SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EMPREGANDO EXTRATOS DE GARCINIA *Cochinchinensis*

Elisa Kawana Leal dos Santos (PIBIC/CNPq/FA/UEPG), Cássia Gonçalves Magalhães, Luma Clarindo Lopes, Christiana Andrade Pessôa.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Química Inorgânica, Determinação de Estrutura de Compostos Inorgânicos.

Palavras-chave: Garcinia *cochinchinesis*, nanopartículas de prata, 5-fluorouracil.

Resumo

O uso de nanomateriais mostra-se muito promissor, tendo-se como destaque as nanopartículas metálicas (MNps). Particularmente, as nanopartículas de prata (AgNps), apresentam atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antiviral. A produção das MNps utiliza produtos nocivos ao meio ambiente. Por isso, outros métodos de síntese vêm sendo criados, como o uso de extratos vegetais. O gênero Garcinia apresenta uma série de características que as apontam como um grupo em potencial para a utilização na síntese de AgNps. Com base nos estudos realizados foi possível comprovar a eficiência do extrato da Garcinia *cochinchinesis* na síntese de AgNps, bem como a utilização das AgNps obtidas para modificação de EPC.

Introdução

As nanopartículas metálicas (MNps) possuem uma série de propriedades que se diferem das apresentadas pelos mesmos materiais em escala macroscópica, tais como a sua biocompatibilidade, elevada área superficial e alta condutividade elétrica, as quais possibilitam uma série de novas aplicações (ALEXANDRIDIS, 2011). Um dos metais dos quais possibilitam a produção de MNps é a prata. Além das propriedades gerais das MNps já citadas, as nanopartículas de prata (AgNps) possuem uma série de propriedades específicas, tais como suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antivirais (RAMKUMAR, et al., 2017). A produção de nanomateriais pode ser muito poluente, em consequência do uso de substâncias potencialmente tóxicas durante o processo produtivo. A obtenção verde de AgNPs proporciona a produção de nanopartículas de maneira menos nociva (RAMKUMAR, et al., 2017). Esta visa a substituição dos reagentes de tóxicos utilizados por reagentes de fontes naturais. Dentre eles, temos os extratos vegetais, os quais atuam como agentes redutores e/ou estabilizantes (KHARISSOVA et al., 2013). Estudos fitoquímicos revelaram que as espécies do gênero Garcinia são ricas fontes de metabólitos secundários, incluindo flavonóides e biflavonóides, principalmente. Alguns destes compostos apresentam inúmeras atividades biológicas, entre as quais, anti-microbiana, anti-cancerígena, antioxidante, antihiperlipidêmica, anti-HIV e anti-inflamatória (KAI-WEI et al., 2012). Devido às suas propriedades, esse gênero apresenta potencial para utilização na síntese de AgNps, fazendo o papel tanto de agente redutor quanto de estabilizante.

ISSN 1676-0093

O medicamento 5-fluorouracil (5-FU) é um dos os fármacos mais utilizados para o tratamento quimioterápico. Com base nisso, este projeto teve como objetivo preparar e caracterizar nanopartículas metálicas de prata por meio de uma síntese verde, empregando-se o extrato de Garcinia cochinchinensis, e a aplicação das AgNps como agente modificador de eletrodos de pasta de carbono (EPC), visando o aumento na qualidade da detecção do 5-FU.

Material e Métodos

Para a síntese e caracterização das AgNPs-GAR foram preparadas soluções de concentração de 0,1 mg mL^{-1} de GAR e 0,5 mmol L^{-1} para o $AgNO_3$. Em seguida, a esta mistura foram adicionadas gotas de uma solução de NaOH 2,0 mol L^{-1} até atingir o pH 11,0. A reação foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo durante 10 minutos e observou-se a mudança de coloração do meio reacional de incolor para amarelo. A suspensão obtida foi caracterizada por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS), espalhamento dinâmico da luz (DLS) e determinação do potencial zeta (Potencial-ζ). A pasta de grafite não modificada foi preparada por meio da homogeneização de 50 mg de grafite em pó e 10 µL de óleo mineral (Nujol®). A pasta foi então devidamente introduzida e compactada na extremidade do corpo do eletrodo, resultando no EPC não modificado. A confecção dos eletrodos modificados (designados como EPC/AgNPs-GAR e EPCV/GAR) deu-se de maneira semelhante à dos não modificados, diferindo-se apenas na adição 25 µL da solução da GAR (de concentração 2 mg mL^{-1}), e secagem antes da etapa de homogeneização. As medidas eletroquímicas com os eletrodos foram realizadas à temperatura ambiente em uma célula convencional, a qual foram conectados três eletrodos, sendo empregados o EPC não modificado, o EPC/AgNPs-GAR ou EPC/GAR como eletrodos de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl como eletrodo de referência e um fio de platina como contra-eletrodo. A caracterização eletroquímica dos eletrodos foi realizada por meio das técnicas de voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), utilizando-se como eletrólito suporte uma solução equimolar de $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ 0,010 mol L^{-1} (sonda eletroquímica), preparada em tampão fosfato salino (PBS) 0,15 mol L^{-1} pH 6,5. Todas as medidas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato Autolab (modelo PGSTAT 100), controlado pelo software NOVA 2.1.3.

Resultados e Discussão

O espectro de UV-VIS das AgNPs otimizadas mostrou uma única banda por volta de 407,4 nm, correspondente ao efeito de ressonância plasmon de superfície, confirmando a presença de AgNPs em suspensão. A análise de DLS apresentou uma distribuição de tamanho unimodal, com um diâmetro hidrodinâmico médio de 17,09 nm e potencial zeta de -38 mV. Estudos de caracterização eletroquímica do EPC/AgNPs-GAR foram realizados por VC e EIE na presença de solução equimolar de $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$ 0,010 mol L^{-1} em tampão PBS pH 7,4. Realizou-se um estudo do preparo do EPC/AgNPs-GAR adicionando-se a 50 mg de grafite em pó diferentes alíquotas de AgNPs-GAR (250, 500, 750 e 1000 µL). Observou-se que o EPC modificado com 500 µL de AgNPs-GAR apresentou maior resposta de corrente, portanto esse foi o eletrodo empregado nos estudos subsequentes. Realizou-se uma comparação por VC e EIE entre e EPC sem modificação e um EPC modificado apenas com a GAR (EPC/GAR). O EPC não modificado apresentou uma corrente de pico anódico I_{pa}=55,00 µA e o EPC/GAR uma resposta de I_{pa}=64,38 µA. Já o EPC/AgNPs-

ISSN 1676-0093

GAR apresentou um I_{pa}=80 µA, indicando sua maior sensibilidade frente a sonda eletroquímica. Realizou-se essa mesma comparação entre os três eletrodos por EIE. Verificou-se que o EPC sem modificação e o EPC/GAR apresentaram valores resistência de transferência de carga (R_{ct}) de 1587,5 e 1344,0 Ω, respectivamente. Já o EPC/AgNPs-GAR apresentou um valor R_{ct} de 949,71 Ω, indicando que as AgNps proporcionam uma diminuição da resistência na interface eletrodo-solução, favorecendo o processo de transferência de elétrons. O melhor desempenho eletroquímico do EPC/AgNPs-GAR em relação ao EPC sem modificação e o EPC/GAR pode ser atribuído a elevada área superficial e a elevada condutividade apresentada pelas AgNPs. Foi realizado um estudo comparativo por VC entre o EPC, o EPC/GAR e o EPC/AgNPs-GAR na presença do 5-FU. O voltamograma para o EPC/AgNPs-GAR na presença do analito apresentou maiores valores de I_{pa} (11,06 µA) comparando-se com o EPC/GAR (I_{pa}=3,29 µA) e com o EPC sem modificação (I_{pa} =3,02 µA). Além disso, uma redução no valor de E_{pa} foi obtida para o EPC/AgNPs-GAR (E_{pa} = 1,13 V) comparando-se com o EPC/GAR (E_{pa} = 1,15 V) e com o EPC não modificado (E_{pa} = 1,18 V), respectivamente. A fim de que a influência do pH do meio fosse avaliada, e para que se encontrasse um valor de pH ótimo para as análises subsequentes, estudos de voltametria de onda quadrada (VOQ) com o EPC/AgNPs-GAR foram realizados na presença de 4,76 x 10^{-4} mol L^{-1} de 5-FU utilizando-se o tampão BR 0,04 mol L^{-1} como eletrólito de suporte, variando o valor de pH na faixa de 2,0 a 12,0. O 5-FU apresentou resposta voltamétrica sobre o EPC/AgNPs-GAR para toda a faixa de pH estudada, sendo que um máximo de corrente foi obtido em pH 8,0. Assim, todas as análises posteriores foram realizadas neste pH, devido à melhor resposta de corrente obtida. Observou-se que houve um deslocamento no valor de E_{pa} para valores menos positivos de potencial com o aumento do pH do eletrólito suporte. Este deslocamento pode ser justificado com base no fato de que prótons estão envolvidos na reação de oxidação do 5-FU. Neste sentido, pode-se afirmar que em pHs mais básicos tal desprotonação ocorre mais facilmente, como consequência deste fato, o analito será oxidado em um potencial mais baixo. Uma relação linear foi observada entre o Epa e o pH do eletrólito suporte, com uma inclinação igual a -66,0 mV pH^{-1} (Epa (vs. Ag/AgCl) = 1,63 – 0,066 pH; R = 0,992). Este valor aproxima-se da inclinação nernstiana teórica de -59,0 mV pH-1 para mecanismos em que o número de prótons e elétrons transferidos no processo é o mesmo. (CALAÇA et al., 2016). A fim de que uma maior intensidade de corrente fosse alcançada para a determinação do 5-FU com o EPC/AgNPs-GAR, os parâmetros instrumentais da VOQ tais como amplitude de pulso (a), incremento de potencial (ΔEs) e frequência (f) foram otimizados por meio de um planejamento fatorial Box-Behnken com triplicata no ponto central. Empregou-se para a otimização uma concentração fixa de 4,76 x 10-4 mol L-1 mV, f = 85 Hz e ΔEs de 5-FU, em solução tampão BR em pH 8,0. As condições ótimas obtidas foram a = 80 = 17 mV.

Após a otimização das variáveis experimentais (pH e parâmetros da VOQ), curvas analíticas foram obtidas para a 5-FU empregando-se o EPC/AgNPs-GAR utilizando-se a VOQ, na faixa de concentração de 3,0 x 10^{-5} a 3,0 x 10^{-4} mol L^{-1}. A corrente de pico anódica foi linearmente dependente da concentração de 5-FU correspondente à equação I (µA) = -1,059 + 106632,08 [5-FU], R = 0,99805. Os valores de LD e LQ obtidos foram 0,76 µmol L^{-1} e 2,53 µmol L^{-1}, respectivamente. A possibilidade de aplicação do EPC/AgNPs-GAR para a determinação de 5-FU em amostra de formulação farmacêutica comercial foi avaliada a partir da realização de ensaios de recuperação por VOQ empregando amostras do medicamento FAULDFLUOR® (5-fluorouracil 50 mg mL-1), na forma de solução injetável. Para este estudo, empregou-

se a equação da reta obtida anteriormente na curva analítica. Foram adicionadas alíquotas de uma solução estoque preparada anteriormente da formulação comercial, correspondendo a concentração final de 5-FU de 1,92 x 10^{-4} mol L^{-1}. Registrou-se o valor de corrente para cada adição e posteriormente, verificou-se se a concentração obtida através da equação da reta era próxima ao valor adicionado. Os resultados obtidos para a análise da formulação farmacêutica confirmaram a exatidão da metodologia voltamétrica desenvolvida. Níveis de recuperação variando entre 99,74 a 100,00 % foram obtidos para a determinação do 5-FU na amostra analisada com o EPC/AgNPs-GAR. Além da exatidão apresentada, ressalta-se o bom nível de precisão, uma vez que os desvios padrões relativos (DPR) resultaram em valores abaixo de 5%.

Conclusão

Os resultados obtidos permitiram concluir que a modificação dos EPCs com o nanocompósito AgNPs-GAR ocasionou um incremento significativo em seu desempenho eletroquímico, como consequência da pronunciada condutividade elétrica e da elevada área superficial apresentadas pelo nanomaterial. A metodologia voltamétrica desenvolvida com o eletrodo modificado para a determinação de 5-FU mostrou resultados promissores, de modo que a mesma pode ser considerada uma alternativa simples, rápida e eficiente a ser aplicada no controle de qualidade de medicamentos quimioterápicos que possuam o fármaco estudado em sua formulação.

Agradecimentos

À UEPG e ao GDEM.

Referências

ALEXANDRIDIS, P. Gold nanoparticle Synthesis, morphology control, and stabilization facilitated by functional polymers. Chemical Engineering and echnology, v. 34, n. 1, p. 15-28, 2011.

CALAÇA, G. N.; MACHADO, S.; WOHNRATH, K.; PESSOA, C. A.; NAGATA, N. Simultaneous electroanalytical determination of depigmenting agents in skin-whitening products. Journal of the Electrochemical Society, v. 162, n. 12, H847-H851, 2015.

RAMKUMAR, S. R. S.; SIVAKUMAR, N.; SELVAKUMAR G.; SELVANKUMAR, T.; SUDHAKAR C.; ASHOKKUMAR, B.; KARTHI, S. Green synthesized silver nanoparticles from Garcinia imberti bourd and their impact on root canal pathogens and HepG2 cell lines. The Royal Society of Chemistry. v. 7, p. 34548- 34549, 2017.

SUKATTA, U.; TAKENAKA, M.; ONO, H.; OKADOME, H.; SOTOME, I.; NANAYAMA, K.; THANAPASE, W.; ISOBE, S. Distribution of major xanthones in the pericarp, aril, and yellow gum of mangosteen (Garcinia mangostana Linn.) fruit and their contribution to antioxidative activity. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, London, v. 77, n. 5, p. 984-7, May. 2013.