



13º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS



NATAL - RN
18 a 22 de outubro de 2015

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO ESTABILIZADAS POR QUITOSANA

Adriana N. Gerales^{1*} (Dra), Maria José A. Oliveira¹ (Dra), Andressa A. da Silva¹ (M), Jéssica Leal¹ (M),
Jorge G. S. Batista¹ (D), Ademar B. Lugão¹ (Dr)

1 - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-Comissão Nacional de Energia Nuclear (IPEN-CNEN), Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, 05508-900 São Paulo-SP, Brazil, drinager@ig.com.br

Resumo: Em nosso laboratório vem crescendo o interesse em estudar as nanopartículas de ouro e por este motivo, o objetivo deste trabalho é apresentar os primeiros resultados do efeito da quitosana como estabilizador na formulação de nanopartículas de ouro. AuNPs foram sintetizadas por redução do ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) utilizando NaBH_4 ou a radiação gama (25kGy) como agentes redutores. A quitosana (3 mol L^{-1}) foi adicionada nos volumes de 0,5; 1,0 e 1,5 mL. As nanopartículas de ouro foram caracterizadas por espectroscopia de absorção no Visível, Difração de raios X (DRX) e Microscopia eletrônica de transmissão (MET). A sua estabilidade física foi determinada utilizando a espectrofotometria UV-Vis após uma semana de armazenamento à temperatura ambiente. Medidas de absorção indicaram o aparecimento de uma banda em 530 nm referente a ressonância plasmônica de superfície. Foi observado que a quitosana nas quantidades utilizadas não foram eficazes para estabilizar as AuNPs.

Palavras-chave: Ouro, nanopartículas, quitosana

Gold nanoparticles stabilized by chitosan

Abstract: In our laboratory has been growing the interest in studying gold nanoparticles and for this reason, the aim of this work is report the first results of the effect of chitosan as stabilizer in gold nanoparticle formulation. AuNPs were synthesized by reducing hydrogen tetrachloroaurate (HAuCl_4) using NaBH_4 or gamma irradiation (25kGy) as reduction agent. The chitosan (3 mol L^{-1}) was added at 0.5; 1.0 and 1.5 mL. The gold nanoparticles were characterized by UV-Vis absorption spectroscopy, X-ray diffraction (XRD) and Transmission electron microscopy (TEM). Their physical stability was determined using a UV-Vis spectrophotometer over one week during storage at room temperature. Absorption measurements indicated that the plasmon resonance wavelength appears at a wavelength around 530 nm. Has been observed that Chitosan in such quantities were not effective in stabilizing the AuNPs.

Keywords: Gold, nanoparticles, chitosan.

Introdução

As nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido altamente utilizadas como agentes na detecção biomédica e contrastante de imagem devido às suas propriedades que combinam: biocompatibilidade, facilidade de bioconjugação e propriedades ópticas. As propriedades radioativas do ouro são: ^{198}Au ($\beta_{\text{max}}=0,96 \text{ MeV}$; $t_{1/2} = 2,7$ dias) e ^{199}Au ($\beta_{\text{max}}=0,46 \text{ MeV}$; $t_{1/2} = 3,14$ dias), fazendo deste um forte candidato a aplicações radioterapêuticas [1-3]. Além disso, ambos os isótopos têm emissões gama que podem ser utilizadas para dosimetria e estudos farmacocinéticos.

A fim de induzir contraste óptico para a geração de imagens visando a detecção das células cancerígenas, nanopartículas de ouro podem ser ligadas às células do carcinoma, permitindo então sua detecção. Além disso, em muitos casos de câncer primário e metastático, a retirada cirúrgica não é possível devido ao tamanho do tumor ou presença de estruturas vitais aderidas ao câncer. Assim, há a necessidade de se desenvolver novos materiais que permitam aos médicos conseguir a

detecção, a redução do tamanho dos tumores antes da retirada cirúrgica ou mesmo a redução completa do tumor sem cirurgia [4-6].

A quitosana é um polímero insolúvel em água e meio básico, mas é solúvel em soluções ácidas. Esse polímero é obtido a partir da hidrólise da quitina, principal constituinte da composição do exoesqueleto de insetos e crustáceos, como também nos micélios dos fungos, sendo o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose. Entre as diferentes espécies de crustáceos, o camarão e o caranguejo estão entre os mais utilizados para isolar a quitina. O processamento das conchas de crustáceos envolve a remoção de proteínas e posterior dissolução do carbonato de cálcio. A quitosana ocorre naturalmente em fungos e pode ser obtida a partir de processos de fermentação. A quitosana e seus produtos desacetilados são polissacarídeos que atraíram muita atenção nas áreas de biomedicina, farmacologia, biotecnologia e no setor agrícola. Sua propriedade de formar complexos polieletrólitos é de grande interesse na síntese de nanopartículas metálicas devido a essa capacidade de interagir com os íons e nanopartículas metálicas [7].

A radiação ionizante constitui uma poderosa ferramenta para a modificação das propriedades dos materiais poliméricos. A sua elevada energia e capacidade de penetração na matéria originam uma grande variedade de estados excitados e íons, os quais podem dar sequência a reações químicas específicas (polimerização, reticulação, enxerto e degradação ou cisão de cadeias). Neste contexto, este trabalho descreve nossos primeiros resultados da síntese e caracterização de nanopartículas de ouro reduzidas quimicamente por borohidreto de sódio ou por radiação gama, utilizando-se quitosana como agente estabilizante.

Experimental

Foram utilizados $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Fluka) como fonte de íons metálicos, quitosana de médio peso molecular (Aldrich) e Borohidreto de sódio - NaBH_4 - (Aldrich) como agente redutor químico. Foram preparadas solução estoque do metal na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; solução de quitosana em 1% de ácido acético, na concentração de 3 mol L^{-1} e solução de borohidreto de sódio na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ [6]. Para o trabalho, foram preparadas 6 amostras: três para redução química (NaBH_4) e três para redução com radiação gama a 25 kGy. As soluções 1 a 3 foram preparadas com concentração constante de $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ de metal, $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de NaBH_4 e variou-se os volumes de quitosana em 0,5; 1,0 e 1,5 mL, completando-se o volume para 15 mL com água osmose reversa. As soluções foram agitadas por 15 min. As soluções de 4 a 6 foram preparadas da mesma forma porém sem a adição de NaBH_4 . Não foram preparadas amostras sem quitosana. Após esta fase de preparação, o meio reacional foi irradiado a 25 kGy em irradiador com fonte de ^{60}Co - Gammacell 220 – CTR-IPEN. As soluções foram então caracterizadas por Espectroscopia de absorção no UV-Vis, num Espectrofotômetro SpectraMax I3 para confirmar o pico de ressonância plasmônica de superfície das nanopartículas de ouro em $\lambda = 530 \text{ nm}$, aproximadamente. Os espectros foram registrados entre 450 e 600 nm. Análises por difração de raios X (DRX) foram realizadas em um difratômetro da marca Rigaku, modelo Multiflex usando uma fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$), com potência de 40 kV, corrente de 20 mA, $2\theta = 2^\circ$ a 90° , ao passo de $1^\circ/\text{min}$. As microscopias eletrônicas de transmissão (MET) foram realizadas usando um microscópio eletrônico JEOL JEM-2100 operado a 200 kV. Os histogramas foram determinados contando-se as partículas utilizando-se o programa Lince Linear Intercept.

Resultados e Discussão

A Fig. 1 mostra as colorações das soluções após as reduções química e por radiação gama. As soluções que inicialmente eram amarelas adquiriram coloração em tons de vermelho (amostras 1 a 3, 5 e 6). A amostra 4 mostrou-se turva imediatamente após a irradiação.

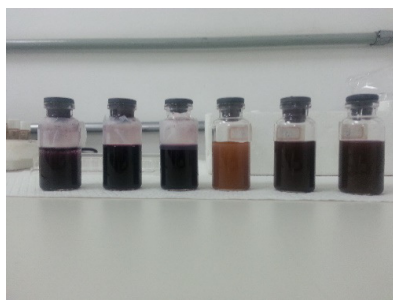


Figura 1: Coloração das soluções estudadas. Imediatamente após a redução química (amostras 1 a 3) ou por radiação (amostras 4 a 6).

Os espectros no visível (Fig. 2) foram efetuados para comprovar a formação das nanopartículas de ouro que são confirmadas por um pico em torno de 530 nm referente a ressonância plasmônica de superfície [6], que é uma característica inerente das nanopartículas de ouro, sendo observado em todos os espectros exceto o da amostra 4.

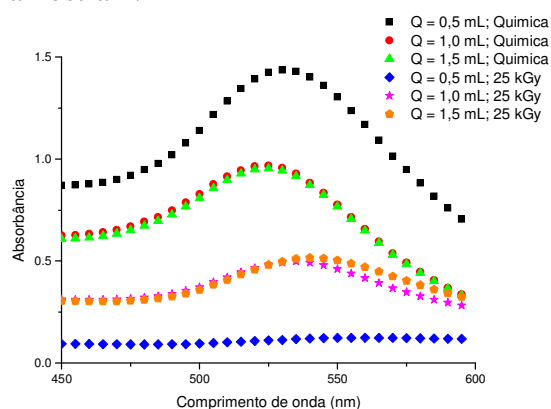


Figura 2: Espectro no Visível $[\text{HAuCl}_4] = 0,02 \text{ mol L}^{-1}$; $Q = 0,5; 1,0 \text{ e } 1,5 \text{ mL}$.

No espectro da amostra 4 não foi observado o pico de absorção em torno de 530 nm evidenciando que não houve a formação das AuNPs.

Na Fig. 3 são mostrados os difratogramas de raios X das amostras: 2 ($Q = 1,0 \text{ mL}$; química) e 5 ($Q = 1,0 \text{ mL}$; 25 kGy). Em ambas as amostras foram identificados cinco picos de difração em $2\theta = 38^\circ, 45^\circ, 65^\circ, 78^\circ \text{ e } 82^\circ$ referentes aos planos (111), (200), (220), (311) e (222) da estrutura cúbica de face centrada (cfc) do Au [9]. Na fig. 3b, além dos picos referentes ao ouro, os outros picos de difração observados podem estar associados à formação do complexo ouro-quitosana, gerando uma estrutura aleatória.

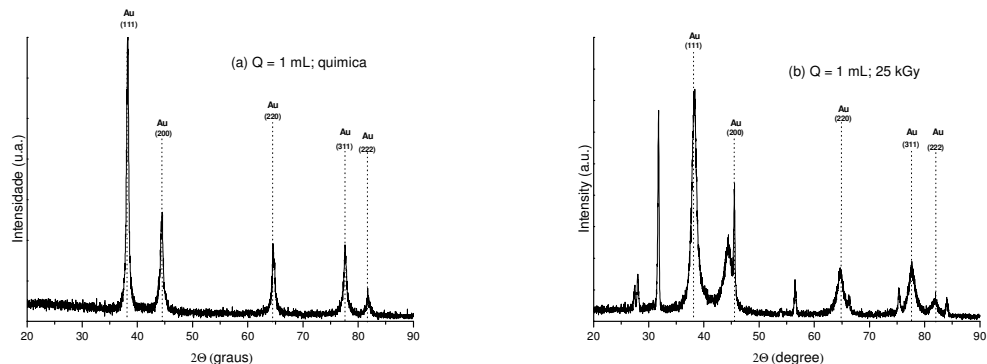


Figura 3: Difrátogramas de raios X das amostras: (a) 2 ($Q = 1,0 \text{ mL}$; química) e (b) 5 ($Q = 1,0 \text{ mL}$; 25 kGy).

Na figura 4 são mostradas as microscopias eletrônicas de transmissão e histogramas de distribuição de tamanho das AuNPs referentes às amostras 2 (Q = 1,0 mL; química) e 5 (Q = 1,0 mL; 25 kGy). A micrografia da Fig. 4a mostrou uma ampla distribuição das nanopartículas e aglomerados com maior incidência de tamanho de partículas em torno de 10 nm. A micrografia da Fig. 4b mostrou grandes aglomerados com maior incidência de tamanho de partículas entre 50 e 100 nm (não sendo recomendado para utilização na detecção ou redução de tumores). Tais aglomerados provavelmente estão associados à complexação da quitosana com as nanopartículas de ouro.

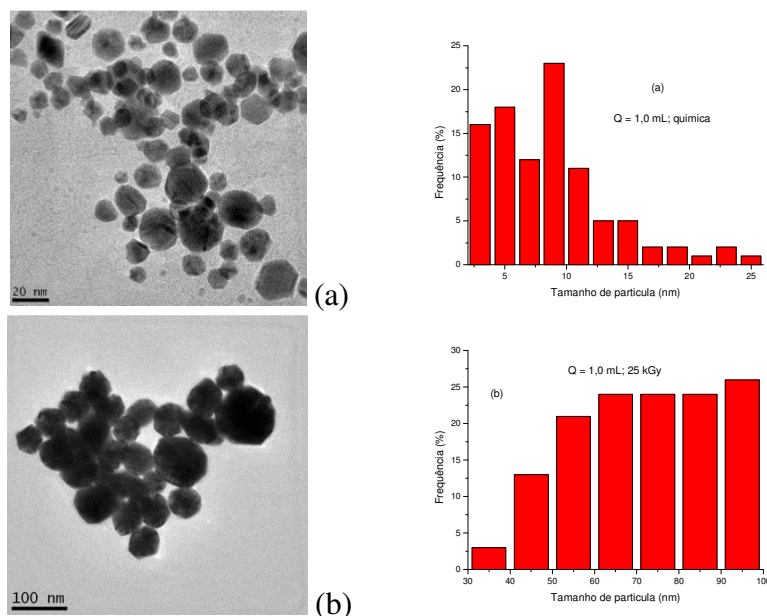


Figura 4: Micrografias eletrônicas de transmissão e histogramas das amostras: (a) 2 (Q = 1,0 mL; química) e (b) 5 (Q = 1,0 mL; 25 kGy).

Após uma semana da preparação, todas as amostras apresentaram precipitado. As amostras foram filtradas (Fig. 5) e seus espectros registrados (Fig.6).

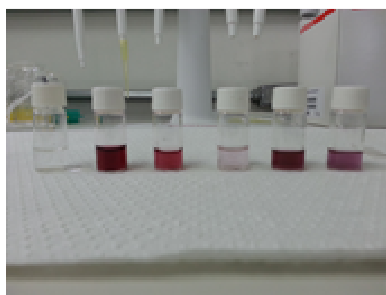


Figura 5: Coloração das soluções estudadas. Após uma semana - redução química (amostras 1 a 3) ou por radiação (amostras 4 a 6).

Os espectros no visível (Fig. 6) foram efetuados para comprovar se após uma semana as nanopartículas ainda estavam em solução. A presença das AuNPs em solução foi confirmada nas amostras 2, 3, 5 e 6 pois estas apresentaram o pico em torno de 530 nm referentes a ressonância plasmônica de superfície.

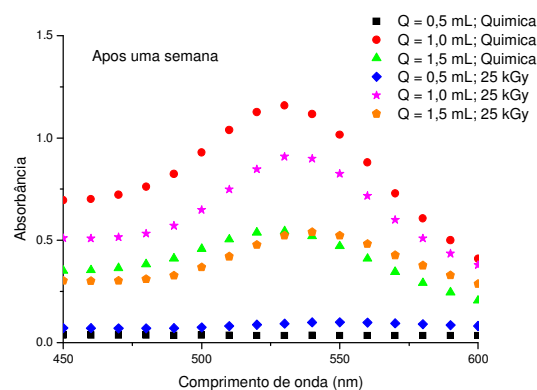


Figura 6: Espectro no visível registrados após uma semana. $[\text{HAuCl}_4] = 0,02 \text{ mol L}^{-1}$; $Q = 0,5; 1,0 \text{ e } 1,5 \text{ mL}$.

Conclusões

Este trabalho reportou os primeiros resultados na tentativa de preparação das AuNPs tanto por redução química quanto por redução radiolítica. As AuNPs foram comprovadas pelo aparecimento de um pico em torno de 530 nm referentes a ressonância plasmônica de superfície característico das AuNPs. A evidência das AuNPs foi também comprovada pelo aparecimento dos picos de difração do ouro. As AuNPs reduzidas por radiação apresentaram-se com tamanhos maiores, o que pode estar associado a complexação da quitosana provocada pela radiação. Após uma semana do experimento todas as soluções apresentaram precipitado e por isso, outras sínteses e outras técnicas de caracterização deverão ser avaliadas na tentativa de se encontrar a melhor proporção de quitosana que seja capaz de estabilizar as AuNPs.

Agradecimentos

CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento) processo número: 150135/2015-79, CCTM e CTR-IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares).

Referências Bibliográficas

1. R. Kannan; V. Rahing; C. Cutler; R. Pandrapragada; K. K. Katti; V. Kattumuri; J. D. Robertson; S. J. Casteel; S. Jurisson; C. Smith; E. Boote; K. V. Katti *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 11342.
2. H. Ashamalla; S. Rafla; B. Zaki; C. I. Nnaemeka; P. Ross *Brachytherapy* 2002, 1, 161.
3. A. E. Alfonso; A. Hassan; B. Gardner; S. Stein; J. Patti; N. A. Solomon; J. McCarthy; J. Steigman *Cancer Res.* 1978, 38, 2740–2744.
4. N. Chanda; R. Shukla; A. Zambre; S. Mekapothula; R. R. Kulkarni; K. Katti; K. Bhattacharyya; G. M. Fent; S. W. Casteel; E. J. Boote; J. A. Viator; A. Upendran; R. Kannan; K. V. Katti *Pharm Res.* 2011, 28, 279.
5. J. A. Viator; S. Gupta; B. S. Goldschmidt; K. Bhattacharyya; R. Kannan; R. Shukla; P. S. Dale; E. Boote; K. Katti *Lasers in Surgery and Medicine* 2011, 43, 333.
6. S. K. Nune; N. Chanda; R. Shukla; K. Katti; R. R. Kulkarni; S. Thilakavathy; S. Mekapothula; R. Kannan; K. V. Katti *J. Mater. Chem.*, 2009, 19, 2912.
7. H. Huang; X. Yang *Biomacromolecules*, 2004, 5, 234.
8. A. N. Geraldes; D. F. Silva; E. S. Pino; J. C. M. Silva; R. F. B. Souza; P. Hammer; E. V. Spinacé; A. O. Neto; M. Linardi; M. C. Santos *Electrochimica Acta*, 2013, 111, 455.