

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE MAGNETITA REVESTIDAS POR GLUTAMINA / PEG PARA APLICAÇÃO EM ÁREAS MÉDICAS*

Fernanda Aparecida Sampaio da Silva¹

Vanessa Gomes Pereira²

Marcos Flávio de Campos³

Resumo

As nanopartículas magnéticas são um material promissor para o avanço dos tratamentos contra o câncer. Técnicas convencionais têm limitações importantes porque expõem todo o organismo a condições agressivas. A técnica de hipertermia magnética é uma alternativa aos tratamentos oncológicos convencionais e consiste na aplicação de partículas magnéticas em tecidos tumorais sob a aplicação de um campo magnético externo, a fim de causar a morte precoce das células cancerígenas, preservando as células saudáveis. Compósitos magnéticos são projetados para reduzir os efeitos colaterais, pois fornecem aplicação pontual e, portanto, limitam a área de aplicação apenas ao tecido disfuncional. Neste trabalho foram sintetizadas nanopartículas de Fe_3O_4 revestidas com uma mistura polimérica de composição variável de glutamina e polietilenoglicol, visando aplicação em hipertermia magnética. As amostras foram submetidas a análises de TGA, histerimetria e nanosight. Os resultados indicam que o nanocompósito é adequadamente revestido, além de saturação magnética satisfatória e tamanho de partícula compatível com a técnica de hipertermia magnética.

Palavras-chave: Nanopartículas; Magnetita; Glutamina; Polietilenoglicol.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF GLUTAMINE / PEG-COATED MAGNETITE PARTICLES FOR APPLICATION IN THE MEDICAL AREAS

Abstract

Magnetic nanoparticles are a promising material for advancing cancer treatments. Conventional techniques have important limitations because it exposes the whole organism to aggressive conditions. The magnetic hyperthermia technique is an alternative to conventional oncology treatments and consists of the application of magnetic particles in tumor tissues under the application of an external magnetic field, in order to cause the early death of cancer cells, preserving the healthy cells. Magnetic composites are designed to reduce side effects, as they provide punctual application and therefore limit the area of application to dysfunctional tissue only. In this work were synthesized Fe_3O_4 nanoparticles coated with a polymer blend of variable composition of glutamine and polyethylene glycol, aiming application in magnetic hyperthermia. Samples were submitted to TGA, hysteresimeter and nanosight analyzes. The results indicate that the nanocomposite is adequately coated, in addition to satisfactory magnetic saturation and particle size compatible with the magnetic hyperthermia technique.

Keywords: Nanoparticles; Magnetite; Glutamine; Polyethylene glycol.

¹ Engenheira Química, DSc, Pós-doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, RJ, Brasil.

² Engenheira Química, Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, RJ, Brasil.

³ Engenheiro Metalúrgico, DSc, Professor Adjunto, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, RJ, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

A aplicação da nanotecnologia à medicina promove uma oportunidade de estudar sistemas biológicos em níveis mais sutis, proporcionando uma maior compreensão do mecanismo de várias doenças. Além disso, os nanomateriais permitem um diagnóstico mais preciso e uma liberação pontual de drogas estratégicas, bem como novas possibilidades de reparo tecidual [1]. A nanotecnologia revolucionou muitas áreas da ciência.

Nanopartículas magnéticas, em particular, apresentam potencial promissor para aplicação em técnicas de tratamento de câncer. No entanto, a biocompatibilidade e estabilidade coloidal das nanopartículas em soluções fisiológicas são imperativas para o seu desenvolvimento em aplicações clínicas [1]. Portanto, as partículas precisam ser revestidas antes de seu uso *in vivo*. A modificação da superfície das partículas com surfactantes ou polímeros protege-os da agregação e aglomeração, prolonga o tempo de circulação na corrente sanguínea e facilita ainda mais sua posterior funcionalização [1] com agentes anti-inflamatórios, agentes antineoplásicos, antígenos, etc.

Vários métodos e numerosos tipos de revestimentos foram desenvolvidos e empregados no processo de modificação de superfície das nanopartículas. Um dos compostos mais adequados para melhorar a estabilidade coloidal do sistema é o polietilenoglicol (PEG). O PEG apresenta solubilidade em água, baixa toxicidade e bioinância. Este material é um dos mais utilizados no revestimento de biomateriais [1]. A alta capacidade de hidratação das cadeias de PEG proporciona repulsão estéreo com base em um mecanismo osmótico ou entrópico. Portanto, além de proteger as nanopartículas dos processos de oxidação, o PEG também contribui para a síntese de pequenas partículas [2].

A glutamina é um aminoácido derivado do ácido glutâmico e um abundante constituinte de proteínas. É importante para o metabolismo celular dos animais, além disso, a glutamina é o único aminoácido capaz de atravessar rapidamente a barreira hematoencefálica com o ácido glutâmico e é responsável por cerca de 80% do nitrogênio amino no tecido cerebral [3]. Esta é uma grande vantagem na escolha da glutamina como revestimento das nanopartículas.

A Figura 1 ilustra as moléculas de revestimento usadas neste trabalho.

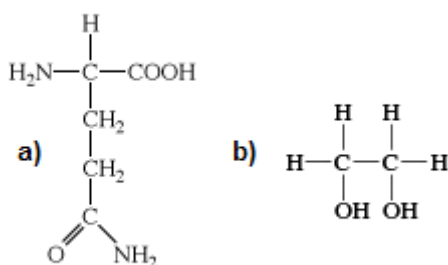


Figura 1. a) molécula de glutamina; b) molécula do polietilenoglicol

O uso de nanopartículas revestidas em técnicas de tratamento de câncer tem um motivo específico: nanopartículas magnéticas oferecem interessantes propriedades físico-químicas [2], como superparamagnetismo [4], grande área superficial, alta relação área / volume superficial e baixa toxicidade [4] com base no seu tamanho e forma.

As propriedades especiais das nanopartículas magnéticas favorecem sua aplicação na técnica da hipertermia magnética. Esta técnica tem uma abordagem terapêutica que utiliza nanopartículas magnéticas para aquecer os tecidos cancerígenos acima de suas condições fisiológicas normais, convertendo a energia de um campo magnético externo em energia térmica [5]. Esse aquecimento provoca a lise celular e, conseqüentemente, a apoptose precoce das células tumorais. No entanto, as células saudáveis são preservadas na temperatura de aplicação da técnica. O que torna este método interessante é o comportamento superparamagnético das partículas, a biocompatibilidade, a possibilidade de transportar fármacos específicos, além da aplicação da técnica no tempo [4]. A eficiência das nanopartículas está relacionada às características externas (frequência e amplitude do campo magnético externo), bem como aos aspectos intrínsecos (tamanho do núcleo magnético, química de superfície, cristalinidade, etc.) [4].

No entanto, como conseqüência da alta concentração de partículas, é possível citar a menor distância interpartículas, que resulta no aumento das interações magnéticas dipolo-dipolo e, conseqüentemente, promove a formação de aglomerados / agregados. Ambos os fenômenos reduzem a eficiência de aquecimento das partículas devido à impedância dos processos de relaxamento magnético [4]. Portanto, a presença de revestimento é crucial.

As partículas revestidas também podem estar na forma de ferrofluido. O ferrofluido é uma mistura coloidal de partículas magnéticas em um líquido transportador, tipicamente água, que se torna fortemente magnetizada na presença de um campo magnético externo [6]. Esta é a forma de apresentação nas aplicações da hipertermia magnética.

O desenvolvimento e avaliação de novos materiais para aplicações controladas tem um impacto marcado no tratamento de várias condições médicas [7]. Portanto, a presente pesquisa apresenta importância relevante.

Neste trabalho, nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 revestidas com PEG, glutamina ou uma mistura de ambas foram desenvolvidas. O objetivo da pesquisa é avaliar a funcionalidade do revestimento e determinar se o tamanho da partícula sintetizada é compatível com as dimensões da nanotecnologia.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Materiais e Métodos

Para realizar a síntese, 6,9 g de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 16,92 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ são dissolvidos em 500 ml de água destilada, sob agitação, durante 5 minutos, a baixa velocidade. Após este período, adiciona-se NaOH até a solução ficar escura. O sistema é agitado por 30 minutos. O revestimento é então adicionado ao meio reacional e a agitação é continuada durante 15 minutos.

As partículas de magnetita são recuperadas por decantação magnética, lavadas com água destilada e álcool etílico e, posteriormente, secas em estufa a 40°C por 48 horas. Após as etapas descritas, o sólido é referido à caracterização.

A Tabela 1 mostra as condições de síntese da amostra:

Tabela 1. Condições de síntese

Amostra	Concentração de NaOH [mol.l ⁻¹]	Revestimento
1	0,5	Composição 1
2	0,5	Composição 2
3	0,5	Composição 3
4	1,0	Composição 1
5	1,0	Composição 2
6	1,0	Composição 3

A Tabela 2 mostra a variação da composição do revestimento:

Tabela 2. Composição do revestimento

Composição	PEG [g]	Glutamina [g]
1	8	0
2	0	8
3	4	4

Após a secagem, as partículas foram caracterizadas quanto ao seu tamanho em equipamento de nanosight (fator de diluição: 4 g de amostra / litro de água destilada). A presença de revestimento foi verificada na análise termogravimétrica, com variação de temperatura de 25°C a 600°C, a uma taxa de aquecimento de 10°C / min. As curvas de histerese foram obtidas em um histerímetro, a partir de 2,8 g de amostra (densidade 1,35 g.cm⁻³).

2.2 Resultados

2.2.1 Tamanho de Partícula

A Tabela 3 mostra os resultados de diâmetro médio obtidos para cada amostra.

Tabela 3. Diâmetro médio

Amostra	Diâmetro médio [nm]
1	98
2	110
3	81
4	50
5	46
6	43

2.2.2 Análise Termogravimétrica

Para avaliar as condições de adsorção do revestimento ao núcleo foram utilizadas as curvas de variação de massa, conforme apresentado na Figura 2:

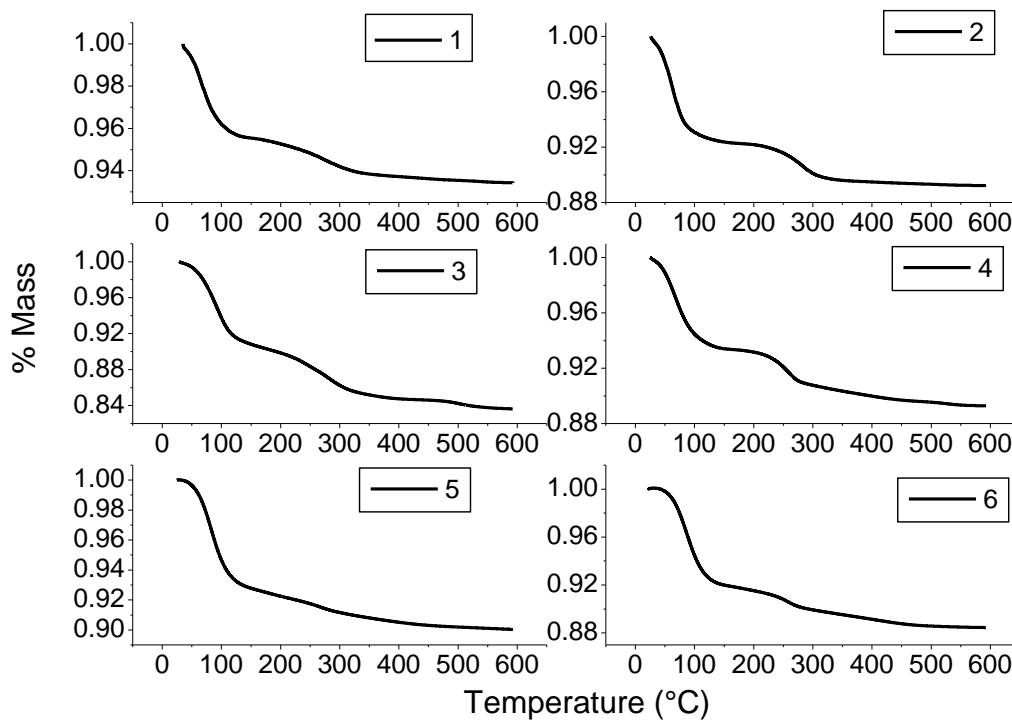


Figura 2. Análise termogravimétrica (TGA)

A Tabela 4 mostra a porcentagem de variação de massa para cada amostra.

Tabela 4. % Variação de massa

Amostra	% Variação de massa
1	6,6
2	10,8
3	16,4
4	10,7
5	9,9
6	11,6

2.2.3 Curvas de Histerese

As curvas de histerese são mostradas na Figura 3:

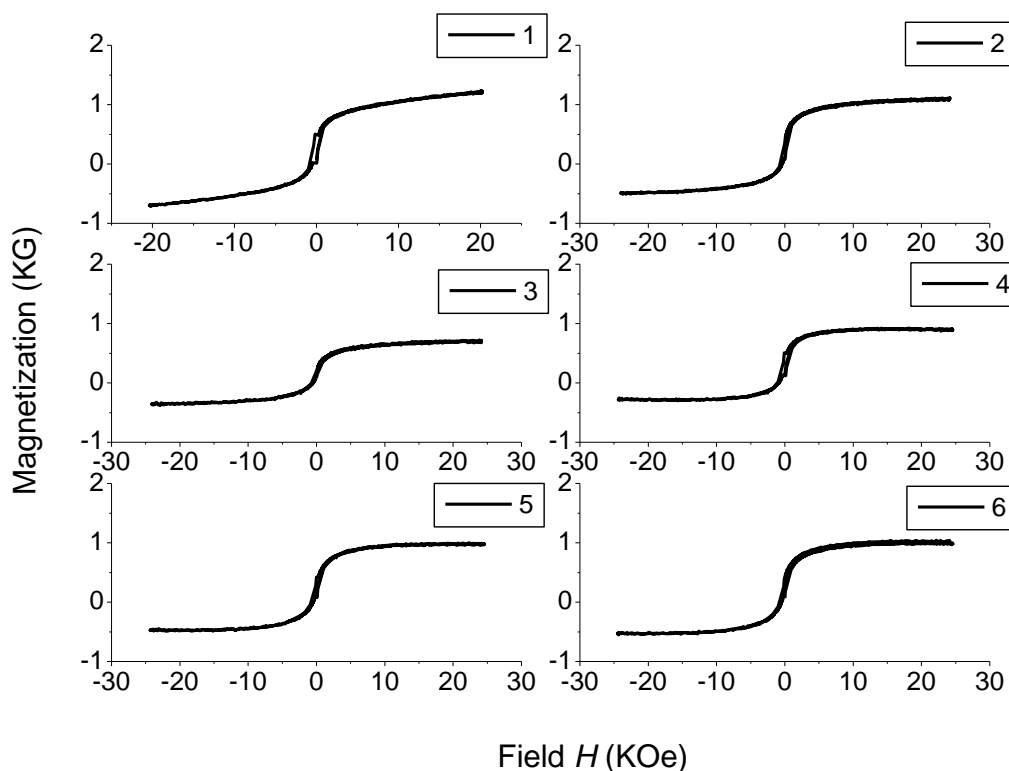


Figura 3. Curvas de histerese

2.3 Discussão

2.3.1 Tamanho de Partícula

O diâmetro das nanopartículas é controlado por alterações nos parâmetros de síntese, tais como concentração de NaOH e pH. Todas as amostras, exceto a amostra 2, podem ser consideradas nanopartículas (tamanho entre 10-100 nm). As amostras 4, 5 e 6 apresentaram os menores valores de diâmetro. A partir deste resultado, ficou claro que a concentração de NaOH influencia o tamanho das partículas. Uma maior concentração de base favoreceu a redução de nanopartículas. O tipo de revestimento utilizado não apresentou influência significativa no tamanho dos cristais de magnetita.

2.3.2 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi realizada para verificar como a camada de revestimento é adsorvida na superfície das nanopartículas. Os termogramas foram obtidos para observar a perda de massa ao longo da variação de temperatura.

O revestimento desempenha papéis importantes na preparação de nanopartículas magnéticas. A camada de revestimento promove a passivação superficial e melhora a estabilidade coloidal por repulsão estéril. Portanto, o revestimento é responsável por evitar a oxidação e diminuir o estado de agregação de nanopartículas magnéticas, bem como permitir e / ou facilitar a dispersão no líquido carreador.

Para que a estabilização das nanopartículas ocorra efetivamente, as moléculas de revestimento devem estar fortemente ligadas à superfície da nanopartícula, preferencialmente por adsorção química (quimissorção). Moléculas ligadas por adsorção física podem facilmente desorver, comprometendo a estabilidade do produto final.

Pela análise termogravimétrica é possível confirmar a presença do revestimento. O núcleo magnético, composto por Fe_3O_4 , apresenta alta estabilidade térmica, portanto a perda de massa ocorre devido à camada superficial de revestimento no núcleo, já que o material utilizado é de natureza orgânica.

A perda de massa ocorre em dois estágios distintos: o primeiro estágio (abaixo de 200°C) é equivalente à evaporação da água adsorvida na superfície [8,9]. O segundo estágio está relacionado à perda de matéria orgânica. O PEG de baixo peso molecular pode começar a ser degradado a 280°C . De acordo com os termogramas apresentados, a perda de massa mais significativa é observada em torno de $200 - 350^\circ\text{C}$, indicando a presença de PEG e glutamina na camada de revestimento do núcleo.

Pode ser visto que a amostra 1 tem a menor variação de massa. Isto sugere que as partículas que constituem esta amostra têm uma camada de revestimento mais fina. Além disso, observa-se que o decaimento da massa orgânica ocorre em um único passo. Este fato mostra uma forte relação com a interação polímero / metal-núcleo presente no material, indicando a predominância do fenômeno das quimissorções [8].

As amostras 3 e 6 foram revestidas com uma mistura composta por PEG e glutamina. Essas amostras apresentaram as maiores porcentagens de variação de massa. Isto indica a presença de uma camada de revestimento mais espessa. Portanto, sugere-se que a mistura dos materiais orgânicos provoque o empilhamento das camadas de revestimento, aumentando sua espessura.

2.3.3 Curvas de Histerese

As propriedades magnéticas das partículas são reveladas pela aplicação de um campo magnético externo. Portanto, ter conhecimento dessas propriedades é indicativo da funcionalidade do nanocompósito.

As curvas de histerese foram analisadas considerando que a área mostrada no gráfico é diretamente proporcional à quantidade de energia gerada no processo de magnetização / desmagnetização. Vale ressaltar que os materiais que apresentam comportamento superparamagnético têm uma curva de histerese extremamente estreita. É precisamente essa uma das condições necessárias para que os nanocompósitos sintetizados sejam classificados como materiais para uso in vivo, uma vez que a área da curva de histerese está diretamente relacionada à quantidade de energia liberada (calor) e também ao tempo de liberação de energia (liberação quase instantânea, devido ao rápido retorno à condição de equilíbrio), sua forma estreita indica que o calor é disposto infinitesimalmente e continuamente.

Pela análise da Figura 3 pode-se observar que todas as curvas possuem campo coercitivo e remanência que tendem a zero (curvas estreitas). Portanto, as curvas de histerese das amostras são consistentes com as curvas de magnetização apresentadas pelos materiais superparamagnéticos. A escala nanométrica das partículas contribui para o surgimento do fenômeno do superparamagnetismo [10].

3 CONCLUSÃO

As partículas magnéticas sintetizadas pelo método de coprecipitação úmida apresentaram boas propriedades físicas e magnéticas, confirmando a funcionalidade do método. Além disso, a coprecipitação de sais metálicos tem se mostrado uma técnica relativamente fácil e simples, com possibilidades de ajustar os parâmetros do meio de reação para melhor funcionalização do núcleo magnético.

Cinco amostras, das seis amostras analisadas, apresentaram tamanho dentro da classificação de nanopartículas. As partículas com menores valores de diâmetro médio foram sintetizadas a partir de soluções de NaOH mais concentradas (1 mol.l^{-1}). Ambos os recobrimentos utilizados mostraram interação por quimissorção. Isso mostra a eficácia dos revestimentos. Além disso, o PEG e a mistura de glutamina resultaram numa camada de revestimento mais espessa. As curvas de histerese apresentaram um aspecto sigmoidal, característico de materiais superparamagnéticos. Esta é uma boa indicação de que as partículas podem ser usadas em aplicações *in vivo*.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio oferecido pela CAPES (2019).

REFERÊNCIAS

- 1 M. Konerackaa; et. al. Effect of magnetic nanoparticles coating on cell proliferation and uptake. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 472, p. 66–73, 2019.
- 2 V.C. Karadea; et. al. Effect of reaction time on structural and magnetic properties of green-synthesized magnetic nanoparticles. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, v. 120, p. 161–166, 2018.
- 3 *Encyclopædia Britannica*, 2019.
- 4 P. Lemala; et. al. Heating behavior of magnetic iron oxide nanoparticles at clinically relevant concentration. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 474, p. 637–642, 2019.
- 5 M. Pilar. et. al. Cell damage produced by magnetic fluid hyperthermia on microglial BV2 cells. *Nature –Scientific Reports*, v. 7, p.1-16, 2017.
- 6 M. Bezaatpour ; M. Goharkhah. Effect of magnetic field on the hydrodynamic and heat transfer of magnetite ferrofluid flow in a porous fin heat sink. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 476, p. 506–515, 2019.
- 7 P. Montoya ; O. Montoya ; R. Pinal ; J. Calderón. Development of magnetite nanoparticles/gelatin composite films for triggering drug release by an external magnetic field. *Materials and Design*, v 152, p. 78–87, 2018.
- 8 R. Gruskiene; et. al. Preparation and characterization of iron oxide magnetic nanoparticles functionalized by nisin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 169, p. 126–134, 2018.
- 9 V. Ganesan; B.B. Lahiri; C. Louis; J. Philip; S.P. Damodaran. Size-controlled synthesis of superparamagnetic magnetite nanoclusters for heat generation in an alternating magnetic field. *Journal of Molecular Liquids*, v. 281, p. 315–323, 2019.
- 10 Z. Chena. et. al. Synthesis, functionalization, and nanomedical applications of functional magnetic nanoparticles. *Chinese Chemical Letters*, v. 29, p. 1601–1608, 2018.