

CARACTERIZAÇÃO E FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO: APTES COMO AGENTE ESTABILIZADOR

Giulia Capizzani Gonçalves, Pedro Henrique Pinto de Souza Gouvea de Mello, Aveline Ventura, Diogo Monteiro Leite dos Santos, Vitor Luca Moura Marmo, e Leandro Raniero

Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, giulia.engquimica@gmail.com, pedrogoveiademello@gmail.com, aveline.ventura@hotmail.com, diogo.monteiro.santos@gmail.com, vitorl.mmarmo@gmail.com, Iraniero@univap.br

Resumo

O 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) é utilizado para melhorar a estabilidade coloidal e prevenir a oxidação das nanopartículas superparamagnéticas (SPIONS). As SPIONS são sintetizadas por coprecipitação química e, em seguida, funcionalizadas com APTES. Essa funcionalização forma uma camada protetora ao redor das nanopartículas, reduzindo a aglomeração e aprimorando a estabilidade. A caracterização foi realizada por espectroscopia de correlação de fótons (Dynamic Light Scattering – DLS), com e sem aplicação de potencial zeta. Os resultados mostram uma redução significativa no tamanho hidrodinâmico e uma alteração no potencial zeta para valores positivos, indicando maior estabilidade coloidal. A funcionalização demonstra maior eficácia em pH entre 1 e 3, ressaltando a importância do controle preciso do pH para o desenvolvimento de nanopartículas estáveis e adequadas para aplicações biomédicas.

Palavras-chave: SPIONS, APTES, funcionalização, pH.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica

Introdução

As nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (IONPs) têm se destacado entre os nanomateriais em virtude às suas aplicações tecnológicas fundamentais e às vantagens sobre outros materiais, como biocompatibilidade, baixo custo de produção e capacidade de funcionalizar biomateriais em sua superfície (Fathy *et al.*, 2021). Essas nanopartículas são notáveis por suas propriedades físico-químicas e características magnéticas que permitem sua manipulação por campos magnéticos externos, o que as torna promissoras para as aplicações biomédicas, como agentes de contraste em ressonância magnética, marcação e separação celular, hipertermia magnética (Elbially; Aboushousah; Alshammarl, 2019) e na área de teranósticos (Wu *et al.*, 2020).

Dentre as IONPs, a magnetita (Fe_3O_4), a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e a hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) são as mais comuns, com diferenças em composição química, estrutura cristalina, estabilidade e propriedades magnéticas (Santos, 2023). A maghemita e a magnetita destacam-se especialmente para as aplicações biomédicas em função de seu comportamento superparamagnético, controle de tamanho, estabilidade coloidal, grande área superficial (Hu *et al.*, 2018; Ten Hove *et al.*, 2024) e baixa toxicidade, tornando-as superiores as nanopartículas à base de níquel e cobalto (Villa *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2020). O superparamagnetismo é uma propriedade observada principalmente em nanopartículas de domínio único, é essencial para o desempenho das IONPs em aplicações biomédicas, e é atribuído ao seu pequeno tamanho. Devido a essa característica, as IONPs podem ser rotuladas como nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONS) (Nedyalkova *et al.*, 2017).

Nesse contexto, para que as SPIONS possam ser aplicadas na área médica, especialmente em estudos *in vivo*, a estabilidade a longo prazo é indispensável. Em razão à sua alta energia superficial e instabilidade termodinâmica, as SPIONS tendem a formar aglomerados quando não eficientemente estabilizadas (Friedrich, 2023) e serem facilmente oxidadas (Hu *et al.*, 2018). A prevenção dessa agregação é particularmente importante, pois, ao se aglomerarem, as SPIONS perdem as propriedades superparamagnéticas, tornando-se conjuntos permanentemente magnetizados, o que não apenas

reduz a estabilidade coloidal, mas também aumenta a toxicidade (Aboushoushah *et al.*, 2021), comprometendo seu uso em aplicações biomédicas.

Para preservar a biocompatibilidade e a estabilidade das SPIONs, é essencial controlar suas propriedades de superfície. Para isso, estratégias de revestimento e funcionalização são amplamente empregadas (Tsavé *et al.*, 2024). Frequentemente, as SPIONs são revestidas com biomoléculas, polímeros biocompatíveis e compostos orgânicos e inorgânicos (Mai; Hilt, 2019). Um exemplo notável é o uso de 3-aminopropiltrióxissilano (APTES), um agente de acoplamento de silano que não apenas melhora a dispersão dos nanocompósitos, mas também funcionaliza a superfície das nanopartículas com grupos amino por meio da silanização, permitindo a ligação de outras moléculas, como proteínas. O APTES interage eletrostaticamente com grupos de superfície de proteínas e se liga covalentemente aos átomos de oxigênio das SPIONs, o que aumenta a adsorção de proteínas e melhora a estabilidade coloidal. Essa funcionalização não só facilita a internalização celular, como também expande o potencial das SPIONs em aplicações biológicas, como a separação celular, o direcionamento de medicamentos e o diagnóstico de doenças (Bayat *et al.*, 2015; Santos, 2023). Assim, este trabalho teve como objetivo a estabilização das SPIONs com o APTES e sua caracterização por meio das técnicas de espectroscopia de correlação de fótons com e sem aplicação de potencial (do inglês, Dynamic Light Scattering – DLS).

Metodologia

Síntese de Nanopartículas de Óxido de Ferro

As partículas de óxido de ferro foram sintetizadas pelo método de coprecipitação química, como descrito por Massart (1981). Inicialmente, as vidrarias utilizadas foram previamente lavadas com água régia em proporção 1:3 de ácido nítrico (HNO_3) e ácido clorídrico (HCl) para remoção de íons contaminantes. Posteriormente, soluções de cloreto de ferro II ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 mol. L^{-1}) e III ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,4 mol. L^{-1}) foram preparadas em 100 mL de água ultrapura previamente de-oxigenada em gás nitrogênio. As soluções foram ultrassonicadas, seguida por de-oxigenação e mistura dessas soluções. Durante toda a síntese, foi mantido agitação, controle de pH entre 8 e 9, temperatura de 85 °C, e a precipitação dos óxidos de ferro ocorreu por meio da adição de 35 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH). Após o resfriamento, foram separadas em alíquotas e seguida por um processo de purificação com etanol e água ultrapura repetidos por três vezes. O produto final da síntese foi caracterizado por Espalhamento Dinâmico de Luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS) para obtenção do tamanho hidrodinâmico da partícula.

Funcionalização de Nanopartículas de Óxido de Ferro

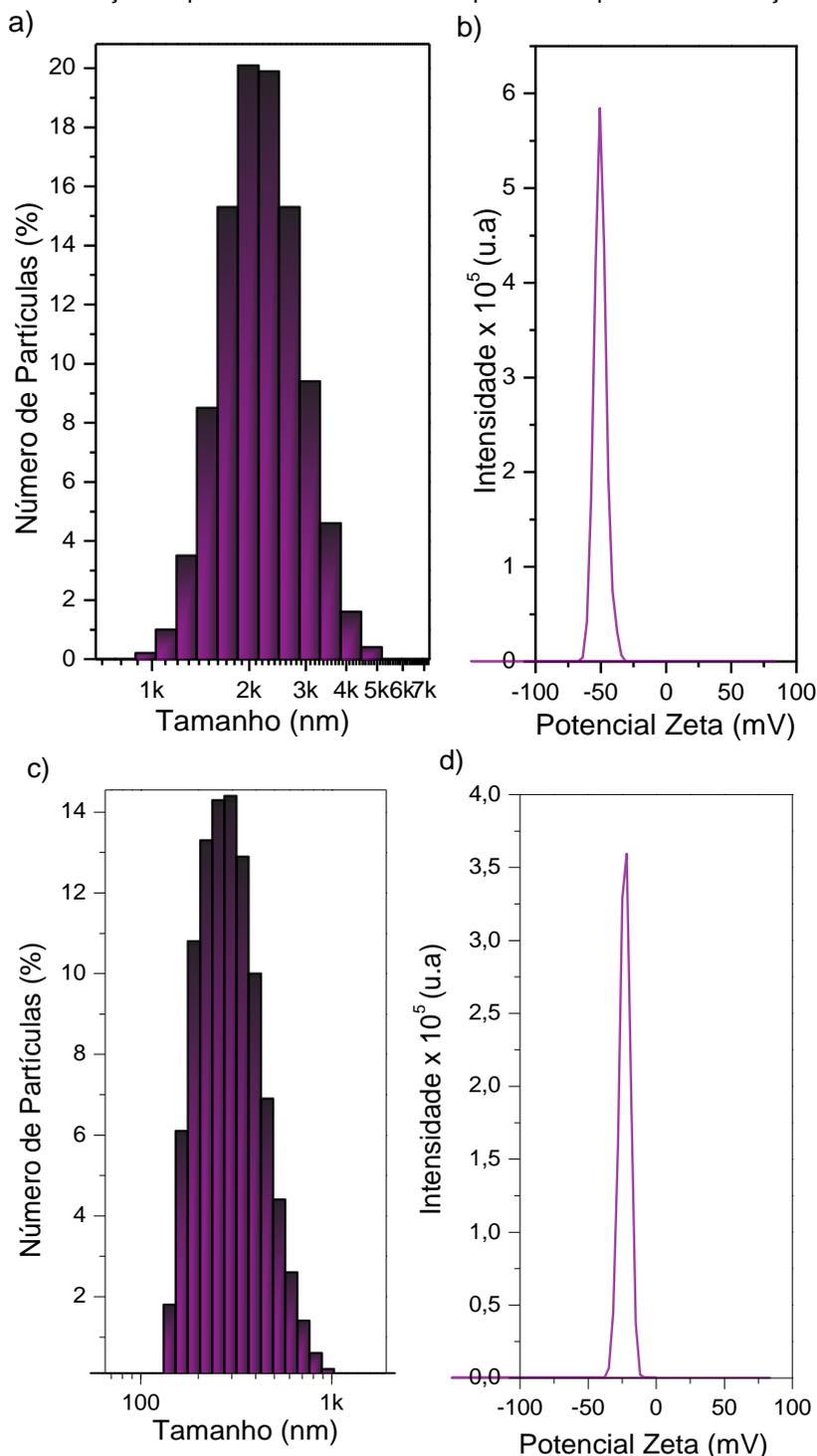
Para o processo de funcionalização, foi necessário um tratamento prévio das nanopartículas, empregando um método adaptado conforme descrito por Kara (2021). As nanopartículas foram peptizadas com ácido nítrico (HNO_3) a 2 M. Este tratamento é crucial para prevenir a aglomeração, garantindo a dispersão adequada das nanopartículas para a funcionalização. A modificação da superfície das SPIONs foi realizada utilizando um método adaptado de (Ebrahiminezhad *et al.*, 2015). Após o tratamento prévio, 0,7 g das SPIONs foram dispersas em uma solução de etanol e água, na proporção volumétrica de 1:1. Em seguida, 2,8 mL de APTES foram lentamente adicionados à mistura, gota a gota. A reação foi conduzida a 40°C, sob agitação constante e em atmosfera de nitrogênio, durante uma hora. Após esse período, a solução foi resfriada à temperatura ambiente, e as partículas foram separadas magneticamente. Em seguida, as SPIONs foram submetidas a três ciclos de purificação, utilizando lavagens com etanol e água ultrapura. Por fim, as partículas foram ressuspensas em água ultrapura, com ajuste de pH para posterior caracterização.

Resultados

A Figura 1a apresenta a caracterização das nanopartículas de óxido de ferro pela técnica de DLS, após o processo de síntese. Nesta análise foi verificado que a distribuição do diâmetro hidrodinâmico apresentou diâmetro médio de 2.404 nm. Na Figura 1b é apresentada a caracterização da partícula nua pela técnica de DLS com aplicação de potencial. Nesta análise foi verificado que o

potencial elétrico médio apresentou um valor de $-17,2$ mV. Na Figura 1c e 1d apresenta a caracterização das nanopartículas de óxido de ferro, após a funcionalização com o APTES e verifica-se que o diâmetro hidrodinâmico médio é de $398,9$ nm, enquanto o potencial elétrico apresentou o valor médio de $+9,87$ mV.

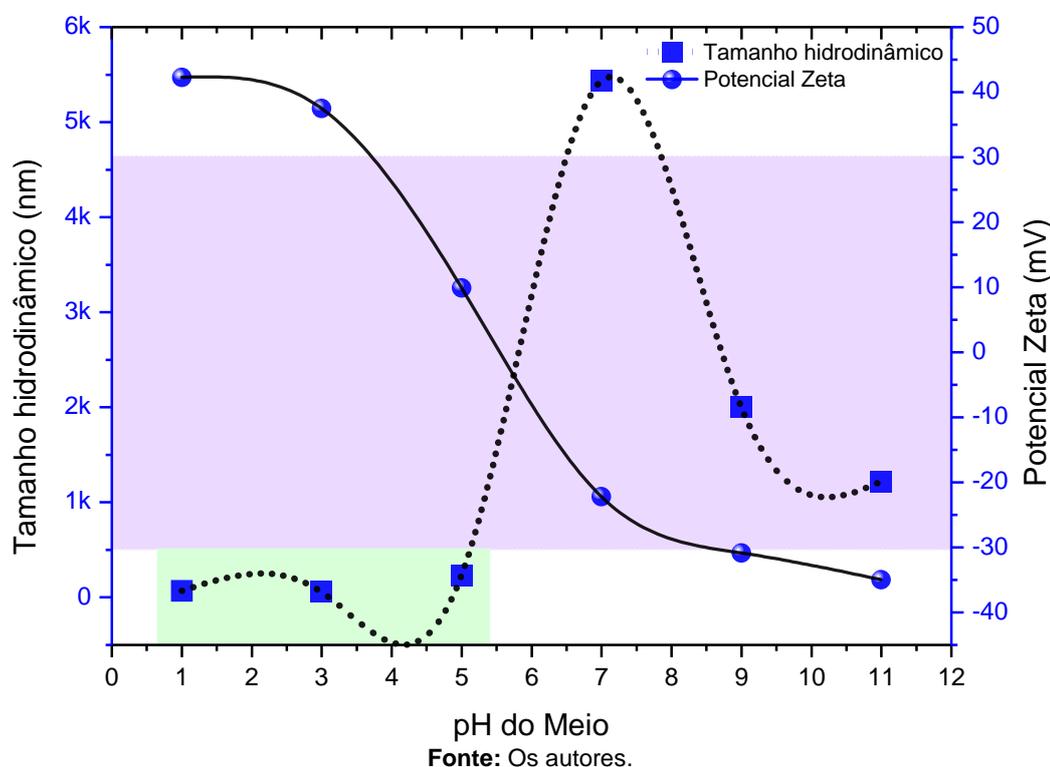
Figura 1: a) Distribuição de tamanho das nanopartículas sem funcionalização b) Distribuição de potencial elétrico das nanopartículas sem funcionalização c) Distribuição de tamanho das nanopartículas após a funcionalização b) Distribuição de potencial elétrico das nanopartículas após funcionalização



Fonte: Os autores.

A Figura 2 apresenta uma relação entre o pH do meio, o tamanho hidrodinâmico e o potencial Zeta que verificou-se a influência da acidez ou basicidade do meio no controle de tamanho e estabilidade após o processo de funcionalização com APTES.

Figura 2: Correlação entre o pH do meio, tamanho hidrodinâmico e potencial Zeta



Discussão

Para a funcionalização com APTES, as nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) foram sintetizadas e caracterizadas inicialmente por DLS. O diâmetro hidrodinâmico médio das SPIONs foi determinado em 2.404 nm sem a aplicação de potencial, indicando a presença de agregados significativos (Figura 1a). Quando um potencial foi aplicado para avaliar a estabilidade, o potencial elétrico registrado foi de -17,2 mV (Figura 1b), dentro da zona de instabilidade entre -30 mV a +30 mV, sugerindo uma propensão à aglomeração (Cacua *et al.*, 2019).

Após a funcionalização, observou-se uma redução substancial no diâmetro hidrodinâmico médio para 398,9 nm (Figura 1c), indicando uma melhora na dispersão das nanopartículas. Paralelamente, o potencial elétrico foi alterado para +9,87 mV (Figura 1d). Embora ainda na zona de instabilidade, essa mudança de carga de negativa para positiva pode melhorar as interações das SPIONs em ambientes biológicos e otimizar seu desempenho em aplicações específicas.

O gráfico da Figura 2 destaca uma zona lilás, correspondente à faixa de instabilidade citada anteriormente, e uma zona verde clara representando as condições mais estáveis. A análise revela que as nanopartículas apresentam maior estabilidade coloidal em pH entre 1 e 5. Considerando também o tamanho hidrodinâmico, o resultado mais favorável foi obtido na faixa de pH entre 1 e 3, onde as nanopartículas demonstraram menor dimensão, controle de tamanho, ausência de aglomerados e estabilidade coloidal aprimorada, conforme relatado por Hu *et al.* (2018), Ten Hove *et al.* (2024) e Nedyalkova *et al.* (2017).

Conclusão

Conclui-se que a funcionalização das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) com o agente de acoplamento de silano APTES foi eficaz em reduzir a probabilidade de oxidação, formando uma camada protetora sobre as partículas. Esse revestimento não apenas promoveu um aumento significativo na estabilidade coloidal, como também resultou na mudança do potencial elétrico para valores positivos, o que indica uma superfície funcionalizada mais resistente à agregação. Vale destacar que os melhores resultados de estabilidade e dispersão foram obtidos em meio com pH entre 1 e 3, ressaltando a importância do controle do pH no desempenho das SPIONs em aplicações biológicas.

Referências

ABOUSHOUSHAH, Samia et al. Toxicity and biodistribution assessment of curcumin-coated iron oxide nanoparticles: Multidose administration. **Life Sciences**, v. 277, p. 119625, 2021.

BAYAT, Narges et al. Assessment of functionalized iron oxide nanoparticles in vitro: introduction to integrated nanoimpact index. **Environmental Science: Nano**, v. 2, n. 4, p. 380-394, 2015.

CACUA, Karen et al. Surfactant concentration and pH effects on the zeta potential values of alumina nanofluids to inspect stability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 583, p. 123960, 2019.

EBRAHIMINEZHAD, Alireza et al. Impacts of amine functionalized iron oxide nanoparticles on HepG2 cell line. **Current Nanoscience**, v. 11, n. 1, p. 113-119, 2015.

ELBIALY, Nihal Saad; ABOUSHOUSHAH, Samia Faisal; ALSHAMMARI, Wafa Wuqayyan. Long-term biodistribution and toxicity of curcumin capped iron oxide nanoparticles after single-dose administration in mice. **Life sciences**, v. 230, p. 76-83, 2019.

FATHY, Mohamed M. et al. Combined chemo-photothermal therapy of metastatic mammary adenocarcinoma using curcumin-coated iron oxide nanoparticles. **BioNanoScience**, v. 11, p. 447-453, 2021.

FRIEDRICH, Bernhard. **Peptide-functionalised SPIONs for the removal of pathogens**. 2023. Tese de Doutorado. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU).

HU, Yong et al. Construction of iron oxide nanoparticle-based hybrid platforms for tumor imaging and therapy. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 5, p. 1874-1900, 2018.

KARA, Goknur et al. Development of novel poly-L-lysine-modified sericin-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles as siRNA carrier. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 630, p. 127622, 2021.

MAI, Trang; HILT, J. Zach. Functionalization of iron oxide nanoparticles with small molecules and the impact on reactive oxygen species generation for potential cancer therapy. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 576, p. 9-14, 2019.

MASSART, Rene. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. **IEEE transactions on magnetics**, v. 17, n. 2, p. 1247-1248, 1981.

NEDYALKOVA, Miroslava et al. Iron oxide nanoparticles—in vivo/in vitro biomedical applications and in silico studies. **Advances in colloid and interface science**, v. 249, p. 192-212, 2017.

SANTOS, Joana Fernandes dos. **Exploring iron oxide nanoparticles coating and stability for magnetic hyperthermia applications**. 2023. Dissertação (Mestrado em Biomateriais e Nanomedicina) – NOVA University Lisbon, Lisboa, 2023.

TEN HOVE, Marit et al. Engineered SPIONs functionalized with endothelin a receptor antagonist ameliorate liver fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. **Bioactive Materials**, v. 39, p. 406-426, 2024.

TSAVE, Olga et al. Functional polysaccharide-coated SPIONs for in vitro mRNA delivery in breast cancer cells. **Materials Advances**, 2024.

VILLA, Silvia et al. Functionalization of Fe₃O₄ NPs by silanization: use of amine (APTES) and thiol (MPTMS) silanes and their physical characterization. **Materials**, v. 9, n. 10, p. 826, 2016.

WU, Yanyue et al. Surface modification of iron oxide-based magnetic nanoparticles for cerebral theranostics: Application and prospection. **Nanomaterials**, v. 10, n. 8, p. 1441, 2020.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores agradecem ao CNPq, o suporte financeiro concedido por meio do projeto nº 302158/2022-7.