

Daniel José Pochapski

**Nanocarreador Magnético de Hidróxido Duplo Lamelar
para Aplicações Biomédicas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química

Araraquara

2022

P739n	Pochapski, Daniel José Nanocarreador magnético de hidróxido duplo lamelar para aplicações biomédicas / Daniel José Pochapski. -- Araraquara, 2022 144 f. : il.
	Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara Orientador: Celso Valentim Santilli
	1. Hidróxidos duplos lamelares. 2. Magnetita. 3. Materiais biomédicos. 4. Métodos de simulação. 5. Hipertermia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Nanocarregador magnético de hidróxido duplo lamelar para aplicações biomédicas"

AUTOR: DANIEL JOSÉ POCHAPSKI

ORIENTADOR: CELSO VALENTIM SANTILLI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

Celso Santilli
Prof. Dr. CELSO VALENTIM SANTILLI (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Celso Santilli
Prof. Dr. EDSON ROBERTO LEITE (Participação Virtual)
Departamento de Química / Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - UFSCar - São Carlos

Marian Rosaly DAVOLOS
Prof.ª Dr.ª MARIAN ROSALY DAVOLOS (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 25 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES

Identificação

Nome: Daniel José Pochapski

Nome em citações bibliográficas: D.J. Pochapski.

Formação complementar

2019- Curso de Método de Rietveld- Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo.

2019- Fundamentos de Espectroscopia Raman: Teoria e Prática- Instituto de Química, UNESP, Araraquara-SP.

2020- SAXS basics and practicals on the Nano-inXider SAXS/WAXS equipment- Instituto de Química, UNESP, Araraquara-SP. .

Trabalhos apresentados durante o período de mestrado

2021- D.J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Zeta potential and colloidal stability of nanoparticle dispersions: how can the choice of the electrokinetic models influence the interpretation of results?. 3rd European Symposium on Nanofluids (ESNF), 2021, Iasi, Romania.

2019- D.J. Pochapski, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Determinação das Propriedades Elétricas de Superfície de Argilominerais por Fenômenos Eletrocinéticos. V Reunião anual sobre argilas aplicadas (VRAA), Universidade de Franca (UNIFRAN), 2021, Franca, São Paulo.

Artigos completos publicados em periódicos

R.G.L. Gonçalves, P.A. Lopes, D.J. Pochapski, L.C.A. de Oliveira, F.G. Pinto, J.L. Neto, J. Tronto, Effect of pH, ionic strength, and temperature on the adsorption behavior of Acid Blue 113 onto mesoporous carbon, Environ. Sci. Pollut. Res. (**2022**). <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21193-y>.

D.J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, G.W. Leite, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Zeta Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions: Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of Results, Langmuir. 37 (**2021**) 13379–13389.

<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c02056>.

2. S. V Harb, M.S. Rodrigues, T.A.C. de Souza, A. Trentin, M.C. Uvida, D.J. Pochapski, S.H. Pulcinelli, C. V Santilli, P. Hammer, Smart PMMA-cerium oxide anticorrosive coatings: Effect of ceria content on structure and electrochemical properties, Prog. Org. Coatings. 161 (2021) 106548. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106548>.

A. dos Santos, M.F. Viante, D.J. Pochapski, A.J. Downs, C.A.P. Almeida, Enhanced removal of p-nitrophenol from aqueous media by montmorillonite clay modified with a cationic surfactant, J. Hazard. Mater. 355 (2018) 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.02.041>.

Capítulos de livros

2022- C.V.Santilli. Willian Max Oliveira de Souza de Santana, Daniel José Pochapski, Sandra Pulcinelli, Carla Raquel Fontana, POLYMERIC MICELLES MEDIATED PHOTODYNAMIC THERAPY, in: Nanomater. Photodyn. Ther., Elsevier, 2021: pp. 200–300.

Capa de revista publicada em periódico

D.J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, G.W. Leite, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Nonuniform zeta potential distribution around nanoparticle aggregates and its implications for interparticle interaction in an aqueous solution, Langmuir. 37 (2021) 13179-13536.

November 16, 2021 Volume 37, Number 45

pubs.acs.org/Langmuir

LANGMUIR

The ACS journal of fundamental interface science



 **ACS Publications**
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

www.acs.org

AGRADECIMENTOS

Slava Isusu Christu

Gostaria de expressar a minha gratidão a todos que me ajudaram nesta jornada ao longo dos últimos anos. A minha passagem pelo Instituto de Química, UNESP-Araraquara, foi uma experiência muito marcante. Tive o privilégio de conhecer e trabalhar com pessoas incríveis, que tiveram um impacto único no trabalho relatado nesta dissertação assim como na minha experiência na pós-graduação em geral. É um prazer mencioná-los aqui pelo nome.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Celso Valentim Santilli, por me dar a oportunidade de trabalhar em seu laboratório de Físico-Química de Materiais (GFQM). O seu constante envolvimento, apoio e determinação em não aceitar nada inferior a excelência, continuaram a me motivar ao longo de todos os trabalhos que participei. Particularmente, eu aprecio a liberdade que você me concedeu enquanto conduzia a minha pesquisa, o que incluiu permitir que eu conduzisse “experimentos de segunda-feira” em qualquer dia da semana.

Gostaria de agradecer aos professores Peter Hammer e Sandra Helena Pucinelli do Instituto de Química; o primeiro por sempre estar me motivando e ensinando, além de fazer um dos melhores cafés que sempre acompanharam as nossas discussões; a segunda por ter me aceitado em seu grupo de pesquisa e me apresentar à pesquisa em nível de pós-graduação.

Também gostaria de agradecer aos professores do IQ, que moldaram a minha compreensão e alimentaram a minha sede de conhecimento científico. Em particular, gostaria de agradecer ao professor Miguel Jafelicce por ter me convidado a conhecer o IQ durante o “coffe Break” de um evento, sendo decisivo para que eu embarcasse nessa jornada; também por sua ajuda em disponibilizar vários instrumentos para adquirir dados científicos.

Obrigado a todos os membros atuais e anteriores do GFQM que moldaram a identidade do grupo e foi um grande prazer trabalhar com eles. Agradeço pelo nome a cada um deles: Marina, Danubia, Samarah, Rosenberg, Rodrigo, Andressa, Camila, Adila, Rodolfo, Max, Adriana Almeida e Manera, Mayara, Thiago, Caio e Aline.

Obrigado aos meus pais, José e Lídia, por todo amor, carinho e incentivo sem fim em cada etapa da minha vida. Jamais esquecerei de todos os esforços e sacrifícios que vocês fizeram para que eu pudesse receber uma excelente educação. Aos meus irmãos, Gabriel e José Augusto, por estarem sempre ao meu lado me incentivando, apoiando e ajudando. As suas jornadas de vida me encorajam para a realização desde trabalho relatado nesta dissertação. Também agradeço aos meus tios e tias, João, Eli-ta, Ana, e Nádia por todo incentivo e apoio.

Obrigado a todos os meus amigos que constantemente me lembram sobre as coisas importantes da vida e me empurram para ser uma pessoa melhor. Em especial, ao Fernando, Thulío e Gustavo. Também agradeço a minha namorada Larissa M. S que, após nos aproximarmos no último ano, me incentivou para a conclusão deste trabalho e por compartilhar muitos momentos e histórias.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Slava na v'iki

RESUMO

Hidróxidos duplos lamelares (HDL) são uma classe específica de materiais inorgânicos 2D com propriedades físico-químicas versáteis e moduladoras que permitem diversas aplicações biomédicas, como diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças. Em particular, as nanopartículas (NP) de HDL mostraram recentemente avanços sem precedentes na construção química controlável e simplificada, engenharia de superfície versátil e pesquisa biológica abrangente. Dentro deste contexto, exploramos neste trabalho a construção de uma estrutura multifuncional a base de HDL e NP de magnetita (Fe_3O_4), com potencial aplicação como um nanocarreador magnético para liberação controlada de droga com uso simultâneo na terapia anticâncer da hipertermia do fluido magnético (HFM). Para isso, sintetizamos NP de HDL de ZnAl por uma rota sol-gel modificada e NP de Fe_3O_4 pelo método de co-precipitação para serem utilizados como blocos de construção coloidal. A estrutura multifuncional é formada através de um processo de agregação espontâneo, dependente unicamente da magnitude e sinal da carga superficial das NP. Um fármaco modelo (diclofenaco de sódio) foi intercalado na camada interlamelar das NP de HDL para mostrar que a liberação local da droga pode ser desencadeada pela aplicação de um campo magnético alternado (AMF). Além disso, o calor gerado pela estrutura automontada quando exposta ao AMF por um tempo (t), é suficientemente alto ($>44-46^\circ\text{C}$ e t 1-5 min) para levar a necrose de um tecido tumoral. Estes resultados são suportados por simulações numéricas, que demonstraram que o calor gerado durante a hipertermia magnética pode levar a necrose completa de um tumor localizado na glândula mamária. O presente trabalho explora os desafios recentes encontrados no desenvolvimento de novas estruturas multifuncionais a base de HDL para aplicações biológicas, incluindo estabilidade coloidal, acúmulo no local alvo da doença e integração com múltiplas modalidades.

ABSTRACT

Lamellar double hydroxides (LDH) are a specific class of 2D inorganic materials with versatile and modulates physicochemical properties that allow for diverse biomedical applications, such as in the diagnosis, prevention, and treatment of diseases. In particular, LDH nanoparticles (LDH NPs) have recently shown unprecedented advances in controllable and simplified chemical construction, versatile surface engineering, and comprehensive biological research. Within this context, we explore in this work the construction of a multifunctional structure based on LDH and magnetite (Fe_3O_4) NPs, with potential application as a magnetic nanocarrier for controlled drug release with simultaneous use for magnetic fluid hyperthermia (MRM) as an anticancer therapy. For this, we synthesized ZnAl LDH NPs by a modified sol-gel route and Fe_3O_4 NPs by the coprecipitation method to be used as colloidal building blocks. The automated structure is formed through a spontaneous aggregation process, dependent on the magnitude and sign of the NPs surface charge. A model drug (diclofenac sodium) was intercalated into the interlamellar layer of LDH NPs to show that local drug release can be triggered by the application of an alternating magnetic field (AMF). In addition, the heat generated by the self-assembled structure when exposed to the alternating magnetic field for a time (t) is high enough ($>44^\circ\text{C}$, from t 1-5 min) to lead to the tumor tissue necrosis. These results were supported by numerical simulations, which show that the heat generated during magnetic hyperthermia can lead to complete necrosis of a tumor located in the mammary gland. The present work explores recent challenges encountered in the development of new multifunctional LDH -based structures for biological applications, including colloidal stability, accumulation at the disease-targeted site, and integration with multiple modalities.

Abreviaturas

AMF	Campo Magnético Alternado	FDA	Food and Drug Administration
BET	Brunauer-Emmett-Teller	HDL	Hidróxidos Duplos Lamelares
DCE	Dupla Camada Elétrica	HFM	Hipertermia do Fluido Magnético
DLCA	Agregação Limitada por Difusão	IEP	Ponto Isoelétrico
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz	NP	Nanopartículas
DLVO	Derjaguin and Landau, Verwey and Overbeek	PAA	Ácido poli(acrílico)
DS	Dioclofenaco de Sódio	PDI	Índice de Poldispersão
ELS	Espalhamento Eletroforético de Luz	PO	Óxido de Propileno
FEM	Simulações de Elementos Finitos	RLCA	Agregação Limitada por Reação
FMDS	Fármaco Modelo Diclofenaco de Sódio	RM	Ressonância Magnética
FTIR	Espectroscopia Vibracional de Absorbância no Infravermelho com Transformada de Fourier	SAED	Difração de Elétrons de Área Seleccionada
acac	Acetilacetona	SAXS	Espalhamento de raios-X a Baixo Ângulo
		SP	Superparamagnetismo
		STEM	Microscópio Eletrônico de Varredura por Transmissão
		XPS	Espectroscopia de Fotoelétrons Excitadas por Raios-X

Símbolos e Constantes

μ_e	Mobilidade elétricoforética [$\mu\text{cm/Vs}$]	M	Magnetização [kA/m]
κ^{-1}	Parâmetro de Debye-Huckel [nm]	H	Campo magnético aplicado [mT/μ_0]
ζ	Potencial Zeta [mV]	H_0	Amplitude do campo magnético alternado (AC) [mT/μ_0]
Φ	Potencial Eletrostático [mV]	f	Frequência de campo magnético alternado (AC) [kHz]
τ	Relaxação [s]	μ_0	Constante magnética: $4\pi \cdot 10^{-7}$ [$\text{N} \cdot \text{A}^{-2}$]
τ_N	Relaxação de Néel [s]	K_{ef}	Constante anisotrópica efetiva [J/m^3]
τ_B	Relaxação Browniana [s]	M_s	Magnetização de Saturação [kA/m]
d_{cr}	Tamanho Crítico [nm]	M_r	Magnetização Remanescente [kA/m]
d_p	Diâmetro da partícula [nm]	M	Magnetização [kA/m]
T	Temperatura [$^{\circ}\text{C}$]	H	Campo magnético aplicado [mT/μ_0]
E	Campo elétrico externo [V/m]	H_0	Amplitude do campo magnético alternado (AC) [mT/μ_0]
H	Campo magnético aplicado [mT/μ_0]	f	Frequência de Campo Magnético alternado (AC) [mT/μ_0]
K_B	Constante de anisotropia a granel (material) [J/m^3]	R_g	Raio de giro [nm]
K_s	Constante de anisotropia de superfície [J/m^2]	$I(q)$	Intensidade de Espalhamento [Unid. Arb.]
V_H	Volume hidrodinâmico da partícula [nm]	$p(r)$	Função de distribuição da distância dos pares no espaço real [Unid. Arb.]
k_B	Constante de Boltzman: $1.3806 \cdot 10^{-23}$ [J/K]	D_{MAX}	Diâmetro máximo da partícula [nm]
n	Viscosidade (macroscópica) (de um líquido transportador) [$\text{Pa} \cdot \text{s}$]		
H_C	Coercividade [mT/μ_0]		
M_s	Magnetização de Saturação [kA/m]		
M_r	Magnetização Remanescente [kA/m]		

V_T	Energia de interação total DLVO
V_{vdW}	Energia de interação de Van der Waals [$1/k_B T$]
V_{EDL}	Energia de interação eletrostática [$1/k_B T$]
V_{SO}	Energia de interação osmótica [$1/k_B T$]
V_{SE}	Energia de interação elástica [$1/k_B T$]
s	Variável de dimensão SAXS

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura representativa de um HDL.

Figura 2. Mecanismos de reação envolvidos na síntese do Nano-HDL de NiAl intercalado com ânions Cl^- pela rota sol-gel-sol mediada por epóxidos. Os índices 1 e 3 representam as etapas responsáveis pelo aumento do pH do meio reacional. Fonte: o autor.

Figura 3. Estrutura das NP de Fe_3O_4 . **(A)** Modelo poliédrico com as camadas octaédricas e octaédricas/tetraédricas alternadas. **(B)** Representação esquemática da célula unitária. Fonte: o autor.

Figura 4. **(A)** Representação de $1/4$ da célula unitária das NP de Fe_3O_4 . **(B)** Ângulos das ligações para os pares específicos onde as interações de super troca acontecem em **(A)**. Os ângulos a 90° desfavorecem o acoplamento de super troca. Em ordem decrescente de acoplamento de troca (mais fraca): A1-O2-A3 a $79,6^\circ$, A3-O2-B1 a $154,6^\circ$ e B1-O2-B3 a 125° , respectivamente.

Figura 5. **(A)** Dependência da coercitividade, H_c , com o tamanho da partícula (d_p). Existe um valor de tamanho crítico, d_{cr} , cujo qual apenas a formação de um único domínio magnético é energeticamente favorável. **(B)** Representação esquemática de curvas de magnetização para uma NP ferrimagnética (verde) e superparamagnética (vermelho).

Figura 6. Representação da aplicação clínica das NP de Fe_3O_4 na HFM para um tumor localizado no cérebro. Uma dispersão concentrada de NP é inserida localmente na região do tumor, seguido da aplicação de um campo AMF. Devido aos processos de relaxação Browniana e de Neel, as NP de Fe_3O_4 liberam calor durante vários ciclos de aquecimento. O aumento da temperatura local durante este processo ($\sim 46^\circ\text{C}$), induz a necrose do tecido tumoral. Fonte: o autor.

Figura 7. Forças motrizes atrativas para a automontagem coloidal. Interações físico-químicas: **(A)** Originada pela sobreposição entre as duplas camadas elétricas das NP com car-

gas opostas; **(B)** Direcionamento específico e sensível a temperatura fornecida por algumas moléculas, como DNA. Interações entrópicas: **(C)** Em suspensões concentradas, surgem zonas de exclusões específicas (mostrada em verde) devido as interações de depleção, possibilitando a montagem direcional das NP no volume livre. Interações ambientais (externas): **(D)** Campos externos, como campos elétricos E, induzem momentos de dipolo elétrico nas NP, promovendo a atração.

Figura 8. (A) Modelos ilustrativos para a homoagregação, heteroagregação e agregação do tipo cluster-cluster controladas. **(B)** Curvas de energia de interação para as NP antes e após a automontagem agregativa de um cluster. A altura máxima da barreira de energia, V_{MAX} , é utilizada como um critério para estabilidade coloidal. Fonte: o autor.

Figura 9. Sol obtido após 10 min da adição do PO. Os subscritos 0.5b-3b representam as variações da quantidade de acac adicionada. Fonte: o autor.

Figura 10. Molécula do sal de diclofenaco sódio (SSD). Fonte: o autor.

Figura 11. Representação esquemática da configuração experimental utilizada para sintetizar as NP de Fe_3O_4 pura e revestidas com PAA.

Figura 12 (A-D). Equipamento DM 100 Series (nanoScale Biomagnetics) e a configuração experimental utilizada para realizar os experimentos de MHF.

Figura 13. Curva de aquecimento típica gerada durante os experimentos de HFM. Fonte: o autor.

Figura 14. (A) Espectros na região do ultravioleta para a droga modelo diclofenaco de sódio (FM-DS) em diferentes concentrações e **(B)** curva analítica obtida. Fonte: o autor.

Figura 15. (A) Difratoograma de raios-X obtidos para os pós dos Nano-HDL. **(B)** Micrográfias obtidas por STEM dos Nano-HDL. A aparência da suspensão obtida esta inclusa na parte superior esquerda da imagem, e a distribuição de tamanho de partícula obtida para os Nano-HDL na parte inferior. **(C)** Perfil de espalhamento SAXS para a suspen-

são de Nano-HDL. O valor do expoente α (indicado em $q^{-\alpha}$) é a inclinação da curva.
Fonte: o autor.

Figura 16. (A) Mudanças no meio reacional em função do tempo de reação. (B) Evolução do pH da solução após adição do PO. O gráfico inserido mostra o aumento do pH nos 60 minutos iniciais de reação. (C) Perfil de espalhamento SAXS em função do tempo de reação ($10 \text{ min} < t < 74 \text{ h}$); ponto isobéstico em $q = 0.249 \text{ \AA}^{-1}$.

Figura 17. (A) Mecanismo proposto para a formação dos Nano-HDL. (B) Espectros de UV-vis do acac em soluções coexistentes com diferentes hidróxidos: Nano-HDL ($\text{Zn/Al} = 2$); $\text{Al(OH)}_3/\text{acac}$ preparado sem ZnCl_2 ; $\text{Zn(OH)}_2/\text{acac}$ preparado sem $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; acac em água. (C) Padrões de DRX das amostras preparadas em diferentes razões de acac/Al.

Figura 18. (A) Mapa do potencial eletrostático dos Nano-HDL em função da constante dielétrica, ϵ_r , do meio de reação. (B) Distribuição anisotrópica do potencial eletrostático em função da distância e orientação da superfície dos Nano-HDL. (C) Mapa do potencial eletrostático em torno dos Nano-HDL de NiAl e ZnAl. Para os cálculos, o potencial eletrostático, Φ_0 , foi assumido em termos de valores de potencial zeta, ζ , mensurável experimentalmente. As setas indicam a magnitude e direção do campo elétrico.

Figura 19. (A) Variação dos valores do potencial- ζ e do tamanho hidrodinâmico dos Nano-HDL em função do pH. (B) Mapa da distribuição do potencial eletrostático em torno do agregado formado pelos Nano-HDL em pH 5. As setas indicam a magnitude e direção do campo elétrico. A estrutura foi construída assumindo $D_h = 232,4 \text{ nm}$. (C) Energia de interação total calculada entre os agregados formados pelos Nano-HDL em função do pH.

Figure 20. Caracterização estrutural das NP de Fe_3O_4 . (A) FT-IR, (B) DRX, (C) HRTEM e (D) SAED.

Figura 21. (A) STEM imagem e distribuição de tamanho de partícula das NP de Fe_3O_4 . (B) Curvas SAXS para a dispersão de NP de Fe_3O_4 . O valor do expoente α (indicado em $q^{-\alpha}$) é a inclinação da curva. (C) Perfil teórico (círculo preto) e experimental (círculo vermelho) da função de correlação, $p(r)$, para as NP primárias de Fe_3O_4 . (D) Agregado fractal de massa formado pelas NP primárias de Fe_3O_4 . O agregado é formado por um número ($N = 143$) de NP primárias de tamanho de 7.5 nm. Os parâmetros foram obtidos a partir do ajuste da curva SAXS. (E) Distribuição de tamanho hidrodinâmico das NP de Fe_3O_4 , determinada por DLS.

Figura 22. (A) Variação do potencial- ζ , (B) tamanho hidrodinâmico (D_h) e (C) das estruturas fractais formados pelos agregados das NP de Fe_3O_4 em função do pH.

Figure 23. (A) Distribuição do potencial elétrico em torno do plano central do agregado de NP de Fe_3O_4 e de sua partícula esférica equivalente em pH 3, (B) e para os agregados formados na faixa de pH de 4-10. O tamanho e a posição das setas indicam a magnitude e a direção do campo elétrico gerado pela EDL

Figura 24. (A) Energia de interação total calculada entre os agregados de NP de Fe_3O_4 para diferentes valores de pH. (B) Altura máxima da barreira de energia, V_{MAX}/k_bT , em função do potencial- ζ para diferentes tamanhos de NP. (C) Distância de separação superfície-superfície calculada para os agregados de NP de Fe_3O_4 em função do pH. (D) Energia de interação total calculada entre as NP primárias de Fe_3O_4 antes e após a formação dos agregados, em pH 3.

Figura 25. (A) Variação dos valores do potencial zeta e do tamanho hidrodinâmico das NP de PAA- Fe_3O_4 . (B) Perfis experimentais SAXS para as NP de PAA- Fe_3O_4 em pH 4, 6 e 8. A figura inserida no canto superior direito representa um possível equilíbrio químico e as consequências para estruturas agregadas formadas. (C) Cálculos de energia de interação XDLVO para os agregados de NP de PAA- Fe_3O_4 em função do pH.

Figura 26 (A). Cálculos de energia de interação XDLVO para os pares de partícula interagente: Nano-HDL e PAA- Fe_3O_4 . (B) Imagens dos blocos de construção antes e depois da automontagem agregativa. (C) Perfis experimentais SAXS para as dispersões de Na-

no-HDL, PAA-Fe₃O₄ e para o nanocarreador magnético formado. **(D)** Estrutura representativa do nanocarreador magnético formado com a respectiva distribuição das forças eletrostáticas atrativas, que mantem as NP unidas.

Figura 27. **(A)** Cálculos de energia de interação XDLVO para os pares de partícula interagente: Nano-HDL e PAA-Fe₃O₄ em função do pH. **(B)** Tamanho hidrodinâmico dos nanocarreadores magnéticos formados em função do pH. **(C)** Variação do potencial zeta dos nanocarreadores magnéticos em função da razão (mg/mg; 2 mg/mL⁻¹ = 1) PAA-Fe₃P₄/ Nano-HDL.

Figura 28. **(A)** Curva de hipertermia magnética das suspensões das NP de PAA-Fe₃O₄ e dos nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄. **(B)** Mapa da distribuição da temperatura em torno dos agregados. **(C)** Distribuição da temperatura em função da distância do centro de massa para os agregados de PAA-Fe₃O₄ e para os nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄

Figura 29 **(A)**. Mapa da distribuição da temperatura dentro de um tumor mamário para o agregado de NP de PAA-Fe₃O₄ e para o nanocarreador magnético de HDL-Fe₃O₄ . **(B)** Fração de dano (ou percentual de tecido necrosado) em função do tempo e da **(C)** distância de separação partícula-tecido tumoral mamária. Os índices P1 e P6 representam os pontos de monitoramento da fração de dano, bem como a reta. A temperatura das NP foi fixada em 45 °C.

Figura 30. **(A)** Curva de hipertermia magnética obtidas para os nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄. O perfil de aquecimento corresponde aos ensaios de liberação da droga DS. **(B)** Percentagem de DS liberado em função do tempo na presença e na ausência de um AMF para os os nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄.

Sumário

1		
2	1. Introdução	22
3	1.1. Motivação Científica.....	24
4	2. Objetivos	26
5	3. Revisão Bibliográfica.....	3
6	3.1. Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL).....	27
7	3.1.1. Estrutura, Composição e Propriedades dos HDL.....	28
8	3.1.2. Síntese dos HDL.....	31
9	3.1.3. Aplicações Biomédicas dos HDL	34
10	3.2. Nanopartículas (NP) de Óxido de Ferro	35
11	3.2.1. Estrutura e Propriedades das NP de Magnetita (Fe_3O_4).....	36
12	3.2.2. Física da Relaxação e Aquecimento de NP Magnéticas.....	41
13	3.2.3. NP de Fe_3O_4 Aplicadas na Hipertermia do Fluido Magnético (HFM) ..	42
14	3.3. Automontagem, Interações Interpartículas e Estabilidade Coloidal ...	44
15	4. Metodologia Experimental.....	49
16	4.1. Materiais e Métodos	49
17	4.1.1. Síntese dos Nano-HDL de ZnAl.....	49
18	4.1.2. Intercalação do Fármaco Modelo	50
19	4.1.3. Síntese das NP de Fe_3O_4	50
20	4.1.4. Automontagem Coloidal do Nanocarreador Magnético.....	51
21	4.2. Caracterização das Amostras.....	52

1	4.2.1. Difração de raios-X (DRX)	52
2	4.2.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	
3	(FTIR)52	
4	4.2.3. Espectroscopia UV-Visível (Uv-Vis)	52
5	4.2.4. Isotermas de adsorção e dessorção de N ₂	52
6	4.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	53
7	4.2.6. Espectroscopia de fotoelétrons excitadas por raios-X (XPS)	53
8	4.2.7. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS).....	54
9	4.2.8. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	54
10	4.2.9. Espalhamento Eletroforético de luz (ELS).....	54
11	4.3. Experimentos de Hipertermia do Fluido Magnético (HFM).....	55
12	4.4. Cálculos Numéricos e Simulações de Elementos Finitos (FEM)	57
13	5. Resultados e Discussões	59
14	5.1. Caracterização Estrutural e Coloidal dos Nano-HDL	59
15	5.2. Caracterização estrutural das NP de Fe ₃ O ₄	71
16	5.3. Automontagem do Nanocarreador Magnético de HDL- Fe ₃ O ₄	83
17	5.4. Aplicação dos Nanocarreadores Magnéticos de HDL-Fe ₃ O ₄	88
18	6. Conclusões	95
19	6.1. Perspectivas futuras	96
20	7. Referências	97

1	B. Apêndice. Simulações Eletrodinâmicas Dependentes do Tempo para a	
2	Determinação do Potencial Zeta (potencial- ζ).....	114
3	C. Apêndice. Cálculo de Energia de Interação e Previsões para a	
4	Estabilidade Coloidal das NP e de seus Agregados	123
5	D. Apêndice. Cálculo da Transferência de Calor em Tecido Biológico com	
6	Análise de Dano Térmico.....	128
7	E. Apêndice. Figuras e Tabelas Suplementares	132

1. Introdução

Plataformas de entrega de drogas baseadas em nanomateriais inorgânicos estão sendo usadas como ferramentas atraentes tanto para o diagnóstico quanto para a terapia do câncer [1]. Esses nanomateriais fornecem uma estrutura robusta na qual dois ou mais componentes podem ser incorporados para fornecer simultaneamente a entrega da droga, imagem de fluorescência e ressonância magnética (RM), além de superar as limitações da entrega convencional [2,3]. Neste contexto, diferentes estratégias estão sendo empregadas para o *design* de novos nanocarreadores inorgânicos multifuncionais, buscando controlar as suas propriedades e melhorar a interação seletiva com o meio [4–6].

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) são uma classe específica de materiais inorgânicos 2D, que estão recebendo uma considerável atenção na área da nanomedicina [7–10]. Com boa compatibilidade biológica, vasta composição química, propriedades de superfície ajustáveis e alta capacidade de carga de droga, os HDL têm atraído considerável interesse como sistemas de liberação de fármacos devido à sua ligação não covalente às moléculas aniônicas de fármacos, materiais genéticos e anticorpos [7]. Além disso, a sua estrutura versátil também possibilita combinar e conferir funcionalidades de vários outros nanomateriais, permitindo amplas aplicações teranósticas na terapia do câncer [11–16].

Recentemente, estruturas automontadas via interações eletrostáticas de HDL e nanopartículas (NP) superparamagnéticas de óxido de ferro demonstraram ser plataformas eficientes tanto para a entrega direcionada e responsiva de droga, assim como agentes de contraste para RM [11,17,18]. Em particular, esta plataforma é bastante promissora pois, além de ser biocompatível, permite explorar as propriedades superparamagnéticas das NP e expandir as aplicações para o campo da terapia anticâncer da hipertermia do fluido magnético (HFM) [19]. O aquecimento provocado pelo calor gerado durante a HFM (cerca de 41–46 °C para hipertermia leve e 46-56 °C para moderada) pode ser usado como um estímulo externo para desencadear a liberação da droga

armazenada nos domínios interlamelares dos HDL, e danificar as células tumorais de tecidos alvos [20,21]. No entanto, até o presente momento, a HFM como uma nova modalidade para estas estruturas automontadas ainda não foi explorada.

Nesta dissertação de mestrado, foi demonstrado que tal multifuncionalidade pode ser alcançada através uma automontagem reacional, baseado no controle das interações interpartículas. Para isso, NP de HDL de ZnAl e NP de magnetita (Fe_3O_4) foram sintetizadas e utilizadas como blocos de construção coloidal para a automontagem de um nanocarreador magnético multifuncional, via eletrostática. Um fármaco modelo, diclofenaco de sódio, foi intercalado nos espaços interlamelares dos HDL, para estudar o efeito do calor gerado na HFM como um estímulo para acionar a liberação da droga. Por fim, simulações numéricas de elementos finitos foram empregadas para analisar a transferência de calor em um tecido tumoral localizado na glândula mamária, com análise de dano térmico simultâneo, para avaliar a multifuncionalidade da estrutura automontada no campo da terapia anticâncer do HFM.

1.1. Motivação Científica

As estratégias empregadas na automontagem utilizando NP de HDL e de óxidos de ferro (aqui, NP de Fe_3O_4) como bloco de construção, utilizam-se de suas cargas superficiais para desencadear a agregação [11]. Como resultado, heteroagregados irreversíveis e de morfologia complexas geralmente são produzidos. Embora o processo agregativo seja bastante caótico nestes casos, inúmeras propriedades e funcionalidades biomédicas podem ser conferidas aos HDL utilizando este conceito [22].

Do ponto de vista fundamental e prático, é de grande interesse estudar os mecanismos envolvidos durante a automontagem eletrostática dessas estruturas, e há uma razão importante para isso: as forças de interação eletrostática são filtradas em solução e o seu campo de ação depende fortemente das condições do meio (pH, força iônica e temperatura). Isso implica que, os estados de agregação e propriedades finais das estruturas montadas, dependerá das condições do meio em que ocorre a heteroagregação [23].

A agregação controlada requer interações interpartículas balanceadas, o que não é uma tarefa fácil. Parar a agregação durante a automontagem também é outro desafio [23]. Se por um lado a redução na estabilidade coloidal é necessária para iniciar a agregação, a falta dela também pode levar a separação de fase macroscópica, devido a incompatibilidade de densidades e a sedimentação dos agregados automontados [23]. Agregados grandes (ou aglomerados) de partículas normalmente são indesejados para aplicações biomédicas. Uma análise detalhada deste processo requer que cálculos de energia de interação sejam feitos para quantificar e qualificar o impacto das forças de interação durante automontagem coloidal e fornecer previsões para a estabilidade coloidal das estruturas formadas. Estudos que investigam as questões mencionadas acima durante a automontagem agregativa utilizando NP de HDL e Fe_3O_4 não estão disponíveis.

1 Outro desafio importante abordado neste trabalho, é avaliar a eficiência das es-
2 truturas automontadas na terapia anticâncer do HFM. Estudos laboratoriais envolvendo
3 modelos animais, muitas vezes não estão disponíveis para a realização de testes *in*
4 *vivo* (envolvendo várias formulações e condições experimentais), além das análises
5 necessárias para avaliar a eficiência do uso das NP na terapia do HFM. Para HFM,
6 além do pré-requisito da estabilidade coloidal das NP empregadas, inclui-se a transfe-
7 rência de calor gerado para o tecido tumoral e a análise do dano térmico em função do
8 tempo de exposição. Simulações numéricas são uma alternativa para os testes iniciais
9 em modelos animais, nas quais a eficiência das NP na terapia do HFM pode ser predi-
10 tas com sucesso, além de auxiliar no *design* experimental para testes posteriores em
11 animais e/ou clínicos [24]. Além disso, simulações de transferência de calor com análi-
12 se de dano térmico do tecido tumoral simultâneas, demonstraram ser uma ferramenta
13 poderosa [24,25]. A eficiência das estruturas automontadas a base de HDL e Fe₃O₄
14 para o uso na HFM com base em simulações numéricas também é um tópico abordado
15 neste trabalho.

2. Objetivos

Os objetivos do presente trabalho são:

- Sintetizar NP de HDL de ZnAl por uma rota sol-gel modificada e NP de Fe_3O_4 pelo método de co-precipitação, e utilizá-las como blocos de construção para a automontagem coloidal de um nanocarreador magnético;
- Avaliar as propriedades estruturais, morfológicas e coloidais das amostras sintetizadas e da estrutura automontada por diferentes técnicas de caracterização;
- Investigar a multifuncionalidade do nanocarreador de HDL- Fe_3O_4 automontado no campo da HFM, incluído estímulo externo para a liberação de uma droga modelo (diclofenaco de sódio) e simulações numéricas para mostrar a viabilidade do nanocarreador magnético na terapia anticâncer do HFM.

3. Revisão Bibliográfica

Este capítulo apresenta uma breve introdução sobre as questões fundamentais envolvendo as estruturas, propriedades, sínteses e aplicações das NP de HDL e Fe_3O_4 empregadas neste trabalho. Além disso, as forças de interação envolvidas no processo de automontagem coloidal e na estabilidade coloidal do nanocarreador magnético multifuncional também são revisadas. A sessão 3.1 apresenta os aspectos gerais envolvendo os materiais a base de HDL e a sua aplicação como nanocarreador de droga e para aplicações teranósticas. A sessão 3.2 apresenta os aspectos gerais envolvendo as NP de óxido de ferro, em especial, as NP de Fe_3O_4 . Os conceitos gerais do magnetismo são revisados e usados como base para a descrição da física da relaxação magnética e da aplicação das NP de Fe_3O_4 na terapia anticâncer do HFM. A sessão 3.3 apresenta uma visão geral sobre forças de interação interpartícula e estabilidade coloidal envolvidas na automontagem e aplicação do nanocarreador magnético a base de NP de HDL e Fe_3O_4 .

3.1. Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL)

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) são uma classe de materiais naturais e sintéticos descobertos há mais de 150 anos. O primeiro material descoberto foi a hidrotalcita, que posteriormente deu seu nome aos grandes grupos minerais HDL de ocorrência natural [26]. Vários termos são utilizados na literatura para se referir a estes materiais, tais como compostos do tipo hidrotalcita, hidróxidos metálicos mistos, sais duplos lamelares, entre outros.

A hidrotalcita foi descoberta em 1842 na Suécia, e a sua fórmula exata, $[\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, foi publicada pela primeira vez apenas em 1914 por Manasse [27]. O interesse pela química do HDL aumentou em 1942, após Feitknecht demonstrar a possibilidade de sintetizar uma série de HDL com diferentes composições, sobre as quais ele chamou de doppelschichtstrukturen (estruturas de folhas duplas) [28]. A esses materiais, foi atribuído uma estrutura composta por camadas de um hidróxido me-

tálico intercalada por uma camada do segundo hidróxido metálico. No entanto, essa estrutura foi refutada por Allmann e Taylor na década de 60, que descobriram empregando a técnica de difração de raios-X de monocristal que ambos os cátions estavam na mesma camada [29,30]. A partir disso, houve um crescente interesse da comunidade científica nas pesquisas e aplicações desses materiais.

3.1.1. Estrutura, Composição e Propriedades dos HDL

Os HDL são compostos por camadas do tipo “brucita” carregadas positivamente, com uma região interlamelar contendo ânions intercambiáveis de compensação de carga [31]. A estrutura formada pelo empilhamento de camadas carregadas positivamente e com ânions ocupando o domínio interlamelar, é comum a todos os HDL [31]. A **figura 1** mostra a estrutura representativa de um HDL.

Os HDL são descritos pela fórmula geral $[M^{2+}_{(1-x)}M^{3+}_x(OH)_2]_{\text{lamelar}} [A^{n-}_{x/n} \cdot zH_2O]_{\text{interlamelar}}$, em que M^{2+} e M^{3+} representam os cátions metálicos das camadas, e A^{n-} representa os ânions intercalados, com carga n^- . A carga residual positiva surge da substituição isomórfica parcial dos cátions bivalentes M^{2+} pelos trivalentes M^{3+} . Na literatura, formas abreviativas como $M^{2+}M^{3+}$ -HDL, seguido do anión intercalado, são comumente utilizadas para descrever um HDL [31].

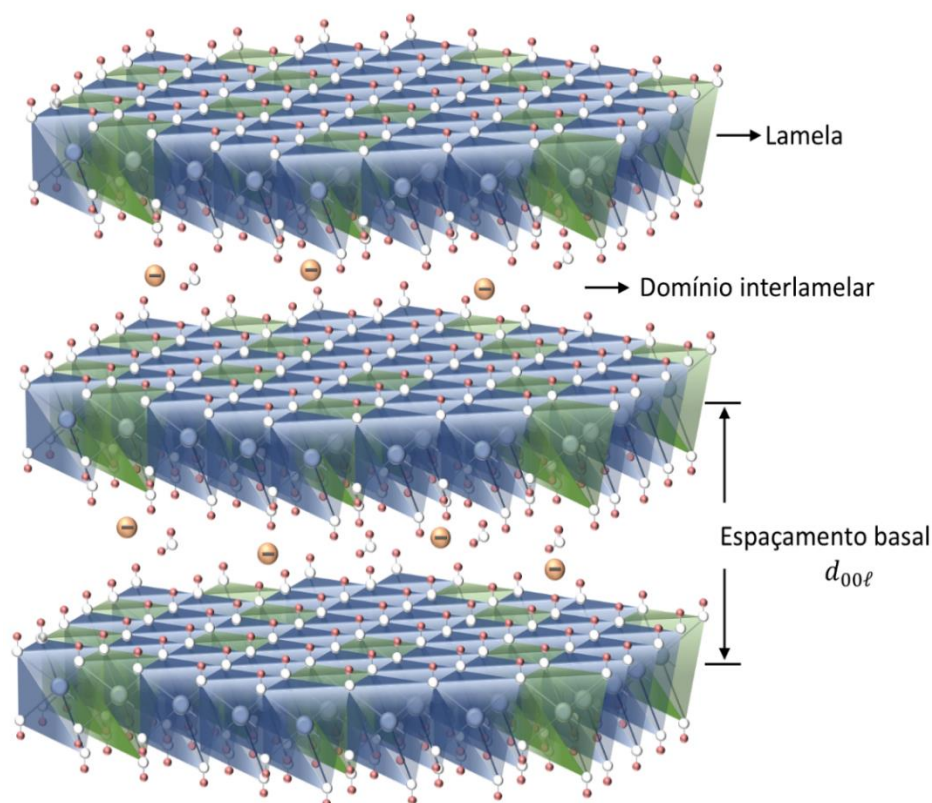


Figura 1. Estrutura representativa de um HDL. Fonte: o autor.

O termo “duplo” em um hidróxido duplo lamelar não se refere apenas aos dois cátions metálicos, mas também à presença de cátions metálicos de diferentes valências na mesma lamela [31]. Os cátions mais comuns são divalentes e trivalentes, embora outras combinações também sejam possíveis (**Tabela 1**).

A razão entre os cátions $M^{2+}:M^{3+}$ é um parâmetro que influencia as propriedades dos HDL, alterando a densidade de carga, a sequência de empilhamento, bem como a quantidade de ânions que serão intercalados [32]. Em geral, a fase pura do HDL é obtida dentro do intervalo da razão $M^{2+}:M^{3+}$ de 1 a 6. A síntese de HDL com razões maiores do que 6, resultam na formação da fase do hidróxido simples do metal divalente, enquanto razões menores do que 1, tende a formar fases como a do hidróxido simples do metal trivalente.

Os cátions metálicos formadores da estrutura devem apresentar (em geral) coordenação octaédrica, o que implica em um intervalo de raio iônico entre 0,50 a 0,74 Å [32]. Cátions menores geralmente apresentam coordenação tetraédrica, o que causa a desestabilização da estrutura [32].

Tabela 1. Combinações conhecidas de cátions para a formação de HDL. Fonte: adaptado de [33].

Cátions														M^{3+}					M^{4+}					M^{6+}
M^{2+}	Al	Fe	Cr	Ga	Co	Ln	Ni	Mn	La	V	Sb	Y	Sc	Ti	Ce	Zr	Sn	Mo						
Mg	○	○	○	○	○	○		○	○	○	○	○	○				○							
Ni	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○										
Zn	○	○	○	○	○	○	○		○					○	○		○							
Cu	○	○	○	○	○									○										
Co	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				○		○		○						
Mn	○	○	○	○				○																
Fe	○	○																‘						
Ca	○	○	○						○															
Cd	○																							
M^{+}																								
Li	○																							

O domínio interlamelar dos HDL é composto por aníons hidratados e moléculas de água, arranjados aleatoriamente e livres para se movimentar, quebrar suas ligações e formar novas [32]. O número, tamanho, carga, geometria e orientação dos aníons intercalados também modificam as propriedades estruturais dos HDL [26]. Por exemplo, o tamanho do espaçamento basal depende do tipo de anión intercalado (**Tabela 2**). Além disso, o tipo do anión controla a interação lamela/espécie intercalada, causando perturbações no ambiente químico, espacial e eletrônico do material [33].

1 **Tabela 2.** Valores de espaçamento basal para HDL do tipo MgAl. Fonte: adaptado de [34].

Ânion	OH ⁻	CO ₃ ²⁻	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	I ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	ClO ₄ ⁻
Espaçamento basal (nm)	0,755	0,765	0,766	0,786	0,795	0,816	0,879	0,858	0,920

2 De maneira geral, quanto maior a carga do ânion e a sua capacidade para formar
3 ligações de hidrogênio, maior será a sua facilidade de ser intercalado. Isso é o resulta-
4 do da forte interação eletrostática com a camada do hidróxido do metal. A afinidade do
5 HDL por diferentes ânions inorgânicos e, portanto, a facilidade de intercalação varia na
6 seguinte ordem [35]: CO₃²⁻ > SO₄²⁻ > OH⁻ > F⁻ > Cl⁻ > Br⁻ > NO₃⁻ >> I⁻.

7 As diferentes composições químicas possíveis para as estruturas dos HDL con-
8 cedem a eles várias propriedades ajustáveis e distintas, tais como: elevada capacidade
9 de troca aniônica, podendo variar de 2 a 4 mEq/g [33]. Basicidade superficial, podendo
10 formar óxidos mistos ainda mais básicos através da decomposição térmica; estes são
11 utilizados como catalisadores [36,37]. Eles apresentam o efeito memória, onde a estru-
12 tura dos HDL é recuperada quando os óxidos mistos são colocados em solução aquosa
13 [38]. Propriedades coloidal relevantes: isto é, a fácil dispersão em soluções aquosas
14 dos HDL, juntamente com a sua carga superficial relativamente alta, possibilita formar
15 dispersões estáveis por certos períodos de tempo [39,40].

16 **3.1.2. Síntese dos HDL**

17 Desde os primórdios da descoberta dos HDL, vários métodos de síntese foram
18 desenvolvidos. Estes podem ser divididos em duas rotas principais [31]: métodos dire-
19 tos, onde o HDL é obtido a partir de sais, óxidos e/ou alcóxidos, e métodos de síntese
20 indireta, onde um HDL tem seu ânion interlamelar substituído.

21 Os HDL são tipicamente sintetizados como cristais em pó *via* método direto de co-
22 precipitação (pH crescente, decrescente e constante) [10]. Neste método, os sais dos
23 cátions (M²⁺ e M³⁺) e os ânions a serem intercalados (Aⁿ⁻) são adicionados em uma so-

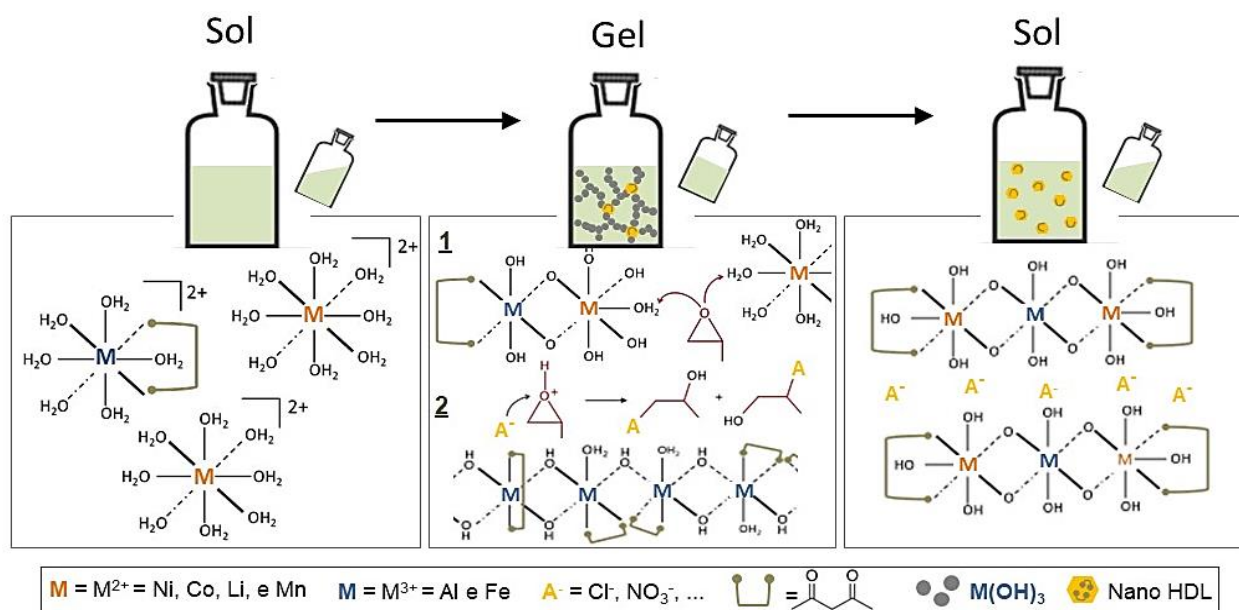
lução aquosa e mantidos a pH e temperatura constantes. Após a adição de um excesso de base, os HDL são prontamente formados através da co-precipitação dos hidróxidos dos cátions formados. Embora este método seja relativamente simples e forneça bom resultados de pureza de fase e cristalinidade, a obtenção de HDL na escala “nano” não é uma tarefa fácil [41].

Em princípio, a nanocristalização ocorre favoravelmente em supersaturação alta (isto é, altas concentrações dos precursores M^{2+} , M^{3+} e/ou OH^-), no entanto, é inevitavelmente acompanhada pela rápida agregação dos cristais embrionários. Desta forma, várias etapas específicas pós sínteses são utilizadas para diminuir o tamanho dos cristais e/ou das partículas formadas, como o processamento utilizando moinho coloidal seguido do tratamento hidrotérmico controlado e de fluxo contínuo [41]. No entanto, na maioria dos casos relatados até o presente momento, o diâmetro das partículas (e também dos cristalitos) nunca é inferior a algumas dezenas de nanômetros, e os HDL são obtidos na forma de aglomerados ou de suspensões altamente diluídas [41].

Recentemente, foi reportado uma síntese direta de NiAl-HDL intercalado com ânions Cl^- com um tamanho médio de partícula 7.8 nm (e tamanho de cristalito de 7.2 nm), obtidos na forma de uma suspensão aquosa altamente concentrada ($100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e estável coloidalmente por mais de 2 semanas [42]. Este, estão entre os menores tamanhos de partícula de HDL já reportados. Os nano HDL de NiAl são formados por um processo de gelificação-deflocuação espontânea induzido pela presença de um ligante bidentado acetilacetonato (acac). A **figura 2** resume este processo.

No estágio inicial da reação, os sais dos cátions metálicos são dissolvidos em uma mistura de água e etanol sob condição de alta supersaturação, seguido pela adição do acac e do óxido de propileno (PO). O PO funciona como um sequestrador de prótons da solução através da protonação do oxigênio epóxido e da subsequente reação irreversível de abertura do anel pelo ataque nucleofílico de bases conjugadas [43]. As reações de protonação e abertura de anel levam a um aumento gradativo do pH da

1 solução, favorecendo as reações de hidrólise e condensação do processo sol-gel. A
 2 presença do acac ligado aos cátions metálicos (principalmente ao M^{3+}) enfraquece a
 3 rede de gel formada, e devido ao caráter anfótero das espécies de oxihidróxido, a rede
 4 de gel é dissolvida em valores de pH mais elevados [41]. Nesta etapa, a formação dos
 5 nano HDL por co-precipitação é favorecida pelas condições de alta supersaturação, e a
 6 presença do acac ligada a superfície das partículas confere a elas uma elevada estabi-
 7 lidade coloidal.



8 **Figura 2.** Mecanismos de reação envolvidos na síntese dos Nano-HDL de NiAl intercalados
 9 com ânions Cl^- pela rota sol-gel-sol mediada por epóxidos. Os índices 1 e 2 representam as
 10 etapas responsáveis pelo aumento do pH do meio reacional. Fonte: o autor.

12 Este método de síntese provou formar blocos de construções coloidais ideais
 13 (suspensão altamente concentrada, estável coloidalmente e com carga superficial rela-
 14 tivamente alta, 32.5 mV) a base de HDL para a automontagem coloidal de várias estru-
 15 turas, incluindo filmes finos, estruturas macro e mesoporosas e catalisadores magnéti-
 16 cos [42]. Até o presente momento, foi reportado com sucesso a síntese de Nano-HDL
 17 utilizando esta rota com as seguintes combinações entre os pares metálicos: Ni-Al, Co-

Al e Ni-Fe [42,44,45]. Neste trabalho, foi empregado a presente rota sol-gel como método de síntese dos Nano-HDL de ZnAl.

3.1.3. Aplicações Biomédicas dos HDL

Historicamente, desde a década de 60, já se reconhece o uso dos HDL como um agente para o controle do ácido gástrico [46]. Posteriormente, com o advento da nanotecnologia, os HDL surgiram como uma plataforma bastante promissora para a entrega e liberação controlada de drogas [47]. Devido a biocompatibilidade de algumas composições químicas dos HDL e a sua capacidade em armazenar e trocar grandes quantidades de ânions, muitos medicamentos antidiabéticos, cardiovasculares, antibióticos, antioxidantes e anticâncer foram intercalados nos espaços interlamelares, buscando melhorar a farmacocinética e a biodistribuição destes medicamentos através da liberação sustentada [8,48–50].

A capacidade dos HDL de proteger os fármacos, evita a degradação físico-química das drogas, reduzindo os efeitos adversos causados pelas altas concentrações e frequências de dosagens. Ao mesmo tempo, os HDL possuem uma boa biocompatibilidade com as células e tecidos do corpo humano. Foi relatado que os HDL de MgAl e ZnAl são compatíveis com sistemas biológicos e podem ser usados para aplicações biomédicas sem grandes riscos [51]. Alguns estudos mostraram em modelos animais que, independentemente do tamanho das partículas (entre 50-200 nm avaliadas), estas composições de HDL não causaram nenhuma mortalidade ou perda de peso corporal para dosagens na faixa de 600-2000 mg·kg⁻¹ [52,53]. Os HDL também são propensos a se dissolver em ambientes ácidos, e estes podem ser utilizados como estímulos para liberar a droga armazenada [54–56]. Além disso, os subprodutos produzidos pela decomposição dos HDL (H₂O, Mg²⁺, Zn²⁺, Al³⁺) em ambientes fisiológicos, pode moderar a afinidade de acidificação das células, além de evitar os efeitos causados pelo acúmulo local das NP [47].

1 Aplicações teranósaticas também estão sendo exploradas para os HDL [8,57].
2 Nesta modalidade, os HDL podem ser utilizadas tanto para o diagnóstico como o tra-
3 tamento do câncer. Por exemplo, foi demonstrado que os MnFe-HDL quando expostos a
4 ambientes ácidos, dissolvem-se para liberar íons paramagnéticos de Mn^{2+} e Fe^{3+} , resul-
5 tando em um grande aumento do contraste de RM T_1 na área do tumor. Ao mesmo
6 tempo, a estrutura forneceu de maneira responsiva ao pH uma droga quimioterápica no
7 local do tumor alvo. Outras combinações, como Mn-Gd HDL também demonstraram
8 ser bastante promissoras para aplicações teranósticas [58]. Esta nova modalidade ex-
9 pande ainda mais o campo de atuação dos HDL em aplicações biomédicas [57].

10 **3.2. Nanopartículas (NP) de Óxido de Ferro**

11 De ocorrência natural e fáceis de serem sintetizadas em laboratório, as NP de
12 óxidos de ferro têm atraído um considerável interesse devido às suas propriedades su-
13 perparamagnéticas e suas potenciais aplicações biomédicas decorrentes de sua bio-
14 compatibilidade e não toxicidade. Esta incluem RM, nanocarreadores magnéticos,
15 HFM, imunoensaio, separação de células, entre outras [59,60].

16 Dentre os vários óxidos de ferro existentes, as fases magnetita (Fe_3O_4) e ma-
17 ghemita ($\gamma-Fe_2O_3$) são as mais comumente exploradas para aplicações biomédicas
18 [61]. Elas apresentam valores de magnetização de supersaturação (M_s) muito maiores
19 do que as outras fases de óxidos de ferro. Por exemplo, a hematita ($\alpha-Fe_2O_3$), outra
20 fase de óxido de ferro bastante conhecida, apresenta valores de M_s entre 2-4 $meu \cdot g^{-1}$,
21 enquanto as fases Fe_3O_4 e $\gamma-Fe_2O_3$ apresentam valores de 98 e 82 $meu \cdot g^{-1}$, respecti-
22 vamente [61]. Além disso, várias formulações contendo NP de Fe_3O_4 e $\gamma-Fe_2O_3$ já fo-
23 ram aprovadas pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA como terapia para
24 deficiência de ferro e como agentes de contraste para RM [61]. Neste trabalho, a fase
25 Fe_3O_4 das NP de óxido de ferro foi escolhida como bloco de construção para a auto-
26 montagem do nanocarreador magnético por apresentar os maiores valores de M_s .

3.2.1. Estrutura e Propriedades das NP de Magnetita (Fe_3O_4)

As NP de Fe_3O_4 difere de outras NP de óxidos de ferro por apresentarem ambos os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} em sua estrutura. As NP de Fe_3O_4 apresenta estrutura cúbica de espinélio inverso, compostas por camadas octaédricas e camadas tetraédricas e octaédricas alternadas empilhadas ao longo da direção $[111]$ [62]. A sua fórmula molecular é escrita como sendo $\{\text{Y}_n\}[\text{XY}]_n\text{O}_n$, onde $\text{X} = \text{Fe}^{2+}$, $\text{Y} = \text{Fe}^{3+}$, as chaves representam os sítios tetraédricos e os colchetes representam os sítios octaédricos. Em sua célula unitária, os sítios tetraédricos são ocupados por 8 íons Fe^{3+} cujo os vértices estão ocupados por átomos de oxigênio, enquanto os sítios octaédricos são ocupados por quantidades equivalentes de 8 átomos de Fe^{2+} e Fe^{3+} , além de átomos de oxigênio [62]. As **Figuras 3 (A) e (B)** representam a estrutura cristalina e a célula unitária das NP de Fe_3O_4 , respectivamente.

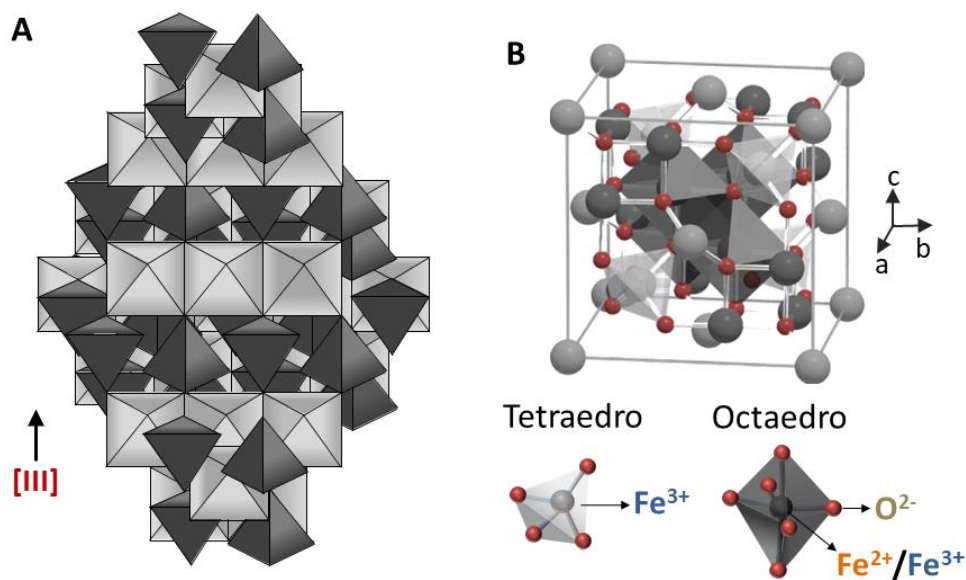


Figura 3. Estrutura das NP de Fe_3O_4 . (A) Modelo poliédrico com as camadas octaédricas e octaédricas/tetraédricas alternadas. (B) Representação esquemática da célula unitária. Fonte: o autor.

As NP de Fe_3O_4 apresentam um ordenamento de caráter ferrimagnético (ou superparamagnético dependendo do tamanho das NP) bem conhecidos [62]. O momento magnético líquido nas NP de Fe_3O_4 surge dos íons Fe^{2+} , já que os momentos magnéticos dos íons Fe^{3+} se cancelam uns com os outros. Isso ocorre porque os spins dos íons Fe^{3+} nos interstícios tetraédricos estão acoplados de forma antiparalela aos íons Fe^{3+} dos interstícios octaédricos, resultando em uma contribuição nula (interação antiferromagnética) [63]. Dentro da estrutura das NP de Fe_3O_4 , os momentos magnéticos estão contidos em regiões chamadas de domínios, onde o campo magnético é redirecionado para várias direções buscando minimizar a sua energia interna [64]. Para uma partícula com múltiplos domínios magnéticos, existem paredes de domínio único que os separam [64]. A formação dos domínios se origina da interação entre as energias de troca e a anisotropia que ocorre dentro de um cristal, conforme discutidos brevemente a seguir.

Do ponto de vista das ligações químicas, os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} não estão ligados diretamente entre si, mas a íons O^{2-} . Desta forma, as *interações de troca* (neste caso, também chamadas de *interações de super-troca*) só são possíveis por intermédio dos elétrons compartilhados pelos íons O^{2-} [63]. As interações de super-troca são necessárias para fazer com que os momentos magnéticos alinhados sejam energeticamente favoráveis, através da minimização da repulsão eletrostática entre os pares de elétrons (elas forçam os pares de elétrons a terem o mesmo número quântico de spin m_s , mas diferentes números quânticos magnéticos, m_l) [65]. Essas interações são de curto alcance, e a sua energia depende dos ângulos das ligações (**figura 4 A e B**). Por exemplo, a ligação $\text{B}_1\text{-O}_2\text{-B}_2$ ocorre a 90° , e a ligação $\text{B}_1\text{-O}_2\text{-A}_2$ ocorre a $125,7^\circ$. Esta última ligação produz a interação de troca negativa mais forte, e define o caráter ferrimagnético das NP de Fe_3O_4 . Por outro lado, as ligações $\text{B}_1\text{-O}_2\text{-B}_2$ a 90° , embora sejam negativas, elas são menos favoráveis para um acoplamento de super-troca [63].

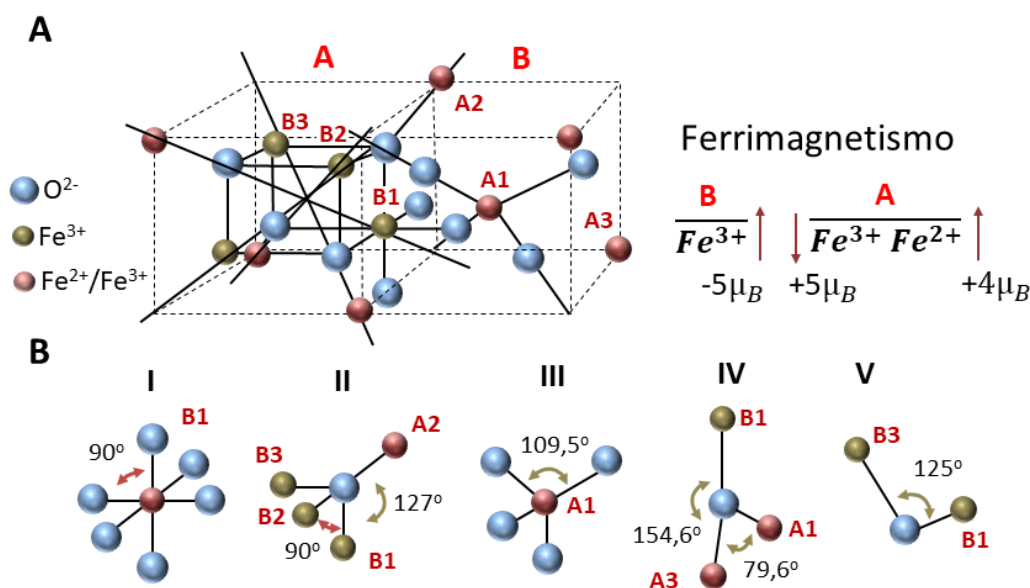


Figura 4. (A) Representação de $1/4$ da célula unitária das NP de Fe_3O_4 . (B) Ângulos das ligações para os pares específicos onde as interações de super troca acontecem em (A). Os ângulos a 90° desfavorecem o acoplamento de super troca. Em ordem decrescente de acoplamento de troca (mais fraca): A1-O2-A3 a $79,6^\circ$, A3-O2-B1 a $154,6^\circ$ e B1-O2-B3 a 125° , respectivamente. Fonte: adaptado de [63].

A anisotropia dentro dos ferrimagnetos, surge da interação spin-órbita, que acopla principalmente as órbitas eletrônicas à estrutura cristalográfica [64]. Ela também depende do desvio geométrico da simetria esférica e dos efeitos de inclinação dos spins (a soma total de cada contribuição é chamada de energia anisotrópica total) [64]. De maneira geral, a energia anisotrópica é muito menor do que a energia de troca [64]. No entanto, devido ao caráter isotrópico da energia de troca, é a energia anisotrópica total que determinar a direção de magnetização das NP de Fe_3O_4 em um domínio magnético [61].

As NP de Fe_3O_4 também apresentam um comportamento superparamagnético. Isto é, ao diminuir o tamanho das NP abaixo de um tamanho crítico (d_{cr}), a quantidade de energia necessária para produzir as paredes que separam os domínios múltiplos tornam-se maior do que a redução na energia magnetostática. Como consequência,

1 apenas a formação de domínios únicos é favorecida. Uma NP de domínio único consis-
2 te em vários milhares de spins atômicos e, portanto, pode ser vista como tendo um su-
3 permomento. Conforme mostrado na **figura 5 (A)**, o valor da coercividade (H_C , expres-
4 sa a intensidade do campo magnético aplicado (H) necessário para desmagnetizar o
5 ferrimagneto) diminui com a redução do tamanho das partículas. Isso é uma decorrên-
6 cia da dependência da energia anisotrópica magnética com o volume da partícula [60]
7 Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Physicochemical. Com uma redução
8 adicional do tamanho, o valor da energia anisotrópica diminui ainda mais e se torna
9 comparável ou até menor que a energia térmica ($\sim k_B T$). Como consequência, a barrei-
10 ra de energia anisotrópica para a reversão da magnetização passa a ser dominada pe-
11 la energia térmica [60]. Assim, o supermomento flutua termicamente da mesma forma
12 que os spins em um material paramagnético (mesmo em temperatura ambiente), o que
13 leva a uma magnetização líquida igual a zero mesmo na ausência de um campo H ;
14 esse fenômeno é chamado de superparamagnetismo. O supermagnetismo também
15 pode ser induzido pela temperatura; isto é, se a temperatura for alta o suficiente para
16 induzir flutuações térmicas do momento magnético das NP. Diminuindo a temperatura,
17 o superparamagnetismo é perdido, e o momento magnético induzido será bloqueado
18 [60].

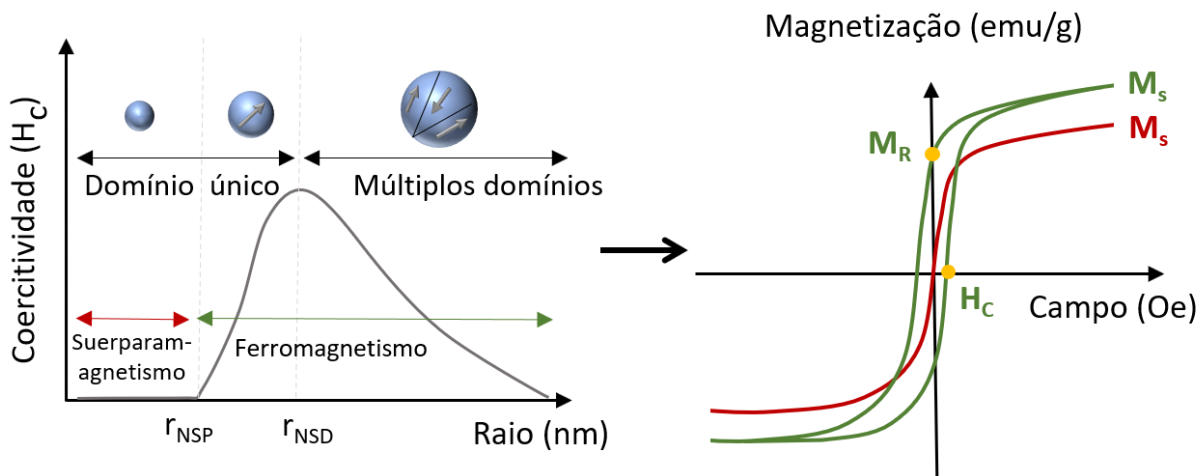


Figura 5. (A) Dependência da coercividade, H_c , com o tamanho da partícula (d_p). Existe um valor de tamanho crítico, d_{cr} , no qual apenas a formação de um único domínio magnético é energeticamente favorável. **(B)** Representação esquemática de curvas de magnetização para uma NP ferrimagnética (verde) e superparamagnética (vermelho).

Os diferentes momentos magnéticos possíveis apresentados pelas NP de Fe_3O_4 exibem diferentes respostas quando expostos a um campo $\mathbf{H}$. Uma curva típica, chamada de histerese, está representada na **figura 5 B**. A magnetização ($\mathbf{M}$) é plotada versus o campo $\mathbf{H}$ aplicado. Se $\mathbf{H}$ é suficientemente forte para alinhar todos os momentos magnéticos das NP, as partículas atingem um valor máximo de M_s . Quando $\mathbf{H}$ é reduzido a zero ($\mathbf{M}(\mathbf{H}) = 0$), uma magnetização remanescente (M_r) permanece dentro do material. Por outro lado, quando $\mathbf{H}$ é aplicado na direção oposta, um certo valor é necessário para fazer com que $\mathbf{M} = 0$; este valor é caracterizado por H_c . Diferentemente da sua contraparte ferrimagnética, as NP superparamagnéticas de Fe_3O_4 apresentam H_c e M_r igual a zero. Consequentemente, elas não respondem magneticamente na ausência de um campo $\mathbf{H}$. Particularmente, esta característica torna as NP de Fe_3O_4 especiais para a terapia anticâncer do HFM, uma vez que elas apenas responderão magneticamente na presença de um campo $\mathbf{H}$.

3.2.2. Física da Relaxação e Aquecimento de NP Magnéticas

Quando as NP de Fe_3O_4 são expostas a um campo magnético alternado (AMF, H_{ac}), elas começam a girar com o campo. Ao mesmo tempo, o seu momento magnético interno ($|m|$) rotaciona com uma certa probabilidade dependente do tempo (t). Este processo de rotação simultânea e inversão do momento magnético é chamado de *relaxação* (τ). Na prática, existem duas formas possíveis para a relaxação magnética em uma NP, sendo elas: *relaxação de Néel* (τ_N), que descreve a rotação interna do momento magnético enquanto a partícula permanece no estado estacionário, e a *relaxação Browniana* (τ_B), que descreve a rotação da partícula inteira em relação ao seu entorno. As equações 1-5 governam este processo [66]:

$$H_{ac}(t) = H_0 \cdot \cos(2\pi f \cdot t) \quad (1)$$

$$|m| = \mu_0 M_s V_m \quad (2)$$

$$\tau_N = \tau_0 \exp \frac{K_{ef} V}{k_B T} \quad (3)$$

$$\tau_B = \frac{3n}{2k_B T} V_H \quad (4)$$

$$\tau = \frac{\tau_N \tau_B}{\tau_N + \tau_B}, \quad (5)$$

onde H_0 descreve a amplitude do campo com frequência f ; μ_0 é a permeabilidade do espaço livre, $V_m = \frac{\pi}{6} d_M^3$; τ_0 é um período de tempo (característico do material) K_{ef} descreve a constante anisotrópica efetiva ($K_{ef} = K_B(\text{núcleo}) + \frac{6}{d} K_s(\text{superfície})$); n é a viscosidade do meio e V_H representa o volume hidrodinâmico da NP.

Ambos os processos de relaxação (τ_N e τ_B) requer energia magnética para alinhar o momento magnético paralelamente a direção do campo AMF. No entanto, durante este processo, é gerado uma quantidade de calor equivalente à energia magnética consumida por esse alinhamento. A capacidade das NP magnéticas em dissipar a

1 energia de um campo AMF é referida como potência de perda volumétrica (P) e/ou po-
2 tência de perda específica (SLP) [66]:

$$P = \pi \mu_0 f_0 H_0^2 \chi'' \equiv SLP = \frac{P}{\rho}, \quad (6)$$

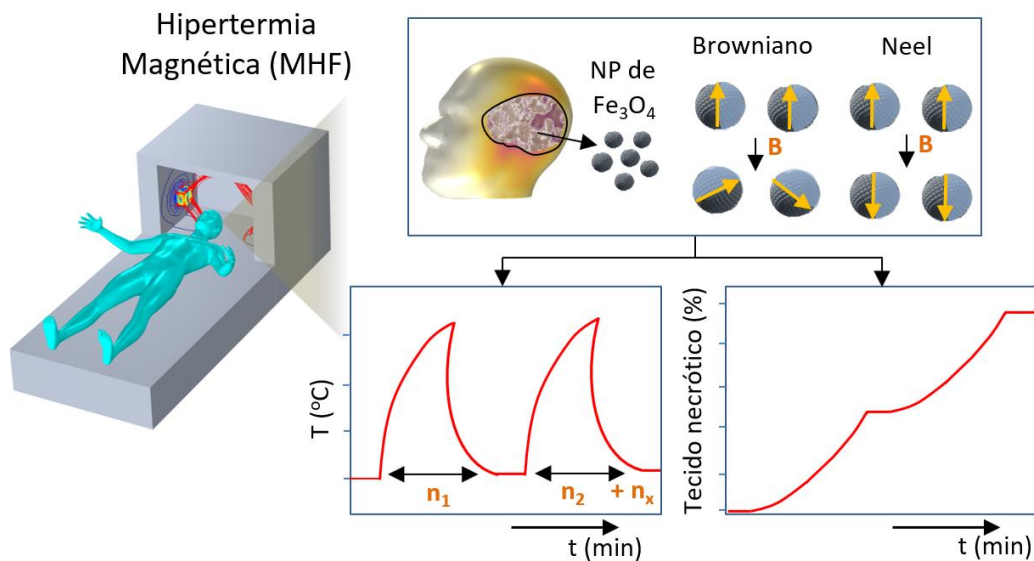
3 Onde χ'' é a suscetibilidade magnética da frequência do campo AMF e ρ a densidade
4 de massa do material (neste trabalho, a massa das NP de Fe_3O_4 na forma de ferroflui-
5 do).

6 **3.2.3. NP de Fe_3O_4 Aplicadas na Hipertermia do Fluido Magnético (HFM)**

7 A hipertermia do fluido magnético (HFM, ou hipertermia do campo magnético) é
8 uma terapia emergente, não invasiva, atualmente usada como terapia anticâncer [19].
9 Na HFM, as NP são acumuladas localmente por direcionamento magnético ou injeta-
10 das no tecido tumoral alvo e, posteriormente, aquecidas pela aplicação de um campo
11 AMF. O calor dissipado durante este processo (41-46 °C) é suficiente para alterar as
12 funções e estruturas de muitas enzimas e proteínas, levando a apoptose (morte celular
13 induzida) [19]. Além disso, os tecidos saudáveis geralmente são preservados durante
14 esse processo, uma vez que as células neoplásicas são mais sensíveis ao aumento da
15 temperatura. Assim, a HFM é uma alternativa à cirurgia aberta, irradiação de raios X e
16 a quimioterapia na terapia tumoral moderna [19]. A **figura 6** ilustra a aplicação clínica
17 das NP de Fe_3O_4 em um tratamento de HFM para um tumor localizado no cérebro.

18 Os materiais utilizados para a HFM precisam atender alguns requisitos, como: pro-
19 priedades magnéticas ajustáveis, estabilidade coloidal, baixa citotoxicidade, tempo de
20 circulação suficiente dentro do corpo durante o tratamento e, eventualmente, biodegra-
21 dabilidade [19]. Neste contexto, as NP de Fe_3O_4 com química de superfície adequada
22 se destacam [24,67]. Dentro da amplitude de campo, H_0 , e frequência, f , aplicada na
23 MHF ($H_0 < 25$ mT, $f < 1\,000$ kHz), as NP de Fe_3O_4 apresentam perfis de aquecimento
24 controlados.

1 É importante mencionar que existe um limiar seguro para os AMF tolerados dentro
2 do corpo. Segundo a *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*
3 (ICNIRP), o valor determinado é de $H_0 \cdot f < 8,0 \cdot 10^8 \text{ A} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ [68,69]. Além disso, na
4 HFM tanto a temperatura quanto o tempo de exposição do tecido alvo devem ser moni-
5 torados, uma vez que a interação entre eles determina a resposta celular. Por exemplo,
6 para $T > 43^\circ\text{C}$ e tempos de exposições curtos, as células neoplásicas remanescentes
7 tornam-se mais vulneráveis a aquecimentos posteriores (efeito de aquecimento abai-
8 xador) [70]. Por outro lado, para $T < 43^\circ\text{C}$ e o mesmo tempo de exposição, as células
9 neoplásicas remanescentes se tornam mais resistentes ao aquecimento posterior. Esse
10 comportamento também é observado para células neoplásicas aquecidas a $T > 43^\circ\text{C}$ e
11 depois incubadas a 37°C . Este efeito foi chamado de termotolerância [71]. Desta for-
12 ma, para favorecer o efeito de aquecimento abaixador e evitar o efeito da termotolerân-
13 cia durante a HFM, deve-se controlar tanto a temperatura quanto o tempo de exposi-
14 ção.



15
16 **Figura 6.** Representação da aplicação clínica das NP de Fe_3O_4 na HFM para um tumor locali-
17 zado no cérebro. Uma dispersão concentrada de NP é inserida localmente na região do tumor,
18 seguido da aplicação de um campo AMF. Devido aos processos de relaxação Browniana e de
19 Neel, as NP de Fe_3O_4 liberam calor durante vários ciclos de aquecimento. O aumento da tem-

1 peratura local durante este processo ($\sim 46^\circ\text{C}$), induz a necrose do tecido tumoral. Fonte: o au-
2 tor.

3 A maior promessa da HFM como terapia anticâncer está no aumento da eficácia
4 das terapias já existentes [72] . Por exemplo, foi demonstrado que a HFM combinada
5 com a terapia de irradiação, reduziu em mais de um terço a dose de radiação necessá-
6 ria para matar a mesma quantidade de células neoplásicas se utilizada apenas a dose
7 de radiação como terapia [73]. Além disso, também foi relatado que a eficácia de certas
8 drogas quimioterápicas melhorou significativamente quando administradas em conjunto
9 com o aquecimento local proporcionado pela HFM. A combinação do direcionamento
10 magnético de drogas ou de outras NP com propriedades de interesse juntamente com
11 a HFM, também tem sido utilizado como uma plataforma para o tratamento de câncer
12 totalmente nova. Esta modalidade de tratamento é abordada neste trabalho [74].

13 A vantagem potencialmente inovadora do aquecimento local restrito ao tecido tumo-
14 ral em HFM magneticamente direcionado também inclui o seu maior desafio para a tra-
15 dução clínica. Em uma análise abrangendo mais de 100 trabalhos, foi relatado que me-
16 nos de 1% das NP atinge de forma aguda o tumor desejado através do direcionamento
17 magnético [75]. Estes resultados acabaram gerando dúvidas sobre a eficácia da HFM
18 em concentrações baixas de NP distribuídas no tumor, conforme encontrado em tais
19 cenários de direcionamento magnético. Contudo, embora existam diversos desafios a
20 serem superados dentro destas novas modalidades, a HFM já atingiu os estágios I e II
21 de ensaios clínicos bem-sucedidos há mais de uma década, e o tratamento personali-
22 zado já está disponível, conforme oferecido pela empresa alemã MagForce AG.

23 **3.3. Automontagem, Interações Interpartículas e Estabilidade Coloidal**

24 Dependendo das propriedades ou aplicações desejadas, é interessante montar as
25 NP em agregados, clusters ou estruturas de ordem superior de maneira espontânea.
26 Isso requer modificar as interações interpartículas de forma controlada. A agregação
27 controlada é realizada através de um processo de duas etapas: a primeira envolve a

1 formação de dispersões estáveis coloidalmente dos blocos de construção, e em segui-
2 da, desencadear a agregação por meio de forças motrizes. Atrações físico-químicas
3 (como eletrostática e hibridização de DNA), entrópicas (como interações de depleção)
4 e ambientais (como campos elétricos externo, E) podem ser utilizadas como iniciadores
5 e/ou direcionadores para a agregação controlada (**Figura 7 A-D**).

6 As estratégias utilizadas para a automontagem de agregados e clusters difere das
7 empregadas para a construção de estruturas de ordem superior. Esta última, requer
8 blocos de construções coloidal com química de superfície altamente controlada, inclu-
9 indo direcionalidade, valência e ligação reversível [76]. Por outro lado, a montagem de
10 agregados e cluster a partir de um conjunto de NP requer, a princípio, apenas o contro-
11 le das etapas de agregação [23]. Isto é, uma vez que a agregação é iniciada, por que
12 ela pararia? Embora não seja uma tarefa fácil, existe algumas possibilidades para o
13 controle, como a adição de forças repulsivas eletrostáticas, eletroestéricas e estéricas
14 [23]. Limitar a atração também é uma alternativa [77].

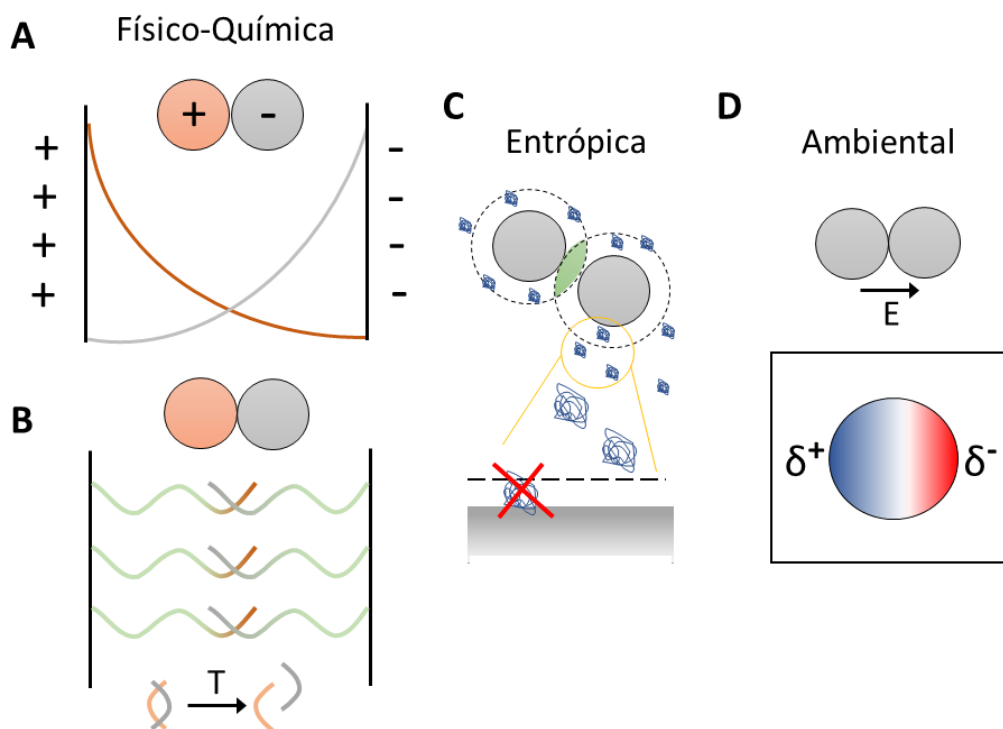
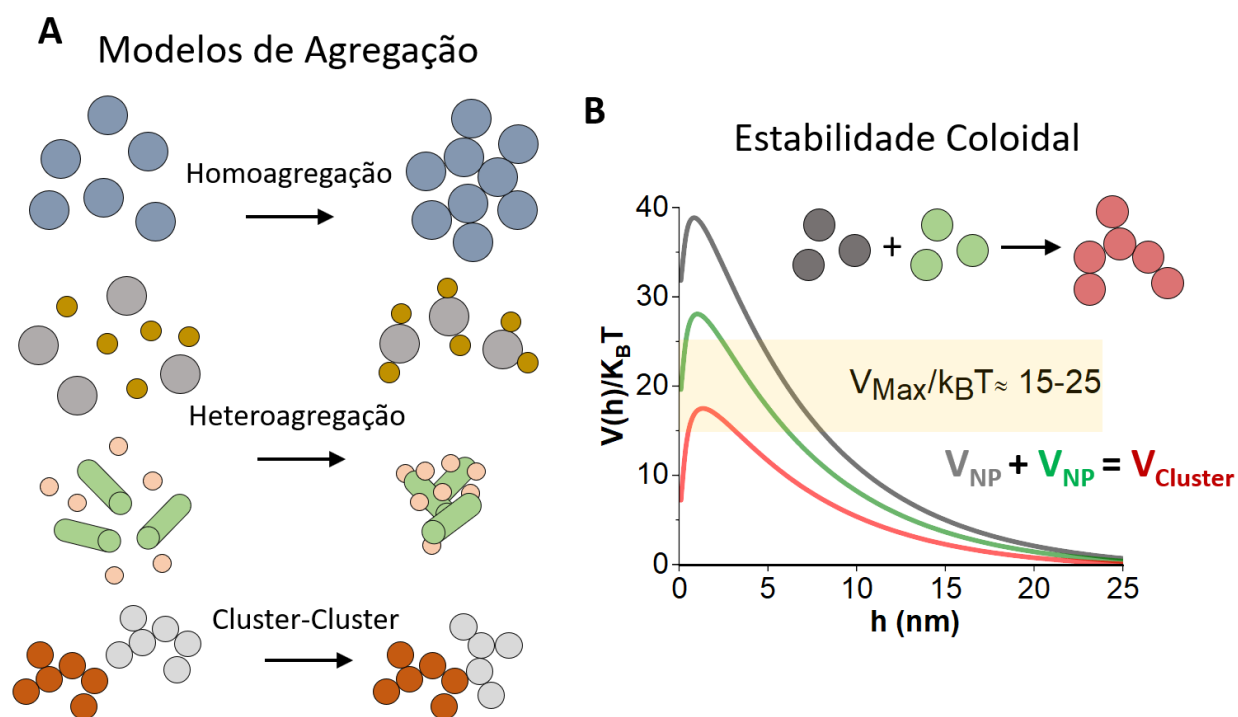


Figura 7. Forças motrizes atrativas para a automontagem coloidal. Interações físico-químicas: (A) Originada pela sobreposição entre as duplas camadas elétricas das NP com cargas opostas; (B) Direcionamento específico e sensível a temperatura fornecida por algumas moléculas, como DNA. Interações entrópicas: (C) Em suspensões concentradas, surgem zonas de exclusões específicas (mostrada em verde) devido as interações de depleção, possibilitando a montagem direcional das NP no volume livre. Interações ambientais (externas): (D) Campos externos, como campos elétricos E , induzem momentos de dipolo elétrico nas NP, promovendo a atração. Fonte: adaptado de [76].

A **figura 8 A** mostra os diferentes tipos de mecanismos agregativos que podem ocorrer durante a montagem de agregados e clusters. Estes incluem, homoagregação envolvendo NP monodispersa em forma e tamanho, heteroagregação envolvendo NP polidispersas em tamanho e/ou forma e agregação do tipo cluster-cluster, envolvendo pequenos agregados como blocos de construção coloidal. A **figura 8 B** descreve a montagem de um agregado envolvendo NP de cargas opostas com base em curvas de

1 energia de interação interpartícula. No estágio inicial, os blocos de construção apresen-
 2 tam uma barreira de energia suficientemente alta para evitar a homoagregação. A altu-
 3 ra máxima da barreira depende do equilíbrio entre as forças atrativas de Wan der
 4 Waals e as forças repulsivas eletrostáticas. Um valor entre 15-25 $k_B T$ de energia é sufi-
 5 cientemente alto para fornecer estabilidade eletrostática ao sistema [78]. Após a hete-
 6 roagregação, a estrutura final montada também apresenta uma barreira de energia alta
 7 o suficiente para conferir estabilidade coloidal para o sistema. Conceitos similares a
 8 este são amplamente utilizados para construir inúmeras estruturas inorgânicas multi-
 9 funcionais, e conferir a elas propriedades biomédicas ilimitadas [3,4].



11 **Figura 8.** (A) Modelos ilustrativos para a homoagregação, heteroagregação e agregação do
 12 tipo cluster-cluster controladas. (B) Curvas de energia de interação para as NP antes e após a
 13 automontagem agregativa de um cluster. A altura máxima da barreira de energia, V_{MAX} , é utili-
 14 zada como um critério para estabilidade coloidal. Fonte: o autor.

1 Conferir estabilidade coloidal para as estruturas automontadas é fundamental
2 para aplicações biomédicas. A estabilidade coloidal, ou a falta dela, determina a biodis-
3 tribuição *in vivo*, farmacocinética e a toxicidade sistêmica dos nanocarreadores [38].
4 Além disso, este é um dos critérios a ser cumprido pelas NP empregadas na HFM.
5 Compreender as interações que controlam e os parâmetros que a influenciam, é a cha-
6 ve para o desenvolvimento de terapias eficazes e seguras para uso clínico [38].

7 A estabilidade coloidal de NP é determinada por interações interpartículas resul-
8 tantes de forças intermoleculares e de superfície, bem como interações com compo-
9 nentes do sistema biológico (por exemplo, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios) [48].
10 Essas forças incluem atração de van der Waals, interações eletrostáticas, interações
11 estéricas e mediadas por polímeros e interações de solvatação (também chamadas
12 estruturais) [38]. A natureza dessas forças é de origem coloidal bem conhecida, e o
13 campo de ação é em torno de 1 a 100 nm [49]. O equilíbrio entre essas forças atuando
14 no sistema determina a estabilidade coloidal das estruturas automontadas.

4. Metodologia Experimental

Nesta seção, estão descritas as metodologias empregadas para sintetizar, caracterizar e aplicar as NP de ZnAl-HDL, Fe_3O_4 e a estrutura automontada de HDL- Fe_3O_4 . Os detalhes dos procedimentos, como análises de dados e simulações numéricas, estão descritas nos apêndices conforme indicado ao longo desta seção.

4.1. Materiais e Métodos

4.1.1. Síntese dos Nano ZnAl-HDL

Os nano ZnAl-HDL intercalados com aníons Cl^- foram sintetizados de acordo com o método proposto em [42,45]. Resumidamente, ZnCl_2 (0,340 g; 2,50 mmol) e $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,302 g; 1,25 mmol) foram dissolvidos em uma mistura de água ultrapura (1,00 mL; 55,6 mmol) e etanol (EtOH , 1,50 mL; 25,7 mmol), seguido da adição de acetilacetona (acac) (130 μL ; 1,25 mmol). Após agitação por 30 min em um recipiente fechado, à temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$), óxido de propileno (PO) (1,31 mL; 18,7 mmol) foi adicionado à mistura e agitado por mais 5 min para produzir uma solução. Em seguida, o recipiente foi selado e mantido à temperatura ambiente (**figura 9**). As razões molares entre as espécies no meio de reação foi de Zn^{2+} : Al^{3+} : acac: H_2O : etanol: PO = 2:1:1:44,5:20,6: 15,0. Sínteses adicionais, variando as condições de supersaturação, quantidades de acac e PO adicionadas também foram realizadas. Os detalhes estão descritos ao longo do texto.

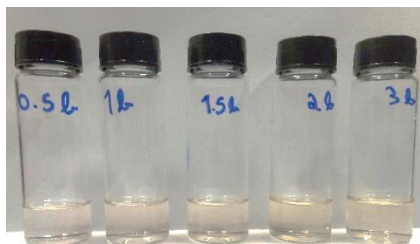


Figura 9. Sol obtido após 10 min da adição do PO. Os subscritos 0.5b-3b representam as variações da quantidade de acac adicionada. Fonte: o autor.

4.1.2. Intercalação do Fármaco Modelo

Para o processo de troca iônica, os Nano-HDL obtidos juntamente com o sal de diclofenaco de sódio (DS) foram submetidos a um processo de agitação constante por 7 dias a 45 °C, conforme descrito em [79]. O produto obtido foi lavado por uma mistura de água e etanol, e mantido suspenso em uma solução aquosa. A molécula do fármaco DS está representada na **figura 10**.

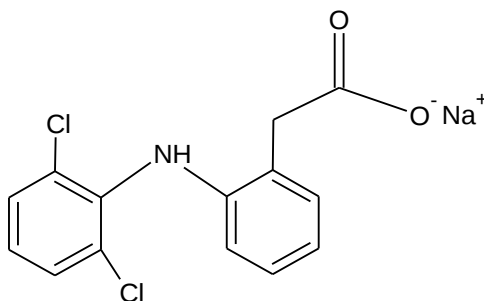
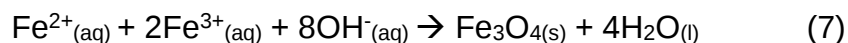


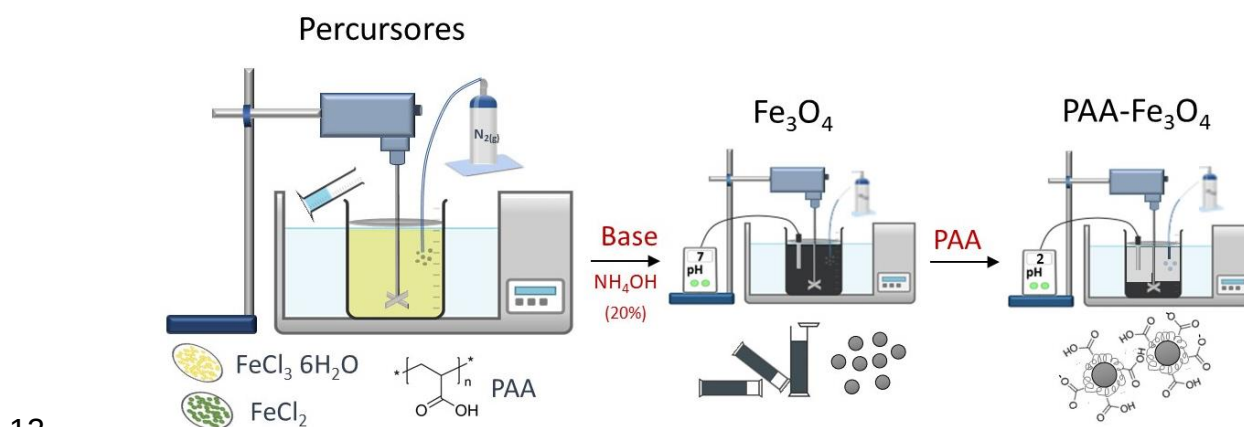
Figura 10. Molécula do sal de diclofenaco sódio (SSD). Fonte: o autor.

4.1.3. Síntese das NP de Fe₃O₄

As NP de Fe₃O₄ foram sintetizadas pelo método de co-precipitação de acordo com [80]. Resumidamente, FeCl₃ 6H₂O (5,44 g, 5 mmol) e FeCl₂ (2 g, 2,5 mmol) foram adicionados em 200 mL de água ultrapura desoxigenada em um recipiente de Teflon a 25 °C. A solução permaneceu sob agitação mecânica, banho ultrassônico e fluxo de N_{2(g)} constantes. Posteriormente, adicionou-se à solução 20 ml de NH₄OH 25% em peso. A coloração da solução mudou rapidamente de alaranjado para preto, de acordo com a reação de co-precipitação (7). A agitação e o banho ultrassom foram mantidos por 30 min após a adição da base. As NP de Fe₃O₄ obtidas, foram centrifugadas e lavadas 3 vezes com água ultrapura e purificadas por diálise. Finalmente, as NP de Fe₃O₄ foram dispersas em isopropanol e armazenadas a 5 °C para reduzir a oxidação.



1 A superfície das NP de Fe_3O_4 foram modificadas utilizando ácido poliacrílico
 2 (PAA, $60000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) a fim de controlar a agregação durante a automontagem e forne-
 3 cer a estabilidade coloidal eletroestérica para o sistema. O método de precipitação-
 4 redispersão descrito em [81] foi empregado. Resumidamente, um excesso de PAA foi
 5 adicionado na dispersão de NP de Fe_3O_4 após finalizar as etapas de co-precipitação. O
 6 pH do meio foi ajustado para 2, e a dispersão permaneceu sob agitação constante por
 7 10 min. Como produto desta etapa, NP floculadas de Fe_3O_4 revestidas com PAA foram
 8 obtidas. Por fim, as amostras foram dialisadas para remover o excesso de PAA, e as
 9 NP de PAA- Fe_3O_4 foram redispersas e armazenadas em pH 7. O esquema mostrado
 10 na **figura 11** resume as etapas de síntese para obtenção das NP de Fe_3O_4 e PAA-
 11 Fe_3O_4 .



13 **Figura 11.** Representação esquemática da configuração experimental utilizada para sintetizar
 14 as NP de Fe_3O_4 pura e revestidas com PAA.

15 4.1.4. Automontagem Coloidal do Nanocarreador Magnético

16 O nanocarreador magnético de HDL- Fe_3O_4 foi preparado a partir da mistura dire-
 17 ta dos blocos de construção sob condições variáveis de pH (4-10) e concentração de
 18 partícula ($0.1\text{-}14 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Durante o processo de agregação controlada, foi utilizado
 19 um agitador de tubo vórtex para manter o meio sob agitação constante por curtos perí-

odos (2-4 min). Nenhuma etapa adicional precisou ser utilizada. Os produtos foram armazenados suspensos em solução aquosa a 10 °C.

4.2. Caracterização das Amostras

4.2.1. Difração de raios-X (DRX)

A natureza cristalina dos nanomateriais sintetizados foi identificada por meio dos difratogramas de raios-X (DRX) em pó coletados em um equipamento D8 Advance ECO (Bruker), com radiação Cu K α_1 (λ = 0,154 nm, E = 8.047 keV). Os padrões de raios-X foram analisados a partir de dados cristalográficos presentes na literatura [38] por meio do método Rietveld utilizando o programa TOPAS 4.

4.2.2. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos em um equipamento Varian 7000 usando um módulo DRIFT. As amostras foram diluídas em brometo de potássio. As análises foram medidas coletando 128 varreduras para dados de acumulação e 4 cm⁻¹ de resolução na faixa de 4000-400 cm⁻¹.

4.2.3. Espectroscopia UV-Visível (Uv-Vis)

Os espectros de absorção do UV-vis das soluções do fármaco modelo DS, acac livre, complexos entre Zn²⁺(acac)₂ e Al³⁺(acac)₃ foram obtidos em um espectrômetro Cary 60 UV-vis, da Agilent Technologies, usando uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

4.2.4. Isotermas de Adsorção e Dessorção de N₂

A área de superfície específica das NP foi determinada por adsorção e dessorção de N_{2(g)} utilizando um analisador de isotermas ASAP 2010 (Micromeritics). A equa-

ção de Brunauer-Emmett-Teller (BET) foi usada para calcular o valor da superfície específica [82].

4.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

As características morfológicas e estruturais dos nanomateriais sintetizados foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão em varredura com detector de campo escuro anular em alto ângulo (do inglês, high-angle annular dark-field scanning transmission electron microscopy, HAADF-STEM) e difração de área selecionada (do inglês, selected area diffraction-SAED) usando um instrumento FEI Tecnai G2 F20. As amostras foram suspensas em uma solução aquosa, seguida de banho ultrassom por $t = 10$ min. Uma gota da suspensão foi colocada em uma grade de níquel revestida com filme de carbono. A distribuição dos tamanhos das NP foi determinada com auxílio do Software ImageJ [83]. Os dados obtidos foram ajustados por uma função log-normal, como se segue:

$$p(D, D_0, s_D) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} \beta_D(s_D) D} \exp\left(-\frac{\ln^2(D/D_0)}{2\beta_D(s_D)^2}\right) \quad (8)$$

Onde β_D está relacionado ao índice de polidispersão por $\beta_D(s) = \sqrt{\ln(1+s^2)}$.

4.2.6. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS)

Os estados de oxidação dos átomos de Fe e a energia de ligação química das NP de Fe_3O_4 foram estudadas por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (do inglês, X-ray photoelectron spectroscopy-XPS). Os espectros foram medidos a uma pressão $<10^{-7}$ Pa, usando um sistema UNI-SPECS UHV equipado com uma fonte de raios-X $\text{MgK}\alpha$ ($h\nu = 1253,6\text{eV}$). Os antecedentes inelásticos dos espectros em nível de núcleo de Fe 2p foram subtraídos usando o método de Shirley. Os espectros foram ajustados sem colocar restrições usando vários perfis do Voigt. A largura a meia altura (FWHM) variou entre 1,5 e 2,2 eV, e a precisão das posições dos picos foi de $\pm 0,1\text{eV}$.

4.2.7. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)

Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) foi usado para analisar a cinética de nucleação e crescimento dos Nano-HDL, bem como o comportamento das NP em solução aquosa. As medições foram realizadas usando um instrumento Nano-inXider (Xenocs) equipado com uma fonte de raios-X monocromática ($\text{Cu K}\alpha_1$, $\lambda = 0,154 \text{ nm}$), focado de forma pontual na superfície da amostra, e um detector Pilatus 300 K (Dectris) posicionado a uma distância de 938 mm da amostra. As medidas foram realizadas em tubos de vidro borossilicato (diâmetro externo 1 mm; espessura da parede 0,01 mm). Após a subtração do branco (soluções sem as NP), foram obtidos os perfis da intensidade de espalhamento ($I(q)$) em função do módulo do vetor de espalhamento, q . Os perfis experimentais SAXS foram ajustados usando códigos disponíveis no SasView e Irena [84,85]. Os modelos utilizados para fazer os ajustes estão descritos no Apêndice A.

4.2.8. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Medidas de espalhamento dinâmico de luz (do inglês, dynamic light scattering-DLS) foram realizadas usando um Goniômetro BI-200 SM (Brookhaven-EUA) equipado com uma fonte de luz de laser Ar^+ de $\lambda = 514,5 \text{ nm}$. As medidas foram realizadas para as dispersões de NP em diferentes condições de pH, força iônica e temperatura. Os dados foram coletados em um ângulo fixo de 90° em relação ao feixe incidente. A partir das funções de autocorrelação medidas, os coeficientes de difusão das NP foram determinados e utilizados para calcular o diâmetro hidrodinâmico (D_h) empregando a equação de Stokes-Einstein [86]. Para a obtenção da distribuição de tamanho hidrodinâmico das NP, foi empregado o método CONTIN [87].

4.2.9. Espalhamento Eletroforético de Luz (ELS)

Medidas de espalhamento eletroforético de luz (do inglês, electrophoretic light scattering, ELS) foram realizadas no equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern) equi-

pado com uma fonte de luz de laser NeHe de $\lambda = 632,8$ nm. A mobilidade eletroforética (μ_e) foi medida em diferentes condições de pH, força iônica e temperatura. A partir dos dados experimentais de μ_e , os valores do potencial zeta (potencial- ζ) foram determinados através de uma abordagem numérica descrita no Apêndice B.

4.3. Experimentos de Hipertermia do Fluido Magnético (HFM)

Os experimentos de HFM foram realizados em um equipamento DM 100 Series (nanoScale Biomagnetics), que permite a combinação de diferentes fatores de frequências (f) fixas (203, 208, 280, 420 kHz) e intensidades de campo (H) reguláveis (2,9-15,9 kA·m⁻¹). A **Figura 12 (A-D)** mostra o equipamento e as configurações experimentais utilizadas para realizar os experimentos.

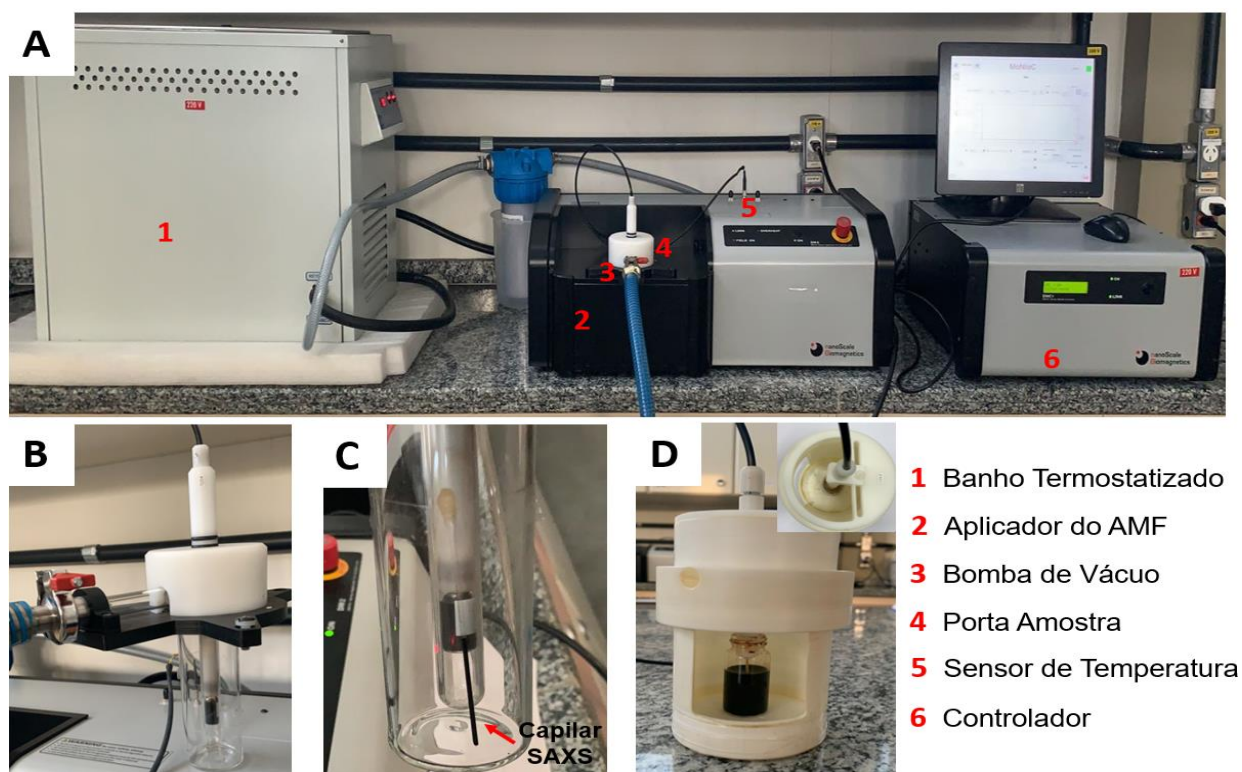


Figura 12 (A-D). Equipamento DM 100 Series (nanoScale Biomagnetics) e a configuração experimental utilizada para realizar os experimentos de HFM.

As medidas foram realizadas em triplicata, para suspensões de 1,3 mL com diferentes concentrações de partícula ($0,5\text{-}14,5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e combinações de $f \cdot H$ (180-420 kHz, $5,3\text{-}14\text{ kA}\cdot\text{m}^{-1}$). As dispersões de NP também foram colocadas dentro de tubos capilares para medidas de SAXS, a fim de verificar as possíveis mudanças nos estados de agregação durante os experimentos de HFM. A **figura 13** representa um experimento típico de HFM; o aumento de temperatura gerado por um AMF, em uma determinada frequência f .

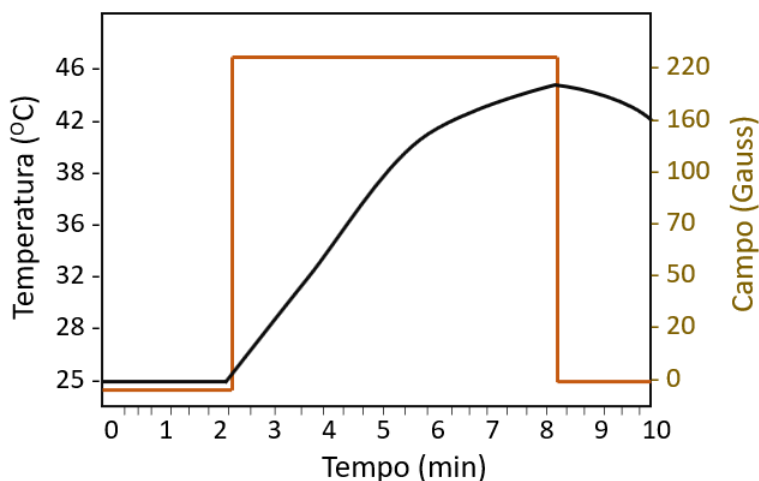


Figura 13. Curva de aquecimento típica gerada durante os experimentos de HFM. A curva em preto representa o aumento de temperatura e a linha em laranja escura representa o campo gerado por um determinado produto entre $f \cdot H$. Fonte: o autor.

Estudos de liberação *in vitro* do fármaco modelo DS (FM-DS) durante os experimentos de HFM foram realizados acompanhando a quantidade de FM-DS liberada a partir dos espectros de absorção no UV-vis de alíquotas coletadas em tempos determinados ($t_{\text{max}}=20\text{ min}$). Para este estudo, a configuração do porta amostra aberto foi empregado, e o volume da dispersão dos nanocarreadores magnéticos foi de 30 mL. Os valores máximos das absorbâncias em 275 nm em função da concentração foram usados para construir a curva analítica (**Figura 14 A e B**).

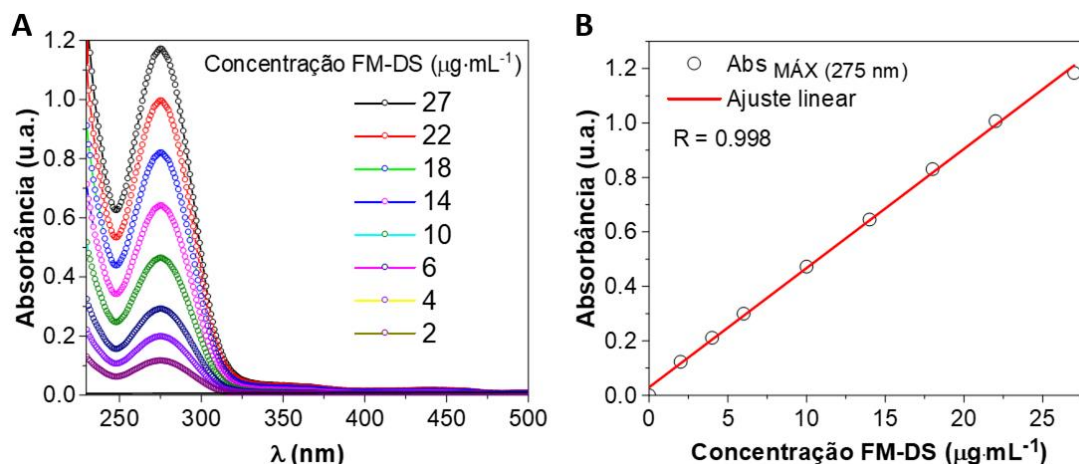


Figura 14. (A) Espectros na região do ultravioleta para a droga modelo diclofenaco de sódio (FM-DS) em diferentes concentrações e **(B)** curva analítica obtida. Fonte: o autor.

4.4. Cálculos Numéricos e Simulações de Elementos Finitos (FEM)

Cálculos numéricos foram empregados para estimar a energia de interação interpartícula (V_T) de acordo com a teoria clássica DLVO (Derjaguin and Landau, Verwey and Overbeek) e a teoria estendida XDLVO (O X apresenta qualquer termo de interação adicional não DLVO). [88–91]. Para as NP de HDL e Fe_3O_4 , V_T foi obtida somando as forças atrativas de Van der Waals (V_{vdW}) e as forças repulsivas eletrostáticas (V_{EDL}). Para as NP de PAA- Fe_3O_4 , a contribuição eletroestérica proporcionada pelas cadeias poliméricas do PAA, foram contabilizadas adicionando outros dois termos repulsivos: $V_{SO} + V_{SE}$. O primeiro, refere-se à contribuição osmótica e o segundo a contribuição elástica para a repulsão estérica proporcionada pelo PAA ligado as NP de Fe_3O_4 . Os detalhes dos procedimentos bem como as expressões analíticas utilizados para os cálculos estão descritos em detalhes no apêndice C.

Simulações numéricas 2D e 3D de elementos finitos (do inglês, finite element method, FEM) foram realizadas para (i) calcular o potencial zeta das NP a partir dos

1 dados experimentais de mobilidade μ_e ; (ii) modelar a dupla camada elétrica (distribui-
2 ção de íons e do potencial elétrico) em torno das NP e de seus agregados; (iii) simular
3 a transferência de calor com dano térmico acoplado para um tumor localizado na glân-
4 dula mamária a partir dos resultados experimentais de HFM. Os detalhes das simula-
5 ções, como as equações que governam cada problema, as respectivas condições de
6 contorno e os procedimentos envolvidos em cada etapa das simulações estão descritos
7 em detalhes nos apêndices B, C e D.

5. Resultados e Discussões

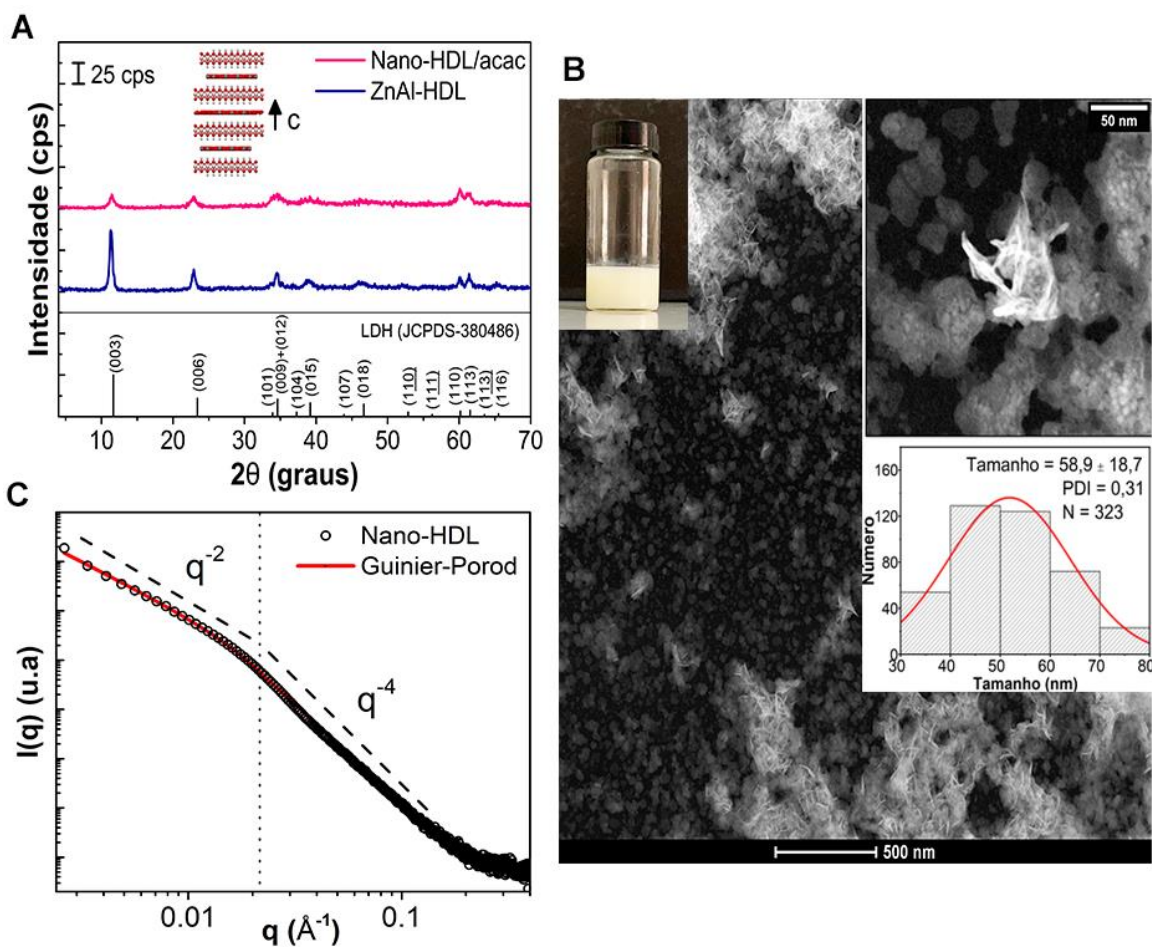
Nesta Sessão, são apresentadas e discutidas as sínteses e caracterizações dos Nano-HDL e das NP de Fe_3O_4 pura e modificada com PAA, além da automonategm do nanocarreador magnético de HDL- Fe_3O_4 e a aplicação no campo da terapia anticâncer do HFM. Ao longo do texto, várias figuras e tabelas estão direcionadas ao **Apêndice E** encontrado no final deste trabalho.

5.1. Caracterização Estrutural e Coloidal dos Nano-HDL

As caracterizações estruturais e morfológicas dos Nano-HDL sintetizados são apresentadas na **figura 15 A-C**. A **figura 15 A** mostra o padrão de DRX dos pós coletados da suspensão dos Nano-HDL, que é consistente com o difratograma esperado para HDL do tipo hidrotalcita com simetria romboédrica ($R3m$). O tamanho de cristalito estimado pela equação de Scherrer (a partir do pico d_{003}), foi de 7,3 nm para o Nano-HDL e 15,2 nm para o HDL sintetizado pelo método sol-gel clássico (sem a presença do acac). O menor tamanho de cristalitos dos Nano-LDH também foi confirmado pelos anéis claros e pouco intensos observados nos padrões SAED (**figura E1 A**). Os Nano-HDL apresentam um formato similar a discos ou plaquetas, com um tamanho médio de 58,9 nm (PDI = 0,31) (**figura 15 B**).

A análise de SAXS para a dispersão dos Nano-HDL, juntamente com o ajuste teórico baseado na equação de Guinier-Porod [92], estão mostrados na **figura 15 C**. O perfil de espalhamento SAXS apresenta duas contribuições distintas em altos e baixos valores de q . Para $q > 0,02 \text{ \AA}^{-1}$, o perfil SAXS apresenta uma inclinação da lei de potência de $I(q) \propto q^{-4}$, que é característico para o espalhamento de superfícies lisas de partículas isométricas. Para a região intermediária e baixa de q ($q < 0,02 \text{ \AA}^{-1}$), o perfil SAXS apresenta uma lei de potência de $I(q) \propto q^{-2}$, que é característica para o espalhamento de objetos bidimensionais, como plaquetas e discos. O ajuste teórico confirma estas observações. A variável de dimensão (s) fornecida pelo ajuste, com valor de

- 1 $s = 2$, é prevista para objetos 2D, e o ajuste também fornece um valor de raio de giro
- 2 (R_g) de 27,6 nm para os Nano-HDL formados.



- 3
- 4 **Figura 15.** (A) Difratoograma de raios-X obtidos para os pós dos Nano-HDL. (B) Micrográfias
- 5 obtidas por STEM dos Nano-HDL. A aparência da suspensão obtida esta inclusa na parte su-
- 6 perior esquerda da imagem, e a distribuição de tamanho de partícula obtida para os Nano-HDL
- 7 na parte inferior. (C) Perfil de espalhamento SAXS para a suspensão de Nano-HDL. O valor do
- 8 expoente α (indicado em $q^{-\alpha}$) é a inclinação da curva. Fonte: o autor.

9 O perfil da função de distribuição da distância dos pares no espaço real, $p(r)$,
 10 calculada usando o método de Moore [93], forneceu um valor de diâmetro máximo
 11 (D_{MAX}) de 66,4 nm para os Nano-HDL (**figura E1 B**), o que está em boa concordância

com os valores encontrados por STEM. O formato largo da função, deslocado para o lado esquerdo, é característico de superfícies planas, como plaquetas e discos (**figura E1 C**) [94]. A análise de DLS forneceu um valor de D_h de 232,2 nm (PDI= 0,23) (medida após a síntese, diluindo a amostra 30x), indicando a presença de pequenos agregados (**figura E1 D**). A concentração de partícula obtida na síntese dos Nano-HDL foi estimada em 63,5 g·L⁻¹. A suspensão permaneceu estável coloidalmente (sem ocorrer a separação de fase macroscópica) por mais de 5 dias no meio reacional, sem diluições adicionais. Este período é alto o suficiente para que os Nano-HDL de ZnAl possam ser utilizados como blocos de construções coloidais. O tempo de estabilidade coloidal pode ser aumentado significativamente (>3 semanas), através de diluições feitas com água (1-4 mL). Estes tempos de estabilização são muito maiores do que os encontrados para os HDL obtidos pelo método clássico de co-precipitação, onde eles agregam em suspensões relativamente diluídas e em pHs básicos [39,95]. O valor do potencial zeta obtido foi de 27,45 mV no pH do meio reacional (pH = 9,3). A área de superfície específica BET obtida foi de 121,4 m²·g⁻¹.

Os Nano-HDL são formados através de um processo espontâneo de gelificação-defloculação [42]. A **figura 16 A** mostra a evolução do meio reacional em função do tempo de reação após adição de PO ($t = 0$). A solução forma um gel após ~ 3 h de reação, e deflocula após ~72 h. O PO atua como um sequestrador de prótons da solução, através da protonação do oxigênio do epóxido e a subsequente reação de abertura do anel causado pelo ataque nucleofílico de bases conjugadas, ou íons Cl⁻ [43]. As reações de protonação e abertura do anel levam a um aumento do pH da solução (**figura 16 B**). Os valores do pH da solução aumentam rapidamente de 0,8 (em $t = 0$ min) para 4,6 (em $t = 1$ h). Após 6 h o pH aumenta para 5,5 e ocorre a formação de uma rede de gel compostos por Al(OH)₃. O subsequente aumento lento do pH da solução permite a cristalização gradativa do Nano-HDL por co-precipitação [42]. A dissolução da rede do gel formada é alcançada em pH 9,4.

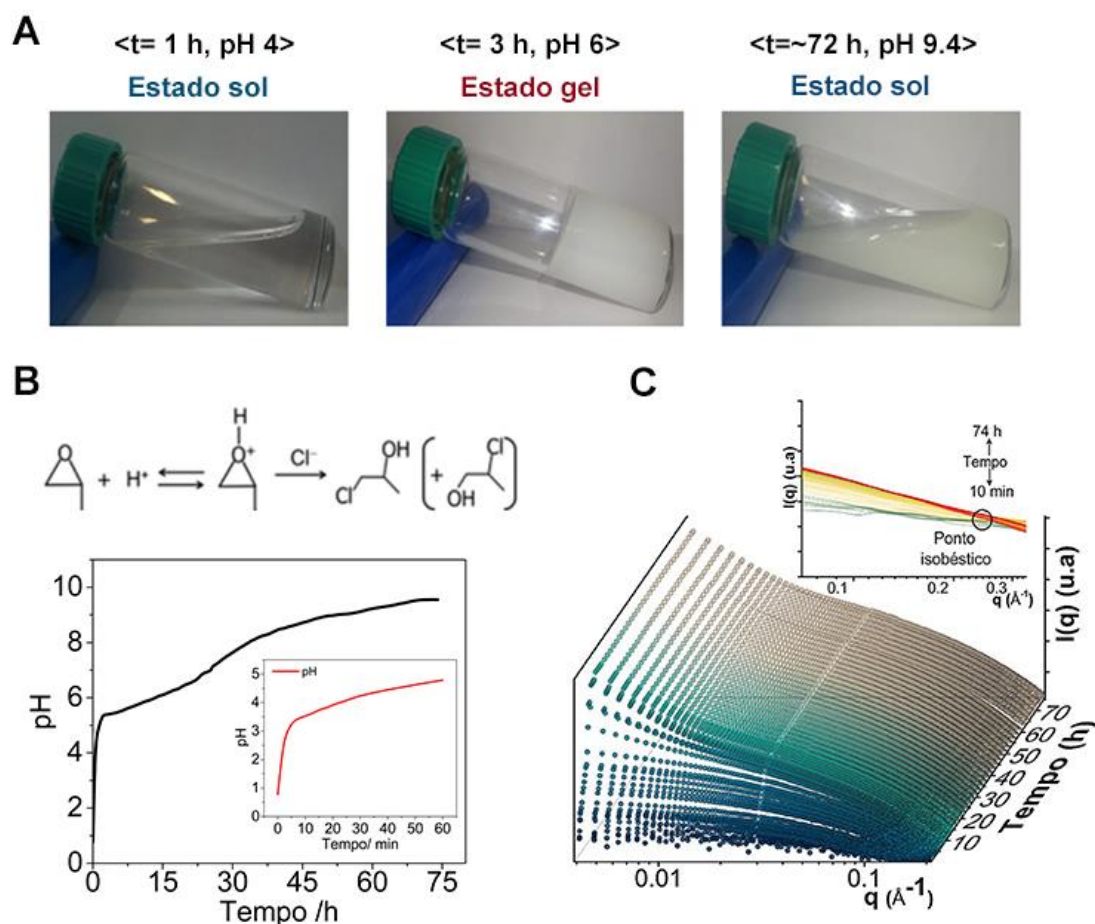


Figura 16. (A) Mudanças no meio reacional em função do tempo de reação. (B) Evolução do pH da solução após adição do PO. O gráfico inserido mostra o aumento do pH nos 60 minutos iniciais de reação. (C) Perfil de espalhamento SAXS em função do tempo de reação ($10 \text{ min} < t < 74 \text{ h}$); ponto isobéstico em $q = 0.249 \text{ \AA}^{-1}$. O gráfico inserido mostra a presença de um ponto isobéstico em $t = 10 \text{ h}$.

A **figura 16 C** mostra a evolução das curvas de SAXS em função do tempo de reação. O aumento da intensidade associada a $I_0(q)$ e o deslocamento do patamar para regiões de menores valores de q ($q < 0.02 \text{ \AA}^{-1}$) em função do tempo de reação, indicam o aumento do número, bem como dos tamanhos dos objetos espalhadores. Após 10 h de reação, as curvas de $I(q) \times q$ passam a exibir um ponto isobéstico em $q \approx 0.249 \text{ \AA}^{-1}$, no qual $I(q)$ passa a ser aproximadamente independente do tempo. A presença do pon-

to isobéptico caracteriza uma transformação em única etapa, indicando que o crescimento dos espalhadores ocorre pela adição das partículas primárias aos agregados [96,97]. Em adição, as lamelas dos Nano-HDL também crescem por um processo de dissolução-reprecipitação, conhecido com envelhecimento de Ostwald [97–99].

A **figura E2 (A e B)** mostra os padrões de DRX dos pós dos Nano-HDL coletados em função do tempo de reação e os valores de tamanho de cristalito correspondentes. Até 12 h de reação, os tamanhos dos cristalitos crescem significativamente. Para $t > 12$, um aumento lento, seguido de um patamar constante nos valores pode ser observado. Esses resultados estão em bom acordo com as etapas rápidas e lentas de crescimento e nucleação observadas por SAXS. Esse comportamento também foi observado para outros óxi-hidróxidos sintetizados empregando a rota sol-gel mediada por epóxidos [97,99].

A transição espontânea entre gelificação-defloculação somente foi observada na presença do acac [42]. Como mostra a **figura 17 A**, no estado inicial da reação, o acac está coordenado com as espécies Al^{3+} , para formar complexos $Al(acac)(OH)_2$. A quelação do acac com as espécies poliméricas de hidróxido de alumínio ($Al(OH)_3$) retardam as reações de hidrólise e condensação, formando uma rede de gel composta por $Al(acac)(OH)_2/HDL$. Devido à natureza anfotérica do alumínio, a rede menos ramificada de $Al(acac)(OH)_2$ dissolve-se em valores de pH mais alto, induzindo a defloculação e a recuperação do estado sol após 72 h.

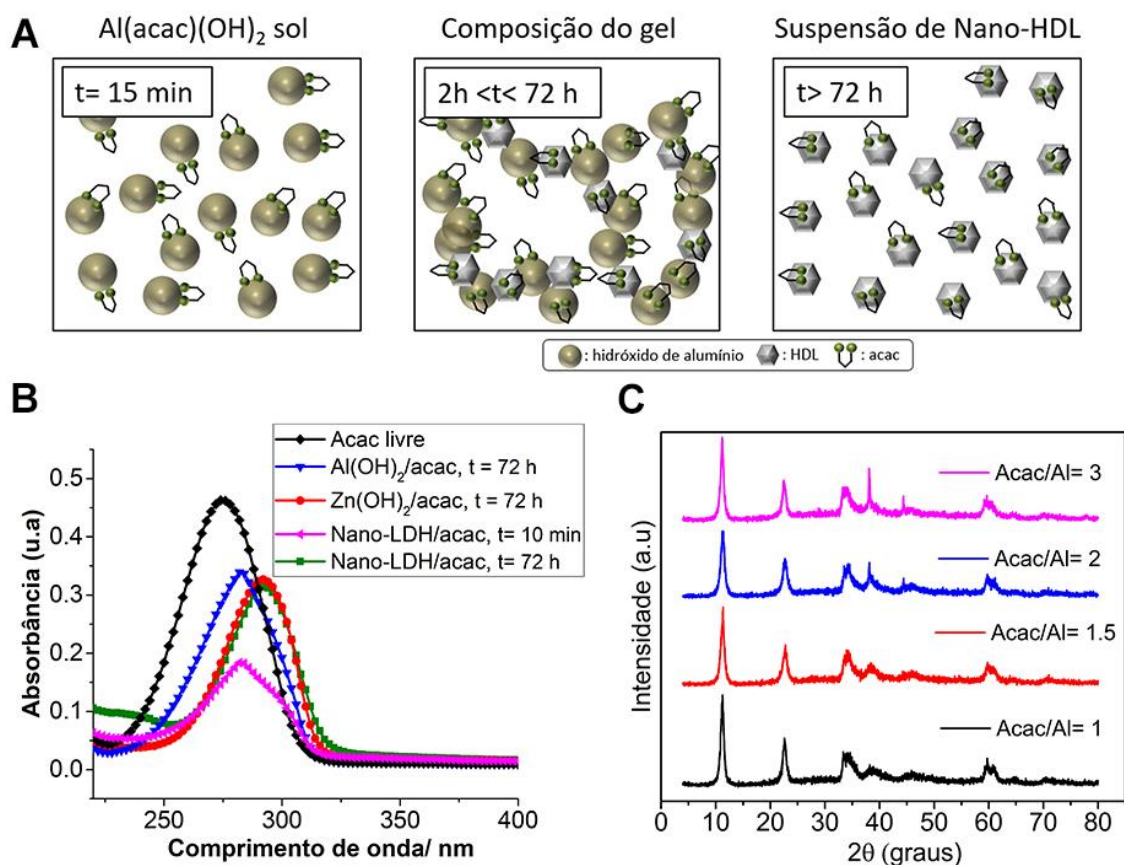


Figura 17. (A) Mecanismo proposto para a formação dos Nano-HDL. (B) Espectros de UV-vis do acac em soluções coexistentes com diferentes hidróxidos: Nano-HDL (Zn/Al = 2); Al(OH)₃/acac preparado sem ZnCl₂; Zn(OH)₂/acac preparado sem AlCl₃ 6H₂O; acac em água. (C) Padrões de DRX das amostras preparadas em diferentes razões de acac/Al.

A formação dos complexos de acac com os centros metálicos foi investigada por espectroscopia UV-vis. A **figura 17 B** mostra os espectros de Uv-vis do meio reacional antes e após a adição do PO. O acac em água ultrapura exibe um pico de absorção máxima em 274 nm. Após a quelação com diferentes centros metálicos, o pico passou para 283 nm para Al(OH)₃/acac e 291 nm para Zn(OH)₂/ acac. A solução de reação exibiu picos em 283 nm em $t = 10$ min (pH~ 3) e 291 nm em $t = 72$ h (pH~ 9,4), sugerindo a troca de coordenação do acac entre os centros metálicos. Como mostrado por [42], o acac coordena-se no centro do Al³⁺ na etapa inicial da reação. Após a deflocula-

ção, a coordenação muda para os sítios do Zn^{2+} no Nano-HDL. A formação do complexo alumínio-acac é favorecida em meios ácidos e neutros. No entanto, com o aumento do pH, a seletividade do Zn^{2+} para a formação do complexo com o acac aumenta [100]. Como resultado, a coordenação do acac muda do Al^{3+} para os átomos de Zn^{2+} localizados na superfície dos Nano-HDL, dando origem a uma suspensão de partículas mais estável coloidalmente.

A reação feita sem adição de acac é uma rota típica de gelificação que ocorre em condições de alta supersaturação [42]. O acac desempenha um papel fundamental no controle do crescimento e estabilização dos Nano-HDL. No entanto, a razão entre o acac e o íon do metálico é extremamente importante para a preparação dos Nano-HDL. Como mostrado na **figura 16 C**, a adição de acac acima da razão $\text{acac/Al} = 1,5$ (aqui, $\text{acac/Al} = 1$, 1,25 mmol de acac e 1,25 mmol de Al^{3+}), leva a formação de outras fases que não correspondem a estrutura do Nano-HDL. Além disso, o processo espontâneo de gelificação-deflocução não ocorre em razões acima de 1,5. Um sol instável é obtido como produto de reação após 72 h (**figura E3**). Por outro lado, a diminuição da razão acac/Al para valores menores do que 1 não induz a defloculação espontânea e um gel é obtido como produto de reação.

O efeito da quantidade de PO adicionada, razão entre os cátions $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ e temperatura de síntese também foi estudado. Os resultados encontrados para a variação da quantidade de PO estão representados na **figura E4 A-C** e **tabela E1**. Existe um valor mínimo de PO (em mmol), para a obtenção da fase pura HDL. Este valor foi encontrado e definido através da razão $\text{PO/Al} = 10$. Abaixo dele, as reações de abertura do anel e o subsequente aumento do pH da solução não são suficientemente fortes para levar a formação de um gel homogêneo. Da mesma forma, existe um valor máximo de PO cujo qual a adição não leva a um aumento progressivo do pH da solução e, portanto, não acelera o tempo da reação de formação dos Nano-HDL. O valor encontrado foi de $\text{PO/Al} = 20$. Quantidades de PO adicionadas acima desta razão influenciam apenas na supersaturação do meio. Ou seja, as alterações no tempo de defloculação

1 observadas são causadas pelo enfraquecimento do gel devido a expansão do volume
2 do meio de reação (por exemplo, PO/AL=10, 1,2 mL, Po/Al=30, 3.6 mL), e não por alte-
3 rações no pH.

4 Os Nano-HDL de ZnAl podem ser obtidos na forma de um sol coloidal entre as
5 razões $M^{2+}/M^{3+} = 1-2$. No entanto, a fase pura HDL (na forma de um gel homogêneo)
6 também são obtidas para os dois extremos da razão M^{2+}/M^{3+} (**Figura E5, tabela E1**).
7 Outro fator estudado foi o efeito da temperatura de reação. Para uma quantidade fixa
8 de PO e M^{2+}/M^{3+} , o aumento da temperatura acelera o tempo de defloculação do gel.
9 Para $T = 25, 35, 45, 55$ °C, os seguintes tempos de defloculação do gel foram encontra-
10 dos: 72, 53, 38 e 20 h, respectivamente. As etapas de hidrólise e condensação das
11 reações sol-gel, bem como o ataque nucleofílico são favorecidas em temperaturas mais
12 altas, acelerando o tempo de defloculação do gel [43]. A síntese dos Nano-HDL sob
13 temperatura de 25 °C foi mantida ao longo deste trabalho.

14 Em comparação com o trabalho original de Tokudomo et al [42], o sistema Zn-Al
15 sintetizado neste trabalho, requer uma dissolução mais extensa para que a deflocula-
16 ção ocorra. Como mostra a **figura E6**, o HDL de Ni-Al pode ser formado em valores
17 mais baixos de pH em comparação aos HDL de Zn-Al. Isso implica que a rede polimé-
18 rica de $Al(acac)(OH)_2$ /HDL formada no sistema Ni-Al, deve ser menos densamente ra-
19 mificada do que no sistema Zn-Al, devido a maior quantidade de HDL formada nos es-
20 tágios iniciais da reação. Além disso, o produto de solubilidade (Kps) para as espécies
21 $Ni(OH)_2$ são maiores em relação a $Zn(OH)_2$ (2×10^{-15} e 8×10^{-18} , respectivamente). As-
22 sim, um tempo menor de reação e, conseqüentemente, valores mais baixos de pH são
23 suficientes para promover a defloculação espontânea dos Nano-HDL de Ni-Al. A síntese
24 mais rápida dos Nano-HDL de Ni-Al em relação aos Nano-HDL de ZnAl resulta em
25 tempos de defloculação menores para o gel ($t = 12$ h a $T = 25$ °C), tamanhos de partí-
26 cula menores ($D_h \sim 7.8$ nm), valores de superfície específica maiores (~ 322 m²·g⁻¹) e
27 tempo de estabilidade coloidal maior no meio de reação ($t > 2$ semanas).

1 A formação de partículas menores pode explicar as diferenças dos tempos de
2 estabilidade coloidal e dos estados de agregação entre os sistemas. A **figura 18 A**
3 mostra o mapa de distribuição de carga para uma plaqueta de HDL em solventes com
4 diferentes constante dielétrica, ϵ_r . O meio de reação na qual ocorre a formação dos
5 NanoHDL tem uma ϵ_r menor do que a da água. Como consequência, as forças
6 repulsivas eletrostáticas são filtradas em meios menos polarizáveis na presença de
7 baixas concentrações de íons, diminuindo o seu campo de atuação [101]. Em soluções
8 de baixa ϵ_r , os íons podem “sentir” a presença de partículas carregadas a longas
9 distâncias de separação, e pequenas concentrações são suficientes para levar a
10 triagem eletrostática completa (isto é, o decaimento do potencial eletrostático em
11 função da distancia da superfície torna-se muito maior) [101]. Este efeito esta
12 evidenciado na **figura E7**. Em adição, as forças de interação são altamente
13 anisotrópicas para os HDL, e variam com a orientação da geometria (**figura 18 B**). É
14 neste ponto que os menores tamanhos de partícula dos Nano-HDL de NiAl, juntamente
15 com as moléculas do acac ligadas a superfície, desempenham um papel fundamental
16 para a estabilidade coloidal.

17 Conforme mostrado na **figura 18 C**, o campo de atuação das forças repulsivas
18 eletrostática para os Nano HDL de NiAl é muito maior do que o seu tamanho (a
19 magnitude e direção é indicada pelas setas vermelhas). Para os Nano-HDL de ZnAl, o
20 campo de ação é igual ou menor do que o tamanho das partículas formadas. Além
21 disso, a pequena molécula do acac (estimado em 0.6 nm) também passa a atuar como
22 um agente estabilizador estérico para o sistema NiAl, suprimindo as forças atrativas de
23 Van der Waals em curtas distâncias de separação partícula-partícula. A presença do
24 acac é fundamental para estabilizar coloidalmente o sistema, devido aos efeitos de
25 triagem eletrostática que pode ocorrer no meio de reação. Isto não ocorre de forma
26 efetiva para o sistema ZnAl, uma vez que as forças atrativas escalam com o tamanho
27 da partícula, suprimindo parcialmente a contribuição estérica fornecida pelo acac para
28 a estabilidade coloidal. Assim, os estados de agregação e/ou os valores de D_h dos
29 Nano HDL de ZnAl passam a depender das condições do meio de dispersão.

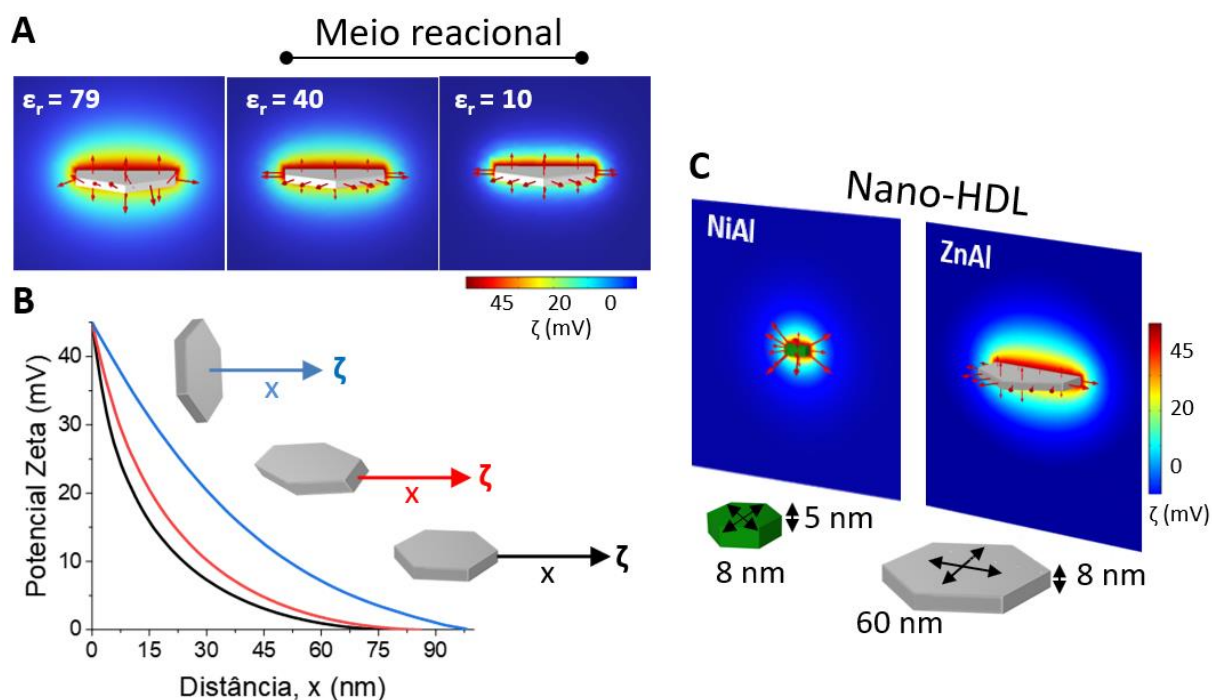


Figura 18. (A) Mapa do potencial eletrostático dos Nano-HDL em função da constante dielétrica, ϵ_r , do meio de reação. (B) Distribuição anisotrópica do potencial eletrostático em função da distância e orientação da superfície dos Nano-HDL. (C) Mapa do potencial elétrico em torno dos Nano-HDL de NiAl e ZnAl. Para os cálculos, o potencial elétrico, Φ_0 , foi assumido em termos de valores de potencial zeta, ζ , medido experimentalmente. As setas indicam a magnitude e direção do campo elétrico.

A **figura 19 A** mostra os valores de potencial zeta e do D_h obtidos para os Nano-HDL de ZnAl em função do pH. O potencial zeta positivo surge da substituição isomórfica dos cátions M^{2+} pelos M^{3+} nos HDL, e independe do pH do meio. A variação da magnitude dos valores em função do pH, surge da protonação e desprotonação dos ânions OH^- localizados nas bordas das camadas dos HDL, assim como ocorre nas argilas catiônicas [102]. Como consequência da variação da carga superficial, o estado de agregação dos Nano-HDL muda. A **figura 19 B** mostra o mapa da distribuição do potencial zeta em torno do agregado formado pelos Nano-HDL em pH 5. Por simplificação, discos foram utilizados no lugar de plaquetas. A distribuição de

carga em torno dos agregados é bastante anisotrópica, e difere das plaquetas\discos individuais. A consequência da anisotropia para as interações interpartículas são descritos em detalhes na próxima sessão. A **figura 19 C** mostra o cálculo de energia de interação entre os agregados formados pelos Nano-HDL em função do pH do meio. Para uma dispersão onde a frequência de colisão e, conseqüentemente, a taxa de agrupamento é governada pelo movimento browniano, uma barreira de energia entre 15-25 k_bT geralmente é suficiente para se opor à energia térmica da maioria das NP [78]. Estes resultam evidenciam que, embora os estados de agregação dos Nano-HDL de ZnAl sintetizados mudem em função do pH, a altura da barreira de energia é alta o suficiente para conferir boa estabilidade coloidal cinética para o sistema na faixa de 3-10 de pH.

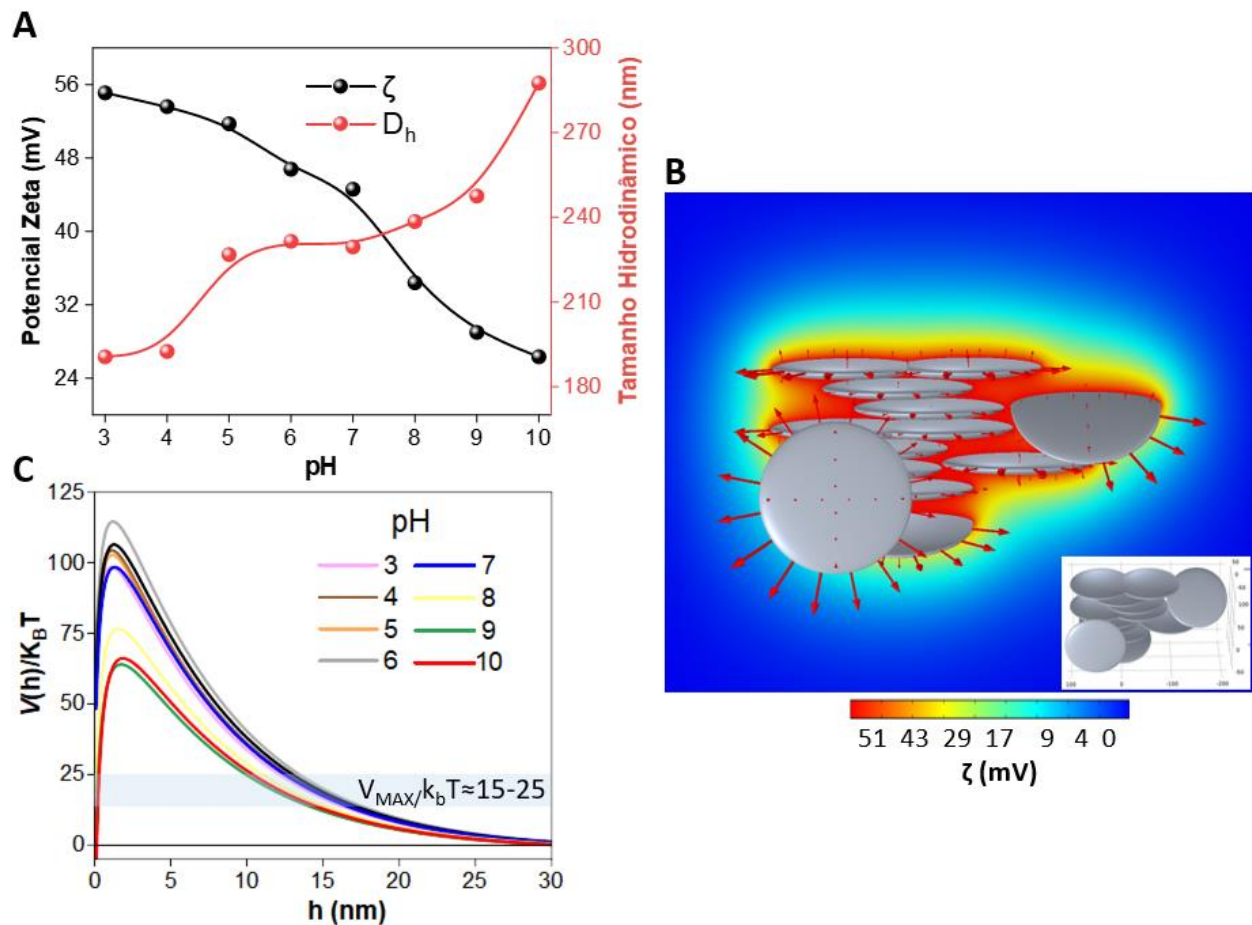


Figura 19. (A) Variação dos valores do potencial- ζ e do tamanho hidrodinâmico dos Nano-HDL em função do pH. (B) Mapa da distribuição do potencial eletrostático em torno do agregado formado pelos Nano-HDL em pH 5. A setas indicam a magnitude e direção do campo elétrico. A estrutura foi construída assumindo $D_h=232,4$ nm. (C) Energia de interação total calculada entre os agregados formados pelos Nano-HDL em função do pH.

5.2. Caracterização estrutural das NP de Fe₃O₄

A **figura 20 (A)** mostra o espectro de FTIR das NPs de Fe₃O₄ sintetizadas. A forte banda de absorção localizada próximo de 580-570 cm⁻¹ sugere que a fase formada das NP sintetizada é Fe₃O₄ [103]. A banda é atribuída ao modo de vibração e torção das ligações Fe-O. A larga banda (estiramento) de absorção entre 3600 e 3200 cm⁻¹ é atribuída às vibrações dos grupos OH das moléculas de água (fisicamente absorvida), enquanto a banda em 1621 cm⁻¹ está associada ao seu modo de deformação [103].

A **Figura 20 (B)** mostra os padrões de DRX dos pós das NP de Fe₃O₄. A posição das reflexões de DRX também confirma a formação da fase Fe₃O₄, validada pelo refinamento do grupo espacial Fd-3m através do método de Rietveld [104]. Todos os picos observados nos padrões de DRX podem ser indexados à estrutura cúbica de Fe₃O₄ (ICSD 26410). Nenhum outro pico de difração que não seja de Fe₃O₄ é observado. O tamanho do cristalito determinado no programa TOPAS 4, foi de 8,9 nm.

Os estados de valência do íon Fe foram investigados por XPS, como mostrado na **figura 20 (C)**. O Fe₃O₄ apresenta uma estrutura de espinélio inverso na qual os átomos de oxigênio formam uma rede cúbica de face centrada, com um terço dos cations Fe²⁺ ocupando posições octaédrica (1) e tetraédrica (2), e um terço dos átomos de Fe³⁺ nos sítios octaédricos (3) [105]. Assim, as diferentes coordenações e valências dos átomos de Fe resultam em diferentes deslocamentos químicos dos componentes espectrais correspondentes. Devido à abundância igual de cada ambiente químico, o espectro primitivo de Fe 2p_{3/2} de Fe₃O₄ foi ajustado com três componentes principais de mesma intensidades: sítios de Fe³⁺ em 709.5 eV, de Fe²⁺ em 710.5 eV e de Fe²⁺ em 711.3 eV [106]. Uma pequena contribuição de grupos hidróxidos de superfície (FeOOH) em 712.8 eV e um componente de agitação de Fe³⁺ são responsáveis pela cauda em alta energia. Além disso, a exposição da amostra à radiação acabou formando espécies reduzidas de ferro (FeOx), atribuídas a componente em 708.5 eV [107].

Imagens de HRTEM mostram que um espaçamento interplanar de 0,245 nm pode ser indexado ao plano 311 do Fe_3O_4 (**figura 20 D**). O padrão SAED registrado em uma única partícula (**figura 20 E**) mostra a presença de anéis de difração que podem ser atribuídos aos planos (111), (220), (311), (400), (422) e (511) da estrutura cúbica de espinélio inverso de Fe_3O_4 . Esses anéis de difração distintos também confirmam a natureza policristalina das NP de Fe_3O_4 .

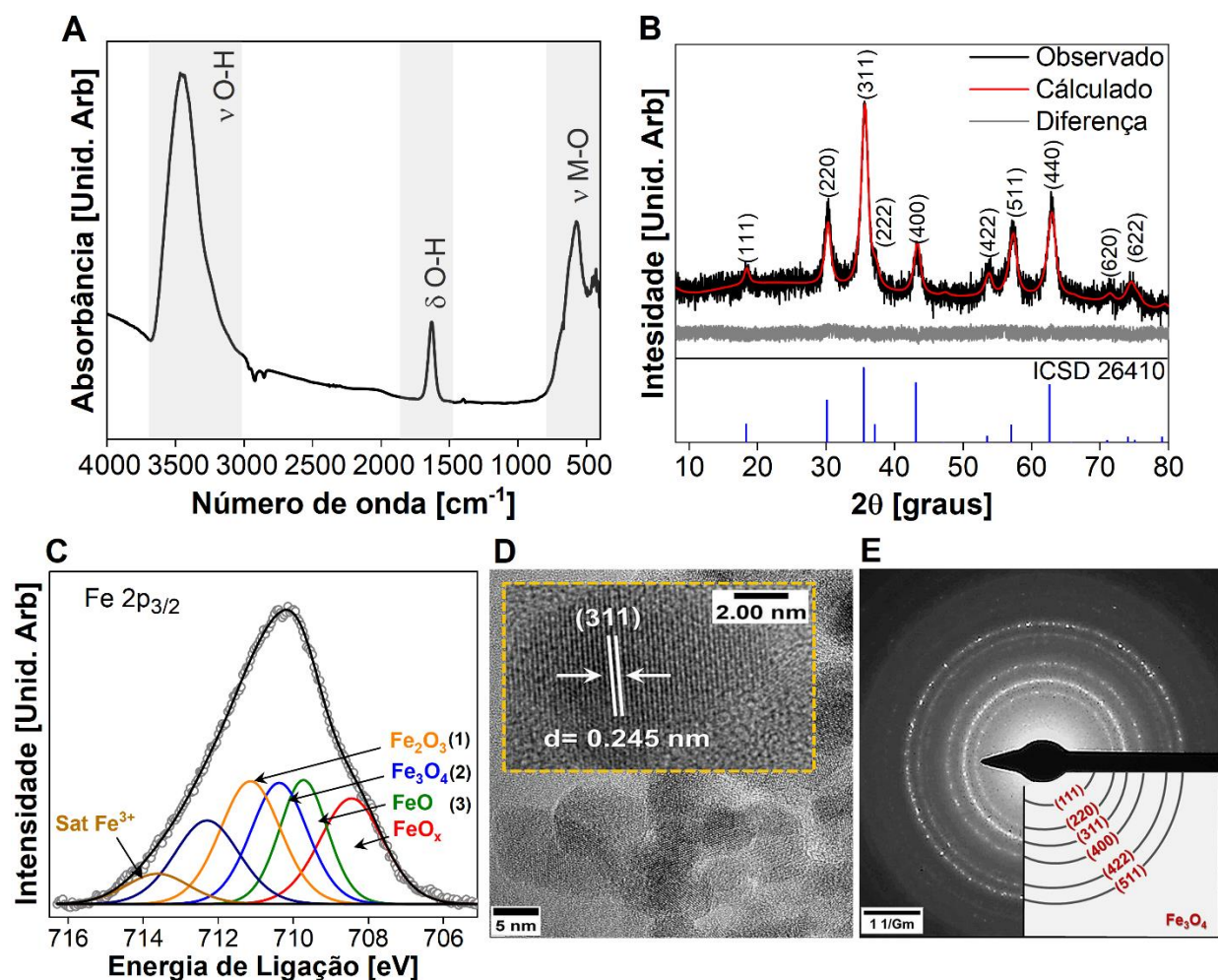


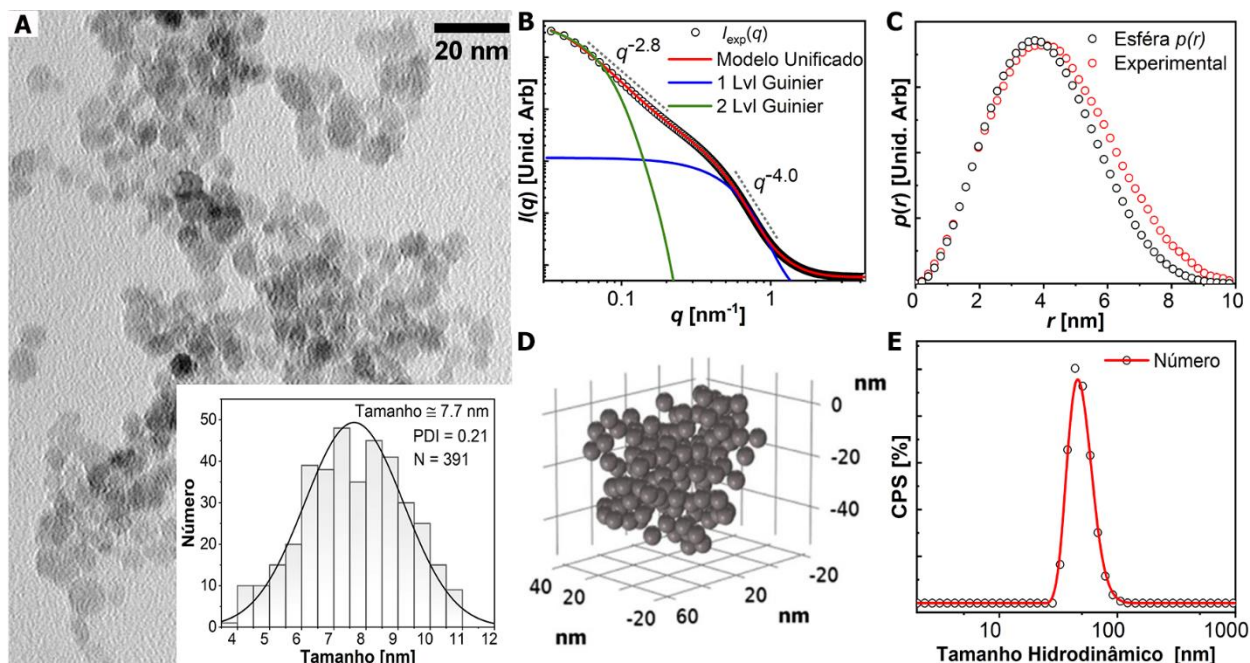
Figure 20. Caracterização estrutural das NP de Fe_3O_4 . (**A**) FT-IR, (**B**) DRX, (**C**) HRTEM e (**D**) SAED.

1 A análise de BET forneceu uma superfície específica de $143,5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para as NP
2 de Fe_3O_4 , o que está próxima aos valores relatados na literatura ($114,1\text{-}212,6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$)
3 [108–111]. As micrografias obtidas por STEM mostram que as NP de Fe_3O_4 sintetiza-
4 das têm uma forma esferoidal, com um diâmetro médio de $8,2 \pm 2,3 \text{ nm}$ ($\text{PDI} = 0.3$) (**fi-**
5 **gura 21 A**).

6 O comportamento das NP de Fe_3O_4 em solução aquosa de NaNO_3 1 mmol L^{-1}
7 ($\text{pH } 3$, a 25°C) foi analisado usando as técnicas de SAXS e DLS. O gráfico dilogarítmico
8 do perfil SAXS mostrou dois regimes distintos em altos e baixos valores de q (**Figura 21 B**),
9 indicando a presença de aglomerados de NP [112]. O espalhamento das NP
10 primárias de Fe_3O_4 (os pequenos blocos de construção) aparecem na região de q mais
11 alta ($2 > q > 0,2 \text{ nm}^{-1}$). Como as NP primárias tem superfícies lisas e bem definidas, o
12 decaimento da lei de potência da intensidade de espalhamento segue a relação clássica
13 de Porod ($I(q) \propto q^{-4,0}$) [113]. O ajuste dos dados SAXS usando o modelo unificado
14 de Guinier e Porod [114,115] indicaram que as NP primárias têm um raio de giro (R_g)
15 de $3,7 \text{ nm}$, o que está em boa concordância com os resultados obtidos por STEM.

16 O perfil da função de correlação de pares, $p(r)$, calculada a partir dos dados
17 SAXS, também sugere que as NP primárias têm formato esferoidal, com diâmetro má-
18 ximo de 9.8 nm (**Figura 21 C**). No intervalo de q médio ($0.07\text{--}0.1 \text{ nm}^{-1}$), o espalhamen-
19 to apresentou uma lei de potência de $q^{-2.8}$. Este resultado sugere a existência de agre-
20 gados do tipo fractal de massa, que são formados pelo agrupamento das NP primárias
21 de Fe_3O_4 [86]. Para agregados fractais de massa, o expoente do decaimento da lei de
22 potência ($I(q) \propto q^{-\alpha}$) é igual à dimensionalidade do fractal ($\alpha = d_f$, com $1 < d_f < 3$). O alto
23 valor de d_f indicou que os agregados de NP de Fe_3O_4 formaram estruturas densamente
24 compactadas (**Figura 2 D**), característica de um processo de agregação limitada por
25 reação (RLCA) [116]. A RLCA ocorre quando uma barreira de energia repulsiva está
26 presente entre as NP, com a taxa de agrupamento tornando-se controlada pelo poten-
27 cial de interação interpartícula [86]. O ajuste das curvas SAXS forneceu um R_g de 23.5
28 nm para o agregado fractal, o que está em boa concordância com o tamanho hidrodin-

1 nômico médio ($D_h = 47.8$ nm, com $PDI \leq 0.1$) obtido a partir das medições de DLS (**Fi-**
2 **gura 21 E**).



3
4 **Figura 21.** (A) STEM imagem e distribuição de tamanho de partícula das NP de Fe₃O₄. (B)
5 Curvas SAXS para a dispersão de NP de Fe₃O₄. O valor do expoente α (indicado em $q^{-\alpha}$) é a
6 inclinação da curva. (C) Perfil teórico (círculo preto) e experimental (círculo vermelho) da fun-
7 ção de correlação, $p(r)$, para as NP primárias de Fe₃O₄. (D) Agregado fractal de massa formado
8 pelas NP primárias de Fe₃O₄. O agregado é formado por um número ($N = 143$) de NP primárias
9 de tamanho de 7.5 nm. Os parâmetros foram obtidos a partir do ajuste da curva SAXS. (E) Dis-
10 tribuição de tamanho hidrodinâmico das NP de Fe₃O₄, determinada por DLS.

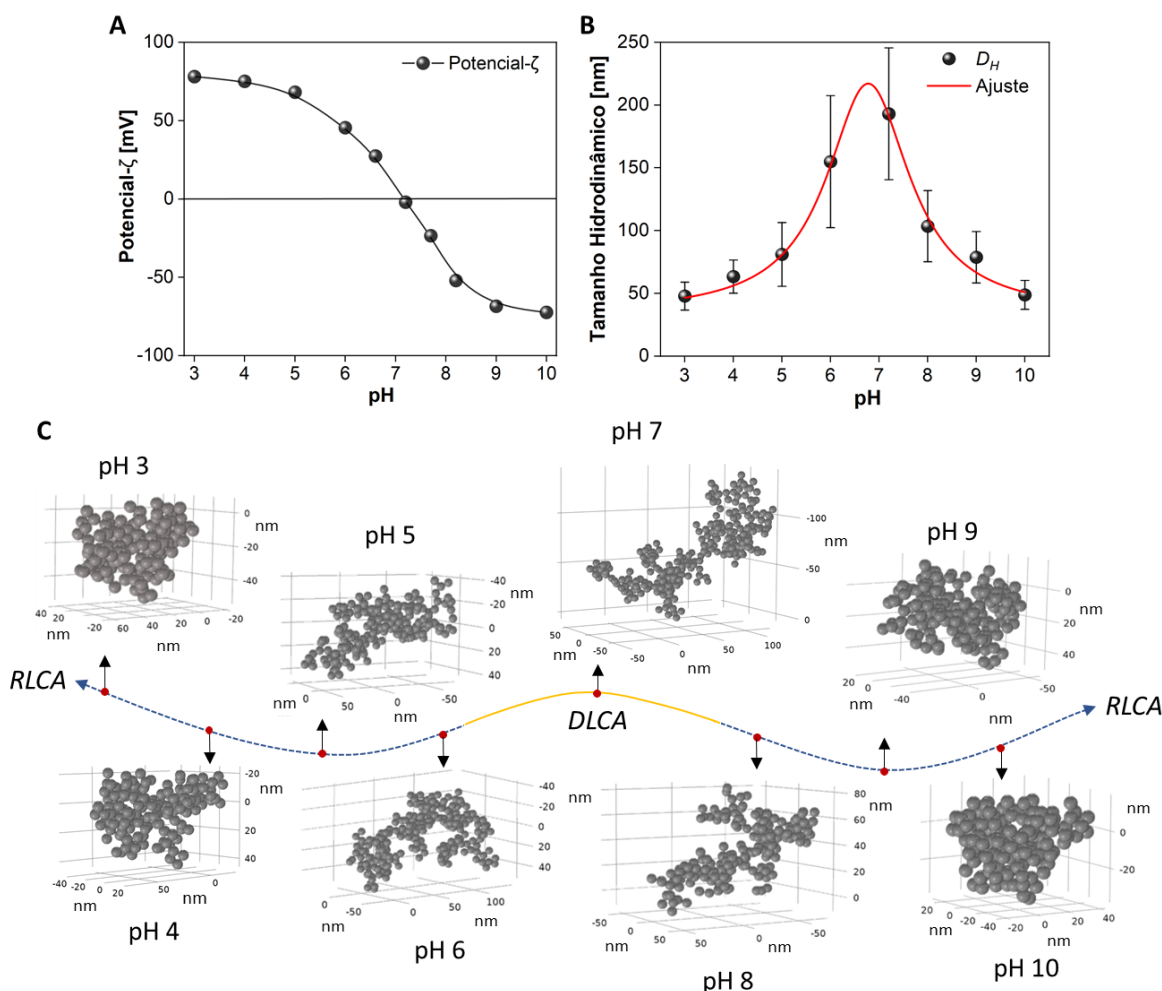
11 As NP de Fe₃O₄ podem desenvolver uma carga superficial quando dispersas em
12 uma solução aquosa devido à protonação (Fe-OH_2^+) e desprotonação (Fe-O^-) dos
13 grupos hidroxilados (Fe-OH) [62]. Portanto, o valor de μ_e das NP de Fe₃O₄ é depen-
14 dente do pH de a solução. A **Tabela E3** fornece uma comparação do IEP para as NP
15 de Fe₃O₄ encontradas neste trabalho com outros valores relatados na literatura [117–
16 123]. As diferenças dos valores se deve a fatores associados com a origem do material

(sintético ou natural), composição da amostra, pré-tratamento, preparação e solução eletrolítica usada para as medições [124].

A **figura 22 A** mostra os valores calculados do potencial- ζ para os agregados de NP de Fe_3O_4 em função do pH. Conforme esperado, a magnitude dos valores do potencial- ζ dos agregados de NP de Fe_3O_4 diminui à medida que o pH da solução se aproxima do pH_{IEP} . Os maiores valores (em módulo) foram encontrados em pH 3 e 10; 78.2 e -76.3 mV, respectivamente. Nestes mesmos pHs, as NP de Fe_3O_4 apresentam os menores valores de D_h ; 46.5 e 50.9 nm, respectivamente (**figura 22 B**). Uma interpretação menos crítica sobre os resultados encontrados sugere que: nos pHs, onde os maiores valores de potencial- ζ e menores D_h foram encontrados, os agregados de NP de Fe_3O_4 apresentam maior estabilidade coloidal. Essa interpretação baseia-se na suposição de que, quanto maior a magnitude da repulsão eletrostática, maior serão as forças repulsivas e, portanto, a estabilidade coloidal aumenta [78]. No entanto, as forças e o alcance das interações interpartícula que controlam a estabilidade coloidal, são consideravelmente afetados pelo tamanho e estrutura das NP e de seus agregados [125–127].

A **figura 22 C** mostra a variação da estrutura dos agregados de NP de Fe_3O_4 em função do pH; os parâmetros utilizados para simular as estruturas fractais estão descritos na **tabela E4**. Para os agregados de NP de Fe_3O_4 , o mecanismo de agregação RLCA, inicialmente encontrado em pH 3, transmuta constantemente para um regime de agregação limitada por difusão (DLCA) à medida que o pH se aproxima do $\text{pH}_{\text{I.E.P.}}$. Este é o impacto causado pela diminuição das interações eletrostática. Como resultado, os agregados crescem e a relevância das interações são reduzidas. Distante do $\text{pH}_{\text{I.E.P.}}$, o RLCA ocorre por meio de um processo de agregação de partícula-cluster e, portanto, propenso a densificação considerável das estruturas formadas [128]. Próximo ao $\text{pH}_{\text{I.E.P.}}$, o DLCA predomina, sendo bastante semelhante a um processo ideal de agregação do tipo cluster-cluster, onde estruturas porosas e bastante ramificadas são formadas [128]. A estrutura final (isto é, tamanho e estrutura) dos agregados formados está intimamente

1 relacionada aos processos que afetam o mecanismo de agregação (por exemplo, difu-
2 são e migração das partículas, etc), bem como a magnitude das forças de interações
3 que controlam a agregação [86].



4
5 **Figura 22.** (A) Variação do potencial- ζ , (B) tamanho hidrodinâmico (D_h) e (C) das estruturas
6 fractais formadas pelos agregados das NP de Fe_3O_4 em função do pH.

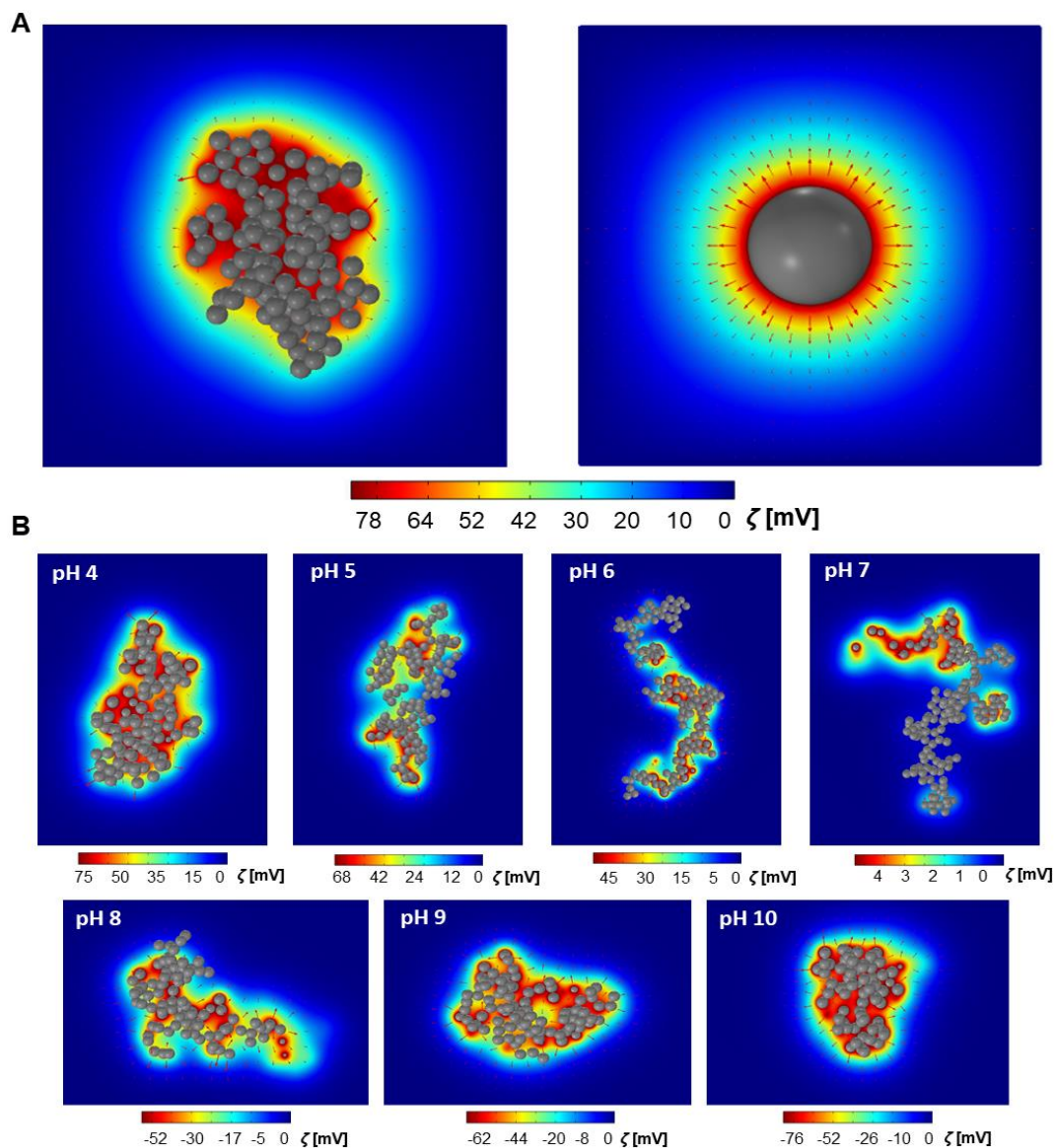
7 A interação total entre dois agregados resulta da sobreposição de forças atrati-
8 vas e repulsivas [86]. O principal componente atrativo é a interação de Van der Waals,
9 enquanto a repulsão está relacionada principalmente as interações entre as duplas
10 camadas elétricas (DCE). Estes controlam a faixa de interação, a cinética de agrega-

ção, também e a morfologia dos agregados [129]. Entretanto, o efeito da estrutura e tamanho dos agregados nas forças de interação ainda não é totalmente compreendido [86]. Isso se deve à ausência de expressões analíticas simples para a interação entre agregados e à diversidade de configurações possíveis dos agregados.

Biewk et al demonstraram que a estrutura dos agregados afeta a interação de Van-der-Waals simplesmente por causa dos efeitos estéricos [126]. Isto é, para uma determinada distância central a partir do centro de massa, o tamanho e a estrutura do agregado controlam apenas a distância mínima entre os poucos pares de partículas primárias que interagem. Dois casos limites foram encontrados [126]: para grande separação entre os dois agregados, eles se comportam como esferas de volume equivalente, enquanto que em distâncias pequenas apenas a interação de Van-der-Waals do par de partícula primária mais próximo deve ser relevante. Por outro lado, o cálculo das forças repulsivas eletrostática entre os agregados de NP requer a consideração da sobreposição das DCE entre as partículas primárias e a respectiva redistribuição de carga [125]. Isto é, a distribuição de carga entre as NP vizinhas que compõem o agregado se sobrepõe e, portanto, difere do caso em que as NP estão isoladas. Neste caso, não existe expressões analíticas simples, e cálculos numéricos rigorosos precisam ser empregados [86].

Conforme mostrado na **figura 23 A**, permite comparar a distribuição do potencial elétrico no plano central de um agregado isolado de NP de Fe_3O_4 em pH 3, com a sua partícula esférica equivalente. A distribuição do potencial elétrico em torno do agregado tem uma forma côncava e anisometria, enquanto a distribuição em torno da partícula equivalente é esfericamente simétrica. Dentro do agregado, a sobreposição da EDL entre as NP primárias é bastante forte, causando mudanças locais nos valores do potencial- ζ . Isso ocorre inevitavelmente dentro de um agregado de NP [86]. Esta diferença é ainda maior quanto menor for o valor de d_f (**figura 23 B**). O potencial- ζ do agregado de NP de Fe_3O_4 desvia-se daquele da partícula esférica equivalente, e varia ao

- 1 longo da superfície do agregado. Como resultado, ocorre a forma com que os agrega-
- 2 dos de NP de Fe_3O_4 interagem em suspensão.



- 3
- 4 **Figure 23.** (A) Distribuição do potencial elétrico em torno do plano central do agregado de NP
- 5 de Fe_3O_4 e de sua partícula esférica equivalente em pH 3, (B) e para os agregados formados
- 6 na faixa de pH de 4-10. O tamanho e a orientação das setas indicam a magnitude e a direção
- 7 do campo elétrico gerado pela EDL.

A **figura 24 A** mostra o cálculo de energia de interação entre os agregados de NP de Fe_3O_4 em função do pH. Para uma dispersão onde a frequência de colisão e, consequentemente, a taxa de agrupamento é governada pelo movimento browniano, uma barreira de energia entre $15\text{-}25 k_b T$ geralmente é suficiente para se opor à energia térmica da maioria das NP [78]. Como pode ser observado para os agregados de NP de Fe_3O_4 , apenas no pH próximo ao $\text{pH}_{\text{I.E.P.}}$, as forças atrativas superam as forças repulsivas, desestabilizando a dispersão [130]. Em contraste, longe do $\text{pH}_{\text{I.E.P.}}$, a alta barreira de energia resulta em uma dispersão com estabilidade coloidal cinética, onde apenas uma pequena porção de NP tem energia suficiente para superar a barreira ao longo do tempo [130].

É importante notar que a barreira de energia mais alta contra agregação, $V_{\text{MAX}}/k_b T$, não foi encontrada em pH 3, onde os agregados de NP de Fe_3O_4 apresentam os maiores valores de potencial- ζ e menores D_h (78.5 mV e 45 nm). O maior valor de $V_{\text{MAX}}/k_b T$ (65.4 KT) foi encontrado em pH 6 (78.5 mV e 45 nm). Conforme discutido [131], o tamanho das NP e de seus agregados também desempenham um papel fundamental no controle da estabilidade coloidal. Assumindo que as dispersões dos agregados de NP de Fe_3O_4 formadas em pH 3 e 6 tem a mesma fração volumétrica de partículas, o número de partículas na dispersão em pH 3 deve que ser ~ 8.9 vezes maior do que em pH 6 devido a diferença de tamanho entre os agregados. Consequentemente, a frequência de colisão na dispersão em pH 3 é ~ 32.1 vezes maior do que em pH 6, uma vez que ela é proporcional ao quadrado do número de concentração de partículas [130]. Além disso, o aumento do tamanho dos agregados de NP de Fe_3O_4 também leva a um aumento na distância de separação partícula-partícula (**figura 24 B**). Ambos os comportamentos se refletem na frequência de agrupamento das NP de Fe_3O_4 e de seus agregados. Conforme relatado para NPs de Fe_2O_3 de 12, 32 e 65 nm, com os mesmos valores de ζ -potencial, as taxas de agregação são maiores para NP menores e aumentam com a fração volumétrica de partículas [132].

1 A **figura 24 C**, mostra que V_{MAX}/k_bT aumenta linearmente com o potencial- ζ , o
2 que sugere um aumento na estabilidade coloidal, independentemente do tamanho da
3 NP. Por outro lado, quando comparado os valores de V_{MAX}/k_bT para uma NP de 10 nm
4 e outra de 100 nm, com o mesmo valor de potencial- ζ , fica evidente o efeito importante
5 do tamanho da partícula para a estabilidade coloidal. Os menores valores de V_{MAX}/k_bT
6 encontrados para a NP de 10 nm, reflete em uma maior eficiência de colisão (menor
7 taxa de estabilidade coloidal) e, conseqüentemente, maior frequência de agrupamento
8 (crescimento do agregado) [78]. Este comportamento também explica por que as NP
9 primárias de Fe_3O_4 formam agregados fractais em solução de $NaNO_3$, mesmo com al-
10 tos valores de potencial- ζ . Conforme mostrado na **figura 24 D**, a barreira de energia de
11 interação calculada para as NP primárias de Fe_3O_4 não é suficientemente alta para su-
12 perar a energia térmica média das partículas. No entanto, após o agrupamento em um
13 agregado fractal de massa, elas atingem uma barreira de energia alta o suficiente para
14 se opor a energia térmica e fornecer um estado de estabilidade coloidal cinética. Os
15 resultados encontrados para as NP de Fe_3O_4 e seus agregados sugerem que, ao con-
16 trário de muitos relatos na literatura, um alto valor de potencial- ζ não é necessariamen-
17 te uma indicação de alta estabilidade coloidal cinética para dispersões de NP
18 [78,131,133].

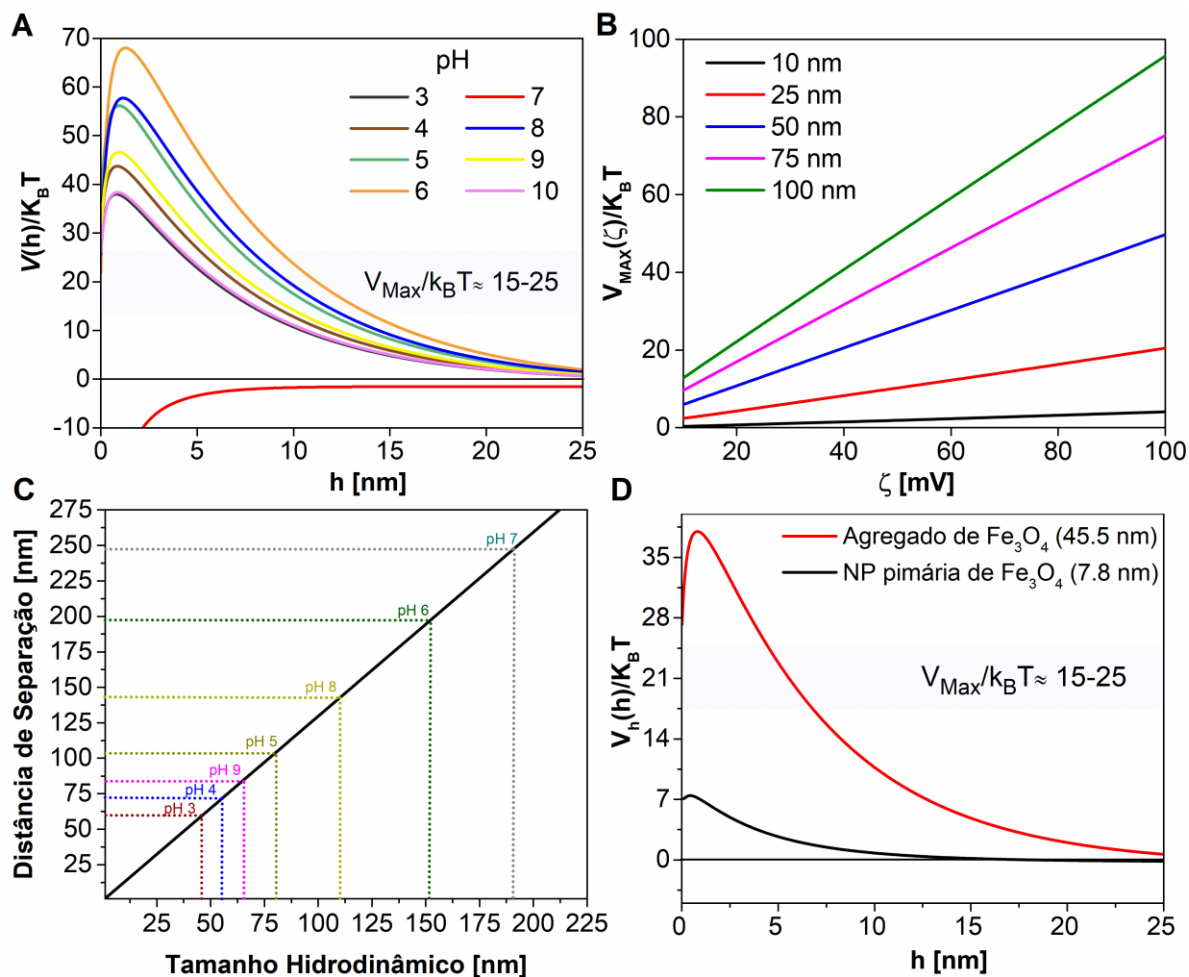


Figura 24. (A) Energia de interação total calculada entre os agregados de NP de Fe_3O_4 para diferentes valores de pH. (B) Altura máxima da barreira de energia, $V_{MAX}/k_B T$, em função do potencial- ζ para diferentes tamanhos de NP. (C) Distância de separação superfície-superfície calculada para os agregados de NP de Fe_3O_4 em função do pH. (D) Energia de interação total calculada entre as NP primárias de Fe_3O_4 antes e após a formação dos agregados, em pH 3.

A **figura 25 A** mostra a variação do potencial zeta e do tamanho hidrodinâmico das NP de Fe_3O_4 após a modificação da superfície com PAA. Conforme relatado na literatura, as NP de PAA- Fe_3O_4 apresentam um IEP em torno de pH ~ 2 [134]. Para valores de pH > 2 , as NP de PAA- Fe_3O_4 passam a apresentar valores negativos de potencial zeta, devido a presença de grupos carboxílicos do PAA. Longe do IEP, as NP

1 de PAA-Fe₃O₄ apresentam valores constantes de D_h (em torno de 202 nm). Entre pH 3-
2 5, os valores de D_h diminui para 120-140 nm. Esse comportamento sugere que, parte
3 dos grupos carboxílicos que estavam ligados a superfície das NP de Fe₃O₄, quando
4 neutralizados por íons H⁺ em meios ácidos, são desorvidos da superfície devido ao
5 equilíbrio de adsorção/dessorção que ocorre próximo do pKa do PAA (pKa = 4.2).
6 Além disso, a molécula de PAA empregada é grande o suficiente (> 30 nm, dependen-
7 do da conformação assumida [135]) para fazer conexões do tipo ponte entre duas NP
8 de agregados diferente.

9 As medidas de SAXS em função do pH mostram que o estado de agregação das
10 NP de PAA-Fe₃O₄ permanece constantes ($d_f = 2.2$) (**Figura 25 B**). O fato de o estado
11 de agregação não mudar em função do pH, indica que não existe um rearranjo confor-
12 macional entre os agregados e/ou as NP primárias que os compões. Os agregados
13 fractais se conectam através de pontes proporcionadas pelos grupos carboxílicos do
14 PAA, mantendo a sua conformação de quando isolados. Embora os valores do poten-
15 cial zeta diminuam, existe uma contribuição estérica para o sistema (atuando em pe-
16 quenas distâncias de separação interpartícula), impedindo que ocorra mudanças estru-
17 turais dos agregados. Conforme também mostrados através de cálculos de energia de
18 interação (**Figura 25 C**), à medida que os valores do potencial zeta diminuem com o
19 pH, a altura máxima da barreira de energia contra a agregação também diminui. No
20 entanto, a contribuição estérica total (osmótica e elástica) impede com que haja um
21 contato direto entre as NP do par de agregado interagente. Caso a frequência de coli-
22 são seja suficientemente forte para superar a barreira de energia, os agregados de NP
23 caem em um poço, chamado de mínimo secundário, onde floculam. Nestas situações,
24 as NP podem ser redispersas mudando as condições do meio (por exemplo, pH ou for-
25 ça iônica).

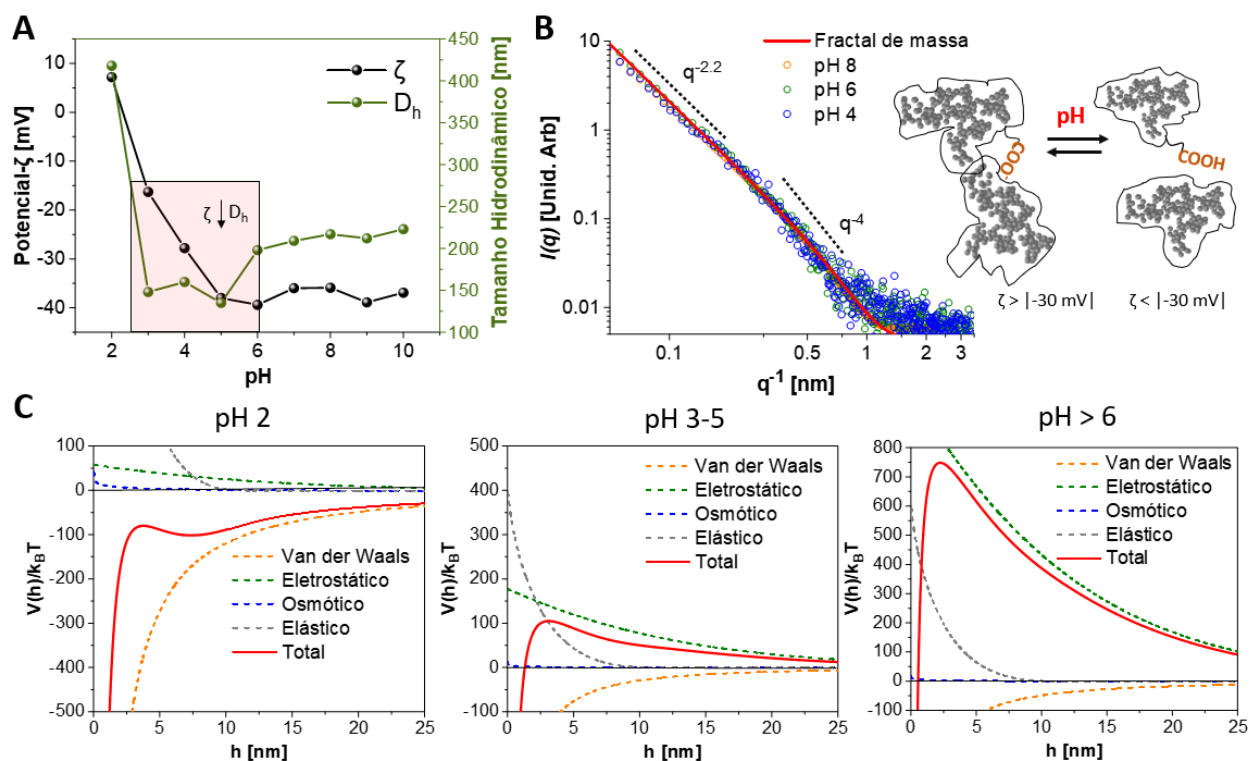


Figura 25. (A) Variação dos valores do potencial zeta e do tamanho hidrodinâmico das NP de PAA-Fe₃O₄. (B) Perfis experimentais SAXS para as NP de PAA-Fe₃O₄ em pH 4, 6 e 8. A figura inserida no canto superior direito representa um possível equilíbrio físico-químico e as consequências para estruturas agregadas formadas. (C) Cálculos de energia de interação XDLVO para os agregados de NP de PAA-Fe₃O₄ em função do pH.

5.3. Automontagem do Nanocarreador Magnético de HDL- Fe₃O₄

Os nanocarreadores de HDL-Fe₃O₄ foram montados equilibrando as forças de atração eletrostática entre as NP de HDL e PAA-Fe₃O₄ carregadas com sinal contrário, e com repulsão estérica proporcionado pelas cadeias do PAA. A atração é fornecida pela sobreposição entre as duplas camadas elétricas. A espessura da dupla camada é caracterizada pelo comprimento Debye λ_D , que define o alcance da atração. As cadeias poliméricas do PAA servem como espaçadores entre as NP de HDL e Fe₃O₄. Diferentemente dos processos de automontagem para a construção de estruturas de ordem superior, nas quais utiliza-se cadeias poliméricas homogêneas e bem definidas (como

1 a família do Pluronic) [136], neste sistema, a finalidade de utilizar o PAA é evitar com
2 que as NP caiam na região de atuação das forças de atração de Van der Waals. A fi-
3 gura **26 (A-D)** ilustra o processo para uma dispersão de $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de Nano-HDL e de
4 PAA- Fe_3O_4 .

5 Existe um mínimo na curva de energia de interação, localizado a uma distância
6 relativamente longe da superfície das NP (devido a cadeia polimérica do PAA), onde
7 ocorre o processo de agregação (**Figura 26 A**). Esta região é predominada por forças
8 atrativas fortes o suficiente para manter as NP de carga oposta unidas. No entanto,
9 este mínimo não pode ser forte o suficiente para levar a floculação das estruturas au-
10 tomontadas. Portanto, o controle das forças de atração eletrostática, assim como das
11 distâncias entre as partículas dos blocos de construções, é a chave para formar uma
12 estrutura agregada, multifuncional e estável coloidalmente [136]. Esta abordagem foi
13 utilizada para a construção dos nanocarregadores magnéticos de Nano-HDL e PAA-
14 Fe_3O_4 .

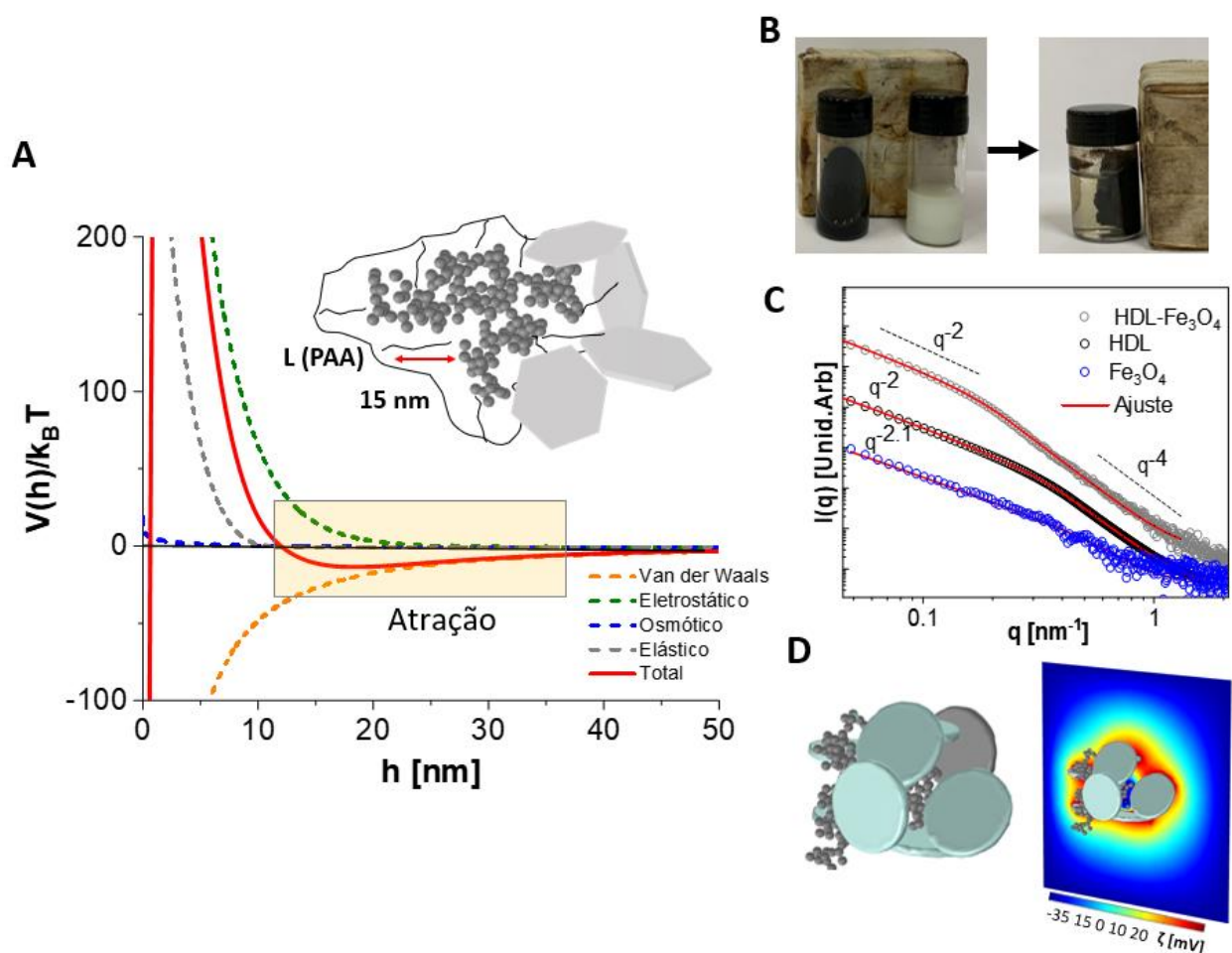


Figura 26 (A). Cálculos de energia de interação XDLVO para os pares de partículas de Nano-HDL e PAA-Fe₃O₄. **(B)** Imagens dos blocos de construção antes e depois da automontagem agregativa. **(C)** Perfis experimentais SAXS para as dispersões de Nano-HDL, PAA-Fe₃O₄ e para o nanocarreador magnético formado. **(D)** Estrutura representativa do nanocarreador magnético formado com a respectiva distribuição das forças eletrostáticas atrativas, que mantêm as NP unidas.

A figura **26 B** mostra as imagens dos recipientes contendo os blocos de construção. Uma mistura simples e direta na mesma fração volumétrica de partícula e pH do meio de dispersão (neste caso, pH = 9), leva a formação espontânea dos nanocarreadores magnéticos. A **figura 26 C** mostra os perfis experimentais SAXS das NP de HDL, PAA-Fe₃O₄ e dos nanocarreadores magnéticos formados. Conforme já discutido, os

1 Nano-HDL apresentam uma lei de potência de $I(q) \propto q^{-2}$, que é característico para
2 plaquetas e discos. Para as NP de PAA-Fe₃O₄, a dimensionalidade fractal ($d_f = 2.1$) su-
3 gere agregados menos densamente compactados. O perfil SAXS do nanocarreador
4 magnético de HDL-Fe₃O₄ também apresenta uma lei de potência de $I(q) \propto q^{-2}$. Es-
5 tes dados sugerem que, a superfície do objeto espalhador tem um formato de dis-
6 co/plaquetas. Para materiais a base de HDL/óxidos de ferro, obter estas geometrias
7 como produto de síntese é muito comum [11]. A **figura 26 D** mostra uma possível ge-
8 ometria obtida como produto da automontagem e o respectivo mapa de distribuição das
9 forças eletrostáticas atrativas que mantem as NP unidas.

10 O pH do meio desempenha um papel fundamental para obtenção dos nanocar-
11 readores magnéticos de HDL-Fe₃O₄. Conforme mostrado na **figura 27 A**, existe
12 uma faixa de pH onde os valores do potencial zeta dos Nano-HDL são maiores (em
13 módulo) do que os apresentados pela PAA-Fe₃O₄. Da mesma forma, também existe
14 uma faixa específica para as NP de PAA-Fe₃O₄. Nos dois extremos, a profundidade do
15 mínimo primário é menor, e a altura da barreira de energia é mais alta. Nas faixas de
16 pH, onde as NP dos Nano-HDL e PAA-Fe₃O₄ apresentam magnitude de carga próxima,
17 as estruturas automontadas obtidas floculam. A **figura 27 B** mostra as consequências
18 das variações de pH no tamanho hidrodinâmico dos nanocarreadores automontados.
19 Conforme esperado, para os pHs onde não ocorre um balanço adequado entre as for-
20 ças eletrostáticas (neste caso, atrativas), agregados maiores são formados, e logo de-
21 pois floculam devido a ação da gravidade. Os nanocarreadores formados na faixa ade-
22 quada de pH, apresentam menores tamanhos de partícula e possuem uma barreira de
23 energia alta o suficiente para garantir estabilidade coloidal para o sistema.

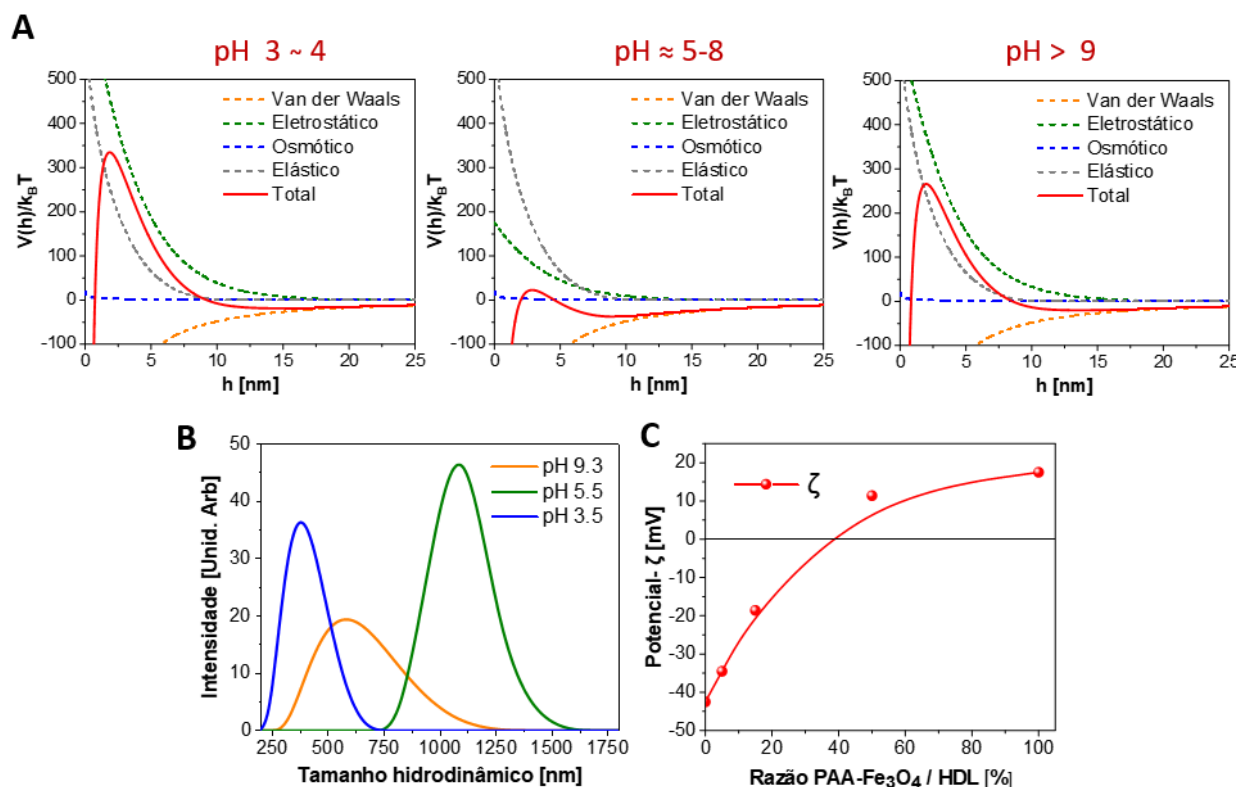


Figura 27. (A) Cálculos de energia de interação XDLVO para os pares de partícula interagente: Nano-HDL e PAA-Fe₃O₄ em função do pH. **(B)** Tamanho hidrodinâmico dos nanocarreadores magnéticos formados em função do pH. **(C)** Variação do potencial zeta dos nanocarreadores magnéticos em função da razão PAA-Fe₃P₄/ Nano-HDL (mg/mg; 0.5 mg/mL⁻¹ = 1).

Outro fator importante que influencia o processo de automontagem é a fração volumétrica de partícula. Por exemplo, para uma determinada magnitude de carga entre os pares de NP de carga oposta (PAA-Fe₃O₄ carregada negativamente e Nano-HDL positivamente, existe uma fração volumétrica de partícula tal que a densidade de carga que ela possui será o suficiente para neutralizar e/ou reverter a carga do par oposto. Este comportamento também foi observado para as NP de PAA-Fe₃O₄ e Nano-HD (**Figura 27 C**). Após as estruturas serem formadas, as NP permanecem ligadas permanentemente, e não se desmontam se o pH for variado (na faixa de 4-10 estudada).

5.4. Aplicação dos Nanocarreadores Magnéticos de HDL-Fe₃O₄

A **figura 28 A** mostra a aplicação das NP de PAA-Fe₃O₄ e dos nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ em experimentos de HFM. As análises foram realizadas em função da concentração de partícula para um campo H de 14 kA·m⁻¹ e frequência f de 420 kHz. O tempo máximo das análises foi de 10 min ou até a dispersão de NP atingir a temperatura de 50 °C. Para toda as concentrações de partícula, os nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ apresentaram uma taxa de aquecimento menor em relação as NP de PAA-Fe₃O₄. Conforme reportado na literatura para estruturas a base de HDL-óxidos de ferro, o valor de magnetização líquida, M_s , para as amostras diminui por um fator igual a 2 ou mais. Por exemplo, foi reportado em [137] que os valores de M_s para as NP de Fe₃O₄ diminuíram de 79 para 35 emu·g⁻¹ após a associação dos HDL [137]. A menor magnetização observada nas estruturas pode ser uma das causas das menores taxas de aquecimentos encontrada para os nanocarreadores de Fe₃O₄-HDL durante os experimentos de HFM.

Outra hipótese inicial era se os HDL ligados a superfície das NP de PAA-Fe₃O₄ poderiam estar atuando como uma barreira térmica, dificultando a propagação do calor durante os experimentos de HFM. Para resolver esta questão, foram realizadas simulações numéricas para determinar a distribuição de calor em torno do agregado de NP de PAA-Fe₃O₄ e para o nanocarreador magnético de HDL-Fe₃O₄ (**Figura 28 B**). Para o modelo numérico, foi considerando que ambas as NP estavam suspensas em solução aquosa, e o calor se difundia a partir das NP de PAA-Fe₃O₄ para o sistema (o valor da temperatura inicial assumido para as NP de PAA-Fe₃O₄ foi de 45 °C e para o restante do sistema foi de 25 °C). Os valores reduzidos do mapa térmico em função da orientação espacial da estrutura mostram que os Nano-HDL ligados a superfície das NP de PAA-Fe₃O₄ não atuam como uma barreira térmica (**figura 28 C**). Na prática, os Nano-HDL conseguem alcançar a mesma temperatura de 45 °C das NP de PAA-Fe₃O₄.

A condutividade térmica dos HDL são maiores do que a da água e normalmente são maiores do que os das NP de Fe_3O_4 , facilitando a transferência de calor entre os meios [138]. Os valores de condutividade térmica dos HDL dependem do tamanho das partículas, da fração volumétrica e do tipo de material associado à sua estrutura. Por exemplo, foi demonstrado que a condutividade dos HDL pode variar de 1,5 até 0,085 $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ dos fatores mencionados. A **figura 28 D** mostra os mapas térmicos em torno de uma única NP de Fe_3O_4 rodeada por um par de NP de HDL de diferentes condutividades. Os casos I e II diferem apenas nos valores de condutividade térmica assumido para os HDL. O centro de massa da NP de Fe_3O_4 está localizado a uma distância de 150 nm. No modelo I, um valor de 0.85 $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ para a condutividade térmica dos HDL foi assumido [138]; nenhuma diferença pode ser observada na distribuição da temperatura na presença dos Nano-HDL com diferentes orientações espaciais. Por outro lado, o caso II mostra o efeito significativo de um HDL com baixa condutividade térmica (0,085 $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$) tem para a propagação de calor; neste caso, a orientação da geometria influencia significativamente. As plaquetas dos HDL com baixa condutividade térmica atuam como uma barreira térmica, onde o calor difunde apenas nas regiões livres. Esse comportamento é altamente indesejado para aplicações na HFM.

A aplicação do nanocarreador magnético de HDL- Fe_3O_4 na terapia anticâncer do HFM também foi investigado. Conforme descrito no apêndice D, um modelo computacional foi elaborado para estudar o efeito do dano térmico em um tumor localizado na glândula mamária [24]. Neste estágio, será considerado apenas o dano térmico causado por uma temperatura bem definida, dentro da faixa da hipertermia leve (45 °C). Um domínio esférico, de 400 nm de raio, foi construído e assumido como a região onde o tumor mamário está localizado. O intuito de reduzir a aplicação para uma única partícula (em vez de uma fração volumétrica de partícula), é visualizar os efeitos das estruturas dos agregados na condução do calor e as suas consequências para a terapia anticâncer. As propriedades dos tecidos e os parâmetros de entrada utilizados nas simulações, estão descritos nos apêndices

1

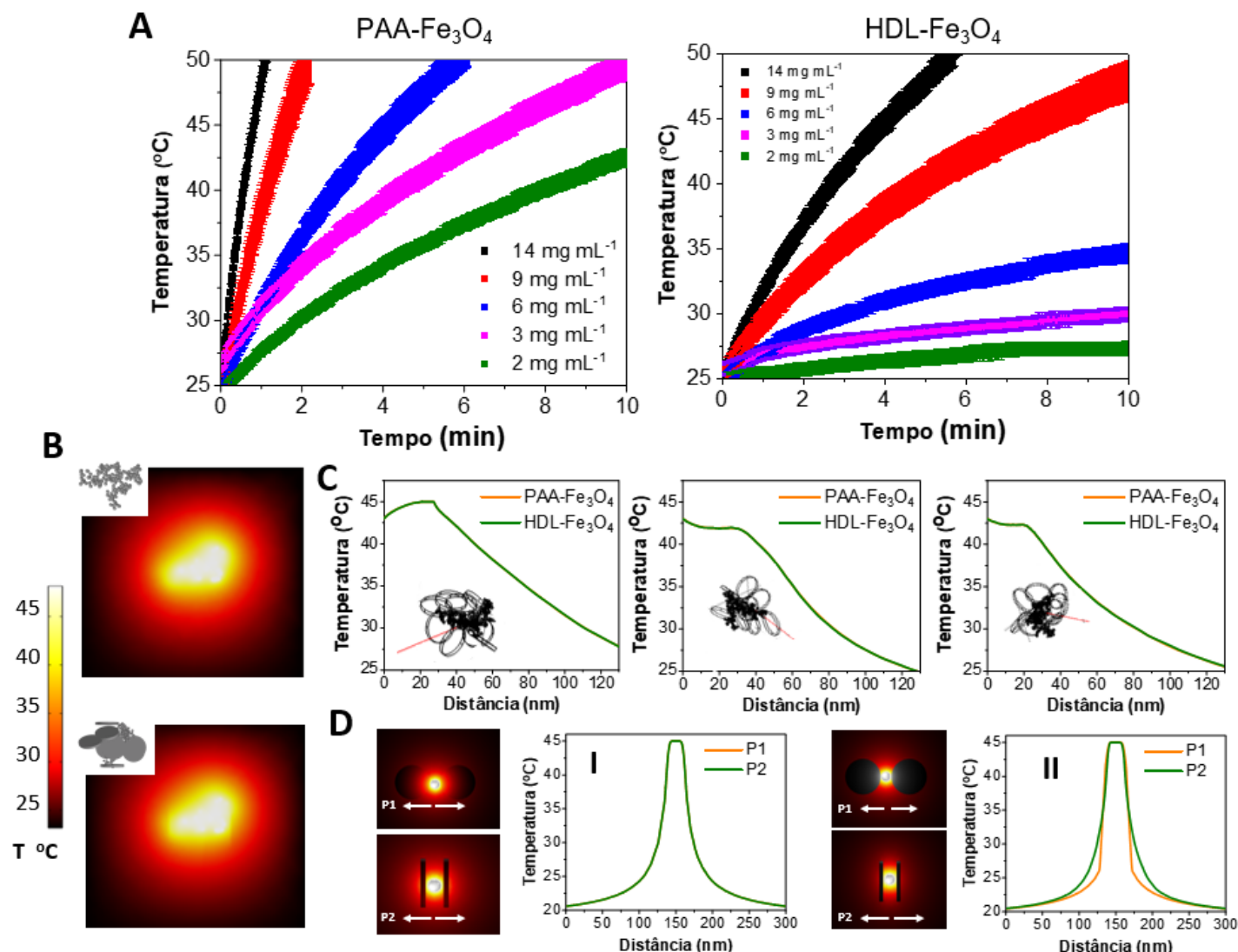


Figura 28. (A) Curva de hipertermia magnética obtidas para as suspensões de PAA-Fe₃O₄ e dos nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄ em função da concentração de partícula. (B) Mapa da distribuição da temperatura em torno dos agregados. (C) Distribuição da temperatura em função da distância do centro de massa para os agregados de PAA-Fe₃O₄ e para os nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄. (D) Mapa da distribuição da temperatura para uma única NP de PAA-Fe₃O₄ envolvida por plaquetas de HDL com condutividades térmicas diferentes. O Caso I representa os HDL com condutividade de 0.85 W·m⁻¹·K⁻¹ e o caso II representa os HDL com condutividade de 0.085 W·m⁻¹·K⁻¹. Os valores reduzidos em função. P1 e P2 representam as orientações das plaquetas.

1 **A Figura 29** mostra o mapa da distribuição de temperatura em torno dos agre-
2 gados de NP de PAA-Fe₃O₄ e dos nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ dentro
3 de um tumor localizado na glândula mamária. Ao aquecer as NP em temperaturas pró-
4 ximas de 45 °C por um certo tempo durante a HFM, parte das células neoplásicas que
5 compõe a região do tumor são induzidas a apoptose. Conforme mostrado na figura **29**
6 **B**, até uma certa região (ou pontom P1-P6) dentro do tumor onde a temperatura é alta
7 o suficiente, a apoptose celular ocorre de maneira bem sucedida. A figura **29 C** mostra
8 a fração de dano em função da distância de separação partícula-tumor. Para ambas as
9 estruturas, em até 100 nm de distância, partes das células neoplásicas podem sofrer a
10 apoptose. No entanto, em tais regiões mais afastadas, o aquecimento parcial das célu-
11 las neoplásicas pode dar origem ao feito da termotolerância, o que não é desejável pa-
12 ra as modalidades de hipetermia. Como visto anteriormente, embora as taxas de
13 aquecimento dos nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ sejam menores em rela-
14 ção a PAA- Fe₃O₄, as estruturais automontadas aqui, cumprem bem a sua parte.

15 A multifuncionalidade dos nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ foram
16 também testadas como uma plataforma sensível a temperatura, buscando acelerar ou
17 controlar a taxa de liberação da droga juntamente com a terapia anticancer do HFM.
18 Após a intercalação da droga modelo DS, dois ensaios de liberação foram realizados: o
19 primeiro, consistiu em monitorar o perfil de liberação em função do tempo sem a apli-
20 cação de um campo AMF. O segundo, foi realizado simultaneamente com o campo
21 AMF aplicado. O tempo de monitoramento foi de 50 min, e os resultados estão apre-
22 sentados a seguir.

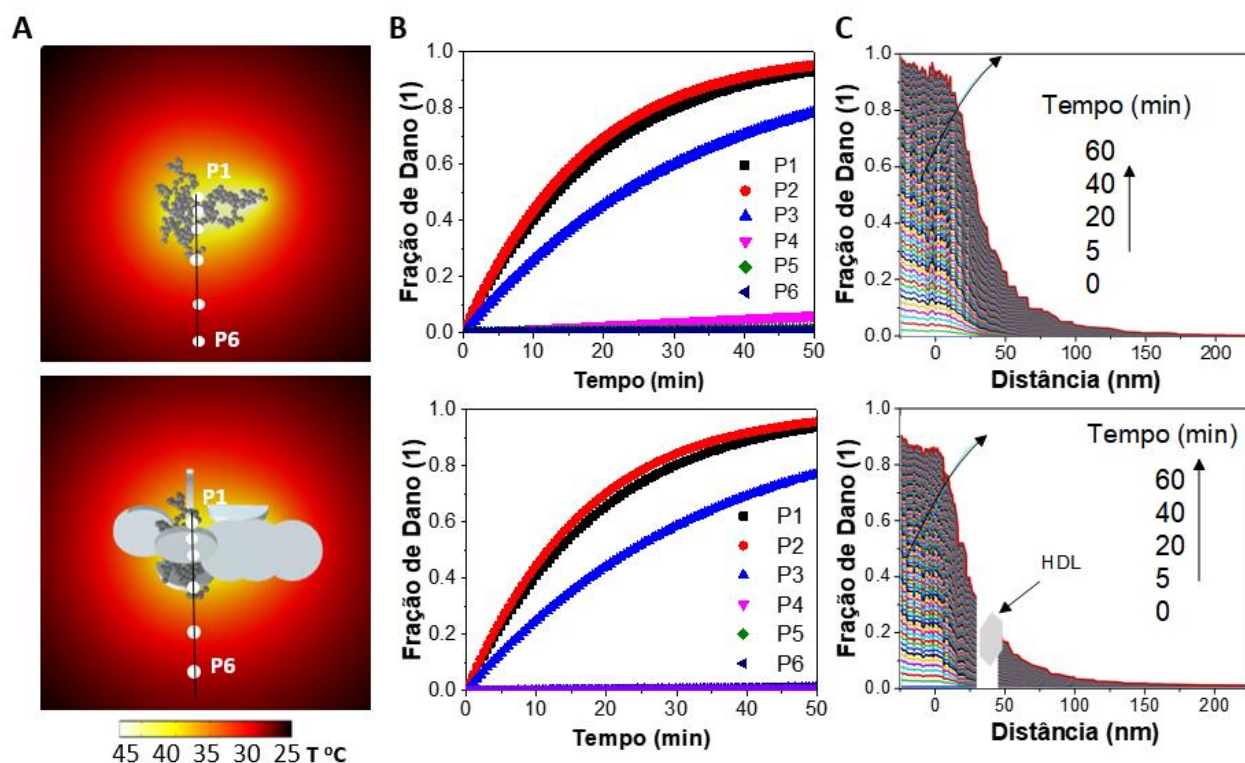
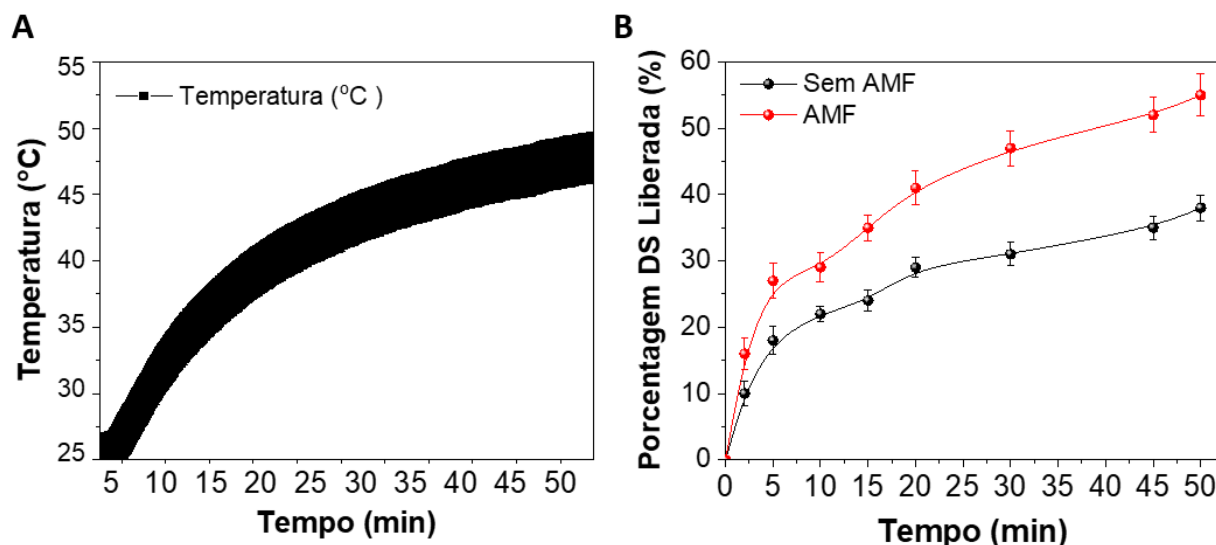


Figura 29 (A). Mapa da distribuição da temperatura dentro de um tumor mamário para o agregado de NP de PAA-Fe₃O₄ e para o nanocarreador magnético de HDL-Fe₃O₄. **(B)** Fração de dano (ou percentual de tecido necrosado) em função do tempo e da **(C)** distância de separação partícula-tecido tumoral mamária. Os índices P1 e P6 (P1= centro de massa do agregado, P2 = 10 nm, P3 = 20 nm, P4 = 50, P5 = 75 nm, P6 = 100 nm) representam os pontos de monitoramento da fração de dano, bem como a reta (120 nm a partir do centro de massa). A temperatura das NP foi fixada em 45 °C. Fonte: o autor.

A **figura 30 (A)** mostra o perfil de aquecimento para os nanocarreadores magnéticos de HDL-Fe₃O₄ para uma concentração de partícula de 7,3 mg·mL⁻¹. Após 50 min com o campo AMF ligado, a temperatura é elevada até ~50 °C. A **figura 30 (B)** compara o perfil de liberação da droga DS em pH 7.4 em meio de fosfato de sódio em experimento sem e com o campo AMF ligado. Nos estágios iniciais, a percentagem e liberação é bastante similar, em torno de 20% para ambas as amostras. No entanto, após 10 min de AMF aplicado, a temperatura passa de 25°C para 33 °C, fazendo com que a

1 cinética de liberação da droga seja favorecida. Conforme mostrado na literatura, de
2 maneira geral, aumentar a temperatura acelera a cinética de liberação da droga para
3 os HDL [139].



4
5 **Figura 30.** (A) Curva de hipertermia magnética obtidas para os nanocarreadores magnético de
6 HDL-Fe₃O₄. O perfil de aquecimento corresponde aos ensaios de liberação da droga DS. (B)
7 Percentagem de DS liberado em função do tempo na presença e na ausência de um AMF para
8 os nanocarreadores magnético de HDL-Fe₃O₄. Fonte: o autor.

9 Em resumo, o perfil de aquecimento relativamente controlado mostrado acima
10 pelo nanocarreador magnético de HDL-Fe₃O₄ se beneficia dos efeitos do aquecimento
11 abaixador, evitando a termotolerância na terapia [140]. Simultaneamente, o aumento de
12 temperatura pode favorecer a liberação da droga, conforme também mostrado para o
13 DS. Diferentemente dos sistemas que utilizam polímeros termosensíveis para desen-
14 cadear a liberação da droga [141], a estratégia apresentada aqui envolve conceitos
15 muito mais simples. A combinação dos Nano-HDL juntamente com as NP de Fe₃O₄
16 pode proporcionar diretamente a entrega de droga direcionadas por campos magnéti-
17 cos até o local alvo, juntamente com a terapia anticâncer do HFM. Embora não explo-
18 rado neste trabalho, várias combinações de Nano-HDL podem ser utilizadas em com-

binação com a HFM, para além de promover a entrega local da droga, possam ser utilizados como agentes de contrastes para RM, expandindo ainda mais a aplicação dos HDL no campo da biomedicina teranóstica [57].

6. Conclusões

Nesta dissertação de mestrado, um nanocarreador magnético multifuncional de HDL e Fe_3O_4 foi construído através de um processo espontâneo, envolvendo a automontagem de NP com cargas opostas. Os nanocarreadores foram construídos empregando a teoria DLVO, que equilibra forças de atração eletrostática entre partículas de cargas opostas com repulsão eletrostática fornecidas pelas cadeias poliméricas do PAA. Além disso, a molécula do PAA também serviu como um espaçador entre as NP de Fe_3O_4 e os Nano-HDL, para controlar o campo de ação das forças de atração de Van der Waals durante o processo de automontagem.

Os nanocarreadores magnéticos automontados mostraram ser bastante promissores para atuarem como uma plataforma multifuncional para aplicações biomédicas. Quando expostos a um campo AMF, os nanocarreadores liberaram uma quantidade de calor suficiente ($> 46^\circ\text{C}$ na faixa de concentração de partícula de $5\text{-}14\text{ mg mL}^{-1}$) para levar a apoptose de células neoplásicas localizadas em uma glândula mamária (para um tempo de exposição de $t \sim 60\text{ min}$), conforme mostrado por simulações numéricas. A presença dos Nano-HDL na superfície das NP de Fe_3O_4 não bloqueia a transferência de calor entre as interfaces, o que é fundamental para que os nanocarreadores alcancem uma boa eficiência na HFM. Ao mesmo tempo, o calor gerado mostrou atuar como um estímulo externo para acelerar a liberação da droga DS localizada nos espaços interlamelares dos Nano-HDL de ZnAl. A potencialidade dos nanocarreadores magnéticos demonstrados nesta dissertação de mestrado para aplicações simultâneas de HFM e liberação controlada de droga expande ainda mais o campo de atuação destas estruturas multifuncionais.

Os resultados encontrados neste trabalho também podem ser utilizados como apoio para outros estudos envolvendo estabilidade coloidal, síntese e caracterização de nanomateriais, simulações numéricas para diferentes problemas físicos e aplicações biomédicas.

6.1. Perspectivas futuras

Análises adicionais precisarão ser realizadas no futuro para quantificar e qualificar algumas etapas já desenvolvidas neste trabalho. Entre elas:

- Monitorar a cinética de nucleação e crescimento dos Nano-HDL por SAXS/WAXS em diferentes temperaturas. Estas contribuirão para entender os mecanismos de nucleação sob condições que busquem reduzir o tempo da síntese.
- Realizar análises de Magnetômetro de Amostra Vibrante (VSM) para determinar a magnetização de saturação, M_s , das NP de PAA-Fe₃O₄ e do nanocarreador magnético automontado. Estes valores também poderão ser utilizados para simular um experimento típico de HFM a partir do método de elementos finitos e comparar com os valores experimentais obtidos.
- Monitorar a cinética de liberação de droga com campos H e frequência f alternadas, buscando otimizar os ensaios.

Do ponto de vista fundamental dos processos de automontagem utilizando Nano-HDL como blocos de construção para aplicações biomédicas, explorar as composições contendo Mn²⁺ como agente de contraste para RM, ampliara ainda mais o campo de aplicação destas estruturas.

As simulações numéricas de elementos finitos já demonstraram ser bastante poderosas para estudar uma série de aplicações biológica. Em especial, para a HFM, construir um modelo multifísico, que possibilite acoplar o transporte e a distribuição dos nanocarreadores magnéticos no tumor alvo, seguido da aplicação de um AMF com monitoramento de temperatura e dano térmico acoplado, ajudará a melhorar o *design* experimental e na evolução da HFM como uma terapia anticâncer

7. Referências

- [1] S. Senapati, A.K. Mahanta, S. Kumar, P. Maiti, Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance, *Signal Transduct. Target. Ther.* 3 (2018) 7. <https://doi.org/10.1038/s41392-017-0004-3>.
- [2] M. Liong, J. Lu, M. Kovochich, T. Xia, S.G. Ruehm, A.E. Nel, F. Tamanoi, J.I. Zink, Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery, *ACS Nano*. 2 (2008) 889–896. <https://doi.org/10.1021/nn800072t>.
- [3] K. Ariga, Q. Ji, M.J. McShane, Y.M. Lvov, A. Vinu, J.P. Hill, Inorganic Nanoarchitectonics for Biological Applications, *Chem. Mater.* 24 (2012) 728–737. <https://doi.org/10.1021/cm202281m>.
- [4] G. Lin, P. Mi, C. Chu, J. Zhang, G. Liu, Inorganic Nanocarriers Overcoming Multidrug Resistance for Cancer Theranostics, *Adv. Sci. (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Ger.)* 3 (2016) 1600134. <https://doi.org/10.1002/advs.201600134>.
- [5] P. Falagan-Lotsch, E.M. Grzincic, C.J. Murphy, New Advances in Nanotechnology-Based Diagnosis and Therapeutics for Breast Cancer: An Assessment of Active-Targeting Inorganic Nanoplatfroms, *Bioconjug. Chem.* 28 (2017) 135–152. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00591>.
- [6] D. Piché, I. Tavernaro, J. Fleddermann, J.G. Lozano, A. Varambhia, M.L. Maguire, M. Koch, T. Ukai, A.J. Hernández Rodríguez, L. Jones, F. Dillon, I. Reyes Molina, M. Mitzutani, E.R. González Dalmau, T. Maekawa, P.D. Nellist, A. Kraegeloh, N. Grobert, Targeted T1 Magnetic Resonance Imaging Contrast Enhancement with Extraordinarily Small CoFe₂O₄ Nanoparticles, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 11 (2019) 6724–6740. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b17162>.
- [7] L. Cheng, X. Wang, F. Gong, T. Liu, Z. Liu, 2D Nanomaterials for Cancer Theranostic Applications, *Adv. Mater.* 32 (2020) 1902333. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adma.201902333>.
- [8] J. Wen, K. Yang, J. Huang, S. Sun, Recent advances in LDH-based nanosystems for cancer therapy, *Mater. Des.* 198 (2021) 109298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109298>.
- [9] L. Peng, X. Mei, J. He, J. Xu, W. Zhang, R. Liang, M. Wei, D.G. Evans, X. Duan, Monolayer Nanosheets with an Extremely High Drug Loading toward Controlled Delivery

- 1 and Cancer Theranostics, *Adv. Mater.* 30 (2018) 1707389.
2 <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adma.201707389>.
- 3 [10] J. Yu, Q. Wang, D. O'Hare, L. Sun, Preparation of two dimensional layered double
4 hydroxide nanosheets and their applications, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 5950–5974.
5 <https://doi.org/10.1039/C7CS00318H>.
- 6 [11] C. Prasad, H. Tang, W. Liu, Magnetic Fe₃O₄ based layered double hydroxides (LDHs)
7 nanocomposites (Fe₃O₄/LDHs): recent review of progress in synthesis, properties and
8 applications, *J. Nanostructure Chem.* 8 (2018) 393–412. [https://doi.org/10.1007/s40097-](https://doi.org/10.1007/s40097-018-0289-y)
9 [018-0289-y](https://doi.org/10.1007/s40097-018-0289-y).
- 10 [12] L. Desigaux, M. Ben Belkacem, P. Richard, J. Cellier, P. Léone, L. Cario, F. Leroux, C.
11 Taviot-Guého, B. Pitard, Self-Assembly and Characterization of Layered Double
12 Hydroxide/DNA Hybrids, *Nano Lett.* 6 (2006) 199–204. <https://doi.org/10.1021/nl052020a>.
- 13 [13] W. Jin, D.-H. Park, Functional Layered Double Hydroxide Nanohybrids for Biomedical
14 Imaging, *Nanomater.* (Basel, Switzerland). 9 (2019).
15 <https://doi.org/10.3390/nano9101404>.
- 16 [14] L. Wang, H. Xing, S. Zhang, Q. Ren, L. Pan, K. Zhang, W. Bu, X. Zheng, L. Zhou, W.
17 Peng, Y. Hua, J. Shi, A Gd-doped Mg-Al-LDH/Au nanocomposite for CT/MR bimodal
18 imagings and simultaneous drug delivery, *Biomaterials.* 34 (2013) 3390–3401.
19 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.070>.
- 20 [15] J. Liu, L. Sun, L. Li, R. Zhang, Z.P. Xu, Synergistic Cancer Photochemotherapy via
21 Layered Double Hydroxide-Based Trimodal Nanomedicine at Very Low Therapeutic
22 Doses, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 13 (2021) 7115–7126.
23 <https://doi.org/10.1021/acsami.0c23143>.
- 24 [16] Y. Tokudome, G. Poologasundarampillai, K. Tachibana, H. Murata, A.J. Naylor, A.
25 Yoneyama, A. Nakahira, Curable Layered Double Hydroxide Nanoparticles-Based
26 Perfusion Contrast Agents for X-Ray Computed Tomography Imaging of Vascular
27 Structures, *Adv. NanoBiomed Res.* 2 (2022) 2100123.
28 <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anbr.202100123>.
- 29 [17] H. Zhang, D. Pan, K. Zou, J. He, X. Duan, A novel core-shell structured magnetic
30 organic-inorganic nanohybrid involving drug-intercalated layered double hydroxides
31 coated on a magnesium ferrite core for magnetically controlled drug release, *J. Mater.*
32 *Chem.* 19 (2009) 3069–3077. <https://doi.org/10.1039/B820176E>.

- [18] Y. Liu, Y. Wu, R. Zhang, J. Lam, J.C. Ng, Z.P. Xu, L. Li, H.T. Ta, Investigating the Use of Layered Double Hydroxide Nanoparticles as Carriers of Metal Oxides for Theranostics of ROS-Related Diseases, *ACS Appl. Bio Mater.* 2 (2019) 5930–5940. <https://doi.org/10.1021/acsabm.9b00852>.
- [19] D. Chang, M. Lim, J.A.C.M. Goos, R. Qiao, Y.Y. Ng, F.M. Mansfeld, M. Jackson, T.P. Davis, M. Kavallaris, Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations, *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 831. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00831>.
- [20] S. Moise, J.M. Byrne, A.J. El Haj, N.D. Telling, The potential of magnetic hyperthermia for triggering the differentiation of cancer cells, *Nanoscale.* 10 (2018) 20519–20525. <https://doi.org/10.1039/C8NR05946B>.
- [21] X. Liu, Y. Zhang, Y. Wang, W. Zhu, G. Li, X. Ma, Y. Zhang, S. Chen, S. Tiwari, K. Shi, S. Zhang, H.M. Fan, Y.X. Zhao, X.-J. Liang, Comprehensive understanding of magnetic hyperthermia for improving antitumor therapeutic efficacy, *Theranostics.* 10 (2020) 3793–3815. <https://doi.org/10.7150/thno.40805>.
- [22] D. Pan, H. Zhang, T. Fan, J. Chen, X. Duan, Nearly monodispersed core–shell structural Fe₃O₄@DFUR–LDH submicro particles for magnetically controlled drug delivery and release, *Chem. Commun.* 47 (2011) 908–910. <https://doi.org/10.1039/C0CC01313G>.
- [23] A.-C. Genix, J. Oberdisse, Nanoparticle self-assembly: from interactions in suspension to polymer nanocomposites, *Soft Matter.* 14 (2018) 5161–5179. <https://doi.org/10.1039/C8SM00430G>.
- [24] M. Suleman, S. Riaz, 3D in silico study of magnetic fluid hyperthermia of breast tumor using Fe₃O₄ magnetic nanoparticles, *J. Therm. Biol.* 91 (2020) 102635. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102635>.
- [25] K. Yue, X. Zhang, F. Yu, An analytic solution of one-dimensional steady-state Pennes' bioheat transfer equation in cylindrical coordinates, *J. Therm. Sci.* 13 (2004) 255–258. <https://doi.org/10.1007/s11630-004-0039-y>.
- [26] F. Cavani, F. Trifirò, A. Vaccari, Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications., *Catal. Today.* 11 (1991) 173–301. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0920-5861\(91\)80068-K](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0920-5861(91)80068-K).
- [27] E. Manasse, *Atti Soc Toscana Sc Nat Proc Verb, Atti Soc Toscana Sc Nat Proc Verb.* 24 (1915) 95.
- [28] W. Feitknecht, M. Gerber, *Zur Kenntnis der Doppelhydroxyde und basischen*

- Doppelsalze III. Über Magnesium-Aluminiumdoppelhydroxyd, *Helv. Chim. Acta.* 25 (1942) 131–137. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/hlca.19420250115>.
- [29] R. Allmann, The crystal structure of pyroaurite, *Acta Crystallogr. Sect. B.* 24 (1968) 972–977. <https://doi.org/https://doi.org/10.1107/S0567740868003511>.
- [30] H.F.W. Taylor, Segregation and cation-ordering in sjögrenite and pyroaurite, *Mineral. Mag.* 37 (1969) 338–342. <https://doi.org/DOI: 10.1180/minmag.1969.037.287.04>.
- [31] E.L. Crepaldi, J.B. Valim, Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações, *Quim. Nova.* 21 (1998) 300–311. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000300011>.
- [32] V. Rives, Structure and Bonding, in: *Clay Miner.*, 2018/07/09, Cambridge University Press, 2006: p. 879. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S0009855800022871>.
- [33] R.M.M. dos Santos, Rodrigo Moraes Menezes dos Santos Hidróxidos duplos lamelares (HDL) à base de cobre para produção de hidrogênio e outros produtos de valor agregado, 2020.
- [34] S. Miyata, The Syntheses of Hydrotalcite-Like Compounds and Their Structures and Physico-Chemical Properties—I: the Systems $Mg^{2+}-Al^{3+}-NO_3^-$, $Mg^{2+}-Al^{3+}-Cl^-$, $Mg^{2+}-Al^{3+}-ClO_4^-$, $Ni^{2+}-Al^{3+}-Cl^-$ and $Zn^{2+}-Al^{3+}-Cl^-$, *Clays Clay Miner.* 23 (1975) 369–375. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1975.0230508>.
- [35] S. Miyata, Anion-Exchange Properties of Hydrotalcite-Like Compounds, *Clays Clay Miner.* 31 (1983) 305–311. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1983.0310409>.
- [36] R. Santos, V. Briois, L. Martins, C. Santilli, Insights into the Preparation of Copper Catalysts Supported on Layered Double Hydroxide Derived Mixed Oxides for Ethanol Dehydrogenation, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 13 (n.d.) 26001–26012. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c04541>.
- [37] A.R. Passos, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, V. Briois, Operando monitoring of metal sites and coke evolution during non-oxidative and oxidative ethanol steam reforming over Ni and NiCu ex-hydrotalcite catalysts, *Catal. Today.* 336 (2019) 122–130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.12.054>.
- [38] R.M.M. Santos, J. Tronto, V. Briois, C. V Santilli, Thermal decomposition and recovery properties of ZnAl–CO₃ layered double hydroxide for anionic dye adsorption: insight into the aggregative nucleation and growth mechanism of the LDH memory effect, *J. Mater. Chem. A.* 5 (2017) 9998–10009. <https://doi.org/10.1039/C7TA00834A>.

- 1 [39] M. Pavlovic, R. Huber, M. Adok-Sipiczki, C. Nardin, I. Szilagyi, Ion specific effects on the
2 stability of layered double hydroxide colloids, *Soft Matter*. 12 (2016) 4024–4033.
3 <https://doi.org/10.1039/C5SM03023D>.
- 4 [40] M. Pavlovic, P. Rouster, T. Oncsik, I. Szilagyi, Tuning Colloidal Stability of Layered
5 Double Hydroxides: From Monovalent Ions to Polyelectrolytes, *Chempluschem*. 82
6 (2017) 121–131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cplu.201600295>.
- 7 [41] Y. TOKUDOME, Aqueous synthesis of metal hydroxides with controllable nano/macro
8 architectures, *J. Ceram. Soc. Japan*. 125 (2017) 597–602.
9 <https://doi.org/10.2109/jcersj2.17095>.
- 10 [42] Y. Tokudome, T. Morimoto, N. Tarutani, P.D. Vaz, C.D. Nunes, V. Prevot, G.B.G.
11 Stenning, M. Takahashi, Layered Double Hydroxide Nanoclusters: Aqueous,
12 Concentrated, Stable, and Catalytically Active Colloids toward Green Chemistry, *ACS*
13 *Nano*. 10 (2016) 5550–5559. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b02110>.
- 14 [43] A.E. Gash, T.M. Tillotson, J.H. Satcher, J.F. Poco, L.W. Hrubesh, R.L. Simpson, Use of
15 epoxides in the sol-gel synthesis of porous iron(III) oxide monoliths from Fe(III) salts,
16 *Chem. Mater*. 13 (2001) 999–1007. <https://doi.org/10.1021/cm0007611>.
- 17 [44] H. Koshikawa, H. Murase, T. Hayashi, K. Nakajima, H. Mashiko, S. Shiraishi, Y. Tsuji,
18 Single Nanometer-Sized NiFe-Layered Double Hydroxides as Anode Catalyst in Anion
19 Exchange Membrane Water Electrolysis Cell with Energy Conversion Efficiency of 74.7%
20 at 1.0 A cm⁻², *ACS Catal*. 10 (2020) 1886–1893.
21 <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b04505>.
- 22 [45] D. Kino, Y. Tokudome, P.D. Vaz, C.D. Nunes, M. Takahashi, Synthesis of Co–Al layered
23 double hydroxide nanoclusters as reduction nanocatalyst in aqueous media, *J. Asian*
24 *Ceram. Soc*. 5 (2017) 466–471. <https://doi.org/10.1016/j.jascr.2017.10.003>.
- 25 [46] S.M. Beekman, Preparation and Properties of New Gastric Antacids I**Received
26 September 2, 1959, from the Research Laboratory, Reheis Co., Inc., Berkeley Heights,
27 N. J.: Aluminum Hydroxide–Magnesium Carbonate Dried Gels, *J. Am. Pharm. Assoc.*
28 (Scientific Ed.). 49 (1960) 191–200.
29 <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jps.3030490404>.
- 30 [47] G. Mishra, B. Dash, S. Pandey, Layered double hydroxides: A brief review from
31 fundamentals to application as evolving biomaterials, *Appl. Clay Sci*. 153 (2018) 172–
32 186. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.12.021>.

- 1 [48] X. Bi, H. Zhang, L. Dou, Layered double hydroxide-based nanocarriers for drug delivery,
2 Pharmaceutics. 6 (2014) 298–332. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics6020298>.
- 3 [49] S. Senapati, T. Sarkar, P. Das, P. Maiti, Layered Double Hydroxide Nanoparticles for
4 Efficient Gene Delivery for Cancer Treatment, Bioconjug. Chem. 30 (2019) 2544–2554.
5 <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00434>.
- 6 [50] F. Cao, Y. Wang, Q. Ping, Z. Liao, Zn-Al-NO₃-layered double hydroxides with
7 intercalated diclofenac for ocular delivery, Int. J. Pharm. 404 (2011) 250–256.
8 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.11.013>.
- 9 [51] V.R.R. Cunha, R.B. De Souza, A.M.C.R.P. Da Fonseca Martins, I.H.J. Koh, V.R.L.
10 Constantino, Accessing the biocompatibility of layered double hydroxide by intramuscular
11 implantation: Histological and microcirculation evaluation, Sci. Rep. 6 (2016) 1–10.
12 <https://doi.org/10.1038/srep30547>.
- 13 [52] A.U. Kura, B. Saifullah, P.-S. Cheah, M.Z. Hussein, N. Azmi, S. Fakurazi, Acute oral
14 toxicity and biodistribution study of zinc-aluminium-levodopa nanocomposite, Nanoscale
15 Res. Lett. 10 (2015) 105. <https://doi.org/10.1186/s11671-015-0742-5>.
- 16 [53] S.-J. Choi, J.-M. Oh, J.-H. Choy, Safety aspect of inorganic layered nanoparticles: size-
17 dependency in vitro and in vivo., J. Nanosci. Nanotechnol. 8 (2008) 5297–5301.
18 <https://doi.org/10.1166/jnn.2008.1143>.
- 19 [54] Q. Zheng, Y. Hao, P. Ye, L. Guo, H. Wu, Q. Guo, J. Jiang, F. Fu, G. Chen, A pH-
20 responsive controlled release system using layered double hydroxide (LDH)-capped
21 mesoporous silica nanoparticles, J. Mater. Chem. B. 1 (2013) 1644–1648.
22 <https://doi.org/10.1039/C3TB00518F>.
- 23 [55] T.R.R. Timóteo, C.G. de Melo, L.J. de A. Danda, L.C.P.B.B. Silva, D.A.F. Fontes, P.C.D.
24 Silva, C.S.B. Aguilera, L. da P. Siqueira, L.A. Rolim, P.J. Rolim Neto, Layered double
25 hydroxides of CaAl: A promising drug delivery system for increased dissolution rate and
26 thermal stability of praziquantel, Appl. Clay Sci. 180 (2019) 105197.
27 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105197>.
- 28 [56] M.L. Parello, R. Rojas, C.E. Giacomelli, Dissolution kinetics and mechanism of Mg–Al
29 layered double hydroxides: A simple approach to describe drug release in acid media, J.
30 Colloid Interface Sci. 351 (2010) 134–139.
31 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.07.053>.
- 32 [57] Z. Cao, B. Li, L. Sun, L. Li, Z.P. Xu, Z. Gu, 2D Layered Double Hydroxide Nanoparticles:

- Recent Progress toward Preclinical/Clinical Nanomedicine, *Small Methods*. 4 (2020) 1900343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/smtd.201900343>.
- [58] B. Li, Z. Gu, N. Kurniawan, W. Chen, Z.P. Xu, Manganese-Based Layered Double Hydroxide Nanoparticles as a T1-MRI Contrast Agent with Ultrasensitive pH Response and High Relaxivity, *Adv. Mater.* 29 (2017) 1700373. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adma.201700373>.
- [59] L.S. Arias, J.P. Pessan, A.P.M. Vieira, T.M.T. de Lima, A.C.B. Delbem, D.R. Monteiro, Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity, *Antibiot. (Basel, Switzerland)*. 7 (2018) 46. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020046>.
- [60] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R.N. Muller, Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>.
- [61] M.D. Nguyen, H.-V. Tran, S. Xu, T.R. Lee, Fe₃O₄ Nanoparticles: Structures, Synthesis, Magnetic Properties, Surface Functionalization, and Emerging Applications, *Appl. Sci.* . 11 (2021). <https://doi.org/10.3390/app112311301>.
- [62] U.S. Rochelle M. Cornell, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, 2nd ed., Wiley-VCH, 2003.
- [63] Ö. Dunlop, D.J. and Özdemir, *Rock Magnetism Fundamentals and frontiers*, 1st ed., Cambridge University Press, 1997. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511612794>.
- [64] K.M. Krishnan, *Fundamentals and Applications of Magnetic Materials*, 1st ed., UK: Oxford University Press, 816. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199570447.001.0001>.
- [65] J.H. Van Vleck, Quantum mechanics-The key to understanding magnetism, *Rev. Mod. Phys.* 50 (1978) 181–189. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.50.181>.
- [66] R.E. Rosensweig, Heating magnetic fluid with alternating magnetic field, *J. Magn. Magn. Mater.* 252 (2002) 370–374. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-8853\(02\)00706-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-8853(02)00706-0).
- [67] Y. Piñeiro, Z. Vargas, J. Rivas, M.A. López-Quintela, Iron Oxide Based Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Strategies in Biological Applications, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2015 (2015) 4495–4509. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejic.201500598>.
- [68] Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz to 100

- kHz), *Health Phys.* 99 (2010) 818–836. <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e3181f06c86>.
- [69] Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, *Health Phys.* 74 (1998) 494–522.
- [70] K.J. Henle, Sensitization to hyperthermia below 43 degrees C induced in Chinese hamster ovary cells by step-down heating, *J. Natl. Cancer Inst.* 64 (1980) 1479–1483. <https://doi.org/10.1093/jnci/64.6.1479>.
- [71] G.C. Li, G.M. Hahn, A proposed operational model of thermotolerance based on effects of nutrients and the initial treatment temperature., *Cancer Res.* 40 (1980) 4501–4508.
- [72] M. Torres-Lugo, C. Rinaldi, Thermal potentiation of chemotherapy by magnetic nanoparticles, *Nanomedicine (Lond)*. 8 (2013) 1689–1707. <https://doi.org/10.2217/nnm.13.146>.
- [73] A. Attaluri, S.K. Kandala, M. Wabler, H. Zhou, C. Cornejo, M. Armour, M. Hedayati, Y. Zhang, T.L. DeWeese, C. Herman, R. Ivkov, Magnetic nanoparticle hyperthermia enhances radiation therapy: A study in mouse models of human prostate cancer, *Int. J. Hyperthermia*. 31 (2015) 359–374. <https://doi.org/10.3109/02656736.2015.1005178>.
- [74] A.J. Cole, V.C. Yang, A.E. David, Cancer theranostics: the rise of targeted magnetic nanoparticles., *Trends Biotechnol.* 29 (2011) 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.03.001>.
- [75] S. Wilhelm, A.J. Tavares, Q. Dai, S. Ohta, J. Audet, H.F. Dvorak, W.C.W. Chan, Analysis of nanoparticle delivery to tumours, *Nat. Rev. Mater.* 1 (2016) 16014. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.14>.
- [76] T. Hueckel, G.M. Hocky, S. Sacanna, Total synthesis of colloidal matter, *Nat. Rev. Mater.* 6 (2021) 1053–1069. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00323-x>.
- [77] S. Shrestha, B. Wang, P. Dutta, Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation, *Adv. Colloid Interface Sci.* 279 (2020) 102162. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102162>.
- [78] O.Z. Sharaf, R.A. Taylor, E. Abu-Nada, On the Colloidal and Chemical Stability of Solar Nanofluids: From Nanoscale Interactions to Recent Advances, *Phys. Rep.* 867 (2020) 1–84. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2020.125425>.
- [79] M. Szabados, A. Gácsi, Y. Gulyás, Z. Kónya, Á. Kukovecz, E. Csányi, I. Pálinkó, P. Sipos, Conventional or mechanochemically-aided intercalation of diclofenac and

- naproxen anions into the interlamellar space of CaFe-layered double hydroxides and their application as dermal drug delivery systems, *Appl. Clay Sci.* 212 (2021) 106233. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clay.2021.106233>.
- [80] Renb Massart, Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media, *IEEE Trans. Magn.* 17 (1981) 1247–1248. <https://doi.org/10.1109/TMAG.1981.1061188>.
- [81] J.-F. Berret, O. Sandre, A. Mauger, Size Distribution of Superparamagnetic Particles Determined by Magnetic Sedimentation, *Langmuir*. 23 (2007) 2993–2999. <https://doi.org/10.1021/la061958w>.
- [82] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P. Halenda, The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 373–380. <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>.
- [83] W. Rasband, ImageJ, Natl. Institutes Heal. (n.d.).
- [84] SasView version 5.0.3, (2020). <https://doi.org/10.5281/zenodo.3930098>.
- [85] J. Ilavsky, P.R. Jemian, Irena: Tool suite for modeling and analysis of small-angle scattering, *J. Appl. Crystallogr.* 42 (2009) 347–353. <https://doi.org/10.1107/S0021889809002222>.
- [86] F. Babick, *Suspensions of Colloidal Particles and Aggregates*, 1st ed., Springer International Publishing, 2016. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-30663-6>.
- [87] S.W. Provencher, CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations, *Comput. Phys. Commun.* 27 (1982) 229–242. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0010-4655\(82\)90174-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0010-4655(82)90174-6).
- [88] L. B. Derjaguin; Landau, Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes, *Acta Physicochim. U.R.S.S.* 14 (1941) 633–662.
- [89] J.T.G. Overbeek, Theorie der Elektrophorese - Der Relaxationseffekt, *Kolloid-Beihefte*. 54 (1943) 287–364. <https://doi.org/10.1007/BF02556774>.
- [90] H. Xu, Q. Yao, C. Cai, J. Gou, Y. Zhang, H. Zhong, X. Tang, Amphiphilic poly(amino acid) based micelles applied to drug delivery: The in vitro and in vivo challenges and the corresponding potential strategies, *J. Control. Release*. 199 (2015) 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.012>.
- [91] B. Vincent, J. Edwards, S. Emmett, A. Jones, Depletion flocculation in dispersions of sterically-stabilised particles (“soft spheres”), *Colloids and Surfaces*. 18 (1986) 261–281.

- [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0166-6622\(86\)80317-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0166-6622(86)80317-1).
- [92] B. Hammouda, A new Guinier–Porod model, *J. Appl. Crystallogr.* 43 (2010) 716–719. <https://doi.org/https://doi.org/10.1107/S0021889810015773>.
- [93] P.B. Moore, Small-angle scattering. Information content and error analysis, *J. Appl. Crystallogr.* 13 (1980) 168–175. <https://doi.org/10.1107/s002188988001179x>.
- [94] O. Kratky, O. Glatter, *Small Angle X-ray Scattering*, Academic Press Inc, 1982.
- [95] Z. Cao, N.N.M. Adnan, G. Wang, A. Rawal, B. Shi, R. Liu, K. Liang, L. Zhao, J.J. Gooding, C. Boyer, Z. Gu, Enhanced colloidal stability and protein resistance of layered double hydroxide nanoparticles with phosphonic acid-terminated PEG coating for drug delivery, *J. Colloid Interface Sci.* 521 (2018) 242–251. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.03.006>.
- [96] B.L. Caetano, C. V. Santilli, F. Meneau, V. Briois, S.H. Pulcinelli, In situ and simultaneous UV-vis/SAXS and UV-vis/XAFS time-resolved monitoring of ZnO quantum dots formation and growth, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 4404–4412. <https://doi.org/10.1021/jp109585t>.
- [97] A.R. Passos, S.H. Pulcinelli, C. V Santilli, Relevance of sol–gel transition and spinodal decomposition for hierarchical porosity structure of monolithic alumina, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 102 (2022) 6–17. <https://doi.org/10.1007/s10971-021-05620-z>.
- [98] B.L. Caetano, M.N. Silva, C. V Santilli, V. Briois, S.H. Pulcinelli, Unified ZnO Q-dot growth mechanism from simultaneous UV–Vis and EXAFS monitoring of sol-gel reactions induced by different alkali base, *Opt. Mater. (Amst)*. 61 (2016) 92–97. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.optmat.2016.06.038>.
- [99] T.L.P. Galvão, C.S. Neves, A.P.F. Caetano, F. Maia, D. Mata, E. Malheiro, M.J. Ferreira, A.C. Bastos, A.N. Salak, J.R.B. Gomes, J. Tedim, M.G.S. Ferreira, Control of crystallite and particle size in the synthesis of layered double hydroxides: Macromolecular insights and a complementary modeling tool, *J. Colloid Interface Sci.* 468 (2016) 86–94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.01.038>.
- [100] T.O. Hido Loshimura, Solvent extraction of metals by alkyl-substituted β -diketone, *Anal. Chim. Acta*. 49 (1970) 67–75.
- [101] J. Lyklema, Principles of interactions in non-aqueous electrolyte solutions, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 18 (2013) 116–128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cocis.2013.02.002>.
- [102] A. dos Santos, M.F. Viante, D.J. Pochapski, A.J. Downs, C.A.P. Almeida, Enhanced

- removal of p-nitrophenol from aqueous media by montmorillonite clay modified with a cationic surfactant, *J. Hazard. Mater.* 355 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.02.041>.
- [103] T.J. Daou, S. Begin-Colin, J.M. Grenèche, F. Thomas, A. Derory, P. Bernhardt, P. Legaré, G. Pourroy, Phosphate adsorption properties of magnetite-based nanoparticles, *Chem. Mater.* 19 (2007) 4494–4505. <https://doi.org/10.1021/cm071046v>.
- [104] E. Di Iorio, C. Colombo, Z. Cheng, G. Capitani, D. Mele, G. Ventruti, R. Angelico, Characterization of magnetite nanoparticles synthesized from Fe(II)/nitrate solutions for arsenic removal from water, *J. Environ. Chem. Eng.* 7 (2019) 102986. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102986>.
- [105] N.S. McIntyre, D.G. Zetaruk, X-ray Photoelectron Spectroscopic Studies of Iron Oxides, *Anal. Chem.* 49 (1977) 1521–1529. <https://doi.org/10.1021/ac50019a016>.
- [106] E.S. Emídio, P. Hammer, R.F.P. Nogueira, Simultaneous degradation of the anticancer drugs 5-fluorouracil and cyclophosphamide using a heterogeneous photo-Fenton process based on copper-containing magnetites (Fe₃-xCu_xO₄), *Chemosphere.* 241 (2020) 124990. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124990>.
- [107] J. Matthew, Surface analysis by Auger and x-ray photoelectron spectroscopy. D. Briggs and J. T. Grant (eds). IMPublications, Chichester, UK and SurfaceSpectra, Manchester, UK, 2003. 900 pp., ISBN 1-901019-04-7, 900 pp, *Surf. Interface Anal.* 36 (2004) 1647–1647. <https://doi.org/10.1002/sia.2005>.
- [108] K. Asghar, M. Qasim, G. Dharmapuri, D. Das, Investigation on a smart nanocarrier with a mesoporous magnetic core and thermo-responsive shell for co-delivery of doxorubicin and curcumin: A new approach towards combination therapy of cancer, *RSC Adv.* 7 (2017) 28802–28818. <https://doi.org/10.1039/c7ra03735j>.
- [109] J.A. Ramos Guivar, E. Sadrollahi, D. Menzel, E.G. Ramos Fernandes, E.O. López, M.M. Torres, J.M. Arsuaga, A. Arencibia, F.J. Litterst, Magnetic, structural and surface properties of functionalized maghemite nanoparticles for copper and lead adsorption, *RSC Adv.* 7 (2017) 28763–28779. <https://doi.org/10.1039/c7ra02750h>.
- [110] T.J. Daou, G. Pourroy, S. Bégin-Colin, J.M. Grenèche, C. Ulhaq-Bouillet, P. Legaré, P. Bernhardt, C. Leuvrey, G. Rogez, Hydrothermal synthesis of monodisperse magnetite nanoparticles, *Chem. Mater.* 18 (2006) 4399–4404. <https://doi.org/10.1021/cm060805r>.
- [111] G. García Rubia, A. Peigneux, Y. Jabalera, J. Puerma, F. Oltolina, K. Elert, D. Colangelo,

- J. Gómez Morales, M. Prat, C. Jimenez-Lopez, pH-Dependent Adsorption Release of Doxorubicin on MamC-Biomimetic Magnetite Nanoparticles, *Langmuir*. 34 (2018) 13713–13724. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03109>.
- [112] J. Teixeira, Small-angle scattering by fractal systems, *J. Appl. Crystallogr.* 21 (1988) 781–785. <https://doi.org/10.1107/S0021889888000263>.
- [113] T. Li, A.J. Senesi, B. Lee, Small Angle X-ray Scattering for Nanoparticle Research, *Chem. Rev.* 116 (2016) 11128–11180. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00690>.
- [114] G. Beaucage, D.W. Schaefer, Structural studies of complex systems using small-angle scattering: a unified Guinier/power-law approach, *J. Non. Cryst. Solids*. 172–174 (1994) 797–805. [https://doi.org/10.1016/0022-3093\(94\)90581-9](https://doi.org/10.1016/0022-3093(94)90581-9).
- [115] G. Beaucage, Approximations Leading to a Unified Exponential/Power-Law Approach to Small-Angle Scattering, *J. Appl. Crystallogr.* 28 (1995) 717–728. <https://doi.org/10.1107/s0021889895005292>.
- [116] P.J. Vikesland, R.L. Rebodos, J.Y. Bottero, J. Rose, A. Masion, Aggregation and sedimentation of magnetite nanoparticle clusters, *Environ. Sci. Nano*. 3 (2016) 567–577. <https://doi.org/10.1039/c5en00155b>.
- [117] M. Barale, G. Lefèvre, F. Carrette, H. Catalette, M. Fédoroff, G. Cote, Effect of the adsorption of lithium and borate species on the zeta potential of particles of cobalt ferrite, nickel ferrite, and magnetite, *J. Colloid Interface Sci.* 328 (2008) 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.09.007>.
- [118] M. Andrés-Vergés, M. Del Puerto Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, F.J. Palomares, C.J. Serna, Core/shell magnetite/bismuth oxide nanocrystals with tunable size, colloidal, and magnetic properties, *Chem. Mater.* 24 (2012) 319–324. <https://doi.org/10.1021/cm202949q>.
- [119] J.L. Viota, F.J. Arroyo, A. V. Delgado, J. Horno, Electrokinetic characterization of magnetite nanoparticles functionalized with amino acids, *J. Colloid Interface Sci.* 344 (2010) 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.11.061>.
- [120] Y. Zhou, Y. Zhang, P. Li, G. Li, T. Jiang, Comparative study on the adsorption interactions of humic acid onto natural magnetite, hematite and quartz: Effect of initial HA concentration, *Powder Technol.* 251 (2014) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.10.011>.
- [121] J.L. Arias, M.A. Ruiz, V. Gallardo, Á. V. Delgado, Tegafur loading and release properties

- of magnetite/poly(alkylcyanoacrylate) (core/shell) nanoparticles, *J. Control. Release.* 125 (2008) 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.09.008>.
- [122] Q. Liang, D. Zhao, T. Qian, K. Freeland, Y. Feng, Effects of stabilizers and water chemistry on arsenate sorption by polysaccharide-stabilized magnetite nanoparticles, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 (2012) 2407–2418. <https://doi.org/10.1021/ie201801d>.
- [123] F. Thomas, A. Derory, P. Bernhardt, P. Legare, L. De Physique, D.L.E. Condense, U.M.R.C. Inpl, L. Pasteur, Phosphate Adsorption Properties of Magnetite-Based Nanoparticles, *Chem. Mater.* 19 (2007) 4494–4505.
- [124] M. Erdemoğlu, M. Sarikaya, Effects of heavy metals and oxalate on the zeta potential of magnetite, *J. Colloid Interface Sci.* 300 (2006) 795–804. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.04.004>.
- [125] K. Schießl, F. Babick, M. Stintz, Calculation of double layer interaction between colloidal aggregates, *Adv. Powder Technol.* 23 (2012) 139–147. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.appt.2011.01.005>.
- [126] F. Babick, K. Schießl, M. Stintz, Van-der-Waals interaction between two fractal aggregates, *Adv. Powder Technol.* 22 (2011) 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2010.11.014>.
- [127] J.C. Fernández-Toledano, A. Moncho-Jordá, F. Martínez-López, A.E. González, R. Hidalgo-Álvarez, Two-dimensional colloidal aggregation mediated by the range of repulsive interactions, *Phys. Rev. E.* 75 (2007) 41408. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.75.041408>.
- [128] M.N. Martin, A.J. Allen, R.I. Maccuspie, V.A. Hackley, Dissolution, agglomerate morphology, and stability limits of protein-coated silver nanoparticles, *Langmuir.* 30 (2014) 11442–11452. <https://doi.org/10.1021/la502973z>.
- [129] A. Videcoq, M. Han, P. Abélard, C. Pagnoux, F. Rossignol, R. Ferrando, Influence of the potential range on the aggregation of colloidal particles, *Phys. A Stat. Mech. Its Appl.* 374 (2007) 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.physa.2006.08.051>.
- [130] F. Schué, *Colloids and interfaces with surfactants and polymers: an introduction*, John Wiley & Sons, Ltd, 2004. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/pi.1640>.
- [131] N.M. Kovalchuk, D. Johnson, V. Sobolev, N. Hilal, V. Starov, Interactions between nanoparticles in nanosuspension, *Adv. Colloid Interface Sci.* 272 (2019) 102020. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102020>.

- [132] Y.T. He, J. Wan, T. Tokunaga, Kinetic stability of hematite nanoparticles: the effect of particle sizes, *J. Nanoparticle Res.* 10 (2008) 321–332. <https://doi.org/10.1007/s11051-007-9255-1>.
- [133] D. Lerche, T. Sobisch, Evaluation of particle interactions by in situ visualization of separation behaviour, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 440 (2014) 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.10.015>.
- [134] J. Fresnais, M. Yan, J. Courtois, T. Bostelmann, A. Bée, J.-F. Berret, Poly(acrylic acid)-coated iron oxide nanoparticles: Quantitative evaluation of the coating properties and applications for the removal of a pollutant dye, *J. Colloid Interface Sci.* 395 (2013) 24–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.12.011>.
- [135] H. Li, B. Liu, X. Zhang, C. Gao, J. Shen, G. Zou, Single-Molecule Force Spectroscopy on Poly(acrylic acid) by AFM, *Langmuir.* 15 (1999) 2120–2124. <https://doi.org/10.1021/la9800304>.
- [136] T. Hueckel, G.M. Hocky, J. Palacci, S. Sacanna, Ionic solids from common colloids, *Nature.* 580 (2020) 487–490. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2205-0>.
- [137] L. Lu, J. Li, D.H.L. Ng, P. Yang, P. Song, M. Zuo, Synthesis of novel hierarchically porous Fe₃O₄@MgAl-LDH magnetic microspheres and its superb adsorption properties of dye from water, *J. Ind. Eng. Chem.* 46 (2017) 315–323. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.10.045>.
- [138] H. Liao, Y. Jia, L. Wang, Q. Yin, J. Han, X. Sun, M. Wei, Size Effect of Layered Double Hydroxide Platelets on the Crystallization Behavior of Isotactic Polypropylene., *ACS Omega.* 2 (2017) 4253–4260. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00621>.
- [139] G. Viscusi, G. Gorrasi, Facile preparation of layered double hydroxide (LDH)-alginate beads as sustainable system for the triggered release of diclofenac: Effect of pH and temperature on release rate, *Int. J. Biol. Macromol.* 184 (2021) 271–281. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.217>.
- [140] P.S. Yarmolenko, E.J. Moon, C. Landon, A. Manzoor, D.W. Hochman, B.L. Viglianti, M.W. Dewhirst, c, *Int. J. Hyperthermia.* 27 (2011) 320–343. <https://doi.org/10.3109/02656736.2010.534527>.
- [141] L.-A. Tai, P.-J. Tsai, Y.-C. Wang, Y.-J. Wang, L.-W. Lo, C.-S. Yang, Thermosensitive liposomes entrapping iron oxide nanoparticles for controllable drug release., *Nanotechnology.* 20 (2009) 135101. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/13/135101>.

- 1 [142] J. Morán, A. Fuentes, F. Liu, J. Yon, FracVAL: An improved tunable algorithm of cluster–
2 cluster aggregation for generation of fractal structures formed by polydisperse primary
3 particles, *Comput. Phys. Commun.* 239 (2019) 225–237.
4 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cpc.2019.01.015>.
- 5 [143] D.J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, G.W. Leite, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Zeta
6 Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions:
7 Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of
8 Results, *Langmuir*. 37 (2021) 13379–13389.
9 <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c02056>.
- 10 [144] L.A. Wijenayaka, M.R. Ivanov, C.M. Cheatum, A.J. Haes, Improved Parametrization for
11 Extended Derjaguin, Landau, Verwey, and Overbeek Predictions of Functionalized Gold
12 Nanosphere Stability, *J. Phys. Chem. C*. 119 (2015) 10064–10075.
13 <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b00483>.
- 14 [145] K.-H. Naumann, H. Bunz, 18 P 32 Van Der Waals interactions between fractal particles,
15 *J. Aerosol Sci.* 24 (1993) S181–S182. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-8502(93)90183-A)
16 [8502\(93\)90183-A](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-8502(93)90183-A).
- 17 [146] D.J. Pochapski, C. Carvalho dos Santos, G.W. Leite, S.H. Pulcinelli, C.V. Santilli, Zeta
18 Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions:
19 Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of
20 Results, *Langmuir*. 37 (2021) 13379–13389.
21 <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c02056>.
- 22 [147] H.H. Pennes, Analysis of Tissue and Arterial Blood Temperatures in the Resting Human
23 Forearm, *J. Appl. Physiol.* 1 (1948) 93–122. <https://doi.org/10.1152/jappl.1948.1.2.93>.
- 24 [148] P. Hasgall, E. Neufeld, M.-C. Gosselin, A. Klingenböck, N. Kuster, ITIS Database for
25 thermal and electromagnetic parameters of biological tissues, Version 2.2, Sept. 26th.
26 (2011).
- 27 [149] A. de Roy, C. Forano, J.P. Besse, Anionic clays. Trends in pillaring chemistry, *Am.*
28 *Chem. Soc. Div. Pet. Chem. Prepr.* 36 (1991) 395. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8866-1_7)
29 [8866-1_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8866-1_7).
- 30 [150] M. Safiur Rahman, M. Whalen, G.A. Gagnon, Adsorption of dissolved organic matter
31 (DOM) onto the synthetic iron pipe corrosion scales (goethite and magnetite): Effect of
32 pH, *Chem. Eng. J.* 234 (2013) 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.08.077>.

Apêndice. Análise e Ajuste Teórico dos Perfis Experimentais SAXS

A.1. Descrições dos Modelos e Abordagens Adotadas para as Análises

Para as NP de HDL, o modelo de Guinier-Porod foi usado para ajustas dos perfis experimentais SAXS como se segue [92]:

$$I_i(q) = \begin{cases} \frac{G}{Q^s} e^{\left[\frac{-Q^2 R_g^2}{3-s}\right]} & \text{para } Q \leq Q_1 \\ \frac{D}{Q^m} & \text{para } Q \geq Q_1 \end{cases} \quad (\text{A1})$$

$$Q_1 = \frac{1}{R_g} \sqrt{(m-s) \left(3 - \frac{s}{2}\right)} \quad (\text{A2})$$

$$D = \frac{G}{R_g^{m-s}} e^{\left[-\frac{m-s}{2}\right]} \left(\frac{(m-s)(3-s)}{2}\right)^{\frac{m-s}{2}}. \quad (\text{A3})$$

Onde G e D são os fatores de escala. Este modelo é a forma generalizada da lei de Guinier/potência, aplicados para objetos alongados, onde $s = 0$ corresponde ao espalhamento de objetos globulares 3D tipo esferas, $s = 1$ para hastes, $s = 2$ para lamelas ou plaquetas. O modelo unificado de Guinier e Porod, proposto por Beaucage e Schaefer [2,3], foi usado para ajustar os perfis experimentais SAXS para as NP de Fe_3O_4 como se segue:

$$I_i(q) = \sum_{i=1}^N G_i e^{\frac{q^2 R_{gi}^2}{3}} + e^{\frac{q^2 R_{gi}^2 (i+1)}{3}} B_i \left\{ \frac{\left(\text{erf} \left(\frac{q R_{gi}}{\sqrt{6}} \right) \right)^3}{q} \right\}^{P_i}, \quad (\text{A4})$$

onde, N é o número de níveis estruturais, R_{gi} é o raio de giro do nível i , P_i é o expoente da lei de potência, G_i é o pré-fator de Guinier e B_i é um pré-fator constante específico para o tipo de espalhamento de lei de potência observado. Representações aleató-

1 rias dos agregados fractais de massa formado pelas NP primárias de Fe₃O foi gerado
 2 usando o algoritmo FracVAL, de acordo com a seguinte equação [142]:

$$N_p = k_f \left(\frac{R_{g2}}{R_{g1}} \right)^{D_f}, \quad (A5)$$

3 onde, N_p é o número de partículas no agregado, k_f é uma constante de proporcionali-
 4 dade (ou pré-fator fractal), e R_{g1} e R_{g2} são o raio de giro da NP primária e do agregado
 5 fractal, respectivamente. O método de transformada de Fourier independente da forma
 6 foi usado para calcular a função de correlação de pares, $p(r)$, para as NP de HDL e de
 7 Fe₃O₄, assumindo que a intensidade medida é proporcional ao número de partícula [5]:

$$I(q) = NI_I(q) \quad (A6)$$

$$I_I(q) = 4\pi \int_0^\infty p(r) \frac{\sin(qr)}{qr} dq \quad (A7)$$

$$p(r) = \frac{r^2}{2\pi^2} \int_0^\infty q^2 I_I(q) \frac{\sin(qr)}{qr} dq. \quad (A8)$$

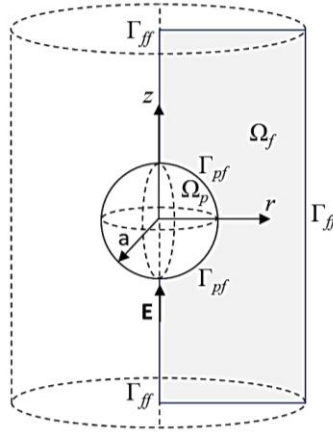
A. Apêndice. Simulações Eletrodinâmicas Dependentes do Tempo para a Determinação do Potencial Zeta (potencial- ζ)

Medir o *potencial- ζ* de dispersões de NP é uma prática muito comum para determinar a estabilidade coloidal de dispersões de partícula estabilizadas por carga. Em geral, os valores de *potencial- ζ* entre ± 30 e ± 40 mV são considerados indicativos de estabilidade eletrostática moderada, enquanto valores acima de ± 40 mV evidenciam a estabilidade eletrostática das NP. No entanto, o *potencial- ζ* não é uma propriedade diretamente mensurável, então é necessário fazer suposições de modelo para converter a μ_e experimentalmente mensurável, em valores de *potencial- ζ* . O requisito básico para obter a magnitude correta dos valores de *potencial- ζ* é que o modelo eletrocinético aplicado esteja dentro de sua faixa de validade. Na prática, isso implica que os fenômenos desenvolvidos durante as medições de μ_e (por exemplo, sobreposição e polarização das EDL, condução da superfície, etc) sejam contabilizados pelo modelo. No entanto, não existe uma solução analítica onde todos os fenômenos desenvolvidos durante as medições de μ_e sejam contabilizados. Portanto, cálculos numéricos precisam ser utilizados. Neste apêndice, o modelo numérico construído neste trabalho para converter os valores experimentais de μ_e em valores de *potencial- ζ* é apresentado.

B. Definição do Problema

Considere uma NP esférica de raio a , com uma densidade de carga superficial homogênea, σ_p , cercada por uma solução eletrolítica de valência z_i e concentração de bulk (número) n_i^∞ (**Figura B1**). Por conveniência, um domínio de computação cilíndrico é definido para descrever o problema. Se um campo elétrico externo $\mathbf{E}$ é aplicado na direção z negativa, a NP começa a transladar na direção negativa de z . A solução eletrodinâmica completa para o problema é dada resolvendo o potencial elétrico, as concentrações de íons e o fluxo de fluido em função do tempo. O presente problema é bidimensional (devido ao alto custo computacional) e, portanto, optamos por trabalhar

1 nas coordenadas cilíndricas (r, z) com a origem no centro do NP. As equações que
 2 governam o presente problema e as condições de contorno associadas são resumidas
 3 a seguir.



4
 5 **Figura B1.** Eletroforese de uma NP esférica rígida de raio a ao longo do eixo z de um
 6 domínio de computação cilíndrico. O sistema de coordenadas é fixado no centro da NP. Fonte:
 7 o autor.

8 B.2 Equações Governantes

9 No domínio sólido dielétrico da partícula, Ω_p , não há carga livre ou fluxo e, por-
 10 tanto, nós temos que resolver apenas a equação de Laplace para o potencial elétrico:

$$\nabla^2 \phi = 0. \quad \text{B1)}$$

11 Dentro do domínio do fluido, Ω_f , nós temos que resolver o potencial elétrico, a
 12 concentração de íons e o fluxo de fluido (ou seja, do eletrólito). O potencial elétrico é
 13 descrito pela equação de Poission,

$$\nabla^2 \phi + \frac{F}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} \sum_i z_i c_i = 0, \quad \text{(B2)}$$

1 onde ε_0 e ε_r são as permissividades do vácuo e da solução, respectivamente; F é a
 2 constante de Faraday; z_i e c_i são a valência e concentração dos íons, respectivamente.
 3 O transporte dos íons devido aos mecanismos de difusão, migração e convecção são
 4 descritos pelas equações de Nernst-Planck e da continuidade,

$$\frac{\partial n_i}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_i(\mathbf{r}, t) = \nabla \cdot [D_i \nabla n_i + u_i n_i \nabla \phi - n_i \mathbf{u}], \quad \text{B3)}$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0, \quad \text{B4)}$$

5 onde $n_i(\mathbf{r}, t)$ e $\mathbf{J}_i(\mathbf{r}, t)$ são as densidades numéricas das espécies i e o fluxo de íons
 6 na posição $\mathbf{r}$ e tempo t , respectivamente; D_i e u_i são os coeficientes de difusão e mo-
 7 bilidade iônica das espécies i , respectivamente; $\mathbf{u}$ é a velocidade do fluído. O fluxo de
 8 fluído é descrito pela equação de continuidade e de Navier-Stokes,

$$\rho \left(\frac{d\mathbf{u}}{dt} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right) = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} - \nabla \phi \sum_i z_i e n_i - \rho \frac{d\mathbf{u}_{part}}{dt}, \quad \text{B5)}$$

9 onde p é a pressão, η a viscosidade e $\mathbf{u}_{part}$ é a velocidade da partícula. O termo
 10 $\mathbf{u}_{part}$ é adicionado na equação de Navier-Stokes, uma vez que o estado estacionário
 11 da partícula (repouso) é usado como referencial.

12 **B.3. Condições de Contorno**

13 As condições de contorno assumidas para resolver as equações DESCRITAS
 14 acima, estão resumidas na **tabela B1**.

15

16

17

1 **Tabela A1-** Condições de contorno para o problema.

Equação	Contorno	Condição	Descrição
Poisson	Γ_{pf}	$\mathbf{n}[\varepsilon_0\varepsilon_r(\nabla\phi)_f - \varepsilon_0\varepsilon_r(\nabla\phi)_p] = \mathbf{0}$	Densidade de caga superficial;
	Γ_{ff}	$\phi = E_{ext}z$	Campo elétrico externo;
Nernst-Palnick	Γ_{pf}	$\mathbf{n} \cdot \mathbf{J}_i = 0$	Superfície impermeável;
	Γ_{ff}	$n_i = n_0$	Concentração igual ao bulk;
Navier-Stokes	Γ_{pf}	$\mathbf{u} = 0$	Superfície impermeável;
	Γ_{ff}	$\underline{\underline{\sigma}} \cdot \mathbf{n} = 0, p = 0$	Sem estresse, pressão constante;

2 É importante notar que o problema é axi-simétrico, o que implica que a deriva-
3 da radial de todas as várias é zero no eixo z ($\partial/\partial r = 0$). Portanto, $\partial\phi/\partial r = 0$,
4 $\partial n_{\pm}/\partial r = 0$ e $\partial u_r/\partial r = \partial u_z/\partial r = \partial p/\partial r = 0$.

5 **B.3 Cálculo das Forças Elétricas e Hidrodinâmicas**

6 Uma partícula dispersa em um fluido, experimenta uma força de superfície
7 devido à pressão e ao estresse viscoso. A força total experimentada pela partícula é
8 calculada integrando toda a superfície S ,

$$\overrightarrow{F_D} = \oint_S \mathbf{n} \cdot \underline{\underline{\sigma}} d\vec{S}.$$

B6)

9 Após a aplicação do campo elétrico $\mathbf{E}$, a partícula experimenta uma força elé-
10 trica, dada por:

$$\vec{F}_E = \oint_S \underline{\underline{T}} \cdot \underline{\underline{n}} d\vec{S}, \quad \text{B7)}$$

1 onde $\underline{\underline{T}}$ é o tensor de tensão de Maxwell. A velocidade da partícula finalmente pode ser
2 obtida assumindo a segunda lei de Newton,

$$\vec{F} = \vec{F}_E + \vec{F}_D = m\vec{a} = \frac{2}{3}\pi a^2 \rho_p, \quad \text{A8)}$$

3 onde $\vec{a}$ é a aceleração, m a massa e ρ_p a densidade da partícula.

4 **A.4 Método de Elementos Finitos (FEM)**

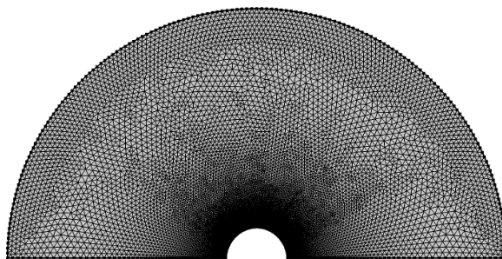
5 O método de elementos finitos (FEM) é um método numérico geral para resol-
6 ver equações diferenciais parciais através da discretização do espaço. O FEM subdivi-
7 de o sistema em partes menores, (chamadas de elementos finitos) através da constru-
8 ção de uma malha; o domínio numérico da solução. Como resultado, um conjunto de
9 equações algébricas são geradas, e o FEM aproxima-se da solução real minimizando o
10 erro associado por meio de cálculos de variações.

11 O requisito básico para obter uma solução confiável através do FEM, é que a
12 malha empregada resolva o problema com precisão. Malhas grossas em escala de
13 comprimento (grandes), podem causar desvios numéricos da solução e, portanto, o
14 cálculo pode não convergir. Ao diminuir cada vez o tamanho dos elementos, a solução
15 se torna independentemente do tamanho da malha. Assim, ao atingir essa condição, a
16 precisão do resultado dependerá exclusivamente dos critérios de convergência assu-
17 midos.

18 O problema eletrocinético em questão é bastante exigente em relação a malha
19 devido as escalas de comprimento envolvidas. Como consequência, os custos compu-
20 tacionais para a resolução do problema são bastante elevados. A **figura B2** ilustra uma
21 malha típica utilizada na resolução do problema em questão. Longe da superfície da

1 partícula, onde as condições de campo distante são aplicadas, elementos maiores po-
2 dem ser usados. Por outro lado, próximo da superfície da partícula, os elementos de-
3 vem ser pequenos o suficiente para modelar a EDL e os fluxos de íons.

4 Os programas FreeFEM, COMSOL Multiphysics e MATLAB & Simulink podem
5 ser aplicados para resolver as equações que governam o problema eletrocinético nas
6 seguintes condições: estacionárias, dependentes do tempo, unidimensional e bidimen-
7 sional. Para isso, uma célula unitária de Wigner-Seitzo, com tamanho de domínio de 9
8 $\times a$, foi construída para resolver o problema. Os tamanhos dos elementos que compo-
9 nham a malha variaram entre 0.5-9 nm longe da superfície da partícula, e 0.001-0.5 nm
10 ao redor da partícula, e o número total de elementos variou entre 20000-600000. O sol-
11 ver PARDISO foi usado para realizar os cálculos, e a tolerância relativa selecionada foi
12 0,001.



16 **Figura B2.** Malha típica de elementos finitos criada para a simulação da mobilidade eletroforé-
17 tica e cálculo do potencial zeta das NP. Fonte: o autor.

18 **B.5 Análise e Interpretação dos Dados a Partir do Modelo Construído**

19 As soluções unidimensionais (ou reduzidas) possibilitam determinar os valores do
20 potencial zeta através da redução gráfica. Na prática, basta apenas conhecer os valo-
21 res de μ_e determinados experimentalmente sob quaisquer condições (isto é, pH, força
22 iônica etc.) e os valores do raio, a , hidrodinâmico das NP analisadas, para calcular κa
23 (produto entre o raio hidrodinâmico da partícula e a espessura da DCE) **A figura B3**
24 ilustra o procedimento adotado.

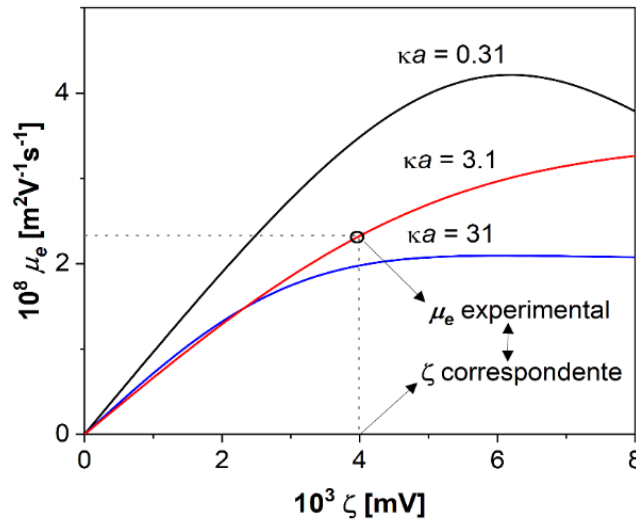


Figura B3. Procedimento adotado para a conversão da mobilidade eletroforética experimental, μ_e , em valores de potencial- ζ . Fonte: o autor.

As simulações bidimensionais estacionárias e dependentes do tempo, também possibilitam visualizar a estrutura da DCL (distribuição de carga e de íons), bem como ilustrar os fenômenos que se desenvolvem durante a medida da μ_e . Isto é, obtém-se a solução hidrodinâmica completa para as equações e as escalas de tempo relacionadas. O procedimento é custoso computacionalmente e fortemente dependente das propriedades da partícula simulada. A **Figura B4 (A-F)** mostra resultados típicos obtidos para a distribuição de carga (ou potencial- ζ) e dos íons (coíon e contra-íon) em torno de uma NP carregada positivamente com diferentes valores de κa . Para exemplificar o modelo, as simulações dependentes do tempo para a eletroforese de uma NP com alto valor de potencial- ζ (65 mV) são mostrados na **figura B5**. Para NP com alto valor de potencial zeta, a DCE ao seu redor perde a sua simétrica esférica e da origem a uma distribuição não uniforme de carga. Este efeito é chamado de polarização (ou relaxação) da DCE, e tende a reduzir os valores experimentais de μ_e [143].

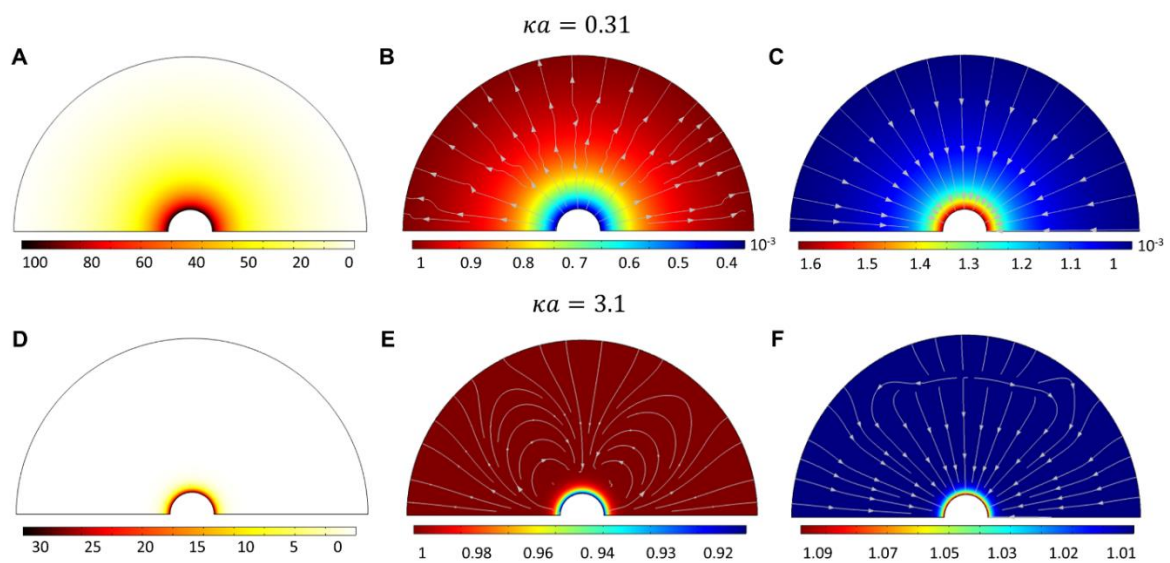


Figura B4. Distribuição de carga e de íons em torno de NP com diferentes valores de κa . (A) carga, (B) coíon e (C) contra-íon. Fonte: o autor.

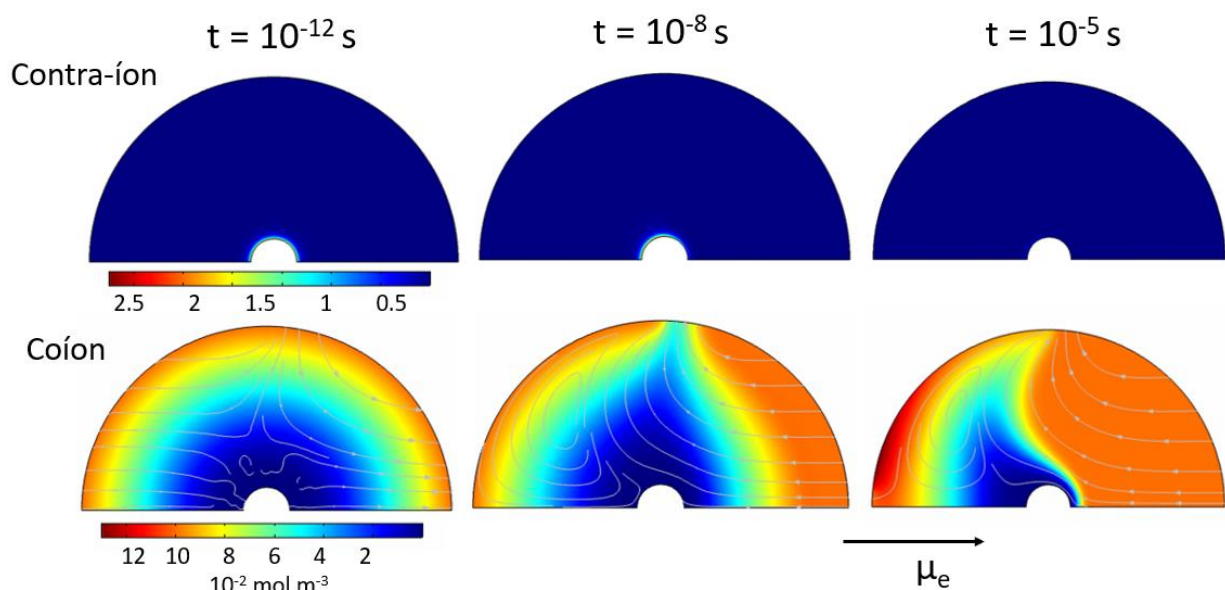


Figura B5. Eletroforese dependente do tempo para uma NP com alto valor de potencial- ζ ($\zeta = 65$ mV). O alto valor da carga é responsável pelo efeito de polarização (ou relaxação) da DCE: a distribuição de íons (contra-íon, Cl^- e coíon, K^+) perde a sua simetria esfericamente simétrica devido as diferentes velocidades com que cada espécie responde ao campo elétrico $\mathbf{E}$ aplicado. Fonte: o autor.

C. Apêndice. Cálculo de Energia de Interação e Previsões para a Estabilidade Coloidal das NP e de seus Agregados

C.1 Procedimentos Abordados para o Cálculo

O potencial líquido de interação entre o par i e j de NP primárias de Fe_3O_4 foi calculado pela soma das forças atrativas de van der Waals (V_{vdW}) e as forças eletrostáticas repulsivas (V_{EDL}), como se segue [143]:

$$V_T(h_{ij}) = V_{vdW_{ij}} + V_{EDL_{ij}} \quad (\text{C1})$$

$$V_{vdW_{ij}} = -\frac{A_{eff}}{6} \left(1.01 \left[\frac{d^2}{4dh_{ij} + 2h_{ij}^2} + \frac{d^2}{2(d + h_{ij})^2} + \ln\left(1 - \frac{d^2}{(d + h_{ij})^2}\right) \right] + \frac{1.12\pi d^2}{2\lambda_c(d + h_{ij})} \left[1 + \frac{2(d + h_{ij})^2}{2d^2} \ln\left(1 - \frac{d^2}{(d + h_{ij})^2}\right) \right] \right) \quad (\text{C2})$$

$$V_{EDL_{ij}} = \frac{\pi d^2 \varepsilon_r \varepsilon_0 Y_s^2 \exp(-\kappa h_{ij})}{(d + h_{ij})} \left(\frac{k_B T}{z_i e} \right)^2 \quad (\text{C3})$$

$$Y_s = \frac{8 \tanh\left(\frac{z_i e \psi_s}{4k_B T}\right)}{1 + \sqrt{1 - \frac{\kappa d + 1}{(0.5d + 1)} \tanh^2\left(\frac{z_i e \psi_s}{4k_B T}\right)}} \quad (\text{C4})$$

$$\kappa = \frac{\sum_{i=1}^N e^2 z_i^2 n_i}{\varepsilon_r \varepsilon_0 k_B T}, \quad (\text{C5})$$

onde ε_0 e ε_r representam, respectivamente, a permissividade elétrica do vácuo e da solução, z_i a valência do íon, d o raio da partícula, κ o parâmetro de Debye-Hückel, A_{eff} é a constante de Hammett e λ_c é o comprimento de onda característico de Lon-

1 don. Para as NP de Fe₃O₄ revestida com PAA, a contribuição eletrostática foi deter-
 2 minar como base na teoria XDLVO, como se segue [144]:

$$V_T(h_{ij}) = V_{vdW_{ij}} + V_{SO_{ij}} + V_{SE_{ij}} \quad (C6)$$

$$V_{SO_{ij}} = \begin{cases} -\frac{2\pi d_p N_A k_B T \varphi_{al}^2}{6} \left(\frac{1}{2} - \chi_{al-bf} \right) \left(\delta_{al}^2 \left[\frac{h_{ij}}{2\delta_{al}} - \frac{1}{2} - \ln \left(\frac{h_{ij}}{\delta_{al}} \right) \right] - \frac{h_{ij}^2}{2} \right), & h_{ij} < \delta_{al} \\ -\frac{2\pi d_p N_A k_B T \varphi_{al}^2}{6} \left(\frac{1}{2} - \chi_{al-bf} \right) \left(\delta_{al}^2 - \frac{h_{ij}^2}{2} \right), & h_{ij} \leq \delta_{al} \leq 2\delta_{al} \\ 0, & h_{ij} > 2\delta_{al} \end{cases} \quad (C7)$$

$$V_{SE_{ij}} = \begin{cases} -\frac{\pi d_p N_A k_B T \varphi_{al}^2 \delta_{al}^2 \rho_{al}}{MW_{al}} \left(\frac{h_{ij}}{\delta_{al}} \ln \left[\frac{h_{ij}}{\delta_{al}} \left(\frac{3\delta_{al} - h_{ij}}{2\delta_{al}} \right)^2 \right] - 6 \ln \left[\frac{3\delta_{al} - h_{ij}}{2\delta_{al}} \right] + 3 \left[1 - \frac{h_{ij}}{\delta_{al}} \right] \right), & h_{ij} < \delta_{al} \\ 0, & h_{ij} > \delta_{al}, \end{cases} \quad (C8)$$

3 onde N_A é a constante de Avogadro, δ_{al} é a espessura da camada adsorvida de PAA
 4 (8.9 nm estimado por análise termogravimétrica), φ_{al}^2 é a fração de volume das cadeias
 5 de PAA, ρ_{al} é a densidade de massa do PAA, MW_{al} é o peso molecular do PAA, e
 6 χ_{al-bf} é o parâmetro de interação Flory–Huggins ($\chi_{al-bf} = 0.45$).

7 Para os agregados de NP de Fe₃O₄, os efeitos do tamanho e forma dos agrega-
 8 dos não podem ser ignorados no cálculo de $V_{vdW_{ij}}$ e $V_{EDL_{ij}}$. Para calcular a compo-
 9 nente atrativa $V_{vdW_{ij}}$ foi considerado um arranjo linear entre os agregados com uma
 10 orientação média (**figura C1 A**). O primeiro refere-se a uma situação em que os cen-
 11 tros de gravidade dos agregados e de suas partículas primárias mais próximas estão
 12 em uma linha reta com o seu par vizinho; este controla a distância mínima da superfí-
 13 cie, h [145]. Em contraste, o último possibilita contabilizar a dependência da distância
 14 do centro dos agregados [145]. Finalmente, $V_{vdW_{ij}}$ pode ser obtido somando todos os
 15 pares de NP primária do agregado A com B, da seguinte forma [126]:

$$V_{vdW,A-B} = \sum \sum V_{vdW,i-j}. \quad (C9)$$

1 Para calcular a componente repulsiva, $V_{EDL_{ij}}$ entre os agregados de NP de
2 Fe_3O_4 , a estrutura da EDL precisa ser modelada. Esta pode ser obtido resolvendo nu-
3 mericamente a equação de Poisson [146]. Além disso, devido às fortes sobreposições
4 entre as EDL que ocorrem dentro do agregado, o potencial zeta (ou potencial eletrostá-
5 tico) varia ao longo da superfície do agregado, desviando do valor das NP primárias
6 isoladas [146]. Neste caso, a regulação de carga precisa ser contabilizada. Para isso,
7 empregamos o método de elementos finitos, adaptando o esquema numérico proposto
8 em [125]. Em resumo, as principais equações que governam o problema são:

$$\nabla^2 \phi + \frac{F}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} \sum_i z_i c_i = 0 \quad (C10)$$

$$V_{EDL_{ij}} = \frac{1}{2} S_1 \sum_{m=1}^{N_1} \int \left(\sum_{k_2}^{N_2} \phi_{c,k_2} + \sum_{l=1}^{\alpha N} \phi_{oc,l} - \sum_{l_1=1}^{\alpha N_1} \phi_{oc,l_1}^{iso} \right) dA_m + \frac{1}{2} S_n \sum_{n=1}^{N_n} \int \dots dA_n, \quad (C11)$$

9 onde S é o parâmetro de regulação de carga. Os três principais parâmetros a ser de-
10 terminados são: ϕ_c , representa a distribuição de carga na superfície das NP primária
11 (o seu valor é fixo); ϕ_{oc} , representa a distribuição de carga localizada fora do centro
12 das NP e em conchas concêntricas dentro da NP (desta forma, o seu valor depende
13 fortemente da estrutura do agregado e da sobreposição das DCE); $\phi_{oc,l}^{iso}$, representa a
14 distribuição de carga na superfície das NP primárias isoladas (isto é, o caso ideal, sem
15 a influência da estrutura do agregado). Os detalhes das várias etapas exigidas pelo
16 cálculo estão discutidos em [86,143]. A **figura C1 B** ilustra a abordagem para determi-
17 nar $V_{EDL_{ij}}$ para um par de agregados de NP de Fe_3O_4 .

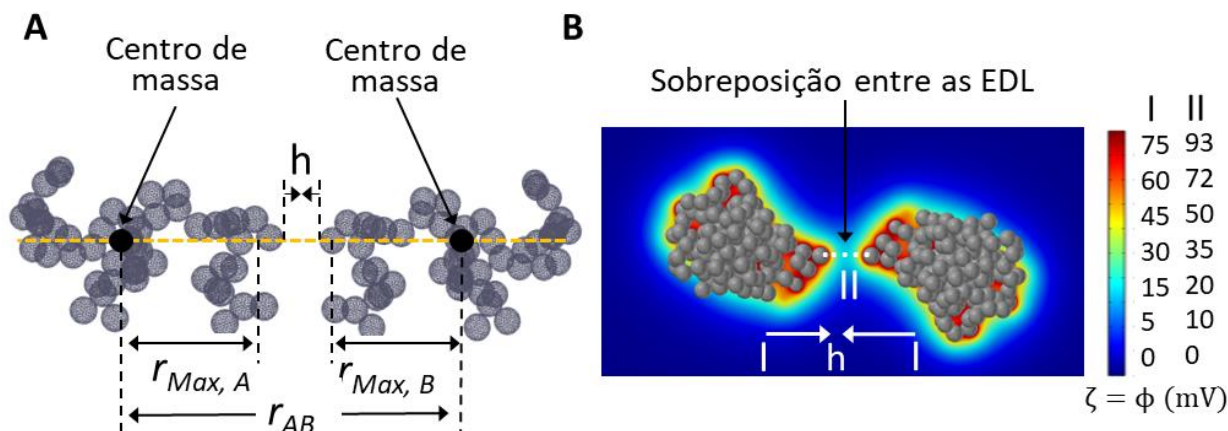


Figura C1. Arranjo linear utilizado para calcular a energia de interação ($V_{vdW_{ij}}$ e $V_{EDL_{ij}}$) entre dois agregados de NP de Fe_3O_4 , separados por uma distância h . (A) Forças atrativas de van der Waals e (B) forças eletrostáticas repulsivas. Fonte: o autor.

Para as NP de HDL, existem diferentes orientações preferenciais que podem direcionar as interações interpartículas, sendo elas: face-face, face-aresta e aresta-aresta. A energia de interação total ($V_{vdW_{ij}}$ e $V_{EDL_{ij}}$) pode ser calculada sob várias suposições de orientação preferencial a partir das equações DLVO, ou pelo método numérico descritos acima. A **figura C2** representa o cálculo de $V_{EDL_{ij}}$ para os pares de NP de HDL de diâmetro de 80 nm, espessura de 7.5 nm, carga superficial na face de 45 mV e na aresta de -35 mV.

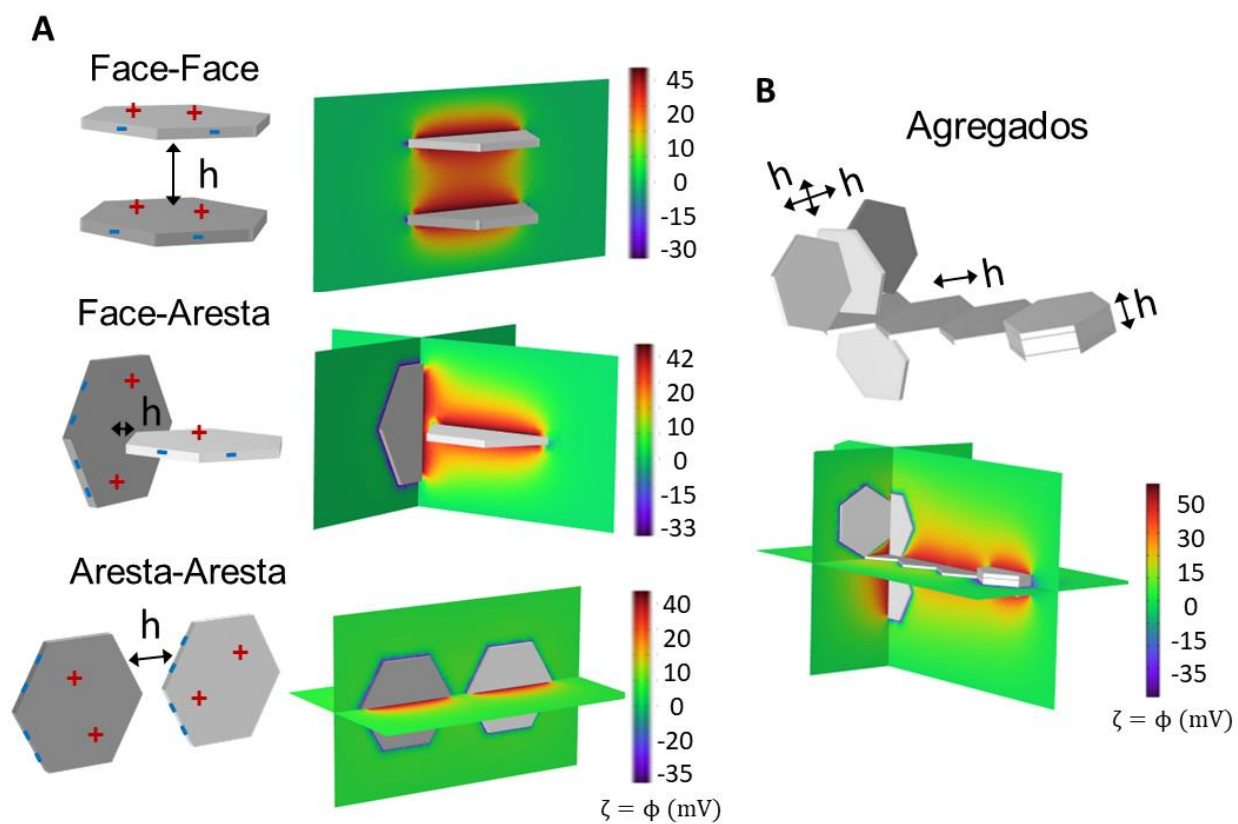


Figura C2. Orientação preferencial entre o par interagente de NP de HDL. As forças eletrostáticas repulsivas ($V_{EDL_{ij}}$) são obtidas através da média dos valores determinados para cada orientação. Fonte: o autor.

D. Apêndice. Cálculo da Transferência de Calor em Tecido Biológico com Análise de Dano Térmico

D.1 Procedimentos Numéricos Adotados para o Cálculo

A distribuição da temperatura no tecido mamário gerada durante os experimentos de HFM pode ser simulada pelo modelo de transferência bicalor a partir da aproximação de Penne [147]. Este modelo leva em consideração a condução térmica e o armazenamento de calor em um tecido vivo, modelando assim como em um meio sólido. A equação abaixo descreve o processo:

$$\rho C_p \frac{dT}{dt} - \nabla \cdot (k \nabla T) = \rho_{b,s} C_{p,s} w_s (T_s - T) + Q_{Met} + Q_{NP}, \quad (D1)$$

onde T é a temperatura do tecido, C_p é a capacidade calorífica do tecido, ρ é a densidade do tecido, k é a condutividade térmica do tecido, $C_{p,s}$ é a capacidade calorífica do sangue, $\rho_{b,s}$ é a densidade do sangue, T_s é temperatura arterial local do sangue, w_s é a taxa de perfusão sanguínea local, Q_{met} é a taxa de geração de calor metabólico local e Q_{NP} é a dissipação de calor pela NP . A **tabela D1** resume os valores dos parâmetros utilizados para simular a um tumor localizado na glândula mamária [148].

Tabela D1. Parâmetros utilizados para simular a glândula mamária. Fonte: adaptado de [24].

Parâmetro	Descrição	Célula cancerosas	Unidades
T_s	Temperatura do sangue arterial	37	°C
w_s	Taxa de perfusão sanguínea	0,0067	s ⁻¹
Q_{Met}	Calor metabólico	0,0067	P·m ³
ρ_s	Densidade do sangue	1058	Kg·m ³
k	Condutividade térmica	0,33	W·m ⁻¹ ·K ⁻¹
C_p	Capacidade de calor	2960	J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹

A fração de necrose tumoral (ou grau de lesão tecidual) pode ser estimada pelo modelo cinético polinomial integrado de Arrhenius, estimando a energia absorvida como se segue:

$$\alpha(t) = \alpha_0 + \int_0^t (1 - \alpha)^n A e^{\frac{-\Delta E}{RT}} dt = \ln \left[\frac{C(0)}{C(t)} \right], \quad (D2)$$

onde α é o grau de lesão tecidual, α_0 é o grau inicial de lesão, ΔE é o fator de frequência, A é a energia de ativação, $C(0)$ é a concentração inicial de células saudáveis e $C(t)$ é a concentração de células saudáveis remanescentes após o aquecimento após um tempo, t . A **tabela D2** resume os valores dos parâmetros utilizados para calcular fração de necrose tumoral.

Tabela D2. Parâmetros utilizados calcular fração de necrose tumoral. Fonte: adaptado de [24].

Parâmetro	Descrição	Célula cancerosas	Unidades
A	Fator de frequência	1.8×10^{36}	s ⁻¹
R	Const. universal dos gases	8.23	J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹
E	Energia de ativação	2.38×10^5	J·mol ⁻¹

A **figura D1** resume o esquema numérico adotado para simular a transferência de calor e o dano térmico durante a terapia anticâncer do HFM para um tumor localizado na glândula mamária. Um domínio esférico, de diâmetro interno de 40 mm, circun-

dado por outro domínio esférico de 100 mm, foi construído para representar a região do tumor e do tecido saudável, respectivamente. O Q_{NP} gerado durante a HFM é utilizado como entrada para o modelo, e o seu valor pode ser determinado da seguinte forma:

$$P = Q_{NP} = \pi \mu_0 f_0 H_0^2 \chi'' \quad (A22)$$

$$\chi'' = \left[\frac{2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2} \right] \chi_0 \quad (A23)$$

$$\chi_0 = \frac{\mu_0 M_d H V_M}{k_B T} \quad (A24)$$

$$\tau = \frac{\tau_N \tau_B}{\tau_N + \tau_B}, \quad (A25)$$

onde χ_0 é a suscetibilidade de equilíbrio, M_d é o domínio magnético e as outras propriedades foram definidas na sessão (3.2.2.). As condições de contorno para o modelo incluem assumir um valor inicial para a temperatura corporal, $T_0 = 37^\circ \text{C}$ e o isolamento térmico, $\mathbf{n} \cdot (-k \nabla T) = 0$. Por fim, a transferência de calor no tecido mamário pelas NP pode ser determinada em função do tempo de exposição, com análise simultâneo de dano térmico (neste caso, calculando a taxa de dano e o teor de tecido necrosado)

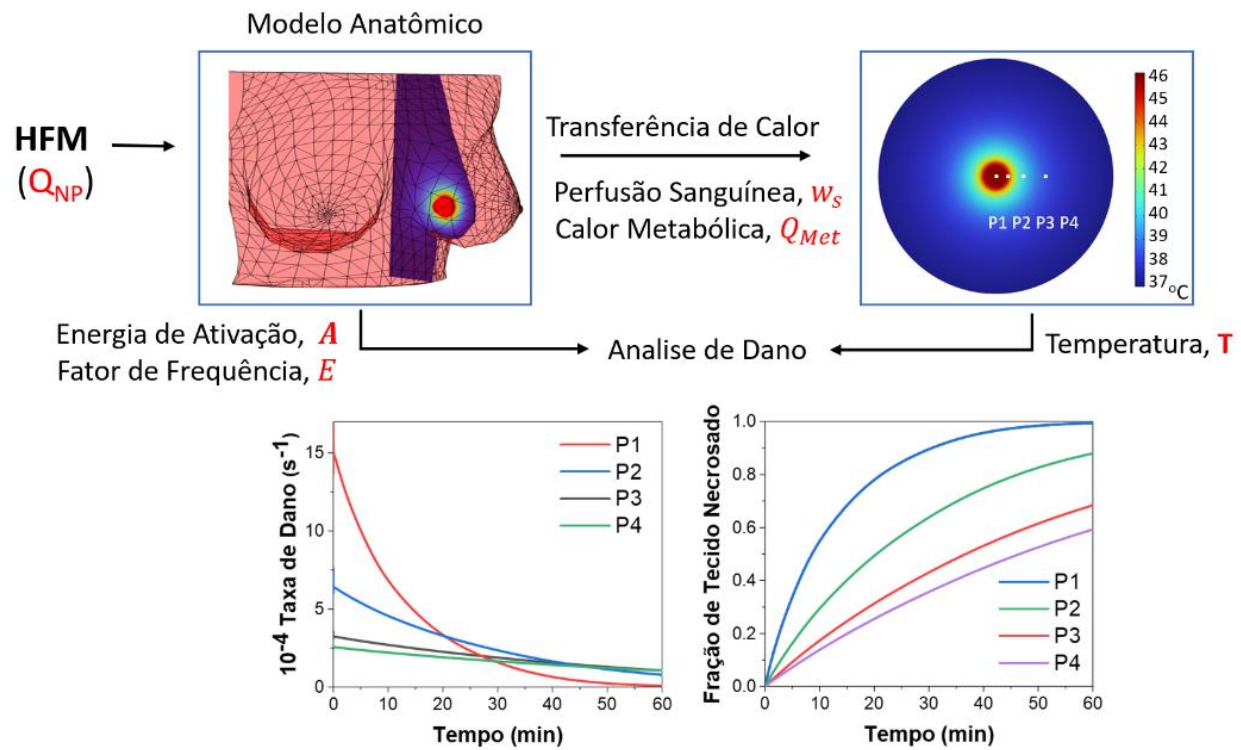


Figura D1. Esquema numérico utilizado para simular a transferência de calor e o dano térmico em um tecido mamário durante a terapia anticâncer do HFM. Fonte: o autor.

E. Apêndice. Figuras e Tabelas Suplementares

Neste apêndice, estão anexadas as figuras e tabelas citadas ao longo do texto deste trabalho. O ordenamento segue a ordem citada no texto.

E.1 Figuras

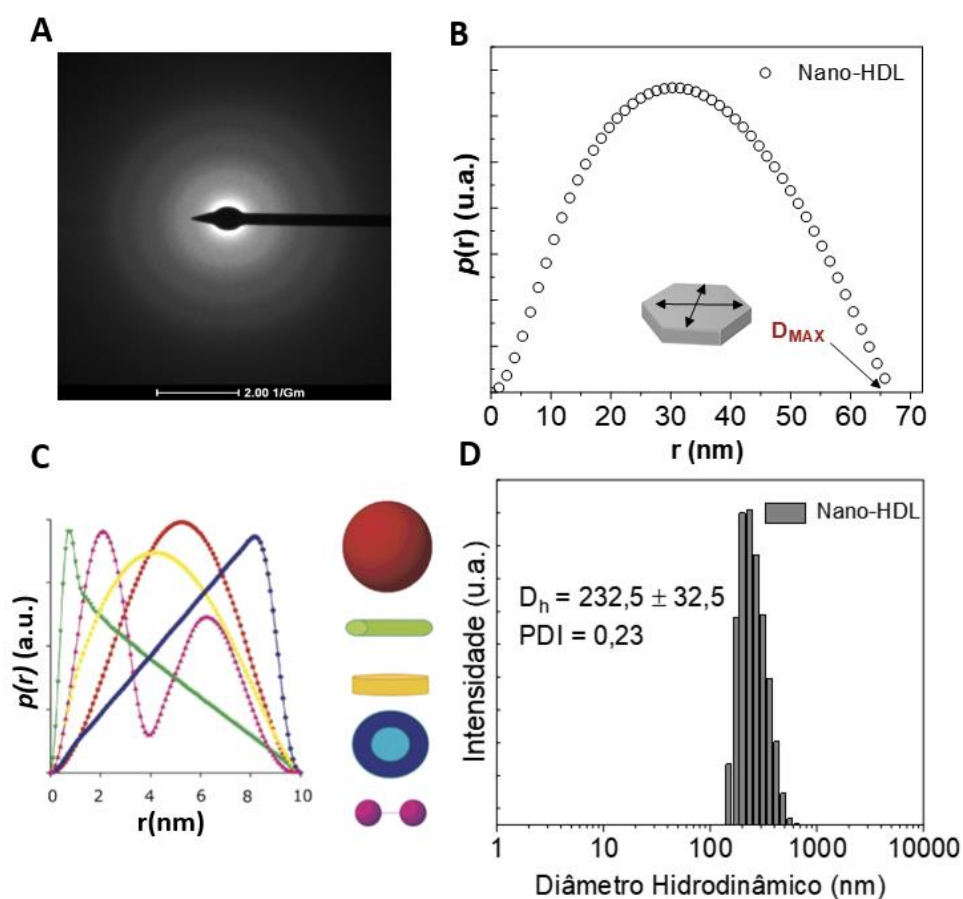


Figura E1 (A-D). (A) Padrão SAED dos Nano-HDL de ZnAl sintetizados. (B) Perfil da função de distribuição da distância dos pares no espaço real, $p(r)$ obtido a partir das medidas de SAXS para os Nano-HDL de ZnAl. (C) Funções $p(r)$ ilustrativas para diferentes formatos de partículas. (D) Tamanho hidrodinâmico, D_h , para os Nano-HDL de ZnAl coletados do meio reacional após a síntese.

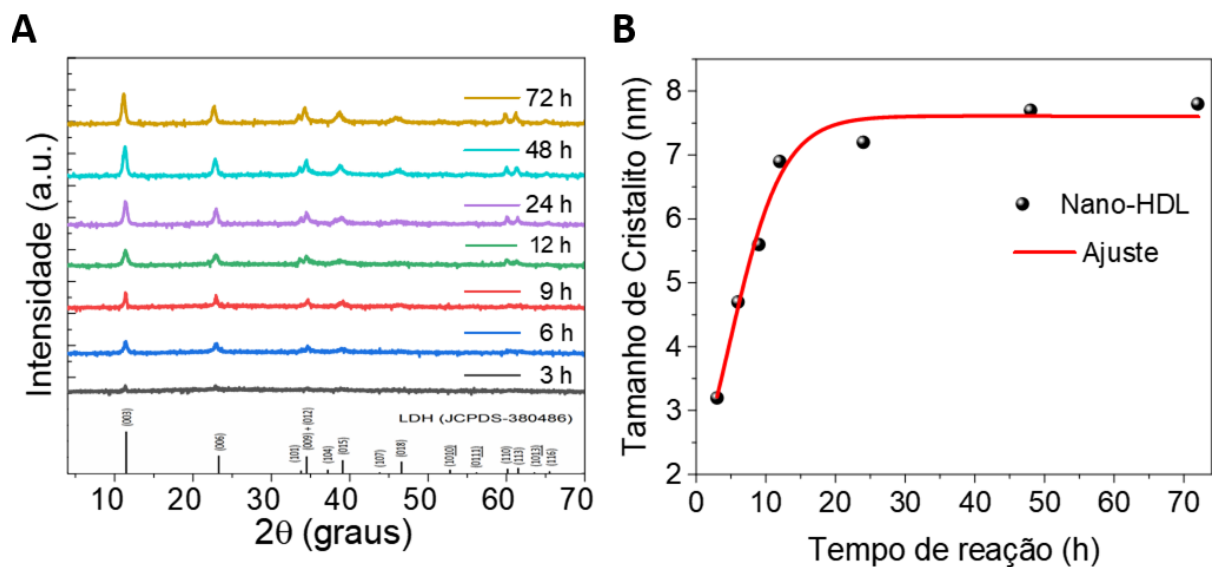


Figura E2. (A) Padrões de DRX em pó medidos em função do tempo de reação. As amostras foram coletadas nos tempos correspondentes. (B) Estimativa da evolução dos tamanhos de cristalito dos Nano-HDL com o tempo de reação.

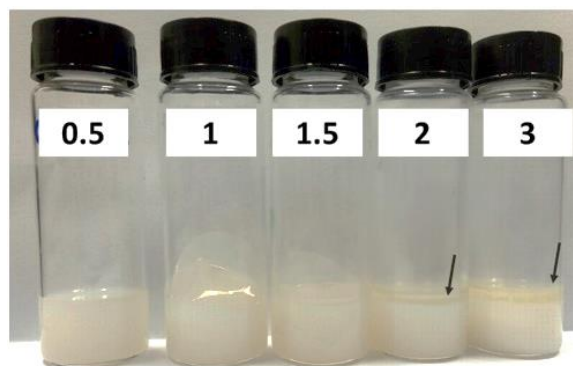


Figura E3. Imagem do meio reacional obtida após 72 h para diferentes formulações. Os valores destacados entre 0,5-3 representam a razão entre $\text{acac}/\text{Al}^{3+}$. As duas flechas no lado direito da imagem indicam a formação de um sol coloidal instável.

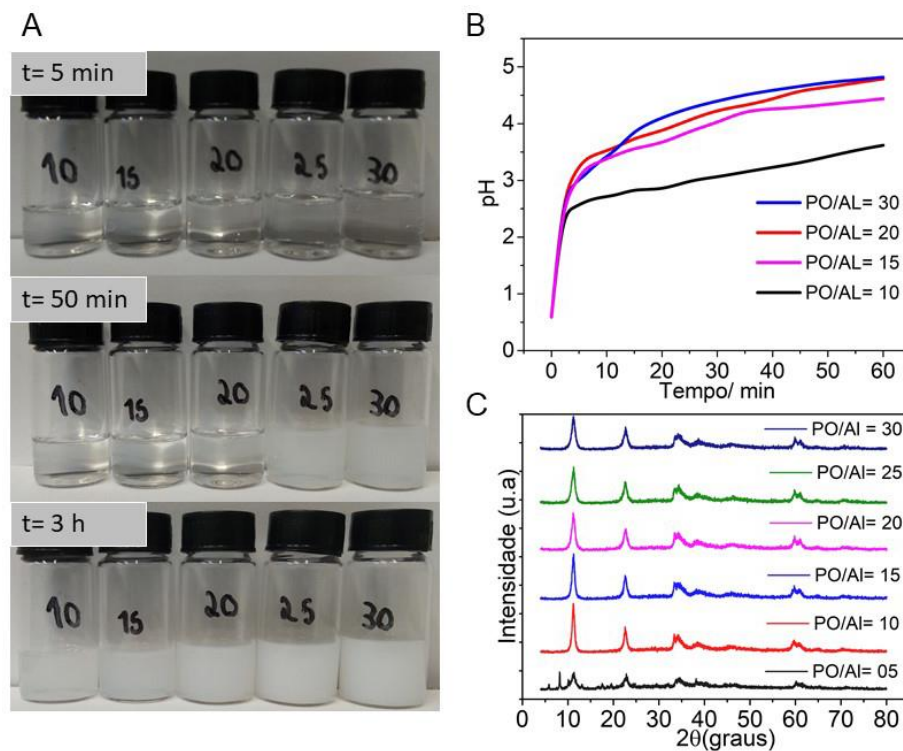


Figura E4- (A) Evolução do meio reacional em função do tempo de reação após a adição de PO. As razões PO/Al= 5-30 correspondem, respectivamente a 12,5-18,7-25-31,25-35,7 mmol de PO. (B) Aumento do pH do meio reacional em função da quantidade de PO adicionada. (C) DRX dos pós dos Nano-HDL secos após 72 h de sínteses.

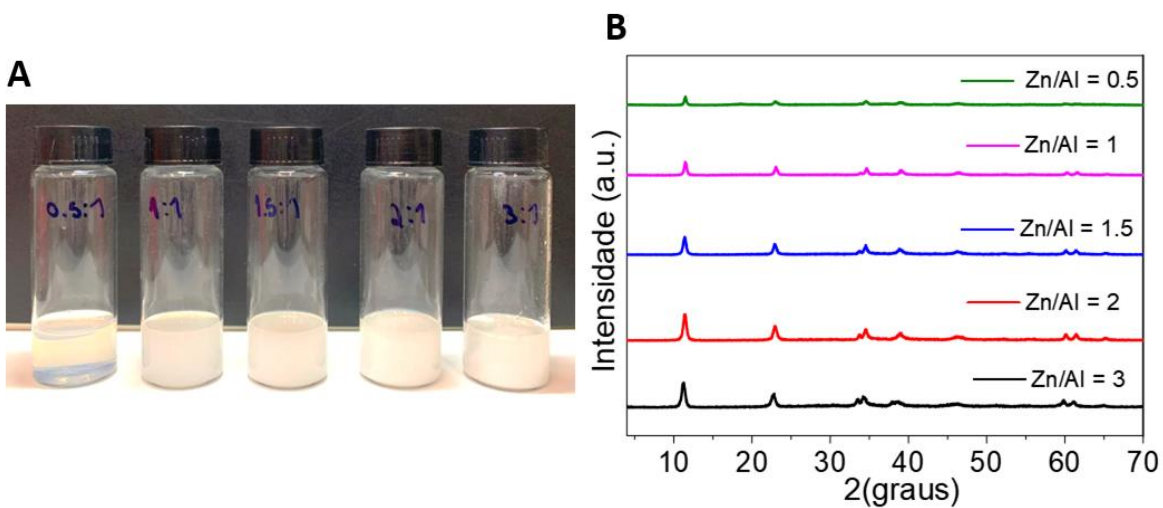


Figura E5. (A) Imagem do meio reacional em função da razão Zn/Al após 3 h. (B) DRX dos pós dos Nano-HDL para diferentes razões Zn/Al.

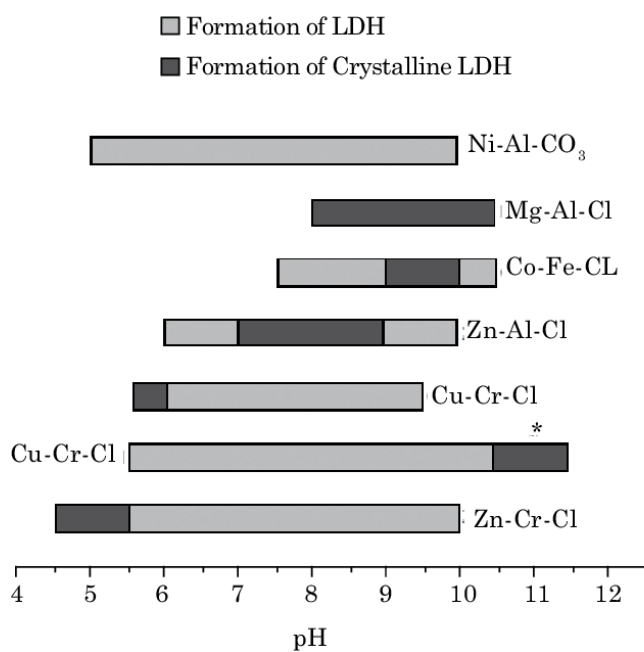


Figura E6. pH de formação para diferentes composição de HDL. Fonte: adaptado de [149].

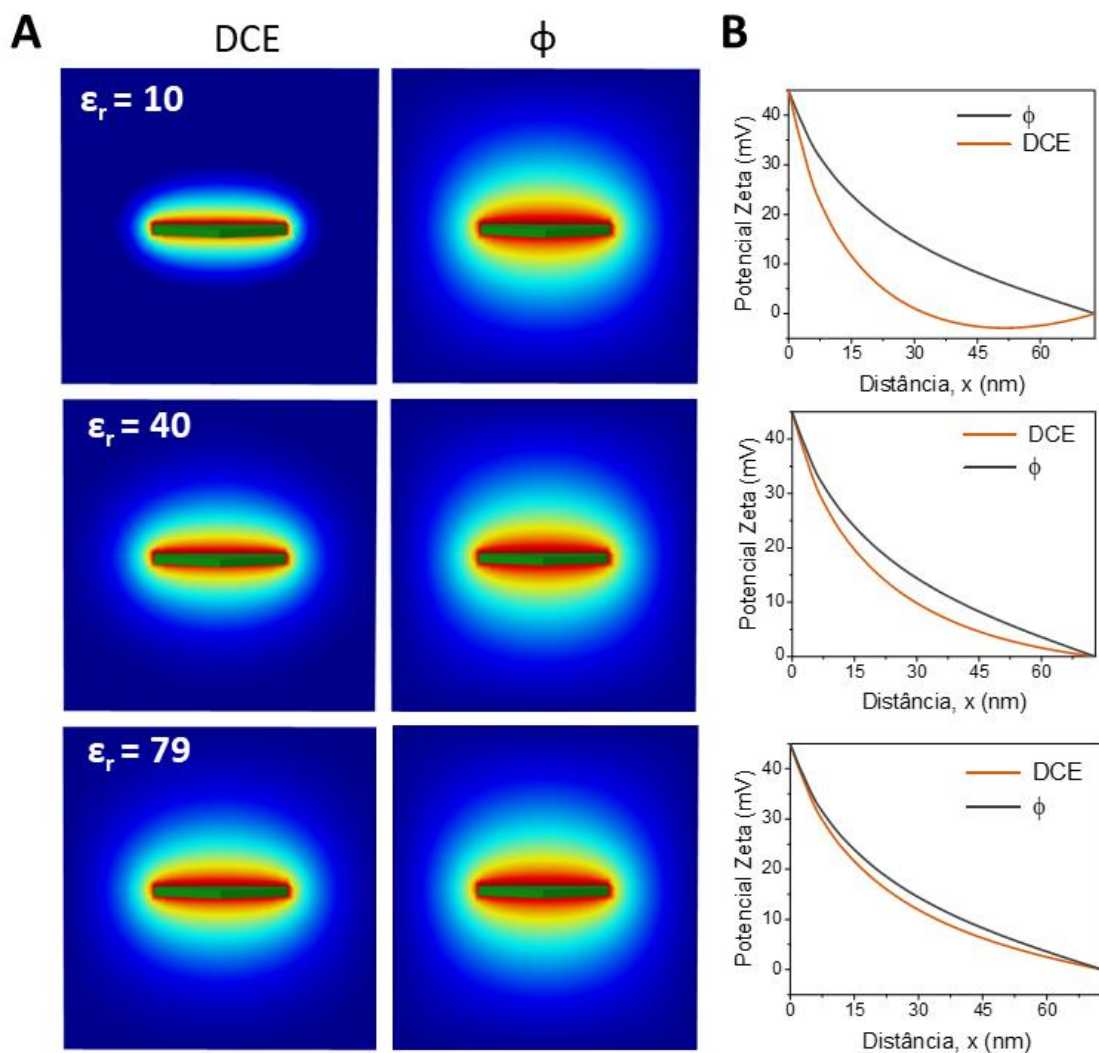


Figura E7. Mapa do potencial elétrico e **(B)** valores do potencial reduzidos para um Nano-HDL em função da constante dielétrica do meio na presença (DCE) e na ausência (Φ) de íons. Na presença de íons, a dupla camada elétrica (DCE) é modelado, e o potencial depende da concentração das espécies. Neste caso, as espécies e as suas respectivas concentrações assumidas foram de $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ para H^+ e $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ para OH^- (pH 9 do processo sol-gel).

Tabela E1. Estudo da variação da quantidade de PO adicionada. Fonte: o autor

PO/Al	Al³⁺ (mmol)	PO (mmol)	Gel t = 3 h	Sol t = 72 h	Pureza (fase única)
5	1.25	6.25	X	X	X
10	1.25	12.50	○	Precipitado	X
15	1.25	18.70	○	○	○
20	1.25	25.00	○	○	○
25	1.25	31.25	○	○	○
30	1.25	37.5	○	○	○

Tabela E2. Estudo da razão entre o par de cátions metálicos M²⁺/M³⁺. Fonte: o autor

Zn²⁺/Al³⁺	Zn²⁺ (mmol)	Al³⁺ (mmol)	Gel t = 3 h	Sol t = 72 h	Pureza (fase única)
0.5	2.500	1.250	○	X	○
1.0	1.875	1.875	○	○	○
1.5	1.500	2.250	○	○	○
2.0	1.250	2.500	○	○	○
2.5	1.070	2.680	○	X	○
3.0	0.925	2.825	○	X	○

Table E3. Comparação entre pontos isoelétricos relatados para NP de Fe₃O₄ sintética e natural. Todos os experimentos foram realizados a 25 °C. Fonte: o autor.

Descrição	pH _{IHP}	Meio	Referência
Coprecipitação	6,65	Água	[150]
Coprecipitação	5,30	10 mmol L ⁻¹ NaCl	[150]
Sol-gel	6,10	Água	[122]
Coprecipitação	8,00	1 mmol L ⁻¹ NaClO ₄	[103]
Sol-gel	7,00	1 mmol L ⁻¹ KNO ₃	[121]
Amostra Comercial	6,60	Água	[117]
Coprecipitação	5,50	10 mmol L ⁻¹ KNO ₃	[118]
Coprecipitação	5,60	1 mmol L ⁻¹ KNO ₃	[119]
Amostra natural	4,70	Água	[120]
Coprecipitação	7,20	1 mmol L ⁻¹ NaNO ₃	Este trabalho

Tabela 4. Parâmetros utilizados para simular as estruturas fractais formadas pela agregação das NP primarias de Fe₃O₄. Os valores de N_p , d_f , R_g e D_{max} foram obtidos por SAXS; D_h foi obtido por DLS. Os valores de R_g , D_h , e D_{max} estão em nm. Fonte: o autor.

pH	N_p	d_f	R_g	D_h	D_{max}
3	143	2,80	23,1	47,83	49,5
4	165	2,65	30,7	63,36	73,2
5	187	2,35	38,5	81,03	98,6
6	225	1,96	74,5	154,9	186,2
7.2	340	1,74	92,2	193,1	247,3
8	190	2,21	48,8	103,5	133,7
9	173	2,53	35,2	78,79	86,5
10	149	2,76	24,7	48,8	51,1

% Script adaptado para calcular as energias de interações entre as NP de PAA-Fe₃O₄. Os mesmos podem ser utilizados para calcular V_T , v_{EDL} , v_{vdW} , v_{SO} e v_{SE} . (Basta ser copiado e colado sem as linhas em um ambiente MatLab);

% Constantes

$\epsilon_0=8.854E-12;$ % F/m
 $k_B=1.381E-23;$ % J/K
 $e=1.602E-19;$ % C
 $N_A=6.022E23;$ % /mol

% Parâmetros do Sistema

$T=298.15;$ % K
 $\epsilon_r=78.4;$ % Dimensional
 $a=50;$ % Raio da Nanopartícula (nm)
 $A=4E-19;$ % J
 $I=5;$ % mM (mol/m³)
 $ZP=-35.1;$ % mV

% Parâmetros do revestimento

$MW=3520.22;$ % Massa molecular do ligante (g/mol)
 $d=1.087;$ % Densidade do ligante (g/cm³) na forma pura
 $l=4.6;$ % Comprimento da molécula (nm)
 $P_d=4.58E14;$ % Densidade de empacotamento das mol. (molécula/cm²)
 $\Theta=39;$ % Ângulo de inclinação (graus)

```

% Parâmetros do solvente

MWs=18.01528;          % Peso molecular do solvente (g/mol)

ds=1000000;           % Densidade de moléculas do solvente (g/m3)

X=0.45;               % Parâmetro de Flory Huggins (adimensional) Cuidado!

% Calculando os parâmetros

s=[0.001:0.01:50];
% Distâncias de separação em nm

K=(( (2*Na*e*e*I) / (E0*Er*kB*T) ) ^0.5) * (1E-9);
% Comprimento de Debye inverso em nm-1

t=1*cos(Theta*(pi/180));
% Espessura do ligante (nm)

Psi0=(ZP2*ZP*0.001)*(1+(1/(K*a)))*exp(1);
% Potencial da superfície in V

Y=(8*tanh((e*Psi0)/(4*kB*T)))/(1+((1-
((2*K*a)+1)/((K*a)+1)^2)*((tanh((e*Psi0)/(4*kB*T)))^2))^0.5));
% Fator necessário para calcular Vele

C=(1000*10000*Pd*MW)/Na;
% Surface concentration of SAM (mg/m2)

VF=(3*C*a*a)/(d*((t+a)^3)-(a^3));
% de concentração da molécula ligada a superfície (mg/m2)

MVs=MWs/ds;
Volume molar de solvente (m3/mol)

% Cálculo dos potenciais

% Van der Waals

Vvdw=-
(A/(6*kB*T))*(((2*a*a)./(((4*a)+s).s))+((2*a*a)./(((2*a)+s).^2))+log(((4*a)
+s).s)./(((2*a)+s).^2))); % Van der Waals potential (/kT)

% Elétrstotático

```

```

        if (K*a)<5

            Vele=((4*pi*E0*Er*a*a*(1E-18)*Y*Y*kB*T)/(e*e)).*(exp(-
K.*s))./((s+(2*a))*(1E-9))); % Electrostatic potential at
Ka<5 (/kT)

        else

            Vele=((2*pi*E0*Er)/(kB*T))*(Psi0^2)*(a*(1E-9))*log(1+exp(-
K.*s)); % Electrostatic potential at
Ka>5 (/kT)

        end

% Osmótico

for i=1:length(s);

    if s(i)<t;

        Vosm(i)=(((4*pi*Na*a*(1E-9)*VF*VF*t*t*(1E-18))/(MV*s))*(0.5-
X)).*((s(i)./(2*t))-(1/4)-log(s(i)./t)); % Osmotic potential at s<t
(/kT)

    elseif s(i)<(2*t);

        Vosm(i)=(((4*pi*Na*a*(1E-9)*VF*VF)/(MV*s))*(0.5-X)).*((t-
(s(i)./2))^2).*(1E-18); % Osmotic potential at
t=<s<2t (/kT)

    else

        Vosm(i)=0;
% Osmotic potential at s>=2t (/kT)

    end

end

% Elástico

for i=1:length(s);

    if s(i)<t;

```

```

        Vela(i)=(2*pi*Na*a*(1E-9)*VF*t*t*(1E-
18)*d*(1E6))/(MW)).*((s(i)./t).*log((s(i)./t).*((3-(s(i)./t))./2).^2))-
(6.*log((3-(s(i)./t))./2))+3.*(1-(s(i)./t))));          % Potencial elástico
at s<t (/kT)

    else

        Vela(i)=0;
% Potencial elástico paras>=t (/kT)

    end

end

% Potencial de energia de interação total (/kT)

Vt=Vvdw+Ve+Vosm+Vela;

% Plotando os resultados

p=plot (s,Vvdw,'b--',s,Ve,'k--',s,Vosm,'g--',s,Vela,'m--
',s,Vt,'r',s,0,'k');

set(p(5),'linewidth',1.5);

xlim([0 50])

ylim([-500 500])

xlabel('Distância de separação (nm)')

ylabel('Potencial/kT (unitless)')

legend('Van der Walls','Eletrostático','Osmótico','Elástico','Total');

% Salvando os resultados

A=[s; Vvdw; Ve; Vosm; Vela; Vt];

fileID = fopen('Amostra.txt','w');

fprintf(fileID,'%7s %12s %13s %11s %14s
%10s\n','s (nm)', 'Vvdw (/kT)', 'Ve (/kT)', 'Vosm (/kT)', 'Vela (/kT)', 'Vt (/kT)');

fprintf(fileID,'%6f %12f %12f %12f %12f %12f\n',A);

fclose(fileID);

```

end