiera
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas – UNESP, São José do Rio Preto



Prof^ª. Dr^ª. Carolina Vautier Teixeira Giongo
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Diadema

Súmula Curricular

Dados pessoais

Nome Rodolfo Debone Piazza
Filiação Rubens Piazza e Marialice Debone Piazza
Nascimento 17/12/1987
Endereço Rua Fernando Albarello, Quadra I Lote 16
residencial Campus Ville – Araraquara 14800-719, SP - Brasil
Telefone: 16 981735800
E-mail: rodolfo.piazza@gmail.com

Endereço Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de
profissional Química de Araraquara, Departamento de Físico-Química
Rua Professor Francisco Degni nº55
Quitandinha - Araraquara
14800-900, SP - Brasil
Telefone: 16 33016600
E-mail: rodolfo.piazza@gmail.com

Formação acadêmica/titulação

2012 - 2014

Mestrado em Química.

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil.

Título: Modificação de superfície de óxidos de ferro por dextrana derivatizada para aplicação em liberação de fármacos

Orientador: Miguel Jafelicci Junior

Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2008 – 2011

Graduação em Bacharelado em Química.

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil.

Título: Modificação de nanopartículas de óxido de ferro por dextranas

Orientador: Miguel Jafelicci Junior

Formação complementar

2013 - 2013

Curso de curta duração em Biopolímeros e sistemas nanoestruturados.

Instituto de Química São Carlos - USP, IQSC-USP, Brasil

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PIAZZA, R. D., NUNES, E. S., JAFELICCI JUNIOR, M.

Iron oxide nanoparticles functionalized with PAA-co-Dextran using inverse miniemulsion In: XII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, 2013, Campos do Jordão, SP. Livro de resumos do 12º Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais. , 2013.

2. PIAZZA, R. D., JAFELICCI JUNIOR, M.

Nanopartícula magnética de óxido de ferro encapsulada com ácido poliacrílico In: 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013, Águas de Lindóia, SP. Livro de resumos da 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. , 2013.

Agradecimentos

Aos meus pais, Rubens e Marialice, por, mais uma vez, acreditarem nas minhas idéias e me apoiarem nos momentos mais importantes da minha vida. E também pela paciência durante esse longo período fora de casa. Muito obrigado;

À minha irmã que só me faz rir;

Aos meus avôs;

Ao Prof^o Dr. Miguel Jafelicci Junior pela orientação e confiança no trabalho;

Aos amigos do Laboratório de Materiais Magnéticos e Coloides, pelas discussões, incentivos e momentos de descontração;

À Molíria, Denise e Lívia pelas sessões de liofilização;

À Juliana e ao professor Paulo Bueno, pela gentileza em ceder a chave do laboratório para realização dos experimentos de retenção;

Aos técnicos e servidores do IQ Unesp/CAR que colaboraram com o desenvolvimento do presente trabalho;

Aos professores Sebastião Willian da Silva, José Antônio Huamani Coaquira, José André Filho e Paulo Cesar de Moraes, do Instituto de Física da Universidade de Brasília, pela realização das medidas magnéticas;

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica LNNano/CNPEM, pela disponibilidade de utilização de seus microscópios.;

Ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização dos microscópios eletrônicos de varredura;

Aos companheiros de República Xurupita's: Jatobá, Chucky, Tico, Varão, Jen, Bahia, Roberth, João Batera, Sheila, Jardes, Lima Neto, Bryan e Frango.

Aos amigos sempre presentes: Husky, Gota, Tonhão, Tatão, Pedro, Marcelão, Ju, Taty, Fabi, Livia, Denise. A vida é mais divertida com vocês.

À CAPES pela bolsa concedida;

“Muita coisa é inata, mas muito é feito pelo treinamento.

Por isso ninguém será bem-sucedido se se poupar, se não mergulhar fundo nos temas maiores
e se não estiver em condições de se empenhar até o extremo por causas insignificantes”

Walter Benjamim

(1892 -1940)

Queremos saber,
O que vão fazer
Com as novas invenções.
Queremos notícia mais séria
Sobre a descoberta da antimatéria
E suas implicações
Na emancipação do homem
Das grandes populações
(...)
Queremos saber,
Queremos viver
Confiantes no futuro
Por isso se faz necessário prever
Qual o itinerário da ilusão
A ilusão do poder
Pois se foi permitido ao homem
Tantas coisas conhecer
É melhor que todos saibam
O que pode acontecer.
Queremos saber, todos queremos saber.

Gilberto Gil (1976)

RESUMO

A modificação da superfície de nanopartículas de óxido de ferro tem atraído interesse da comunidade científica devido às várias aplicações deste material em diferentes áreas do conhecimento. A biomedicina é uma área em crescente avanço no uso das nanopartículas, pois a sinergia entre as propriedades magnéticas e a biocompatibilidade da superfície modificada permite o uso destes materiais em diagnóstico e tratamento de doenças, como na liberação controlada de drogas. A aplicação de um campo magnético para guiar as nanopartículas magnéticas conjugadas com fármaco é uma técnica promissora, capaz de reduzir problemas associados a tradicional forma de administração de drogas, aumentando o bem estar de pacientes submetidos a este tratamento. O presente trabalho consiste na funcionalização de nanopartículas magnéticas a base de óxido de ferro pela dextrana derivatizada, utilizando o método da polimerização por miniemulsão inversa, para estudos de liberação de doxorubicina. As nanopartículas magnéticas de maghemita foram obtidas a partir da oxidação da magnetita sintetizada por coprecipitação, enquanto a dextrana foi derivatizada pelo glicidil metacrilato com intuito de ancorar grupos vinílicos sobre sua estrutura. Estes materiais foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, tais como infravermelho, Raman, ressonância magnética de H^1 e C^{13} . O óxido de ferro foi encapsulado na dextrana derivatizada através da polimerização por miniemulsão inversa. Nesta etapa, alguns parâmetros de síntese, tais como o tipo e concentração de surfactante, fração de monômeros e teor de óxido de ferro utilizado, foram variados para obter um sistema estável, permitindo seu uso em aplicações biomédicas. O sistema caroço@casca obtido apresentou eficiência de incorporação superior a 80% de doxorubicina. Entretanto, a porcentagem de liberação da droga por difusão foi baixa durante o período analisado.

Palavras-chave: Nanopartículas magnéticas. Derivatização dextrana. Miniemulsão. Doxorubicina.

ABSTRACT

The modification of the iron oxide nanoparticles surface has attracted interest of the scientific community due to the large number of applications of this material in different areas of knowledge. The biomedicine is one area in growing improvement in the use of nanoparticles, because the synergy between the magnetic properties and the biocompatibility of the modified surface allows the use these materials in diagnostic and treatment of diseases, as well as the controlled drug delivery. The application of magnetic field to guide the magnetic nanoparticles conjugated with drugs is one promising technique, capable of reduce the problems associated with the traditional way of drugs administration, increasing the welfare of the patients on these treatments. The present work consists in the functionalization of magnetic nanoparticles based on iron oxide by derivatized dextran, using the miniemulsion polymerization method, for doxorubicin release studies. The magnetic nanoparticles of maghemite were obtained from the magnetite oxidation synthesized by coprecipitation, while the dextran was derivatized by the glycidyl methacrylate with the intention of anchor vinyl groups on the surface. These materials were characterized by spectroscopic techniques, as infrared, Raman, magnetic resonance of H^1 e C^{13} . The iron oxide was encapsulated in the derivatized dextran through inverse polymerization by miniemulsion. In this phase, some parameters of synthesis, as the type and the surfactant concentration, monomers fraction and percentage of iron oxide, were varied to obtain a stable system, allowing its use in biomedical application. The core@shell system obtained showed incorporation efficiency over 80% of doxorubicin, although the drug release percentage from diffusion was low during the analyzed period.

Key words: Magnetic nanoparticles. Dextran derivatization. Miniemulsion. Doxorubicin.

1. Introdução

1.1. **Motivação**

Materiais magnéticos têm desempenhado importante papel no desenvolvimento da civilização moderna. A magnetita natural foi o primeiro material magnético com aplicações tecnológicas que se tem relatado na história, através da sua utilização como componente principal de bússolas. A partir da segunda metade do século 20, o desenvolvimento de modernas tecnologias resultou em profundas modificações na sociedade e o conhecimento sobre materiais magnéticos foram, e ainda são, fundamentais na elucidação de diversas aplicações. Pesquisadores de diversas áreas da ciência, tais como a química, a física, a farmácia, as engenharias, a biologia e a medicina tem se dedicado ao estudo dos materiais magnéticos e – para muitas das aplicações – se faz necessário colaborações entre as áreas. As principais aplicações incluem o armazenamento de dados, catálise, fluidos magnéticos, biotecnologia, biomedicina ⁽¹⁾.

Nanomateriais apresentam comprimentos, em pelo menos uma de suas dimensões, compreendidos entre 1 e 100 nm. Os óxidos de ferro vêm sendo utilizados em aplicações biomédicas devido a sua biocompatibilidade e pela possibilidade de ser internalizado em estruturas biológicas devido ao seu reduzido tamanho. Dessa forma, é possível acessar essas estruturas biológicas, tais como as células (10 – 100 μm), os vírus (20 – 450 nm), as proteínas (5 – 50 nm) e o DNA (2 nm de largura e 10-100 nm de comprimento), a partir da modificação adequada de sua superfície, adicionando grupos funcionais ou biomoléculas específicas para sua internalização ⁽²⁾.

O revestimento da superfície das nanopartículas magnéticas é uma etapa crucial para a utilização deste material em aplicações biomédicas. Um material na escala nanométrica apresenta área superficial maior quando comparado com o mesmo material no seu estado macroscópico. Um problema a ser superado envolvendo as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro diz respeito à agregação, pois a elevada razão área/volume induz a agregação como forma de reduzir sua energia de superfície. Dessa forma, é necessário revestir a superfície

das nanopartículas de óxido de ferro para manter a estabilidade coloidal do sistema e, também, evitar a oxidação desses óxidos ⁽³⁾.

A realização de estudos *in vivo* requer que todos os componentes da formulação do compósito magnético apresente biocompatibilidade. Um material é biocompatível quando se observa uma resposta favorável na aplicação em tecido ou fluido biológico, com mínima reação alérgica, anti-inflamatória ou tóxica. Diversos biopolímeros têm sido pesquisado para emprego no revestimento de óxido de ferro, tais como a dextrana, carboximetil dextrana, amido, polivinil álcool, polietileno glicol ⁽³⁾. A dextrana, um polissacarídeo, foi escolhida como opção de recobrimento dos óxidos de ferro, pois é biocompatível, biodegradável, não tóxica, oriunda de matéria – prima renovável e possui grupos reativos capaz de funcionalizar as nanopartículas magnéticas e, também, ancorar sobre sua estrutura moléculas específicas, tais como proteínas, anticorpos e drogas ⁽⁴⁾.

As propriedades magnéticas das partículas de óxido de ferro em escala nanométrica, somadas aos efeitos de funcionalização da superfície, permitem que moléculas bioativas sejam guiadas para sítios específicos do corpo humano utilizando campo magnético externo. Dessa forma, a comunidade científica tem se dedicado a pesquisas nos campos de liberação controlada de fármacos, agente de contraste de imagem para ressonância magnética nuclear, hipertermia magnética e separação magnética ^(2; 5).

Na forma atual de administração de drogas o princípio ativo, após ultrapassar as barreiras fisiológicas, é levado para todas as regiões do organismo através do sistema circulatório. Respeitando os limites de toxicidade, o paciente necessita de altas doses para atingir nível satisfatório de atuação do principio ativo, uma vez que este se encontra biodisponível por todo corpo. Diante disso, as doses são administradas constantemente para que o nível de atuação do princípio ativo não fique abaixo da sua concentração limite. A aplicação em transporte e liberação controlada de drogas é possível devido à sinergia entre as propriedades magnéticas das nanopartículas de óxido de ferro e as propriedades de biopolímeros em liberar a droga. O principal benefício no uso de sistemas de liberação controlada consiste na vetorização a alvos específicos dentro do organismo, reduzindo a dose administrada e os efeitos colaterais, resultando em maior ação terapêutica.

A relevância do tema é motivada pelo desenvolvimento da nanotecnologia a qual tornou possível produzir, caracterizar e, especialmente, adequar as propriedades funcionais de nanopartículas para os desafios das aplicações biomédicas, seja como caráter de diagnóstico ou como ação terapêutica. O potencial impacto com que estas novas aplicações irão se impor sobre a sociedade prevê mudanças no cuidado com a saúde de uma maneira sistemática e fundamental ⁽⁶⁾.

1.2. Objetivos

Os objetivos deste trabalho consistem na funcionalização de nanopartículas magnéticas a base de óxido de ferro pela dextrana derivatizada, utilizando o método da polimerização por miniemulsão inversa, para estudos de liberação de droga.

Os objetivos incluem:

- Obter nanopartículas de maghemita a partir da oxidação de magnetita sintetizada pelo método da coprecipitação;
- Derivatizar a dextrana através da reação com glicidil metacrilato (2,3 – epoxipropilmetilpropenoato);
- Encapsular as nanopartículas de óxido de ferro através da polimerização por miniemulsão inversa de ácido acrílico e dextrana derivatizada;
- Encapsular doxorrubicina e estudar sua retenção no sistema caroço@casca.

1.3. Revisão Bibliográfica

1.3.1. *Magnetismo*

As propriedades magnéticas em materiais tem origem, principalmente, nos elétrons dos átomos, que possuem momento magnético devido à sua movimentação. O momento magnético está associado à movimentação do elétron em torno do núcleo que ele orbita, denominado momento angular de orbital, e do movimento de rotação do spin do elétron em torno de seu próprio eixo, chamado de momento de spin, gerando um vetor para cada tipo de movimento. Dessa forma, o

momento magnético de um material é a somatória de todos os momentos eletrônicos ⁽⁷⁾.

A indução magnética (B), que é definida como a força necessária para mover uma carga ou corrente elétrica, está relacionada com as propriedades magnéticas dos materiais através da equação (1). O valor da indução magnética é função do campo magnético (H) – gerado por corrente elétrica externa ao material tais como um solenoide ou magneto permanente – e da magnetização (M) – gerada pela resultante dos momentos de spin e angular de orbital dos elétrons em movimento ⁽⁸⁾.

$$B = \mu_0(H + M) \quad (1)$$

Entretanto, as propriedades magnéticas de um material não são caracterizadas apenas em termos de sua magnetização. Informações importantes podem ser obtidas a partir da razão entre a magnetização e o campo magnético, ou ainda pela razão da indução pelo campo magnético. Essas razões são chamadas de susceptibilidade (χ) e permeabilidade magnética (μ), respectivamente, conforme a equação (2) e (3).

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (2)$$

$$\mu = \frac{B}{H} \quad (3)$$

Vários tipos de materiais magnéticos são classificados de acordo com o valor de sua susceptibilidade magnética. Os materiais diamagnéticos correspondem ao grupo cujo valor de susceptibilidade é baixo e negativo, na ordem de -10^{-5} . Exemplos de matérias diamagnéticos são o cobre, a prata e o ouro. Esses átomos apresentam preenchimento total dos níveis eletrônicos, ou seja, os spins de elétrons

estão todos emparelhados, cancelando sua magnetização. Os valores de susceptibilidade para os materiais diamagnéticos são negativos devido ao seu comportamento quando aplicado um campo externo, pois o momento magnético permanece paralelo ao campo, porém em direção oposta.

Os materiais que apresentam susceptibilidade pequena e positiva (10^{-3}) são denominados paramagnéticos. Os níveis eletrônicos não estão totalmente preenchidos nesta classe de materiais, como é o caso do alumínio, platina e manganês. Os momentos magnéticos de um material paramagnético não apresentam direção preferencial de alinhamento, estando distribuído de forma randômica na ausência de campo externo. Quando é aplicado campo, o momento magnético é alinhado paralelamente ao campo, na mesma direção.

Os materiais ferromagnéticos apresentam momento magnético alinhado, devido à sobreposição de orbitais dentro de uma estrutura cristalina. O alto valor de susceptibilidade magnética é decorrente do alinhamento desses momentos já ordenados na mesma direção do campo externo. Entretanto, a agitação térmica dos átomos atua no sentido contrário ao alinhamento, diminuindo o valor de susceptibilidade magnética com o aumento da temperatura. A variação de temperatura está compreendida entre o zero absoluto e uma temperatura máxima, denominada temperatura de Curie, T_c , na qual os materiais ferromagnéticos tornam-se paramagnéticos acima desse valor. Assim como nos materiais paramagnéticos, a estrutura eletrônica dos materiais ferromagnéticos não apresenta spins emparelhados. O momento magnético permanente é resultado do momento de spins, tendo o momento de orbital pouca influência. Outra importante característica de materiais ferromagnéticos é o alinhamento do momento de dipolo magnético em uma mesma direção em regiões volumétricas do cristal, denominadas domínios. Este alinhamento corre mesmo na ausência de campo externo e será abordado detalhadamente na próxima seção.

Existem, ainda, outras classes de materiais magnéticos que são magneticamente ordenados e apresentam comportamento parecido com os materiais ferromagnéticos. Os materiais antiferromagnéticos possuem alinhamento antiparalelo dos momentos magnéticos, resultando em magnetização nula na ausência de campo externo. Com aplicação de campo magnético, o alinhamento do

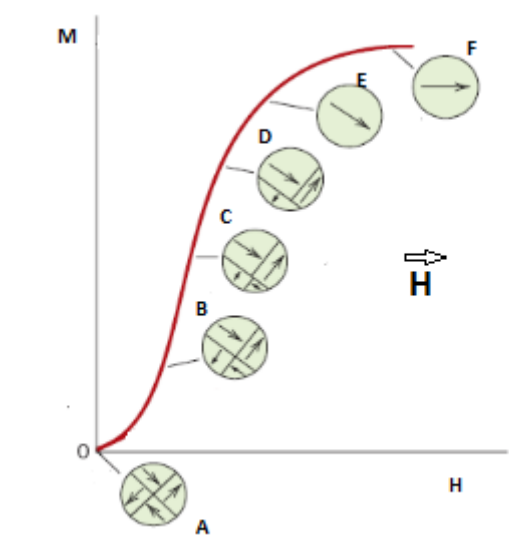
momento magnético torna-se paralelo, gerando uma magnetização diferente de zero, com valor de susceptibilidade baixo e positivo, como é o caso do óxido de manganês, por exemplo. O ferrimagnetismo difere do antiferromagnetismo pelo não cancelamento da magnetização na ausência de campo externo. Os materiais ferrimagnéticos também apresentam alinhamento antiparalelo, porém com magnitude diferente entre os momentos magnéticos opostos, levando a altos valores de susceptibilidade na presença de campo externo, como pode ser observado nas ferritas ⁽⁸⁾.

1.3.2. Domínios Magnéticos

Os materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos, quando se encontram abaixo da sua temperatura de Curie, apresentam regiões de pequeno volume, denominadas domínios magnéticos. O momento de dipolo magnético dentro de cada domínio permanece alinhado em uma mesma direção ⁽⁹⁾. A magnetização entre dois domínios é separada por paredes que alteram gradativamente a orientação de cada domínio. O processo de formação das paredes de domínios está relacionado com o balanço entre energia magnetostática, que aumenta proporcionalmente com o volume do material, e a energia de parede de domínio, que é proporcional a área das paredes de domínio. As paredes de domínio se movimentam em função do campo externo H , conforme exemplificado na Figura 1. Na região A, onde o campo externo H não está sendo aplicado, a somatória dos vetores de momento magnético em cada domínio é zero, resultando na ausência de magnetização do material. Quando um campo externo é aplicado em uma única direção e as paredes de domínio se movimentam, como observado na região B. É observado aumento do volume dos domínios magnético cujos vetores de momento magnético estão mais alinhados ao campo H aplicado, resultando em aumento do valor de magnetização. Aumentando ainda mais o valor do campo H resulta em aumento do valor de magnetização, conforme pode ser observado nas regiões C, D e E da Figura 1. O aumento do valor de magnetização está relacionado à supressão dos domínios magnéticos menores em função da movimentação de suas paredes, resultando em um monodomínio na região E. Entretanto, a magnetização não aumenta infinitamente com o aumento do campo H . Quando o momento magnético do

monodomínio é alinhado ao campo externo H , o material atinge seu valor máximo de magnetização, denominado magnetização de saturação (M_s), observado na região F da Figura 1.

Figura 1. Influência da aplicação de campo magnético externo sobre a magnetização e a movimentação das paredes de domínio de material multidomínios.



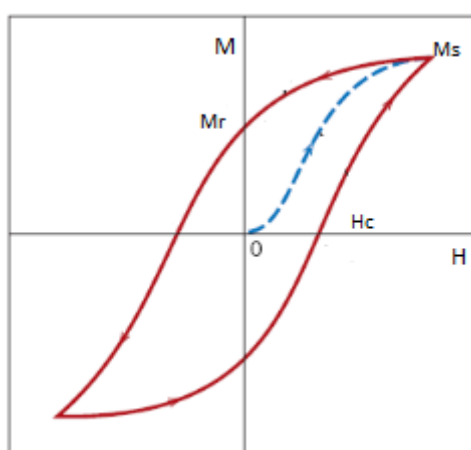
Fonte: Adaptado de Callister⁽⁹⁾

A resistência da movimentação das paredes de domínios provoca o retardamento da magnetização M ao remover a aplicação do campo H . Dessa forma, quando o campo H for nulo, existirá um valor de magnetização residual, denominado remanência (M_r). O ponto no qual magnetização é igual a zero é chamado de coercividade (H_c). Outro valor de saturação é atingido quando o campo H é diminuído até um valor máximo negativo. Valores de remanência e coercividade podem ser positivos ou negativos, dependendo da região da curva de histerese, como pode ser visto na Figura 2.

A formação de um material que apresente características de multi-domínio ou monodomínio está relacionada ao diâmetro destas nanopartículas. A formação de monodomínio é preferencial para nanopartículas com diâmetro inferior a um diâmetro crítico devido ao alto custo energético para manter uma parede de domínio

em um material de pequeno volume. Quando o diâmetro da nanopartícula se encontra acima do diâmetro crítico o material atinge um estado de multi-domínio, que reflete no formato da curva de histerese. Partículas grandes que apresentam multi-domínios necessitam de pouca energia de campo para mover suas paredes de domínio, resultando em curva de histerese larga, ou seja, com valores altos de coercividade. Uma curva de histerese estreita, baixo valor de coercividade, indica a presença de um estado de monodomínio, resultado de partículas pequenas ⁽²⁾.

Figura 2. Curva de histerese magnética, magnetização *versus* campo magnético.



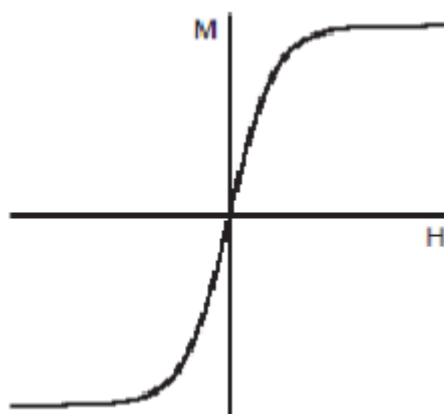
Fonte: Adaptado de Callister ⁽⁹⁾

Entretanto, não é possível reduzir o tamanho das partículas magnéticas de forma a reter suas propriedades magnéticas. Quando as nanopartículas magnéticas estão abaixo de seu diâmetro crítico, em um estado de monodomínio, os spins são afetados por flutuações de energia térmica, atingindo um estado denominado superparamagnetismo. O superparamagnetismo é compreendido quando considerado o comportamento de partículas isoladas em um estado de monodomínio. A energia magnética anisotrópica, responsável por manter os momentos magnéticos alinhados em uma determinada direção, pode ser expresso de acordo com a equação 4:, na qual V corresponde ao volume da partícula, K_{eff} é a constante de anisotropia magnética e θ é o ângulo entre a magnetização e o eixo de fácil magnetização do material.

$$E(\theta) = K_{eff}V\sin^2\theta \quad (4)$$

Diminuindo o tamanho das partículas, a energia térmica, k_bT , excede a barreira energética $K_{eff}V$, e a magnetização é facilmente invertida. Dessa forma, quando o valor de k_bT for superior a $K_{eff}V$, o sistema se comporta como um paramagneto, porém, ao invés de possuir momentos magnéticos atômico, existirá um momento magnético gigante (super) no interior de cada partícula ⁽¹⁾.

Figura 3. Curva de magnetização em função de campo para materiais superparamagnéticos.



Fonte: Adaptado de Pankhurst ⁽²⁾

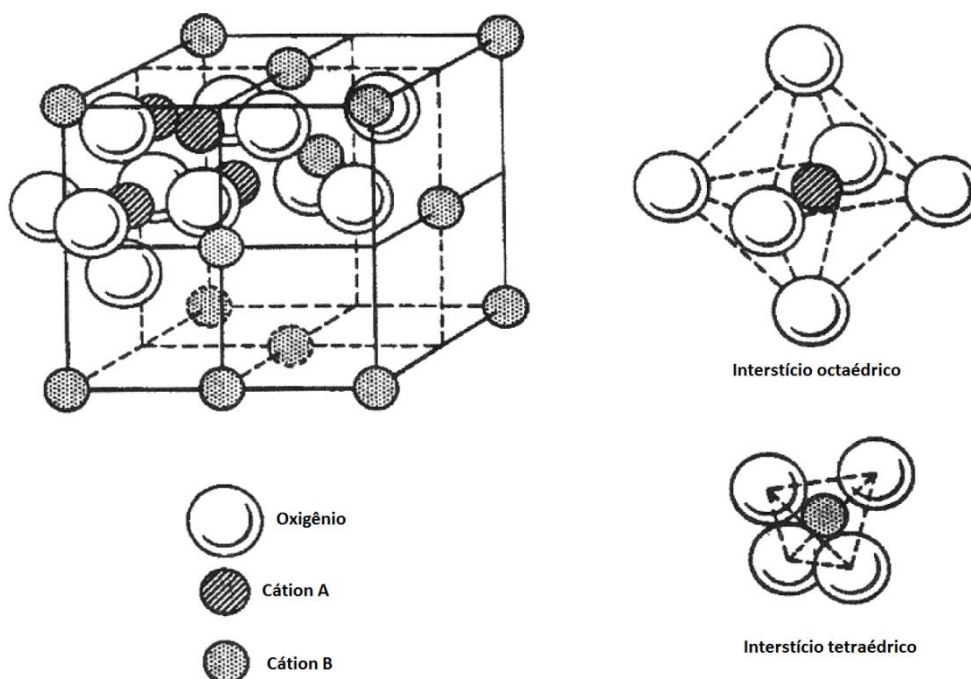
O material deixa de apresentar comportamento superparamagnético quando temperatura do sistema é menor que a temperatura de bloqueio, ou seja, quando a energia magnética se torna superior à variação da energia térmica. A susceptibilidade magnética de um material superparamagnético está compreendida entre os valores para materiais ferromagnéticos e paramagnéticos. A propriedade mais interessante dos materiais superparamagnético é a ausência de histerese. Um campo externo é capaz de alinhar os momentos magnéticos em uma única direção,

porém, ao remover este campo, os valores do campo coercivo e da magnetização residual tornam-se nulos e a curva M versus H é sigmoïdal ^(7; 10), conforme ilustrado na Figura 3.

1.3.3. Ferritas: estrutura e propriedades

Estruturas do tipo espinélio compõe uma variedade materiais cujo arranjo cristalográfico é baseado no empacotamento cúbico de face centrada. O nome espinélio provém do mineral *spinel*, cuja composição é $MgAl_2O_4$. A fórmula geral de um espinélio é AB_2X_4 , na qual A é, geralmente, um íon metálico divalente, B um íon metálico trivalente e X um ânion divalente. Porém, quando um material é composto por ânions de oxigênio e por cátions de Fe(III), a denominação mais utilizada é a ferrita. Dentro da estrutura do espinélio, os cátions metálicos podem ocupar dois interstícios formados pelos íons de oxigênios, que são os sítios tetraédricos e octaédricos. A preferência de determinado cátion por sítios tetraédricos ou octaédricos está relacionada à sua configuração eletrônica, à energia eletrostática e, principalmente, ao tamanho do raio ⁽¹¹⁾. Dessa forma, é esperado que cátions menores tenham preferência em ocupar os sítios tetraédricos, uma vez que este são coordenados por quatro oxigênios, resultando em interstício de menor volume. É o que ocorre no caso da magnetita. A célula unitária da magnetita é composta por 32 íons O^{2-} distribuídos em posições cúbicas ao longo da direção [110] ⁽¹²⁾. Os sítios tetraédricos são ocupados exclusivamente pelos íons de Fe(III) – de menor raio, enquanto os sítios octaédricos são ocupados por íons de Fe(II) e Fe(III). Para tornar a visualização da ocupação dos íons dentro da célula unitária mais clara, um sítio tetraédrico é representado pelo cátion metálico como centro do tetraedro e oxigênios ocupando seus vértices, enquanto que o sítio octaédrico corresponde a um cátion metálico ocupando o centro do octaedro (geralmente o meio da aresta da célula unitária) e os oxigênios ocupando os vértices do octaedro, como pode ser observado na Figura 4.

Figura 4. Representação da célula unitária de estrutura do tipo espinélio inverso.



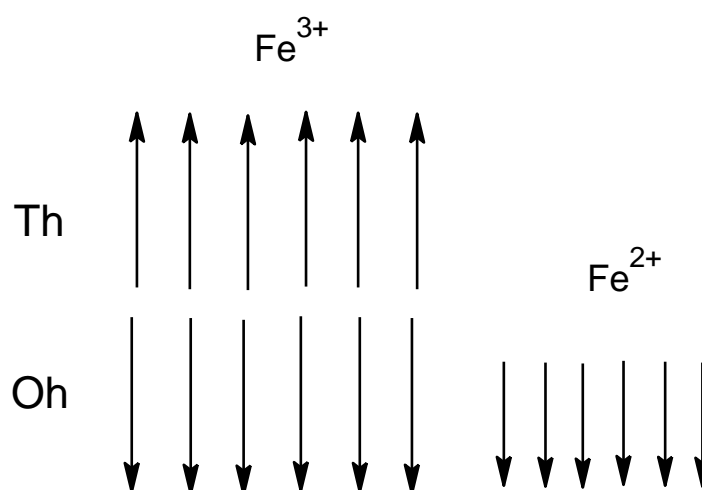
Fonte: Adaptado de Kalendová ⁽⁹⁾

A maghemita apresenta estrutura cristalina similar à magnetita. A principal diferença está no estado de oxidação dos íons de ferro – todos ou a maior parte se encontram no estado trivalente. Os íons de Fe(II) deixam de participar da estrutura cristalina, deixando vacâncias. Assim como a magnetita, a célula unitária da maghemita contém 32 O^{2-} distribuídos em posições cúbicas ao longo da direção [1 1 0]. No entanto, os sítios tetraédricos são ocupados por oito íons Fe(III) e os sítios octaédricos são ocupados, randomicamente, pelos Fe(III) restantes ^(14–16).

As propriedades magnéticas das ferritas surgem em decorrência da sua estrutura. A posição de cada íon na estrutura das ferritas permite a sobreposição da função de onda do orbital p do oxigênio com as funções de ondas dos orbitais 3d dos cátions. Os elétrons desemparelhados do oxigênio polarizam os cátions, resultando em acoplamento antiparalelo devido simetria dos orbitais envolvidos. Essa interação é chamada de super-troca. A configuração de menor energia consiste no alinhamento dos momentos magnéticos do sítio tetraédrico paralelamente entre si e antiparalelamente em relação aos sítios octaédricos ⁽¹⁰⁾. Na magnetita, por exemplo, os íons de Fe(III) que ocupam os sítios tetraédricos

apresentam o mesmo momento magnético dos íons Fe(III) situados nos sítios octaédricos, porém com os sentidos opostos, cancelando a resultante da magnetização. Assim, o valor da magnetização da magnetita é resultado apenas do momento magnético do íon Fe(II), como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Esquema da orientação e distribuição dos momentos magnéticos nos sítios tetraédricos (Th) e Octaédricos (Oh) da magnetita.



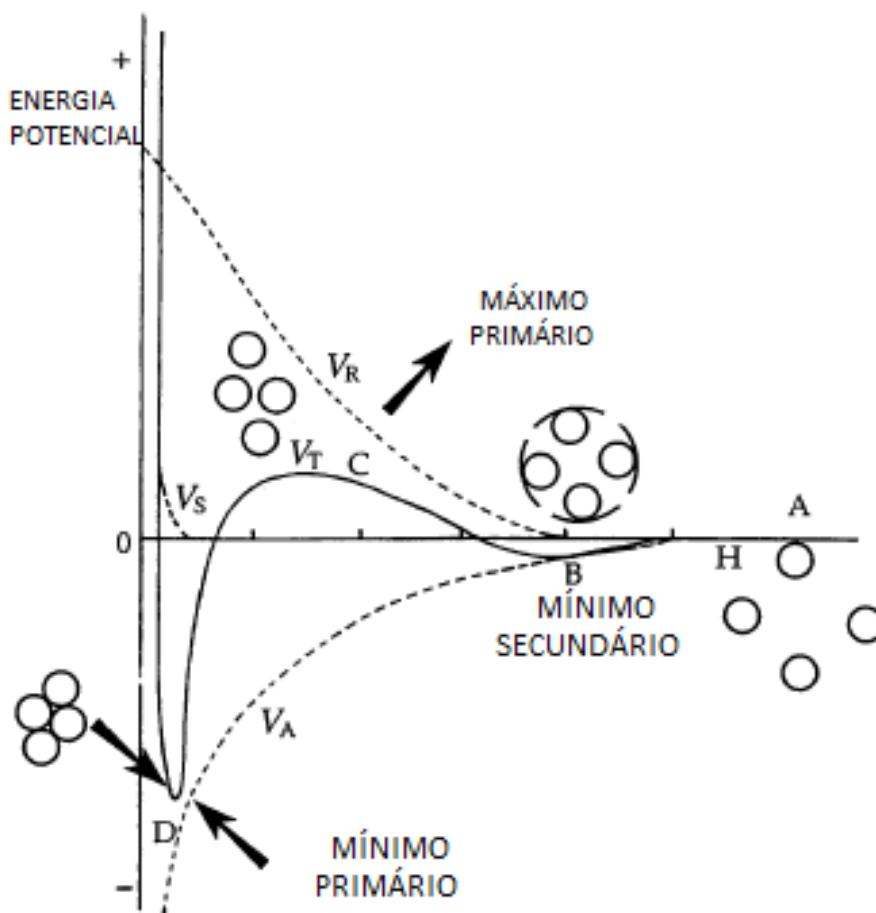
Fonte: Elaborado pelo autor.

1.3.4. Estabilização das nanopartículas magnéticas

A estabilização das nanopartículas de óxido de ferro é uma etapa importante para obtenção de um fluido estável contra agregação em meio biológico ou pela aplicação de campo magnético. A teoria mais aceita que explica a estabilidade coloidal de suspensões foi desenvolvida por Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek (DLVO). De acordo com esta teoria, a estabilidade de uma dispersão depende da energia de interação em função das distâncias que uma partícula mantém das outras. A energia de interação, V_T , é o somatório das energias envolvidas na sobreposição da dupla camada elétrica (forças repulsivas, V_R) e na energia de London e van de Waals (forças de carácter atrativo, V_A). A energia de repulsão proveniente da dupla camada decai exponencialmente em função da distância entre duas partículas e a

energia de atração de van der Waals decresce inversamente com o aumento da distância entre as partículas, como pode ser observado na Figura 6 ⁽¹⁷⁾.

Figura 6. Representação esquemática de uma curva de energia de interação em função da distância entre partículas.



Fonte: Adaptado de Islam ⁽¹⁸⁾

Quando a distância entre duas partículas for grande, a energia atrativa de van der Waals e a energia repulsiva da dupla camada elétrica não apresentaram efeitos sobre o comportamento da partícula, como pode ser observado na região A. A diminuição da distância entre as partículas leva a um aumento das energias V_A e V_R . Como o termo V_R aumenta mais lentamente que o termo V_A em longas distâncias, o caráter atrativo será predominante na região B, na qual é observada a presença de

um mínimo secundário cuja agregação é reversível. Diminuindo ainda mais a distancia entre as partículas, o valor do termo V_R apresenta efeito repulsivo muito mais forte sobre as partículas, resultando em uma barreira energética que inibe a atração das partículas, como observado na região C. Este comportamento ocorre até que uma distância crítica é atingida, na qual as forças atrativas de van der Waals se sobrepõem as forças repulsivas da dupla camada elétrica, resultando em coagulação irreversível, representada na região D. A energia cinética rege o comportamento da atração entre duas partículas. Se a energia cinética após a colisão entre duas partículas for grande o suficiente para ultrapassar a barreira potencial haverá coagulação no mínimo primário. Dispersões estáveis e/ou fraca agregação (mínimo secundário) são obtidas se as partículas não possuem energia cinética suficiente para ultrapassar a barreira de potencial. As partículas que se encontram na região do mínimo secundário podem ser facilmente dispersas pela mudança do solvente, força iônica ou através de agitação ⁽¹⁸⁾. Se a barreira de energia potencial é alta comparada com a energia térmica, kT , das partículas, a suspensão é estável. Geralmente, uma barreira energética com kT superior a 25 é suficiente para estabilizar uma suspensão por tempo indeterminado. Isto corresponde a valores de potencial zeta de superfície maiores que 30 mV, em módulo ⁽¹⁴⁾.

A estabilização pode ser provocada pela adsorção de cargas, polímeros ou surfactantes sobre a superfície das nanopartícula. O mecanismo de estabilização pode ocorrer por dois efeitos: via estabilização eletrostática e/ou via estabilização estérica. Na estabilização eletrostática, as cargas sobre a superfície de duas partículas são capazes de evitar agregação pela repulsão da dupla camada elétrica interpartículas. Já na estabilização estérica são observados dois efeitos devido à interpenetração da cadeia de polímero ou surfactante. Ao se aproximam duas partículas é observado um efeito osmótico, devido ao aumento na concentração de espécies adsorvidas e um efeito entrópico, devido a perda de graus de liberdade de movimentação das cadeias poliméricas. Estes efeitos causam diminuição da entalpia e entropia, respectivamente. A estabilização ocorre quando o solvente desloca-se para solvatar novamente as partículas, gerando uma barreira que dificulta a aproximação das partículas, e pela retomada da entropia, na qual forças repulsivas afastam as partículas devolvendo grau de liberdade do movimento das cadeias

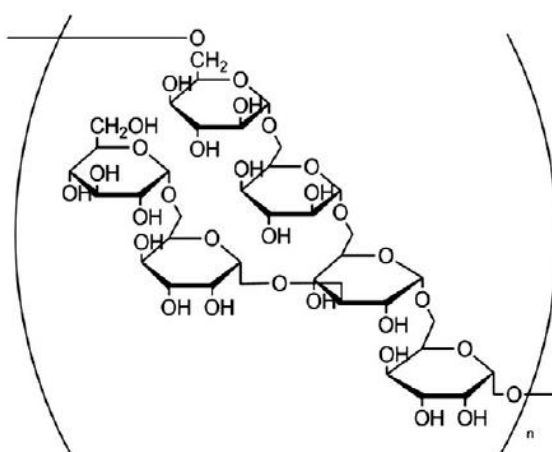
poliméricas ⁽¹⁹⁾. O revestimento nos óxidos de ferro diminui sua energia de superfície, evitando agregação, e, também, evita que estes materiais percam suas propriedades magnéticas devido à oxidação.

O termo “core@shell”, traduzido para o português como caroço@casca, foi cunhado por cientistas na década de 1990. Nas décadas anteriores, os estudos estavam concentrados na caracterização das nanopartículas simples, cujas propriedades são mais interessantes que seu estado *bulk*. Entretanto, com o avanço tecnológico e a necessidade de se obter materiais multifuncionais, os compósitos e estruturas do tipo caroço@casca passaram a atrair mais atenção na área da pesquisa. Como o próprio nome sugere, estruturas do tipo caroço@casca compreendem um núcleo recoberto por uma camada externa, denominada casca ⁽²⁰⁾. Os materiais utilizados como revestimento são de interesse da comunidade científica, pela capacidade de funcionalização, aumentando as possibilidades de aplicações de um mesmo material. No caso das nanopartículas magnéticas aplicadas a biomedicina, óxidos de ferro compõem o caroço, enquanto a casca é composta por materiais inorgânicos (ouro e sílica, por exemplo) e/ou poliméricos (PVA, amido, quitosana, dextrana) ⁽¹⁵⁾.

Para realização deste trabalho foi escolhido como opção de estabilização dos óxidos de ferro os polissacarídeos, pois são biocompatíveis, biodegradáveis, não tóxicos, renováveis e possuem grupos reativos capazes de funcionalizar as partículas magnéticas e também ancorar sobre sua estrutura moléculas específicas, tais como proteínas, anticorpos e drogas ^(4; 21). Os polissacarídeos são grupos de biopolímeros compostos por unidades repetidas de sacarídeos, unidos através de ligações glicosídicas, formando estruturas lineares ou ramificadas, como é o caso da dextrana (Figura 7). Embora ocorram ramificações, as dextransas comerciais disponíveis no mercado apresentam alto grau de solubilidade em água. Entretanto, a principal característica das dextransas está no prolongado tempo de circulação no sangue, permitindo seu uso como carreadores de fármacos, aumentando a disponibilidade de agentes terapêuticos durante o tratamento ⁽²²⁾. Depois de infusão intravenosa, aproximadamente 70% da dextrana (MM = 40 kDa) é excretada do tecido fisiológico pela urina no período de 24 horas. A porcentagem de dextrana restante é retida por poucos dias e despolimerizada por enzimas no fígado, no baço e no trato gastrointestinal ⁽²¹⁾. Dessa forma, é possível desenvolver um sistema de

liberação que é incapaz de liberar seu princípio ativo antes do mesmo ser colocado em ambiente apropriado. Um sistema de liberação ideal deve responder as necessidades fisiológicas sensíveis às mudanças e, conseqüentemente, alterar seu perfil de liberação. A dextrana possui um grande número de grupos hidroxilas que em meio aquoso e sob condições extremas de pH e força iônica ideais, podem se dissociar, resultando na mudança de conformação e no comportamento de liberação de drogas ⁽²³⁾.

Figura 7. Representação estrutura da dextrana.



Fonte: Adaptado de Dias ⁽²¹⁾

A princípio, estruturas caroço@casca podem ser obtidas a partir da dispersão de nanopartículas magnéticas em uma matriz polimérica por duas rotas. A primeira consiste em uma única etapa de síntese, na qual a nanopartícula é produzida *in situ* com a matriz polimérica, enquanto que na segunda maneira tem-se primeiro a etapa de síntese da partícula magnética seguida da encapsulação com o polímero ^(15; 24), como ocorre pelos métodos de polimerização que serão discutidos na próxima seção.

1.3.5. Métodos de polimerização

Nanopartículas poliméricas podem ser preparadas a partir de polímeros pré-formados ou através da polimerização direta de monômeros. Métodos como a

evaporação de solvente, salting – out, diálises e fluido supercrítico são exemplos de preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados ⁽²⁵⁾. Diversas técnicas podem ser empregadas na polimerização de monômeros. Entre as diversas rotas de polimerização homogênea, a técnica mais simples é a polimerização *bulk*. Nesta técnica, os monômeros são líquidos e o polímero formado está na forma sólida. A reação é conduzida na ausência de impurezas, porém a viscosidade do sistema aumenta significativamente devido a formação das cadeias poliméricas durante a polimerização. O aumento da viscosidade prejudica a homogeneização do sistema. Dessa forma, os radicais serão acumulados em regiões de baixa homogeneidade, levando a formação de moléculas com diferentes massas molares. A polimerização em solução é uma técnica alternativa para polimerização homogênea, na qual se deve empregar um solvente em que tanto os monômeros e como os polímeros sejam solúveis. O uso de solventes elimina os problemas e consequências relacionados à alta viscosidade do sistema, resultando em um polímero cuja distribuição de massa molar seja menor. Entre as técnicas heterogêneas de polimerização, as nanopartículas poliméricas podem ser obtidas por sistemas emulsionados, garantindo maior controle da forma, do tamanho e da estabilidade das nanopartículas. Os sistemas emulsionados são classificados em polimerização em emulsão, miniemulsão e microemulsão ⁽²⁶⁾. Os três mecanismos de nucleação das nanopartículas poliméricas relatados na literatura caracterizam o tipo de sistema em que a polimerização ocorre e estão esquematizados na Figura 8.

A polimerização em emulsão consiste na dispersão de monômeros em uma fase contínua. Estes monômeros são estabilizados pela adição de surfactante e a polimerização ocorre pela decomposição de um iniciador, gerando radicais. A polimerização em emulsão inicia em uma situação na qual coexistem grandes gotas de monômeros estabilizadas por surfactantes e micelas vazias. O mecanismo de nucleação consiste na difusão de monômeros das gotas maiores para as micelas onde os radicais estão presentes para iniciar a polimerização. Esta etapa é finalizada quando os monômeros da gota são totalmente consumidos e o polímero fica estabilizado pelo surfactante. Este mecanismo é denominado nucleação micelar ⁽²⁷⁾.

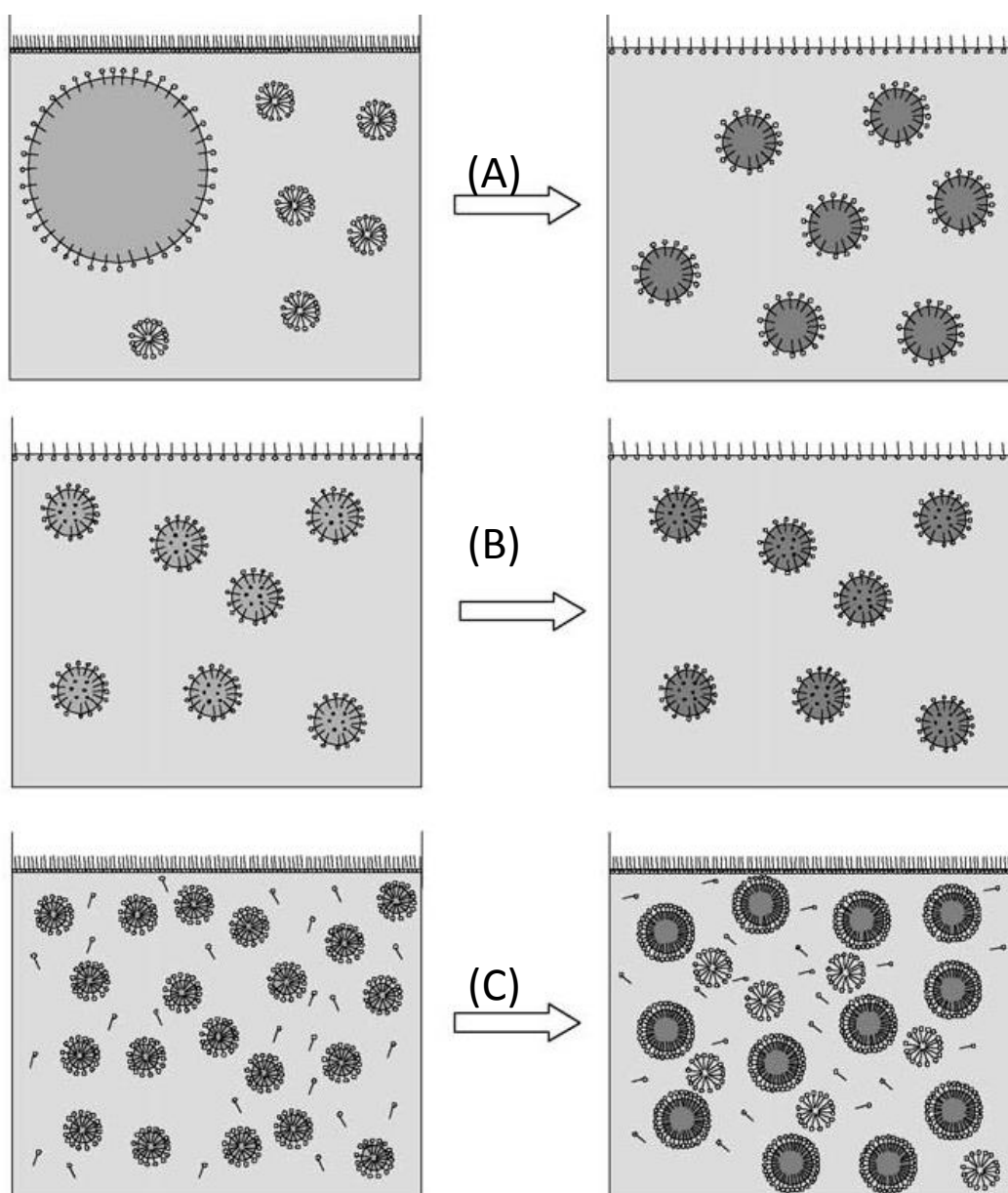
A microemulsão é uma dispersão termodinamicamente estável de, pelo menos, dois líquidos imiscíveis. A microemulsão é formada espontaneamente devido

a grande quantidade de surfactante empregado na sua formulação, diminuindo o valor da tensão interfacial entre a interface água/óleo próximo a zero. Por causa da grande quantidade de surfactante necessária para formar uma microemulsão, a formação de micelas é inevitável e todas as gotas de monômero estão completamente recobertas pelo surfactante. Como a iniciação da polimerização não pode ocorrer em todas as gotas simultaneamente, o mecanismo de nucleação é similar ao caso das emulsões, entretanto são obtidas nanopartículas poliméricas menores. O tamanho das partículas está na faixa de 5 a 50 nm, formando uma dispersão transparente, pois a luz visível não é espalhada pelo diminuto tamanho das partículas ⁽²⁷⁾.

Tal como a polimerização em emulsão, a miniemulsão consiste na dispersão de monômeros em uma fase contínua, conforme observado no esquema da Figura 10. A fase óleo consiste em uma solução contendo surfactante, enquanto a fase aquosa é composta pela mistura de monômeros, iniciador, agente de reticulação cruzada e cosurfactante. A primeira etapa para polimerização via miniemulsão consiste em aplicar um forte sistema de homogeneização, utilizando agitação por rotor estator ou ultrassom. A homogeneização resulta em um sistema disperso na qual pequenas gotículas estão estabilizadas pelo surfactante e cosurfactante. Estas gotículas contendo o monômero e o iniciador atuam como molde para formação do polímero. A segunda etapa consiste na polimerização propriamente dita. A polimerização é desencadeada a partir do momento que ocorre a cisão do iniciador em radicais, podendo ocorrer através de energia térmica, por exemplo. No mecanismo de polimerização via miniemulsão não ocorre difusão de monômeros ou radicais, sendo característica a nucleação dentro gota de monômero. Dessa forma o polímero formado deve apresentar o mesmo diâmetro e distribuição que a gota do monômero ⁽²⁷⁾.

O estado favorável para obtenção do mecanismo de nucleação da gota pode ser atingido ajustando as quantidades de fase aquosa e fase orgânica, quantidade de surfactantes e um forte sistema de homogeneização. O uso de ultrassom, por exemplo, é capaz de reduzir o tamanho da gota de monômero em uma faixa compreendida entre 50 e 500 nm, No início da homogeneização, a polidispersividade do sistema aumenta, entretanto, devido à fusão e à fissão das gotas, a polidispersividade diminui e a miniemulsão atinge um estado estável ⁽²⁸⁾.

Figura 8. Comparação dos processos de polimerização para: (A) emulsão, (B) miniemulsão e (C) microemulsão.

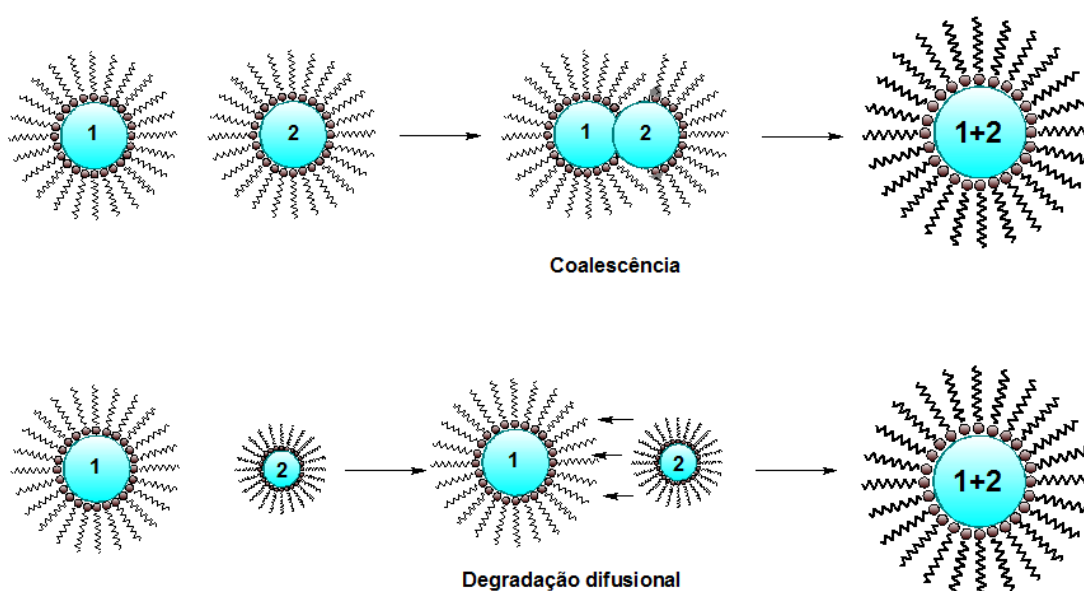


Fonte: Adaptado de Antonietti ⁽²⁶⁾

A desestabilização das miniemulsões pode ocorrer em função da coalescência e/ou através da degradação difusional (Ostwald ripening), esquematizado na Figura 9. A coalescência ocorre quando há ruptura da camada superficial de duas partículas, devido aos choques causados pelo movimento Browniano. A coalescência pode ser evitada pela adição de surfactante, pois além

de aumentar a camada superficial promove a estabilização estérica das nanopartículas poliméricas. A degradação difusional consiste na transferência de massa de partículas menores para partículas maiores. Isto ocorre devido à pressão osmótica dentro das gotas pequenas ser muito maior que em gotas maiores, favorecendo a difusão de forma a aumentar a estabilidade termodinâmica ⁽²⁹⁾. A degradação difusional é suprimida pela adição de um cosurfactante. É desejável que o cosurfactante seja insolúvel na fase dispersa, aumentando assim a pressão osmótica dentro da gota de monômero e evitando que o monômero passe para a fase contínua por difusão ⁽³⁰⁾.

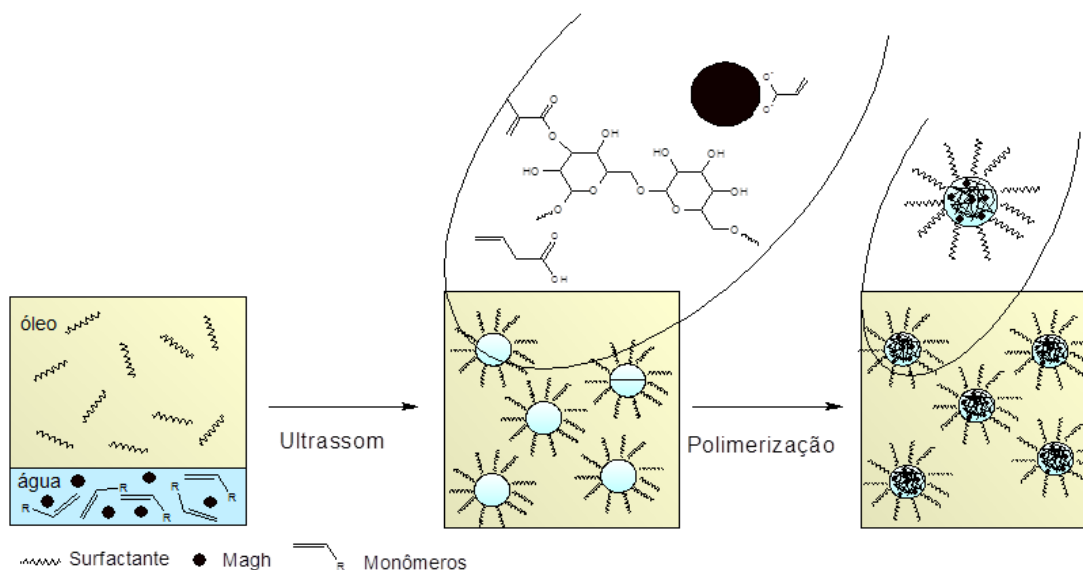
Figura 9. Representação dos mecanismos de degradação da miniemulsão inversa.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Dessa forma, com o aumento da intensidade de homogeneização, são formadas gotas menores e a quantidade de surfactante necessário para estabilizar estas gotas é maior, reduzindo o número de surfactantes livres para formação de micelas ⁽²⁸⁾. Por razões óbvias, é importante maximizar a fração de partículas formadas pela nucleação de gotas para reduzir a possibilidade ocorrer mecanismos diferentes de nucleação.

Figura 10. Esquema do processo de polimerização por miniemulsão inversa.



Fonte: Elaborado pelo autor.

1.3.6. Aplicações biomédicas de nanopartículas magnética

As nanopartículas magnéticas utilizadas na biomedicina podem ser classificadas de acordo com seu local de aplicação: *in vivo* ou *in vitro*. As aplicações *in vivo* podem ter ação terapêutica, como no caso da liberação controlada de drogas e/ou a hipertermia magnética, ou uso no diagnóstico de doenças, atuando como agente de contraste em ressonância magnética nuclear. As nanopartículas magnéticas também podem ser empregadas na separação seletivas de biomoléculas para aplicações *in vitro* ⁽¹⁶⁾.

O principal benefício do uso das nanopartículas magnéticas na liberação controlada de drogas reside no uso de gradiente de campo magnético externo para atrair as partículas para um local específico do corpo e mantê-las neste sítio durante a ação terapêutica. As vantagens no uso de sistemas de liberação controlada estão relacionadas à sua biodistribuição no organismo, pois a droga deve permanecer por períodos mais longos na circulação, diminuindo assim o número de doses necessárias para ação terapêutica. A concentração do sistema de liberação em um

sítio específico no corpo diminui a necessidade de grandes doses para garantir alta concentração local, reduzindo a toxidez e o desconforto causado por efeitos colaterais ⁽³¹⁾.

A droga pode ser conjugada ao sistema de liberação do tipo caroço@casca através de ligações químicas ou interações intermoleculares entre a droga e os grupos funcionais presentes na superfície da “casca”, ou ainda, pode estar inserida dentro de poros. A liberação ocorre quando estímulos químicos ou físicos, tais como a variação de pH, temperatura e força iônica, modificam o meio em que o material está disperso. Estes estímulos provocam mudanças nas características iniciais do sistema, com a conformação das cadeias poliméricas, solubilidade, mudança de fase, facilitando a liberação de drogas.

A hipertermia magnética é outro procedimento terapêutico utilizado para provocar apoptose de células tumorais através do aumento da temperatura em uma região específica do corpo. A hipertermia magnética é um tratamento seletivo, pois diferente de células saudáveis, a variação de temperatura é prejudicial apenas às células tumorais. De uma forma geral, o procedimento consiste na internalização das nanopartículas magnéticas nas células problemáticas, seguido da aplicação de campo alternado com força e frequência suficiente para causar o aquecimento das nanopartículas. O calor gerado é dissipado para o tecido doente até a destruição das células tumorais, que ocorre na temperatura de 41 a 46°C, aproximadamente. Vários componentes da célula são afetados pelo aumento da temperatura, tais como membrana, citoesqueleto, síntese de macromoléculas ou ainda reparos na fita do DNA. Os mecanismos molecular/biológico causado pelo aumento da temperatura ainda estão sob investigação, mas seus efeitos são os responsáveis pela apoptose celular ^(2; 16; 32; 33).

O aquecimento ocorre quando um campo magnético alternado é aplicado as nanopartículas magnéticas, dissipando calor durante a reorientação da magnetização do material. Os primeiros testes de hipertermia magnéticas foram realizados por Gilchrist *et al* ⁽³⁴⁾, quando nanopartículas de maghemita com diâmetros compreendidos entre 20 e 100 nm foram expostas a campo magnético alternado de 1,2 MHz. A frequência do campo magnético não pode ser aumentada infinitamente, uma vez que pode estimular músculos periféricos e cardíacos,

causando danos a estes tecidos. O emprego de altas frequências faz da hipertermia magnética um tratamento não seletivo, pois acima de determinada frequência, as células saudáveis também serão afetadas pelo aquecimento. A faixa de trabalho ideal, segundo Babicova *et al*⁽³⁵⁾, deve ser de 100 a 1000 kHz. O tamanho e a morfologia das nanopartículas magnéticas apresentam forte dependência na capacidade de aquecimento, devendo ser escolhido uma rota sintética ideal para obter controle na temperatura. A hipertermia magnética é uma ferramenta poderosa no tratamento de tumores, porém necessita de desenvolvimento de equipamentos capazes de aplicar campo magnético alternado. Atualmente, já existe tecnologia para a área de hipertermia magnética no mercado, como, por exemplo, a MagForce Nanotechnologies⁽³⁶⁾. Entretanto, a limitação da técnica reside na incapacidade de localizar o tumor, impedindo seu uso na medicina preventiva para descoberta de tumores em estágio inicial.

As aplicações *in vivo* com ações terapêuticas supracitadas são complementadas pelo uso das nanopartículas magnéticas como agente de contraste em diagnósticos por ressonância magnética nuclear por imagens. O diagnóstico por ressonância magnética é uma técnica não invasiva e está baseada no alinhamento de prótons de hidrogênio a um campo magnético externo. Os prótons são oriundos principalmente de moléculas de água do próprio tecido. A emissão de uma onda pulsada na frequência de rádio aplicada transversalmente ao campo magnético provoca perturbação nos prótons. A imagem é obtida pela conversão da radiação emitida pelos prótons enquanto os mesmos retornam ao estado inicial. O fenômeno da retomada das posições iniciais dos prótons é chamado de relaxação e é dividido em duas componentes: a relaxação longitudinal e relaxação transversal. A anatomia do tecido é mapeada uma vez que prótons de diferentes tecidos apresentam velocidade diferente de relaxações. Agentes de contraste são aplicados com intuito de melhorar a resolução das imagens através do contraste obtido pela variação dos tempos de relaxação. O aumento da velocidade de relaxação produzido por nanopartículas magnéticas ocorre por mecanismos complexos. As partículas magnéticas apresentam grande momento magnético na presença de campo estático e as interações dipolares entre as nanopartículas e os prótons do solvente resultam no aumento da relaxação transversal e longitudinal, gerando contraste nas imagens. O potencial uso de ressonância magnética por imagens reside na possibilidade de

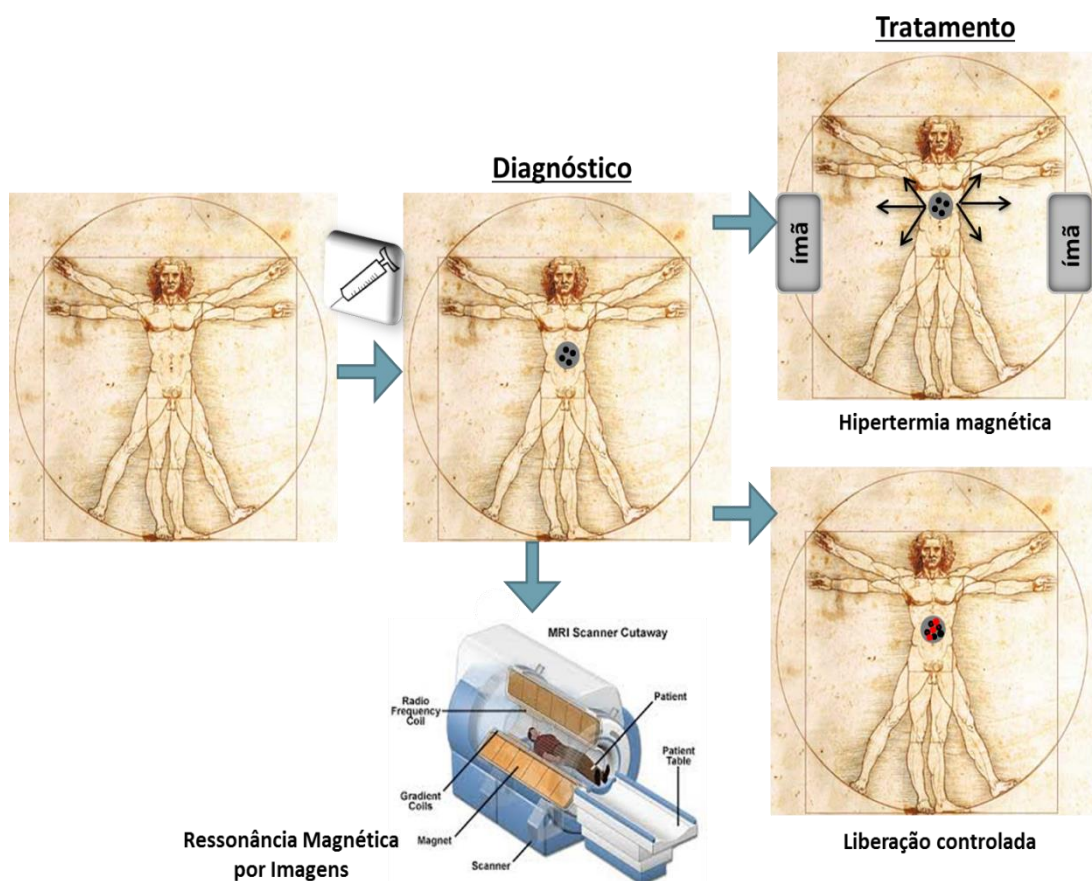
diagnosticar o avanço de inflamações ou tumores, por exemplo. A atividade metabólica de células saudáveis é diferente das células tumorais, podendo monitorar o avanço de um tumor através da diferença no tempo de relaxação de uma célula saudável e de uma célula problemática ^(2; 16; 37; 38). Atualmente, alguns produtos a base de óxidos de ferro superparamagnéticos já estão sendo comercializados como agente de contraste de imagem, tais como o Feridex®, o Endorem™, o GastroMARK®, o Lumirem®, o Sinerem® e o Resovist®.

As pesquisas com nanopartículas magnéticas para aplicações *in vivo* buscam unir em um único composto as características necessárias para diagnosticar e tratar um paciente simultaneamente. A proposta é baseada na detecção da localização exata de tumores através da ressonância magnética nuclear, seguido da concentração das nanopartículas magnéticas nestes sítios detectados, através da utilização de campo magnético externo para promover o tratamento, seja por liberação de drogas, seja por hipertermia magnética, conforme esquematizado na Figura 11.

Como citado anteriormente, as nanopartículas magnéticas precisam ser recobertas ou encapsuladas para evitar a oxidação e promover a estabilização do coloide. Os materiais utilizados precisam apresentar biocompatibilidade para uso em biomedicina. As nanopartículas de magnetita e maghemita são comumente empregadas em biomedicina, por serem mais biocompatíveis do que outras ferritas, tais como a ferrita de cobalto e níquel. O ferro da magnetita é facilmente metabolizado pelo organismo, enquanto o cobalto e o níquel, em altas concentrações, podem ser prejudiciais. De uma forma geral, nanopartículas de magnetita com diâmetros menores que 10 nm são rapidamente removidas pelos rins. Partículas com diâmetros compreendidos entre 100 e 200 nm são removidas pelo sistema de reticuloendotelial, seja por células do baço, seja por macrófagos presente no sangue. As partículas que apresentam maior tempo de circulação estão na faixa de 10 a 100 nm ⁽²¹⁾. Embora o sistema de liberação só apresente vantagens quando comparado com sistemas convencionais de administração de drogas, alguns problemas precisam ser superados, como a embolização das nanopartículas magnéticas na corrente sanguínea, bloqueando a circulação, e a profundidade que o campo magnético externo consegue penetrar para guiar partículas em um tecido não superficial ao corpo ^(39; 40). A limitação do uso de campo externo pode ser contornada

pela introdução de magnetos localizados próximo ao alvo de estudo através de cirurgia invasiva, como estudado por Fernandez-Pacheco et al ⁽⁴¹⁾ e Yellen et al ⁽⁴²⁾.

Figura 11. Representação esquemática das aplicações de nanopartículas magnéticas em biomedicina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A separação de biomoléculas vem resultando em um campo promissor para o uso de nanopartículas magnéticas aplicadas *in vitro*. A extração em fase sólida é um meio eficaz de isolar e pré-concentrar biomoléculas de uma matriz, embora consuma muito tempo. A funcionalização da superfície de nanopartículas magnéticas com moléculas específicas é uma maneira mais rápida e tão eficaz quanto à extração em fase sólida. O método consiste em adicionar as nanopartículas à amostra e aguardar que as moléculas alvos se liguem as nanopartículas modificadas. Utilizando um campo magnético externo, um ímã, por exemplo, separa as nanopartículas com as moléculas alvo da matriz ⁽¹⁶⁾. Kits de separação para diversas biomoléculas já estão

disponíveis no mercado, através da modificação da superfície das nanopartículas com enzimas, DNA, anticorpos, por exemplo, comprovando a eficácia do método.

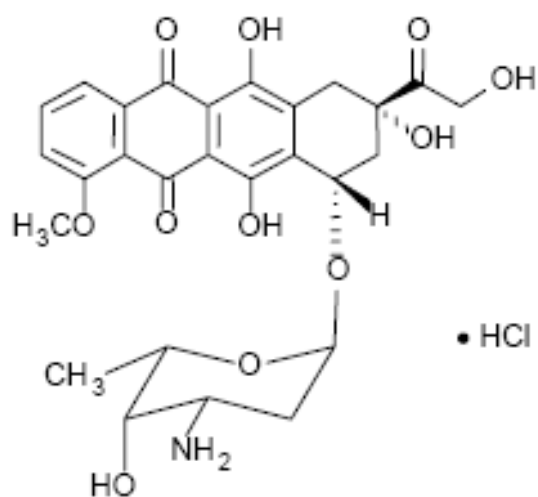
1.3.7. A doxorubicina

Diversas drogas podem ser utilizadas no estudo de liberação controlada de fármaco. A doxorubicina foi escolhida por ser comumente utilizada como agente terapêutico em tratamento de diversos tipos de câncer. Segundo a base de dados Scopus, foram publicados mais de 2400 artigos contendo doxorubicina e nanopartículas magnéticas. A grande quantidade de artigos publicados utilizando a doxorubicina como droga modelo é devido ao grupo antraciclina, responsável pela fluorescência intrínseca desta molécula. Através da obtenção de imagens baseada na microscopia de fluorescência é possível observar a distribuição da doxorubicina em tecidos ou células. Assim, com o auxílio das propriedades magnéticas de nanopartículas de óxido de ferro é possível modificar a biodistribuição desta droga através da vetorização a um sítio específico, reduzindo a toxicidade que limita o uso da doxorubicina. Outro fator que amplia o uso da doxorubicina como droga modelo deve-se as características físico químicas desta molécula. A doxorubicina é anfifílica e anfotérica, permitindo que sua molécula seja incorporada tanto em materiais hidrofílicos como em materiais hidrofóbicos, dependendo das condições de pH do meio ⁽⁴³⁾.

O cloridrato de doxorubicina (Figura 12) é um antibiótico antitumoral antraciclínico isolado de culturas de *Streptomyces peucetius var. caesius*. O mecanismo de ação do cloridrato de doxorubicina está relacionado à sua capacidade de se ligar ao DNA e inibir a síntese do ácido nucléico. Estudos em culturas de células mostram a rápida penetração do antibiótico nas células e sua localização principalmente na cromatina perinucleolar. A inibição rápida da atividade mitótica e da síntese do ácido nucléico foi demonstrada juntamente com o aparecimento de aberrações cromossômicas. Há relatos de estudos em animais os quais mostraram que o cloridrato de doxorubicina é ativo em grande número de tumores experimentais e é imunossupressor. Todavia, provoca uma variedade de efeitos tóxicos, tais como toxicidade cardíaca em coelhos e

ratos, atrofia dos testículos em ratos e cachorros e mielossupressão em várias espécies experimentais ^(44; 45).

Figura 12. Representação da estrutura do cloridrato de doxorrubicina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4. Conclusão

As nanopartículas magnéticas de maghemita foram obtidas a partir da oxidação da magnetita sintetizada pelo método de coprecipitação. A caracterização deste óxido de ferro pela difratometria de raio X confirmou a presença da estrutura do tipo espinélio, a qual confere propriedades magnéticas ao material. Através da espectroscopia Raman foi possível caracterizar o óxido como maghemita devido as bandas características apresentadas. A maghemita apresentou morfologia esférica, com tamanho médio de 5,2 nm.

A dextrana foi derivatizada com intuito de ancorar grupos vinílicos sobre a cadeia do polissacarídeo. A utilização de dextrana com massa molecular alta (40kDa) apresentou maior grau de substituição e melhor rendimento da reação.

A derivatização permitiu que fossem realizadas reações de copolimerização por miniemulsão inversa entre a dextrana e ácido acrílico para encapsular o óxido de ferro. Para otimizar a polimerização por miniemulsão foi estudada a variação do tipo e concentração de surfactante, fração dos monômeros de dextrana e ácido acrílico e a quantidade de óxido de ferro capaz de ser encapsulada. As técnicas utilizadas para caracterizar os copolímeros quanto a formação, morfologia e estabilidade coloidal foram as espectroscopia na região do infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, medidas de espalhamento de luz dinâmico e potencial zeta de superfície. A amostra que apresentou melhor eficiência de incorporação de óxido de ferro foi formulada empregando Span 80 como surfactante na concentração 4%(m/m) em n-heptano e fração em massa de 0,65 de dextrana. Essa formulação foi capaz de incorporar 35,7% do óxido de ferro, apresentando boa estabilidade coloidal em tampões com pH fisiológico.

O sistema caroço@casca obtido foi aplicado no estudo de incorporação e retenção de droga. O sistema apresentou eficiência de incorporação superior a 80% e capacidade de retenção de 96% da doxorubicina incorporada. Os altos valores de incorporação e retenção são devidos à forte interação entre a doxorubicina e o compósito magnético modificado com a dextrana derivatizada.