



2011

"Nanopartículas como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética: caracterização físico – química de polioxometalatos (POMs) contendo íons lantanídeos (III) e suas nanopartículas revestidas de sílica".

Rui Filipe Silva Carvalho



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

" Nanopartículas como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética: caracterização físico – química de polioxometalatos (POMs) contendo íons lantanídeos (III) e suas nanopartículas revestidas de sílica".

Rui Filipe Silva Carvalho

2011

" Nanopartículas como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética: caracterização físico – química de polioxometalatos (POMs) contendo íons lantanídeos (III) e suas nanopartículas revestidas de sílica".

Rui Filipe Silva Carvalho



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

" Nanopartículas como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética: caracterização físico – química de polioxometalatos (POMs) contendo íons lantanídeos (III) e suas nanopartículas revestidas de sílica".

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Carlos Frederico de Gusmão Campos Geraldes (Universidade de Coimbra)

Rui Filipe Silva Carvalho

2011

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar ao Professor Doutor Carlos Geraldês pela sua orientação e apoio prestado e por todas as indicações e ensinamentos que me deu ao longo destes anos.

À Professora Doutora Helena Nogueira agradeço por me ter acolhido no seu grupo na Universidade de Aveiro e por toda a simpatia e disponibilidade no esclarecimento de dúvidas.

Ao Doutor Carlos Granadeiro agradeço toda a incansável ajuda que me deu, agradeço todos os esclarecimentos e orientações prestadas, pois sem ele grande parte deste trabalho teria sido impossível.

Agradeço ao André Martins pela sempre boa disposição e disponibilidade para ajudar e esclarecer quaisquer dúvidas que surgiram.

A todos os meus colegas de curso agradeço todo o apoio dado sempre que necessário, agradeço a boa disposição e simpatia sem as quais não é possível conviver e trabalhar.

A todos os meus colegas que não fazem parte do meu curso, aqueles que conheço desde a infância e aos que conheço há menos tempo por tudo o que já fizeram por mim e todo o apoio que me prestaram pois sem isso não teria forças para completar este trabalho.

Agradeço à Rede PT-NMR pela disponibilidade em usar os seus equipamentos nos estudos que efectuei, pois sem isso não teria sido possível trabalhar.

A toda a minha família, em especial aos meus pais, agradeço todo o apoio que me deram e que me dão todos os dias e tudo o que sacrificam por minha causa.

Palavras – chave Polioxometalatos, lantanídeos, nanopartículas, IRM

Resumo

Foram sintetizados Polioxometalatos (POMs) contendo diferentes iões lantanídeos (III) do tipo Lindqvist e também nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes iões lantanídeos (III). As termogravimetrias permitiram verificar o número de moléculas de água de hidratação nos POMs e através de técnicas como a espectroscopia de infravermelhos (IV) foi possível comprovar a correcta estrutura lacunar Lindqvist de todos os POMs.

Posteriores análises através de microscopia electrónica de transmissão e varrimento revelaram a estrutura em tipo “core-shell” das nanopartículas contendo estes POMs embora bastante aglomeradas. Os dados de potencial zeta e dispersão dinâmica da luz permitiram concluir que os POMs foram correctamente internalizados nestas nanopartículas e revestidos por SiO₂, apresentando populações de nanopartículas com POMs contendo diferentes iões lantanídeos que se podem assumir homogéneas.

Os estudos de relaxividade a campo baixo (20 MHz) e campo alto (500 MHz) permitiram avaliar a sua eficácia como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética (IRM).

Keywords Polioxometalates, lanthanides, nanoparticles, MRI

Abstract

Polyoxometalates (POMs) containing different lanthanide ions (III) of Lindqvist type as well as silica coated nanoparticles with POMs of different lanthanide ions (III) were synthesized. Thermogravimetry allowed for quantification of POM's hydration water molecules and by techniques like Infrared spectroscopy (IS) correct lacunar Lindqvist structure of these POMs were comproved.

Transmission and scattering electronic microscopy revealed a “core-shell” like structure of these nanoparticles coated with silica and bearing POMs of different lanthanide ions, but with some agglomeration. Zeta potential analysis and dynamic light scattering revealed that these nanoparticles were correctly encapsulated in SiO₂, and were distributed in populations that we can assume to be homogenous.

Relaxometric studies at low fields (20 MHz) and at higher fields (500 MHz) were carried to evaluate the efficacy of these compounds as potential contrast agents for Magnetic Resonance Imaging.

Objectivos do trabalho

Este trabalho tem como objectivo avaliar a capacidade de Polioxometalatos (POMs) comportando iões lantanídeos (III) e nanopartículas revestidas de sílica e contendo POMs com iões lantanídeos (III) como potenciais agentes de contraste para aplicação em Imagem de Ressonância Magnética (IRM).

Índice

Capítulo I – Introdução Geral

1. Introdução ao Fenómeno de RMN	2
2. Teoria da Relaxação Nuclear	4
3. Imagem de Ressonância Magnética (IRM) e Agentes de Contraste	7
4. Nanopartículas como agentes de contraste para IRM	9
5. Polioxometalatos	14

Capítulo II – Parte Experimental

1. Materiais	17
2. Métodos Experimentais	17

Capítulo III – Resultados e Discussão

1. <u>Estudos de POMs de lantanídeos (III)</u>	
– Termogravimetria de POMs	21
– Espectroscopia de Infravermelhos (IV) de POMs	21
– Relaxometria (20 MHz) de POMs de diferentes lantanídeos (III)	22
– Relaxometria (500 MHz) de POMs de diferentes lantanídeos (III)	25
2. <u>Estudos de nanopartículas revestidas de sílica e contendo POMs de lantanídeos (III)</u>	
– Medições do Potencial Zeta(ζ) de nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes lantanídeos (III)	28
– Medições da Dispersão Dinâmica da Luz de nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes lantanídeos (III)	29
– Microscopia de Varrimento e de Transmissão Electrónica (SEM/TEM)	31
– Estudos de RMN ^{29}Si de nanopartículas revestidas com sílica e contendo POM de gadolínio (III)	32
– Relaxometria (20 MHz) de nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes lantanídeos (III)	33

Capítulo IV – Conclusões

– Estrutura dos POMs e das nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs com iões lantanídeos (III)	36
– Relaxividade das nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes iões lantanídeos (III)	37

Bibliografia	39
---------------------------	----

Capítulo I - Introdução Geral

1 - Introdução ao fenómeno de RMN

A descoberta do fenómeno de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) deve-se primeiramente a Stern e Gerlach, que no início dos anos 20 através de experiências realizadas verificaram existir relação entre os momentos magnéticos de átomos e as suas trajectórias na presença de campos magnéticos exteriores não – homogéneos. No mesmo ano Pauli sugeriu a existência de núcleos magnéticos, que se comportariam como pequenos micro-ímans, tendo proposto o conceito de spin nuclear. [1]

Este fenómeno de RMN está portanto associado ao comportamento que todos os núcleos magnéticos (e só esses) apresentam quando sujeitos a um campo magnético estático e também a irradiação selectiva na gama das radiofrequências. Estas técnicas de ressonância magnética baseiam-se na absorção selectiva de ondas de rádio por amostras colocadas num campo magnético. Esta amostra excitada regressa portanto ao estado inicial, emitindo energia na gama das radiofrequências. A determinação exacta destes valores de radiofrequências, bem como da velocidade com que a amostra retorna ao estado inicial (relaxação) representam a essência da informação detalhada que é passível de ser obtida através desta técnica espectroscópica.

Estes núcleos magneticamente activos comportam-se, como já referido, como pequenos ímans, sem orientação preferida na ausência de um campo magnético. No entanto, quando sujeitos a um campo magnético externo B_0 , tendem a orientar-se segundo a direcção deste. Para alterar essa orientação será necessária energia (neste caso não muita energia uma vez que se tratam de ímans muito pequenos e por conseguinte momentos magnéticos igualmente muito pequenos).[1]

O facto destes núcleos girarem e possuírem momento angular, o momento de torção exercido pelo campo externo resulta num movimento circular denominado de precessão. A frequência de precessão é proporcional à intensidade do campo magnético externo e à intensidade do magnete nuclear:

$$\text{Equação 1} \quad \nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$$

Onde, ν_0 é a frequência de precessão (“ frequência de Larmor”) em Hertz, γ é a intensidade do magnete nuclear (“razão giromagnética”) e B_0 a intensidade do campo magnético externo. [2] Este momento magnético depende da espécie nuclear em questão, ^1H , ^{13}C , ^{31}P , etc, portanto a energia necessária para perturbar essa orientação também varia de nuclideo para nuclideo, permitindo utilizar cada um destes núcleos, individualmente, como sondas magnéticas.

Para os núcleos mais úteis em RMN (núcleos que possuem spin=1/2) são permitidos apenas dois estados quânticos, uma vez que a energia se encontra quantizada, tal como Max Planck descreveu nos seus estudos. Estes dois estados quânticos podem ser visualizados como “up” ou “ α (alfa)” e “down” ou “ β (beta)” (Fig.1).

Na ausência de um campo magnético exterior estes dois estados quânticos apresentam a mesma energia e no equilíbrio térmico exactamente metade da população de núcleos encontra-se no estado “up” e a outra metade no estado “down”. No entanto, na presença de um campo magnético exterior, o estado “up” encontra-se alinhado com o campo, apresentando portanto, uma menor energia que o estado “down”, estado este oposto ao campo magnético. Sendo um estado quântico não existem situações intermédias, assim a energia entre estes dois estados é proporcional à intensidade do campo externo, aumentando à medida que a intensidade do campo externo aumenta. Numa grande população de núcleos em equilíbrio térmico um pouco mais de metade da população ocupa o estado de menor energia “up” alinhado com o campo externo. [2]

Devido a este facto é possível observar os sinais relativos aos núcleos numa experiência de RMN, pois caso contrário as populações anular-se-iam e nenhum sinal seria observado. É também devido ao facto desta separação de populações aumentar com o aumento da intensidade de campo que se tem assistido ao aparecimento de espectrómetros operando a cada vez maiores frequências (maiores campos magnéticos), na tentativa de aumentar a resolução dos espectros associados.

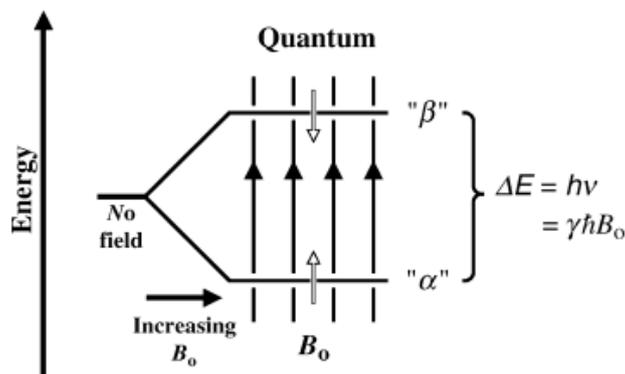


Fig. 1 – Representação da separação de energia entre dois estados quânticos alfa “ α ” e beta “ β ”, onde γ representa a razão giromagnética, h designa a constante de Planck e B_0 a intensidade de campo magnético.[2]

Esta área de RMN tem vindo a evoluir a um ritmo bastante acelerado existindo actualmente espectrómetros de 1 GHz (1000 MHz, 23.5 T), como um verdadeiro desafio à engenharia.

2- Teoria da Relaxação Nuclear

O fenômeno de RMN é bastante vasto, como já foi anteriormente referido. Tendo sido apresentadas as suas bases não foi ainda abordado uma parte significativa da teoria. Essa parte diz respeito à relaxação nuclear.

A relaxação nuclear é o processo através do qual os spins retornam ao equilíbrio.[3] É portanto um fenômeno associado intrinsecamente a uma experiência de RMN.

O equilíbrio é um estado onde as populações dos níveis energéticos são as previstas pela distribuição de Boltzmann e quando não existe magnetização transversa e portanto não existem coerências presentes no sistema. [3]

Em RMN é necessário ter-se uma grande quantidade de spins, qualquer coisa como 10^{20} spins, comportando-se todos de igual forma estatística de modo a poder ser detectada alguma magnetização susceptível de ser medida. [2] Quando um pulso de radiofrequências é aplicado à amostra os spins distribuem-se pelos níveis energéticos de Boltzmann e portanto obtemos uma ligeira magnetização como resultado da preferência pelos estado menos energético.

(Fig.2)

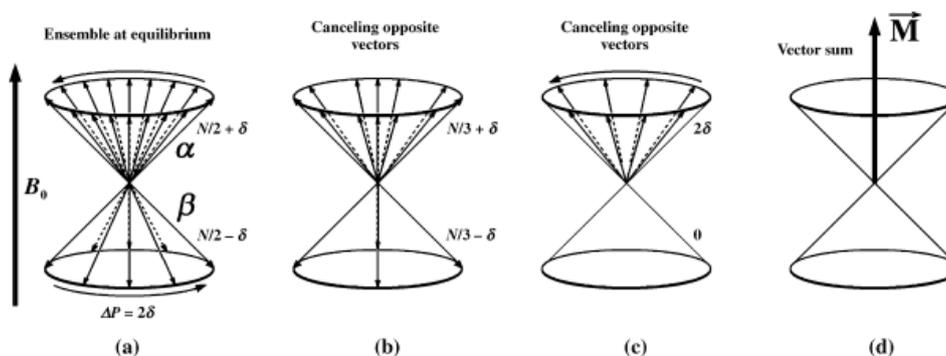


Fig.2 – Figura ilustrativa das distribuições das populações de spins de Boltzmann.[2]

No entanto quando esse(s) pulso(s) termina(m) o sistema retorna ao equilíbrio pelo fenômeno de relaxação aqui descrito regido por dois mecanismos conhecidos como relaxação longitudinal (R_1) e relaxação transversal (R_2). Tomemos como exemplo um referencial com três eixos: x , y e z . A relaxação longitudinal ou spin-rede (do inglês “ spin-lattice ”) resulta do retorno da magnetização do plano xy , criada pelo(s) pulso(s) de 90° aplicado(s) à amostra, ao estado inicial de magnetização ao longo do eixo dos z s a que chamamos magnetização M_z .

O tempo associado a este retorno ao equilíbrio designa-se de tempo de relaxação longitudinal ou abreviadamente de T_1 , e pode ser facilmente medido através da experiência de Inversão - Recuperação onde se aplica um pulso de 180° à amostra de modo a inverter a magnetização e seguidamente (usando uma série de tempos variáveis) um pulso de 90° por forma a deslocar os spins para o plano xy onde a magnetização pode efectivamente ser medida e de seguida deixando o sistema evoluir até ao equilíbrio, contabilizando o tempo que decorre.

A relaxação transversal ou spin-spin resulta da perda de coerência por parte dos spins da amostra devido às pequenas diferenças nas frequências de Larmor resultantes da inhomogeneidade de campo e é perpendicular à relaxação T_1 uma vez que acontece ao nível do plano xy. É um decaimento desde um máximo de coerência até ao estado de coerência zero e portanto também a magnetização final é por conseguinte nula. Tem também associado a si o tempo chamado de tempo de relaxação transversal ou T_2 . Pode ser medido usando a experiência de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG2), onde se aplica numa primeira fase um pulso de 90° de modo a colocar a magnetização no plano xy e seguidamente aplicam-se pulsos de 180° de modo a inverter a orientação dos spins neste plano xy. Quando dois spins em direcções contrárias se encontram produz-se o chamado eco de spin que é medido e assim é possível obter o valor de T_2 , realizando esta experiência com uma série de valores de tempo entre o pulso de 90° e o primeiro de 180° . Um exemplo gráfico destes dois mecanismos de relaxação pode ser observado na Figura 3.

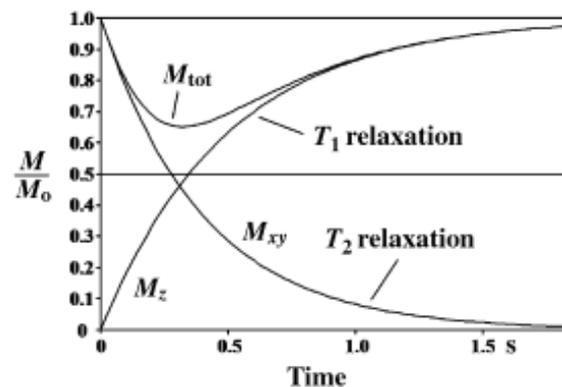


Fig 3 - Exemplo gráfico dos mecanismos de relaxação T1 e T2. [2]

Foi Bloch o criador das equações que descrevem os decaimentos destes dois tempos de relaxação T_1 e T_2 . (Equações 2 e 3)

Equação 2 $M_z(t) = M_0 + [M_z(0) - M_0] \exp(-t/T_1)$

Equação 3 $M_y(t) = M_y(0) \exp(-t/T_2)$

Mais tarde Solomon, Bloembergen e Morgan introduziram as suas equações que descreveriam mais detalhadamente os parâmetros envolvidos nestes dois tipos de relaxação bem como o desenvolvimento destas, nas equações chamadas de SBM (Solomon-Bloembergen- Morgan).

A descrição mais aprofundada destes fenómenos de relaxação contribuiu não só para o melhoramento das experiências de RMN bem como permitiu avanços fortes nesta área, mas mostrou-se também fulcral no desenvolvimento de uma nova técnica de imagem, a Imagem por Ressonância Magnética (IRM) de que falaremos a seguir.

3 – Imagem de Ressonância Magnética (IRM) e Agentes de Contraste

A Imagem de Ressonância Magnética (IRM) é uma técnica de imagiologia assente nos princípios da Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Em 1971, o cientista Raymond Damadian mostrou que os tempos de relaxação nuclear T1 e T2 de tecidos normais e tumores eram diferentes, abrindo a hipótese dos cientistas usarem a RMN para a detecção de patologias. [4] Dois anos mais tarde, Lauterbur demonstrou pela primeira vez a IRM, esta que é hoje considerada como uma das mais poderosas técnicas de diagnóstico. [5] Ao compararmos esta técnica com outras de imagiologia, como PET e CT, temos algumas importantes vantagens, 1) não é necessário usar radiação ionizante, reduzindo o risco para o paciente, 2) em tecidos não-saudáveis os valores de T1 e T2 mudam, mudando também as respectivas imagens, 3) é possível obter uma resolução espacial melhor que qualquer outra técnica (0.2 – 0.3 mm). As limitações desta técnica incluem o facto de pessoas portadoras de pacemakers ou outros dispositivos electrónicos similares não poderem ser submetidas ao diagnóstico, bem como o facto de não ser possível visualizar os ossos. A imagem obtida através de IRM é gerada pelos sinais provenientes dos prótons de água presentes no corpo dos indivíduos. (o corpo humano é formado por cerca de 70 % de água). De modo a poder ser criada esta imagem é necessário existirem os elementos de volume chamados de “voxels” que resultam da aplicação de gradientes de campo perpendiculares entre si. Assim a intensidade do sinal obtido por IRM depende dos parâmetros descritos pela equação 4 :

$$\text{Equação 4} \qquad \qquad \qquad SI = k \rho_H (1 - e^{-TR/T1})e^{-TE/T2}$$

Onde k representa uma constante de proporcionalidade dependente do fluxo, perfusão e difusão, ρ_H representa a densidade de spins da amostra, TR é o tempo de repetição, definido como o intervalo de tempo entre as repetições da sequência e TE é o tempo entre o pulso de 90° e o máximo de amplitude no eco, respectivamente e T₁ e T₂ são as velocidades de relaxação longitudinal e transversal, respectivamente.

É possível obter uma imagem por IRM naturalmente apenas definindo o contraste da imagem a partir das diferenças na abundância natural e mobilidade de água nos vários tecidos. No entanto, a resolução da imagem muitas vezes não é suficientemente satisfatória, e para melhorar essa situação são usados os chamados agentes de contraste. Estes agentes são, como o nome indica, capazes de melhorar o contraste das imagens através da diminuição dos tempos de relaxação dos prótons da água presentes nos tecidos (aumento das velocidades de relaxação protónica), isto é, possuem um relaxividade adequada.

A relaxividade (r_i) é definida como a capacidade dum solução 1 mM de agente de contraste aumentar a velocidade de relaxação dos prótons da água (diminuir os tempos de relaxação T_1 e T_2) e pode ser definida pela equação 5:

$$\text{Equação 5} \quad \frac{1}{T_{i,obs}} = \frac{1}{T_{i,p}} + \frac{1}{T_{i,d}} = r_i[M] + \frac{1}{T_{i,d}} \quad i=1,2$$

Onde $T_{i,obs}$ é o tempo de relaxação longitudinal ($i = 1$) e transversal ($i = 2$) observados, $T_{i,d}$ e $T_{i,p}$ são as contribuições diamagnética e paramagnética dos tempos de relaxação nucleares, respectivamente, $[M]$ é a concentração das espécies paramagnéticas, em milimoles por dm^3 e r_i é a relaxividade longitudinal ou transversal.

Bloch foi o primeiro a descrever o uso de um sal paramagnético como agente capaz de diminuir o tempo de relaxação dos prótons da água.[6] Este fenómeno de relaxação induzido por agentes paramagnéticos foi primeiro estudado por Solomon [7] e de forma independente por Bloembergen [8] e Bloembergen e Morgan. [9]

O elemento de eleição para IRM é o íon gadolínio (III), por possuir 7 electrões desemparelhados nas orbitais f, e uma simetria 8S , sendo altamente eficaz a diminuir o tempo de relaxação dos prótons da água. Tem também uma maior vantagem devido ao seu momento magnético efectivo ser elevado, na mesma gama de valores de outros elementos do mesmo grupo tais como Tb(III), Dy(III), Ho(III), Er(III) e Tm(III).

Dizem-se agentes de contraste positivos pois possibilitam tornar a imagem mais clara afectando predominantemente o valor de T_1 . Contrariamente, agentes de contraste negativos têm um efeito predominante no valor de T_2 e portanto levam ao escurecimento da imagem. Imagens por ressonância magnética em que é evidenciado o efeito no T_1 dizem-se imagens ponderadas em T_1 , no caso do efeito evidenciado em T_2 estas dizem-se ponderadas em T_2 (Fig. 4).

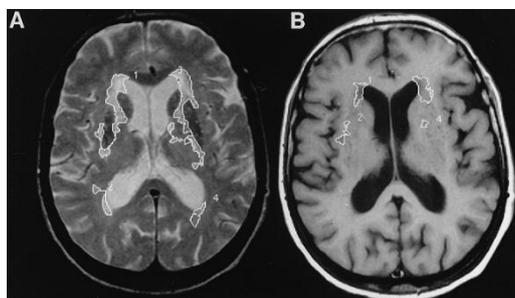


Fig.4– A - imagem ponderada em T2. B - Imagem ponderada em T1. [10]

Muitos artigos, geralmente em revistas médicas, descrevem as propriedades e aplicações dos agentes de contraste para IRM. [11] Mais recentemente outros artigos importantes abordaram este tema em profundidade. [12-15] Por aqui se percebe que muitos destes agentes de contraste dizem respeito a complexos que englobam o íon gadolínio (III) (Figura 5), mas também podem existir outros tipos de agentes de contraste.

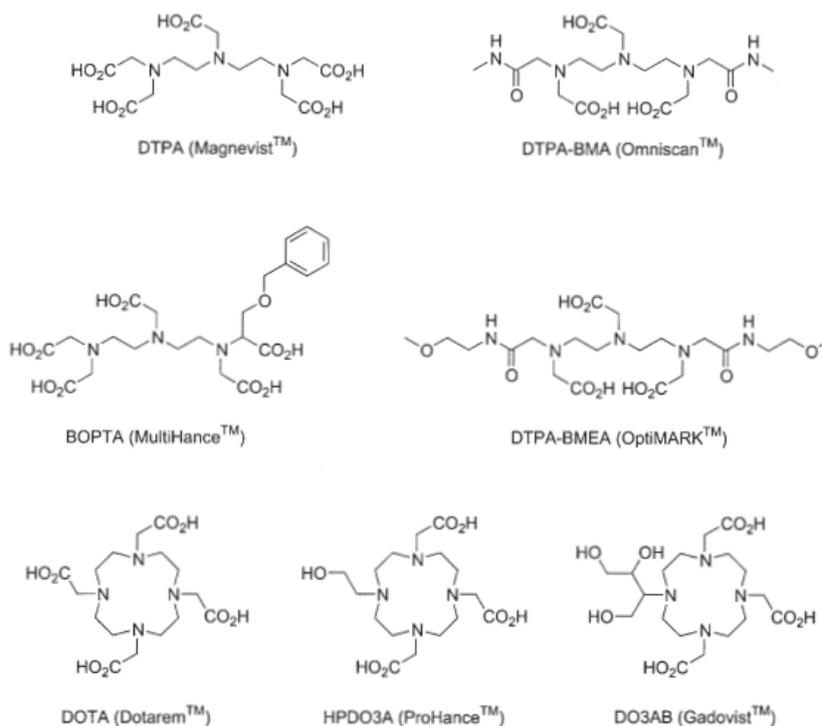


Fig.5 - Exemplos de alguns complexos com o íon gadolínio (III) que são agentes de contraste já disponíveis no mercado. [13]

4 - Nanopartículas como agentes de contraste para IRM

Um outro grande grupo de agentes de contraste (AC) usados em IRM diz respeito às nanopartículas. Uma nanopartícula pode ser definida como uma partícula que tem pelo menos 1nm de dimensão e não mais que 100nm. No que diz respeito às nanopartículas, as propriedades magnéticas (e outras propriedades físicas) estão dependentes do seu tamanho. [16]

Os nanomateriais podem ser classificados em materiais compactos ou nanodispersões. Os primeiros incluem os chamados materiais nanoestruturados, ou seja, materiais que se apresentam homogêneos à escala macroscópica e que consistem em unidades de tamanho nanométrico contactantes como elementos estruturais. Por outro lado as nanodispersões apresentam-se contendo um meio homogêneo de dispersão (como sejam: sólido, líquido, gás ou vácuo) e incluindo as nanopartículas dispersas nesse meio e isoladas umas das outras. [16] A Figura 6 é ilustrativa das diferentes formas possíveis de nanopartículas constituídas por metais.

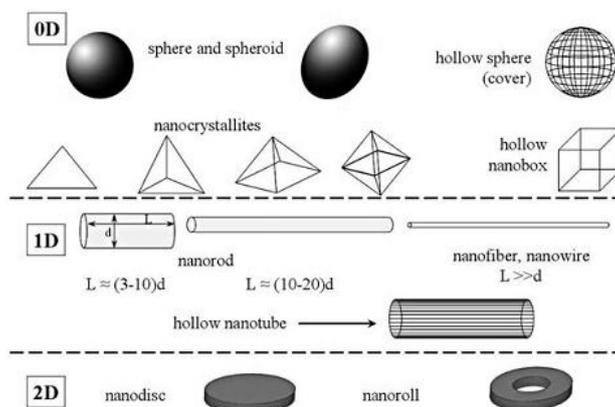


Fig.6 – Classificação quanto à forma de nanopartículas constituídas por metais. [16]

A ideia de usar nanopartículas com propriedades magnéticas para fins de IRM surgiu nos anos 70. A estratégia básica é usar o agente terapêutico ou de diagnóstico ligado à nanopartícula magnética, ou encapsulado de alguma forma e prover um revestimento da nanopartícula de modo a estabilizá-la. [17] Tem também grande importância o uso de nanopartículas como ACs pois permitem uma grande acumulação dos iões paramagnéticos no local de interesse.

Deste modo vários tipos de nanossistemas baseados no uso de íons gadolínio (III) foram já reportados, como por exemplo polímeros [18], proteínas [19], dendrímeros [20-21], micelas e lipossomas (“lipid-based”)[22,23,24], nanotubos de carbono [25-26], nanopartículas com sílica e carregadas com gadolínio (III)[27-28], nanopartículas com óxido de gadolínio (III)[29], pontos quânticos (“quantum dots”) [30], entre outros. Os valores de r_1 apresentados por estas nanopartículas podem ser várias vezes mais elevados (100 a 1000 vezes) por unidade de AC que $[Gd(DTPA)]^-$ e as razões r_2/r_1 podem estar entre 1.0 – 5.5, dependendo do seu tamanho, conteúdo em água ou porosidade. Conforme as razões r_2/r_1 e os campos magnéticos usados, as nanopartículas podem ser usadas como agentes T_1 ou T_2 , gerando pois um contraste positivo ou negativo. As nanopartículas podem ter inúmeras aplicações como AC [31], dependendo sobretudo do seu revestimento e vectorização como sugere a Figura 7.

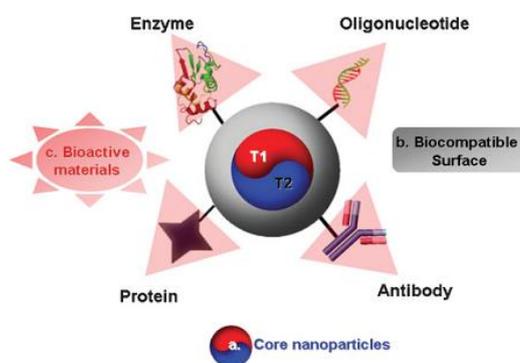


Figura 7 – Estrutura de uma agente de contraste para IRM baseado em nanopartículas. [32]

Uma parte dos agentes de contraste baseados em nanopartículas diz respeito às nanopartículas de ouro. A estratégia neste caso é usar o ouro para criar o centro da nanopartícula e de seguida usar moléculas que tenham grupos tiol (-SH) de modo a poder criar a ligação entre a superfície do ouro a qualquer complexo com agentes paramagnéticos de modo a funcionarem com agentes de contraste. Assim consegue-se uma grande acumulação de unidades de agente de contraste ao mesmo tempo que se pode ainda vectorizar a nanopartícula para um local-alvo específico. [33-35]

Outra grande parte diz respeito a agentes superparamagnéticos. Estes agentes de contraste consistem em materiais como óxidos de ferro, sob a forma de colóides, em suspensão e compostos de pequenos cristais (1-10 nm) que por sua vez têm milhares de iões magnéticos. Este material superparamagnético comporta-se de maneira semelhante ao material paramagnético, mas em vez de cada átomo ser afectado individualmente pelo campo magnético externo, o momento magnético de todo o cristal tende a alinhar-se com o campo magnético. Assim os momentos magnéticos dos vários iões não se cancelam mutuamente, alinhando-se em conjunto e fazendo com que estes cristais tenham um momento magnético permanente, muito superior na presença de um campo magnético externo e também bastante superior ao dum quelato de gadolínio (III). As dimensões do núcleo magnético determinam a relaxividade ao passo que o tamanho total determina a farmacocinética das partículas. [14]

Existem três tipos de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas : 1) se apresentarem um diâmetro menor que 50 nm são chamadas de USPIOS (do inglês: “ Ultra-small superparamagnetic iron oxide”); 2) se o diâmetro estiver entre 50 nm e 1mm são chamadas de SPIOs (do inglês: “Small superparamagnetic iron oxide”) e 3) se forem partículas na gama dos microns são chamadas de MPIOs (do inglês: “ micron-sized particles of iron oxide”). [14]

Embora numa fase inicial estas nanopartículas de óxido de ferro fossem constituídas por magnetite (Fe_3O_4) ou maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) estão também disponíveis noutras formas (Tabela 1).[32]

Tabela 1 – Propriedades dos agentes de contraste T2. [32]

Name	Core Material	Surface	Diameter of Core [nm]	Hydrodynamic Diameter [nm]	Magnetization [emu g^{-1}][a]	r_2 [$\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$]	B_0 [T]
Ferumoxides (Feridex)	Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Dextran	4.96	160	45	120	1.5
Ferucarbotran (Resovist)	Fe_3O_4	Carboxydextran	4	60		186	1.5
Ferumoxtran (Combidex)	Fe_3O_4	Dextran	5.85	35	61	65	1.5
CLIO-Tat	Fe_3O_4	Dextran	5	30	60	62	1.5
WSIO (MEIO)	Fe_3O_4	DMSA[b]	4		25	78	1.5
			6		43	106	
			9		80	130	
			12		101	218	
FeNP	$\alpha\text{-Fe}$	PEG	10		70	129	1.5
MnMEIO	MnFe_2O_4	DMSA[b]	6		68	208	1.5
			9		98	265	
			12		110	358	
CoMEIO	CoFe_2O_4	DMSA[b]	12		99	172	1.5
NiMEIO	NiFe_2O_4	DMSA[b]	12		85	152	1.5
Au- Fe_3O_4	Fe_3O_4	PEG	20			114	3.0
Au-FePt	FePt (fcc)	PEG	6			59	3.0

[a] Magnetic properties were measured at 1.5 T external field. [b] 2,3-Dimercaptosuccinic acid.

Estas nanopartículas ganharam notoriedade devido ao facto de encurtarem dramaticamente os tempos de relaxação T_2^* no fígado, baço e medula óssea devido à sua internalização e acumulação selectiva pelas células do sistema reticuloendotelial. Por exemplo, nanopartículas do tipo SPIO são usadas clinicamente para visualizar o fígado pois são internalizadas pelas células de Kupffer. [32]

Enquanto as nanopartículas do tipo USPIO e SPIO podem ser administradas intravenosamente, as partículas de tamanhos superior apenas podem ser administradas oralmente de modo a explorar o tracto gastrointestinal, pois de outra maneira podem ficar retidas nos alvéolos pulmonares. [14]

Assim torna-se necessário recorrer a estratégias de encapsulamento de nanopartículas de modo a salvaguardar os seus possíveis efeitos tóxicos bem como permitir a biofuncionalização destas para as mais diversas situações. Um material bastante utilizado para este fim é a sílica por se apresentar inócua ao organismo humano e permitir facilmente ser derivatizada através de grupos oxigénio presentes na estrutura dos seus óxidos.

Existem mais formas de estabilização de nanopartículas magnéticas tais como carboxilatos, fosfatos (estabilizadores monoméricos), dextrano, PEG (Polyethylene Glycol), PVA (polyvinylalcohol), alginato, quitosano (estabilizadores poliméricos) e outros. [36]

Todas estas estratégias e opções possibilitam o aumento das aplicações de nanopartículas de forma verdadeiramente exponencial e abrem novas perspectivas na investigação e aplicação deste tipo de agentes de contraste para IRM.

5 - Polioxometalatos

Os polioxoaniões do tipo polioxometalatos (POMs) são uma classe de compostos inorgânicos descritos pela primeira vez em 1826 por Berzelius. Estes são agregados de metais de transição (maioritariamente V, Nb, Ta, Mo, W) combinados com oxigénio e carregados negativamente. Mais precisamente, estes são habitualmente compostos de metais de transição nos seus estados de oxidação mais elevados ligados através de pontes oxo (O^{2-}). [37]

Praticamente qualquer elemento pode ser incorporado na sua estrutura, o que leva a uma diversidade de estruturas e propriedades. Estas propriedades incluem composição molecular, tamanho, forma, densidade de carga, potenciais de redução (estado fundamental e estado excitado), acidez e solubilidade. Os POMs podem-se tornar solúveis em quase todos os meios, desde água a hidrocarbonetos, através da escolha de um contracatião (ões) e/ou por outras alternativas. Assim os POMs têm interesse para diversas áreas tais como: análises químicas, catálise, ciência dos materiais, medicina, etc. [38-43]

Existem duas classes principais de POMs: os isopolianiões e os heteropolianiões. Os isopolianiões de fórmula $[M_mO_y]^{p-}$ podem ser compostos por dois tipos de elementos, oxigénio e um metal, como sejam: V^{5+} , Nb^{5+} , Mo^{6+} , Ta^{5+} e W^{6+} . Os heteropolianiões de fórmula $[X_xM_mO_y]^{q-}$ possuem um heteroátomo X. O metal M está no estado de oxidação mais elevado e os seus átomos designam-se de adenda pois são os principais constituintes da estrutura dos POMs. [44]

Alguns exemplos das duas classes de POMs estão representadas na Figura 8.

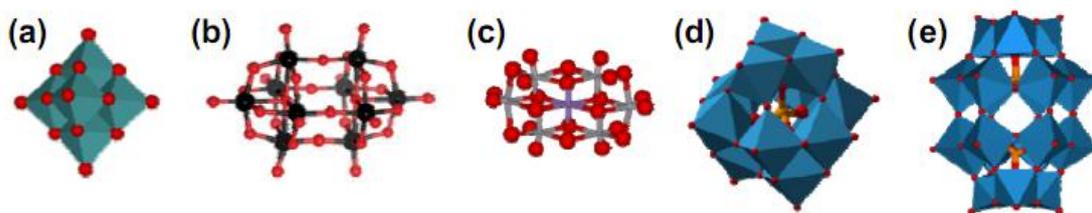


Figura 8 - Estruturas de isopolianiões: (a) Lindqvist $[M_6O_{19}]^{n-}$, (b) $[M_{10}O_{32}]^{n-}$ e heteropolianiões: (c) Anderson-Evans $[XM_6O_{24}]^{n-}$ (d) Keggin $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$, (e) Wells-Dawson $[X_2M_{18}O_{62}]^{n-}$

Alguns estudos já realizados neste âmbito verificaram que POMs contendo gadolínio (III) como $\text{Gd}_2\text{P}_2\text{W}_{18}\text{O}_{62}$ e $\text{K}_{15}[(\text{GdO})_3(\text{PW}_9\text{O}_{34})_2]$, apresentam relaxividades r_1 de $28.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $11.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ respectivamente (400 MHz, 25 °C), mais elevadas que agentes de IRM comerciais como GdDTPA, mostrando ser promissores agentes de contraste para IRM, sendo $\text{K}_{15}[(\text{GdO})_3(\text{PW}_9\text{O}_{34})_2]$ específico para tecido hepático, como analisado através de testes *in vitro* e *in vivo*. [45] Outros POMs como $\text{K}_9\text{GdW}_{10}\text{O}_{36}$ e $\text{K}_{11}[\text{Gd}(\text{PW}_{11}\text{O}_{39})_2]$ foram avaliados tanto *in vitro* como *in vivo*, como possíveis agentes de contraste, apresentando valores de relaxividade r_1 de $6.89 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ para $\text{K}_9\text{GdW}_{10}\text{O}_{36}$ e $5.27 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ para $\text{K}_{11}[\text{Gd}(\text{PW}_{11}\text{O}_{39})_2]$, mostrando portanto valores ligeiramente superiores aos apresentados pelo GdDTPA. [46] Mais recentemente POMs contendo gadolínio (III) foram testados, $\text{K}_{15}[\text{Gd}(\text{BW}_{11}\text{O}_{39})_2]$ [$\text{Gd}(\text{BW}_{11})_2$] e $\text{K}_{17}[\text{Gd}(\text{CuW}_{11}\text{O}_{39})_2]$ [$\text{Gd}(\text{CuW}_{11})_2$], apresentando relaxividades r_1 de $17.12 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $19.95 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (400 MHz, 25 °C) respectivamente, novamente mais elevadas que o GdDTPA. [47]

Neste trabalho o foco incidirá sobre o estudo de POMs do tipo Lindqvist, nomeadamente os polioxometalatos de fórmula $\text{N}_9\text{LnW}_{10}\text{O}_{36}$ (Figura 9) (com Ln sendo um qualquer íão (III) lantanídeo), bem como sobre o estudos de nanopartículas (NPs) do tipo “core-shell”, revestidas de sílica contendo POMs com estes íões lantanídeos (III). Estes POMs apresentam uma estrutura lacunar já descrita na literatura. [48]

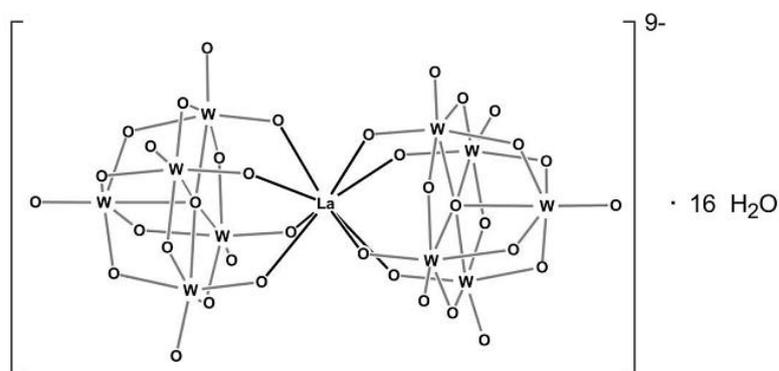


Fig. 9 – Estrutura lacunar de um POM contendo o íão lantanídeo La (III) do tipo Lindqvist. [48]

Capítulo II - Parte experimental

Materiais

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos à Sigma-Aldrich e foram usados sem modificações posteriores.

Métodos e equipamentos

Síntese de Polioxometalatos (POMs):

A síntese dos POMs foi efectuada segundo o método geral descrito por Peacock and Weakley [49], tendo sido sintetizados POMs de toda a série dos lantanídeos, à excepção do ião lutécio (III).

A uma solução aquosa de tungstato de sódio dihidratado (5 g, 15.2 mmol, em 7mL de água destilada) foi adicionado ácido acético glacial para ajustar o pH (7,00 ~ 7,20). Uma solução morna do sal de lantanídeo, 1.5 mmol em 2mL de água destilada) foi adicionada gota-a-gota à solução quente (90°C) de tungstato de sódio dihidratado sob agitação. Verificou-se o aparecimento de uma precipitado transiente após a adição de cada gota, que desapareceu sob agitação. Adicionou-se a esta mistura uma outra solução de cloreto de sódio (1.5 g em 8mL de água destilada). Foi deixada a mistura final a reagir durante 30 minutos. Após este tempo a solução foi armazenada no frio (4-5 °C) durante 2 a 3 dias, seguindo-se uma filtração através de um funil de Buchner e lavagem com água e etanol.

Síntese de nanopartículas do tipo “core-shell” contendo Polioxometalatos (POMs)

A preparação das NPs de POMs de lantanídeos foi levada a cabo através de um método de microemulsão reversa (W/O, água em microemulsões oleosas) para a hidrólise de tetraetoxisilano (TEOS), através do método descrito por Yuan e tal. [50]

Uma microemulsão W/O contendo Triton X-100 (2.22 mL, 3.68 mmol), 1-octanol (2.29 mL, 14.4 mmol), ciclohexano (9.31 mL, 86.1 mmol), TEOS (200 µL) e uma solução aquosa de POM (0.016 mmol de POM em 1 mL de H₂O destilada) misturou-se com uma microemulsão W/O contendo Triton X-100 (3.68 mmol), 1-octanol (14.4 mmol), ciclohexano (86.1 mmol) e amónia (200 µL). Agitou-se a mistura durante 24h à temperatura ambiente, após as quais foi adicionada acetona de modo a precipitar as nanopartículas. Esta mistura foi deixada a repousar durante 48h. Após este período o sólido branco (nanopartículas) foi centrifugado, lavado com etanol e água destilada e seco no exsiccador sob vácuo. [51]

Análise por espectroscopia de Infra-vermelhos (IV):

Os espectros de absorção no infravermelho foram registados a partir de pastilhas de KBr (1 %) num espectrómetro com transformadas de Fourier, Mattson 7000, para uma gama de números de onda de 200 a 4000 cm^{-1} , com resolução 4 cm^{-1} e 32 acumulações. Os espectros de infravermelho usando o modo de ATR foram obtidos no mesmo espectrómetro equipado com um sistema de reflectância total atenuada da Specac MKII Golden Gate, com resolução de 4 cm^{-1} e 256 acumulações directamente a partir da amostra sólida.

Termogravimetria de POMs:

As análises termogravimétricas foram realizadas para a determinação do número de moléculas de água de hidratação dos POMs e no estudo da estabilidade térmica de alguns compostos. As termogravimetrias foram efectuadas em atmosfera de ar, utilizando um Shimadzu – TGA 50 Thermogravimetric Analyzer. A velocidade de aquecimento utilizada foi 10.0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até à temperatura de 800 $^{\circ}\text{C}$.

Análise por Microscopia Electrónica :

A microscopia electrónica de transmissão foi efectuada num microscópio Hitachi H-9000 a operar a 300 kV. A preparação das amostras consistiu em dispersar as amostras em etanol e colocar uma alíquota da amostra numa grelha de cobre revestida por um filme de carbono ou mergulhar a grelha na dispersão, deixando o solvente evaporar antes da análise.

Medições de velocidades de relaxação protónica longitudinal e transversal:

Os valores de tempo de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) de protão foram obtidos usando um relaxómetro Bruker Minispec mq20, de 20 MHz e também um espectrómetro de RMN Varian Unity operando a 498,15 MHz, usando as sequências de Inversão-Recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG2) respectivamente.

Para o estudo dos POMs foram feitos estudos exclusivamente a 25 °C. No caso das medições da velocidade de relaxação longitudinal a 20 MHz, usaram-se valores de separação inicial e final dos pulsos de 180° e 90° variáveis entre amostras, e um número de pontos de 20, ao passo que no caso das medições do tempo de relaxação paramagnética transversal usou-se um número de pontos de 800 e um valor de tau (τ) de 1.6 ms.

No caso das NPs contendo estes POMs o procedimento foi semelhante ao anteriormente descrito. É de acrescentar que no estudo das NPs contendo o POM com gadolínio (III) foram também obtidos valores a 37°C.

A 500 MHz foram apenas estudados os POMs a uma temperatura de 25°C. Usaram-se as sequências já instaladas para a determinação dos tempos T_1 e T_2 , variando-se apenas os valores de intervalo entre pulsos da sequência em questão (d1, d2 e bt), quer fosse a sequência Inversão-Recuperação (dot1) ou a sequência Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG2). Para o caso da segunda sequência foi também usado para o parâmetro tau (τ) o valor de 1.6ms.

Análise por RMN ^{29}Si :

As análises através de RMN ^{29}Si foram obtidas num espectrómetro Bruker AVANCE 400 WB (9.4 T) usando rotores de zircónia com 7 mm de diâmetro e frequência de rotação de 5kHz.

Medições de Potencial Zeta e de Dispersão Dinâmica da Luz:

A análise do tamanho de partículas e a medição do potencial zeta foram realizados usando um ZetaSizer Nano ZS modelo Zen3500 da Malvern. Foram preparadas soluções aquosas das nanopartículas, utilizando ultra-sons para a sua dispersão.

Capítulo III – Resultados e Discussão

1. Estudos de POMs de lantanídeos (III)

Termogravimetria de POMs

Na seguinte tabela são apresentados os diferentes iões lantanídeos (III), presentes em cada tipo de polioxometalato (POM), bem como a fórmula estrutural e o número de moléculas de água de hidratação obtidos através de termogravimetria.

Tabela 2 – Tabela onde são apresentados os diferentes iões lantanídeos constituintes de cada tipo de POM bem como o número de moléculas de água de hidratação respectivas.

$\text{Na}_9[\text{LnW}_{10}\text{O}_{36}]\cdot x\text{H}_2\text{O}$	nº H ₂ O de hidratação
La	22
Ce	23
Pr	14
Nd	13
Sm	15
Eu	26
Gd	28
Tb	17
Dy	21
Ho	17
Er	17
Tm	21
Yb	17

É possível observar que o número de moléculas de água de hidratação varia desde 13 a 28.

Espectroscopia de Infra-vermelhos (IV) de POMs :

Na Figura 10 representa-se, título de exemplo, o espectro de FT-IR do POM com gadolínio (III).

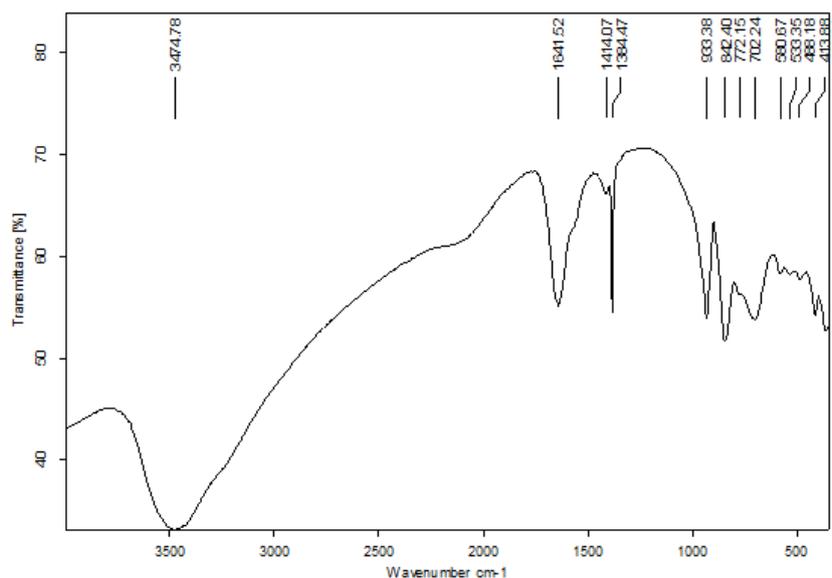


Fig. 10 – Espectro FT-IR do POM $\text{Na}_9[\text{Gd}(\text{W}_5\text{O}_{18})_2] \cdot 28 \text{H}_2\text{O}$.

Os picos dignos de referência neste espectro dizem respeito aos modos normais de vibração de alongação das ligações W=O e W-O-W e encontram-se a números de onda de **933** cm^{-1} para o primeiro tipo de ligação e **842, 772, 702** cm^{-1} para o segundo tipo de ligação.

De referir ainda a presença de um pico a 1384 cm^{-1} correspondente à alongação do nitrato proveniente da síntese destes POMs e que por conseguinte não foi eficazmente retirado pelas lavagens com água e etanol.

Os restantes POMs da série dos lantanídeos apresentam um espectro semelhante e confirmam dessa forma a estrutura lacunar desejada.

Relaxometria (20 MHz) de POMs de diferentes lantanídeos (III)

Os POMs foram sujeitos a estudos de relaxividade a 20 MHz, a uma temperatura de 25 °C. Foram usadas soluções de POMs de concentração 1mM e o pH de todas as soluções foi acertado para aproximadamente 7 e para cada amostra foram obtidas duas medidas do parâmetro T_1 e T_2 , fazendo-se de seguida a média desses dois valores. (Tabela 3)

Tabela 3 – Tabela demonstrativa dos valores de relaxação paramagnética longitudinal e transversal dos diferentes POMs de lantanídeos obtidos a 20 MHz e 25 °C.

<i>Medições a 25 °C Bruker minispec mq20 (20 MHz)</i>																																																																																																																																																																																							
$\text{Ln}[(\text{W}_5\text{O}_{18})_2]$ (1 mM)	T_1 (ms)	Erro	T_1 (s)	$R_{1\text{obs}}$ (s^{-1})	$R_{1\text{p}}$ (s^{-1})	T_2 (ms)	Erro	T_2 (s)	$R_{2\text{obs}}$ (s^{-1})	$R_{2\text{p}}$ (s^{-1})																																																																																																																																																																													
La	2540	20	2.55	0.39	0.00	2292	1	2.30	0.44	0.00																																																																																																																																																																													
	2560	20				2305	1				Ce	2640	20	2.64	0.38	-0.01	2160	1	2.19	0.46	0.02	2640	20	2212	2	Pr	2620	20	2.62	0.38	-0.01	2029	1	2.09	0.48	0.04	2620	20	2143	1	Nd	2560	20	2.58	0.39	0.00	2165	2	2.18	0.46	0.02	2590	20	2191	1	Sm	2600	10	2.60	0.38	-0.01	2199	1	2.24	0.45	0.01	2600	20	2275	1	Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01	2690	30	2250	1	Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7
Ce	2640	20	2.64	0.38	-0.01	2160	1	2.19	0.46	0.02																																																																																																																																																																													
	2640	20				2212	2				Pr	2620	20	2.62	0.38	-0.01	2029	1	2.09	0.48	0.04	2620	20	2143	1	Nd	2560	20	2.58	0.39	0.00	2165	2	2.18	0.46	0.02	2590	20	2191	1	Sm	2600	10	2.60	0.38	-0.01	2199	1	2.24	0.45	0.01	2600	20	2275	1	Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01	2690	30	2250	1	Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1								
Pr	2620	20	2.62	0.38	-0.01	2029	1	2.09	0.48	0.04																																																																																																																																																																													
	2620	20				2143	1				Nd	2560	20	2.58	0.39	0.00	2165	2	2.18	0.46	0.02	2590	20	2191	1	Sm	2600	10	2.60	0.38	-0.01	2199	1	2.24	0.45	0.01	2600	20	2275	1	Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01	2690	30	2250	1	Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																							
Nd	2560	20	2.58	0.39	0.00	2165	2	2.18	0.46	0.02																																																																																																																																																																													
	2590	20				2191	1				Sm	2600	10	2.60	0.38	-0.01	2199	1	2.24	0.45	0.01	2600	20	2275	1	Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01	2690	30	2250	1	Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																						
Sm	2600	10	2.60	0.38	-0.01	2199	1	2.24	0.45	0.01																																																																																																																																																																													
	2600	20				2275	1				Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01	2690	30	2250	1	Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																					
Eu	2680	30	2.69	0.37	-0.02	2236	1	2.24	0.45	0.01																																																																																																																																																																													
	2690	30				2250	1				Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07	108.61	0.08	103.7	0.06	Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																				
Gd	108.64	0.07	0.11	9.21	8.81	106.71	0.07	0.11	9.51	9.07																																																																																																																																																																													
	108.61	0.08				103.7	0.06				Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36	1882	7	1270.4	0.6	Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																			
Tb	1873	7	1.88	0.53	0.14	1245.4	0.5	1.26	0.79	0.36																																																																																																																																																																													
	1882	7				1270.4	0.6				Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75	946	1	491.8	0.5	Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																																		
Dy	940	1	0.94	1.06	0.67	422	0.4	0.46	2.19	1.75																																																																																																																																																																													
	946	1				491.8	0.5				Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10	1869	7	641	0.2	Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																																																	
Ho	1886	8	1.88	0.53	0.14	661.4	0.3	0.65	1.54	1.10																																																																																																																																																																													
	1869	7				641	0.2				Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34	1737	8	1288	2	Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																																																																
Er	1703	6	1.72	0.58	0.19	1284	1	1.29	0.78	0.34																																																																																																																																																																													
	1737	8				1288	2				Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32	2159	10	1331	0.6	Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																																																																															
Tm	2150	10	2.15	0.46	0.07	1317.9	0.8	1.32	0.76	0.32																																																																																																																																																																													
	2159	10				1331	0.6				Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12	2560	20	1806	1																																																																																																																																																														
Yb	2550	20	2.56	0.39	0.00	1816	0.7	1.81	0.55	0.12																																																																																																																																																																													
	2560	20				1806	1																																																																																																																																																																																

Para a obtenção do valor de velocidade de relaxação paramagnética longitudinal ($R_{1\text{p}}$), ao valor observado de velocidade de relaxação longitudinal ($R_{1\text{obs}}$) foi retirada a contribuição diamagnética do POM de lantânio (III) em água ($R_{1\text{o}}$). (Equação 6)

$$\text{Equação 6} \quad R_{i\text{p}} = R_{i\text{obs}} - R_{i\text{o}} \quad (i = 1, 2)$$

O mesmo procedimento foi utilizado no caso do valor de velocidade de relaxação paramagnética transversal ($R_{2\text{p}}$). Os resultados obtidos e expostos na Tabela 3 foram convertidos num gráfico de colunas para melhor visualização e análise destes. (Figura 11).

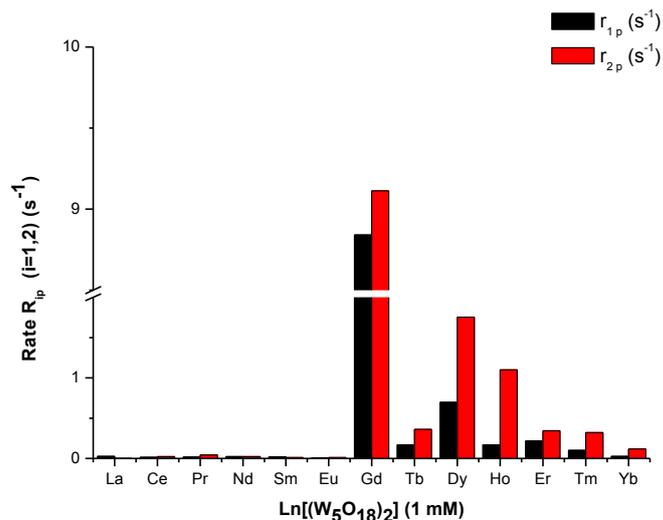


Fig. 11 - Gráfico da relaxividade longitudinal (r_{1p}) e transversal (r_{2p}) do próton da água em solução para os diferentes POMs contendo íons lantanídeos (III) para uma concentração de 1mM, a 20 MHz e 25°C.

É possível observar que os valores de velocidade relaxação paramagnética longitudinal (R_{1p}) e transversal (R_{2p}) são reduzidos para praticamente todos os POMs de diferentes Ln (III), à exceção do POM de gadolínio (III) e dos POMs Dy (III) e Ho (III), sendo que estes apenas apresentam valores de relaxação paramagnética transversal (R_{2p}) superiores à média, de acordo com a teoria SBM.

De modo a obter o valor de relaxividade para o POM contendo o íon Gd (III) foram feitas medidas da relaxação paramagnética longitudinal e transversal a 25°C deste POM, com o pH ajustado a aproximadamente 7 e traçou-se um gráfico da velocidade de relaxação longitudinal e transversal versus a concentração do POM de Gd (III) (Figura 12).

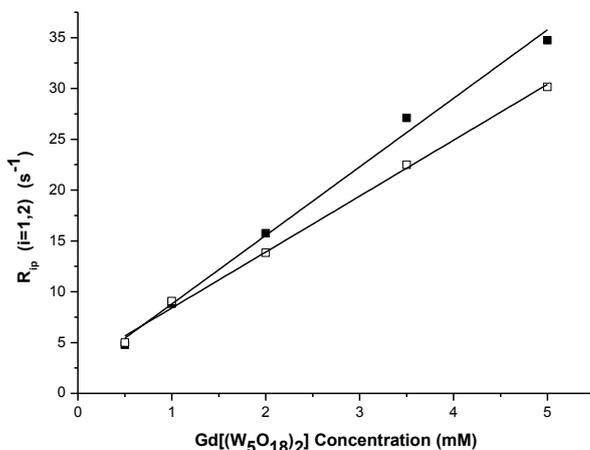


Fig. 12 – Gráfico representativo da velocidade de relaxação paramagnética longitudinal R_{1p} (quadrados a cheio) e transversal R_{2p} (quadrados brancos) em função da concentração do POM de Gd (III).

A equação 7 demonstra como se pode obter o valor de relaxividade através do gráfico da velocidade de relaxação paramagnética versus concentração de íon lantanídeo (III).

$$\text{Equação 7} \quad \mathbf{R_{1obs} = R_{1o} + r_{1p} \cdot [GdL]}$$

Através da equação obtiveram-se os valores de $r_1 = 6.75 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2 = 0.9942$) e $r_2 = 5.50 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2 = 0.9966$), que de resto são valores semelhantes aos encontrados na literatura. [46]

Relaxometria (500 MHz) de POMs de diferentes lantanídeos (III):

Após serem realizados os estudos a 20 MHz, os POMs de diferentes lantanídeos foram estudados a 500 MHz e tal como anteriormente as velocidades de relaxação longitudinal e transversal foram medidas e colocadas numa tabela (Tabela 4).

Tabela 4- Tabela ilustrativa dos valores de velocidade de relaxação longitudinal e transversal obtidos para os diferentes POMs a 500 MHz e 25°C.

Medições a 25 °C Varian Unity 500 (500 MHz)

Ln[(W ₅ O ₁₈) ₂] (1 mM)	T ₁		T ₂		R _{1 obs}		R _{2 obs}		R _{1 p}		R _{2 p}	
	(s)	Erro	(s)	Erro	(s ⁻¹)							
La	3.42	0.14	2.94	0.11	0.29	0.34	0.00	0.00				
Ce	3.64	0.24	2.41	0.11	0.28	0.41	0.12	0.70				
Pr	2.91	0.07	2.45	0.02	0.34	0.41	0.05	0.07				
Nd	3.11	0.15	2.71	0.05	0.32	0.37	0.03	0.03				
Sm	2.91	0.13	2.81	0.07	0.34	0.36	0.05	0.02				
Eu	3.81	0.16	1.52	0.05	0.26	0.66	-0.03	0.32				
Gd	0.12	0.01	0.18	0.01	8.07	5.50	7.77	5.16				
Tb	2.02	0.09	2.17	0.22	0.50	0.46	0.20	0.12				
Dy	0.72	0.01	0.55	0.01	1.40	1.83	1.11	1.49				
Ho	1.66	0.04	0.87	0.07	0.60	1.15	0.31	0.81				
Er	1.72	0.03	0.06	0.00	0.58	16.62	0.29	-				
Tm	2.28	0.07	1.71	0.03	0.44	0.59	0.15	0.25				
Yb	2.43	0.20	0.96	0.08	0.41	1.04	0.12	0.70				

Analisando a Tabela 4 verifica-se que apenas os POMs de Gd (III) e Dy (III) apresentam valores de velocidade de relaxação paramagnética longitudinal e transversal apreciáveis, sendo de maior destaque os valores apresentados pelo POM de Gd (III). Os dados anteriores foram colocados sob a forma de gráfico de barras para melhor comparação. (Figura 13).

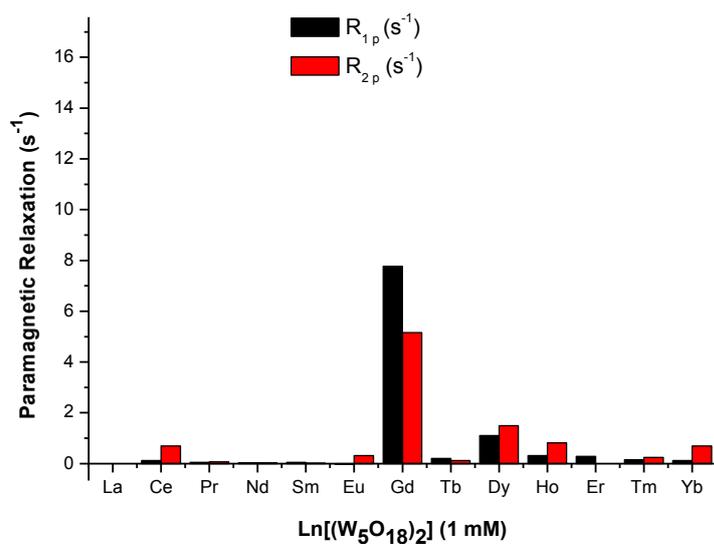


Fig. 13 – Gráfico das relaxividades longitudinal (r_1) e transversal (r_2) em função dos diferentes POMs contendo íões lantanídeo (III) para uma concentração de 1mM, a 500 MHz e 25°C.

Tal como no caso dos estudos a 20 MHz também no estudo a 500 MHz o POM contendo o íão Gd (III) foi sujeito a estudo de medição de velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (Figura 14) e transversal (Figura 15) em função da concentração deste em solução. Estes estudos foram levados cabo apenas a 25 °C.

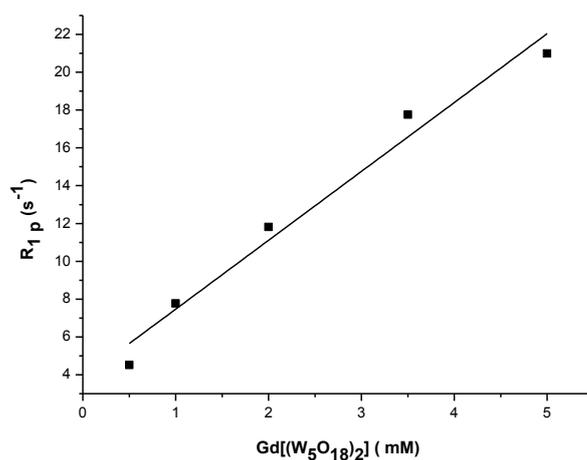


Fig. 14 - Gráfico da velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (R_{1p}) em função da concentração de POM com o íão lantanídeo Gd (III) a 500 MHz e 25 °C.

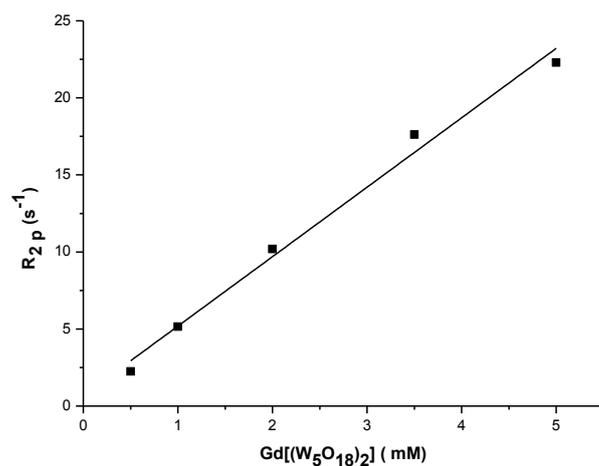


Fig. 15 - Gráfico da relaxação paramagnética transversal (R_{2p}) em função da concentração de POM com o ião lantanídeo Gd (III) a 500 MHz e 25 °C.

Verificou-se que a 500 MHz os valores de relaxividade obtidos para o POM contendo o ião lantanídeo Gd (III) foram de $r_1=3.643 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ($R^2= 0.9686$) e $r_2= 4.507 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ($R^2= 0.9862$). Estes valores mostram-se mais reduzidos comparativamente aos valores obtidos a 20 MHz. Este aspecto seria já esperado, pois pela teoria já desenvolvida, a campo alto (500 MHz) a relaxividade dos agentes de contraste tende a ser mais reduzida que a campos mais baixos, como por exemplo a 20 MHz. [2]

2. Estudos de nanopartículas revestidas de sílica e contendo POMs de lantanídeos (III)

Medições do Potencial Zeta(ζ) de nanopartículas contendo POMs de diferentes lantanídeos (III) :

A tabela seguinte (Tabela 5) mostra os resultados obtidos para as medições de potencial zeta de NPs contendo POMs de diferentes iões lantanídeos (III) e revestidas de sílica bem como os respectivos pH de cada tipo, pois o potencial zeta depende deste parâmetro.

Tabela 5– Medições de potencial zeta (ζ) para cada um dos tipos de NPs contendo POMs de diferentes iões lantanídeos (III) e revestidas de sílica bem como os respectivos pH de cada tipo.

NPs [LnW₁₀O₃₆@SiO₂]	pH	Potencial Zeta (mV)
La	6.7	-38.7
Ce	7.2	-27.0
Pr	6.8	-34.2
Nd	6.7	-32.5
Sm	7.0	-38.8
Eu	6.8	-18.1
Gd	6.7	-34.2
Tb	6.4	-29.6
Dy	6.8	-23.3
Ho	6.2	-36.5
Er	7.2	-40.0
Tm	7.3	-34.4
Yb	7.1	-36.3

É possível verificar que os valores de potencial zeta se apresentam semelhantes entre os diferentes grupos de nanopartículas, sugerindo que todos esses grupos de NPs apresentam as mesmas propriedades electrostáticas entre si. Este valor de potencial zeta negativo resulta do facto destas NPs se encontrarem revestidas de SiO₂ e portanto apresentarem grupos oxigénio carregados negativamente. Convém referir que este revestimento é utilizado na tentativa de evitar aglomeração destas NPs em solução, ao mesmo tempo que pode ser utilizado como ponto de partida para ligações de outros grupos funcionais com perspectivas de vectorização destas NPs.

Medições da Dispersão Dinâmica da Luz de nanopartículas revestidas com sílica contendo POMs de diferentes lantanídeos (III):

Nesta secção são apresentados os gráficos obtidos nas medições de dispersão dinâmica da luz para as nanopartículas revestidas de sílica e com POMs de diferentes lantanídeos (III) (Figuras 16 – 28).

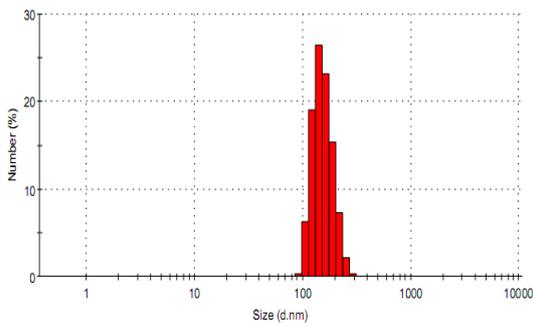


Fig. 16 - Gráfico de DLS de [LaW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

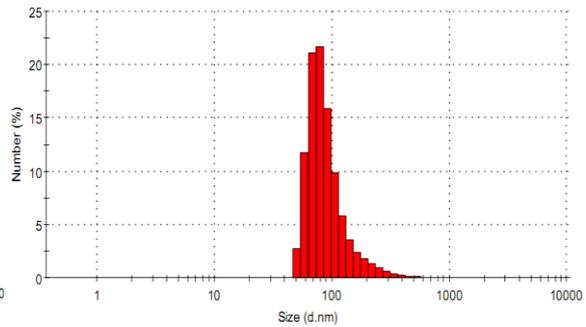


Fig. 17 - Gráfico de DLS de [CeW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

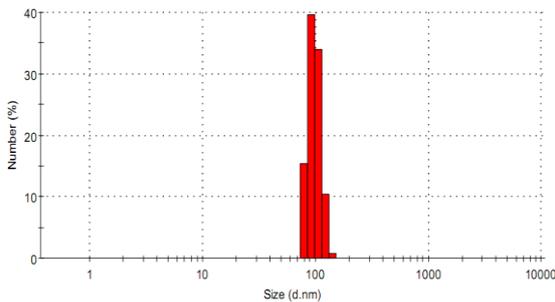


Fig. 18 - Gráfico de DLS de [PrW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

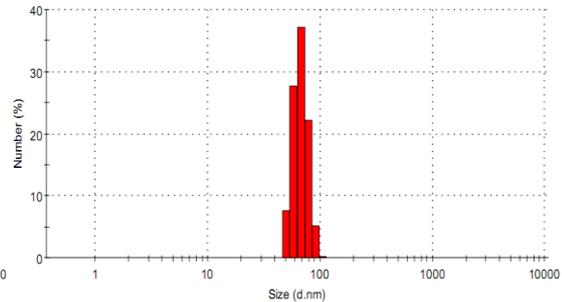


Fig. 19 - Gráfico de DLS de [NdW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

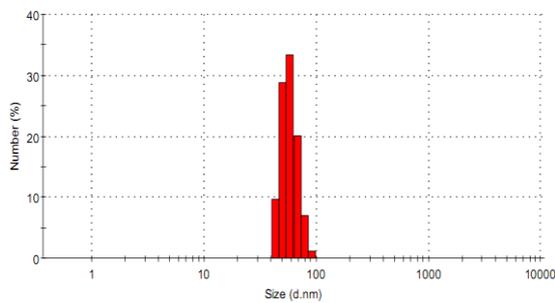


Fig. 20 - Gráfico de DLS de [SmW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

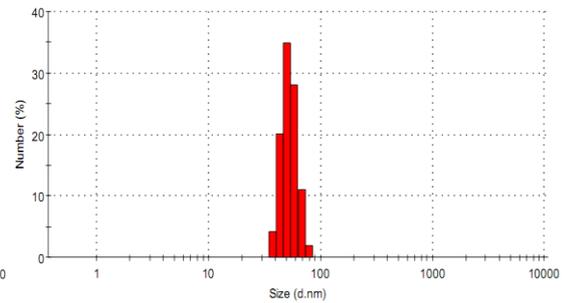


Fig. 21 - Gráfico de DLS de [EuW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

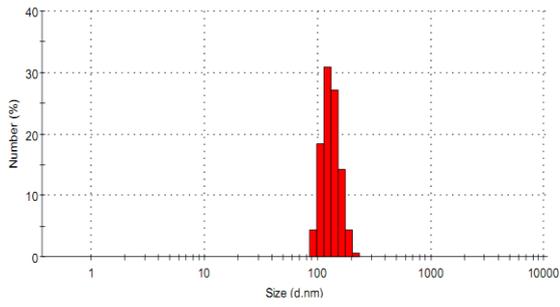


Fig. 22 - Gráfico de DLS de [GdW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

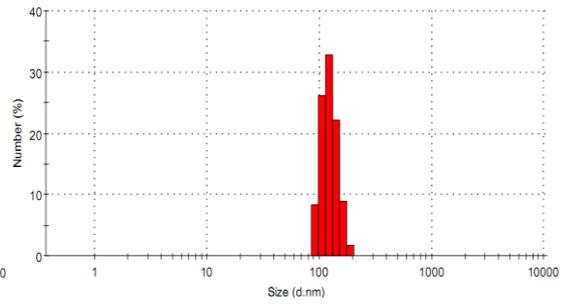


Fig. 23 - Gráfico de DLS de [TbW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

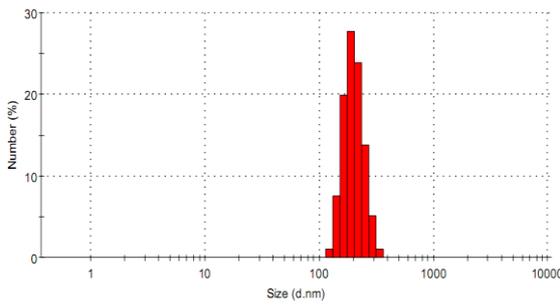


Fig. 24 - Gráfico de DLS de [DyW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

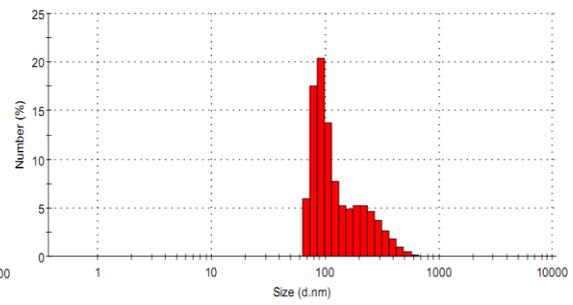


Fig. 25 - Gráfico de DLS de [HoW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

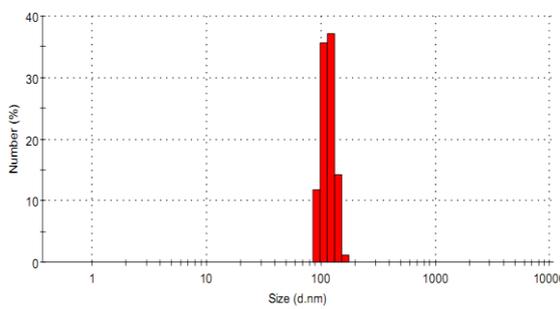


Fig. 26 - Gráfico de DLS de [ErW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

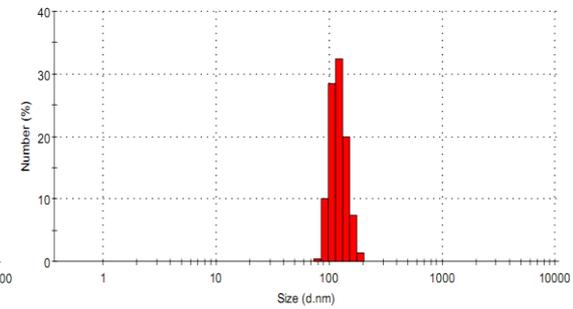


Fig. 27 - Gráfico de DLS de [TmW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

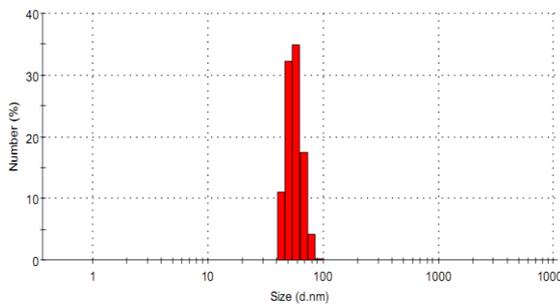


Fig. 28 - Gráfico de DLS de [YbW₁₀O₃₆]@SiO₂ .

É possível verificar que todos as nanopartículas com diferentes tipos de POMs de lantanídeos (III) apresentam distribuições de tamanhos estreitas na gama dos 100 nm, à exceção das NPs de Ho (III), podendo-se assumir que a sua síntese ocorreu de igual modo entre estes diferentes grupos.

Microscopia de Varrimento e de Transmissão Electrónica (SEM/TEM)

No que diz respeito à análise através de SEM/TEM apenas as NPs de SiO₂ foram sujeitas a esta análise pois apenas estas apresentam características susceptíveis de serem estudadas com mais rigor. Foram analisadas NPs de SiO₂ contendo Na₉[Eu(W₅O₁₈)₂] · 26 H₂O bem como NPs de SiO₂ sem conter o ião lantanídeo que foram utilizadas como referência.

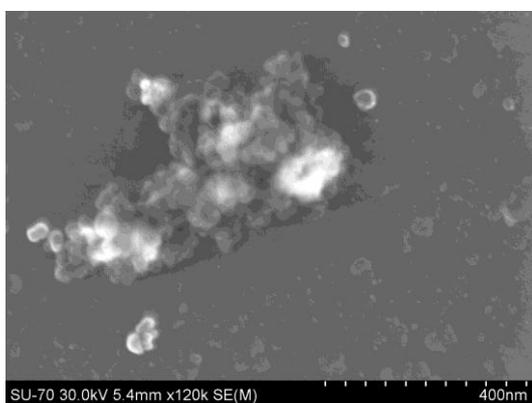


Fig. 29 - Imagem de SEM das NPs de SiO₂ contendo Na₉[Eu(W₅O₁₈)₂] · 26 H₂O

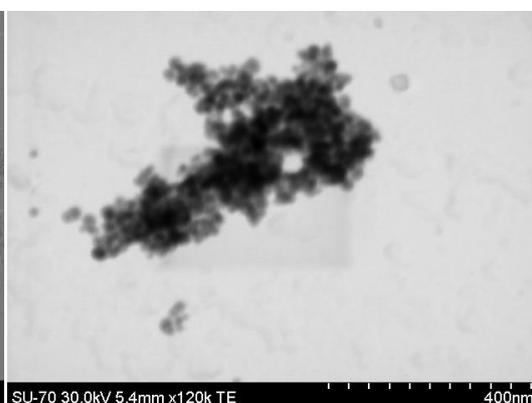


Fig. 30 - Imagem de TEM das NPs de SiO₂ contendo Na₉[Eu(W₅O₁₈)₂] · 26 H₂O.

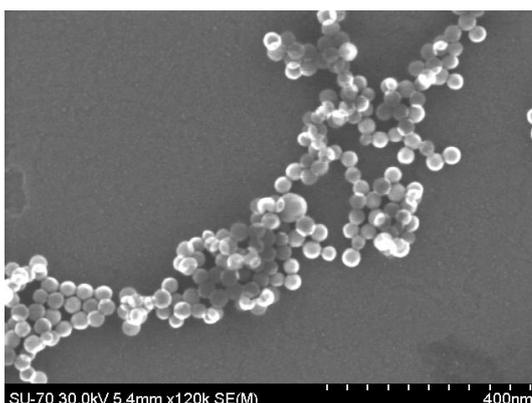


Fig. 31 - Imagem de SEM das NPs contendo apenas SiO₂.

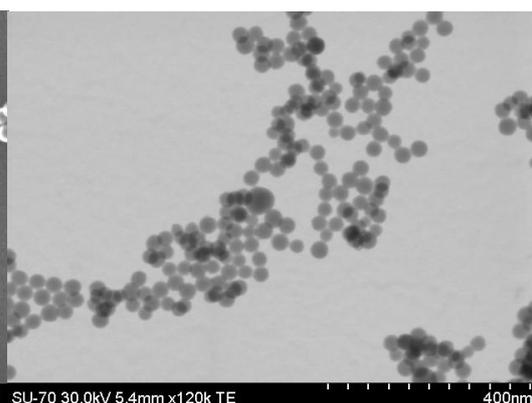


Fig. 32 - Imagem de TEM das NPs contendo apenas SiO₂.

Verifica-se uma grande agregação das NPs na primeira amostra ($\text{Na}_9[\text{Eu}(\text{W}_5\text{O}_{18})_2] \cdot 26 \text{H}_2\text{O}$) devido possivelmente à deficiente preparação das grelhas usadas no microscópio de transmissão electrónica. No caso das NPs sem a presença de ião lantanídeo no seu interior não se verifica muita agregação, encontrando-se estas bastante dispersas em solução, tal como desejado.

É possível através destes dados estimar um valor de tamanho para as NPs, que será o valor mais fidedigno no que respeita a este parâmetro.

Estudos de RMN ^{29}Si de nanopartículas revestidas com sílica contendo POM de Gadolínio (III):

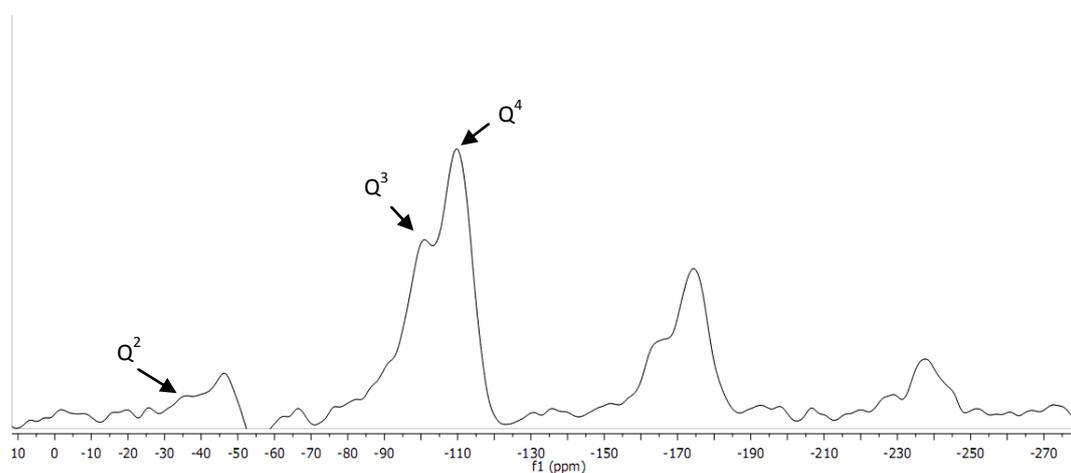


Fig.33 - Espectro de ^{29}Si RMN de nanopartículas revestidas com sílica e contendo o POM de gadolínio (III).

No espectro acima exposto é possível verificar que não existe um pico a uma frequência correspondente a -82.0 ppm (relativo ao precursor TEOS) e que portanto esta espécie não está presente em solução, tendo sido transformada nos seus respectivos derivados.

Podem também ser atribuídos os picos a -100 ppm e -110 ppm às espécies Q^3 e Q^4 do revestimento de sílica e derivadas do TEOS respectivamente. [52]

É possível também observar a cerca de -36 ppm o que parece ser um pico relativo a uma espécie Q^2 , relativa a átomos de Si em posição média na cadeia (O-Si(R_2)-O) em que o substituinte poderá ser um grupo Me/H.

Relaxometria (20 MHz) de nanopartículas revestidas com sílica contendo POMs de diferentes lantanídeos (III)

Os valores de velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (R_{1p}) e transversal (R_{2p}) obtidos para as soluções das diferentes NPs contendo POMs de Ln (III) a 20 MHz estão representados na Tabela 6 e na Figura 34.

Tabela 6 - Tabela ilustrativa dos valores de relaxação longitudinal e transversal obtidos para as NPs contendo POMs com diferentes iões lantanídeos (III) a 20 MHz e 25°C.

Medições a 25 °C Bruker minispec mq20 (20 MHz)

[Ln@SiO ₂] (1 mg/mL)	T ₁ (ms)	Erro	T ₁ (s)	R _{1,obs} (s ⁻¹)	R _{1,p} (s ⁻¹)	T ₂ (ms)	Erro	T ₂ (s)	R _{2,obs} (s ⁻¹)	R _{2,p} (s ⁻¹)																																																																																																																																																														
La	2680	4	2.68	0.37	0.00	1800	2	1.79	0.56	0.00																																																																																																																																																														
	2678	4				1777	2				Ce	2721	4	2.72	0.37	-0.01	1894	3	1.90	0.53	-0.03	2717	4	1908	3	Pr	2709	4	2.72	0.37	-0.01	1931	3	1.94	0.51	-0.04	2726	4	1953	3	Nd	2657	5	2.66	0.38	0.00	1848	4	1.87	0.54	-0.02	2660	5	1883	4	Sm	2701	4	2.70	0.37	0.00	1826	3	1.84	0.54	-0.02	2695	4	1855	3	Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07	2325	6	1592	3	Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3
Ce	2721	4	2.72	0.37	-0.01	1894	3	1.90	0.53	-0.03																																																																																																																																																														
	2717	4				1908	3				Pr	2709	4	2.72	0.37	-0.01	1931	3	1.94	0.51	-0.04	2726	4	1953	3	Nd	2657	5	2.66	0.38	0.00	1848	4	1.87	0.54	-0.02	2660	5	1883	4	Sm	2701	4	2.70	0.37	0.00	1826	3	1.84	0.54	-0.02	2695	4	1855	3	Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07	2325	6	1592	3	Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3								
Pr	2709	4	2.72	0.37	-0.01	1931	3	1.94	0.51	-0.04																																																																																																																																																														
	2726	4				1953	3				Nd	2657	5	2.66	0.38	0.00	1848	4	1.87	0.54	-0.02	2660	5	1883	4	Sm	2701	4	2.70	0.37	0.00	1826	3	1.84	0.54	-0.02	2695	4	1855	3	Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07	2325	6	1592	3	Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																							
Nd	2657	5	2.66	0.38	0.00	1848	4	1.87	0.54	-0.02																																																																																																																																																														
	2660	5				1883	4				Sm	2701	4	2.70	0.37	0.00	1826	3	1.84	0.54	-0.02	2695	4	1855	3	Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07	2325	6	1592	3	Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																						
Sm	2701	4	2.70	0.37	0.00	1826	3	1.84	0.54	-0.02																																																																																																																																																														
	2695	4				1855	3				Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07	2325	6	1592	3	Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																					
Eu	2326	6	2.33	0.43	0.06	1606	3	1.60	0.63	0.07																																																																																																																																																														
	2325	6				1592	3				Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35	385.00	1	344.4	0.2	Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																				
Gd	387.00	1	0.39	2.59	2.22	343.7	0.2	0.34	2.91	2.35																																																																																																																																																														
	385.00	1				344.4	0.2				Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10	2604	8	1522	2	Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																																			
Dy	2596	8	2.60	0.38	0.01	1514	2	1.52	0.66	0.10																																																																																																																																																														
	2604	8				1522	2				Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39	2568	7	1067	3	Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																																																		
Ho	2541	8	2.55	0.39	0.02	1033	3	1.05	0.95	0.39																																																																																																																																																														
	2568	7				1067	3				Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00	2541	4	1786	2	Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																																																																	
Er	2525	4	2.53	0.39	0.02	1767	2	1.78	0.56	0.00																																																																																																																																																														
	2541	4				1786	2				Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00	2690	4	1781	2	Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																																																																																
Tm	2687	4	2.69	0.37	0.00	1780	2	1.78	0.56	0.00																																																																																																																																																														
	2690	4				1781	2				Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06	2664	5	2016	3																																																																																																																																															
Yb	2658	5	2.66	0.38	0.00	2012	3	2.01	0.50	-0.06																																																																																																																																																														
	2664	5				2016	3																																																																																																																																																																	

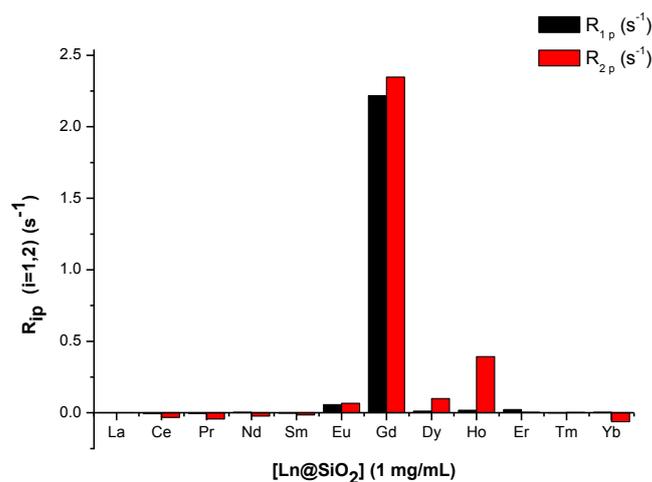


Fig. 34 - Gráfico da velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (R_{1p}) e transversal (R_{2p}) das diferentes NPs contendo POMs de íons lantanídeos (III) para uma concentração de 1mg/mL a 20 MHz e 25°C

Podemos verificar que as NPs contendo POMs de Ln (III) no geral apresentam valores de R_{1p} e R_{2p} bastante reduzidos, à exceção das NPs contendo o POM de Gd (III) e de Ho (III) (embora só para o caso do R_{2p}).

No gráficos que se seguem são apresentados os valores de velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (R_{1p}) e transversal (R_{2p}) para as NPs revestidas de sílica e contendo o POM de gadolínio (III) a duas temperaturas distintas, 25 e 37 °C (Figuras 35 e 36).

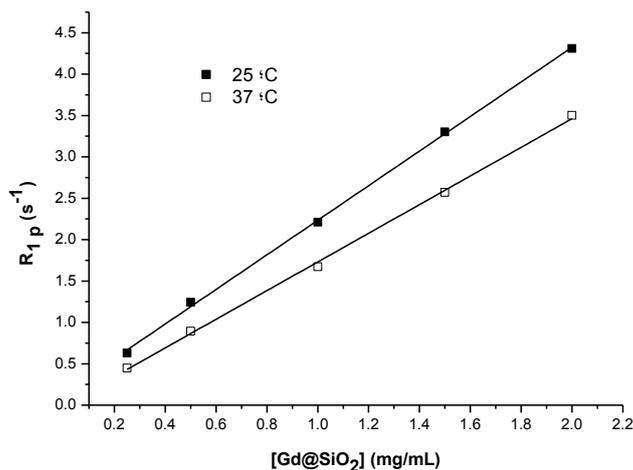


Fig.35 - Valores da velocidade de relaxação paramagnética longitudinal obtidos para concentrações crescentes de NPs contendo gadolínio, realizadas a T= 25 °C (quadrados a cheio) e T=37 °C (quadrados abertos), para um pH= 7.

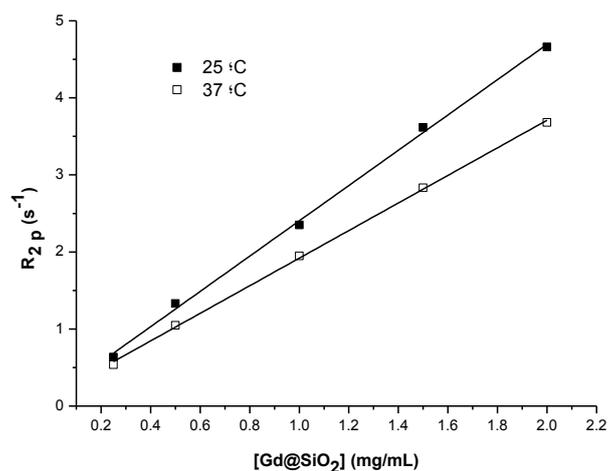


Fig. 36 - Valores da relaxação paramagnética transversal obtidos para concentrações crescentes de NPs contendo Gadolínio, realizadas a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, para um $\text{pH} = 7$

Para as NPs contendo POM o íon Gd (III) obtiveram-se valores de $R_1 = 2.09\text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2=0.9992$), a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $R_1 = 1.73\text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2= 0.9986$) a 37°C . É importante salientar que este valor obtido não diz respeito à relaxividade pois para que esta seja calculada é obrigatório que se saiba o valor da concentração molar do agente paramagnético em questão, o que não foi possível confirmar embora estudos através do método de susceptibilidade magnética tenham sido tentados mas sem êxito (dados não apresentados).

Estudos de medição dos tempos de relaxação paramagnética longitudinal e transversal das mesmas amostras com períodos de espera sucessivamente maiores sugerem que estas nanopartículas sofrem deposição ao longo do tempo, não contribuindo da melhor maneira para a relaxação dos prótons da água e por conseguinte apresentando valores de relaxividade r_1 e r_2 não satisfatórios.

Quanto aos valores das velocidades de relaxação paramagnética transversal (R_{2p}) estes foram de $R_2 = 2.29\text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$, ($R^2=0.9980$), a 25°C e $R_2 = 1.790\text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2=0.9991$) a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Capítulo IV - Conclusões

Estrutura dos POMs e das nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs com iões lantanídeos (III):

Os estudos de Termogravimetria (Tabela 2) permitiram obter o número de moléculas de água de hidratação para cada um dos POMs estudado e permitiu concluir que a distribuição destas apresenta uma grande diversidade para cada POM com diferentes iões lantanídeos(III).

A análise por espectroscopia de IV (Fig. 10) permitiu verificar que os todos os POMs sintetizados se apresentavam sob a forma $[\text{Ln}(\text{W}_5\text{O}_{18})_2]^{9-}$, tal como pretendido. Estudos por microscopia de transmissão electrónica (Fig. 29 a 32) permitiram concluir que no caso das nanopartículas revestidas com sílica e contendo o POM de gadolínio (III) estas se apresentavam sob a forma “core-shell”, como pretendido, embora existisse uma forte aglomeração destas.

A análise através de ^{29}Si RMN possibilitou a confirmação da existência de espécies terciárias e quaternárias (Q^3 e Q^4) provenientes da anterior síntese destas nanopartículas através de microemulsão reversa, como já referido , permitindo concluir que a síntese ocorreu favoravelmente.

As medições de potencial zeta (Tabela 5) mostraram que todas as nanopartículas de diferentes POMs de lantanídeos (III) apresentavam um potencial zeta negativo, indicativo de átomos carregados negativamente na sua superfície (átomos de oxigénio de SiO_2) , e sem grandes variações de potencial entre os vários tipos de nanopartículas. Nas medições de dispersão dinâmica da luz (Figs. 16-28) pode-se observar uma gama de dimensões das nanopartículas relativamente estreita mas no geral e comparando todos os grupos, as diferentes nanopartículas apresentam valores de tamanho homogéneos entre si.

É necessário lembrar que os valores de tamanho calculados por esta técnica englobam o raio hidrodinâmico da nanopartícula, isto é, resultam do facto de ter em conta as moléculas de água de hidratação que rodeiam a nanopartícula na sua camada mais externa e portanto é de esperar que seja um pouco superior ao valor real do seu raio.

Relaxividade dos POMs e das nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs com íons lantanídeos (III):

Relaxividade dos POMs de diferentes lantanídeos (III):

Os POMs de diferentes lantanídeos (III) estudados a 20 MHz (Tabela 3 e Fig. 11) apresentaram valores de r_{1p} e r_{2p} na generalidade do casos baixa, à excepção, como já esperado, do POM contendo o íão Gd (III) (Fig. 12), tendo este apresentado valores de relaxividade r_1 e r_2 semelhantes aos apresentados na literatura [46], sugerindo uma eficácia semelhante aos apresentados nesta referência.

Quando sujeitos a campo alto (500 MHz) estes POMs apresentaram valores na generalidade mais baixos (Tabela 4 e Fig. 13) que os obtidos a campo baixo (20 MHz), mas mantendo o mesmo padrão de valores de relaxividade entre os diferentes POMs. Da mesma forma o POM contendo o íão gadolínio (III) apresentou os melhores valores de relaxividade r_1 e r_2 , (Figs. 14 e 15) no entanto mais reduzidos que no caso anterior, sugerindo a menor eficácia a campos magnéticos mais elevados, tal como esperado pela teoria SBM [7-9].

Relaxividade das nanopartículas revestidas com sílica e contendo POMs de diferentes íons lantanídeos (III):

As nanopartículas revestidas de sílica e contendo POMs de diferentes íons lantanídeos (III) quando sujeitas a medições de relaxividade a 20 MHz (Tabela 6 e Fig. 34) apresentaram valores mais reduzidos de relaxividade r_1 e r_2 comparativamente aos POMs apenas, concluindo-se que, nestas condições específicas, não serão tão eficazes como os POMs a relaxar os prótons da água.

Mais uma vez as nanopartículas revestidas de sílica e contendo o POM com o íão gadolínio (III) mostraram ser as que apresentavam maiores valores de relaxividade r_1 e r_2 (Figs. 35 e 36), no entanto muito reduzidos e com pouca eficácia como agente de contraste. Pode-se concluir que a temperaturas mais elevadas as nanopartículas revestidas de sílica e contendo o POM com o íão gadolínio (III) mostram uma redução das relaxividades r_1 e r_2 comparativamente às mesmas nanopartículas a uma temperatura mais reduzida.

É de esperar que a relaxividade das NPs revestidas de sílica aumente substancialmente para valores elevados de campo (500 MHz), em particular para os Ln (III) = Gd, Tb e Dy, pois permite magnetizações mais elevadas [15]. Estas são experiências a realizar no futuro. Embora o revestimento de sílica das NPs reduza substancialmente a sua relaxividade, este poderá ser útil em estudos de imagem molecular por IRM, pois permite ser derivatizado virtualmente para qualquer alvo e possibilitar atingir qualquer tecido.

Bibliografia

- [1]. Victor M.S. Gil e Carlos F.G.C. Geraldés - *Ressonância Magnética Nuclear - Fundamentos, Métodos e Aplicações* - Fundação Calouste Gulbenkian - Coimbra - Portugal - 1987
- [2]. Neil E. Jacobsen – *NMR Spectroscopy Explained - Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Structural Biology* – 1st Edition – 2007
- [3]. James Keeler - *Understanding NMR Spectroscopy* - Department of Chemistry, University of Cambridge, UK – 2006
- [4]. Damadian, R. *Science*, (1971), 171
- [5]. Lauterbur, P. C. *Nature* (1973), 242
- [6]. Bloch, F.; Hansen, W. W.; Packard, M. *Phys. Rev.* 1948, 70, 474
- [7]. I. Solomon, *Physical. Reviews*, 99 (1955) 555
- [8]. N. Bloembergen, *J. Chem. Phys.* 34 (1957) 842.
- [9]. N. Bloembergen, L.O. Morgan, *J. Chem. Phys.* 34 (1961) 842
- [10]. A.Gass, M.Oster, S.Cohen, M.Daffertshofer, A.Schwartz, M.G.Henneric, *Neuroradiology* (1998) 40: 503±506
- [11]. Randall B. Lauffer, *Chemical Reviews*, (1987), Vol. 87, No. 5.
- [12]. P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, and R. B. Lauffer *Chem. Rev.* (1999), 99, 2293–2352, ,
- [13]. V. Jacques · J.F. Desreux, *Topics in Current Chemistry*,(2002). Vol. 221
- [14]. C. F. G. C. Geraldés and S. Laurent. *Contrast Media Mol. Imaging* (2009), 4 1–23
- [15]. M. Norek, Joop A. Peters, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 59 (2011) 64–82.
- [16]. Sergey P. Gubin – *Magnetic Nanoparticles* - 2009 - Wiley
- [17]. McBain, S. C.; Yiu, H. HP.; Dobson, J.; *International Journal of Nanomedicine* (2008) 3(2) 169-18
- [18]. Turner, J. L. Pan, D. Plummer, R.; Chen, Z. Whittaker, A. K. Wooley, K. L. *Adv.Funct.Materials* 2005, 15, 1248 -1254
- [19]. Aime, S.; Frullano, L.; Crich, S. G. *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* 2002, 41, 1017 - 1019
- [20]. Kobayashi, H.; Brechbiel, M. W. *Adv Drug.Deliv.Rev.* 2005, 57, 2271 – 2286

- [21]. Swanson, S. D. ; Kukowska-Latallo, J. F.; Patri, A. K.; Chen, C.; Ge, S.; Cao, Z.; Kotlyar, A.; East, A. T. ; Baker, J. R. ; *International Journal of Nanomedicine* 2008;3(2) 201–210
- [22]. Torchilin, V. P. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2002, 54, 235 – 252
- [23]. Strijkers, G. J.; Mulder, W. J.; van Heeswijk, R. B.; Frederik, P. M.; Bomans, P.; Magusin, P. C.; Nicolay, K. *MAGMA* 2005, 18, 186 - 192.
- [24]. Mulder W. J. M.; Strijkers, G. J.; Tilborg, G. A. F. van; Griffioen, A. W.; Nicolay, K.; *NMR Biomed.* 2006;19:142–164
- [25]. Sitharaman, B.; Kissell, K. R.; Hartman, K. B.; Tran, L. A.; Baikalov, A.; Rusakova, I.; Sun, Y.; Khant, H. A.; Ludtke, S. J.; Chiu, W.; Laus, S.; Toth, E.; Helm, L.; Merbach, A. E.; Wilson, L. J. *Chem. Commun.(Camb)* 2005, 3915 – 3917
- [26]. Faraj, A. Al; Cieslar, K.; Lacroix, G.; Gaillard, S.; Canet-Soulas, E.; Crémillieux, Y. ; *Nano Lett.*, 2009, Vol. 9, No. 3
- [27]. Lin, Y. S.; Hung, Y.; Su, J. K.; Lee, R.; Chang, C.; Lin, M. L.; Mou, C. Y. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 15608 – 15611
- [28]. Gerion, D.; Herberg, J.; Bok, R.; Gjersing, E.; Ramon, E.; Maxwell, R.; Kurhanewicz, J.; Budinger, T. F.; Gray, J. W.; Shuman, M. A.; Chen, F. F.; *J. Phys. Chem. C* , 2007, 111, 12542-12551
- [29]. McDonald, M. A.; Watkin, K. L. *Acad. Radiol.* 2006, 13, 421 - 427.
- [30]. Mulder, W. J. M.; Koole, R.; Brandwijk, R. J.; Storm, G.; Chin, P. T. K.; Strijkers, G.J.; Donega, C. de M.; Nicolay, K.; Griffioen, A.W.; *Nano Lett.*, 2006, Vol. 6, No. 1
- [31]. Muller R.N.; Roch A.; Colet J.4M.; Ouakssim A.; Gillis P. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 2001; p 417
- [32]. Na, H. B.; Song, I. C.; Hyeon, T.; *Adv. Mater.* 2009, 21, 2133–2148
- [33]. Pierre-Jean Debouttière, Stéphane Roux, Francis Vocanson, Claire Billotey, Olivier Beuf, Alain Favre-Réguillon, Yi Lin, Stéphane Pellet-Rostaing, Roger Lamartine, Pascal Perriat, and Olivier Tillement, *Adv. Funct. Mater.* 2006, 16, 2330–2339
- [34]. Moriggi, L.; Cannizzo, C.; Dumas, E.; Mayer, C. R.; Ulianov, A.; Helm, L.; *J. AM. CHEM. SOC.* 2009, 131, 10828–10829
- [35]. Marco Marradi, David Alcántara, Jesús Martínez de la Fuente, María, Luisa García-Martín, Sebastián Cerdán and Soledad Penadés, *Chem. Commun.*, 2009, 3922–3924
- [36]. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch A.; Robic, C.; Elst, L. V.; Muller, R. N.; *Chem. Rev.* 2008, 108, 2064–2110
- [37]. Hill, Craig. *Chem. Rev.* (1998), 98, 1

- [38]. Gouzerh, Pierre and Proust, Anna. *Chem. Rev.* (1998), 98, 77–111
- [39]. Hasenknopf, Bernold. *Frontiers in Bioscience* (2005), 10, 275 -287
- [40]. Katsoulis. Dimitris E., *Chem. Rev.* (1998), 98, 359–387
- [41]. Kozhevnikov, Ivan V. *Chem. Rev.* (1998), 98, 171–198
- [42]. Rhule, Jeffrey T. Hill, Craig L. and Judd, Deborah A. *Chem. Rev.* (1998), 98, 327–357
- [43]. Muller, Achim and Peters, Frank. *Chem. Rev.* (1998), 98, 239–271
- [44]. Pope, M. T.; Muller, A.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30 (1991) 34-48
- [45]. Jianghua Feng, Guoying Sun, Fengkui Pei , Maili Liu, *Journal of Inorganic Biochemistry.* 92 (2002) 193–199
- [46]. Jianghua Feng, Xiaojing Li, Fengkui Pei, Guoying Sun, Xu Zhang, Maili Liu, *Magnetic Resonance Imaging* 20 (2002) 407–412
- [47]. Zhongfeng Li, Weisheng Li, Xiaojing Li, Fengkui Pei, Yingxia Li, Hao Lei. *Magnetic Resonance Imaging* 25 (2007) 412–417
- [48]. F. A. Almeida Paz et al, *Acta Cryst.* (2005). E61, i28–i31
- [49]. Peacock, R. D.; Weakley, T. J. R.; *J. Chem. Soc. A* 1971, (11), 1836.
- [50]. Z. Q. Ye, M. Q. Tan, G. L. Wang, J. L. Yuan; *J. Mater. Chem.* 2004, 14, (5), 851-856
- [51]. Granadeiro, C.M.; Ferreira, R. A. S.; Soares-Santos, P. C. R.; Carlos, L. D.; Trindade, Tito; Nogueira, H. I. S.; *J. Mater. Chem.*, 20, (2010), 3313-3318
- [52]. Devreux, F.; Boilot, J. P.; Chaput, F. ; *PHYSICAL REVIEW A* 1990, 41, (12)