

NANOPARTÍCULAS DE OURO COM CARÁTER JANUS COM MARCADORES PARA DENGUE PRECOCE

Aluno: Luiza Sales Franco

Orientador: Profa. Dra. Ana Maria Percebom

Introdução

Foi feito um estudo de preparo e caracterização de nanopartículas de ouro recobertas com diversos polímeros, sendo eles PEG-SH, PAA-NH₂, PNIPAM-NH₂, PNIPAM-SH, ou a combinação de dois deles, sendo PAA-NH₂+PEG-SH, PAA-NH₂+PNIPAM+NH₂ e PNIPAM-SH+PEG-SH, para a obtenção de nanopartículas com caráter Janus. Nanopartículas de ouro (AuNPs) possuem características tais como propriedades ópticas dependentes do tamanho e forma. Essas características foram estudadas a partir dos resultados obtidos através da análise do comprimento de onda na Espectroscopia Ultra-Violeta e Visível (UV-Vis), do Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e do SAXS. Entre os possíveis campos de aplicação podemos destacar o foco deste estudo que será o diagnóstico da dengue.

Objetivos

Preparar e caracterizar nanopartículas de ouro com caráter Janus que tenham potencial de aplicação em dois principais tipos de diagnóstico, avançando no desenvolvimento de um método colorimétrico e eficiente para detecção de dengue. Caracterização das nanopartículas através das técnicas UV-Vis, DLS e SAXS.

Metodologia

As nanopartículas apresentam uma característica de especial importância para sua pesquisa que é a possibilidade de se controlar as propriedades relacionadas ao fenômeno de ressonância de plasma de superfície (LSPR, do inglês Localized Surface Plasmon Resonance) que são responsáveis pelas suas propriedades ópticas e eletrônicas. No caso de metais como ouro, este fenômeno ocorre na região visível do espectro eletromagnético, de tal forma que a resposta pode ser detectada através da visualização de diferentes cores.

Os sistemas também têm uma resposta de propriedades coletivas devido ao acoplamento de plasmons criado quando as nanopartículas se autoassociam. A autoassociação controlada de nanopartículas plasmônicas (como as de ouro) tem potencial para obter progressos em aplicações práticas, principalmente no campo de biossensores.

A síntese de nanopartículas de ouro esféricas foi feita através do método de Turkevich que prevê a redução do sal com a adição da solução de citrato de sódio ligeiramente aquecida à solução de HAuCl₄ borbulhante. A solução de nanopartículas foi medida no espectrofotômetro. Para a leitura a solução foi concentrada a partir da centrifugação (5 min, a = 20 s, f = 30 s, v = 3500 rpm, g = 2,422). A partir dos resultados de absorvância pode-se chegar no valor da concentração da solução. A determinação do raio da nanopartícula sintetizada foi feita através da análise no SAXS.

O recobrimento Janus das nanopartículas foi feito com diferentes polímeros, e de acordo com suas características, cada um irá recobrir uma das faces da partícula, criando o caráter Janus. As NPs foram colocadas gota a gota na solução dos polímeros sob agitação. As soluções feitas foram PEG-SH, PAA-NH₂, PNIPAM-NH₂, PNIPAM-SH, PAA-NH₂+PEG-SH, PAA-NH₂+PNIPAM-NH₂ e PNIPAM-SH+PEG-SH. Atentando aos cuidados para as

soluções de PNIPAM-SH e PNIPAM-NH₂ que devem ser feitas a frio e que a adição de PEG-SH deve ser feita 4 horas após a adição do outro polímero. Todas as soluções preparadas devem ser guardadas em geladeira. Para a purificação das nanopartículas e remoção do excesso de polímeros, as dispersões obtidas foram centrifugadas (nas condições já citadas acima) em três etapas. Entre cada etapa era feita uma lavagem, na qual se completava o tubo novamente com água. Para a amostra contendo PAA-NH₂, após a centrifugação foi necessária a adição de 3 gotas de NaOH à dispersão devido a agregação percebida.

A caracterização das dispersões foi feita através da Espectroscopia Ultra-Violeta e Visível (UV-Vis) na qual o comprimento de onda da máxima absorção da banda de ressonância de plásmon, bem como a sua largura, dão informação de tamanho e forma das nanopartículas e da ocorrência de autoassociação. E do Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) que é uma técnica que fornece o raio hidrodinâmico, a polidispersão das nanopartículas de ouro e das estruturas de autoassociação formadas (antes e após o recobrimento).

As dispersões de nanopartículas com PAA-NH₂ e PAA-NH₂+PEG-SH foram analisadas em diversos valores de pH a partir da adição de gotas de HCl ou NaOH 0,1 mol L⁻¹. Já para as soluções de PNIPAM-NH₂, PNIPAM-SH, PAA-NH₂+PNIPAM-NH₂ e PNIPAM-SH+PEG-SH, além da variação de pH, também foram feitas análises em duas temperaturas: ambiente e aquecida (aproximadamente 40 °C). Tal metodologia foi utilizada para ambas técnicas. Algumas das soluções precisaram ser diluídas para que houvesse uma melhor resposta do equipamento.

Visando o diagnóstico da dengue o recobrimento será feito utilizando o PEG-SH com uma proteína não estrutural, NS1 ou anti-NS1, para atuar na detecção. O polietileno glicol (PEG) foi escolhido devido à sua hidrofiliabilidade e a capacidade de estabilizar as nanopartículas em água. As amostras de proteína foram recolhidas pelo grupo de apoio da Profª. Dra. Flavia Barretos dos Santos (Laboratório de Flavivírus- Fiocruz).

Conclusões

O estudo gráfico dos resultados permitiu que se concluísse que a síntese e recobrimento das nanopartículas foi bem-sucedido. O diâmetro medido da nanopartícula de ouro foi de 14,6 nm. Após o recobrimento, o deslocamento dos gráficos de distribuição de tamanho (por DLS) e da banda de ressonância de plásmos de superfície (por UV-Vis) permitiu observar a autoassociação das nanopartículas e a resposta de comportamento aos diversos estímulos (mudança de pH e temperatura). Tais respostas foram de acordo com o esperado, e observou-se que é possível controlar a formação de agregados com a variação de temperatura e pH.

Devido a esses resultados acredita-se que o recobrimento das NPs com PEG-SH e a proteína recolhida (um anticorpo de dengue) irá responder conforme o esperado, possibilitando uma plataforma alternativa para o diagnóstico precoce de dengue através de um método colorimétrico, simples, de alta sensibilidade, nacional e de baixo-custo.

Referências

- [1] LIZ-MARZÁN, L. M. Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles. *Langmuir* **22**, 32–41 (2006).
- [2] ROMO-HERRERA, J. M., Alvarez-Puebla, R. A. & Liz-Marzán, L. M. Controlled assembly of plasmonic colloidal nanoparticle clusters. *Nanoscale* **3**, 1304 (2011).
- [3] PERCEBOM, A. M. *et al.* Janus gold nanoparticles obtained via spontaneous binary polymer shell segregation. *Chem. Commun.* **52**, 4278–4281 (2016).
- [4] TURKEVICH, J., Stevenson, P. C. & Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 55 (1951).