



Um sensor óptico para detecção de cisteína a partir de nanopartículas de vanádio

An optical sensor for cysteine detection using vanadium nanoparticles

Danielle do Rocio Laskowski¹, Arandi Ginane Bezerra Jr²

RESUMO

Este relatório apresenta os resultados da síntese e caracterização de nanopartículas de vanádio por meio da técnica de ablação a laser em meio líquido. Essas partículas foram caracterizadas por meio da técnica de DLS e UV-Vis permitindo acompanhar o processo de formação do óxido de vanádio V_2O_5 . A interação dessas nanopartículas com a cisteína, aminoácido essencial para o organismo, é bastante estudada na literatura devido a possibilidade de desenvolvimento de sensores para detecção e monitoramento de doenças e resultados de terapias. Nesse trabalho, o fármaco acetilcisteína, sintetizado a partir da cisteína, foi estudado a fim de verificar a possibilidade de detecção e determinação da concentração desse medicamento em pequenas quantidades. Após a realização da caracterização dessas amostras com diferentes concentrações de medicamento e de nanopartículas, foi possível verificar uma modificação no espectro de absorção linear dos coloides na medida que a concentração do fármaco aumentava, o que possibilitou o desenvolvimento de um sensor biológico que se mostrou eficaz para detectar pequenas quantidades desse medicamento em soluções.

PALAVRAS-CHAVE: nanopartículas; vanádio; acetilcisteína.

ABSTRACT

This report presents the results of the synthesis and characterization of vanadium nanoparticles using the laser ablation technique in a liquid medium. These particles were characterized using the DLS and UV-Vis techniques, allowing for the monitoring of the formation process of vanadium oxide V_2O_5 . The interaction of these nanoparticles with cysteine, an essential amino acid for the body, is extensively studied in the literature due to the possibility of developing sensors for detection, disease monitoring, and therapy outcomes. In this work, the drug Acetylcysteine, synthesized from cysteine, was studied to assess the possibility of detecting and determining the concentration of this medication in small samples. After characterizing these samples with different concentrations of the drug and nanoparticles, it was possible to observe a modification in the linear absorption spectrum of these solutions as the drug concentration increased, enabling the development of a biological sensor that proved effective in detecting small quantities of this medication in solutions.

KEYWORDS: nanoparticles; vanadium; acetylcysteine.

INTRODUÇÃO

Considerado um oligoelemento, o vanádio, metal de transição de número atômico 23, é essencial para plantas e animais, oferecendo diversos tipos de óxidos de vanádio já que apresenta grande facilidade para trocar seu estado de oxidação (BEZERRA, 2012). Devido a ação do vanádio e seus óxidos em proteínas e materiais biológicos, há estudos abordando aplicações de nanopartículas de vanádio (VNPs) na medicina para tratamento de doenças como diabetes e câncer (CELESTINO-SANTOS, 2011; ETCHEVERRY, 2012; BARCIKOWSKI, 2019).

A produção de nanopartículas a partir da técnica de ablação a laser em meio líquido (LASiS) é bastante interessante na medida que permite obter soluções com nanopartículas

¹ Bolsista da Fundação Araucária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: laskowski@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 3739116636038068.

² Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: arandi@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7811492311173264.



em suspensão imediatamente após a ablação, e sem a geração de resíduos. Através das nanopartículas de vanádio pode-se detectar a presença da cisteína, um aminoácido, em amostras com diferentes concentrações (BEZERRA, 2012; OLIVEIRA, 2013).

Os aminoácidos são moléculas orgânicas formadas por um grupo amina, um ácido carboxílico e um radical específico de cada molécula. São 20 os aminoácidos essenciais para a formação de proteínas e peptídeos no ser humano, desempenhando um papel fundamental em processos biológicos (BEZERRA, 2012; OLIVEIRA, 2013). A cisteína (Cys) e a metionina são os únicos dois aminoácidos que possuem enxofre, sendo a cisteína o único aminoácido capaz de formar ligações de enxofres: as pontes dissulfeto. Tanto a cisteína quanto o tripeptídeo Glutathione (Gsh), que possui cisteína em sua composição, tem papel essencial no corpo humano, atuando como agentes antioxidantes, desintoxicando células de metais tóxicos.

Durante a pandemia da COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, várias abordagens terapêuticas foram e ainda estão sendo avaliadas, como uso de anti-inflamatórios, antivirais e antioxidantes. O N-acetilcisteína foi um dos medicamentos mais utilizados devido as suas características antioxidantes que atenua a lesão celular causada pelo estresse oxidativo (CARVALHO, 2021; YUCUMA, 2022).

A interação da cisteína com nanopartículas de vanádio vem sendo estudada em diversos trabalhos devido a importância desse aminoácido que está presente em diversas moléculas e proteínas, onde a partir de biosensores pode-se fazer a detecção, monitoramento de doença e resultados de terapias (BEZERRA, 2012; OLIVEIRA, 2013). Através do uso dessas nanopartículas foi explorada nesse trabalho a possibilidade de realizar a detecção da cisteína presente no fármaco N-acetilcisteína.

Quadro 1 – Etapas de desenvolvimento do trabalho.

Objetivo	Detecção de cisteína em pequenas quantidades através de um sensor óptico de nanopartículas de vanádio.
Procedimentos	1. Ablação a laser (LASiS) das nanopartículas de vanádio; 2. Caracterização via DLS e UV-Vis; 3. Incrementos de acetilcisteína (10mM) no coloide de nanopartículas; 4. Caracterização das amostras de VNP com acetilcisteína em diferentes concentrações; e 5. Desenvolvimento de uma curva de calibração de concentração.
Resultados	Mudança de coloração devido a presença da cisteína em pequenas quantidades pôde ser notada tanto visualmente quanto através do UV-Vis. Uma curva de calibração de concentração pôde ser gerada.

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

MATERIAIS E MÉTODOS

Nos experimentos foi utilizado um laser pulsado Nd:YAG, operando nos comprimentos de onda de 1064 nm e 532 nm, Q-switched entregando pulsos de 5 ns com energia total de 280 mJ (sendo 200 mJ para o infravermelho e 80 mJ para o verde). O feixe do laser foi focalizado com uma lente de 20 cm em um alvo de vanádio imerso em água deionizada.

O alvo foi colocado cerca de 15 mm abaixo do nível da água num béquer de vidro, sendo o volume de água correspondente a 30 ml. Devido ao alvo possuir um tamanho

grande em área, foi colocado em um béquer com capacidade de 250 ml, o que levou à necessidade de utilizar um volume considerável de água para obtenção de uma fina camada superficial de líquido sobre o alvo. Como consequência, a ablação foi mais longa, durando cerca de 20 min, a fim de conseguir um coloide com coloração visível a olho nu.

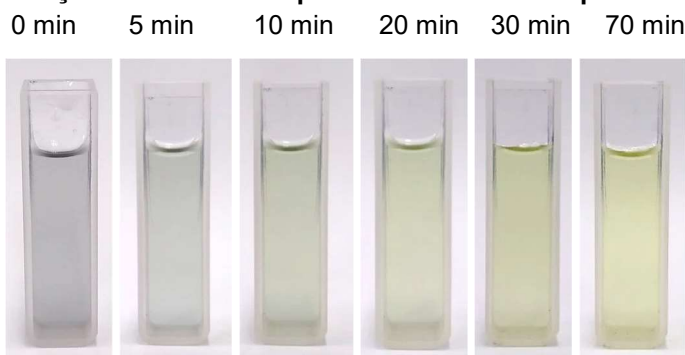
A determinação da distribuição média de tamanho das nanopartículas foi feita pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS – *Dynamic Light Scattering*). O equipamento utilizado foi um *Microtrac Nanotracs Ultra*, cuja operação foi realizada em 2 ml do coloide de nanopartículas em uma cubeta de quartzo. Para a medida do espectro de absorvância das nanopartículas foi utilizada a espectroscopia UV-Vis com o espectrômetro *Ocean Optics Model USB2000+*, que possui uma faixa de operação entre 200 nm e 1000 nm e resolução de 0,1 nm.

O fármaco Acetilcisteína 600 mg (acrescido de excipientes), envelope com 5 g em forma granulada, produzido pela EMS, foi adquirido diretamente de uma farmácia local, já que este não necessita de prescrição médica. O medicamento foi dissolvido em água deionizada numa concentração de 10 mM, sendo adicionado ao coloide de nanopartículas em incrementos de 50 µl.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante a ablação a laser, a solução adquire uma coloração azul-acinzentada que vai mudando para um tom amarelo logo após a síntese se encerrar (figura 1). As partículas em solução ficam bastante estáveis permanecendo nesse estado por vários meses.

Figura 1 – Mudança de cor das nanopartículas de Vanádio produzidas em água.

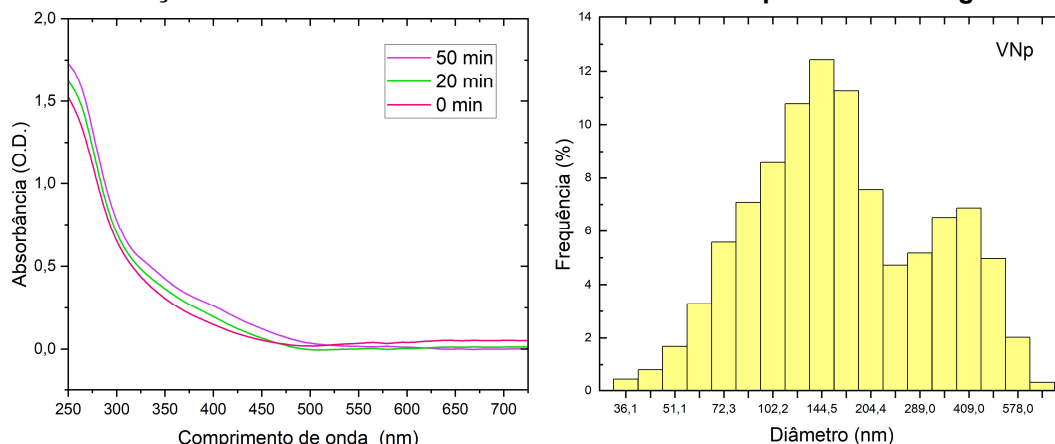


Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Essa mudança de cor, que está associada à formação progressiva de diversos óxidos, foi acompanhada através de medidas utilizando o UV-Vis e pode ser observada na figura 2. A absorção acima de 500 nm gradualmente diminui na medida que a solução fica mais estável, e ao mesmo tempo o aumento da absorção na região do azul é o que caracteriza a coloração amarela que enxergamos. Após a solução se estabilizar a medida da distribuição média de tamanho foi realizada. Devido à dinâmica do processo de ablação, o controle do tamanho das nanopartículas apresenta bastante dificuldade, dessa forma a dispersão com relação ao tamanho das NPs acaba sendo grande (AMENDOLA, 2013; MACHADO, 2020). A distribuição dos tamanhos das NPs de vanádio varia de 36,1 nm até 578 nm, sendo que seu valor médio é de 106,8 nm com desvio padrão de 30,2 nm (fig. 2).



Figura 2 – Esquerda: Mudança de cor das NPs de vanádio produzidas em água. Direita: Distribuição média de tamanhos de amostra de vanádio produzida em água.

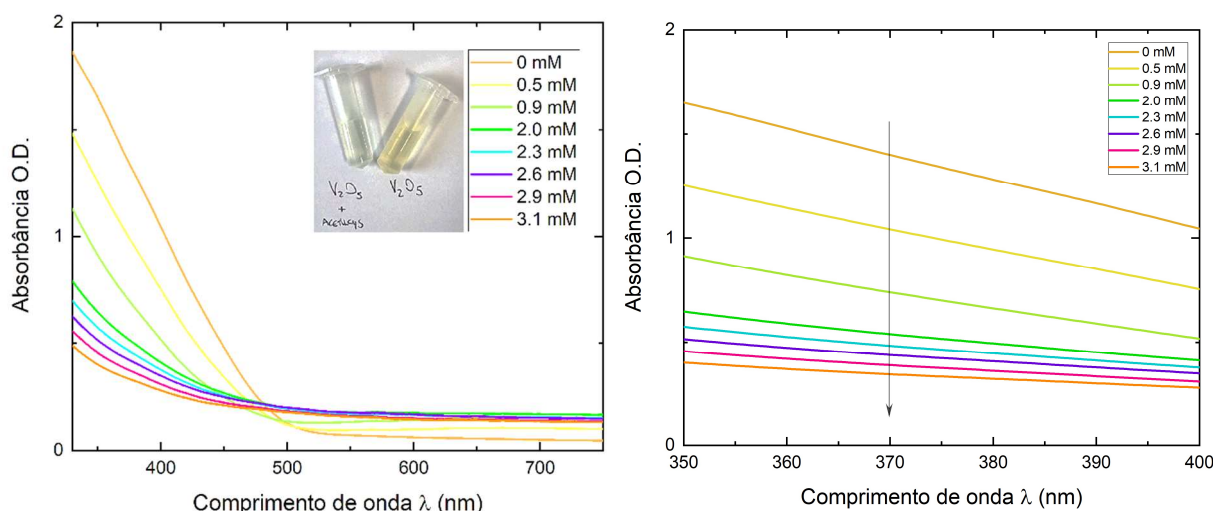


Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Ao combinar as nanopartículas de vanádio feitas em água, com o fármaco acetilcisteína é possível observar uma mudança de cor na amostra conforme a figura 3 ilustra. A solução original de V_2O_5 possui coloração amarela e após a adição de acetilcisteína fica com uma coloração azul clara, quase transparente.

Uma solução de concentração de 10 mM de acetilcisteína foi preparada. Desta solução adicionava-se 50 μ l numa amostra de 1ml de NPs de óxido de vanádio. Foram realizadas 7 adições obtendo cerca de 2ml de solução final. É possível notar na figura 3, a diminuição da absorção na região azul ao passo que a absorção na região do vermelho aumenta. A seta no gráfico indica o sentido de aumento de concentração de acetilcisteína.

Figura 3 – Esquerda: Espectro de absorção das NPs com adição de acetilcisteína. Direita: Espectro de absorção em 370nm, sendo que a flecha indica o aumento de acetilcisteína na solução.

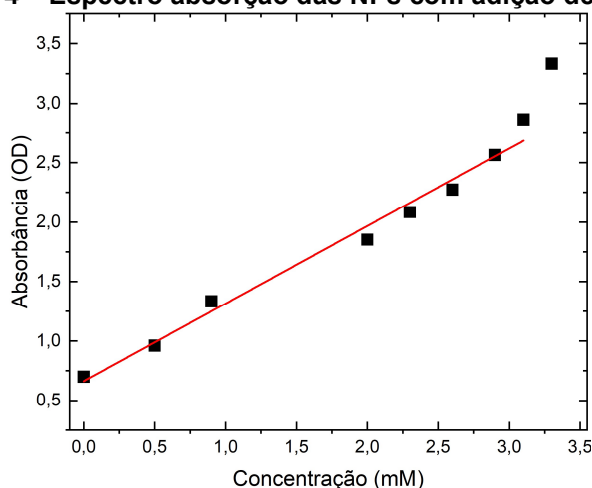


Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Pode-se estabelecer uma relação quantitativa entre a absorbância e a concentração de acetilcisteína. A densidade óptica em aproximadamente 370 nm diminui de forma linear, sendo então escolhida como ponto a ser analisado no intuito de gerar uma curva de calibração da concentração, conforme mostra a figura 4.

Os últimos dois pontos foram desconsiderados no ajuste linear pois aparentemente o sensor satura com uma concentração acima de 3,0 mM. Além disso, uma concentração maior produz uma densidade óptica muito baixa, para qual o sensor não demonstra ser sensível suficiente para detectar de forma linear. O valor do coeficiente de determinação (R^2) do ajuste linear foi de 0,98, indicando que na faixa útil do sensor este apresenta resultados satisfatórios.

Figura 4 – Espectro absorção das NPs com adição de acetilcisteína.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

CONCLUSÕES

A partir de nanopartículas de vanádio produzidas por ablação a laser foi possível produzir um sensor biológico do fármaco acetilcisteína. O estudo da interação dessas partículas com a solução de acetilcisteína permitiu o desenvolvimento de um sensor biológico que se mostrou eficaz para detectar pequenas quantidades desse medicamento em amostras.

Através da caracterização das nanopartículas e das soluções contendo acetilcisteína, foi possível observar que a região do ultravioleta parece ser a mais adequada quando trabalhamos com concentrações na faixa de mM. Neste trabalho o sensor se mostrou eficaz até uma concentração de 3 mM, a partir deste ponto ocorre saturação. Para análise na região do visível, há indícios que concentrações pequenas numa escala de μM são mais eficientes (CELESTINO-SANTOS, 2011; BEZERRA, 2012; OLIVEIRA, 2013).

Diferentes tamanhos de nanopartículas e sua interação com acetilcisteína poderiam ser testados, a fim de aprimorar o sensor. Uma investigação mais detalhada da morfologia e estrutura das nanopartículas poderia ser realizada utilizando a microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Além disso, trabalhos futuros com diferentes concentrações do fármaco, poderiam indicar a causa da saturação apresentada na região do visível.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à UTFPR, à Fundação Araucária e ao CNPq pelas bolsas e financiamento (direta ou indiretamente) da pesquisa.



Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

AMENDOLA, V.; MENEGHETTI, M. What controls the composition and the structure of nanomaterials generated by laser ablation in liquid solution? **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 15, n. 9, p. 3027–3046, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C2CP42895D>. Acesso em: 18 fev. 2023.

BARCIKOWSKI, S.; AMENDOLA, V.; LAU, M.; et al. Handbook of Laser Synthesis & Processing of Colloids. [s.l.]: DuEPublico: **Duisburg-Essen Publications online**, University of Duisburg-Essen, Germany, 2019. DOI: <https://doi.org/10.17185/duepublico/70584>. Acesso em: 13 fev. 2023.

BEZERRA, A. G.; BARISON, A.; OLIVEIRA, V. S.; et al. The mechanism of cysteine detection in biological media by means of vanadium oxide nanoparticles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 9, p. 1123, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1123-y>. Acesso em: 13 fev. 2023.

CARVALHO, M.; CARVALHO, V. Pharmacological and toxicological evaluation of the N-acetylcysteine in clinical management of COVID-19. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202100960>. Acesso em: 23 fev. 2023.

CELESTINO-SANTOS, W.; BEZERRA, JR., A. G.; CEZAR, A. B.; et al. Vanadium Oxide Nanoparticles as Optical Sensors of Cysteine. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 11, n. 6, p. 4702–4707, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.4194>. Acesso em: 13 fev. 2023.

ETCHEVERRY, S.; DI VIRGILIO, A.; BARRIO, D. Vanadium Effects on Bone Metabolism. In: MICHIBATA, Hitoshi (Org.). Vanadium. **Dordrecht: Springer Netherlands**, 2012, p. 145–162. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-0913-3_7. Acesso em 20 fev. 2023.

MACHADO, Thiago Neves. Caracterização e investigação da atividade SERS de nanopartículas de metais não-convencionais. UTFPR. Dissertação de mestrado. 2020. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/26269>. Acesso em: 21 fev. 2023.

OLIVEIRA, Vinicius Silva de. Propriedades Ópticas de nanopartículas de Vanádio Produzidas por Ablação a Laser. UTFPR. Dissertação de Mestrado, 2013. Disponível: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/32048>. Acesso em 15 fev. 2023.

YUCUMA, D.; ROSSELLI, D. N-acetilcisteína, inmunidad y perspectivas en covid-19: una revisión narrativa de la literatura. **Universitas Médica**, v. 63, n. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed63-2.acet>. Acesso em: 23 fev. 2023.