



NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO REVESTIDAS COM ALGINATO COMO POTENCIAL AGENTE DE CONTRASTE PARA IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGÉTICA

LUÍS FERNANDO ANDRADE DA SILVA; JOALEN PEREIRA DO MONTE; GABRIELA
MARQUES DE ALBUQUERQUE; MARIA GORETI CARVALHO PEREIRA;
GIOVANNIA ARAÚJO PEREIRA DE LIMA

RESUMO

As nanopartículas magnéticas podem melhorar significativamente o contraste nas imagens por ressonância magnética. Elas alteram os tempos de relaxação dos núcleos ^1H de moléculas de água presentes nos tecidos, proporcionando imagens mais nítidas e detalhadas. A utilização de polímeros naturais como o alginato de sódio, além de garantir uma maior estabilidade coloidal da suspensão, também é biocompatível e não tóxico, e assim permite o seu uso enquanto agente de contraste para imagem de ressonância magnética (IRM). Por isso, este trabalho teve como objetivo de preparar e analisar o comportamento das nanopartículas de óxido de ferro (FeNPs) com a finalidade de avaliar a sua aplicação como agente de contraste para diagnóstico por IRM. As FeNPs foram preparadas em água pelo método de co-precipitação. Posteriormente, as nanopartículas foram revestidas com diferentes concentrações de alginato de sódio (2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg.mL^{-1}), um polímero natural, de forma a tornar as FeNPs estáveis em meio aquoso e biocompatíveis. A eficiência das FeNPs (com e sem alginato) como agentes de contraste foi avaliada por medidas de relaxividade (20 MHz a 25 °C). Pelos resultados obtidos foi possível verificar o seu comportamento magnético das FeNPs sem e com adição do alginato. Verificou-se ainda que com a adição do alginato as FeNPs apresentaram uma diminuição do tempo de relaxação transversal (T_2), em comparação com as NPs sem a adição do polímero. Estes resultados podem indicar que com a incorporação do estabilizante houve alteração na mobilidade das moléculas de água, alterando por sua vez o tempo de difusão das moléculas de água próximas ao centro superparamagnético, além de aumentar a estabilidade coloidal das nanopartículas de óxido de ferro em suspensão. Assim, de acordo com os resultados obtidos, as FeNPs-alginato apresentam potencial para serem utilizadas como agentes de contraste biocompatíveis para diagnóstico por imagem.

Palavras-chave: nanopartículas magnéticas; biomateriais; relaxividade; propriedade magnética; diagnóstico por imagem.

1 INTRODUÇÃO

A nanociência é uma área da ciência que estuda a aplicação e propriedades dos sistemas em escala nanométrica, que nas últimas décadas vem tendo notoriedade e despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores na área e trata-se do desenvolvimento de nanomateriais com propriedades específicas relacionadas a sua dimensão (ROGERS; ADAMS; PENNATHUR, 2014). Diante disto, nanopartículas têm sido sintetizadas a fim de serem aplicadas em diversas áreas, incluindo medicina para combate ao câncer (MARTINO et al., 2023), eletrônicos (IBRAHIM et al., 2023), cosméticos (MASCARENHAS-MELO et al., 2023), agricultura

(SANTÁS-MIGUEL et al., 2023), sensores (ARAÚJO et al., 2024) e entre outras. Na medicina, as nanopartículas são exploradas de diversas formas, como por exemplo na entrega de medicamentos (drug delivery), na imagem médica e em terapias direcionadas (GHITMAN et al., 2020).

Nanopartículas de óxido ferro (FeNPs), em particular, são uma categoria específica de nanopartículas que consistem em ferro na forma de partículas extremamente pequenas, que apresentam propriedades superparamagnéticas. A magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) são duas formas comuns de FeNPs utilizadas em várias aplicações. Dentre suas aplicações, destacam-se no uso biomédico como agente de contraste em imagem por ressonância magnética (IRM) para visualização de órgãos e tecidos, administração de medicamentos, biossensores, e agentes terapêuticos por hipertermia (LINDENBERG; NCHIMI; TERRASCHKE, 2023).

Por sua elevada gama de possíveis aplicações, as FeNPs têm atraído muita atenção para diferentes aplicações devido às suas excelentes propriedades magnéticas, as quais são ajustáveis e que dependem de seu tamanho, composição química e arranjo estrutural (NOQTA et al., 2019). No entanto, a fim de evitar agregação, reações químicas e oxidação das nanopartículas, normalmente são utilizados materiais orgânicos ou inorgânicos para modificar sua superfície dando-lhes maior estabilidade (AL-FANDI et al., 2015). Alguns trabalhos relatam a utilização de ácido cítrico (ALZOUBI et al., 2023), alginato e quitosana como estabilizantes (CASTELLÓ et al., 2015). O alginato é um polissacarídeo muito utilizado na biomedicina por ser um polímero natural, biocompatível e não tóxico (KARIDURAGANAVAR et al., 2014).

A utilização das nanopartículas magnéticas revestidas com polímeros biocompatíveis tem sido estudada para melhorar sua compatibilidade com sistemas biológicos, e assim permitir o seu uso enquanto agente de contraste para IRM. As nanopartículas (super)paramagnéticas podem diminuir o tempo de relaxação dos prótons (^1H) das moléculas de água presentes no microambiente tecidual, aumentando o contraste da imagem observável. Foi relatado que as FeNPs também apresentam a propriedade de encurtar o tempo de relaxação T_1 (longitudinal) da água. Porém, seu efeito dominante é no tempo de relaxação T_2 (transversal) (SHOKROLLAHI, 2013). Três fatores principais podem afetar T_2 : o tamanho das nanopartículas, a estrutura e a cristalinidade (ALZOUBI et al., 2023). Ainda, a eficácia de um agente de contraste (AC) é caracterizada pela relaxividade (r_1 ou r_2), que é dada em função da taxa de relaxação ($1/T_1$ ou $1/T_2$) dividida pela concentração do AC (ASLAN, 2022).

Diante disso, este trabalho teve como objetivo verificar o impacto na eficiência como AC das nanopartículas de óxido de ferro, após a funcionalização com diferentes quantidades de alginato, a fim de garantir uma maior biocompatibilidade e melhorar a estabilidade coloidal destas nanopartículas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Síntese das nanopartículas de óxido de ferro

Para a preparação das FeNPs foi adicionado em um béquer 50 mL de H_2O ultrapura, 25 mL de FeCl_3 (4 mol.L^{-1} , dissolvido em $\text{HCl } 2 \text{ mol.L}^{-1}$) e 25 mL de FeCl_2 ($2,7 \text{ mol.L}^{-1}$, dissolvido em $\text{HCl } 2 \text{ mol.L}^{-1}$). A mistura foi mantida sob agitação e aquecimento a 70°C por 10 minutos. Em seguida foi adicionado gota a gota uma solução de NH_4OH (26% v/v) até atingir o $\text{pH} = 10$, para a formação da magnetita.

O sistema foi levado ao banho de ultrassom por 30 minutos a 50°C . Com o auxílio de um ímã de neodímio, as nanopartículas foram decantadas, e foram efetuadas lavagens com água ultrapura até $\text{pH} = 7$. Posteriormente, as FeNPs foram levadas para um volume final de 200 mL com água ultrapura.

2.2 Funcionalização das FeNPs com alginato

Para a adição de alginato (Alg), as FeNPs foram calculadas valores de massa correspondente a 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg.mL⁻¹ em 50 mL de água ultrapura. A quantidade de nanopartículas de ferro usada foi 420 µL da suspensão estoque realizada na primeira etapa da síntese, mantendo essa quantidade para todas as concentrações de alginato, ou seja, variando apenas a concentração do polímero.

As massas necessárias de alginato foram dissolvidas em 50 mL de água ultrapura e colocadas sob agitação de 500 rpm a uma temperatura de 50 °C até a dissolver todo o alginato. Em seguida foi adicionado 420 µL da suspensão das FeNPs, mantendo a agitação e temperatura, durante 60 min. Posteriormente, após a suspensão resultante se encontrar a temperatura ambiente (~25 °C), foi realizada a decantação das FeNPs com alginato, para retirar o excesso de polímero. Para finalizar, foram realizadas 3 lavagens com água ultrapura e banhos ultrassônico de 15 min.

2.3 Medição do tempo de relaxação

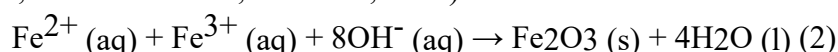
O tempo de relaxação transversal T_2 foi medido no relaxômetro Minispec mq20, da marca Bruker, a 20 MHz e 25 °C. Para determinar a relaxividade foi utilizada a equação 1 (Caravan, 2006, Caravan et al., 2009).

$$r_2 = \frac{\left(\frac{1}{T_2}\right)_p}{[NPs]} = \frac{\left(\frac{1}{T_2}\right)_{obs} - \left(\frac{1}{T_2}\right)_d}{[NPs]}, i = 2 \quad (1)$$

Sendo, r_2 a relaxividade, T_2 o tempo de relaxação transversal e $[NPs]$ a concentração das nanopartículas de óxido de ferro igual a 0,617 mM.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese das nanopartículas de ferro foi verificada qualitativamente, como mostra a Figura 1, visto que a suspensão final apresentou uma coloração preta, característica do ferrofluido (óxido de ferro). A reação de formação das nanopartículas de óxido de ferro envolve várias etapas, mas simplificando a reação global pode ser descrita como demonstra a equação 2 (SERPOUSH; KIYASATFAR; OJAGHI, 2022).



Portanto, ao reagir cloreto de ferro II e cloreto de ferro III com ácido clorídrico e, em seguida, adicionar hidróxido de amônio, a magnetita é formada como parte do processo.

Figura 1 – Suspensão das nanopartículas de óxido de ferro (magnetita, Fe₃O₄) obtidas.



O alginato foi adicionado à superfície das nanopartículas através do preparo das soluções em concentrações de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 mg.mL⁻¹, obtendo-se suspensões coloidais com uma coloração marrom e mais homogênea (Figura 2).

Figura 2 – Nanopartículas de óxido de ferro revestida com alginato



A relaxividade das FeNPs sem revestimento e revestidas com alginato foi investigada através de medidas dos tempos de relaxação. Os resultados obtidos revelaram a diminuição do tempo de relaxação *T*₂ para as FeNPs-Alg quando comparadas com as FeNPs sem a adição do polímero (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores do tempo de relaxação transversal (*T*₂) e relaxividade *r*₂ referentes às nanopartículas de óxido de ferro com diferentes concentrações de alginato

Amostra	Concentração das FeNPs (mM)	<i>T</i> ₂ (ms)	<i>r</i> ₂ (mM ⁻¹ .s ⁻¹)
H ₂ O		2200	-
R1 - FeNPs		138	11,0
R2 - FeNPs + 2,5 mg/mL de Alg	0,617	24,6	65,1
R3 - FeNPs + 5,0 mg/mL de Alg		22,5	71,4
R4 - FeNPs + 7,5 mg/mL de Alg		36,4	43,8
R5 - FeNPs + 10,0 mg/mL de Alg		41,8	38,0

A eficiência de um agente de contraste (AC) é medida através da relaxividade (*r*_{*i*}), sendo *i* =2 neste caso, que pode ser definida como sendo a variação que ocorre na taxa de relaxação (*R*_{*i*} = 1/*T*_{*i*}) dos núcleos ¹H após a adição do AC, sendo influenciada pela variação

na taxa de relaxação por unidade de concentração do íon (super)paramagnético de Fe^{3+} . Em FeNPs, geralmente são utilizadas as sequências ponderadas em T_2 . Para as FeNPs-Alg verificaram-se valores de r_2 de 38 a $71,4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, sendo que a amostra que originou um maior r_2 foi a R3 (preparada com $5,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de Alg).

Apesar de ser um sistema multifatorial e complexo, em resumo, basicamente o que acontece é que há uma dependência do valor de T_2 com o tempo de difusão das moléculas de água em torno do centro paramagnético, então, um dos parâmetros que é avaliado é o tempo de difusão que por sua vez vai depender da mobilidade das moléculas de água à volta do íon superparamagnético. Ou seja, à medida que se adicionou o polímero (alginato), há uma alteração no tempo de difusão das moléculas de água próxima ao centro superparamagnético, resultante da alteração da mobilidade dessas H_2O circundantes. Isso faz com que haja uma diminuição efetiva do tempo de relaxação transversal, que por sua vez aumenta a relaxividade, sendo que neste caso o sistema R3 (FeNPs + $5,0 \text{ mg/mL}$ de Alg) apresentou um melhor valor de relaxividade (r_2).

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que este trabalho teve êxito no que diz respeito ao revestimento das nanopartículas de óxido de ferro, o qual foi verificado a partir da variação dos valores dos tempos de relaxação T_2 medidos, consequentemente melhorando a relaxividade (r_2). Também foi possível fazer uma avaliação qualitativa da homogeneidade e estabilidade das nanopartículas após a adição do polímero, indicando o potencial das FeNPs-Alg como agentes de contraste para IRM mais biocompatíveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq (Universal/CNPq-2021, 409319/2021-0), da FACEPE (APQ-1351-1.06/22, IBPG-1528- 3.00/21), e do apoio ao CESAM pelo FCT/MCTES (UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020). Os autores agradecem também o apoio da Central Analítica do DQF-UFPE.

REFERÊNCIAS

- AL-FANDI, M. et al. A prototype ultraviolet light sensor based on ZnO nanoparticles/graphene oxide nanocomposite using low temperature hydrothermal method. IOP Conference Series: **Materials Science and Engineering**. Anais...Institute of Physics Publishing, 12 out. 2015.
- ALZOUBI, F. et al. Exploring the impact of pH on the properties of citric acid-coated iron oxide nanoparticles as high-performance T_2 contrast agent for MRI applications. **Results in Engineering**, v. 18, 1 jun. 2023.
- ARAÚJO, M. R. et al. Optimization of nanoparticles for application in optical sensors. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 366, 1 fev. 2024.
- ASLAN, T. N. Relaxivity properties of magnetoferritin: The iron loading effect. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 133, n. 5, p. 474–480, 1 maio 2022.
- CASTELLÓ, J. et al. Chitosan (or alginate)-coated iron oxide nanoparticles: A comparative study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 468, p. 151–158, 5 mar. 2015.

GHITMAN, J. et al. **Review of hybrid PLGA nanoparticles: Future of smart drug delivery and theranostics medicine. Materials and Design.** Elsevier Ltd, 1 ago. 2020.

IBRAHIM, N. et al. Stability and conductivity of water-based colloidal silver nanoparticles conductive inks for sustainable printed electronics. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 153, 1 dez. 2023.

KARIDURAGANAVAR, Mahadevappa Y.; KITTUR, Arjumand A.; KAMBLE, Ravindra R. Síntese e processamento de polímeros. In: **Polímeros biomédicos naturais e sintéticos.** Elsevier, 2014. pág. 1-31.

LINDENBERG, P.; NCHIMI, K.; TERRASCHKE, H. Synthesis, functionalisation, and applications of iron oxide magnetic nanoparticles. Em: **Nanostructured Materials: Applications, Synthesis and In-Situ Characterization.** [s.l.] De Gruyter, 2023. p. 47–71.

MARTINO, E. et al. **MicroRNA-nanoparticles against cancer: Opportunities and challenges for personalized medicine. Molecular Therapy Nucleic Acids.** Cell Press, 13 jun. 2023.

MASCARENHAS-MELO, F. et al. **Inorganic nanoparticles in dermopharmaceutical and cosmetic products: Properties, formulation development, toxicity, and regulatory issues. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** Elsevier B.V., 1 nov. 2023.

MONTE, J. P. et al. Recent advances in hydroxyapatite/polymer/silver nanoparticles scaffolds with antimicrobial activity for bone regeneration. **Materials Letters**, v. 338, 1 maio 2023.

NOQTA, O. A. et al. **Recent Advances in Iron Oxide Nanoparticles (IONPs): Synthesis and Surface Modification for Biomedical Applications. Journal of Superconductivity and Novel Magnetism.** Springer New York LLC, 15 abr. 2019.

P. Caravan. Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents, **Chemical Society Reviews** (2006).

P. Caravan, C. T. Farrar, L. Frullano, R. Uppal. Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents, **Contrast Media & Molecular Imaging** (2009).

ROGERS, B.; ADAMS, J.; PENNATHUR, S. **Nanotechnology.** [s.l.] CRC Press, 2014.

SANTÁS-MIGUEL, V. et al. **Use of metal nanoparticles in agriculture. A review on the effects on plant germination. Environmental Pollution.** Elsevier Ltd, 1 out. 2023.

SERPOUSH, M.; KIYASATFAR, M.; OJAGHI, J. Impact of Fe₃O₄ nanoparticles on wheat and barley seeds germination and early growth. **Materials Today: Proceedings**, v. 65, p. 2915–2919, 1 jan. 2022.

SHOKROLLAHI, H. **Contrast agents for MRI. Materials Science and Engineering C.** Elsevier Ltd, 1 dez. 2013.