



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PEDRO MARTINS DA SILVA FILHO**

**SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE SÍLICAS CARREGADAS POSITIVAMENTE**  
**E ESTUDO DE ADSORÇÃO DE FÁRMACOS ANIÔNICOS**

**FORTALEZA**

**2016**

**PEDRO MARTINS DA SILVA FILHO**

**SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE SÍLICAS CARREGADAS POSITIVAMENTE  
E ESTUDO DE ADSORÇÃO DE FÁRMACOS ANIÔNICOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de mestre em Química

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Elisane Longhinotti**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa**

**FORTALEZA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

F498s Filho, Pedro Martins da Silva.

SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE SÍLICAS CARREGADAS POSITIVAMENTE E ESTUDO DE ADSORÇÃO DE FÁRMACOS ANIÔNICOS / Pedro Martins da Silva Filho. – 2016.  
78 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Elisane Longhinotti.

Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.

1. Nanopartículas de sílica. 2. carreadores de fármacos. 3. nitroprussiato . I. Título.

CDD 540

---

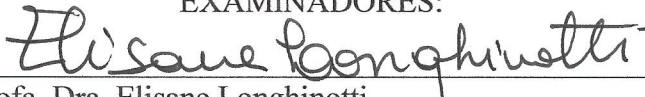
Esta

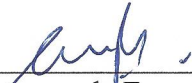
Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.


  
Pedro Martins da Silva Filho

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 22/07/2016

EXAMINADORES:

  
Prof. Dra. Elisane Longhinotti  
Universidade Federal do Ceará – UFC

  
Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – UFC

  
Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola  
Universidade Federal do Ceará – UFC

**A todos que conheci e que irei conhecer**

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela dádiva da vida, por criar uma natureza cheia de mistérios, e por ter dado ao ser humano o dom da curiosidade.

Aos meus pais por guiarem os meus primeiros passos rumo ao que sou hoje, não foi um livro feliz, mas foi uma lição de vida.

A professora Dra. Elisane Longhinotti, pela orientação, oportunidade, ajuda e confiança a mim concedida. Sempre serei grato, pelos bons conselhos dados e por ser uma pessoa tão especial.

A todos os professores, que me ensinaram, repassaram informações, conteúdos, exemplos e me deram experiência, são graças a eles que cresci dentro desse universo de conhecimento e saberes, não só a universidade, mas a vida. Agradeço em especial aos professores Eduardo Henrique, Jackson Rodrigues, Ronaldo Ferreira, Selma Mazzetto, Audisio Filho e Nágila Ricardo, não posso esquecer da professora Renata Oliveira, a quem infelizmente perdi contato.

Aos amigos, aos quais fiz no período da graduação e durante o mestrado, eu agradeço por todo tempo que tivemos, todos os momentos de descontração, de seriedade e de confiança pelo quais passamos. A minha amiga Marisa Lima, que sempre me considerou um grande amigo e que apesar de tudo, brigas e troca de curso ainda estamos juntos. A Anny Grazielly, ah! Que surpresa boa foi encontrar uma pessoa tão impar, tão cheia de luz, alguém que fico feliz e às vezes sem graça com toda a confiança que tem em mim, obrigado. Ricardo Douglas, bruto, mas um ótimo amigo. Jefferson, brincalhão que ajudou a animar as aulas de orgânicas, de natação e as filas do restaurante universitário. Aos amigos fora da universidade, Elison Jarbas, Paulo Ferreira, Raquel Matias. Ao David Maia, um grande amigo. Aos professores que participaram da banca pelo ensinamento e grande contribuição.

A todos aqueles de alguma forma ajudaram a semear, cultivar e colher os frutos dessa vida de pós-graduando.

Black was the night when I did surrender

I did give in to my weakening side  
Now that I'm empty, my dreams once were many  
Souls bid a cry to unleash the divine

When you think there's no way out  
And all you see collides  
Hope will in the end chase all your fears away

Fighting the source was not recommended  
Trails of a wish were the hope to survive  
Skins full ablazing, release crystal gazing  
All of it led to a deeper demise

When you think there's no way out  
And no one comprehends  
Hope will show your smile again

What I left behind  
Another night of weary dreams  
What's been left behind  
Another time where days of late are far away  
Far away

Losing my reasons, no lies to believe in  
Left the obscure to the means of escape  
Core has been shaking, there's no more pain to break me  
Time has commenced and I long to awake

When you think there's no way out  
Leave everything behind  
You can live your life anew

What I left behind  
Another night of weary dreams  
What's been left behind  
Another time where days of late are far away  
Far away

Dark days behind me  
Won't ever break me now

All that I left behind  
Another night of weary dreams  
What's been left behind  
Another time where days of late are far away  
Far away

Just another night in another time...  
*Delirium, Epica*

## RESUMO

No presente trabalho foram sintetizados nanomateriais mesoporosos à base de sílica visando aplicação em carreamento e liberação controlada de fármacos. Dividiu-se o trabalho em três etapas, sendo a primeira referente ao (I) estudo de duas diferentes rotas sintéticas presentes na literatura e a elaboração de uma terceira rota, com posterior escolha da mais vantajosa. (II) Estudo de diferentes funcionalizações com o agente sililante 3-aminopropiltriétoxisilano (APTES), via enxerto e o meio reacional, e via co-condensação. (III) Modificação do grupo amino proveniente do APTES, através de um processo de quaternização afim de obter uma material com carga superficial positiva, que não dependa do meio. A segunda parte consiste no estudo de adsorção do material funcionalizada com amina primária e quaternária através das isotermas de adsorção e da cinética de adsorção. A terceira parte consiste em estudos de liberação em meio aquoso e biológicos, assim com propostas para o uso do material. No Trabalho foram obtidos materiais nanométricos de tamanho entre 65 e 120 nm, com carga superficial positiva de + 22,1 mV e 25 mV. O material apresentou alta absorção para o fármaco em estudo, sendo de 710 mg g<sup>-1</sup> para amina primária e 800 mg g<sup>-1</sup> para a amina quaternária. Os testes de liberação indicaram que o material apresenta-se ativo, com liberação do princípio ativo do fármaco escolhido, o nitroprussiato de sódio.



## ABSTRACT

For this work silica-based mesoporous nanomaterials were synthesized to be used in transportation and controlled released of drugs. It is divided in three stages, where the first concerns the study (I) of two different synthetic routes in literature and the development of a third one, and the subsequent choice of the most advantageous. (II) The study of different functionalizations with silylating agent 3-aminopropyltrethoxysilane (APTES), through graft and the reaction medium, and through co-condensation (II). Modification of the amino group obtained from the APTES, through a process of quaternization in order to produce a material with a positive surface charge that doesn't depend on the medium. The second part consists of the study of the adsorption of the material functionalized with primary and quaternary amine through the adsorption isotherms and kinetics. The third part concerns the studies of the release in aqueous and biologic media, as well as indications of possible usages of the material obtained. In this work were produced nanometric materials in size between 65 nm and 120 nm with positive superficial charge of + 22.1 mV and 25 mV. The material revealed high adsorption of the drug used in this study, which was composed of 700 mg g<sup>-1</sup> for primary amine and 800 mg g<sup>-1</sup> for quaternary amine. The release tests indicate that the material is active, with release of the active ingredient of the chosen drug, sodium nitroprusside.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	11
<b>PARTE I: SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA.</b>	<b>12</b>
<b>I.1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>I.1.1. Modificação química da sílica mesoporosas .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2. Nanopartículas e o uso na medicina .....</b>	<b>16</b>
<b>I.1.3. Biocompatibilidade .....</b>	<b>16</b>
<b>I.2. Nanopartículas carregadas positivamente .....</b>	<b>18</b>
<b>I.2. OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
Objetivo Geral .....	19
Objetivos Específicos .....	19
<b>I.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>20</b>
<b>I.3.1. Reagentes e Solventes .....</b>	<b>20</b>
<b>I.3.2. Sínteses de Nanopartículas de sílica .....</b>	<b>20</b>
<b>I.3.2.1. Síntese por agitação .....</b>	<b>20</b>
<b>I.3.2.2. Síntese por ultrassom .....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.2.3. Síntese proposta neste trabalho .....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.3. Funcionalizações das nanopartículas de sílica .....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.3.1. Via enxerto em tolueno .....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.3.2. Via co-condensação .....</b>	<b>21</b>
<b>I.3.4. Quaternização das nanopartículas de sílica .....</b>	<b>22</b>
<b>I.3.5. Caracterização das nanopartículas .....</b>	<b>22</b>
<b>I.3.5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....</b>	<b>23</b>
<b>I.3.5.2. Isoterma de adsorção e dessorção de N<sub>2</sub> .....</b>	<b>23</b>
<b>I.3.5.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho .....</b>	<b>23</b>
<b>I.3.5.4. Análise Termogravimétrica .....</b>	<b>23</b>
<b>I.3.5.5. Potencial Zeta e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) .....</b>	<b>24</b>
<b>I.3.5.6. Ressonância Magnética Nuclear em estado sólido .....</b>	<b>24</b>
<b>I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>I.4.1 Síntese de nanopartículas .....</b>	<b>25</b>
<b>I.4.1. Análise morfológica .....</b>	<b>25</b>
<b>I.4.1.1. Microscopia Eletrônica de Varredura .....</b>	<b>25</b>
<b>I.4.2. Caracterização dos materiais de sílica modificados .....</b>	<b>31</b>

I.4.2.2. Análise de espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV).....	34
I. 4.3.4. Análise termogravimétrica.....	39
4.5. Potencial Zeta.....	41
<b>I. 5. CONCLUSÃO PARCIAL.....</b>	<b>42</b>
<b>PARTE II: ESTUDO DE ADSORÇÃO DO NITROPRUSSIATO DE SÓDIO.....</b>	<b>43</b>
<b>II.1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>43</b>
II.1.2. A química do Nitroprussiato de Sódio.....	44
II.1.2. Aspectos químicos fisiológicos do NO.....	45
<b>II. 2. OBJETIVOS.....</b>	<b>46</b>
Objetivos Geral.....	46
<b>II. 3.2. Adsorção de nitroprussiato de sódio nos materiais modificados.....</b>	<b>47</b>
<b>II.3.2.1. Curva analítica para nitroprussiato de sódio.....</b>	<b>47</b>
II. 3.2.1 Testes preliminares de adsorção.....	48
<b>II. 3.2.2. Cinéticas e Isotermas de adsorção.....</b>	<b>48</b>
II.3.2.2.1. Estudo de concentração inicial.....	49
II.3.2.2.2. Estudo do tempo de contato.....	50
<b>II.4.1. Testes preliminares de adsorção.....</b>	<b>51</b>
II.4.1.1. Espectroscopia na região do infravermelho.....	51
II.4.2. Efeito da concentração inicial de NP.....	53
<b>II.5. CONCLUSÃO PARCIAL.....</b>	<b>57</b>
<b>PARTE III: ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE CIANETO E NO, AÇÃO VASODILATADORA E, NOVAS PERSPECTIVAS E APLICAÇÕES PARA O MATERIAL.....</b>	<b>58</b>
<b>III. 1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>58</b>
<i>Objetivo Geral.....</i>	59
<b>III.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>59</b>
<b>III.3.1 Ensaio de liberação de NO na amostra sólida.....</b>	<b>59</b>
<b>III.3.2 Ensaio de liberação de NO com luz branca em uma mistura CO NPSi-APTES ASC e CO NPSi-APTES NP.....</b>	<b>59</b>
<b>III.3.3 Ensaio de liberação de NO em solução na presença de ácido ascórbico.....</b>	<b>60</b>
<b>III. 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4.1. Ensaio de liberação de NO.....</b>	<b>61</b>
<b>III.4.1.1. Ensaio de liberação de NO na amostra sólida CO NPSi-APTES-NP.....</b>	<b>61</b>

<b>III. 4.1.2. Ensaio de liberação de NO em sólida (CO NPSi-APTES NP + CO NPSi-APTES ASC)</b> .....	63
<b>III. 4.1.3 Liberação de NO da amostra CO NPSi-APTES NP em solução na presença de ácido ascórbico</b> .....	64
<b>III. 4.1.4 Monitoramento de cianeto livre</b> .....	66
<b>III.4.1.4.2. Teste quantitativo</b> .....	67
<b>III.5. CONCLUSÃO</b> .....	68
<b>III.6. PERSPECTIVAS</b> .....	68
<b>III.7.REFERÊNCIAS</b> .....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS

**A NPSi-APTES-** Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação em agitação

**A NPSi-** Nanopartículas de sílica pura obtidas por agitação

**APTES-** 3-aminopropiltriétoxissilano

**CO NPSi-APTES-** Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação a partir da metodologia escolhida entre as três sínteses estudadas

**CO NPSi-APTES SNP-** Nanopartículas funcionalizadas com aminopropil via co-condensação contendo nitroprussiato adsorvido

**CO NPSi-Q-** Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação e modificada com amina quaternária

**CO NPSi-Q SNP-** Nanopartículas contendo amina quaternária funcionalizadas via co-condensação com nitroprussiato adsorvido

**CTAB-** brometo de cetiltrimetilamônio

**ENX NPSi-APTES-** Nanopartículas funcionalizadas via enxerto a partir da metodologia escolhida entre as três sínteses estudadas

**ENX NPSi-APTES SNP-** Nanopartículas funcionalizadas via enxerto contendo nitroprussiato adsorvido

**NPSi-** Nanopartículas de sílica

**P NPSi-** Nanopartículas de sílica pura pela metodologia proposta

**P NPSi-APTES-** Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação pela metodologia proposta

**SNP-** Nitroprussiato de sódio

**TEOS-** tetraetilortossilicato

**U NPSi-** Nanopartículas de sílica pura obtidas em ultrassom

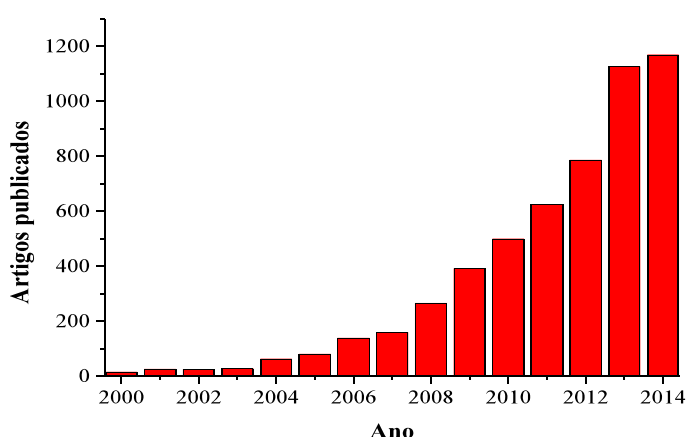
**U NPSi-APTES-** Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação em ultrassom

## INTRODUÇÃO GERAL

Materiais baseados em estruturas de sílica vêm cada vez ganhando mais destaque devido a sua estabilidade térmica[1], mecânica[2] e frente a ataques de agentes químicos[3] e por possuir uma alta reatividade superficial[4-5], decorrente da presença de sítios ativos com elevados índice de ordenação na superfície externa e interna[6-8]. Especial atenção vem sendo dada às sílicas mesoporosas que estão se destacado devido a sua elevada área superficial [9] e grau de ordenamento de poros[5] e por apresentar estrutura com tamanhos de poros entre 2 nm a 50 nm [5,6, 10-13].

Por todas essas qualidades é que os materiais de sílica mesoporosos estão sendo usados para diversas aplicações, tais como remediação ambiental [14], adsorção de corantes e metais pesados [15], cromatografia [16], biosensores [17], sistemas catalíticos [18], proteção de corrosão [19] como também as aplicações na área de medicina, como diagnóstico de imagem[20], reconstituição óssea [21] e carreamento de fármacos [22-26]. Como pode ser observado pelo gráfico de publicações disponíveis no ISI web of Science (Figura 1), as pesquisas relacionados com “sílica” e “drug delivery” vêm aumentando a cada ano, com um total de 6.917 até o presente momento, refletindo a importância de estudos para esse tipo de aplicação.

**Figura 1.** Gráfico de publicações envolvendo “sílica” e “drug delivery” realizado na ISI web of Science.



Fonte: O autor

No portal [PATENTSCOPE®](#), que é mantido pela Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI) e que possibilita acesso a base de pedidos de patentes depositados via o Tratado de Cooperação em Matéria e Patente (PCT) e da coleção de muitos países, incluindo o Brasil, encontra-se 127 patentes que abordam materiais de sílica e o carregamento de fármaco, evidenciando a importância e aplicabilidade assim como interesse da indústria e do mercado nos materiais de sílica.

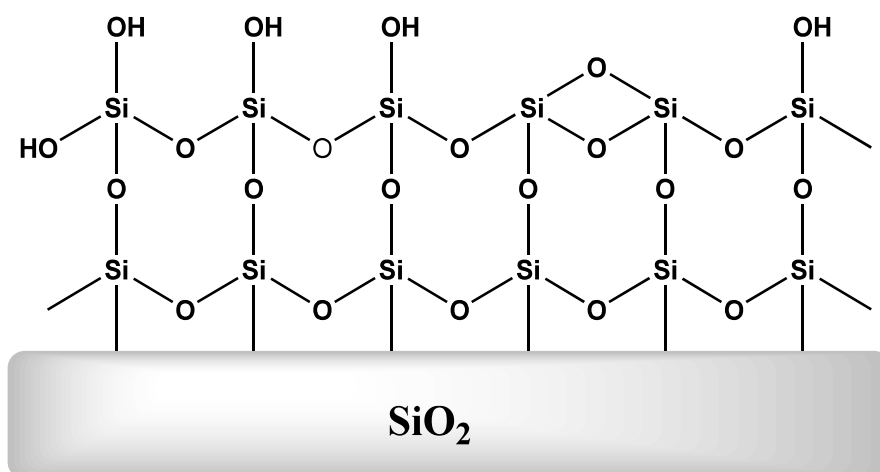
Este trabalho será apresentado em três partes, a primeira consiste na síntese e modificação superficial do material. A segunda é um estudo de adsorção do fármaco nitroprussiato de sódio e a terceira estudo de liberação de NO que é o princípio ativo do nitroprussiato.

## PARTE I: SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA.

### I.1. INTRODUÇÃO

O termo sílica está associado a compostos com unidades estruturais de Si e O, de fórmula geral  $\text{SiO}_2$ , constituídas em seu interior por grupos siloxanos (Si-O-Si) e na superfície por grupos silanóis (Si-OH). A Figura 2 tem a representação esquemática da estrutura da sílica.

**Figura 2:** Representação da estrutura da sílica



Fonte: O autor

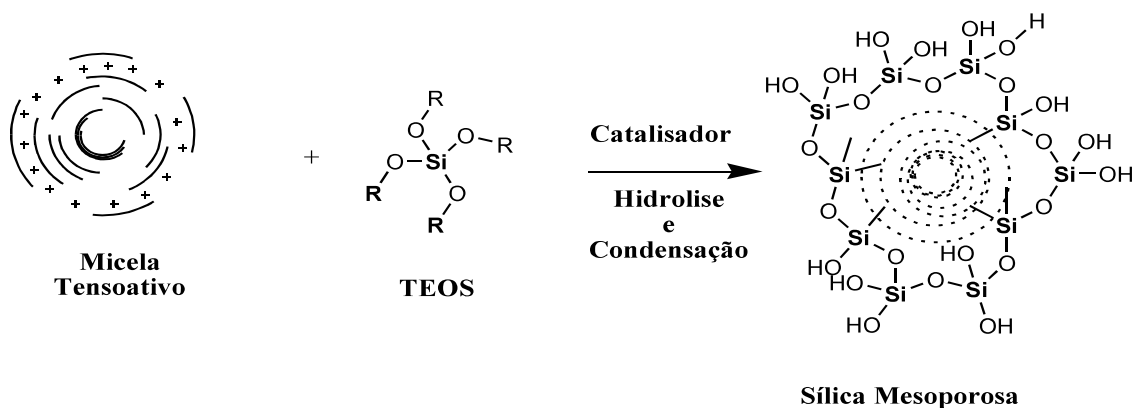
Materiais mesoporosos de sílica apresentam estrutura amorfa, porém sua alta ordenação de poros confere alta área superficial. Os poros da grande maioria dos materiais de sílica possuem diâmetros maiores que 2 nm e menores que 10 nm, podendo assim ser classificados de acordo

com a recomendação da IUPAC em: microporosos ( $d < 2,0$  nm); mesoporosos ( $2,0 < d < 50$  nm) e macroporosos ( $d > 50$  nm).[6]. A primeira família de sílicas porosas foi desenvolvida pela Mobil Oil Company em 1992 e foram chamadas de M41S. As sílicas M41S foram sintetizadas por meio de surfactantes catiônicos do tipo alquiltrimetiamônio, como agentes direcionadores de estrutura[27]. O uso desses surfactantes foi o primeiro passo para a síntese desses materiais. Durante a condensação, esses agentes conduzem à formação e a ordenação dos poros da sílica sob condições básicas.

Desde o primeiro material mesoporoso de sílica produzido até os dias atuais uma diversidade de metodologias de sínteses vêm sendo desenvolvidas, para materiais semelhantes e diferentes (MCM-41, MCM-48, SBA-15, MSU, etc). Alterando parâmetros, tais como razões estequiométricas, a natureza dos reagentes utilizados e os aditivos que possam ser adicionados, a temperatura e o tempo de reação, as condições de síntese (refluxo, autoclave para tratamentos hidrotermais e micro-ondas)[28]. O conhecimento desses parâmetros vêm permitindo a engenharia da formação dos poros e seus tamanhos, controle da morfologia, assim como das propriedades estruturais.

De modo geral a preparação de sílica mesoporosa utilizando surfactante pode ser descrita como a dissolução das moléculas do agente tensoativo no solvente (tendo em vista o pH, temperatura, aditivos, co-solvente), seguido pela adição do precursor de sílica (TEOS, metassilicato, etc)[29]. Na Figura 3 são apresentados de modo simplificado as principais rotas sintéticas.

**Figura 3.** Esquema geral de produção de sílica mesoporosa a partir de um agente tensoativo e um precursor de sílica e meio catalítico, no qual ocorre a hidrólise e condensação da sílica sobre a micela.



Fonte: O Autor



A produção de materiais de sílica mesoporosa divide-se em três estágios. No primeiro que corresponde a síntese do material, ocorre a hidrólise e condensação do precursor de sílica, no procedimento por vezes a temperatura é aumentada, também pode ocorrer tratamento hidrotérmico. Além do precursor e do agente direcionador de poros pode-se ter a adição de cosolventes, ou de mais de um agente direcionador e alteração do pH[30]. Após a formação do material, deve-se separar as partículas do meio reacional, geralmente realizado através de centrifugação, o material separado é lavado e seco. No final, faz-se necessário a retirada do surfactante, existem dois métodos, a calcinação e a extração. Sendo o segundo o mais econômico e ambientalmente favorável, uma vez que permite a recuperação e reciclagem do surfactante, todavia pode apresentar remoção incompleta para alguns agentes direcionadores de poros[31].

### **I.1.1. Modificação química da sílica mesoporosas**

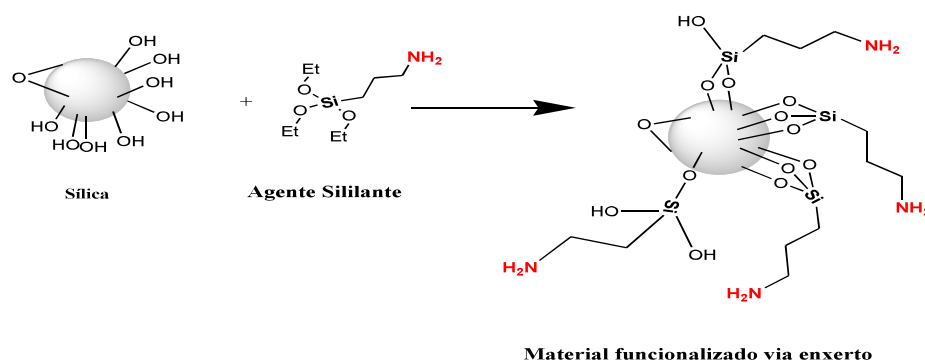
Sobre a superfície dos materiais de sílica podem ser incorporados heteroátomos ou grupos orgânicos, obtendo-se assim um material com novas propriedades, porém ainda com as características físicas da sílica. Estes grupos funcionais ancorados sobre a superfície são os responsáveis pelas propriedades químicas[32]. Utiliza-se basicamente de dois métodos para a modificação de sílica, o “grafting” também chamado de enxerto, no qual os grupos funcionais são inseridos numa etapa pós-síntese e a co-condensação ou síntese direta, em que os compostos são adicionados juntamente com a fonte de sílica [33].

Para o método de enxerto inicialmente é produzido o material mesoporoso e em seguida é feita a introdução dos grupos funcionais desejados. Apresenta-se como vantagem a retenção da mesoestrutura inicial do material, uma vez que o revestimento das paredes é acompanhado pela redução da porosidade do material híbrido. A desvantagem é que caso os organosilanos utilizados na funcionalização reagem de preferência nas entradas dos poros durante o estágio inicial do procedimento, a difusão das moléculas mais afastadas do centro dos poros fica prejudicada, podendo ocasionar em uma má distribuição, sendo esta não homogênea e com um baixo grau de ocupação[33]. A Figura 4 mostra o método de funcionalização pós-síntese com os organosilanos  $(R'O)_3SiR$  e os grupos silanóis livres na superfície, em que R são os grupos funcionais orgânicos.

Para o método de co-condensação, os grupos funcionais são componentes diretos da matriz de sílica, uma vez que foram adicionados durante a síntese do material (Figura 5). Nesse

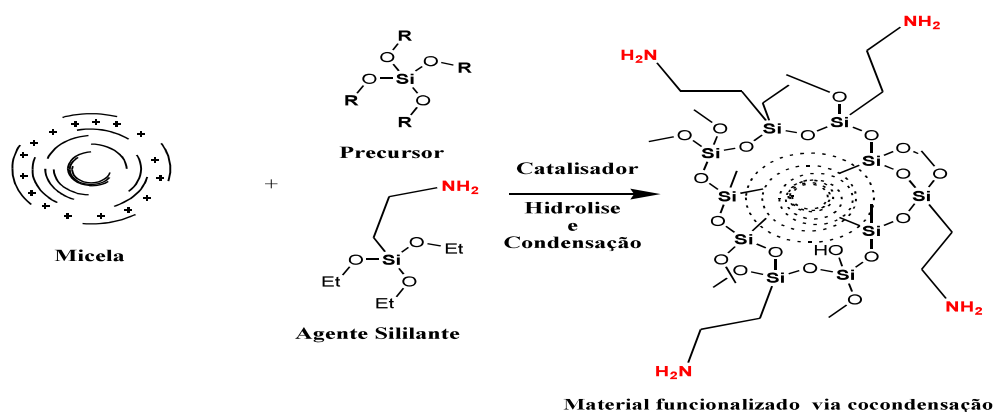
método não ocorre o efeito de bloqueio dos poros e os grupos funcionais estão homogeneamente distribuídos. A desvantagem é que devido ao aumento de carga de grupos orgânicos incorporados pode ocorrer a redução de diâmetro de poro, volume do poro e conseqüentemente da área superficial. Devido os grupos orgânicos já serem adicionado durante a síntese, fica impossibilitado a utilização do método de calcinação para o processo de remoção do surfactante, sendo necessário a utilização do método de extração por solvente. Por muitas vezes o método de co-condensação é escolhido por minimizar o número de etapas de síntese, possuir uma melhor e mais homogênea distribuição da superfície da sílica. [33] Acredita-se também que a estabilidade dos materiais preparados por co-condensação apresenta-se maior que os materiais produzidos por enxerto[34].

**Figura 4.** Funcionalização via enxerto para materiais de sílica com a utilização de um agente sililante contendo o grupo orgânico funcional desejado.



Fonte: O autor

**Figura 5.** Funcionalização via co-condensação para materiais de sílica com a utilização de um agente sililante contendo o grupo orgânico funcional desejado.



Fonte: O Autor

### **I.1.2. Nanopartículas e o uso na medicina**

No ano de 1990 as nanoformulações terapêuticas começaram a ser comercializadas[35-36]. Porém, apesar dos esforços e investimentos durante os últimos 30 anos, só algumas foram aprovadas pela Food and Drug Administration(FDA) para aplicações clínicas. Pode-se citar o Doxil, um lipossomo com tamanho de 100 nm, que encapsula cloridrato de doxorubicina, aprovado em 1995 para o tratamento do sarcoma de Kaposi refratário (câncer recorrente de mama e de ovário) e a Abraxane, um paclitaxel-albumina, aprovado pela FDA para tratamento do câncer de mama metastático. Nanopartículas de sílica (NPSi) despertam o interesse em pesquisas devido a necessidade de tratamentos nanoformulados de alto desempenho terapêutico, espera-se que as NPSi possam contornar os problemas das nanoformulações atuais[37-38]. O primeiro obstáculo é a dificuldade de desenvolver nanocarreadores que possam encapsular em quantidade suficiente para obter uma liberação ativa. O segundo é fornecer nanopartículas de maneira eficiente para o local desejado, considerando as várias barreiras fisiológicas, seguida da toxicidade dos nanomateriais. O quarto obstáculo é a fabricação rentável e em grande escala com boa dispersão, sendo este um dos maiores desafios enfrentados. As nanopartículas de sílica mesoporosa tem uma estrutura de poros ordenados, alta área superficial, e um elevado volume de poros[39]. Todas essas propriedades conferem-lhes vantagens únicas para encapsular uma variedade de agentes terapêuticos e de atingir alvos específicos. Deve-se ressaltar que a fabricação de NPSi é simples, escalável, possui uma boa relação custo-eficiência e é controlável.

### **I.1.3. Biocompatibilidade**

Em aplicações biomédicas, as partículas devem exercer plenamente a funções desejadas e evitar alterações não-específicas e prejudiciais ao corpo. A sílica é aceita como um material de baixa toxicidade, porém para as NPSi, e a sua biocompatibilidade em escala nano, deve-se considera-las como um “novo” material. Na Conferência de Consenso da Sociedade Europeia de Biomateriais de 1986. Biocompatibilidade ficou definida como “a capacidade de um material para realizar com uma resposta do hospedeiro apropriado em uma aplicação específica”, e com o rápido desenvolvimento de biomateriais o termo vem sendo ampliado. Estudos vêm sendo realizados para avaliar os efeitos benéficos e prejudiciais no organismo pelas NPSi, a sua toxicidade in vivo, e as mudanças nas células e no corpo em níveis moleculares, celulares e histológicos[39].

A biocompatibilidade está diretamente relacionada com a biotranslocação, levando em consideração a própria nanopartículas em células, a cinética *in vitro*, a captação celular, mecanismo e tráfico intracelular e na biodistribuição *in vivo*, o metabolismo, a biodegradação e a excreção. Existem estudos sobre as propriedades físico-químicas de nanomateriais, que incluem tamanho das partículas, forma, área superficial e estrutura e a importâncias na biocompatibilidade e biotranslocação. Infelizmente nenhuma conclusão definitiva ainda pode ser feita sobre um determinado parâmetro físico-químico específico, devido à complexidade dos sistemas e das pesquisas envolvendo nanotoxicidade[39]. Deve-se salientar que alguns dos resultados observados são controversos.

O tamanho de partícula é considerado como uma das propriedades mais importante quando se trata de nanomateriais. Com relação a biocompatibilidade, existem duas crenças: a primeira que considera o tamanho de partícula como o parâmetro de maior importância, a segunda encontra-se em oposição, atestando que a influência é insignificante. Com relação a forma das nanopartículas e seu efeito sobre a biocompatibilidade, observa-se uma dificuldade de estabelecer uma relação definitiva, uma vez que as técnicas de produção de nanomateriais de diferentes formas que utilizam material biocompatíveis são limitadas [40]. Observa-se que nos últimos anos vem se destacando a produção de partículas não esféricas, pois notou-se a redução da fagocitose por macrófagos e um maior tempo de circulação [41]. Porém, a grande maioria dos trabalhos e pesquisas envolvendo nonocarreamento de fármacos utilizam-se de material esférico [42].

Em relação ao tamanho para as nanoesferas de sílica e a citotoxicidade, um estudo *in vitro* com materiais com dimensões de 190, 420 e 1220 nm, mostrou que a mesma está intimamente ligado ao tamanho de partículas[43]. As nanopartículas de 190 e 420 nm apresentaram uma citotoxicidade significativa acima de 25 mg mL<sup>-1</sup>, porém em escala micrométrica de 1200 nm, mostrou uma ligeira ação citóxica causada pela diminuição da endocitose, porém para estudos *in vivo* esse comportamento não foi observado. Outro estudo realizado com nanopartículas de tamanho de 150, 800 e 4000 nm, mostrou que a toxicidade é independente do tamanho, porém depende da via de administração, injeções intravenosas e intraperitoneal de 1200 mg kg<sup>-1</sup> causam a morte de ratos, nenhuma morte foi observada com a administração subcutânea [43].

Na aplicação de nanomateriais em medicina deve-se ter em mente o meio e o alvo a ser atingido, se a administração é via intravenosa, oral ou subcutânea[43]. A partir dos dados obtidos através do microscopia de eletrônica de varredura (MEV) é possível traçar estratégias,

escolher fármaco mais adequado e meios de administração mais convenientes, ou procurar modificações nas sínteses a fim de adequar o tamanho de partícula.

## **I.2. Nanopartículas carregadas positivamente**

Deve-se salientar que os grupos silanóis presentes na superfície para a grande maioria das partículas de sílica são aproximadamente 6% (m/m) do total do material, mas esses grupos expostos podem interagir com as moléculas biológicas, como os lipídios da membrana celular e destruir a estrutura celular[44] e sem a modificação superficial, as nanopartículas, cujo o potencial zeta é negativo, iriam associa-se rapidamente com plasma sanguíneo, causando a sua eliminação pelos macrófagos no sistema reticulo-endotelial(RES). Por isso a modificação da superfície das nanopartículas desempenham um papel crucial, pois altera a reatividade superficial, melhorando a biocompatibilidade e aumentando o tempo de circulação em vivo.

## I.2. OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Preparar nanopartículas de sílica por três rotas sintéticas diferentes de modo a avaliar suas dispersibilidades e funcionalizar positivamente a superfície das nanopartículas pela inserção de um sal quaternário de amônio.

### Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas de sílica utilizando o método de Stöber modificado, utilizando o surfactante N-cetil-N,N,N-trimetilamônio (CTAB) e como precursor de sílica, o tetraetilortossilicato (TEOS), através de três metodologias distintas;
- Adicionar o grupo funcional amina através utilizando o agente sililante 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) via enxerto;
- Modificar o grupo funcional amino, em ambos os materiais, para a obtenção de uma amina quaternária;
- Caracterizar o material obtido através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TG), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), isotermas de adsorção e dessorção de Nitrogênio, potencial Zeta, espalhamento de luz dinâmica (DLS).

### I.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### I.3.1. Reagentes e Solventes

- Tetraetilortosilicato (TEOS)- Sigma-Aldrich 98%
- Brometo de N-Cetil-N,N,N-trimetilamônio (CTAB)- Sigma-Aldrich P.A
- 3-Aminopropiltrióxissilano (APTES)- Sigma-Aldrich 98%
- Iodeto de metila
- Acetonitrila-Synth P.A
- Tolueno-Vetec 99,5%
- Hidróxido de Amônia-Synth 27%
- Ácido Clorídrico-Synth 65 %
- Etanol-Dinâmica 98,5 %
- Acetona-Synth P.A

#### I.3.2. Sínteses de Nanopartículas de sílica

As sínteses das nanopartículas baseiam-se no método de Stöber modificado, em que as reações de hidrólise e condensação do precursor de sílica (TEOS- teraetilortosilicato), ocorrem na superfície de uma micela positivamente carregada (CTAB - brometo de N-Cetil, N,N,N-trimetilamônio) através de interações eletrostática. Para a avaliação da dispersibilidade dos materiais sintetizados utilizados três rotas sintéticas que se diferenciam por algumas particularidades, que serão descritas a seguir.

##### I.3.2.1. Síntese por agitação

Em um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de uma solução de amônia 0,100 mol L<sup>-1</sup> foram adicionados 0,100 g de CTAB. Após a completa dissolução do surfactante, porções de 1 mL de uma solução alcoólica de TEOS 1,0 mol L<sup>-1</sup> foram adicionados lentamente na solução, em intervalos de 5 minutos, com uma adição total de 10 mL. Após a completa adição de TEOS o sistema foi deixado em agitação por 4 horas. Decorrido as 4 horas de reação, as nanopartículas foram centrifugadas a 5000 rpm durante 20 min com água, etanol e por último com acetona e secas a temperatura de 100 °C por aproximadamente 24 horas[45]. Esta amostra foi denominada de **A NPSi**.

### **I.3.2.2. Síntese por ultrassom**

A síntese das NPSi foi realizada seguindo procedimento já descrito na literatura[46]. Inicialmente foi preparada uma solução contendo 75 mL de água e 0,10000 g de CTAB que foi irradiada em um ultrassom por 2 min. Logo após foi adicionado gota-a-gota 1 mL de hidróxido de amônio e 1 mL de TEOS. Depois da formação do precipitado, o mesmo foi centrifugado e lavado duas vezes com água e uma com etanol. O material foi seco a uma temperatura de 100 °C e calcinado em 550 °C por 5 horas. Esta amostra foi denominada como **U NPSi**.

### **I.3.2.3. Síntese proposta neste trabalho**

Em um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de uma solução aquosa de hidróxido de amônio 0,100 mol L<sup>-1</sup>, adicionou-se 0,10000 g de CTAB sob agitação em ultrassom, esperou-se 2 minutos e logo em seguida foram adicionados gota a gota 10 mL de uma solução alcoólica contendo 2 mL de TEOS, com agitação manual e ultrassônica do erlenmeyer. O sistema foi deixado no ultrassom por aproximadamente 15 min. Esta amostra foi denominada de **P NPSi**.

## **I.3.3. Funcionalizações das nanopartículas de sílica**

### **I.3.3.1. Via enxerto em tolueno**

Foram montados quatro sistemas distintos um contendo: dois contendo tolueno em diferentes volumes: 100 mL e 20 mL e outros dois contendo 100 mL e 20 mL de etanol. Esse experimento visa estudar as melhores condições de funcionalização, considerando o meio (tolueno ou etanol) e a quantidade dispersa de nanopartículas. A todos os sistemas foram adicionados 100 mg de NPSi previamente aquecidas na temperatura de 120°C por duas horas. A fim de obter uma boa dispersão o sistema foi mantido em ultrassom por 30 minutos, depois foi deixado em agitação magnética por 1 horas, retornando ao ultrassom por mais 30 min e em seguida adicionado 100 µL de APTES e deixou sob agitação por 24 horas, decorrido o período o material foi centrifugado, lavado e seco. Esta amostra foi denominada de **NPSi-APTS**.

### **I.3.3.2. Via co-condensação**

#### **I.3.3.2.1 Por agitação**

A um erlenmeyer contendo 100 mL de uma solução de amônia 0,100 mol L<sup>-1</sup> foram adicionados 0,100 g de CTABr e após a completa dissolução do surfactante foram realizadas a adição de 1 mL de uma solução alcoólica de TEOS 0,5 mol L<sup>-1</sup> adicionados lentamente na



solução e intercalado com a adição de 1 mL de uma solução alcoólica de APTES  $0.5 \text{ mol L}^{-1}$  em intervalos de 5 minutos, com uma adição total de 10 mL para ambas as soluções. Após a formação do precipitado, o mesmo foi centrifugado e lavado duas vezes com água e uma com etanol. Esta amostra foi denominada de **A NPSi-APTES**.

#### **I.3.3.2.2. Por ultrassom**

Uma solução contendo 75 mL de água e 0,10000 g de CTAB foi irradiada em banho de ultrassom por 2 min. Logo após foi adicionado 1 mL de hidróxido de amônia e 0,5 mL de TEOS e 0,5 mL de APTES gota-a-gota. Após 20 min o mesmo foi centrifugado e lavado duas vezes com água e uma com etanol. Esta amostra foi denominada de **U NPSi-APTES**.

#### **I.3.3.2.3. Síntese proposta**

Em um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de uma solução aquosa de hidróxido de amônia  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , adicionou-se 0,100 g de CTAB sob ultrassom por 2 minutos. Em seguida foram adicionados alternadamente 5 mL de solução alcoólica contendo 1 mL de TEOS e 5 mL de uma solução alcoólica contendo 1 mL de APTES. A mistura foi agitada manualmente em ultrassom. O sistema foi deixado no ultrassom por aproximadamente 15 min. O material foi então centrifugado à 5000 rpm, lavado com água e etanol, posteriormente seco a  $100^\circ\text{C}$ . O surfactante foi removido por extração líquida em uma solução alcoólica de HCl 1%. Esta amostra foi denominada de **P NPSi-APTES**.

#### **I.3.4. Quaternização das nanopartículas de sílica**

100 mg de NPSi-APTES foram dispersas em uma mistura contendo 50 mL de tolueno e 50 mL de acetonitrila, após a completa dispersão foi adicionado 0,2 mL de iodeto de metila. A Mistura foi deixada em agitação por 4 horas, na ausência de luz, a uma temperatura de  $70^\circ\text{C}$ . Posteriormente, o material foi centrifugado e lavado com água, etanol e acetona. E seco a temperatura de  $60^\circ\text{C}$ .

#### **I.3.5. Caracterização das nanopartículas**

Com o objetivo obter o máximo de informações sobre os materiais sintetizados e confirmar as etapas de funcionalização, foram realizadas análises através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Análise Termogravimétrica (TGA), Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR), Isoterma de Adsorção e Dessorção de Nitrogênio, Potencial Zeta,

Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estado sólido.

#### **I.3.5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Informações sobre a morfologia das nanopartículas como: dispersabilidade, tamanho e forma das partículas foram obtidas através de análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando-se um microscópio QUANTA-FEG da Central Analítica da Universidade Federal do Ceará. Uma suspensão da amostra em etanol foi sonicada por 30 min e gotejada em um suporte de alumínio contendo uma tira de carbono, recoberta por um filme de ouro (~20nm).

#### **I.3.5.2. Isoterma de adsorção e dessorção de N<sub>2</sub>**

Para determinar as características texturais do material ao longo das etapas de funcionalização, utilizou-se um analisador por adsorção gasosa, modelo Autosorb-1C da Quantachrome Instruments. O volume e o diâmetro dos poros foram calculados pelo método de Barret–Joyner–Halenda (BJH de dessorção) e a área superficial foi calculada de acordo com o método de Brunauer–Emmett–Teller (BET). [47] Os experimentos de adsorção/dessorção de nitrogênio foram realizados a temperatura do nitrogênio líquido (77 K), e as amostras foram degaseificadas sob vácuo a 150 °C, durante 24 h. As análises foram realizadas no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Materiais da Universidade Federal do Ceará (LCTM-UFC) no Departamento de Física da UFC.

#### **I.3.5.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho**

Análises de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas no intervalo de número de onda avaliado de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, sendo utilizadas pastilhas de KBr contendo 2% (m/m) da amostra. O equipamento utilizado foi da marca ABB, modelo FTLA 2000, localizado no Grupo de Bioinorgânica, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

#### **I.3.5.4. Análise Termogravimétrica**

Estudos de termogravimetria (TG) foram realizados visando a obtenção de informações das condições de funcionalização, estabilidade térmica, e estimativa da quantidade dos grupos orgânicos ancorados na sílica nas etapas de funcionalização. As curvas foram obtidas em porta-amostra de alumina, na faixa de 25 °C a 1000 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera de oxigênio. As análises foram realizadas no Laboratório de Ciência e Tecnologia

de Materiais da Universidade Federal do Ceará (LCTM-UFC) no Departamento de Física da UFC, em uma termobalança modelo TGA-60 da marca SHIMADZU.

### **I.3.5.5. Potencial Zeta e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)**

Análises de Potencial Zeta, tamanho e a distribuição do diâmetro das NPSi's, (pelas medidas de espalhamento dinâmico de Luz (DLS) foram realizadas no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, utilizando-se o equipamento Nano Zetasizer da Malvern modelo ZS. As medidas foram realizadas em triplicata, a partir de suspensões aquosas contendo 0,5% (m/v) dos nanomateriais, sendo a dispersão auxiliada por ultrassom à temperatura ambiente.

### **I.3.5.6. Ressonância Magnética Nuclear em estado sólido**

As amostras de sílica organofuncionalizadas foram analisadas por ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  e  $^{29}\text{Si}$  no estado sólido no Laboratório de RMN do instituto de Química-UFRJ. Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  e  $^{29}\text{Si}$  foram realizados com polarização cruzada e rotação de ângulo mágico, CP/Mas RMN, foram obtidos espectrofotômetros Bucker, DRX-300 (7,05 Tesla). Para a aquisição dos espectros foi utilizado sonda de 4 mm; rotor  $\text{ZrO}_2$  4 mm, com tampa de Kel-F. As condições de aquisição dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^{29}\text{Si}$  estão apresentadas na Tabela 01.

**Tabela 01.** Condições de aquisição dos espectros de RMN de sólido

<b>Parâmetros utilizados</b>	<b>RMN <math>^{13}\text{C}</math></b>	<b>RMN <math>^{29}\text{Si}</math></b>
<b>Sequência de pulso</b>	Polarização cruzada	Polarização cruzada
<b>Tempo de contato (<math>\mu\text{s}</math>)</b>	5000	1000
<b>Velocidade de rotação (HZ)</b>	5000	5300
<b>Intervalo entre pulsos (s)</b>	4	4
<b>Número de acumulações</b>	1000	1000-38000
<b>Referência (ppm)</b>	Hexametilbenzeno (17,3)	Caulina (-91,5)
<b>Tempo de máquina</b>	19 horas	3-52 horas

Fonte: O autor

## I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### I.4.1 Síntese de nanopartículas

Inicialmente foi avaliado a influência das diferentes sínteses nas propriedades estruturais do material como: tamanho, dispersibilidade, área superficial e porosidade. Através das informações obtidas escolheu-se uma apenas uma rota para posterior etapas. Na Tabela 02 apresenta a denominação para os materiais sintetizados e a suas respectivas descrição.

**Tabela 02.** Denominação utilizada para a identificação das diferentes NPSi's sintetizadas.

DENOMINAÇÃO	DESCRIÇÃO
<i>A NPSi</i>	Nanopartículas de sílica pura obtidas por agitação
<i>A NPSi-APTES</i>	Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação em agitação
<i>U NPSi</i>	Nanopartículas de sílica pura obtidas em ultrassom
<i>U NPSi-APTES</i>	Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação em ultrassom
<i>P NPSi</i>	Nanopartículas de sílica pura pela metodologia proposta
<i>P NPSi-APTES</i>	Nanopartículas funcionalizadas via co-condensação pela metodologia proposta

Fonte: O autor

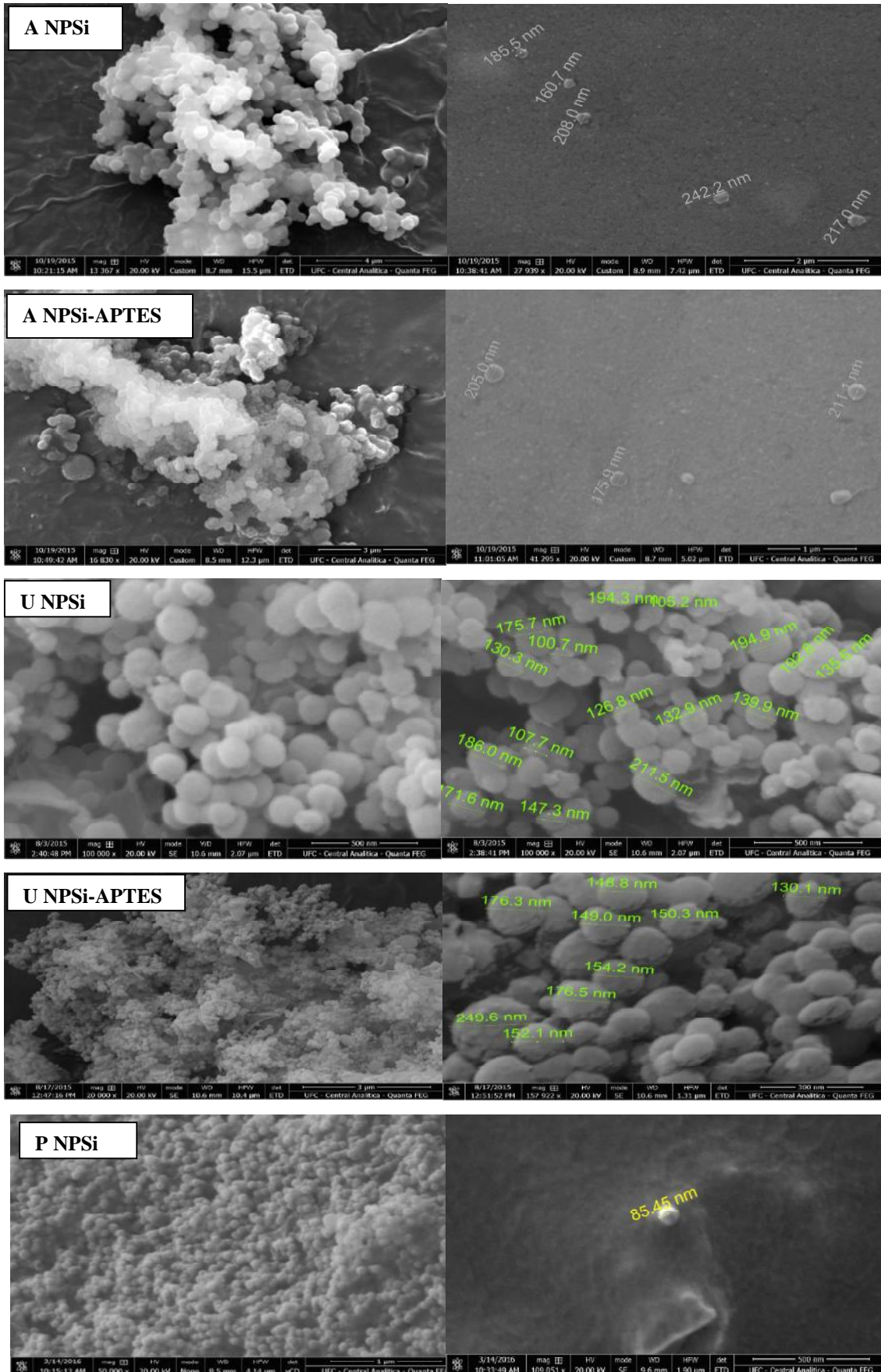
#### I.4.1. Análise morfológica

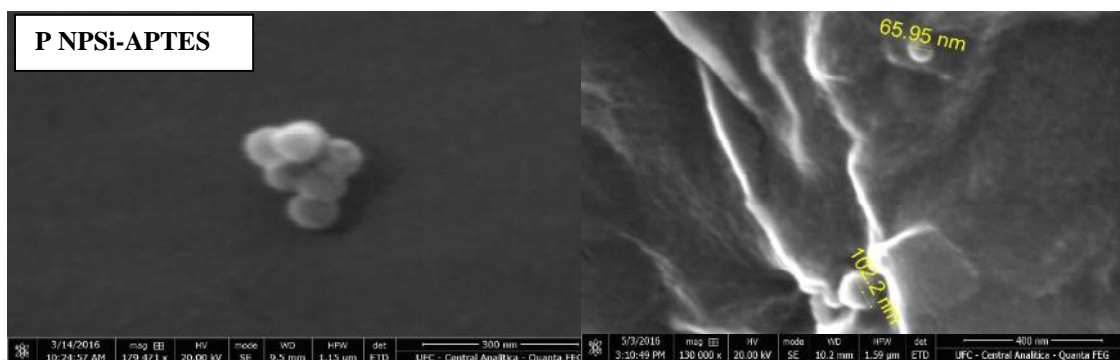
A morfologia das nanopartículas foram investigadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e as informações sobre as propriedades texturais foram obtidas através de análises da isotermas de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub>, que serão apresentadas a seguir.

##### I.4.1.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 6 apresenta as micrografias para os materiais. Para a obtenção das imagens foi utilizado uma cobertura de filme de ouro com espessura de 20 nm que representam entre 10 e 20% do diâmetro das amostras[47]

Figura 06. Micrografia nos nanomateriais sintetizados.





Fonte: O autor

Para todos os sistemas foram observados a presença de agregados, resultado da baixa repulsão eletrostática entre as superfícies das partículas assim como uma alta concentração de material no meio aquoso[48]. Este efeito pode ser minimizado com aumento da carga superficial das nanopartículas e de um estágio diluição. Observa-se indícios de aglutinação para as amostras A NPSi, A NPSi-APTES, U NPSi e U NPSi-APTES em que pode ser observado nas micrografias a presença de partículas muito próximo e a sobreposta. Porém nota-se a presença de pequenas unidades, com forma esférica e de tamanho nanométricos, fornecendo indícios que os agregados são formados por pequenas partículas. Para as P NPSi e P NPSi-APTES pode-se observar claramente que os agregados são resultantes de pequenas partículas, essa de tamanho uniforme e formas esféricas bem definidas. Não há a presença de aglutinações para esses materiais, tem-se partículas esféricas de tamanho variando entre 80 e 110 nm. A Tabela 03 resume as principais características observadas para os materiais.

**Tabela 03.** Principais características observadas para as diferentes rotas sintéticas de nanopartículas utilizadas

Amostra	Forma	Tamanho (nm)
A NPSi	Esférica imperfeita	180 à 240
A NPSi-APTES	Esférica imperfeita	175 à 220
U NPSi	Elíptica	100 à 215
U NPSi-APTES	Elíptica	130 à 240
P NPSi	Esférica perfeita	70 à 105
P NPSi-APTES	Esférica perfeita	70 à 105

Fonte: O autor

#### I.4.1.2. Espalhamento de Luz Dinâmico

Os resultados obtidos pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) corroboram com os resultados obtidos pelo MEV na determinação do tamanho de partículas e de formação de agregados. Através dessa técnica também foi possível obter o índice de polidispersividade (Pdi) do material e observar a estabilidade do sistema coloidal.

Na técnica de espalhamento de luz dinâmico, a distribuição de tamanho pode apresentar-se como sendo unimodal (uma população), multimodal (várias populações), monodispersa ou polidispersa, contendo uma distribuição de tamanhos estreita, ou larga, respectivamente[49]. O Pdi usa uma escala compreendida entre 0 e 1, considera-se uma “boa” polidispersão aquele que apresenta um valor inferior a 0,100 representando uma população de partículas com elevada homogeneidade. Pelo contrário, um índice de polidispersão elevado sugere uma ampla distribuição de tamanho ou mesmo a existência de várias populações[49]. A Tabela 4 apresenta os valores de Pdi, onde observa-se um coeficiente de polidispersividade bastante semelhante entre as amostras.

**Tabela 04.** Índice de polidispersão para os materiais de produzidos.

<b>Amostra</b>	<b>Coefficiente de polidispersividade</b>
<b>A NPSi</b>	0,65 ± 0,09
<b>A NPSi-APTES</b>	0,60±0,1000
<b>U NPSi</b>	0,62±0,1003
<b>U NPSi-APTES</b>	0,63±0,09
<b>P NPSi</b>	0,30±0,31
<b>P NPSi-APTES</b>	0,60±0,1004

Fonte: O autor

A Tabela 5 apresenta os valores para a distribuição de tamanho para as sínteses.

Para todos os materiais observou-se, a presença de mais de um pico de distribuição de tamanho, todos largos indicando uma variação entre os tamanhos de partículas, encontra-se partículas com valores maiores que 4000 nm indicando a que além das nanopartículas monodispersas encontra-se também os agregados. O índice de polidispersão para as P NPSi

foram as que apresentam a menor valor, 0,30. As P NPSi e P NPSi-APTES foram as que apresentaram o menor tamanho de partículas e de agregados.

**Tabela 05.** Distribuição de tamanho para as NPSi's.

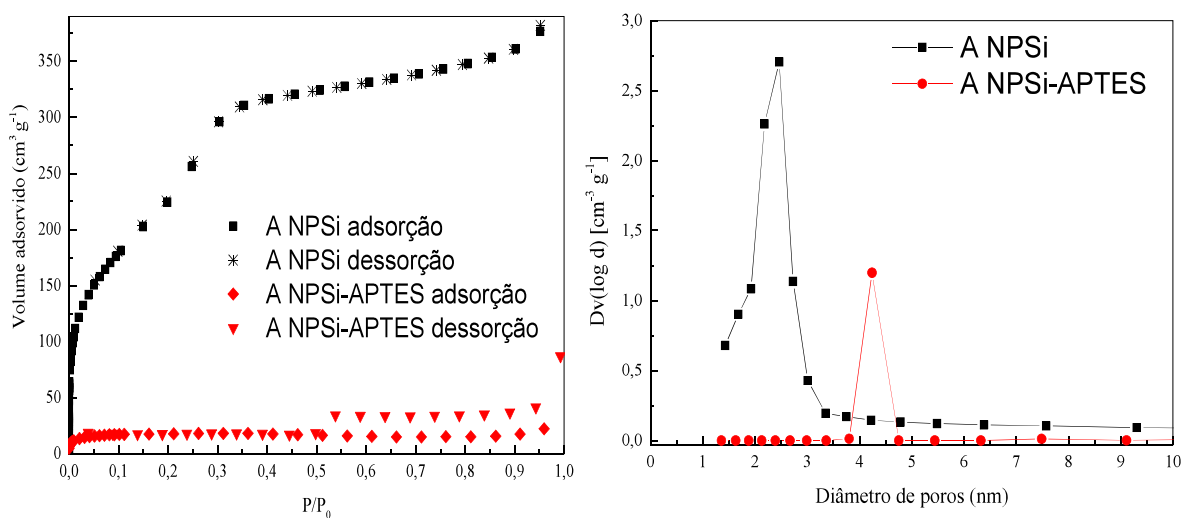
Amostra	1° pico Diâmetro (nm)/%	2° pico Diâmetro (nm)/%	3° pico Diâmetro (nm)/%
A NPSi	726,2 (51,6)	167,6 (34,3)	4851 (14)
A NPSi-APTES	340,5 (53)	1160 (40,5)	5341 (6,2)
U NPSi	216,5 (55,8)	1226 (40,2)	5387 (4,0)
U NPSi-APTES	1421 (48,3)	319,0 (45,8)	5212 (5,9)
P NPSi	492,8 (92,9)	109,8 (7,1)	-----
P NPSi-APTES	745,9 (64,8)	151,6 (35,2)	-----

Fonte: O autor

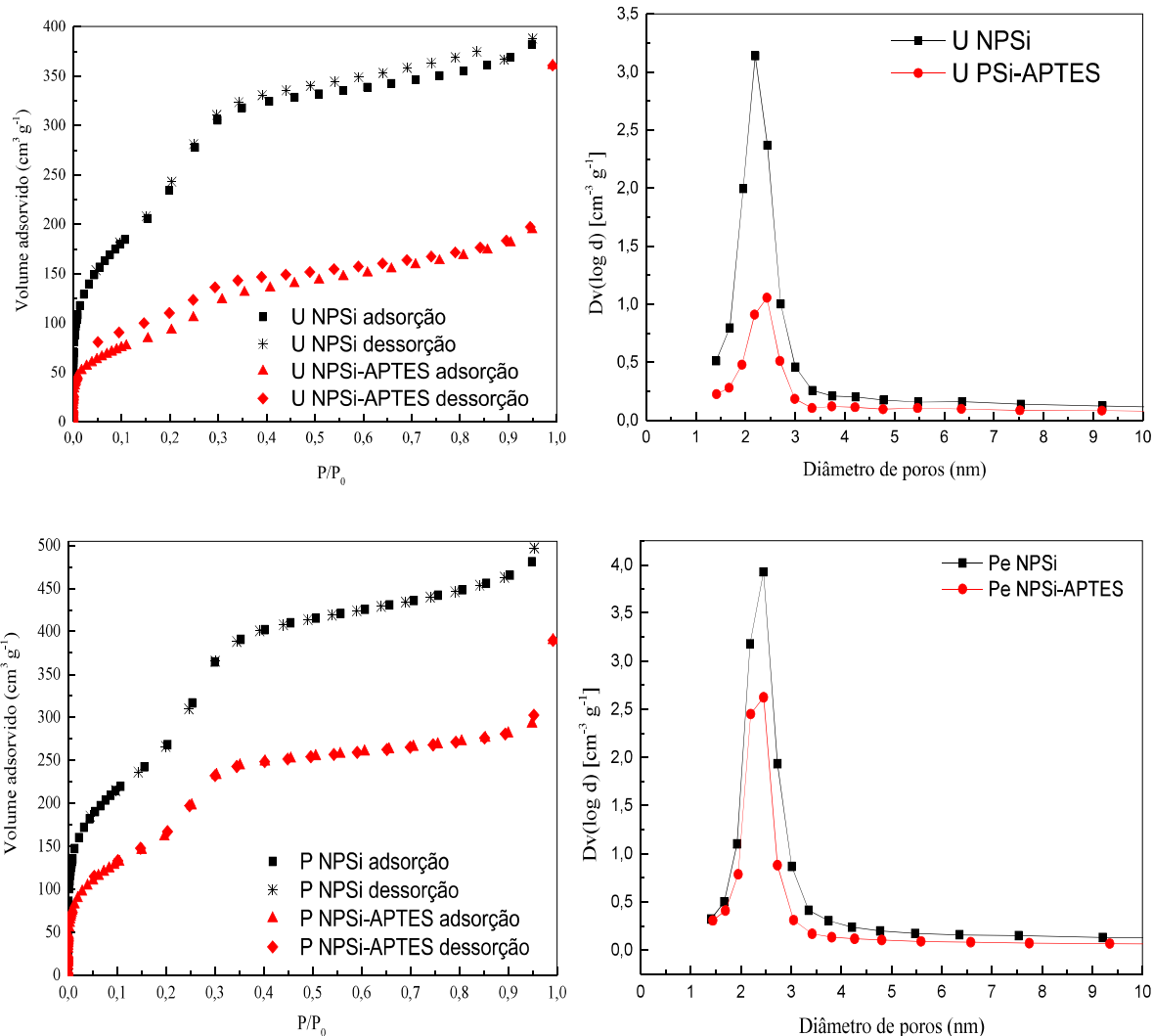
#### I.4.1.3. Isoterma de adsorção e dessorção de N<sub>2</sub>

As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K de todas as amostras obtidas estão apresentados na Figura 7.

**Figura 7.** Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio e os respectivos perfis de distribuição de poros (BJH), para os materiais sintetizados. Degasagem a 150°C por 24 horas.







Fonte: O autor

Todos os materiais sintetizados apresentaram perfil semelhante de isoterma de adsorção/dessorção, e foram classificadas como do tipo IV, típico para materiais mesoporosos, segundo a classificação da IUPAC. A presença do fenômeno de histerese, relacionada com a diferença entre os processos de adsorção e dessorção está associado, segundo Greig e Sing [50], ao fenômeno de condensação capilar, que justifica o aumento da adsorção em materiais mesoporosos quando comparado aos não porosos. Os perfis para a distribuição de diâmetro de poros foram obtidos segundo o método BJH [50]. Para todos os materiais foram observados tanto microporos (poros com diâmetro menos que 2 nm) quanto mesoporoso (poros com diâmetro entre 2 e 50 nm).

Como pode ser observado pelos valores da Tabela 6, ocorreu uma redução da área superficial e a diminuição tanto do volume quanto do diâmetro de poros, com a adição do agente

sililante APTES, sugerindo a imobilização de moléculas do grupo orgânico nas paredes dos poros. [9]. Percebe-se também as **P NPSi** e **P NPSi-APTES** foram as que apresentam a maior área superficial e volume de poros, indicando que provavelmente os poros nesses materiais encontra-se mais ordenados [10].

**Tabela 6.** Propriedades texturais das nanopartículas.

<b>Amostra</b>	<b>S<sub>(total)</sub> m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup></b>	<b>d nm</b>	<b>V<sub>(poros)</sub> Cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup></b>
<b>A NPSi</b>	884,4	2,34	0,519
<b>A NPSi-APTES</b>	37,3	4,2	0,024
<b>U NPSi</b>	996,3	2,06	0,514
<b>U NPSi-APTES</b>	360,4	2,53	0,227
<b>P NPSi</b>	1143	2,31	0,603
<b>P NPSi-APTES</b>	678,0	2,35	0,399

$S_{total}$  = área superficial total; d (nm)=diâmetro de poros;  $V_{(poros)}$ =Volume de poros e  $S_{(micro)}$ =área total de microporos.

Devido a sua alta área superficial, por apresentar o menor valor de Pdi, e maior homogeneidade em forma e tamanho as **P NPSi's** foram escolhidas para as posteriores etapas de funcionalização e adsorção do fármaco. Acredita-se que o uso do ultrassom tenha ajudado na dispersão mais efetiva do precursor de sílica e do agente sililante durante a etapa de condensação.

Assim, da nomenclatura que será adotada na sequencia será removido o termo que caracteriza o método, por exemplo, as **P NPSi** e **P NPSi-APTES**, serão chamadas apenas de **NPSi** e **NPSi-APTES**.

#### **I.4.2. Caracterização dos materiais de sílica modificados**

A seguir serão apresentados os resultados de caracterização para os nanomateriais de sílica modificados, segundo as diferentes metodologias utilizadas. A Tabela 7 apresenta as nomenclaturas de todos os materiais sintetizados e que serão utilizadas no decorrer do trabalho.

**Tabela 7.** Nomenclatura utilizada para os materiais produzidos e as suas modificações.

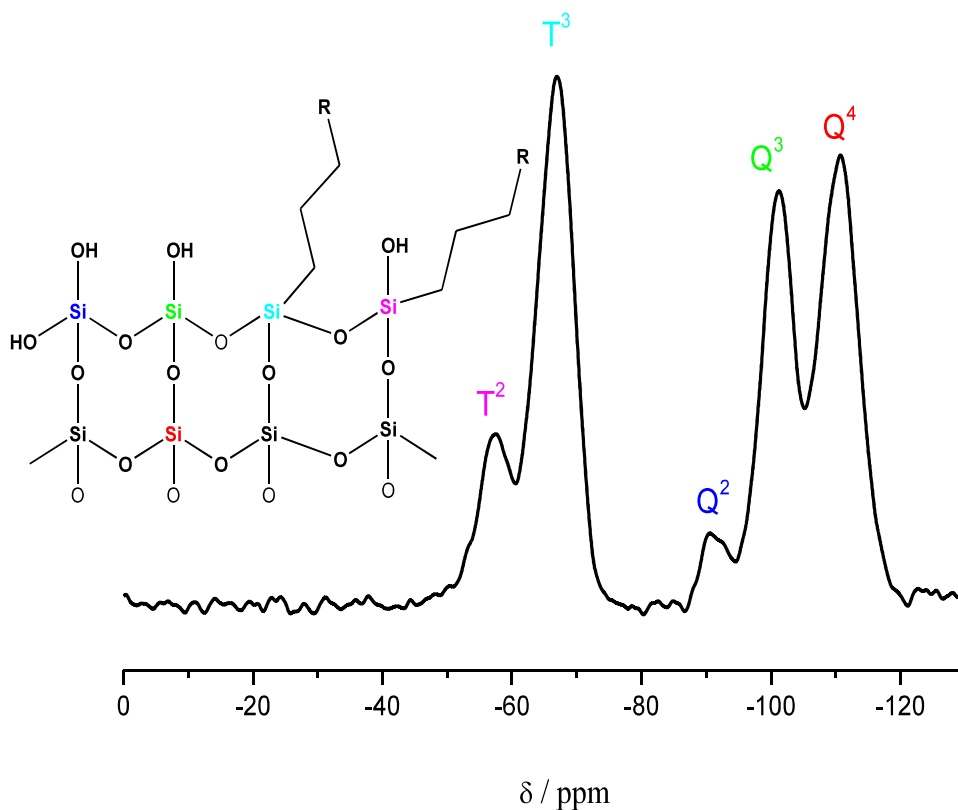
<i>ABREVIACÃO</i>	<i>DESCRIÇÃO</i>
<i>NPSi</i>	Nanopartículas de sílica pura
<i>ENX NPSi-APTES</i>	Nanopartículas funcionalizadas com APTES via enxerto
<i>ENX NPSi-Q</i>	Nanopartículas quaternária de amônio via enxerto
<i>CO NPSi-APTES</i>	Nanopartículas funcionalizadas com APTES via co-condensação
<i>CO NPSi-Q</i>	Nanopartículas quaternária de amônio via co-condensação

Fonte: O autor

#### I.4.2.1 Ressonância Magnética Nuclear para a amostra CO NPSi-APTES

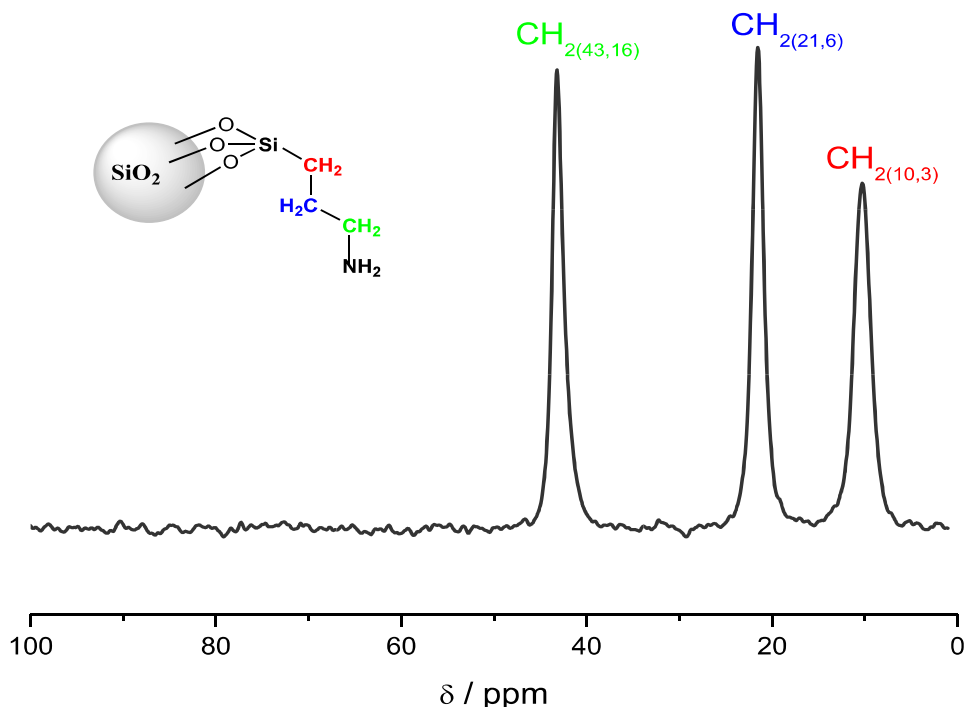
As Figuras 8 e 9 mostram os espectros RMN de  $^{29}\text{Si}$  e  $^{13}\text{C}$  para CO NPSi-APTES.

**Figura 8.** Espectro de CP/Mas de  $^{29}\text{Si}$  para as CO NPSi-APTES.



Fonte: O autor

**Figura 9.** Espectro de CP/Mas de  $^{13}\text{C}$  para as CO NPSi-APTES.



Fonte: O autor

Observa-se na Figura 8 um sinal em -110 ppm correspondente a unidades Si-O ligados a quatro átomos de oxigênios, classificado como tipo  $\text{Q}^4$  ( $\text{SiO}_4$ ), sinal em -101 ppm do tipo  $\text{Q}^3$  ( $\text{SiO}_3\text{OH}$ ) e em -93 ppm, tipo  $\text{Q}^2$  ( $\text{SiO}_2(\text{OH})_2$ ). A ausência de pico do tipo  $\text{Q}^1$  ( $\text{SiO}(\text{OH})_3$ ), uma baixa fração de  $\text{Q}^2$  e alta de  $\text{Q}^4$  indicam um grau relativamente elevado de condensação[51]. Observa-se também sinais do tipo T, característicos de átomos de silício ligados quimicamente a carbono, em -68 ppm, chamado de  $\text{T}^3$ , característico de estruturas do tipo  $\text{SiO}_3(\text{CH}_x\text{-R})$ , e em -59 ppm, do tipo  $\text{T}^2$ , de  $\text{SiO}_2(\text{OH})(\text{CH}_x\text{-R})$ . Essas observações indicam o grupo orgânico ligado quimicamente a estrutura da sílica. Observa-se também que o sinal de  $\text{T}^3$  apresenta-se com maior intensidade que os demais, sugerindo que o material orgânico se encontra ligado de forma monodentada na superfície das CO NPSi-APTES, sendo mais representativo que os grupos silanóis  $\text{Q}^3$  e  $\text{Q}^2$ . No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , Figura 9, as atribuições sugerem presença do grupamento aminopropil no material. Não se observa a presença de sinais característicos de carbono de grupos etoxila (em 16 e 58 ppm), reforçando a sugestão dos dados de  $^{29}\text{Si}$  RMN que durante o processo de formação ocorreu a total hidrólise do APTES.

**Tabela 8.** Atribuições do espectro de  $^{29}\text{Si}$  RMN para CO NPSi-APTES.

$\delta$ , ppm	Sítio	Atribuição
-59	T <sup>2</sup>	SiO <sub>2</sub> (OH) (CH <sub>x</sub> -R)
-68	T <sup>3</sup>	SiO <sub>3</sub> (CH <sub>x</sub> -R)
-92	Q <sup>2</sup>	SiO <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub>
-101	Q <sup>3</sup>	SiO <sub>3</sub> (OH)
-110	Q <sup>4</sup>	SiO <sub>4</sub>

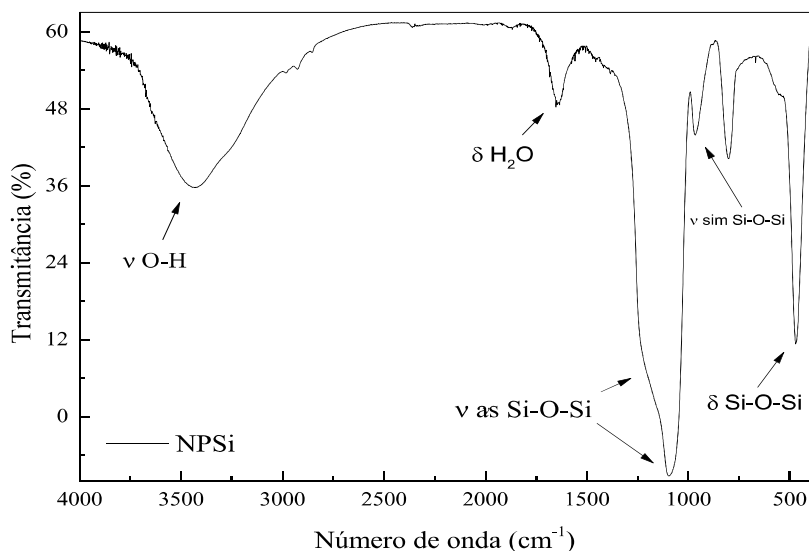
Fonte: O autor

#### I.4.2.2. Análise de espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

Buscando indícios das modificações químicas na superfície das nanopartículas sintetizadas, realizou-se análise espectroscópica na região do infravermelho para todas as etapas desenvolvidas ao longo do trabalho. A Figura 10 apresenta o espectro de absorção na região do infravermelho para a matriz de sílica da amostra **NPSi**. Uma característica marcante em espectros na região do infravermelho para a funcionalização em sílica é o fato das alterações no espectro da sílica após funcionalização serem discretas [52]. Essa característica é causada principalmente pela alta capacidade de adsorção de água proveniente das interações na superfície do material e da baixa concentração do material orgânico em relação a quantidade de sílica.

Para todas as amostras observa-se uma banda larga entre 3750 a 3000  $\text{cm}^{-1}$ , a qual é atribuída ao estiramento O-H dos grupos silanois e, também, à água remanescente adsorvida; dois picos intensos relacionados aos estiramentos assimétricos dos grupos siloxanos ( $\nu_{\text{as}}$  Si-O-Si) em 1200 e 1100  $\text{cm}^{-1}$ ; uma banda relacionada ao estiramento silanol Si-OH em 900  $\text{cm}^{-1}$ ; uma banda em 920  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento simétrico dos grupos siloxanos ( $\nu_{\text{sim}}$  Si-O-Si) e um pico relacionado à vibração ( $\delta$  O-Si-O) em 480  $\text{cm}^{-1}$ , uma banda em torno de 1650  $\text{cm}^{-1}$  atribuída às vibrações angulares das moléculas de água.

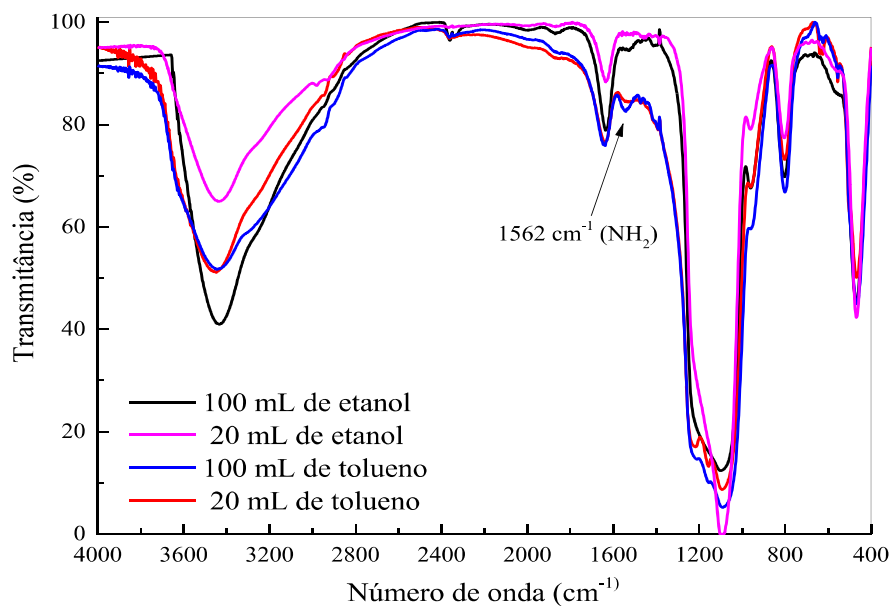
**Figura 10.** Espectros na região do infravermelho para **NPSi** em pastilha de KBr à 2%(m/m).



Fonte: O autor

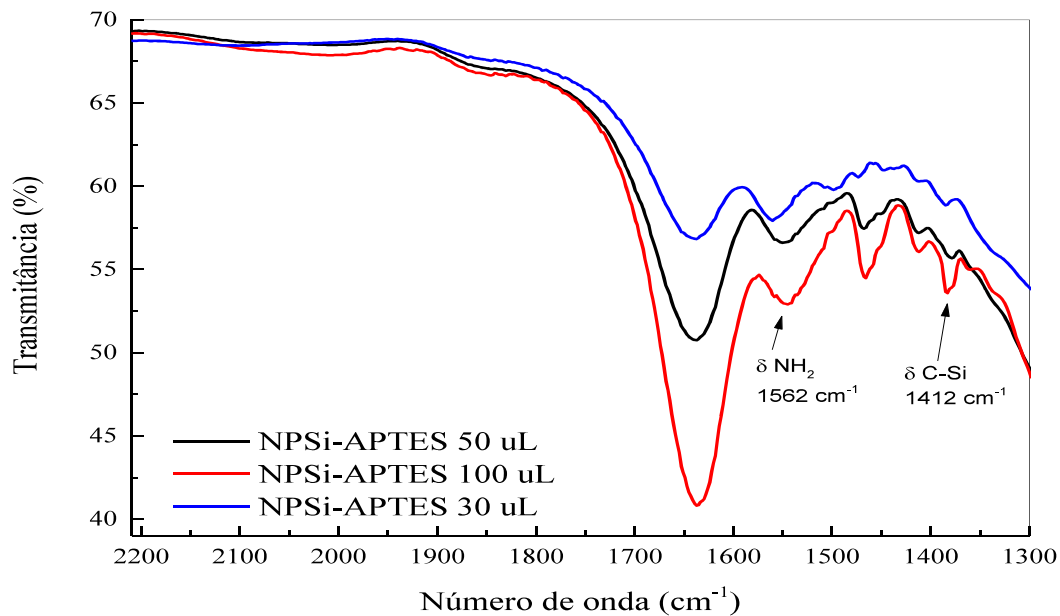
As Figuras **11** e **12** apresentam os espectros de IV para os materiais funcionalizados com APTES via enxerto, **ENX NPSi-APTES**, variando-se o solvente e a concentração do agente sililante (APTES), respectivamente. Comparando os espectros da **NPSi** com as amostras após a funcionalização é observado o aparecimento de bandas na região de 2921-2877  $\text{cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento assimétrico e assimétrico C-H de  $\text{CH}_2$  e outra banda em 1465  $\text{cm}^{-1}$  característica de C-H. Thundalt [53] ao se modificar as nanopartículas de sílica com APTES observou-se o aparecimento de uma banda próxima a essa região, em 1562  $\text{cm}^{-1}$  atribuída a amina primária. São observadas também três bandas na região compreendida entre 1500 e 1300  $\text{cm}^{-1}$  (Figura **12**), duas das quais podem ser atribuídas à flexão do grupo metila ( $\text{CH}_3$ ), em 1380 e 1465  $\text{cm}^{-1}$ [53], e outra em 1412  $\text{cm}^{-1}$  correspondente a ligação Si-C. Nota-se que quanto mais disperso estiver o material, sendo mais efetiva a funcionalização, percebe-se que a banda correspondente a amina é maior em 100 mL que em 20 mL. O tolueno apresenta-se como melhor meio reacional, uma vez que apresentou maiores mudanças no espectro. Apresenta-se os espectros para diferente quantidades e adição e APTES, a bandas em 1562  $\text{cm}^{-1}$ , 1380 e 1465  $\text{cm}^{-1}$ , intensificam com o aumento da concentração de APTES. Escolheu-se então o tolueno como meio reacional, o volume de 100 mL para 100 mg de nanopartículas, e a quantidade de 100  $\mu\text{L}$  de APTES.

**Figura 11.** Espectros de IV, em partilhas de KBr (2% m/m), para **ENX NPSi-APTES** nos diferentes solventes utilizados na síntese.



Fonte: O autor

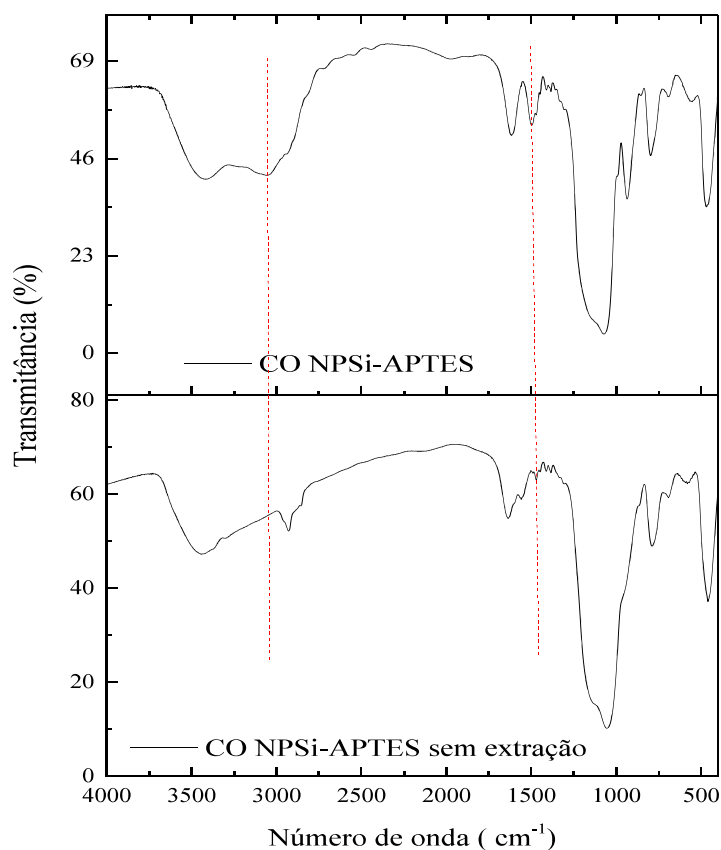
**Figura 12.** Espectros de IV, em partilhas de KBr (2% m/m) para **ENX NPSi-APTES** nas diferentes concentrações de APTES utilizadas na síntese.



Fonte: O autor

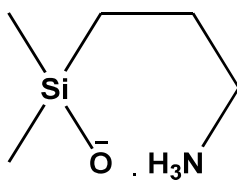
Já a Figura 13 apresenta os espectros das nanopartículas funcionalizadas pelo método da co-condensação, (CO NPSi-APTES) antes e após a extração do surfactante. Observa-se o desaparecimento das bandas na região de  $1530\text{ cm}^{-1}$  e a diminuição das bandas em  $2921\text{--}2877\text{ cm}^{-1}$ , sugerindo a extração surfactante. As bandas em  $1535\text{ cm}^{-1}$  e  $1552\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas a um possível estrutura do tipo  $\text{SiO}^-\cdots\text{NH}_3^+$ , (Figura 15) formado na superfície do material, por transferência de prótons [53]. Essa interação é possível devido aos silanóis encontram-se mais livres após a extração do surfactante.

**Figura 14.** Espectros de IV, em partilhas de KBr a (2% m/m), para CO NPSi-APTES antes e após a extração do surfactante.



Fonte: O autor

**Figura 15:** Anel complexado formado da interação do grupo amina e os grupos silanóis.

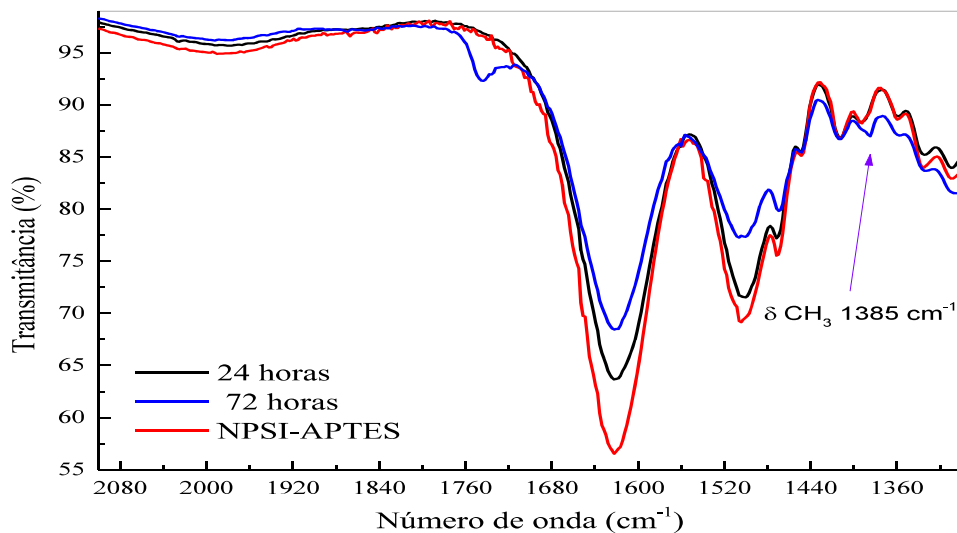


Fonte: Okabayashi, 1997, Colloid Polym Sci, 275, pag. 744.



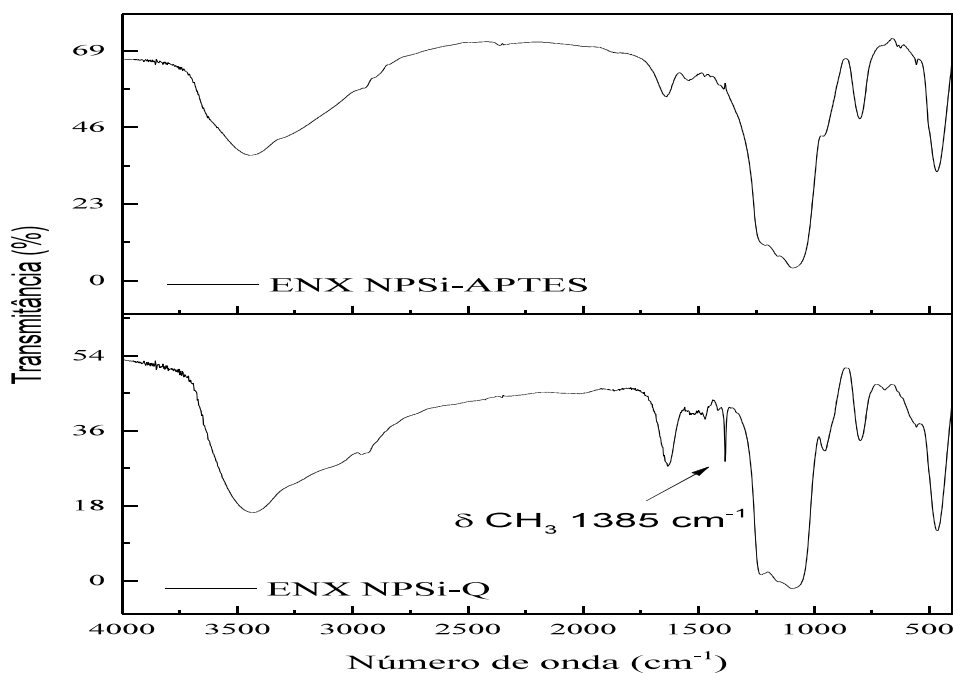
As Figuras 16 e 17 apresentam os espectro de infravermelho para as amostras modificadas com amina quartanária, CO NPSi-Q e ENX NPSi-Q, respectivamente.

**Figura 16.** Espectros de IV, em partilhas de KBr a (2% m/m), das CO NPSi-Q em diferentes tempos de reação.



Fonte: O autor

**Figura 17.** Espectros de IV, em partilhas de KBr a (2% m/m), das ENX NPSi-APTES e ENX NPSi-Q em diferentes tempos de reação.



Fonte: O autor

Ambos os espectros apresentam redução da banda em 1510-1550  $\text{cm}^{-1}$  característica de amina primária permanece a banda em 1465  $\text{cm}^{-1}$  e o aumento de intensidade da banda em 1385  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas a flexão do grupo metila[54], dando indicativo de mudança de amina primária para quaternária. Observa-se que a redução na banda em 1510  $\text{cm}^{-1}$ , para as CO NPSi-APTES não apresenta-se tão significativas quanto as ENX NPSi-APTES, devido talvez a acessibilidade dos poros e a grande quantidade de amina primária existente na CO NPSi-ATPS.

A Tabela 9 resume as principais as atribuições de absorções observadas nos espectros de IV para os materiais modificados.

**Tabela 9.** Tentativa de atribuição das bandas observadas durante o processo de síntese e modificação das nanopartículas

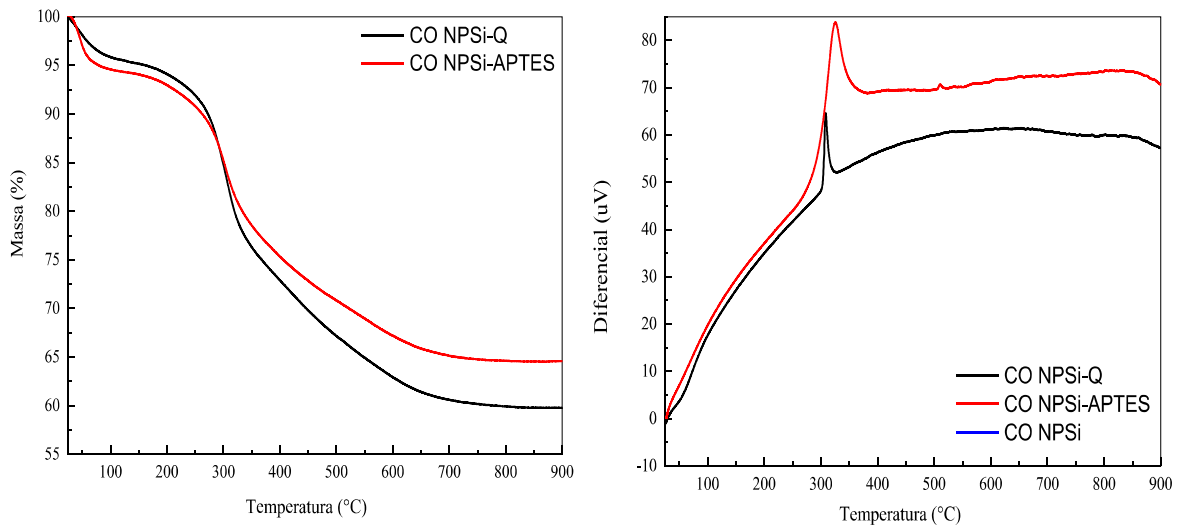
NPSi		NPSi-APTS		NPSi-Q	
Atribuições	( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições	( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições	( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>v O-H Grupos silanóis e água adsorvida</b>	3750-3000	<b>v N-H</b>	2922 e 2850	<b>v N-H</b>	
<b>v as Si-O-Si</b>	1200-1100	<b><math>\delta</math> N-H</b>	1544	<b><math>\delta</math> N-H</b>	
<b>v sim Si-O-Si</b>	920	<b>v sim e assim, de CH</b>	2922 e 2850	<b>v sim e assim, de CH</b>	2922 e 2850
<b><math>\delta</math> Si-O-Si</b>	480	<b>Si-C</b>	1412	<b>Si-C</b>	1412
<b><math>\delta</math> H<sub>2</sub>O</b>	1630	<b><math>\delta</math> C-H</b>	1465	<b><math>\delta</math> C-H</b>	1465
		<b>Flexão (CH<sub>3</sub>)</b>	1384	<b>Flexão (CH<sub>3</sub>)</b>	1384

Fonte: O autor

#### I. 4.3.4. Análise termogravimétrica

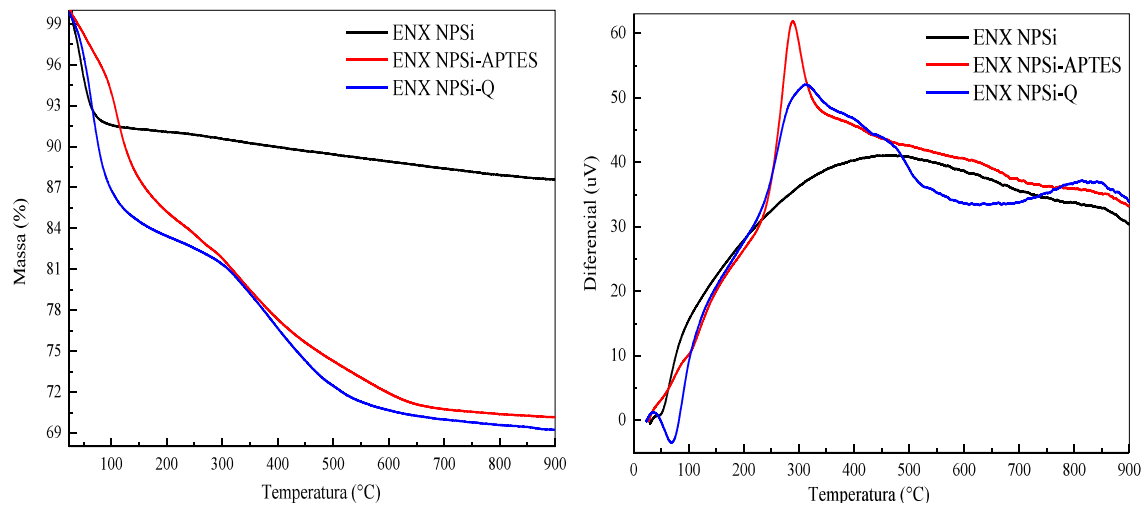
As Figuras 18 e 19 apresentam os termogramas de TG e as DTA para as amostras de sílica modificadas, obtidas pelo método da co-condensação e enxerto, respectivamente, e a Tabela 10 resume os principais eventos observados.

**Figura 18.** Análise termogravimétrica para as CO NPSi's em ar sintético, na faixa de 25-900°C e com rampa de aquecimento de 10°C.



Fonte: O Autor

**Figura 19.** Análise termogravimétrica para as ENX NPSi's em ar sintético, na faixa de 25-900°C e com rampa de aquecimento de 10°C.



Fonte: O autor

Para a amostra **NPSi**, observa-se apenas dois eventos, um inicial endotérmico correspondente a perda de água fisicamente adsorvida no material e outro em alta temperatura correspondente a condensação dos grupos silanois. Para as etapas de modificação são observados três eventos, um inicial, relacionado a perda de água, o segundo com maior perda de massa relacionado a combustão do material orgânico presente na superfície do material e um

terceiro evento que pode ser atribuído a condensação de grupos silanóis e a materiais orgânicos presente mais internamente nos poros[9]. A partir das perdas de massa foi possível quantificar a quantidade de matéria orgânica presente nas amostras, assim como determinar a estabilidade térmica do material. Nota-se que o material contendo amina quaternária apresentam uma menor estabilidade térmica, justificado pelo fato de aminas quaternária serem menos estáveis que amina primária[56], sendo isso um indicativo a mais na confirmação da modificação do grupamento amina.

**Tabela 10.** Porcentagem de perda de massa para as diferentes amostras, rampa de aquecimento de 10°C.

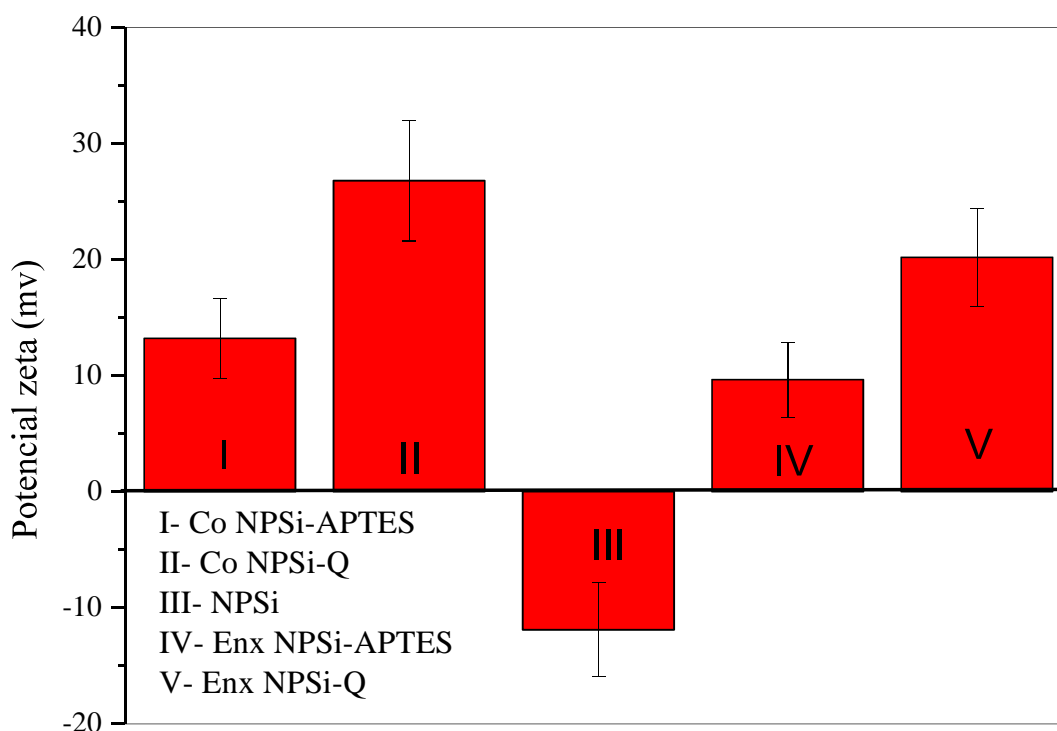
AMOSTRA	% de perda de massa		
	23-175°C	175-340°C	340-900°C
CO NPSi-APTES	6,39	10,37	18,50
CO NPSi-Q	5,25	12,58	22,19
NPSi	8,53	3,85	-
ENX NPSi-APTES	14,10	10,04	4,65
ENX NPSi-Q	17,10	10,07	3,53

Fonte: O autor

#### 4.5. Potencial Zeta

A Figura 20 apresenta os potenciais Zeta obtidos para os diferentes materiais modificados, em que as medidas foram realizadas em meio aquoso de pH neutro, utilizado uma concentração de 0,5 mg mL<sup>-1</sup> de amostra. Nota-se que ocorreu mudanças na carga superficial da matriz de sílica ao longo das etapas de modificação. A sílica pura apresenta potencial Zeta negativo devido a presença dos grupos silanóis, já o material contendo a amina primária apresenta carga superficial positiva, uma vez que esse grupo apresenta carga positiva em seu ponto isoelétrico encontra-se em torno de pH 10-11[56]. Para a modificação da amina primária para quaternária, as nanopartículas apresentaram um potencial Zeta ainda maior sugerindo a modificação.

**Figura 20.** Potencial zeta das suspensões aquosas das amostras CO NPSi-APTES, CO NPSi-Q, NPSi, ENX NPSi-APTES, ENX NPSi-Q.



Fonte: O autor

## I. 5. CONCLUSÃO PARCIAL

Os dados obtidos pela Microscopia Eletrônica de Varredura juntamente com o DLS e isoterma de adsorção e dessorção de nitrogênio permitiram escolher a melhor síntese entre as três apresentadas. Foram obtidos materiais em escala monométrica, de tamanho não homogêneo, que variam entre 60-140 nm. Observou-se a presença de grande agregados que ultrapassam os valores de 1000 nm, como máximo de diâmetro de 5900 nm. Necessita-se separar os agregados das partículas que realmente são de tamanho nanométrico, para que assim possa ser utilizado em carreamento de fármacos. Com base nos resultados de caracterização textural das nanopartículas de sílica, obteve-se informações sobre porosidade, área superficial, diâmetro e volume médio de poros para o material. Para a NPSi, foi obtido um material com alta área superficial, porém para as obtidas com TEOS e APTES menores áreas, porém ainda altas.

As análises termogravimétricas permitiram ter uma noção da quantidade de material orgânicos assim como a estabilidade térmica para as etapas de funcionalização de

aproximadamente 10 % em massa do material. Para a modificação de obtenção de amina quaternária notou-se que o material orgânico que encontra-se na matriz de sílica apresenta uma menor estabilidade térmica que as etapas anteriores, sugerindo que ocorreu a modificação de amina primária à quaternária. Para o acompanhamento das modificações da superfície das nanopartículas, os resultados de espectroscopia na região do infravermelho sugerem alterações na superfície da matriz, aparecendo banda características de amina primária para a etapa de funcionalização com APTES, e após a modificação com iodeto de metila, o aumento de intensidade da banda em  $1385\text{ cm}^{-1}$  característica para grupo metil, fornecendo indícios da obtenção de amina quaternária. Os resultados de potencial Zeta de + 20 mV para as **ENX NPSi-Q** e + 23 mV indicam a obtenção de amina quaternária. Todos esses resultados corroboram, para a hipótese que o material seja um bom carreador para fármacos aniônicos.

## **PARTE II: ESTUDO DE ADSORÇÃO DO NITROPRUSSIATO DE SÓDIO**

### **II.1. INTRODUÇÃO**

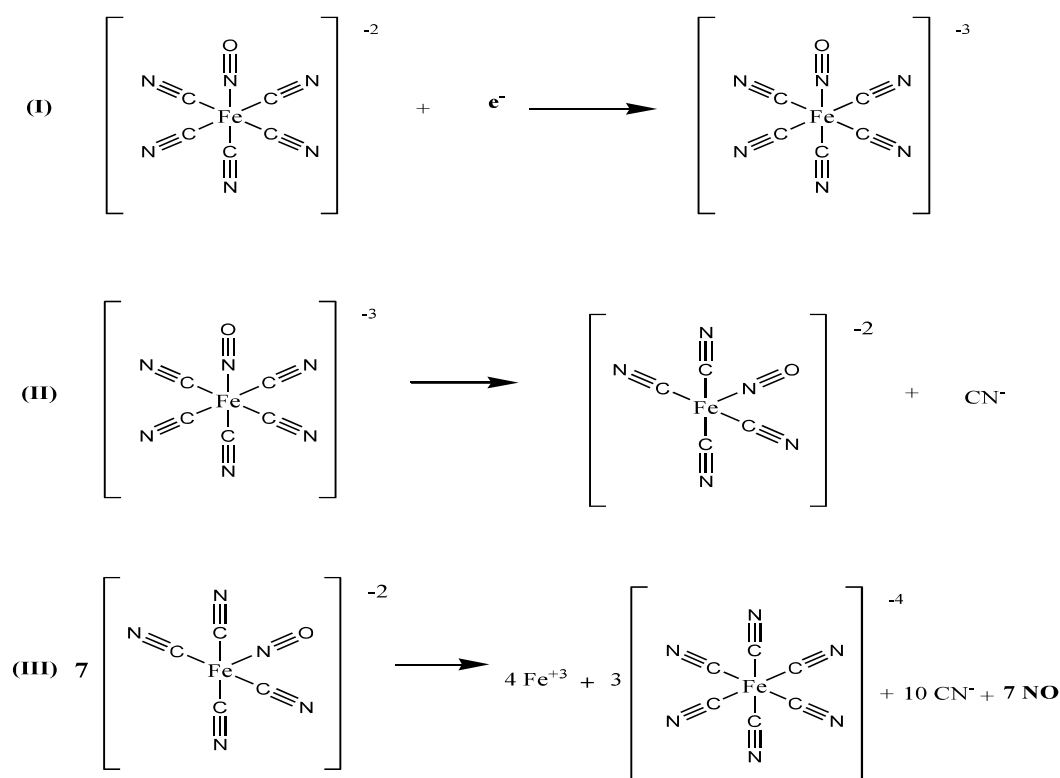
Um problema recorrente em administração de fármacos, é o fato que o mesmo não consegue atingir uma região específica em concentração adequada para que ocorra o efeito terapêutico desejado[57]. Diante disso, o estudo de sistemas que permitam o carreamento e liberação controlada do fármaco desperta grande interesse da comunidade científica. A incorporação em matrizes poliméricas, de sílica ou outras, protege o fármaco de reações que possam dificultar a sua ação final. Porém, anterior a esta etapa, estudos sobre as melhores condições de adsorção do fármaco nessas matrizes, para se ter, por exemplo, um controle da quantidade incorporada, e o tempo para se ter um máximo de adsorção, são fatores que devem ser estudados.

Neste trabalho o fármaco escolhido para os teste de adsorção e de posterior liberação foi o nitroprussiato de sódio (SNP), que é uma molécula largamente utilizada para liberação de óxido nítrico (NO). O NO há muito tempo vem sendo estudada nas áreas de Química[57], Biologia[57] e Medicinal[59], por possuir papel fundamental em sistemas biológicos. De modo abrangente o óxido nítrico é a única molécula endógena que reúne as propriedades de neurotransmissor, de mediador constitutivo e indutível e de agente citotóxico, podendo ter atuação nas atividades do cérebro, fígado, pâncreas, útero e pulmões.

## II.1.2. A química do Nitroprussiato de Sódio

O nitroprussiato de sódio é um complexo de ferro com 5 ligantes cianeto e 1 nitrosil, (Figura 21), que exerce função vasodilatadora devido a presença do grupo nitroso. O composto quando entra em contato com eritrócitos, sofre decomposição, liberando óxido nítrico, que dilata as arteríolas e vênulas. O íon ferroso reage instantaneamente com os grupos sulfídricos ligados a membrana da parede vascular e dos eritrócitos, resultando em um radical nitroprussiato instável, do qual sofre uma rápida decomposição em cianeto tóxico [59] e também em óxido nítrico. O seu efeito hipotensivo aparece em 1-2 minutos após a sua administração. O nitroprussiato é o fármaco mais utilizado em indução de hipotensão controlada durante anestesia, com o objetivo de reduzir sangramentos e processo cirúrgicos. Também é utilizado primariamente no tratamento em emergências hipertensivas, para o caso de ataques cardíacos [59]. Porém a administração do nitroprussiato pode levar ao envenenamento por cianeto. Para a ativação do nitroprussiato é necessário que ocorra a sua redução a  $[\text{Fe}(\text{CN})_5 \text{NO}]^{3-}$ (I), ocorrendo posteriormente a liberação cianeto para formar  $[\text{Fe}(\text{CN})_4 \text{NO}]^{2-}$ (II), o qual por sua vez libera NO e  $\text{CN}^-$ , dando  $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{aq})$  e  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (III). Figura 21.

**Figura 21.** Etapas de ativação do nitroprussiato de sódio.



Fonte: VESEY, C. J. et al.

### II.1.2. Aspectos químicos fisiológicos do NO

Por muito tempo acreditava-se que NO fosse apenas uma substância nociva e que em grandes concentrações causava danos ao meio ambiente. Porém na década de 1980, descobertas sobre a bioquímica do NO começaram a modificar esse conceito. Deve-se destacar quatro descobertas que tiveram grande repercussão e aumentaram o interesse pela bioquímica do óxido nítrico:

- O envolvimento do NO em vários processos biológicos, incluindo vasodilatação, inibição da agregação plaquetária e comunicação neural;
- A ativação da enzima guanilato ciclase, que catalisa a conversão de guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclica (cGMP);
- O efeito citotóxico do óxido nítrico após ser eliminado por macrófagos ou por outras células do sistema de defesa dos seres vivos;
- A produção endógena do NO a partir da conversão do aminoácido L-Arginina por um mecanismo enzimático, que envolve uma família de enzimas denominadas Óxido Nítrico Sintase (NOS) [60].

No caso de tumores humanos o papel do NO não é bem esclarecido, sabe-se atualmente que o óxido nítrico produz múltiplos efeitos que influenciam tanto na diminuição do crescimento tumoral quanto no processo metastático. Esta molécula atua na regulação da vasodilatação, o que afeta o tumor devido ao processo de vascularização. A ação do NO está associada a apoptose em células tumorais [61]. A citotoxicidade é resultado de uma formação substancial de NO que é estabelecida como iniciador de processo apoptótico, caracterizado por uma super regulação da expressão do supressor do tumor p53, alterando a expressão pro e anti-apoptótica das famílias Bcl-2 e citocromo. Todas essas características fazem com que o NO seja uma molécula de grande interesse na aplicação médica, assim como em formulações que para transporte e liberação em sistemas biológicos.



## II. 2. OBJETIVOS

### Objetivos Geral

Investigar os materiais contendo amina primária (NPSi-APTES) e amina quaternária (NPSi-Q), obtidos através da funcionalização via co-condensação e enxerto como um novo adsorvente para o nitroprussiato de sódio.

### Objetivos específicos

- Utilizar os materiais ENX NPSi-APTES, ENX NPSi-Q, CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q em testes de adsorção de nitroprussiato de sódio;
- Realizar estudos cinéticos para a adsorção do fármaco.
- Estudar as isotermas de adsorção do nitroprussiato nos materiais;
- Comparar diferentes modelos cinéticos e de isotermas, do coeficiente de correlação da reta, buscando o que melhor descreve os dados experimentais.

## II. 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### II. 3.1. Reagentes e solventes

- Nitroprussiato de sódio- Sigma-Aldrich 98%
- Etanol- synth - 99,5%
- Água destilada

### II. 3.2. Adsorção de nitroprussiato de sódio nos materiais modificados

#### II.3.2.1. Curva analítica para nitroprussiato de sódio

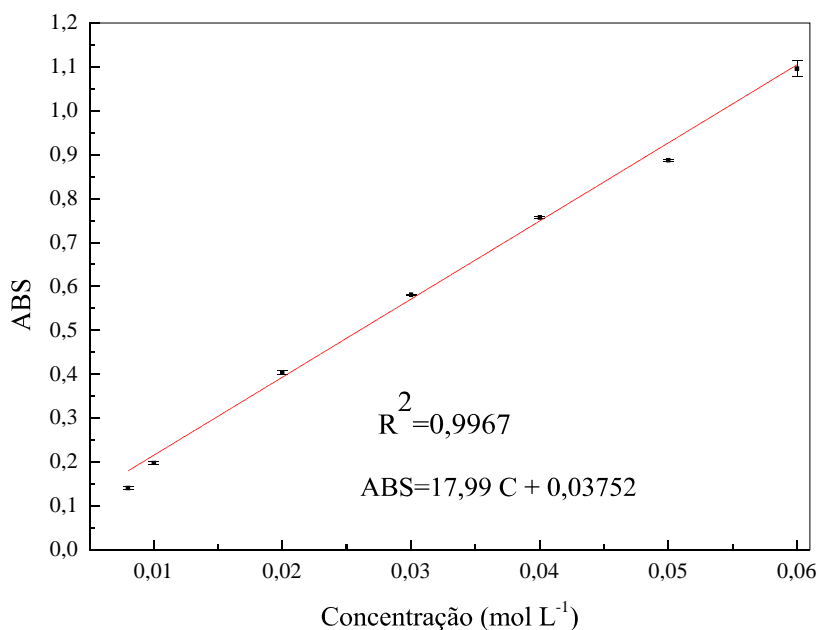
Para a construção da curva analítica (Figura 22) foram preparadas 7 soluções de diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio em água destilada. Os espectros de absorção foram obtidos através de um espectrofotômetro Hp 8453. Utilizou-se a absorvidade molar para o comprimento de onda em ( $d_{xz,yz} \rightarrow \pi^*(NO)$ ) 396 nm. A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos das análises em triplicata.

**Tabela 11.** Valores de absorbância para as diferentes concentrações de nitroprussiato utilizados para a curva analítica.

Concentração (mol L <sup>-1</sup> )	Absorbância Medida 1	Absorbância Medida 2	Absorbância Medida 3
0,08	0,1003264	0,100469	0,1002237
0,010	0,22147	0,100775	0,1009531
0,020	0,3855	0,3772	0,38843
0,030	0,56065	0,6688	0,56676
0,040	0,73581	0,75656	0,7351
0,050	0,86947	0,86768	0,87698
0,060	1,11117	1,08095	1,07908

Fonte: O autor

**Figura 22.** Curva analítica para o SNP em água deionizada. T= 25 °C a 396 nm.



A equação da reta foi obtida a partir da análise de regressão linear da curva padrão dos nitroprussiato de sódio e apresenta-se na Equação 1.

$$\text{ABS} = 17,99 \times C + 0,03752 \quad (1)$$

### II. 3.2.1 Testes preliminares de adsorção

Testes preliminares de adsorção foram realizados com o intuito de avaliar qualitativamente a adsorção do nitroprussiato nos diferentes materiais sintetizados. Assim, utilizando-se 100 mg dos materiais modificados com grupos amino (**CO NPSi-APTES** e **ENX NPSi-APTES**) e quaternário de amônio (**CO NPSi-Q** e **ENX NPSi-Q**) e 5 mL de uma solução 0,05 mol L<sup>-1</sup> de Nitroprussiato de sódio (SNP). O sistema foi deixado sob agitação por 24 horas, protegido da luz e a temperatura ambiente. Após, os materiais foram centrifugados e lavados por três vezes e a análise qualitativa da adsorção do fármaco nos diferentes materiais foi avaliada por espectroscopia na região do infravermelho.

### II. 3.2.2. Cinéticas e Isotermas de adsorção

Soluções de concentração desejadas para o estudo de adsorção foram preparadas por diluição da solução estoque 1,0 mol L<sup>-1</sup> com água deionizada. Todos os estudos foram realizados em batelada, utilizando-se um volume final de 5,0 mL de solução e 10 mg das **NPSi**'s a temperatura ambiente do laboratório (aproximadamente 29 °C).

### II.3.2.2.1. Estudo de concentração inicial

Curvas para o efeito da concentração inicial do fármaco foram obtidas variando-se as concentrações de 0,04 mol L<sup>-1</sup> à 0,100 mol L<sup>-1</sup> com intervalos de 0,02 mol L<sup>-1</sup> em um volume final de solução de 5 mL e 10 mg de **NPSi**'s. As soluções foram deixadas em agitação por 24 h. A quantidade de adsorbato adsorvido por 1,00 g de adsorvente é chamado de capacidade de adsorção, esse valor pode ser obtido através da Equação 2:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V_L}{m_{ads}} \quad (2)$$

Em que,  $q_e$  é a capacidade de adsorção (mg g<sup>-1</sup> adsorvente);  $C_0$  é a concentração inicial do adsorbato (mg L<sup>-1</sup>);  $C_e$  é a concentração do adsorbato no equilíbrio (mg L<sup>-1</sup>);  $m$  é a massa de adsorvente (g) e  $V$  é o volume total de solução (L).

Chama-se de isoterma de adsorção a relação entre as quantidade de uma substância adsorvida por unidade de massa de adsorvente a uma temperatura constante e a sua concentração de equilíbrio. A forma das isotermas também é a primeira ferramenta experimental para conhecer o tipo de interação entre o adsorbato e o adsorvente. As isotermas utilizadas foram as: Langmuir, Freundlich, Halsey, Temkin, Dubinin-Rondushvish, as equações para cada um dos modelos estão apresentadas na tabela 12.

**Tabela 12.** Equações para os modelos de isotermas utilizados

Isoterma	Diferencial	Equação linear
<b>Freundlich [62]</b>	$q_e = K_f \cdot C_e^{1/\eta_f}$	$\log K_f + \frac{1}{\eta_f} \log C_e$
<b>Langmuir [63]</b>	$q_e = q_{max} \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max} K_L} \cdot \frac{1}{C_e} + \frac{1}{q_{max}}$
<b>Halsey [64]</b>	$q_e = \left(\frac{K_H}{C_e}\right)^{\frac{1}{\eta_H}}$	$\ln q_e = \left(\frac{1}{\eta_H} (\ln K_H)\right) - \frac{1}{\eta_H} \ln C_e$
<b>Tempkin [65]</b>	$q_e = \frac{RT}{b_t} \ln K_t C_e$	$q_e = \frac{RT}{b_t} \ln K_t - \frac{RT}{b_t} \ln C_e$
<b>Dubinin-Rondushvich [66]</b>	$q_e = q_{DR}^{-B_{DR} \left( RT \ln\left(1 + \frac{1}{C_e}\right) \right)^2}$	$\ln q_e = \ln q_{DR} - 2B_{DR} RT \ln\left(1 + \frac{1}{C_e}\right)$

Fonte: O autor

### II.3.2.2.2. Estudo do tempo de contato

Os estudos cinéticos foram realizados utilizando-se soluções com concentrações 0.05 mol L<sup>-1</sup> de nitroprussiato de sódio, que foram deixadas em agitação com 10 mg de nanopartículas, em diferentes intervalos de tempo de contato de: 20, 30, 60 e 120 min. O procedimento foi realizado em triplicata, a temperatura ambiente. As concentrações residuais dos compostos em solução foram medidas por espectroscopia na região do Uv-vis em 396 nm. A quantidade de fármaco adsorvida por massa de adsorvente no equilíbrio ( $q_e$ ) foi calculada utilizando a Equação 2.[59]. O estudo da dinâmica de adsorção das NPSi's foram avaliadas por modelo de pseudoprimeira ordem de Lagergren, pseudosegunda ordem e o modelo de difusão intramolecular e Elovich A tabela 13 Apresenta as equações diferenciais e lineares para todos os modelos cinéticos.

Tabela 13. Equações para os modelos cinéticos.

Modelo cinético	Diferencial	Equação linear
<b>Pseudo-primeira ordem [67]</b>	$\frac{dq_e}{dt} = K(q_e - q_t)$	$\log(q_e - q_t) = \log q_e + \frac{K_1 t}{2,303}$
<b>Pseudo-segunda ordem[68]</b>	$\frac{dq_e}{dt} = K(q_e - q_t)^2$	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{k_e q_e^2} + \frac{1}{q_e}$
<b>Elovich [69]</b>	$\frac{dq_t}{dt} = \alpha^{-\beta q_e}$	$q_e = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t$
<b>Difusão intrapartícula [70]</b>		$q_t = X_i + K_i \cdot t^{-1/2}$

Fonte: O autor

A validação dos modelos cinéticos é feita por meio de análise gráfica, avaliação dos dados e por análise do coeficiente de correlação de reta ( $R^2$ ), no qual espera-se obter um valor próximo a 1, para que o ajuste dos dados para a determinação do modelo cinético seja aceitável. Esses modelos podem fornecer uma explicação simples e satisfatória para o processo global de adsorção. Porém em muitos casos isso não é possível e o gráfico apresenta-se multilinear. Para essas situações costuma-se segmenta-lo em duas ou mais linhas e sugerir que o mecanismo de

adsorção a cada linha. Porém esse procedimento de aproximação apresenta-se limitado. Um fator que pode indicar a multilinearidade são as constantes cinéticas não apresentarem-se invariáveis, podendo variar com o tempo e especificamente com a concentração do adsorvente[70].

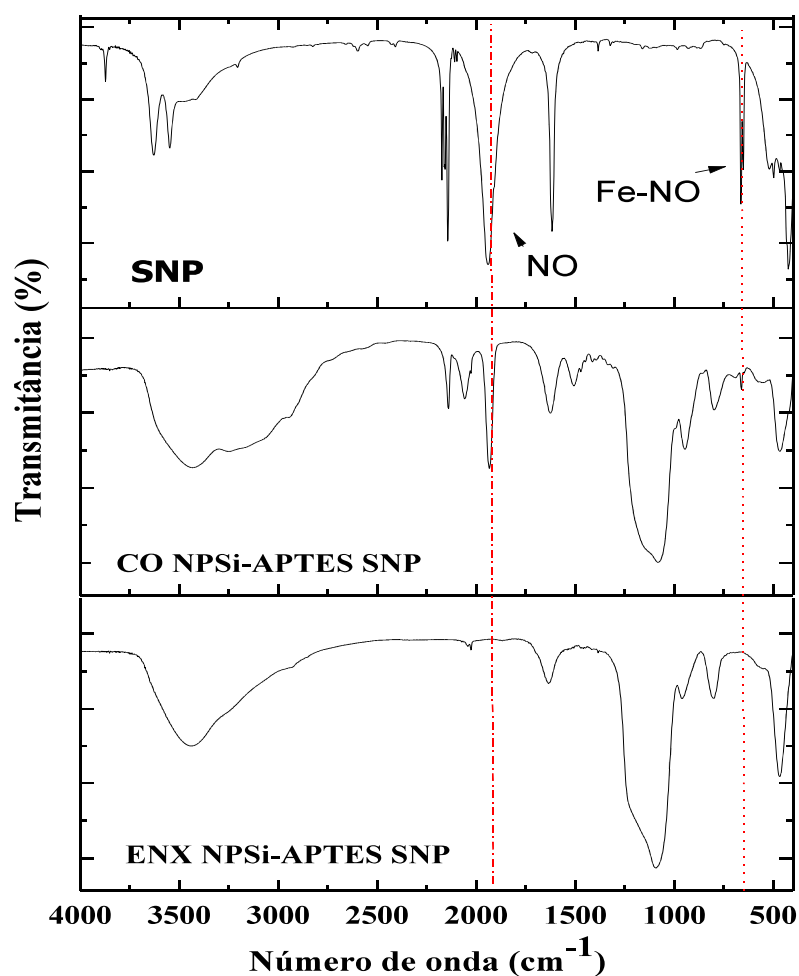
## II.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### II.4.1. Testes preliminares de adsorção

#### II.4.1.1. Espectroscopia na região do infravermelho

A Figura 23 apresenta os espectros na região do infravermelho para as amostras, **SNP**, **CO NPSi-APTES NP** e **ENX NPSi-APTES NP**.

**Figura 23.** Espectros de IV, em pastilhas de KBr, 2% (m/m), para as amostras **SNP**, **CO NPSi-APTES NP** e **ENX NPSi-APTES NP**.

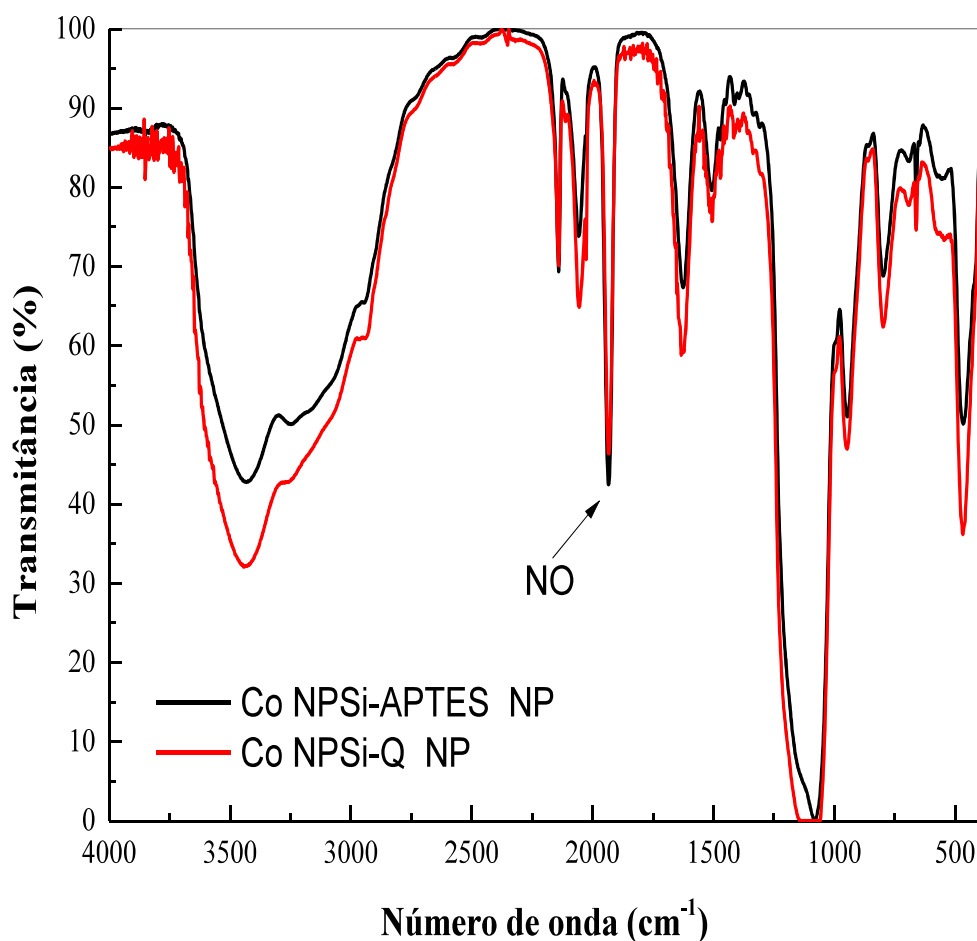


Fonte: O autor

Para os espectros de nitroprussiato de sódio, observa-se uma banda forte em  $1937\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento do NO. Bandas na região de  $2026, 2111\text{ e }2141\text{ cm}^{-1}$  relativos ao estiramento  $\text{CN}^{-1}$ , bandas na região em  $661\text{ cm}^{-1}$   $\delta$  (Fe-N-O). Para a amostra **CO NPSi-APTES NP**, observa-se bandas na região  $1937, 2026, 2111\text{ e }2141\text{ cm}^{-1}$ . Não é observado a banda de NO para as **ENX NPSi-APTES**, por esta razão os testes posteriores foram realizados apenas com as nanopartículas funcionalizadas via co-condensação, **CO NPSi-APTES**.

A Figura 24 apresenta os infravermelhos da adsorção de nitroprussiato para as amostras **CO NPSi-APTES** e **CO NPSi-Q** utilizando-se uma concentração  $0,05\text{ mol L}^{-1}$  de nitroprussiato. Observa-se qualitativamente que ambas as amostras adsorvem eficientemente o adsorbato.

**Figura 24.** Espectros de IV, em pastilhas de KBr a 2%(m/m), para as amostras **Co NPSi-APTES NP** e **Co NPSi-Q NP**.

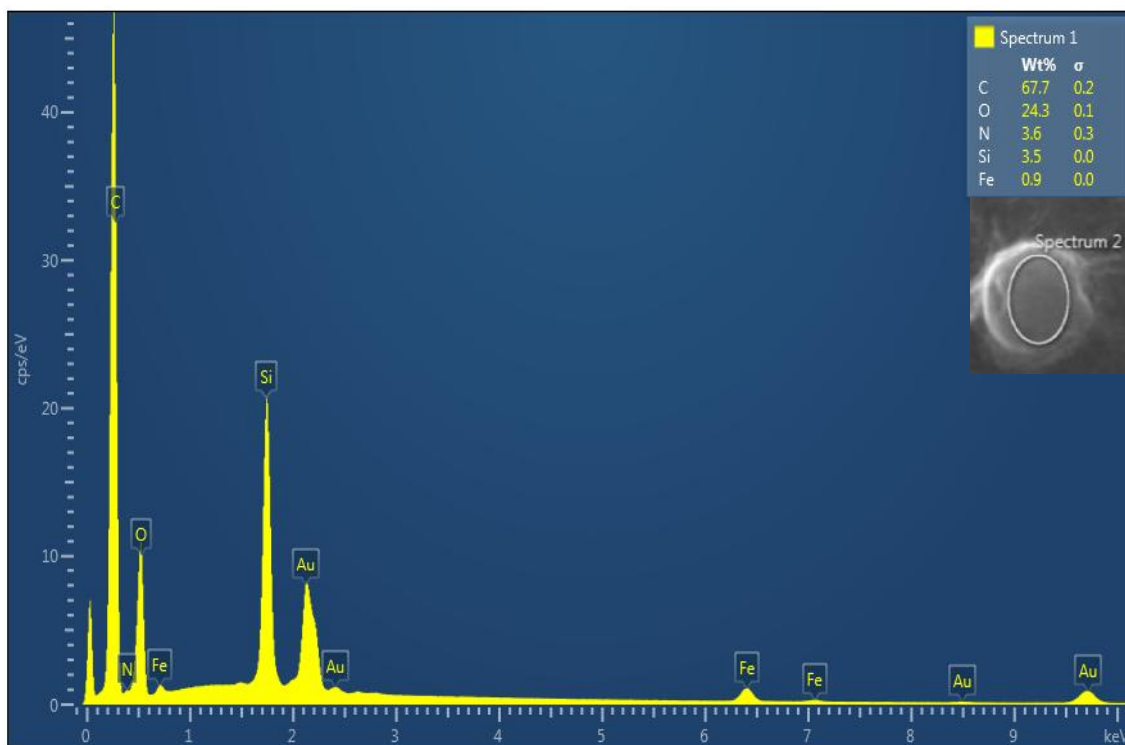


Fonte: O autor

#### II.4.1.2. Espectrofotometria de Raios X por Energia Dispersiva (EDS)

A Figura 25 apresenta os espectros de EDS obtidos em duas áreas distintas o que permite identificar e quantificar a composição química do sólido. A análise indicou a presença de 0,95 % de ferro distribuído homogeneamente na amostra **CO NPSi-APTES**, corroborando com os resultados de infravermelho que evidenciaram a incorporação de nitroprussiato nas nanopartículas.

**Figura 25.** Espectros de EDS para a amostra **NPSi-APTES NP** com diferente áreas.



Fonte: O autor

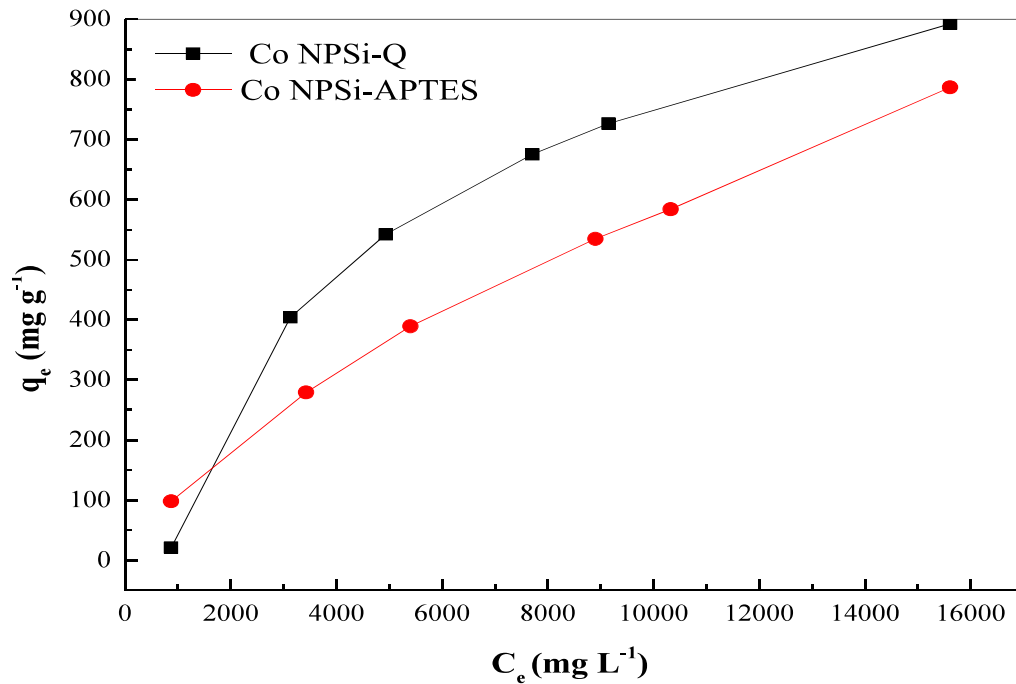
#### II.4.2. Efeito da concentração inicial de NP

O efeito da concentração inicial na adsorção de nitroprussiato nas amostras **CO NPSi-APTES** e **CO NPSi-Q** é apresentado na Figuras 26. Como esperado, observa-se um aumento de  $q_e$  com o aumento da concentração de nitroprussiato. Os perfis das curvas de adsorção indicam que o processo é favorável [63] sendo as **CO NPSi-Q** a mais favorável.

As Figuras 27 e 28 apresentam as tentativas de ajuste dos dados experimentais, utilizando vários modelos matemáticos, buscando-se o que melhor descrevesse.

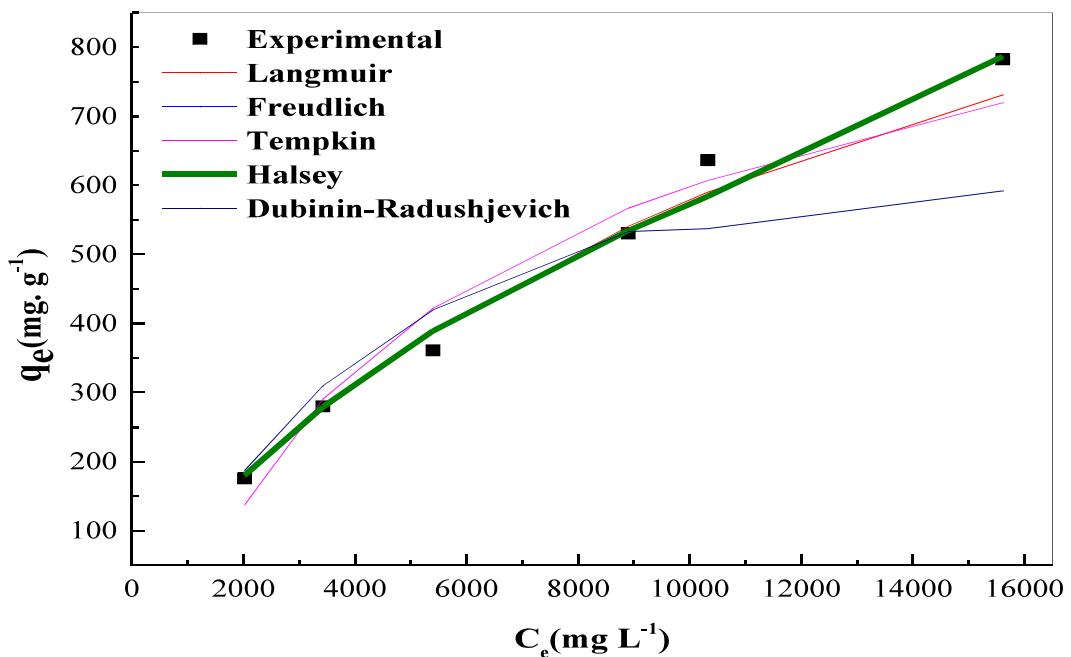


**Figura 26.** Isoterma de adsorção de nitroprussiato em diferentes concentrações iniciais, para CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q, usados como adsorventes.



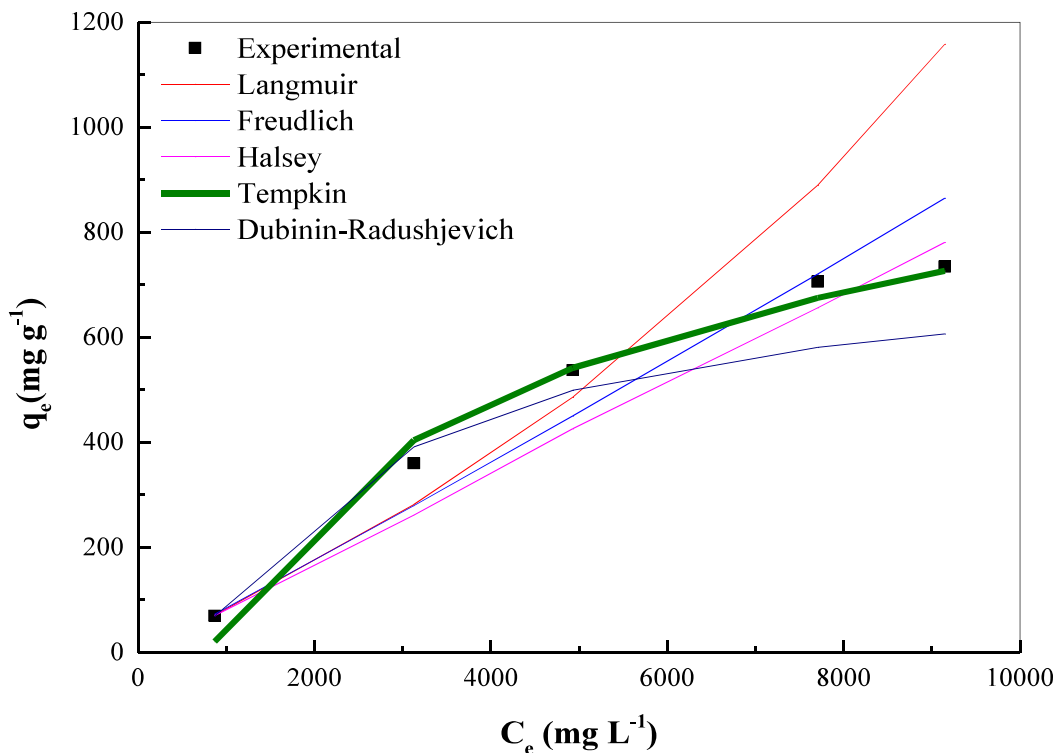
Fonte: O autor

**Figura 27.** Ajuste teórico da isoterma de adsorção de nitroprussiato para CO NPSi-APTES, utilizando diferentes modelos.



Fonte: O autor

**Figura 28.** Isoterma de adsorção de nitroprussiato para as CO NPSi-Q utilizando diferentes modelos de isotermas.



Fonte: O autor

A Tabela 14 apresenta os coeficientes de correlação linear para os ajustes dos dados experimentais, para todas os modelos testados.

**Tabela 14.** Resulto de análise do coeficiente de correlação de reta ( $R^2$ ) das isotermas para os materiais CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q.

	CO NPSi-APTES	CO NPSi-Q
<b>Langmuir</b>	0,99513	0,99603
<b>Freudlich</b>	0,99593	0,97634
<b>Tempkin</b>	0,9726	0,99845
<b>Halsey</b>	0,99603	0,99766
<b>Dubinin-Radushjevich</b>	0,9734	0,9740

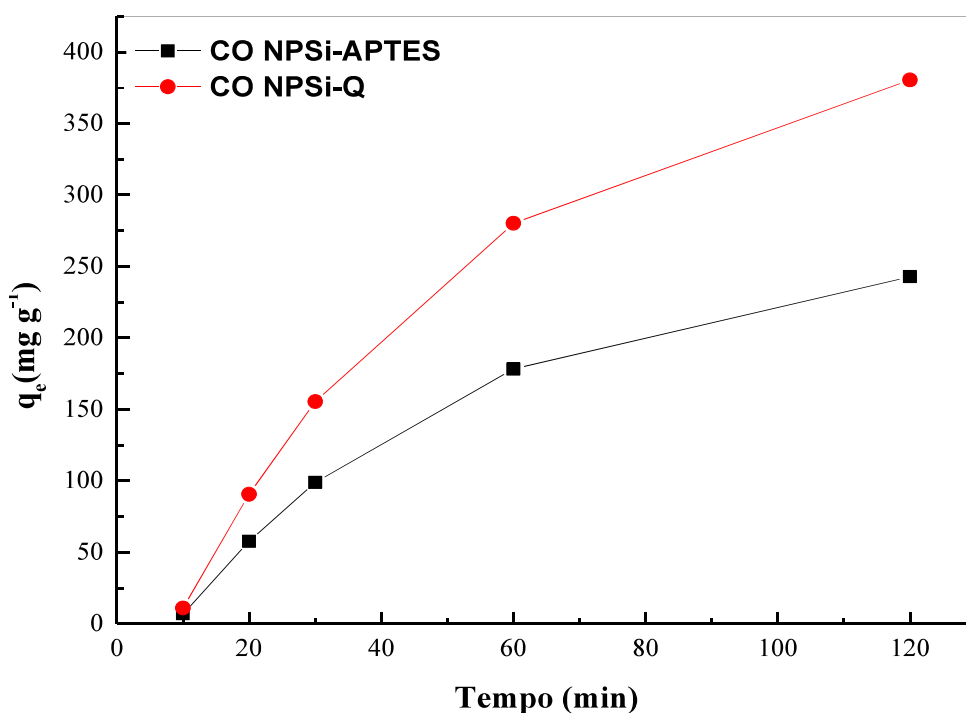
Fonte: O autor

Observa-se que os melhores valores de coeficientes de correlação foram para os modelos de Tempkin[65] e Halsey[64]. Estes dois modelos descrevem processos de adsorção, em multicamadas, que ocorrem em sistemas que apresentam superfície de natureza heterogênea. Os valores de capacidade máxima de adsorção de SNP em **CO NPSi-APTES** (obtido pelo modelo de Temkin) foi de  $817,14 \text{ mg g}^{-1}$ , já para a adsorção de SNP em **CO NPSi-Q** o valor de capacidade máxima foi de  $1314 \text{ mg g}^{-1}$  (obtido pelo modelo de Halsey). Uma maior capacidade máxima para **CO NPSi-Q** indica que a presença da amina quaternária influenciou em uma maior quantidade de nitroprussiato adsorvido. A superfície carregada atrai os íons de carga oposta mais próximos, os contra- íons, e repelem os íons de mesma carga, os co-íons. Isso provoca uma distribuição iônica na região próxima à superfície e dá origem a formação de uma dupla camada elétrica. Quanto maior a carga superficial maior será a força de interação sobre o adsorvente e maior a quantidade adsorvida[64,65].

#### II.4.3. Cinética de adsorção

A Figura 29 apresenta a variação de adsorção de nitroprussiato em relação ao tempo de agitação (0-120 min) para os dois materiais.

**Figura 29.** Cinética de adsorção de NP Utilizando a concentração de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  para as amostras **CO NPSi-APTES** ( $q_e$   $280 \text{ mg g}^{-1}$ ) e **CO NPSi-Q** ( $q_e$   $420 \text{ mg g}^{-1}$ ).



Fonte: O autor

Observa-se uma rápida adsorção do íon NP no início do processo, por ambos os materiais, mas com o passar do tempo a taxa de adsorção torna-se mais lenta. A rápida velocidade inicial de reação é atribuída à elevada disponibilidade de sítios de adsorção ainda não coberta por moléculas de adsorbato, uma vez que a cinética de adsorção depende da área superficial do adsorvente. A Tabela 15 apresenta os dados obtidos para a aplicação de diferentes modelos cinéticos aos resultados experimentais.

**Tabela 15.** Resulto de análise do coeficiente de correlação de reta ( $R^2$ ) dos modelos cinéticos para os materiais CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q.

	NPSi-APTES	NPSi-Q
<b>Pseudo-primeira ordem</b>	0,98431	0,9452
<b>Pseudo-segunda ordem</b>	0,90765	0,9093
<b>Elovich</b>	0,99868	0,9968
<b>Difusão intrapartícula</b>	0,98877	0,96096

Fonte: O autor

Observar que o modelo de Elovich é o que melhor descreve os dados experimentais. Este modelo tem sido aplicado em cinética de adsorção de íons metálicos em solução aquosa e não aquosa [69]. O modelo Elovich é, frequentemente, válido para os sistemas em que a superfície de adsorção é heterogênea e vem sendo aplicada em processo de adsorção lenta[69]. A heterogeneidade do material possivelmente está relacionada a presença dos grupos amins e silanóis sobre a superfície do material.

## II.5. CONCLUSÃO PARCIAL

Os materiais CO NPSi-APTES e Co-NPSi-Q apresentam-se como ótimo adsorbato para o fármaco nitroprussiato, obtendo altos valores de capacidade adsortiva máxima, 817 mg g<sup>-1</sup> e 1314 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. O modelo de isoterma que melhor se adequou ao experimental foi de tempkin para as CO NPSi-APTES e de Halsey para as CO NPSi-Q. Para o material funcionalizado via enxerto não foi obtido uma adsorção significativa, necessitando de estudos aprofundados sobre a causa de fenômeno. Para o material obtido através da co-condensação observou-se por EDS que a cobertura de nitroprussiato sobre a superfície do material apresenta-

se homogêneo. Análise no infravermelho indica a presença do princípio ativo do fármaco, o óxido nítrico, e que o mesmo encontra-se em alta quantidade. A cinética obtida para ambos os materiais indicaram que o melhor modelo para a reação de adsorção é o Elovich, indicando a importância de fenômeno de quimiossorção no processo, demonstrando a forte interação iônica entre o adsorvente e o adsorbato. É possível concluir que o material tem grande potencial no uso de adsorvente para o nitroprusiato e para fármacos aniônicos viabilizando a sua aplicação de liberação controlada.

### **PARTE III: ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE CIANETO E NO, AÇÃO VASODILATADORA E, NOVAS PERSPECTIVAS E APLICAÇÕES PARA O MATERIAL**

#### **III. 1. INTRODUÇÃO**

Devido a sua importância e ao fato de estar relacionado a vários processos biológicos, o óxido nítrico, tem sido extensivamente estudado em processos como germinação de sementes [71], marcadores [72] tratamento inflamatórios [73], de edemas [74] e de câncer [75], disfunção erétil [77], bactericida [78] entre outras. Existem pesquisas e patentes para o uso de liberadores tanto em sistema intravenoso [78], quanto oral [79] e tópico [89]. Muitas dessas patentes utilizam-se de novos compostos para a liberação de NO bem como também nanoformulações para carreamento e liberação de NO de matrizes poliméricas [81], zeolitas e uma diversidade de materiais mesoporosos, que são sistemas promissores tanto para aplicações tópicas como internas, devido a sua estabilidade.

Uma busca na plataforma Patentscope, é possível encontrar 13.075 registros de patentes relacionadas a “nitric oxide” sendo 243 sobre “nitric oxide drug” e duas sobre “nitric oxide drug particles” com os títulos “Pharmaceutical Technology of Pharmaceutical Composition In Novel/Sequential Drug Delivery System Containing Nitric Oxid Donor” e “Drug delivery of nitric oxid”. No Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), encontra-se 209 patentes relacionados a “NO fármacos” das quais 10 tratam de formulações para liberação de NO. Trata-se de um ramo promissor, uma vez que além de apresentar uma vasta pesquisa, também apresenta interesse de proteção intelectual sobre os conhecimentos e direcionamento para aplicações.

Visando avaliar o desempenho das nanopartículas de sílica modificadas em liberar o íon nitroprussiato, previamente adsorvido, a amostra **CO NPSi-APTES-NP** foi utilizada em vários ensaios de liberação que serão apresentados a seguir.

## **III.2. OBJETIVOS**

### *Objetivo Geral*

Estudar a liberação de NO para o sistema **CO NPSi-APTES-NP**, em estado sólido e em solução.

### *Objetivos Específicos*

- Realizar estudo de liberação no estado sólido em diferentes sistemas: (I) por irradiação com led na faixa do azul, (II) por luz branca, (III) através de uma mistura com nanopartículas sílica adsorvidas com ácido ascórbico e (IV) pela mistura com ácido ascórbico;
- Estudar do comportamento das **CO NPSi-APTES-NP** em meio aquoso e na presença de ácido ascórbico (agente redutor).

## **III.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

### **III.3.1 Ensaios de liberação de NO na amostra sólida**

Para avaliação da liberação do íon nitroprussiato da amostra **CO NPSi-APTES-NP**, utilizou-se uma pastilha de KBr 3% (m/m) da amostra, a qual foi exposta a luz de led na faixa de 450-495 nm (faixa azul). Espectros de absorção de IV, na faixa de 400 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ , foram então obtidos em intervalos de 0 a 84 horas.

### **III.3.2 Ensaio de liberação de NO com luz branca em uma mistura CO NPSi-APTES ASC e CO NPSi-APTES NP**

Para a realização desse experimento inicialmente fez-se a impregnação de ácido ascórbico (agente redutor) nas **CO NPSi-APTES**, em que 100 mg dessa amostra foram deixadas sob agitação 24 h com um solução 0,042 mol  $\text{L}^{-1}$  de ácido ascórbico. Após este período a amostra foi centrifugada e lavada 3 vezes com água deionizada e secas em estufa a 70 °C por 24 h, esta amostra foi então denominada **CO NPSi-APTES ASC**. Então 1,5 mg de **CO NPSi-APTES ASC** foi misturada com 1,5 mg de **CO NPSi-APTES NP** e 97 mg de KBr. Assim,

obteve-se uma pastilha com uma mistura das **CO NPSi-APTES ASC** e **CO NPSi-APTES NP**, que foi deixada em placa de Petri, sob efeito da luz branca a temperatura ambiente do laboratório (aproximadamente 29 °C) por 48 horas. Espectros de IV foram obtidos em diferentes intervalos de tempo.

### III.3.3 Ensaio de liberação de NO em solução na presença de ácido ascórbico

Em 20 mL de uma solução contendo 1 mmol L<sup>-1</sup> ácido ascórbico foi adicionado 15 mg de **CO NPSi-APTES NP**, o sistema foi deixado em agitação por 1 hora. Após este período, o material foi centrifugado e lavado por três vezes com água deionizada e analisado por espectroscopia na região do infravermelho.

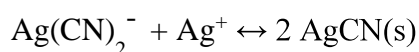
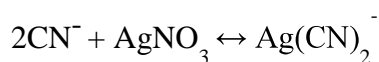
### III.3.4. Teste preliminares de adsorção de cianeto

#### *Teste qualitativo*

Em 20 mL de uma solução de cianeto de sódio a 5 mmol L<sup>-1</sup>, foram adicionados 40 mg de **CO NPSi-APTES** e deixado sob agitação por 24 horas, decorrido o período o material foi centrifugado e lavado duas vezes com água deionizada e seco em estufa a 70 °C por 12 horas.

#### *Teste quantitativo utilizando o método volumétrico de Liebig*

O método de Liebig consiste na utilização de prata que reage com cianeto para formar o complexo  $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$ , após o ponto de equivalência o excesso de prata reage com o complexo formando o precipitado  $\text{AgCN}$ , segundo as reações:



Assim, 5 mL de uma solução de cianeto de sódio a 0,02 mol L<sup>-1</sup> foi adicionada a 10 mg de **CO NPSi-APTES** ou **CO NPSi-Q** e deixado sob agitação por 24 horas. Após esse período o sólido foi centrifugado e o sobrenadante titulado com uma solução padrão de nitrato de prata a 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Uma amostra em branco, contendo somente cianeto nas mesmas condições, foi utilizada como controle. As análises foram realizadas em duplicata.

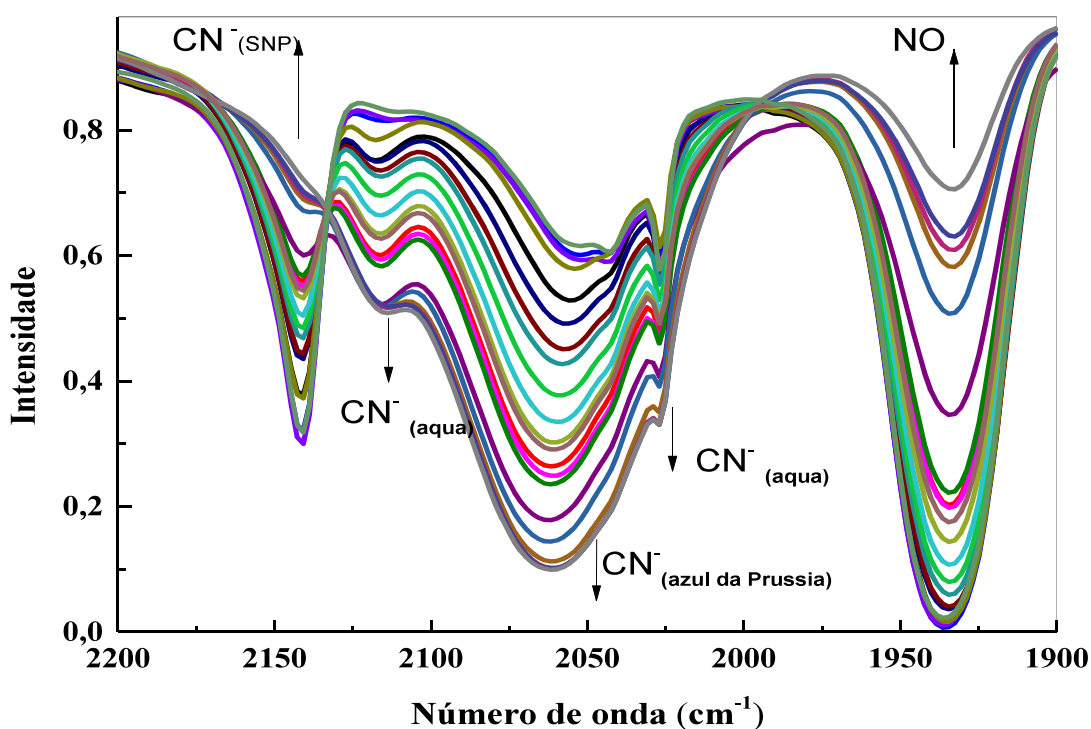
### III. 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### III.4.1. Ensaio de liberação de NO

##### III.4.1.1. Ensaio de liberação de NO na amostra sólida CO NPSi-APTES-NP

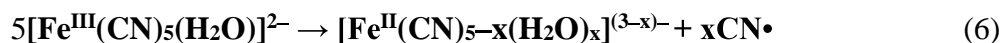
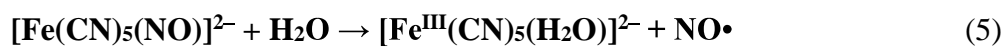
A Figura 30 apresenta os espectros de IV (ampliado na faixa compreendida entre 2200 e 1900  $\text{cm}^{-1}$ ) obtidos ao longo de 84 horas sob irradiação de luz led a 400–450 nm, da amostra CO NPSi-APTES-NP.

**Figura 30.** Espectros de IV, em pastilhas de KBr (3 % m/m), para a liberação de NO da amostra CO NPSi-APTES NP, no período de 84 horas.



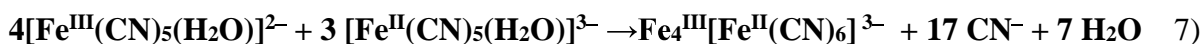
Fonte: O autor

Observa-se o aparecimento das bandas em 2115  $\text{cm}^{-1}$  e 2040  $\text{cm}^{-1}$ , as quais foram atribuídas à formação das espécies aquaferrocianeto, dadas pelas equações 5 e 6, respectivamente.





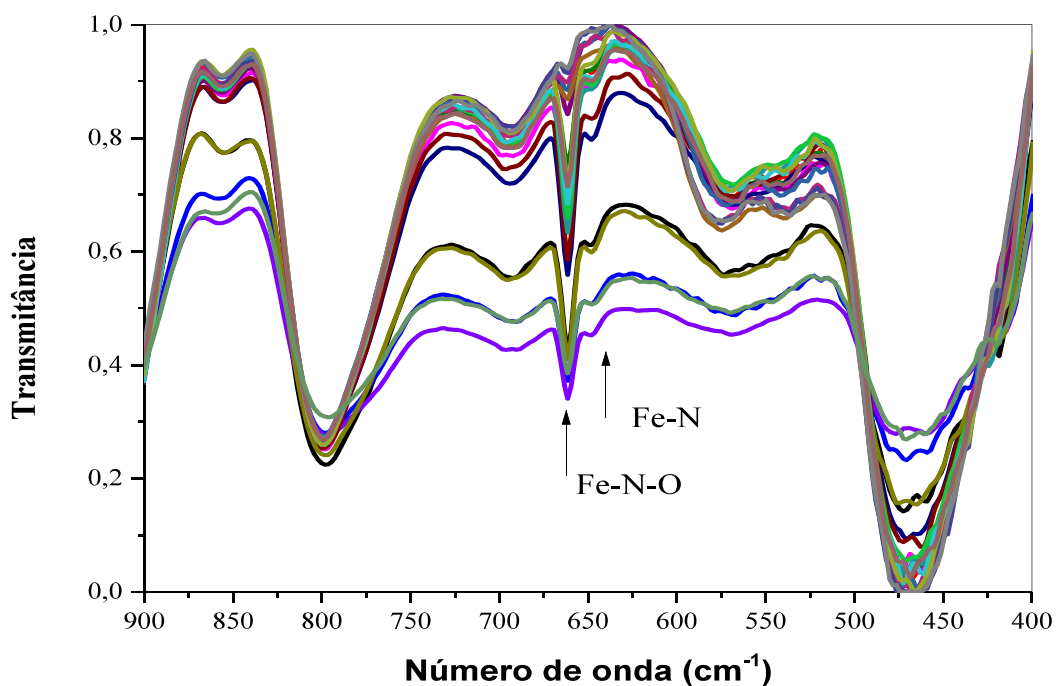
A banda em torno de 2066  $\text{cm}^{-1}$  é consistente com a formação de complexos de valência mista, azul da Prússia ( $\text{Fe}_4^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{3-}$ ) [82,83], descrita pela Equação 7. Observa-se, pelo espectro de IV, um aumento de sua intensidade com o tempo.



Observa-se a redução de intensidade das bandas do NO a 1937  $\text{cm}^{-1}$  e CN a 2141  $\text{cm}^{-1}$ , referentes ao íon nitroprussiato nas **CO NPSi\_APTES NP**, durante a irradiação, sugerindo a liberação de NO. Esta observa-se corrobora com dados da literatura envolvendo nitroprussiato livre em solução. [84]

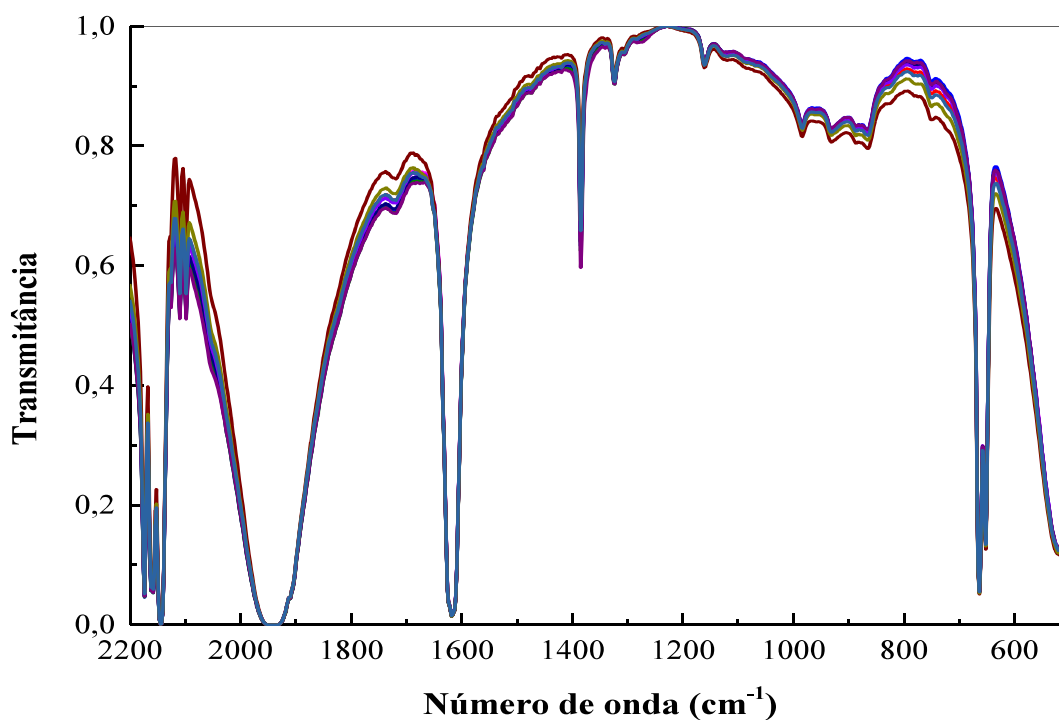
A Figura 31 corresponde as mesmas medidas ampliado para a região de faixa 900-400  $\text{cm}^{-1}$ . Observa-se a redução das bandas na região em 661  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta$  (Fe-N-O)) [84] e em 647  $\text{cm}^{-1}$  Fe-NO<sub>bend</sub> [85], que juntamente com a redução da banda na região em 1937  $\text{cm}^{-1}$  evidencia o processo de liberação do NO.

**Figura 31.** Espectros de IV, compreendido na faixa 900-400  $\text{cm}^{-1}$  feito em pastilha de KBr (3 % m/m) para a liberação de NO até o período de 84 horas para a amostra **CO NPSi-APTES-NP**.



Foi realizado um teste comparativo com nitroprussiato livre, no qual utilizou-se uma pastilha de KBr (1,5 % m/m) que foi deixado sob as mesmas condições (tempo, fonte de irradiação, temperatura) do teste para as **CO NPSi-APTES-NP**. A Figura 32 apresenta os espectros de IV para o experimento. Não se observou nenhuma variação espectral no período 84 h, tanto para a banda em  $1937\text{ cm}^{-1}$  quanto para as bandas em  $661\text{ cm}^{-1}$  e  $647\text{ cm}^{-1}$ , evidenciando que no período monitorado não ocorreu liberação de NO. Esse resultado sugere que a incorporação do nitroprussiato as **CO NPSi-APTES-NP** favoreceu a liberação de óxido nítrico.

**Figura 32.** Espectros de IV de nitroprussiato de sódio, em pastilha de KBr (1,5 % m/m) para a liberação de NO até o período de 84 horas.



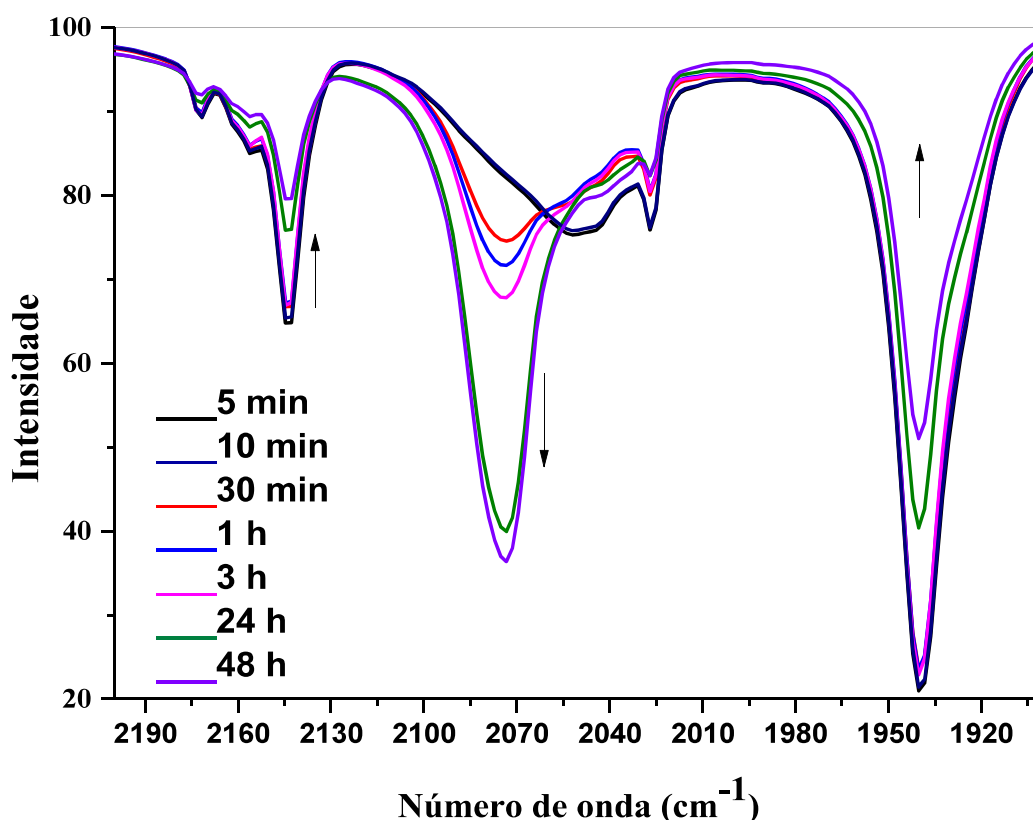
Fonte: O autor

### III. 4.1.2. Ensaio de liberação de NO em sólida (CO NPSi-APTES NP + CO NPSi-APTES ASC)

Na tentativa de avaliar a possibilidade de liberação do NO por ação de agentes redutores, realizaram-se experimentos utilizando ácido ascórbico como potencial redutor do óxido nítrico, promovendo a liberação do NO[86].

Através da análise do perfil dos espectros obtidos (Figura 33) para a amostra composta da mistura de **CO NPSi-APTES NP** e **CO NPSi-APTES ASC**, pode-se observar que ocorre primeiro a formação de uma quantidade significativa de azul da Prússia ( $2066\text{ cm}^{-1}$ ), com uma posterior liberação de NO ( $1937\text{ cm}^{-1}$ ) em pequena quantidade se comparada aos resultados anteriores onde foi utilizado a irradiação com luz led.

**Figura 33.** Espectros de IV, em pastilhas de KBr (3% m/m), para a mistura (**CO NPSi-APTES NP** + **CO NPSi-APTES ASC**).



Fonte: O autor

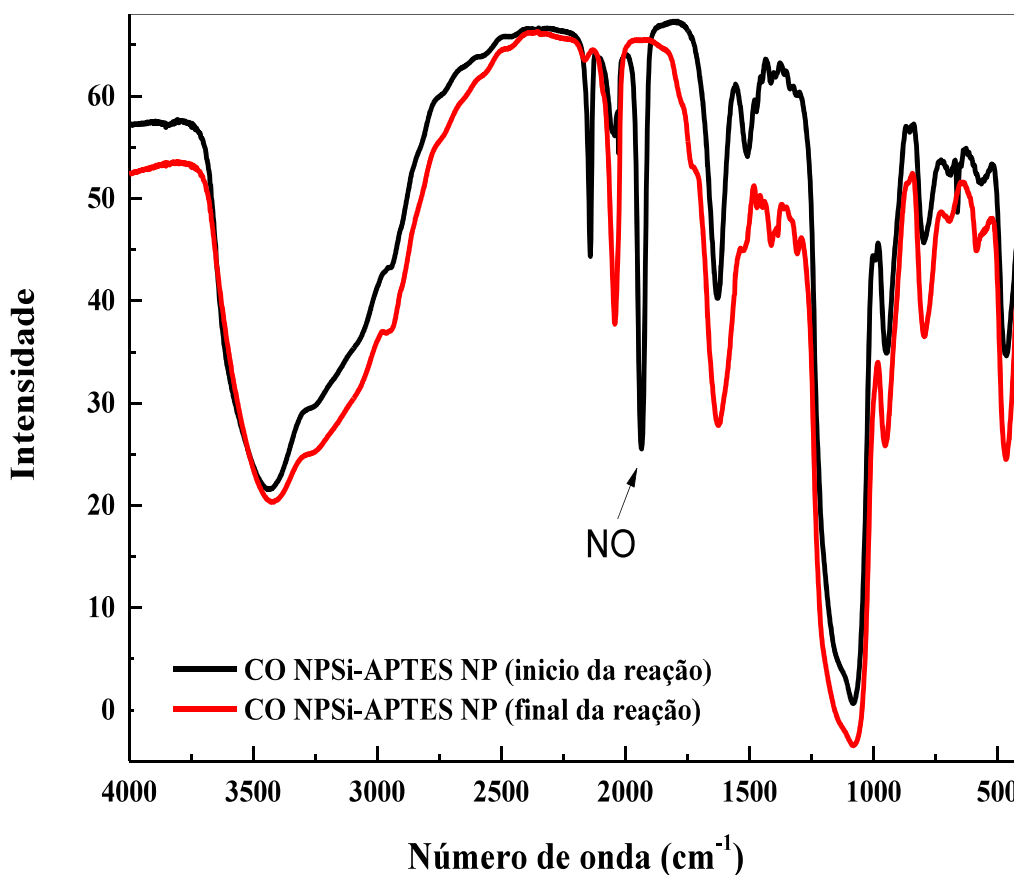
### III. 4.1.3 Liberação de NO da amostra **CO NPSi-APTES NP** em solução na presença de ácido ascórbico

Este experimento foi realizado na tentativa de avaliar a influência do ácido ascórbico agora em solução para liberação do NO. É esperado que o agente redutor em solução aja de forma mais efetiva na liberação do NO do que o observado para o sistema anterior, onde o este se encontrava adsorvido nas **CO NPSi-APTES**.

Observa-se pelos espectros de IV da Figura 34, no início e no final da reação (após 1 hora) o desaparecimento das bandas na região em  $1937$ ,  $661$  e  $647\text{ cm}^{-1}$ , indicando a liberação

total do NO. O aumento nas absorções referentes a região 2110-1980  $\text{cm}^{-1}$ , com máximo de 2042  $\text{cm}^{-1}$ , sugere a formação do composto aquaferrocianeto. A não observação de colocação azul no material dá indícios de que o complexo azul da Prússia, não tenha se formado nesse sistema. Assim, como era esperado, os resultados mostraram a liberação mais rápida do NO quando o ácido ascórbico está em solução. Além disso os resultados dos ensaios de liberação mostram que o óxido nítrico é liberado de forma mais lenta (aproximadamente 80% em 84 h) quando irradiado com luz LED. Este resultado pode ser interessante nos casos em que se necessite de uma liberação prolongada.

**Figura 34.** Espectros de IV, em pastilha de KBr (3,0 % m/m), para as **CO NPSi-APTES NP** antes e após a redução por ácido ascórbico.

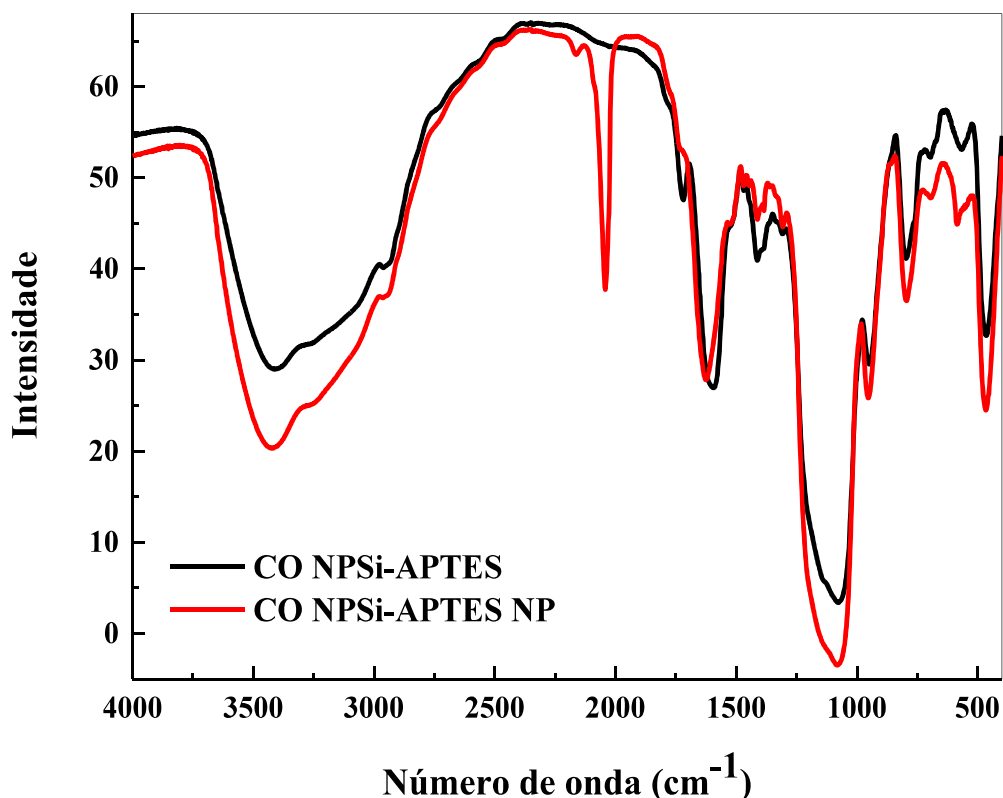


Fonte: O autor

A Figura 35 apresenta a sobreposição dos espectros das amostras **CO NPSi-APTES e CO NPSi-APTES NP**, na presença de ácido ascórbico, onde observam-se as bandas referentes a sílica e ao cianeto do complexo aquaferrocianeto em 2042  $\text{cm}^{-1}$ .

Não foi observando nenhuma banda característica do ácido ascórbico (principalmente do estiramento C=O em  $1760\text{ cm}^{-1}$ ) sugerindo que o ácido ascórbico participa do processo de redução do  $\text{NO}^+$  a  $\text{NO}$ , mas não fica adsorvido na matriz.

**Figura 35.** Espectros de IV, em pastilhas de KBr (3 % m/m), para as **CO NPSi-APTES NP** e **CO NPSi-APTES** na presença de ácido ascórbico.



Fonte: O autor

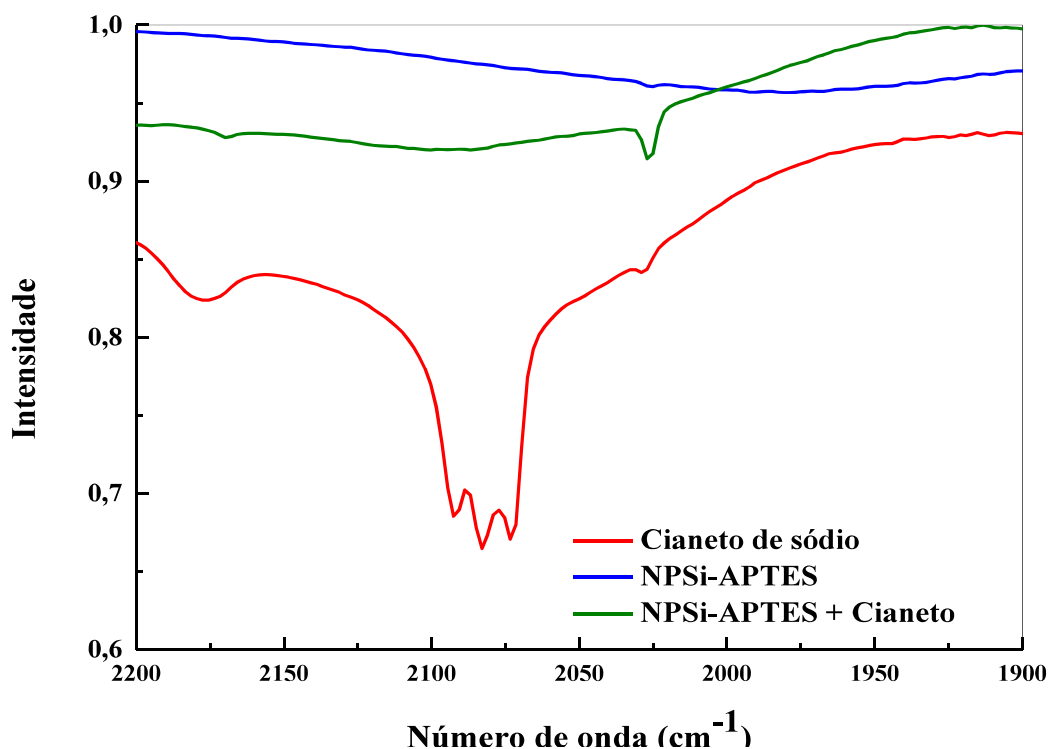
### III. 4.1.4 Monitoramento de cianeto livre

#### III.4.1.4.1. Teste quantitativo

Como foi destacado na introdução deste trabalho, um dos problemas associados ao uso do nitroprussiato é a possibilidade de envenenamento por cianeto livre decorrente da liberação do  $\text{NO}$ . Assim, buscou-se avaliar a possibilidade de a matriz de sílica atuar como um sequestrante de cianeto.

A Figura 36 apresenta os espectros de IV do cianeto de sódio, das **CO NPSi-APTES** e **CO NPSi-APTES + CIANETO**. No espectro da amostra **CO NPSi-APTES + CIANETO** a absorção característica do CN em  $2026\text{ cm}^{-1}$ , sugerindo o sequestro do cianeto pela matriz de sílica. A baixa intensidade dessa banda é devido as fortes absorções da matriz.

**Figura 36.** Espectro de IV, em pastilha de KBr (3% m/m), para cianeto de sódio, das CO NPSi-APTES e CO NPSi-APTES + CIANETO.



Fonte: O autor

#### III.4.1.4.2. Teste quantitativo

A Tabela 16 apresenta os resultados das análises quantitativas (método de Liebig) do cianeto remanescente, após os testes de adsorção utilizando as amostras CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q.

Tabela 16: Resultados obtidos para a titulação\* de cianeto utilizando 4 mL de cada solução, após testes de adsorção pelas amostras CO NPSi-APTES e CO NPSi-Q, usando nitrato de prata a 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

Amostra	V <sub>AgNO<sub>3</sub></sub> (mL)	CN <sup>-</sup> (mol L <sup>-1</sup> ) <sub>remanescente</sub>	CN <sup>-</sup> (mmol g <sup>-1</sup> ) <sub>adsorvido</sub>
Branco (CN <sup>-</sup> )	4,05	0,0211	-
CO NPSi-APTES	3,05	0,018	1,00
CO NPSi-Q	2,05	0,012	1,56

\*Análise realizadas em duplicata.

Assim, os resultados dos ensaios sugerem que o material é um bom adsorvente para o cianeto. Este resultado é bastante interessante pois dá indícios de que as nanopartículas poderiam auxiliar na remediação do cianeto liberado pelo nitroprussiato no organismo. Testes mais conclusivos são necessários para inferir essa potencialidade, principalmente os que envolvem o parâmetro seletividade do material ao cianeto e ao nitroprussiato.

### III.5. CONCLUSÃO

Os resultados de infravermelho indicam que os complexo imobilizado na matriz de sílica libera óxido nítrico na região do visível. A mistura entre a nanopartículas contendo nitroprussiato e ácido ascórbicos apresentam uma liberação lenta e sob luz branca indicando que o mesmo pode ser utilizado em liberação controlada de uso tópico. O teste em meio redutor, mostrou que ocorre uma liberação total em uma hora, e que o produto final é o aquaferrocianeto.

Ambos os materiais apresentaram a capacidade de adsorver cianeto livre, indicando o seu alto potencial em uso medicinal uma vez que a liberação cianeto é um do principal empecilho no uso de nitroprussiato em medicina. Indicando o quanto o material apresenta-se promissor. Todas essas informações possibilitam uma múltiplas utilizações para o material devido a grande importância do óxido nítrico em diversas áreas, tais como medicinal, química e biológica.

### III.6. PERSPECTIVAS

Deste trabalho ainda é de grande importância a realização alguns experimentos que possam aumentar o entendimento de como os materiais aqui sintetizados podem atuar como liberadores NO. Assim ficam como perspectivas os seguintes tópicos:

- Comparativo na liberação NO entre as amostras **CO NPSi-APTES NP** e **CO NPSi-Q NP**;
- Estudos de liberação de NO e CN<sup>-</sup> em meio aquoso e meio simulado de fluido biológico;
- Teste de liberação de NO em dispositivos de uso tópico;
- Estudo de liberação de NO *in vivo*.

### III.5. REFERÊNCIAS

1. SCHMIDT, M; SCHWERTFEGER, F. Applications for silica aerogel products. **Journal Of Non-crystalline Solids**, [s.l.], v. 225, p.364-368, abr. 1998.
2. ROY, D.m; ARJUNAN, P; SILSBEE, M.r. Effect of silica fume, metakaolin, and low-calcium fly ash on chemical resistance of concrete. **Cement And Concrete Research**, [s.l.], v. 31, n. 12, p.1809-1813, dez. 2001.
3. PETERSEN, K.e.. Silicon as a mechanical material. **Proceedings Of The Ieee**, [s.l.], v. 70, n. 5, p.420-457, 1982. Institute of Electrical & Electronics Engineers (IEEE).
4. PRÉLOT, Bénédicte et al. The difference between the surface reactivity of amorphous silica in the gas and liquid phase due to material porosity. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 355, n. 1-3, p.67-74, fev. 2010.
5. MORTERRA, Claudio et al. Reactive silica. II. Nature of the surface silicon hydrides produced by the chemisorption of hydrogen. **The Journal Of Physical Chemistry**, [s.l.], v. 73, n. 2, p.327-333, fev. 1969. American Chemical Society (ACS)
6. EL-SAFETY, S. A. et al. Large-Scale Design of CubicIa3d Mesoporous Silica Monoliths with High Order, Controlled Pores, and Hydrothermal Stability. **Adv. Mater.**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.47-53, 6 jan. 2005. Wiley-Blackwell
7. GOWOREK, T et al. Positronium states in the pores of silica gel. **Chemical Physics**, [s.l.], v. 230, n. 2-3, p.305-315, maio 1998. Elsevier BV
8. INAGAKI, Shinji et al. An ordered mesoporous organosilica hybrid material with a crystal-like wall structure. **Nature**, [s.l.], v. 416, n. 6878, p.304-307, 21 mar. 2002. Nature Publishing Group.
9. SCHÜTH, Ferdi et al. Endo- and Exotemplating to Create High-Surface-Area Inorganic Materials. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 42, n. 31, p.3604-3622, 11 ago. 2003. Wiley-Blackwell.
10. CLIMENT, Estela et al. Controlled Delivery Using Oligonucleotide-Capped Mesoporous Silica Nanoparticles. **Angewandte Chemie**, [s.l.], v. 122, n. 40, p.7439-7441, 24 ago. 2010.
11. INNOCENZI, Plinio et al. Mesoporous silica thin films for alcohol sensors. **Journal Of The European Ceramic Society**, [s.l.], v. 21, n. 10-11, p.1985-1988, jan. 2001.



12. ZHAO, Dongyuan et al. Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 120, n. 24, p.6024-6036, jun. 1998. American Chemical Society (ACS).
13. ZHANG, Xueao et al. Direct synthesis and characterization of highly ordered functional mesoporous silica thin films with high amino-groups content. **Applied Surface Science**, [s.l.], v. 254, n. 9, p.2893-2899, fev. 2008.
14. PAOLA, Agatino di et al. A survey of photocatalytic materials for environmental remediation. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 211-212, p.3-29, abr. 2012.
15. MERCIER, Louis et al. Access in mesoporous materials: Advantages of a uniform pore structure in the design of a heavy metal ion adsorbent for environmental remediation. **Adv. Mater.**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.500-503, jun. 1997.
16. MINAKUCHI, Hiroyoshi et al. Octadecylsilylated Porous Silica Rods as Separation Media for Reversed-Phase Liquid Chromatography. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 68, n. 19, p.3498-3501, jan. 1996. American Chemical Society (ACS).
17. TSAI, Ming-chieh et al. Adsorption of glucose oxidase at platinum-multiwalled carbon nanotube-alumina-coated silica nanocomposite for amperometric glucose biosensor. **Sensors And Actuators B: Chemical**, [s.l.], v. 141, n. 2, p.592-598, set. 2009.
18. HUH, Seong et al. Cooperative Catalysis by General Acid and Base Bifunctionalized Mesoporous Silica Nanospheres. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 44, n. 12, p.1826-1830, 11 mar. 2005.
19. FU, Jiajun et al. Acid and Alkaline Dual Stimuli-Responsive Mechanized Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles as Smart Nanocontainers for Intelligent Anticorrosion Coatings. **Acs Nano**, [s.l.], v. 7, n. 12, p.11397-11408, 23 dez. 2013. American Chemical Society (ACS).
20. CHAN, Ming-hsien et al. Preparation and identification of multifunctional mesoporous silica nanoparticles for in vitro and in vivo dual-mode imaging, theranostics, and targeted tracking. **Biomaterials**, [s.l.], v. 46, p.149-158, abr. 2015. Elsevier BV.
21. THOMA, D. S. et al. Bone augmentation using a synthetic hydroxyapatite/silica oxide-based and a xenogenic hydroxyapatite-based bone substitute materials with and without recombinant human bone morphogenetic protein-2. **Clinical Oral Implants Research**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.592-598, 19 ago. 2014.

22. TANG, Fangqiong et al. Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. **Adv. Mater.**, [s.l.], v. 24, n. 12, p.1504-1534, 29 fev. 2012.
23. COLILLA, Montserrat et al. Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery and Controlled Release Applications. **The Sol-gel Handbook**, [s.l.], p.1309-1344, 21 ago. 2015.
24. ARGYO, Christian et al. Multifunctional Mesoporous Silica Nanoparticles as a Universal Platform for Drug Delivery. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.435-451, 14 jan. 2014.
25. ZHANG, Jing et al. Multifunctional Envelope-Type Mesoporous Silica Nanoparticles for Tumor-Triggered Targeting Drug Delivery. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 135, n. 13, p.5068-5073, 3 abr. 2013.
26. PAN, Limin et al. Nuclear-Targeted Drug Delivery of TAT Peptide-Conjugated Monodisperse Mesoporous Silica Nanoparticles. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 134, n. 13, p.5722-5725, 4 abr. 2012.
27. YAMADA, Hironori et al. Critical Roles of Cationic Surfactants in the Preparation of Colloidal Mesostructured Silica Nanoparticles: Control of Mesostructure, Particle Size, and Dispersion. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, [s.l.], v. 6, n. 5, p.3491-3500, 12 mar. 2014.
28. DUDARKO, Oksana A. et al. Microwave-assisted and conventional hydrothermal synthesis of ordered mesoporous silicas with P-containing functionalities. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 459, p.4-10, out. 2014.
29. DORCHEH, A. Soleimani; ABBASI, M.h.. Silica aerogel; synthesis, properties and characterization. **Journal Of Materials Processing Technology**, [s.l.], v. 199, n. 1-3, p.10-26, abr. 2008.
30. LIN, Ruiyu et al. Kinetic Influence of Siliceous Reactions on Structure Formation of Mesoporous Silica Formed via the Co-Structure Directing Agent Route. **J. Phys. Chem. C**, [s.l.], v. 120, n. 7, p.3814-3821, 25 fev. 2016.
31. TARN, Derrick et al. Mesoporous Silica Nanoparticle Nanocarriers: Biofunctionality and Biocompatibility. **Accounts Of Chemical Research**, [s.l.], v. 46, n. 3, p.792-801, 19 mar. 2013.

32. HOFFMANN, Frank et al. Silica-Based Mesoporous Organic–Inorganic Hybrid Materials. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 45, n. 20, p.3216-3251, 12 maio 2006.
33. KECHT, Johann; SCHLOSSBAUER, Axel; BEIN, Thomas. Selective Functionalization of the Outer and Inner Surfaces in Mesoporous Silica Nanoparticles. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 20, n. 23, p.7207-7214, 9 dez. 2008.
34. FRANCESCHINI, Esteban A. et al. A simple three step method for selective placement of organic groups in mesoporous silica thin films. **Materials Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 169, p.82-88, fev. 2016.
35. Peer D<sup>1</sup>, Karp JM, Hong S, Farokhzad OC, Margalit R, Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol.* 2007 Dec;2(12):751-60
36. Volker Wagner<sup>1</sup>, Anwyn Dullaart<sup>2</sup>, Anne-Katrin Bock<sup>3</sup> & Axel Zweck, The emerging nanomedicine landscape, *Nature Biotechnology* 24, 1211 - 1217 (2006)
37. JAIN, Rakesh K.; STYLIANOPOULOS, Triantafyllos. Delivering nanomedicine to solid tumors. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s.l.], v. 7, n. 11, p.653-664, 14 set. 2010.
38. YUAN, Conghui et al. Gold@Polymer Nanostructures with Tunable Permeability Shells for Selective Catalysis. **Angewandte Chemie**, [s.l.], v. 123, n. 15, p.3577-3581, 8 mar. 2011.
39. TANG, Fangqiong; LI, Linlin; CHEN, Dong. Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. **Adv. Mater.**, [s.l.], v. 24, n. 12, p.1504-1534, 29 fev. 2012.
40. LIN, Yu-shen; HAYNES, Christy L.. Impacts of Mesoporous Silica Nanoparticle Size, Pore Ordering, and Pore Integrity on Hemolytic Activity. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 132, n. 13, p.4834-4842, 7 abr. 2010.
41. HUDSON, Sarah P. et al. The biocompatibility of mesoporous silicates. **Biomaterials**, [s.l.], v. 29, n. 30, p.4045-4055, out. 2008.
42. BOUCHOUCHA, Meryem et al. Size-Controlled Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Tunable Drug Release and Enhanced Anti-Tumoral Activity. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 28, n. 12, p.4243-4258, 28 jun. 2016.
43. OSAKI, Fumio et al. A Quantum Dot Conjugated Sugar Ball and Its Cellular Uptake. On the Size Effects of Endocytosis in the Subviral Region. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 126, n. 21, p.6520-6521, jun. 2004.

- 44.SLOWING, Igor I. et al. Mesoporous Silica Nanoparticles for Reducing Hemolytic Activity Towards Mammalian Red Blood Cells. **Small**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.57-62, jan. 2009.
- 45.GOMES, Elis C.c. et al. On the incorporation of Rhodamine B and 2',7'-dichlorofluorescein dyes in silica: Synthesis of fluorescent nanoparticles. **Optical Materials**, [s.l.], v. 36, n. 7, p.1197-1202, maio 2014.
- 46.ROSTAMIAN, Rahele; NAJAFI, Mojgan; RAFATI, Amir Abbas. Synthesis and characterization of thiol-functionalized silica nano hollow sphere as a novel adsorbent for removal of poisonous heavy metal ions from water: Kinetics, isotherms and error analysis.**Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 171, n. 3, p.1004-1011, jul. 2011.
- 47.SOUZA, Marcelo J.b. et al. Textural features of highly ordered Al-MCM-41 molecular sieve studied by X-ray diffraction, nitrogen adsorption and transmission electron microscopy. **Materials Letters**, [s.l.], v. 60, n. 21-22, p.2682-2685, set. 2006.
- 48.TOULEMONDE, M. et al. MeV gold irradiation induced damage in  $\alpha$ -quartz: Competition between nuclear and electronic stopping. **Nuclear Instruments And Methods In Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, [s.l.], v. 178, n. 1-4, p.331-336, maio 2001.
- 49.GAUMET, Marie; GURNY, Robert; DELIE, Florence. Fluorescent biodegradable PLGA particles with narrow size distributions: Preparation by means of selective centrifugation. **International Journal Of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 342, n. 1-2, p.222-230, set. 2007.
- 50.SING, Kenneth. The use of nitrogen adsorption for the characterisation of porous materials. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 187-188, p.3-9, ago. 2001.
- 51.LIBERMAN, Alexander et al. Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. **Surface Science Reports**, [s.l.], v. 69, n. 2-3, p.132-158, set. 2014.
- 52.LEERMAKERS, Peter A. et al. Spectra and Photochemistry of Molecules Adsorbed on Silica Gel. IV. **J. Am. Chem. Soc.**,[s.l.], v. 88, n. 22, p.5075-5083, nov. 1966.
- 53.MURTHY, R. S. Shreedhara.; LEYDEN, D. E.. Quantitative determination of (3-aminopropyl)triethoxysilane on silica gel surface using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 58, n. 6, p.1228-1233, maio 1986.

54. ZHENG, Haoquan; GAO, Chuanbo; CHE, Shunai. Amino and quaternary ammonium group functionalized mesoporous silica: An efficient ion-exchange method to remove anionic surfactant from AMS. **Microporous And Mesoporous Materials**, [s.l.], v. 116, n. 1-3, p.299-307, dez. 2008.
55. XIE, Wei et al. Thermal Degradation Chemistry of Alkyl Quaternary Ammonium Montmorillonite. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 13, n. 9, p.2979-2990, set. 2001.
56. TRIPATHI, Sushil K. et al. Selective blocking of primary amines in branched polyethylenimine with biocompatible ligand alleviates cytotoxicity and augments gene delivery efficacy in mammalian cells. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 115, p.79-85, mar. 2014.
57. HEINRICH, Tassiele et al. Biological nitric oxide signalling: chemistry and terminology. **British Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 169, n. 7, p.1417-1429, 12 jul. 2013.
58. MISHRA, Bibhuti B et al. Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 $\beta$ . **Nature Immunology**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.52-60, 18 nov. 2012.
59. VESEY, C. J. et al. Some Metabolic Effects of Sodium Nitroprusside in Man. **Bmj**, [s.l.], v. 2, n. 5911, p.140-142, 20 abr. 1974.
60. CLAYBAUGH, Taylor et al. L-Arginine Supplementation in Type II Diabetic Rats Preserves Renal Function and Improves Insulin Sensitivity by Altering the Nitric Oxide Pathway. **International Journal Of Endocrinology**, [s.l.], v. 2014, p.1-7, 2014.
61. BHOWMICK, Reshma; GIROTTI, Albert W.. Cytoprotective Signaling Associated with Nitric Oxide Upregulation in Tumor Cells Subjected to Photodynamic Therapy-like Oxidative Stress. **Free Radical Biology And Medicine**, [s.l.], v. 57, p.39-48, abr. 2013.
62. Igwe J.C. and Abia A.A. Sorption kinetics and intraparticulate diffusivities of Cd, Pb and Zn ions on maize cob, Pb and Zn ions on maize cob. **Afr. J. Biotech.** 2005; 4(6): 509–512.
63. Langmuir I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **J. Am. Chem. Soc.** 1916; 38, 2221–2295.
64. Tempkin M.J. and Pyozhev V. Kinetics of ammonia synthesis on promoted iron catalyst. **Acta Phys. Chim. USSR** 1940; 12, 327–352.

65. Dubinin M.M. and Radushkevich L.V. Equation of the characteristic curve of activated charcoal. **Chem. Zentr.** 1947; 1, 875–889.
66. Halsey, *J. Chem. Phys.* 16, 931, 1948.
67. Ho Y.S. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. **Scientometrics.** 2004; 59: 171–177.
68. Ho Y.S., Ng J.C.Y. and McKay G. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review. **Separation and Purification Methods.** 2000; 29: 189–232.
69. Demirbas E., Kobya M., Senturk E. and Ozkan T. Adsorption kinetics for the removal of chromium (vi) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. **Water SA.** 2004; 30(4): 533–539.
70. McKay G. and Poots V.J. Kinetics and diffusion processes in colour removal from effluent using wood as an adsorbent. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1980; 30: 279–292.
71. HE, Junyu et al. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 108, p.114-119, out. 2014.
72. RATAJCZAK-WRONA, Wioletta et al. Levels of biological markers of nitric oxide in serum of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. **International Journal Of Oral Science**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.141-145, 23 ago. 2013.
73. PETSKEY, H L et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). **Thorax**, [s.l.], v. 67, n. 3, p.199-208, 11 out. 2010.
74. LI, W. et al. Novel Insights Into Phosgene-Induced Acute Lung Injury in Rats: Role of Dysregulated Cardiopulmonary Reflexes and Nitric Oxide in Lung Edema Pathogenesis. **Toxicological Sciences**, [s.l.], v. 131, n. 2, p.612-628, 9 nov. 2012.
75. CHENG, Huiwen et al. Nitric oxide in cancer metastasis. **Cancer Letters**, [s.l.], v. 353, n. 1, p.1-7, out. 2014.
76. HANNAN, Johanna L. et al. Inhibition of Rho-Kinase Improves Erectile Function, Increases Nitric Oxide Signaling and Decreases Penile Apoptosis in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. **The Journal Of Urology**, [s.l.], v. 189, n. 3, p.1155-1161, mar. 2013.
77. LU, Yuan et al. Shape- and Nitric Oxide Flux-Dependent Bactericidal Activity of Nitric Oxide-Releasing Silica Nanorods. **Small**, [s.l.], v. 9, n. 12, p.2189-2198, 30 jan. 2013.

78. LUNDBERG, Jon O.; GLADWIN, Mark T.; WEITZBERG, Eddie. Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s.l.], v. 14, n. 9, p.623-641, 7 ago. 2015.
79. HEZEL, Mp; WEITZBERG, e. The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. **Oral Dis**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.7-16, 10 jul. 2013.
80. NEIDRAUER, M. et al. Antimicrobial efficacy and wound-healing property of a topical ointment containing nitric-oxide-loaded zeolites. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 63, n. 2, p.203-209, 6 nov. 2013.
81. BURKS, Peter T. et al. Nitric Oxide Releasing Materials Triggered by Near-Infrared Excitation Through Tissue Filters. **J. Am. Chem. Soc.**, [s.l.], v. 135, n. 48, p.18145-18152, 4 dez. 2013.
82. MANOHARAN, P. T.; GRAY, Harry B.. Electronic Structures of Metal Pentacyanonitrosyls. **Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 5, n. 5, p.823-839, maio 1966.
83. STOCHEL, Grażyna. High-pressure mechanistic studies on thermal and photochemical reactions of pentacyanoferrate complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], v. 114, n. 2, p.269-295, maio 1992.
84. SHISHIDO, Silvia Mika; OLIVEIRA, Marcelo Ganzarolli de. PHOTSENSITIVITY OF AQUEOUS SODIUM NITROPRUSSIDE SOLUTIONS: NITRIC OXIDE RELEASE VERSUS CYANIDE TOXICITY. **Progress In Reaction Kinetics And Mechanism**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.239-261, 1 jun. 2001.
85. RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J. et al. Silver nitroprusside: Atypical coordination within the metal nitroprussides series. **Inorganica Chimica Acta**, [s.l.], v. 428, p.51-56, mar. 2015.
86. SMITH, James N.; DASGUPTA, Tara P.. Mechanisms of nitric oxide release from nitrovasodilators in aqueous solution: reaction of the nitroprusside ion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ ) with l-ascorbic acid. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [s.l.], v. 87, n. 3, p.165-173, dez. 2001.