



Universidade de Brasília - UnB  
Faculdade de Ceilândia  
Curso de Farmácia  
Naiara Teodosio Dos Santos

# **Nanopartículas de ouro como sistema de liberação de droga associada a Berberina : síntese e caracterização.**

Ceilândia, 19 de julho de 2013

---

**Profº Dr. Araken dos Santos Werneck Rodrigues**  
**Orientador**



*Prof.ª Dra. Claire N. Lunardi Gomes*  
**Universidade de Brasília**  
**Faculdade de Ceilândia**  
**Matricula: 1026275**

---

**Profº Dra. Claire Nain Lunardi Gomes**  
**Co-Orientadora**



Universidade de Brasília - UnB  
Faculdade de Ceilândia  
Curso de Farmácia  
Naiara Teodosio Dos Santos  
Profº Dr. Araken Dos Santos Werneck Rodrigues – Orientador  
Profº Dra. Claire Nain Lunardi Gomes – Co-Orientadora

## **Nanopartículas de ouro como sistema de liberação de droga associada a Berberina : síntese e caracterização.**

Ceilândia, 19 de julho de 2013

## SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO COM REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
JUSTIFICATIVA	20
OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	20
METODOLOGIA	21
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	28
CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

## **RESUMO**

As nanopartículas de ouro (AuNp) tem atraído um interesse considerável nos últimos anos para aplicação potencial em áreas biológicas e médicas, tais como biossensor, entrega de drogas e construção de novos modelos moleculares devido às suas propriedades físicas e químicas únicas dependentes da forma e sua interessante propriedade tamanho-dependente. Os procedimentos mais usados extensivamente em soluções aquosas para preparar AuNp para a pesquisa biológica e médica são variações do Turkevich-Frens rota clássica de redução do citrato. A modificação da superfície da AuNp foi realizada através da adição de ácido tioglicólico (AuNp-TGA). Berberina é um alcaloide que tem uma longa história na medicina tradicional chinesa. Várias ações farmacológicas foram descritas para Berberina. A ação hipotensiva da Berberina tem sido atribuída à sua capacidade para aumentar o efeito hipotensor da acetilcolina. Neste trabalho, a Berberina foi utilizada como uma droga modelo para estudar a sua interação com a superfície modificada AuNp-TGA. A modificação da superfície de AuNp com ácido tioglicólico, impede a agregação das nanopartículas e permite uma maior interação com a Berberina à sua superfície. Este resultado pode ser observado através do aumento em 383% de adsorção de Berberina em comparação com AUNP não modificado.

### **Palavras-chaves:**

Nanopartículas de ouro; Berberina; Ácido tioglicólico

## **ABSTRACT**

Gold nanoparticles have attracted considerable interest in the past few years for potential application in biological and medical fields, such as biosensor, drug delivery and molecular imaging due to their unique physical, their interesting shape-dependent and size-dependent physical and chemical properties. The most extensively used procedures in aqueous solutions to prepare AuNp for biological and medical research are variations of the classic Turkevich–Frens citrate reduction route. The surface modification of AuNp was performed adding thioglycolic acid (AuNp-TGA). Berberine, an alkaloid has a long history in traditional chinese medicine. Various pharmacological actions have been described for berberine. However, only limited information has been published on the possible beneficial effects of berberine and related compounds in the cardiovascular system. The hypotensive action of berberine has been attributed to its ability to enhance the hypotensive effect of acetylcholine. In this work, berberine was used as a model drug to study the its interaction to surface modified AuNp-TGA. The modification on the surface of AuNp with thioglycolic acid prevents the nanoparticle aggregation and allowed a greater interaction with berberine to its surface. This result can be observed by the increase in 383% adsorption of berberine compared to AuNp not modified.

### **Key-Words:**

Gold Nanoparticles; Berberine; thioglycolic acid

## **Introdução com Revisão Bibliográfica**

O advento da nanotecnologia fomentou a ciência com diversas pesquisas e técnicas. Para tanto, faz-se necessário identificar o real sentido da palavra nanotecnologia. O termo foi introduzido pelo engenheiro japonês Norio Taniguchi (1974), designando uma nova tecnologia, que ia além do controle de materiais e da engenharia em microescala. Entretanto, o significado do termo atualmente se aproxima mais da formulação de Eric Drexler (1992), que corresponde à metodologia de processamento envolvendo a manipulação átomo a átomo. A nanociência se refere ao estudo do fenômeno e da manipulação de sistemas físicos que produzam informações significativas, em uma escala conhecida como nanométrica ( $10^{-9}$  m). (DREXLER, 1992) Assim, como relata Alencar (2008) a Nanotecnologia é um termo genérico para um conjunto de tecnologias, técnicas e processos para a preparação, caracterização, manipulação e controle de átomos ou moléculas para construir novos materiais em escala de nanômetros, com novas propriedades inerentes as suas dimensões.

Com o surgimento da nanotecnologia, um novo foco foi conferido à dimensão dos materiais utilizados. O fundamento desta área é a existência de dependência entre a escala de tamanho e as propriedades da matéria (ALENCAR; BOCHNER; DIAS, 2013). Tais características induzem ao crescimento dos estudos nesta área. Segundo Alencar, Bochner e Dias (2013) existem hoje no Brasil um total de 878 grupos de pesquisa na área da nanociência, sendo 85 em Ciências da Saúde, com forte predominância da subárea de Farmácia. A Farmácia lidera as pesquisas no Brasil, com 73% dos grupos de pesquisa, seguida pelas subáreas de Medicina e Odontologia com 9,5% cada e pela de Saúde Coletiva com 8%. Esta predominância pode ser explicada pelo envolvimento no estudo de nanopartículas e nanoestruturas para o desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos.

O presente trabalho está inserido nessa pesquisa e tem como foco a preparação e caracterização de nanopartículas metálicas. Recentemente, dentro da área de nanotecnologia, a preparação de nanopartículas metálicas ganhou grande interesse devido às particularidades de suas propriedades óticas, magnéticas, elétricas e catalíticas. Muitas dessas propriedades e suas possíveis aplicações são fortemente influenciadas pelo tamanho e pelas suas formas; esferas, varetas, discos, prismas, partículas. (ROLDÁN et al., 2005)

A nanopartícula de ouro (AuNp) está inserida no grupo das nanopartículas metálicas. As aplicações de ouro coloidal ou nanopartículas de ouro têm se expandido recentemente graças à geração de novos dispositivos ópticos e eletrônicos, bem como possibilitado a manufatura de sondas com habilidade para detecção e/ou reconhecimento de biomoléculas de interesse da clínica médica. (PEREIRA et al., 2007) A utilização do ouro em sistemas nanoestruturados é indicada, pois, o ouro passa por alterações em suas propriedades fundamentais ao ser nanoparticulado e isso o torna promissor para o uso em sistemas liberadores de drogas. Entretanto, uma das importantes características dessas nanopartículas é a elevada superfície em relação ao volume, o que lhes confere propriedades únicas, especialmente reatividade. (FERREIRA; RANGEL, 2009)

As nanopartículas de ouro são utilizadas em diversos produtos para administração tópica, oral ou intravenosa, mostrando alta eficiência e baixa toxicidade. Caballero e colaboradores (2005) obtiveram a patente número PI0502657-1 descreve nanopartículas de ouro modificada superficialmente por um derivado ditiol cuja extremidade oposta à superfície metálica está associada a um derivado de ciclodextrina, sendo capaz de encapsular fármacos para liberação de drogas.

Outras funções são conferidas as nanopartículas de ouro e são produtos de patentes. Algumas descrevem a produção de água compreendendo nanopartículas de ouro e de alimentos e bebidas, ambos derivados de tal composição. Tais nanopartículas atuam suprimindo a liberação de espécies reativas de oxigênio por neutrófilos celulares. Outras descrevem uma composição inotrópica ou antiarrítmica usando drogas antimuscarínica, sem toxicidade cardíaca compreendendo nanopartículas de ouro associadas à colina.

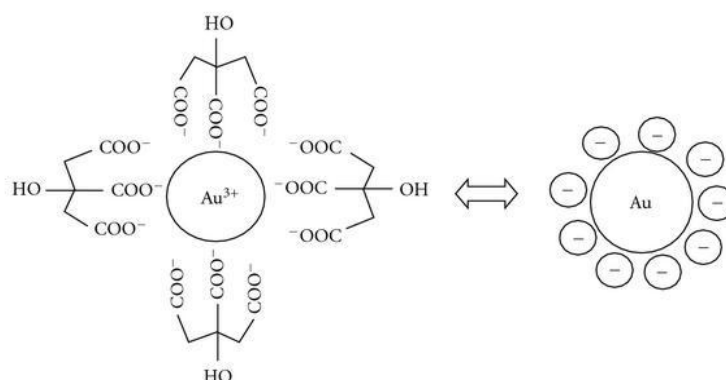
Tais patentes comprovam a propriedade da nanopartícula de ouro de funcionar como sistema de liberação controlada (*drug delivery*). A tecnologia de liberação controlada de fármacos representa uma das fronteiras da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares e pode contribuir muito para o avanço da saúde humana. Os sistemas de liberação de drogas oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de administração convencional, como a liberação progressiva e controlada do fármaco, diminuição significativa da toxicidade, e maior tempo de permanência na circulação sanguínea e uma



administração segura; o que evita reações inflamatórias locais, permite o uso de doses menores com direcionamento a alvos específicos e ainda a possibilidade de incorporação tanto de substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas. (DURÁN; AZEVEDO, 2002)

Existem diversas técnicas para obtenção do ouro nanoparticulado. Tais técnicas são classificadas em métodos Físicos e Químicos. Dentre os métodos Físicos estão incluídos o processo de condensação do ouro, a irradiação de placas de ouro metálico com laser em 532 nm e o uso de gradiente de temperaturas. Já os métodos Químicos são aqueles que permitem a formação de partículas menos dispersas e de tamanho controlado. Faraday em 1857 realizou uma reação que envolve a redução de um sal de metal na presença de um agente estabilizante. J. Turkevich e colaboradores, além de Brust et al. pesquisaram uma variedade de métodos para a síntese de nanopartículas metálicas, seguidos por G. Frens, que desenvolveu métodos para controlar o diâmetro das nanopartículas de ouro mediado pela concentração do citrato. (BONIFÁCIO, 2005)

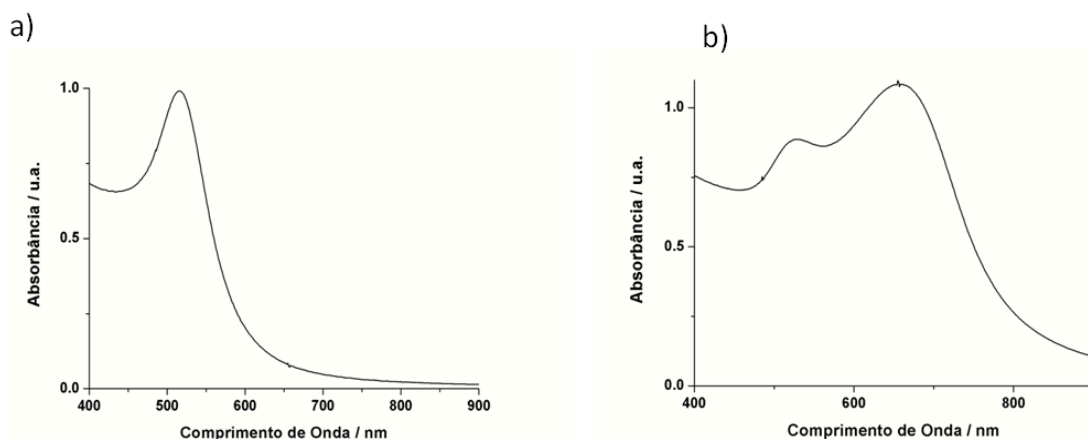
Um dos métodos para produzir nanopartícula de ouro foi desenvolvido por Brust et al. e somou-se ao elenco dos trabalhos que alavancaram o desenvolvimento dos estudos experimentais das AuNp, por permitir a obtenção de nanopartículas com um tamanho reduzido e uma estreita distribuição de tamanhos. Tal método foi inspirado na síntese de Faraday, utilizando NaBH<sub>4</sub> como agente redutor e alcanotóis de cadeia longa como agentes passivantes em um meio bifásico de tolueno e água (BRUST et al., 1994). Mas o principal método para a síntese de nanopartículas de ouro foi o desenvolvido por Turkevitch et al. que baseia-se na redução e estabilização das nanopartículas pelo íon citrato. (Fig. 1) Para que as AuNp se mantenham estáveis e dispersas em uma suspensão é essencial a presença de uma camada estabilizante, que evite a aglomeração, seja por repulsão eletrostática ou por impedimento estérico. (TURKEVICH; GARTON; STEVENSON; 1954.)



**Figura 1-** Representação esquemática da AuNp produzida pelo método de Turkevitch

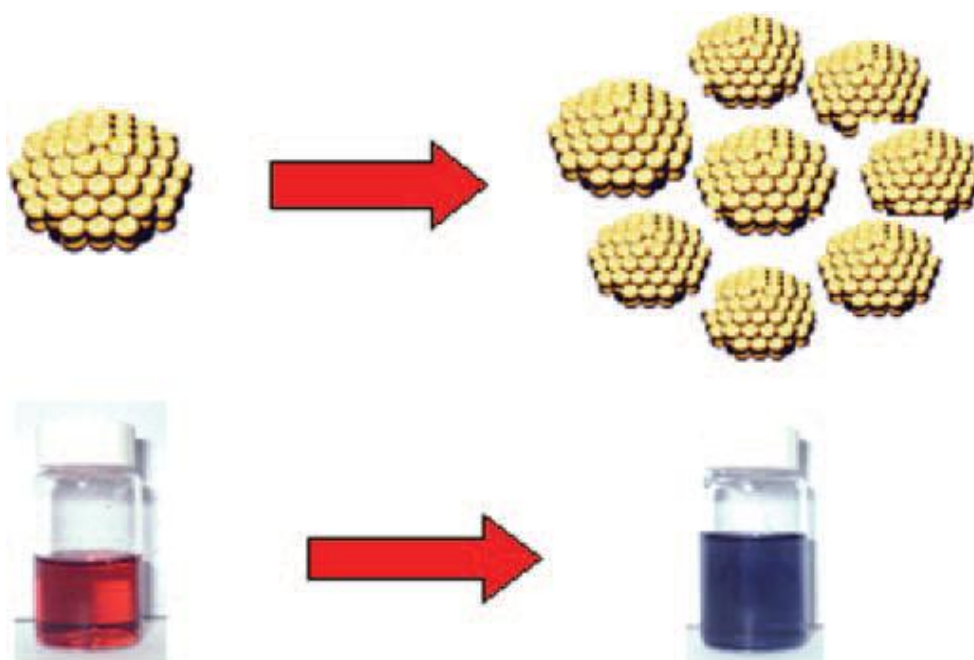
FONTE: TURKEVICH; GARTON; STEVENSON; 1954

A agregação é facilmente reconhecida pelo deslocamento da banda de plasmons para regiões de menor energia (Fig. 2). Plasmons são oscilações coletivas de elétrons livres, isto é, pacotes de energia que flutuam sobre a superfície de um metal, neste caso o ouro, e interferem em propriedades eletrônicas e ópticas (BONIFÁCIO, 2005). Sendo assim, esse processo interfere na cor que as nanopartículas de ouro apresentam. A energia de transição eletrônica, ou seja, a cor das nanopartículas depende da densidade de estados eletrônicos e do tamanho das nanopartículas. Com dimensões entre 2 e 40 nm, as nanopartículas de ouro apresentam intensa coloração vermelha (Fig. 3), devido a transições entre as bandas eletrônicas que acomodam os elétrons superficiais (bandas de plasmons superficiais). Entretanto, em tamanhos maiores as nanopartículas passam a exibir uma coloração tendendo ao violeta (Fig. 3), devido ao aumento na densidade de estados eletrônicos e conseqüente diminuição da energia de transição entre as bandas. (TOMA; BONIFÁCIO, 2005)



**Figura 2 - a)** Espectro eletrônico de AuNps **b)** Espectro de agregados de AuNps em suspensão, mostrando uma nova banda em 650 nm.

FONTE: (BONIFÁCIO, 2005)



**Figura 3 -** Mudança na coloração de uma suspensão de nanopartículas de ouro em água devido ao processo de agregação. As imagens mostradas foram obtidas por fotografia digital

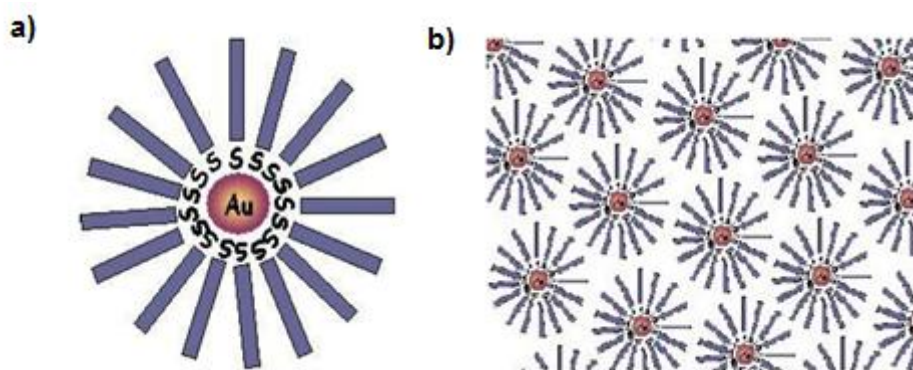
FONTE: TOMA; BONIFÁCIO, 2005

Dentre estes métodos o de Turkevitch com algumas modificações foi aplicado na realização deste trabalho de conclusão de curso. Este método consiste na redução de íons  $\text{AuCl}_4^-$  por citrato em meio aquoso. Essencialmente sendo um processo apresentado como uma mistura de ouro e citrato, em meio aquoso, sob aquecimento e agitação. Alguns procedimentos no preparo tornam-se importantes

uma vez que influenciam na distribuição do tamanho das nanopartículas. São estes: a taxa de agitação, a temperatura, a razão entre o ouro e o citrato e a ordem de agitação dos reagentes. O citrato além de promover a redução também atua como um estabilizante por meio da repulsão eletrostática (KIMLING et al., 2006)

Entretanto, o citrato não é tão eficaz nessa estabilização. Ele é um fraco agente passivante. Para nanopartículas feitas através da redução de borohidreto de sódio utiliza-se tetradecano, octadecano ou dodecano tióis. Outro fator importante é que a resposta biológica pode ser alterada usando agentes de proteção, tal como polietilenoglicol (PEG), ácido mercaptoderivado, várias proteínas, ou outras biomoléculas. Tal funcionalização levou a um grande esforço de investigação das AuNp como transportadores para uma gama de biomoléculas e drogas. (MANSON et al., 2011) Além disso, devido a seu caráter ácido mole o ouro é capaz de ligar-se a grupamentos tióis, permitindo o desenvolvimento de sistemas metalorgânicos de alta complexidade. Aliando tal propriedade a suas características optoeletrônicas, abre-se um amplo leque de possibilidades de aplicação em nanotecnologia molecular, principalmente em sensores químicos e biológicos. (TOMA; BONIFÁCIO, 2005)

Os mercaptoderivados passíveis de utilização no processo de obtenção do complexo apresentado são quaisquer compostos orgânicos que contém ao menos uma função mercapto (-SH) ou um grupo tiocarbonila (C=S). Tais derivados são responsáveis pela modificação superficial da nanopartícula a partir da interação do átomo de enxofre presente na substância com a superfície do ouro nanoparticulado (Fig.4).



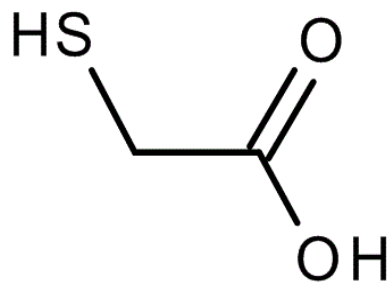
**Figura 4** - Esquema de (a) uma nanopartícula de ouro recoberta por uma monocamada de moléculas estabilizantes (tioladas) e (b) dispersão de nanopartículas.

FONTE: OTUBO, 2009

A relativa simplicidade processual oculta a complexidade das interações intermoleculares (tiol-substrato) cujo balanço global determina a formação das monocamadas, quer cineticamente quer a nível estrutural. Existe assim, a possibilidade de estabilizar AuNp com tióis o que permite a obtenção de estruturas complexas funcionalizadas com interesse e aplicabilidade no domínio das nanociências e nanotecnologias. A ação de um passivante na solução de síntese é fator importante tanto na proteção, prevenindo a agregação, como no controle das propriedades das nanopartículas. A interação estabilizador/AuNp, pode ser diversa, desde simples adsorção física a interações químicas mais fortes, como a adsorção química. (FERREIRA; SILVA; ABRANTES, 2008)

Essa facilidade na interação entre o ouro e o enxofre permite algumas aplicações específicas, por exemplo, a utilização das nanopartículas de ouro na identificação de aminotióis presente na amostra de sangue/plasma. Alguns destes aminotióis são importantes marcadores de doenças causadas por desordem metabólicas seja adquirida ou herdadas. Por exemplo, a deficiência em cisteína está envolvida em muitas síndromes como baixo crescimento, edema, doenças no fígado e lesões na pele. A homocisteína é outro marcador que pode ser identificado no plasma através de nanopartículas de ouro. O aumento desse marcador está relacionado a um fator de risco independente para a doença oclusiva prematura nas artérias coronárias, cerebral e periférica, e trombose venosa. Hoje em dia, para a análise destes fatores são utilizados a química redox, derivação com cromóforos e fluoróforos e métodos de fluorescência. Sendo que as nanopartículas de ouro com um indicador específico, como o vermelho neutro, apresentam tais resultados com mais precisão. (CHEN; CHANG, 2004)

Para o presente complexo o mercaptoderivado escolhido como passivante das AuNp foi o ácido tioglicólico (TGA). Essa substância é um composto orgânico, líquido, com fórmula química  $\text{HSCH}_2\text{COOH}$  (Fig.5), apresentando um ácido carboxílico e um grupamento tiol (mercaptano).



**Figura 5** - Ácido Tioglicólico utilizado como passivante das AuNp

FONTE: MERCK KGAA, 2013

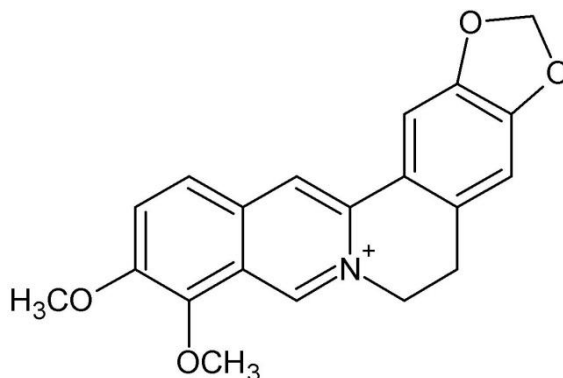
Essa formulação tem a pretensão de manter o tamanho reduzido das nanopartículas e impedir ou diminuir a aglomeração entre as partículas metálicas.

O ácido tioglicólico foi utilizado em nanopartículas de prata esféricas com um diâmetro de cerca de 17 nm preparados por uma reação simples. As nanopartículas de prata obtidas foram uniformes e mostrou pouca variação em seus tamanhos. Este colóide de prata pode manter-se estável durante várias semanas, o que é conveniente para utilização clínica (LI et al., 2003)

Já existem muitos estudos que apresentam as nanopartículas de ouro modificadas superficialmente com mercaptoderivados (CHEN et al., (2007) e MURUGADOSS; KHAN; CHATTOPADHYAY, (2010)

A essas AuNp passivadas com mercaptoderivados são inseridas substâncias para uma ação pré-definida. Dentre as opções este presente trabalho desenvolveu um estudo com a berberina.

A Medicina alternativa chinesa e indiana utiliza um composto encontrado em raízes, rizomas e caule de plantas com ação antihipertensiva. Este composto é chamado Berberina, um sal de amônio quaternário do grupo dos alcaloides isoquinolinas. Seus derivados podem ser encontrados em plantas como: *Coptis chiensis*, *Rhizoma coptidis*, *Hydrastis canadensis*, *Berberis aquifolium*, *Berberis vulgaris*, *Berberis aristata*, *Tinospora cordifolia*, *Copthidis rhizome*, *Arcangelisia flava* e *Cortex rhellodendri* (CICERO; ERTEK, 2009). A figura 6 mostra o cátion orgânico que caracteriza a berberina.



**Figura 6** - Cátion orgânico que caracteriza a Berberina

FONTE: SIGMA-ALDRICH CO. LLC., 2013

A substância possui coloração amarelada e, sob luz ultravioleta, produz uma forte fluorescência na região da cor amarela. Ela apresenta uma baixa biodisponibilidade e má absorção na parede do intestino. A glicoproteína P do intestino pode contribuir para a má absorção já que ela expulsa o alcaloide das células da mucosa do lúmen do intestino. Em um modelo com ratos, a berberina não ligada é transportada para a bile através de transporte ativo e metabolizada pela enzima p450 no fígado. (CICERO; ERTEK, 2009).

Este composto é usualmente utilizado para diversas ações, tais como: o tratamento de doenças metabólicas associadas a risco elevado de doença cardiovascular, como hiperlipidemia mista, resistência à insulina, síndrome metabólica e diabetes tipo 2. Além disso, a berberina e seus derivados também exercem uma ação anti-inflamatória (CICERO; ERTEK, 2009).

Estudos mostram que a berberina e seus derivados apresentam propriedades inotrópica positiva, cronotrópica negativa, antiarrítmica e vasodilatadora. As propriedades inotrópica positiva, cronotrópica negativa e antiarrítmica podem ser atribuídas ao bloqueio de canais de  $K^+$  e a estimulação de canais de  $Na^+$  e  $Ca^{2+}$ . A berberina atua seletivamente aumentando o potencial de ação dos miócitos cardíacos e isso promove a ampliação da duração do influxo de Cálcio transmembrana através dos canais de Cálcio e por ter mais  $Ca^{2+}$  no interior da célula há um aumento da contratibilidade cardíaca. Outro campo de atuação será através

da inibição da fosfodiesterase cardíaca. Já para os efeitos vasodilatadores e hipotensores os mecanismos envolvem o melhoramento do efeito hipotensor da acetilcolina. Este melhoramento é atribuído à inibição da acetilcolinesterase e em músculo liso não vascular a efeitos antimuscarínicos. Ainda existem estudos que sugerem que a berberina é um antagonista  $\alpha$  adrenérgico. (LAU et al., 2001).

Já é de conhecimento que a berberina em baixas concentrações promove uma ação vasorrelaxante que depende do endotélio, diferente da administração em grandes concentrações. Assim, é provável que a berberina atue tanto em células musculares lisas, quanto no endotélio. Outros mecanismos também são propostos e estes dizem que a berberina aumenta a expressão do RNA mensageiro da enzima óxido nítrico sintase (eNOS). (KO et al. 2000).

Portanto, com base nos dados apresentados acima e tendo em vista a revisão bibliográfica para preparação deste trabalho de conclusão de curso as AuNp passivadas com TGA e adsorvidas à Berberina formam um complexo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos anti-hipertensivos. Outra questão importante é que estamos diante de um complexo inédito. Fato este que ocasionou o depósito de pedido de Patente de Invenção “Composição à Base de Berberina e/ou ao Menos um de Seus Derivados, em Associação à Nanopartículas de Ouro, Seu Processo de Obtenção e Suas Aplicações”, de titularidade da Fundação Universidade de Brasília - FUB e da Universidade de São Paulo - USP, sob o nº BR 10 2012 019716 2.

A presença da berberina associada ao ouro nanoparticulado traz benefícios para o tratamento terapêutico. Um deles é a capacidade de carrear mais fármaco, além de diminuir a toxicidade e promover uma liberação gradual e direcionada da droga. Outra vantagem desse complexo AuNp-TGA-Berberina é a facilidade de observar e caracterizar através de métodos indiretos, como a espectrofotometria UV-Vis, determinação do diâmetro hidrodinâmico e potencial zeta.

Por meio da espectrofotometria, componentes desconhecidos de uma substância podem ser identificados por seus espectros característicos ao ultravioleta, visível, ou infravermelho. Quando um feixe de luz monocromática atravessa uma substância, parte da luz é absorvida e o restante é transmitido. A absorção de luz depende basicamente da concentração das moléculas absorventes e da espessura do material analisado (caminho óptico). A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) utiliza radiação eletromagnética



cujos comprimentos variam entre 200 a 780 nm. A um nível fundamental, os espectros de absorção óticos fornecem informações sobre a densidade de elétrons, do tamanho e da estrutura. Assim, para essas nanopartículas metálicas, a espectroscopia UV-VIS é uma ferramenta indispensável para iniciar a sua caracterização. (CUADROS, 2012) Os valores da absorbância de qualquer substância ainda têm a capacidade de fornecer dados importantes, como a sua concentração. Para calcular a concentração das substâncias analisadas foi utilizada a seguinte equação:

$$A = \frac{\log I_0}{I} = \varepsilon \times b \times c \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

A= Absorbância, calculada em 529 nm;

I<sub>0</sub>= intensidade de energia radiante que incide na amostra;

I= é a intensidade de radiação emergente da amostra;

ε = absorbitividade molar em unidades de L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>;

b= caminho ótico da amostra, cm;

c= concentração da amostra, expressa em mol L<sup>-1</sup>.

Esta relação também é conhecida como lei de Lambert-Beer.

As nanopartículas foram caracterizadas em termos de suas dimensões utilizando o equipamento Zetasizer Nano Series. Todas as soluções de nanopartículas foram avaliadas na ausência e presença de berberina. As medidas de distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas foram feitas pela medida do espalhamento dinâmico da luz das suspensões coloidais das nanopartículas. A técnica utiliza a passagem de um feixe de luz por uma amostra de suspensão coloidal adicionada a uma cubeta de plástico e posicionada no equipamento Zetasizer. O cálculo é baseado no espalhamento da luz laser, quando as partículas passam através de um movimento aleatório de forma frontal a fonte de luz. O espalhamento da luz devido a esta sobreposição de partículas confere o tamanho médio das partículas. Essa medida se refere como a partícula se difunde numa determinada solução e o tempo levado nessa difusão. Não é apenas a medida

do tamanho, mas avalia-se também o efeito da camada de cobertura adsorvida na superfície da partícula.

As medidas foram realizadas num ângulo fixo de  $173^\circ$  e a posição da medida na cubeta foi automaticamente determinada pelo software do equipamento, utilizando 25  $\mu\text{L}$  da solução em estudo em 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ .

O espalhamento dinâmico de luz (do inglês *Dispersion Light Dynamic*, DLS) é uma ferramenta importante para a caracterização de nanopartículas e outras soluções coloidais. DLS mede a luz dispersa a partir de um laser que passa através de uma solução coloidal. Ao analisar a modulação da intensidade da luz dispersa em função do tempo, a informação pode ser obtida com o tamanho da partícula em solução. Na medida são utilizados parâmetros como a função de autocorrelação DLS, que significa o atraso de tempo no qual a função diminui correspondente à taxa de difusão de nanopartículas. A análise baseia-se no movimento difusivo de partículas em solução (movimento Browniano), em que as partículas maiores se moverá mais lentamente e dispersará mais luz do que as partículas menores. O diâmetro hidrodinâmico pode ser calculado a partir da dependência do tempo nas medições da intensidade de espalhamento.

Tendo posse de todas essas informações, da nanopartícula de ouro passivada com ácido tioglicólico ou não, pode-se estimar o número de moléculas de berberina que ficam ao redor do ouro. Este cálculo é baseado no artigo de ZHANG et al. (2008) e TOM; PRADEEP,(2005) que desenvolveram uma equação para estimar as moléculas que ficam associadas às nanopartículas e, assim, ter parâmetro para avaliar a eficácia da modificação superficial.

Nestes cálculos foram utilizadas medidas de espectroscopia UV-Vis, tamanho e concentrações das soluções. A partir da síntese das AuNps com e sem TGA foram realizadas os cálculos das concentrações e obtenções dos parâmetros listados nas equações (Tabela 1), como  $V_p$ =volume das nanopartículas obtido a partir do cálculo do raio utilizando o tamanho via size. Com os valores de absorbância das nanopartículas de ouro contendo TGA/não e na presença de Berberina (Au, At,A). Assim, foi possível utilizando a equação  $N_t$ , calcularmos o número de moléculas adicionadas na cubeta contendo a solução de AuNP, e na sequência calcularmos os parâmetros de  $W_{au}$  e  $W_{np}$  que dizem respeito a massa formada de nanopartículas de Au (teórico) e sua relação com seu tamanho ( $W_{np}$ ) associando

os dados de size. Assim, finalmente após estes cálculos foi possível utilizando a equação 5 (Na) estimar o número de moléculas associadas as nanopartículas revestidas ou não com TGA.

**Tabela 1** - Equações e Símbolos dos cálculos para a determinação do número de moléculas associadas as AuNps.

<p>Concentração de Adsorvido (Ca)= Total da concentração utilizada para a realização da reação (Ct) – concentração não adsorvida (Cu).</p> <p>Fração da Molécula de VN adsorvida sobre a superfície das nanopartículas= Ca/Ct</p> <p>Número de nanopartículas adsorvidas sobre a superfície das nanopartículas</p> <p>(Na)= Nt X (Ca/ Ct).....(1)</p> <p>Concentração (C) é diretamente proporcional a absorbância da banda em 520 nm (A) no UV-vis</p> <p>Espectro , Ct <math>\propto</math> At (A absorbância da solução de VN)</p> <p>Similarmente, Ca <math>\propto</math> Aa (A absorbância da adsorção de VN)</p> <p>Assim, (Ca/Ct) = (Aa/ At).....(2)</p> <p>A partir de (1) e (2) (Na)= Nt X (Aa/ At).....(3)</p> <p>Aa= At – Au .....(4)</p> <p>A partir de (3) e (4) (Na)= Nt X ((At – Au/ At).....(5)</p>
--

FONTE: ADAPTADO DE ZHANG ET AL. (2008) E TOM; PRADEEP,(2005)

O estudo das nanopartículas de ouro tem grande relevância para o meio acadêmico, por tratar-se de um assunto com diversas técnicas a ser aprimoradas. Desde a década passada cresceu no meio científico este interesse em analisar as mudanças nas propriedades físicas de determinados sólidos quando estão em escala nanométrica. O fascínio por pesquisas nesta área só aumenta com a diversidade de aplicações que as AuNp pode apresentar, como: construção de sensores, microeletrônica, catálise, ação bactericida, células fotovoltaicas, drug delivery, sistema de liberação controlada de fármacos, entre outras. (MELO JR, ET AL, 2012)

Neste sentido, o presente trabalho de conclusão de curso traz uma importante contribuição para o meio científico, quando intensifica os estudos para melhor

caracterizar as nanopartículas e permitir, que após outros estudos, ela tenha aplicabilidade na terapêutica de doenças crônicas e agudas.

### **Justificativa**

As doenças cardiovasculares estão entre as mais prevalentes como a principal causa de mortalidade tanto no Brasil, como no mundo. Este grupo de doenças além de promover a incapacitação, leva ao óbito, e, como resultado, um custo associado alarmante para os países. Quando há o envolvimento de custos, a sociedade passa a conceder um devido valor a tal problema. Portanto, as doenças cardiovasculares são extremamente estudadas a fim de conseguir um plano terapêutico eficaz (MURRAY; LOPEZ, 1996). Os tratamentos já existentes para doenças cardiovasculares mostram se eficazes em diversas situações, mas podem trazer efeitos colaterais indesejados já que não são tão específicos, como os sistemas nanoparticulados.

Sendo assim, este trabalho buscou, mesmo que inicialmente, contribuir para o desenvolvimento de tratamentos mais específicos e eficientes.

### **Objetivos geral e específicos**

A Nanotecnologia é um tema que está em foco no momento. Muitas novidades vêm surgindo e é preciso o aluno de Farmácia se atualizar, já que este assunto tem sido utilizado para melhorar as propriedades dos fármacos, por exemplo.

O principal objetivo foi a preparação de nanopartículas de ouro (AuNp) revestidas com ácido tioglicólico (AuNp-TGA) que funcionam como carreador da Berberina. Esta técnica foi desenvolvida com a finalidade de começar as pesquisas visando desenvolver uma ótima alternativa na preparação de medicamentos para tratamento de doenças. Além de permitir a diminuição da insolubilidade e toxicidade dos fármacos integrados em meios biológicos pela associação a superfície metálica modificada e não ocorrência de aglomeração das moléculas do fármaco.

Dentre os objetivos específicos está a possibilidade de permitir ao aluno a prática laboratorial que inclui o aprendizado em diversos equipamentos de últimas geração como: NanoZetasizer da Marven Instruments e espectrofotômetro de feixe duplo da HITACHI U-3900H.

Tendo em vista o que já foi realizado nota-se que este trabalho de caracterização de nanopartículas de ouro é apenas o começo de uma busca pelo

aprimoramento dessas nanopartículas a fim de melhorar a terapêutica das doenças crônicas, como a hipertensão até as agudas, referindo-se ao câncer.

### **Metodologia**

As matérias primas utilizadas foram: solução de ácido tetracloroáurico  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (Dinâmica, P.A.); citrato de sódio (Sigma), ácido tioglicólico (Merck) e sulfato de Berberina (Sigma). Esses reagentes foram usados, sem tratamento prévio. Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura obtida através de filtragem pelo sistema Purelab Classic D, da Elga- Labwater.

O ouro nanoparticulado foi sintetizado a partir de 60 mL água ultrapura em um recipiente num equipamento que permita agitação e aquecimento simultaneamente. Ao recipiente contendo a solução aquecida e submetida à agitação, foram acrescentados 700  $\mu\text{L}$  uma solução de  $\text{HAuCl}_4$  0,1% além de 2000  $\mu\text{L}$  uma solução de citrato de sódio 1%. A mistura foi agitada por um período variável, pois é necessário avaliar a coloração obtida na amostra. Esta coloração deve ser de um vermelho-rubi. A síntese utiliza um método adaptado de preparação baseado em métodos já conhecidos (KIMLING et al., 2006).

A incorporação do passivante foi feita através de agitação magnética acrescentando ácido tioglicólico na forma de solução com a concentração de 5  $\text{mmol.L}^{-1}$  (a porção utilizada foi de 5 mL de solução de nanopartículas de ouro 2 % e 100  $\mu\text{L}$  de ácido tioglicólico). na forma de solução. Depois foram realizados métodos de caracterização que incluem espectrofotometria UV-Vis, determinação do diâmetro hidrodinâmico e potencial zeta.

Após a obtenção das nanopartículas de ouro modificadas superficialmente, foi realizada uma purificação destas. As nanopartículas de ouro foram centrifugadas durante 35 minutos a uma rotação de 14000 RPM. Um aglomerado de coloração vermelho-rubi foi formado ao fundo do recipiente tratando-se das nanopartículas de ouro. Após a retirada do sobrenadante, as nanopartículas podem ser ressuspensas, até o volume inicial (60 mL), em água, solução de NaCl a 0,9 % ou PBS (tampão fosfato-salino), dependendo da aplicação a qual a solução final for submetida. Após este preparo as nanopartículas estão prontas para a adição da solução contendo sulfato de berberina.

A incorporação de sulfato de berberina às nanopartículas de ouro foi realizado com pequenos volumes, sendo assim, 3 mL de nanopartículas de ouro foram

adicionadas a 60  $\mu\text{L}$  de sulfato de berberina na concentração de 1  $\text{mmol.L}^{-1}$ . A solução final AuNp-TGA-Berberina foi submetida a agitação constante e, após a agitação.

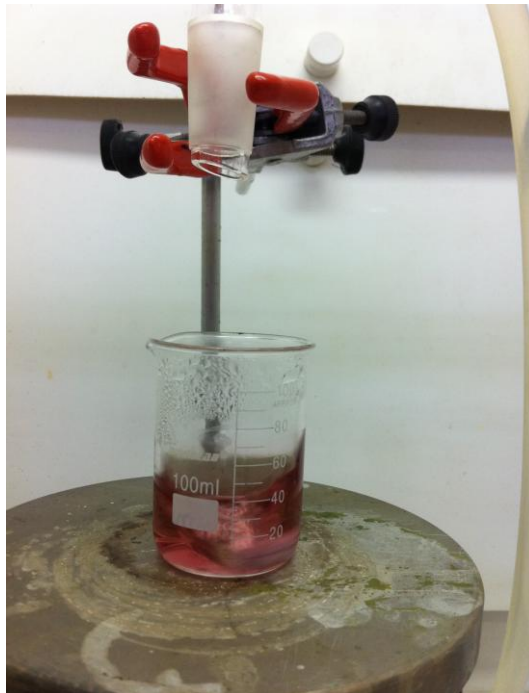
Para a caracterização da AuNp e AuNp-TGA foi utilizado o mesmo espectrofotômetro de feixe duplo HITACHI modelo U-3900H. A caracterização espectrofotométrica por UV-vis foi realizada para as diferentes formulações, que compreendiam: berberina; nanoestrutura de ouro; nanoestrutura de ouro associado a berberina; nanoestrutura de ouro com superfície modificada; e, nanoestrutura de ouro, com superfície modificada, associada a berberina. As medidas foram realizadas em meio aquoso com leitura entre 200-800 nm.

A análise da distribuição do tamanho das partículas foi realizada utilizando um equipamento de espalhamento dinâmico de luz NanoZetasizer da Marven Instruments, onde a fonte de luz (laser de 10 mW, He-Ne com comprimento de onda de 633 nm) foi posicionada em um ângulo fixo de  $172^\circ$ . A medida do potencial zeta foi realizada empregando o mesmo aparelho supracitado, onde, no interior da célula eletroforética, foram injetados 1 mL da suspensão coloidal. nanoestrutura de ouro (AuNP); nanoestrutura de ouro associado a berberina (AuNP-berberina); nanoestrutura de ouro com superfície modificada (AuNP-TGA) e nanoestrutura de ouro com superfície modificada associado a berberina (AuNP-TGA – berberina).

## **Resultados**

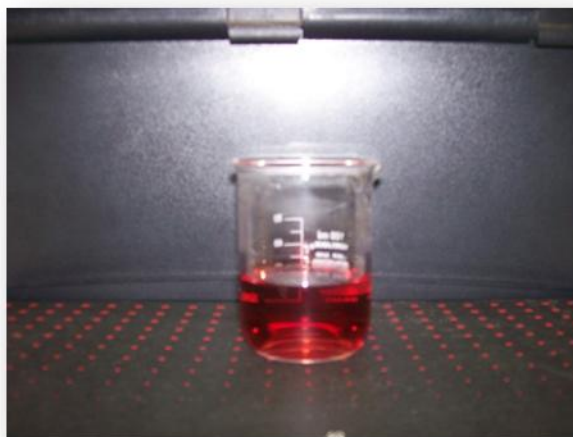
As nanopartículas de ouro uma vez preparadas, conforme o método de Turkevitch modificado (Fig. 7), foram caracterizadas utilizando espectroscopia no UV-Vis, tamanho size e potencial zeta. Esses resultados foram obtidos em situações de conservação em geladeira e a temperatura ambiente.

O ouro quando está nanoparticulado apresenta a coloração avermelhada para tamanhos entre 2 nm e 40 nm. (Fig. 8) Este tamanho foi obtido por intermédio do aparelho ZetaSizer Nano Series e o resultado é apresentado no gráfico do próprio aparelho. (Fig. 9)



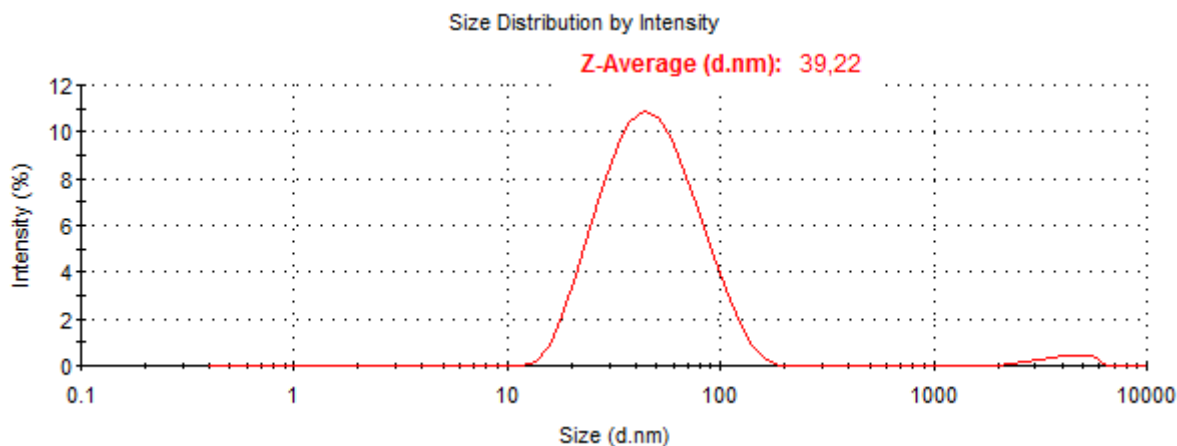
**Figura 7** - Método de Turkevitch modificado para preparação das AuNp's

FONTE: AUTORA 2013



**Figura 8** - Ouro nanoparticulado com 32,22 nm

FONTE: AUTORA 2013



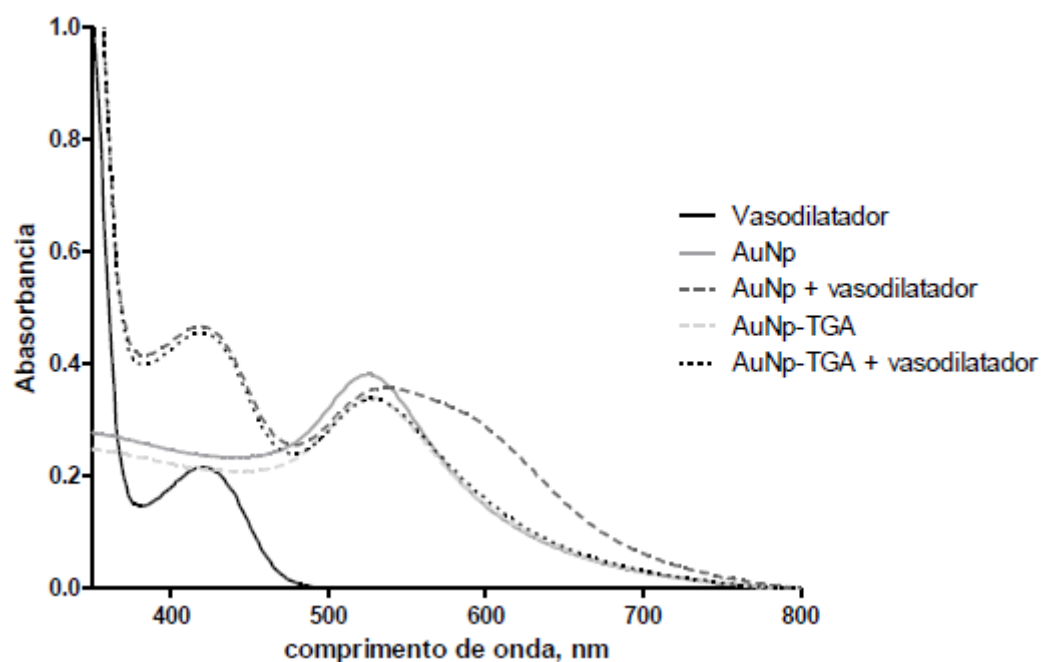
**Figura 9** - Gráfico do tamanho obtido através do aparelho Zetasizer Nano Series  
 FONTE: AUTORA, 2013

Antes da incorporação do passivante há a possibilidade de realizar estudos de estabilidade em alguns meios dispersantes. A água, o cloreto de sódio a uma concentração de 0,85% e PBS um tampão fosfato salino foram os meios utilizados para este estudo. Depois de centrifugado durante 35 minutos as nanopartículas de ouro formam um precipitado. Este precipitado foi ressuspensão nos devidos meios.

A esta amostra foi adicionado o ácido tioglicólico, como agente passivante. Depois foram realizadas medidas espectrofotométricas que caracterizaram a presença do ouro com a banda de absorção em 527 nm. Com a adição do ácido tioglicólico o comprimento de onda caracterizador não muda. A diferença se encontra na intensidade da absorbância que diminui.

Para melhor compreender a interação entre o ouro nanoparticulado e a droga de escolha, berberina, espectros em UV-Vis foram obtidos e os resultados estão na figura 10. O perfil espectral observado mostra que as nanopartículas de ouro (AuNP) possuem banda espectral característica na região de 500-700nm, sendo observado um deslocamento batocrômico com alargamento desta banda na agregação entre as partículas, isto é, na interação entre AuNP-Berberina sem a presença de passivante. Fato este, que não ocorre quando o ácido tioglicólico funciona como passivante do ouro.

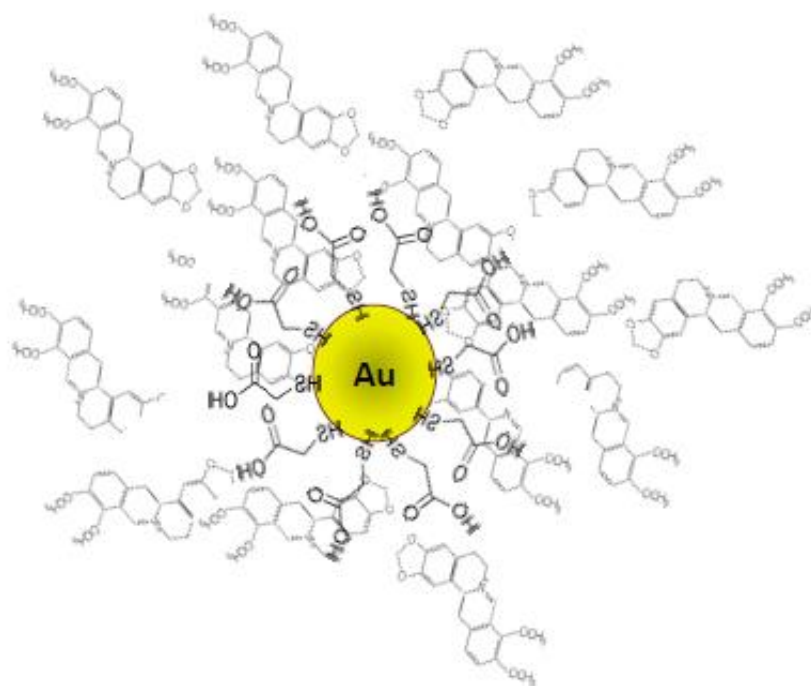




**Figura 10** - Espectro UV-Vis onde o vasodilatador é a Berberina

FONTA: AUTORA 2013

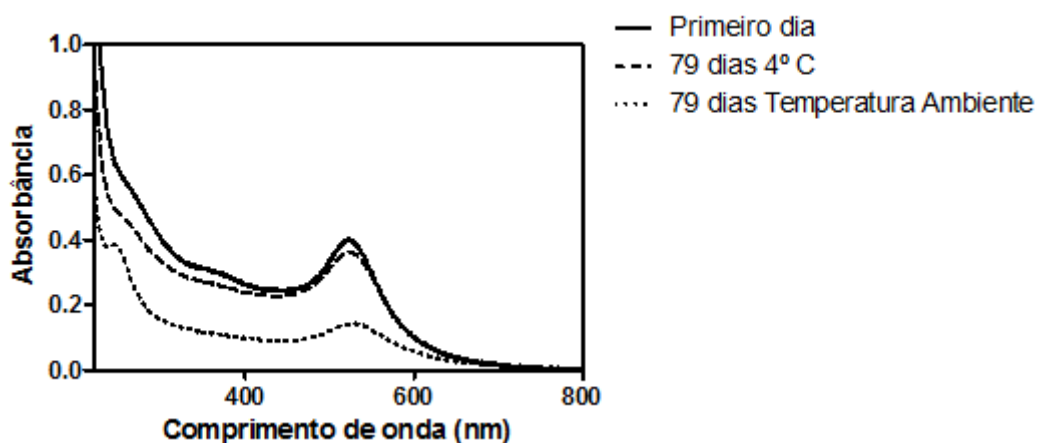
Em busca de um melhor entendimento da dinâmica de interações entre as substâncias envolvidas, desenvolveu-se uma representação esquemática das nanopartículas de ouro passivadas com ácido tioglicólico interagindo com a berberina. (Fig. 11)



**Figura 11** - Representação esquemática das AuNp-TGA-Berberina

FONTA: AUTORA 2013

As nanopartículas de ouro podem ser caracterizadas afim de encontrar a melhor maneira de armazenamento para o complexo desenvolvido. Durante 2 meses e 19 dias as AuNp preparadas foram armazenadas na geladeira (4°C) e à temperatura ambiente (21°C – 30°C).



**Figura 12** - Estabilidade das AuNPs em diferentes temperaturas por 79 dias de estocagem

FONTE: AUTORA 2013

A análise da distribuição do tamanho das partículas de nanoestrutura de ouro (AuNP); nanoestrutura de ouro associado a berberina (AuNP-berberina); nanoestrutura de ouro com superfície modificada (AuNP-TGA) e nanoestrutura de ouro com superfície modificada associado a berberina (AuNP-TGA - berberina). A distribuição de tamanho (DLS) mostrou valores médios distintos: AuNP =  $60,3 \pm 13$  nm, AuNP-berberina =  $1672 \pm 51$  nm, AuNP-TGA =  $116 \pm 1,6$  nm e, AuNP-TGA-berberina =  $604,5 \pm 19$  nm.

Por fim, tendo posse de todas essas informações foi desenvolvido o cálculo proposto por ZHANG et al. (2008) e TOM; PRADEEP,(2005) para calcular o número de moléculas de berberina associadas às nanopartículas de ouro modificadas ou não (Tab. 2)

**Tabela 2** - Cálculos para avaliar o número de moléculas de Berberina ao redor das nanopartículas de ouro (AuNp e AuNp-TGA)

<p>Concentração molar berberina (Ct): 4,00e-05 M</p> <p>Número de moléculas (Nt): 3,76e+16</p> <p>Concentração da absorvância da Berberina (Ca) = total da concentração utilizada na reação (Ct) – concentração não adsorvida (Cu)</p> <p>Fração de Berberina que adsorve na superfície da nanopartícula = Ca/Ct</p>
<p>Número de nanopartículas absorvidas na superfície de nanopartículas</p> <p>Na = Nt x (Ca/Ct)..... (1)</p> <p>Ca/Ct = Aa/At.....(2)</p> <p>Na = Nt x (Aa/At).....(3)</p> <p>Aa = At – Au.....(4)</p> <p>Na = Nt x [(At-Au)/At].....(5)</p> <p>At = absorvância da Berberina</p> <p>Au = absorvância do Ouro</p>
<p>Para AuNp</p> <p>A concentração do HAuCl<sub>4</sub> usado na síntese é 2,90e-03 M</p> <p>Assumindo completa redução, o massa do ouro presente em 30 mL (0.03 L) de ouro coloidal é: WAu = 1,71e-02 g</p> <p>Densidade do ouro, ρ = 19.3 g.cm<sup>-3</sup></p> <p>Massa atômica do Au = 197 Da</p> <p>Volume nanopartícula com 70 nm de tamanho, vnp = (4πr<sup>3</sup>/3), onde 1,87e-16 cm<sup>3</sup></p> <p>Massa da nanopartícula, Wnp = Vnp x ρ = 3,62e-15 g</p> <p>Número de nanopartículas = 4,74e+12</p>
<p>At = 0,3586</p> <p>a) AuNp – Berberina, Au = 0,2171 Pela equação 5, Na = 1,48e+16</p> <p>Número de moléculas de Berberina por nanopartícula = <b>3313</b></p> <p>AuNp-TGA-Berberina</p> <p>b) Número de moléculas de Berberina por nanopartícula = <b>12700</b></p>

FONTE: ADAPTADO DE ZHANG ET AL. (2008) E TOM; PRADEEP,(2005)

## Discussão

Estudos revelam que o tamanho do ouro nanoparticulado interfere na cor do produto. (BONIFÁCIO, 2005) Quando o diâmetro está em torno de 20nm, a cor que caracteriza a amostra é vermelho rubi (Fig. 7 e 8) e com o aumento do tamanho a coloração da suspensão passa pelo roxo e azul. Esta interação da luz com as partículas pode ser explicada através dos plasmons que estão na superfície das partículas.

Uma vez sintetizadas, as nanopartículas destinadas a aplicações biomédicas precisam ser funcionalizadas para o aumento da sua eficácia. Isto envolve geralmente a adição de uma superfície de revestimento para as partículas, composta por uma biomolécula ou com polímeros. O ouro coloidal sintetizado em solução aquosa pode ser diretamente modificado para fornecer funcionalidade. Isto envolve a troca do agente estabilizante presente na superfície por alguma outra porção, isso porque a superfície e os seus ligantes definem as interações do material com as moléculas-alvo, células e tecidos (TOMA ET AL, 2010).

A qualidade e o sucesso do revestimento da superfície geram uma série de impactos na interação das AuNp. No presente estudo, a modificação foi realizada pela adição do mercapto ácido tioglicólico (TGA).

As propriedades eletrônicas das AuNp pode ser realizada por espectroscopia de absorção UV-Vis, pelo fato de metais como o Au, Ag e Cu apresentarem a banda plasmon em seu tamanho nanométrico. A banda de *plasmon* gera espectros com comprimento de onda característico que auxilia na caracterização das substâncias. O comprimento de onda de oscilação é dependente de vários fatores como o tamanho, forma da partícula, o meio dissolvido e a distância interpartículas.

As nanopartículas de ouro obtidas pelo método da redução do cloreto de ouro através do citrato forma uma camada passivante de fácil substituição em meio aquoso (BONIFÁCIO, 2005). A figura 10 apresenta o espectro de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis) da Berberina, das AuNp sem modificação superficial com e sem Berberina e das AuNp-TGA com e sem Berberina. As AuNp tanto sem modificação quanto com TGA apresentaram o espectro característico de nanopartículas de ouro em torno de 520 nm. A diferença se encontra na diminuição da intensidade de absorção que as AuNp-TGA possuem. Isso ocorre, pois, a adição do passivante TGA alterou a interação partícula – partícula, já que aumentou a distância entre elas, tornando-a menos intensa fazendo com que a absorbância

diminuísse. Com a incorporação das moléculas de Berberina a ação foi distinta entre os dois complexos (AuNp e AuNp-TGA). Com a modificação superficial não houve a agregação que foi apresentada nas AuNp sem modificação gerando um deslocamento da banda em 650 nm.

Desta maneira, verificamos que a passivação com o TGA se mostrou mais eficiente que a de citrato, pois o carregamento da Berberina nas mesmas concentrações utilizadas nas AuNp não foram suficientes para ocorrer o processo de agregação das moléculas.

A estabilidade das nanopartículas de ouro pode ser monitorada por Espectroscopia UV-vis, pois modificações nos processos, precipitação e decomposição levam a mudanças distintas no espectro UV-vis.(ZHOU ET AL, 2009), como descrito anteriormente esse efeito provoca um deslocamento da banda *plasmon* para maiores ou menores comprimentos de onda. Foi analisado o tempo de estabilidade das nanopartículas de ouro em diferentes temperaturas de estocagem. Em baixas temperaturas, em torno de 4°C, as AuNPs apresentaram maior estabilidade do que quando armazenadas em vidros de cor âmbar à temperatura ambiente, estas mesmo protegidas da luz se agregaram facilmente e perderam a coloração característica vermelho rubi, tornando-se transparentes. O tempo máximo analisado foi de 79 dias. Os resultados podem ser observados na Fig. 12.

Em um estudo semelhante de estabilidade de nanopartículas de ouro, também formuladas pelo método de Turkevich (FERREIRA, 2011) mostra que o espectro da suspensão coloidal de AuNPs apresentou uma banda de absorção pouco intensa, imediatamente após a preparação. Quando armazenadas nas mesmas condições do presente trabalho, ou seja, a 4° C e protegidas da luz. A banda de absorção nesse estudo aumentou de intensidade nas duas semanas subsequentes, mantendo se constante depois. Cerca de 5 semanas após a sua preparação a intensidade da banda diminuiu, embora sem sofrer deslocamento significativo no valor do comprimento de onda. Uma explicação proposta, é que houve possivelmente à formação de agregados que se depositaram por gravidade nas 4-5 semanas seguintes, podendo este fato ter contribuído para a diminuição da concentração de AuNPs em suspensão e conseqüentemente da intensidade da banda de absorção neste período.

No nosso caso, não observamos o aumento da banda de absorção logo após a preparação, o espectro se manteve basicamente constante ao longo do período observado para as nanopartículas conservadas a 4° C, já as conservadas em temperatura ambiente apresentaram diminuição do espectro e mudanças nas características físicas como a cor.

Concluimos assim, que a marcante diminuição da intensidade de absorção da banda de plasmon ocorre pela precipitação das nanopartículas de ouro quando armazenadas em temperatura ambiente por questões de cinética e o mesmo fenômeno com variações menos expressivas ocorre quando armazenadas por longos períodos, mesmo estando 4°C e protegida da luz.

As AuNP e AuNP-TGA com e sem berberina foram caracterizadas frente a distribuição de tamanho médio e potencial zeta.

Essa formulação teve a pretensão de manter o tamanho reduzido das nanopartículas e impedir ou diminuir a aglomeração entre as partículas metálicas. Para tanto, as AuNP foram passivadas com ácido tioglicólico. A adição do passivante TGA alterou a interação partícula – partícula, já que aumentou a distância entre elas. Isso pode-se comprovar através dos dados de distribuição do tamanho (DLS). A nanopartícula de ouro apresentou o tamanho médio de  $60,3 \pm 13$  nm em contrapartida as nanopartículas modificadas superficialmente apresentaram  $116 \pm 1,6$  nm. Tão fato é previsível, já que uma molécula foi adicionada ao complexo AuNp. Entretanto, a grande diferença se encontra no tamanho das nanopartículas não modificadas com adição de Berberina em comparação com as modificadas por TGA. Aquelas que foram modificadas apresentam um diâmetro 276,6% maior. Isso permite uma maior agregação das nanopartículas. Sendo assim, os gráficos apresentados na figura 10 são comprovados também pelo DLS.

Na Tabela 3 são apresentados os parâmetros e os valores utilizados para o cálculo da associação de Berberina as AuNp e AuNp-TGA.

Na tabela é perceptível a diferença no carregamento das moléculas de Berberina demonstrando que o TGA aumentou em quase 383% a eficiência de adsorção.

Um grande esforço tem sido realizado para elucidar a superfície da cobertura das estruturas de eletrodos e as superfícies metálicas imobilizados por tióis, principalmente por causa de suas implicações cruciais para o projeto de novos

materiais funcionalizados. Nos estudos de LEE et al (2007) foram investigadas as interações entre uma variedade de tióis e nanopartículas com o corante Vermelho Nilo ( $C_{20}H_{18}N_2O_2$ ) adsorvidas nas nanopartículas de ouro e demonstraram que o grau de agregação das AuNp depende da hidrofília e da estrutura adsorvida dos tióis. Nesse estudo também foi calculado a quantidade de corante adsorvida na superfície da AuNp. Descobriram que o tamanho delas é um fator importante na determinação da quantidade total do corante adsorvido nas moléculas de tiol sobre cada AuNp, sendo que quanto menor, menor a quantidade de moléculas adsorvidas. Os valores encontrados de Vermelho Nilo carregados na superfície das nanopartículas de ouro revestidas por *N*-(2-Mercaptopropionyl)glycine (MPG) foram igual 366, 3300 e 7836 moléculas/ nanopartículas com tamanhos de 14, 32 e 56 nm respectivamente.

O cálculo realizado no nosso estudo teve o mesmo princípio desse trabalho (ZHANG ET AL. 2008), com base no trabalho de Pradeep (TOM; PRADEEP,2005). Como observado nos dados, o revestimento pelo TGA proporcionou um número bem mais expressivo da Berberina na superfície, enquanto as AuNp carregam em torno de 3313 moléculas da Berberina a AuNp-TGA carregou 12700 moléculas.(Tabela 2).

### **Considerações finais**

Em conclusão, uma variedade extraordinária de estruturas, propriedades e aplicações estão disponíveis para AuNp e motivam estudos fundamentais e aplicações em conexão com os de outros componentes moleculares, inorgânicos, biológicos e nanomateriais em pesquisa interdisciplinar envolvendo a química, física, biologia e medicina. Uma das vantagens das nanopartículas de ouro encontra-se na facilidade do método e suas diversas finalidades. As técnicas que caracterizam o ouro nanoparticulado utilizam a luz como referência e a excitação que ela apresenta.

Os resultados expostos neste trabalho permitiram concluir que foram desenvolvidas de forma satisfatória as AuNPs pelo método de Turkevich com as alterações propostas. O revestimento através do ácido tioglicólico nas AuNPs apresentou maior eficiência no carregamento da Berberina conforme mostrado no espectro da Figura 10.

As AuNp passivadas com TGA e adsorvidas à Berberina formam um complexo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos anti-hipertensivos e estamos diante de um complexo inédito. Fato este que ocasionou o depósito de pedido de Patente de Invenção “Composição à Base de Berberina e/ou ao Menos um de Seus Derivados, em Associação à Nanopartículas de Ouro, Seu Processo de Obtenção e Suas Aplicações”, de titularidade da Fundação Universidade de Brasília - FUB e da Universidade de São Paulo - USP, sob o nº BR 10 2012 019716 2.

Entretanto, este trabalho compõe, analogicamente, “a ponta do iceberg”, isto é, apenas uma parte de uma pesquisa muito mais profunda. Portanto, este tema tem ampla disponibilidade de novos estudos que deverão ser desenvolvidos em novos projetos de pesquisa.

### **Referências Bibliográficas**

ALENCAR, M. S. M. Modelo de prospecção de tecnologias portadoras de futuro aplicado a nanotecnologia. 2008. 193 f. Tese (Doutorado em Ciências)-Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

ALENCAR, Maria Simone de Menezes; BOCHNER, Rosany; DIAS, Miriam Ferreira Freire. Nanotecnologia em Ciências da Saúde no Brasil: um olhar informétrico sobre os grupos de pesquisa. Liinc em Revista, Rio De Janeiro, p.47-65, maio 2013. Disponível em: <<http://revista.ibict.br/liinc/index.php/liinc/article/viewFile/546/418>>. Acesso em: 04 jun. 2013.

BONIFÁCIO, Leonardo Da Silva. Processos De Agregação E Fusão De Nanopartículas De Ouro: Uma Abordagem Química. 2005. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Instituto De Química, Universidade De São Paulo, São Paulo, 2007. CD-ROM.

BRUST, Mathias et al. Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system. J. Chem. Soc., Chem. Commun, p.801-802, 1994.



CABALLERO, N. E. D.; ALVES, O.L.; GIMENEZ, I.F.; AZEVEDO, M. M. M.; MELO, P. S.; Uso Farmacológico De Nanopartículas Ciclodextrinas-Au-Tiol-Derivada/Composto Hidrofóbico Como Antitumoral, Antibacteriano, Antiviral E/Ou Antiparasitário, Seu Processo De Obtenção E Sua Formulação, 06/2005, Patente de Invenção, PI0502657-1. Patente Unicamp, Depósito: 28/06/2005, INPI, BRASIL.

CHEN, Jinlong et al. A functionalized gold nanoparticles and Rhodamine 6G based fluorescent sensor for high sensitive and selective detection of mercury (II) in environmental water samples. *Analytica chimica acta*, v. 599, n. 1, p. 134-142, 2007.

CHEN, Shih-ju; CHANG, Huan-tsung. Nile Red-Adsorbed Gold Nanoparticles for Selective Determination of Thiols Based on Energy Transfer and Aggregation. *Anal. Chem.*, Taiwan, n. , p.3727-3734, maio 2004. CD-ROM.

CICERO, Arrigo Fg; ERTEK, Sibel. Berberine: metabolic and cardiovascular effects in preclinical and clinical trials. Dove Press, Itália, 10 set. 2009. p. 1-10. CD-ROM.

CUADROS, Marlon Ivan Valerio. Síntese e Caracterização das Propriedades Óticas não Lineares de Nanopartículas de Ouro e Prata em óleo de Buriti. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2012. Disponível em: <[http://www.ufal.edu.br/unidadeacademica/if/pt-br/pos\\_graduacao/mestrado-doutorado-em-fisica/dissertacoes-eteses/pdfs-das-dissertacoes-e-teses/dissertacoesmestrado/Marlon%20Ivan%20Valerio%20Cuadros.pdf](http://www.ufal.edu.br/unidadeacademica/if/pt-br/pos_graduacao/mestrado-doutorado-em-fisica/dissertacoes-eteses/pdfs-das-dissertacoes-e-teses/dissertacoesmestrado/Marlon%20Ivan%20Valerio%20Cuadros.pdf)>. Acesso em: 14 jun. 2013.

CUNHA, A. G. Dicionário etimológico da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Lexikon, 2010.

DREXLER, K. Eric. Nanosystems- Molecular machinery, manufacturing, and computation(Book). New York, NY: John Wiley & Sons, Inc, 1992., 1992

DURÁN, Nelson; DE AZEVEDO, Marcelo MM. O Que é Nanobiotecnologia? Atualidades e Perspectivas. Monografia LQES-Laboratório de Química do Estado Sólido-Instituto de Química-UNICAMP <http://lqes.iqm.unicamp.br>, v. 2002, 2002.

FERREIRA, Hadma Sousa; RANGEL, Maria do Carmo. Nanotecnologia: Aspectos Gerais E Potencial De Aplicação Em Catálise. Quim. Nova, Salvador, v. 32, n. 7, p.1860-1870, 04 ago. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n7/33.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2013.

FERREIRA, V.C.; SILVA, F.; ABRANTES, L.M. Monocamadas Auto-Montadas De Alcanotióis – – Das Superfícies Planas À Estabilização De Nanopartículas De Ouro. Química 111, Portugal, p.37-48, out. 2008.

FERREIRA, Virgínia Clara Teixeira. Polímeros condutores e monocamadas auto-montadas na concepção de novas arquiteturas contendo nanopartículas metálicas: preparação, caracterização e desempenho para electrocatálise e biosensores. Doutorado em Química.(Química-Física)- Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências.2011.

KIMLING, J. et al. Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. J. Phys. Chem. B, Germany, p.15700-15707, 24 mar. 2006. CD-ROM.

KO, Wing-Hung et al. Vasorelaxant and antiproliferative effects of berberine.European journal of pharmacology, v. 399, n. 2, p. 187-196, 2000.

LAU, Chi-wai et al. Cardiovascular Actions of Berberine. Cardiovascular Drug Reviews, Connecticut, v. 19, n. 3, p.234-244, 2001. CD-ROM.

LEE et al Fluorescence and interactions with thiol compounds of Nile Red-adsorbed gold nanoparticles. SO - J Colloid Interface Sci 2007 Mar 15;307(2):340-8 Epub 2006 Dec 9.

LI, Xiaoling et al. Mercaptoacetic Acid-Capped Silver Nanoparticles Colloid: Formation, Morphology, and SERS Activity. Langmuir, Japão, p.4285-4290, 2 fev. 2003. CD-ROM.

MANSON, Joanne et al. Polyethylene glycol functionalized gold nanoparticles: the influence of capping density on stability in various media. Gold Bull, Northern Ireland, p.99-105, 27 abr. 2011. CD-ROM.

MELO JR, Maurício Alves et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. Quim. Nova, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.

MURRAY, Christopher JL; LOPEZ, Alan D. Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. Science, v. 274, n. 5288, p. 740-743, 1996.

MURUGADOSS, Aslam; KHAN, Aslam; CHATTOPADHYAY, Arun. Stabilizer specific interaction of gold nanoparticles with a thermosensitive polymer hydrogel. Journal of Nanoparticle Research, v. 12, n. 4, p. 1331-1348, 2010.

OTUBO, Larissa. Funcionalização de Nanopartículas Metálicas e Nanotubos de Carbono. 2009. 165 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009. CD-ROM.

PEREIRA, Francisco Claudece et al. Características Ópticas E Morfológicas De Nanoestruturas De Ouro. Quim. Nova, Rio Grande Do Norte, p.1550-1554, jul. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n7/09.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2013.

ROLDÁN, M.v. et al. Nanopartículas Metálicas Con Formas Diversas Metal Nanoparticles With Different Shapes. Anales Afa, La Plata, v. 17, p.212-217, 2005. Disponível em: <<http://anales.fisica.org.ar/journal/index.php/analesafa/article/view/186/207>>. Acesso em: 04 jun. 2013

TANIGUCHI, Norio et al. On the basic concept of nanotechnology. In: Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering. 1974. p. 18-23.

TOM, Renjis T.; PRADEEP, T. Interaction of azide ion with hemin and cytochrome c immobilized on Au and Ag nanoparticles. Langmuir, v. 21, n. 25, p. 11896-11902, 2005.

TOMA, Henrique E. et al. The coordination chemistry at gold nanoparticles. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 21, n. 7, p. 1158-1176, 2010.

TOMA, Henrique E.; BONIFÁCIO, Leonardo da Silva. Da Cor À Cor Inexistente: Uma Reflexão Sobre Espectros Eletrônicos E Efeitos Cromáticos. Quim. Nova, São Paulo, p.897-900, 13 abr. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v28n5/25921.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2013

TURKEVICH, J.; GARTON, G.; STEVENSON, P. C. The color of colloidal gold. Journal of colloid Science, v. 9, p. 26-35, 1954.

ZHANG, Zhenyuan et al. Layer-by-layer Self-Assembly of Colloidal Gold-Silica Multilayers. Chem. Educator, Estados Unidos p.153-157, 24 mar. 2008. CD-ROM.

ZHOU, Min et al. Minute synthesis of extremely stable gold nanoparticles. Nanotechnology, v. 20, n. 50, p. 505606, 2009.

< Uso exclusivo do INPI >



Espaço reservado ao protocolo

Espaço para etiqueta

## DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO

### Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas

#### 1. Depositante (71):

- 1.1 Nome: Fundação Universidade de Brasília  
1.2 Qualificação  
1.3 CNPJ/CPF: 00038174/0001-43  
1.4 Endereço Completo Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro  
1.5 CEP: 70904-970 1.6 Telefone 61 3107-4100 1.7 Fax: 61 3107-4136  
1.8 E-mail: nupitec@cdt.unb.br

continua em folha anexa

2. Natureza:  Invenção  Modelo de Utilidade  Certificado de Adição

Escreva, obrigatoriamente, e por extenso, a Natureza desejada: Invenção

#### 3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição(54):

COMPOSIÇÃO À BASE DE BERBERINA E/OU AO MENOS UM DE SEUS DERIVADOS, EM ASSOCIAÇÃO À NANOPARTÍCULAS DE OURO, SEU PROCESSO DE OBTENÇÃO E SUAS APLICAÇÕES

continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido N° Data de Depósito:

5. Prioridade:  interna  unionista

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou organização de origem	Número de depósito	Data do depósito

#### 6. Inventor (72):

Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seu(s) nome(s)

- 6.1 Nome: Claure Nain Lunardi Gomes  
6.2 Qualificação Química 6.3 CPF: 160.005.598-28  
6.4 Endereço completo Rua Buriti, Lt1, Ed. Águas de Tambaú, Apto.1103, Águas Claras-DF  
6.5 CEP: 71910-180 6.6 Telefone: (61)3254-7120 6.7 Fax: (61)3376-6042  
6.8 E-Mail: clunardi@unb.br

continua em folha anexa



**DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO**

Continuação

**1. Depositante (71):**

1.4 Endereço Completo: **Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Edifício CDT, Asa Norte, Brasília-DF.**

1.1 Nome: **Universidade de São Paulo – USP**

1.2 Qualificação :

1.3 CNPJ: **63.025.530/0001-04**

1.4 Endereço completo: **Rua da Reitoria nº 109, Cidade Universitária, Butantã, São Paulo-SP**

1.5 CEP: **05508-900**

1.6 Telefone: **(11) 3091-1580**

1.7 Fax: **(11) 3031-0922**

1.8 E-mail: **pidireto@usp.br**

**6. Inventor (72):**

**FUB**

6.1 Nome: **Naiara Teodosio dos Santos**

6.2 Qualificação: **Graduanda em Farmácia**

6.3 CPF: **019.843.171-64**

6.4 Endereço completo: **QNP 10 conjunto M casa 34 - Ceilândia-DF**

6.5 CEP: **72231-113**

6.6 Telefone: **(61) 33762455**

6.7 Fax:

6.8 E-mail: **[naiteoicm@gmail.com](mailto:naiteoicm@gmail.com) e [naiicm@hotmail.com](mailto:naiicm@hotmail.com)**

**USP**

6.1 Nome: **Lusiane Maria Bendhack**

6.2 Qualificação: **Bióloga**

6.3 CPF: **319.171.609-25**

6.4 Endereço completo: **Rua Alfeneiro, 270 Ribeirão Preto - SP**

6.5 CEP: **14040-320**

6.6 Telefone: **(16) 36024704**

6.7 Fax: **(16) 3602-4880**

6.8 E-mail: **bendhack@usp.br**

6.1 Nome: **Bruno Rodrigues Silva**

6.2 Qualificação: **Farmacêutico**

6.3 CPF: **053.952.386-03**

6.4 Endereço completo: **Rua Capitão Pereira Lago,1581, AP 03; Bairro: Monte Alegre; Ribeirão Preto - SP**

6.5 CEP: **14051-130**

6.6 Telefone: **(16) 8812-0558**

6.7 Fax: **(16) 3602-4880**

6.8 E-mail: **brunorodriguessilva@usp.br**

**7. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:**

7.1 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

em anexo

**8. Declaração de divulgação anterior não prejudicial:** (Período de Graça):  
(art. 12 da LPI e item 2 do AN nº 127/97)

em anexo

**9. Procurador (74)**

9.1 Nome:

9.2 CNPJ/CPF:

9.3 API/OAB:

9.4 Endereço completo

9.5 CEP:

9.6 Telefone:

9.7 Fax

9.8 E-Mail:

**10. Listagem de seqüências Biológicas** (documentos anexados) (se houver):

- Listagem de seqüências em arquivo eletrônico: n° de CDs ou DVDs (original e cópia).  
 Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: fl.  
 Listagem de seqüências em formato impresso: fls.  
 Declaração de acordo com o artigo da Resolução INPI nº 228/09: fls.

**11. Documentos anexados** (assinale e indique também o número de folhas):  
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

<input checked="" type="checkbox"/>	11.1 Guia de Recolhimento	1 fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.5 Relatório descritivo	19 fls.
<input checked="" type="checkbox"/>	11.2 Procuração	fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.6 Reivindicações	3 fls.
<input type="checkbox"/>	11.3 Documentos de Prioridade	fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.7 Desenhos	2 fls.
<input type="checkbox"/>	11.4 Doc. de contrato de trabalho	fls.	<input checked="" type="checkbox"/>	11.8 Resumo	1 fls.
<input checked="" type="checkbox"/>	11.9 Outros que não aqueles definidos no campo 11 (especificar) Ato da Reitoria e Estatuto da UnB, Estatuto e CNPJ da USP e Declaração dos Inventores.				23 fls.

**12. Total de folhas anexadas (referentes aos campos 10 e 11):** 49 fls.


**13. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.**

Brasília - DF, 18/07/2012

Local e Data

  
Assinatura e Carimbo

Prof. Luis Afonso Bermudez  
Diretor CDT  
Mat. 114740

PROCURAÇÃO ASSINADA NÃO APRESENTADA  
BR/07/08/12  
  
Antonio Carlos P. Coelho  
Analista em C&T  
Mat. 6449777

