

Síntesis y caracterización de nanopartículas para usos en biomedicina

Lloret, P.E.; Ybarra, G.O.; Moína, C.A.

INTI-Procesos Superficiales

Introducción

Las nanopartículas núcleo-cáscara o *core-shell* magnéticas tienen un gran potencial de aplicaciones en óptica, magnetismo, catálisis, bioquímica y biomedicina. En la actualidad se utilizan diferentes tipos de síntesis tales como la técnica de microemulsión, método sonoquímico, reducción por extracción de solventes, procesos con poliglicoles, etc. [i,ii].

Este tipo de partículas combinan las propiedades inherentes de materiales distintos dando como resultado múltiples propiedades y aplicaciones. Los óxidos de hierro nanoparticulados del tipo magnetita (Fe_3O_4) y maghemita (Fe_2O_3) forman fluidos magnéticos característicos utilizados actualmente para liberación controlada de drogas, los cuales se pueden manipular mediante un campo magnético externo hacia sitios específicos como ser células cancerosas. Asimismo, las nanopartículas de Au pueden ser funcionalizadas con grupos orgánicos como tioles y aminoácidos, ya que poseen una alta reactividad en su superficie. Combinando estas propiedades se puede crear una nanopartícula multifuncional con un gran potencial en diferentes aplicaciones.

En este trabajo se presenta la síntesis, funcionalización y caracterización de nanopartículas de estructura *core-shell*, con núcleo de magnetita y cáscara de oro. Las nanopartículas fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía de fuerza atómica (AFM), microscopía de fuerza atómica (MFM) y espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Metodología

2.1 Síntesis de nanopartículas de Fe_3O_4

La preparación de magnetita se llevó a cabo por el método de coprecipitación de los cloruros férrico y ferroso en medio amoniacal. Se disolvieron 12 g de $FeCl_3$ en 50 ml de agua destilada y se agregaron 6 g de $FeCl_2$ disueltos en 50 ml de HCl 0.2 %. Con agitación constante se agregaron 25 ml de NH_3 25 % en un plazo de 10 minutos a temperatura ambiente. El precipitado de Fe_3O_4 se recolectó con un imán y se lavó con agua destilada hasta eliminar el exceso de ión férrico (color naranja). El precipitado se secó en estufa a 60°C durante una hora.

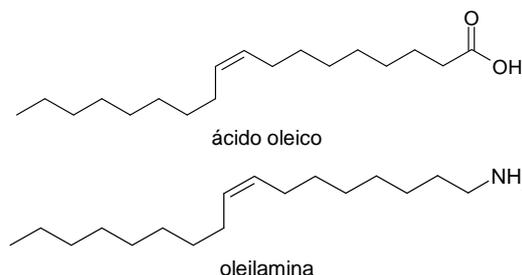


Figura 1. Estructuras químicas de los compuestos empleados para estabilizar las nanopartículas de magnetita.

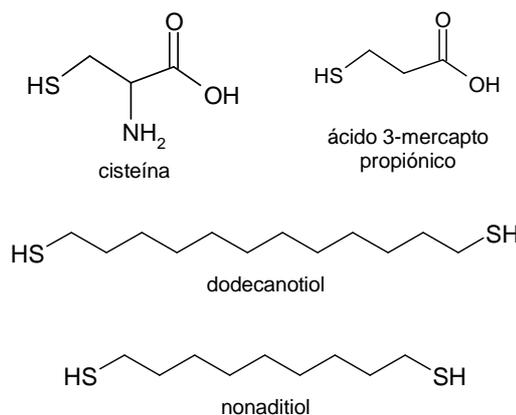


Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos empleados para modificar la superficie del oro de las nanopartículas núcleo-cáscara.

2.2 Síntesis de nanopartículas núcleo-cáscara

Una vez obtenido el precipitado seco y finamente dividido de Fe_3O_4 , se pesaron 30 mg, se agregaron 80 ml de tolueno, 0.25 ml de ácido oleico y 0.25 ml de oleilamina, y se dispersó el producto mediante agitación ultrasónica durante 15 minutos. Por otro lado, se disolvieron 50 mg de bromuro de tetraoctilamonio en 80 ml de tolueno en una ampolla de decantación. Se agregaron 76 mg de KAuCl_4 (26 mg de Au) disueltos en 50 ml de agua destilada. Se efectuó la extracción siguiendo el método de Brust [iii] y se eliminó la fase acuosa. Se agregó la dispersión de magnetita en tolueno sobre la fase orgánica, y se añadieron 100 mg de hidroquinona disuelta en 20 ml de alcohol isopropílico. Luego de tres horas, las nanopartículas fueron separadas con un imán y lavadas con tolueno y ultrasonido dos veces, y se redispersaron con la misma cantidad de ácido oleico y oleilamina.

Las nanopartículas fueron funcionalizadas con diferentes tipos de tioles (dodecanotiol, nonaditilol), aminoácidos (cisteína) y ácido 3-mercaptopropiónico. Esto se llevó a cabo a diferentes concentraciones, medios y tiempos de reacción.

2.3 Caracterización

La morfología y el tamaño de las nanopartículas núcleo-cáscara fueron determinados mediante microscopía electrónica de transmisión (Philips EM 301) y microscopía de fuerza atómica en modo no-contacto (UltraObjective Surface Imaging Systems), en tanto que la actividad magnética fue analizada mediante microscopía de fuerza magnética (puntas magnéticas NanoProbes GmbH). La relación cuantitativa de Fe: Au se determinó a través de la relación de picos de fluorescencia de rayos x (FischerScope X-Ray). Las nanopartículas recubiertas con aminas y tioles fueron estudiadas mediante el espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (Nicolet 550 Series II) por la técnica de reflectancia difusa.

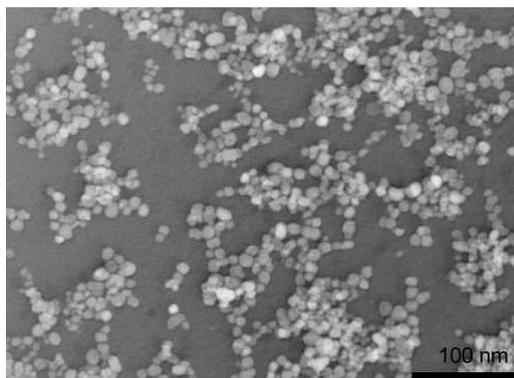


Figura 3. Imagen TEM de nanopartículas de magnetita.

En el caso de trabajos, que no puedan ajustarse específicamente a lo enunciado en el párrafo anterior, describir las características del trabajo

Resultados

se utilizó el método de coprecipitación de las sales de Fe^{+3} y Fe^{+2} en medio alcalino. La estructura del Fe_3O_4 es una espinela inversa fácilmente oxidable a su forma más estable como Fe_2O_3 . El diámetro promedio fue de 10 nm según imágenes tomadas por TEM (figura 3).

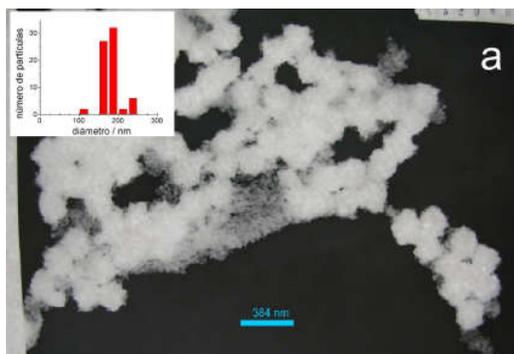




Figura 4. Micrografías electrónicas por transmisión de nanopartículas *core-shell*.

En las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión de la figura 4 se observa el tamaño y forma de las nanopartículas *core-shell* $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$. El tamaño es de 180 nm de diámetro promedio. Puede observarse que la superficie de las nanopartículas no es lisa, sino que presenta aristas. Este efecto ha sido observado anteriormente [1] y es compatible con un modo de nucleación y crecimiento de la cáscara del tipo Volmer-Weber, indicativo de que la interacción metal-óxido es mucho más débil que la interacción metal-metal [iv]. En la figura 5a se muestra la imagen de AFM de las partículas, depositadas por *spin coating* sobre Si monocristalino.

En contraste con las imágenes de microscopía electrónica de transmisión de la figura 4, la figura 5 muestra una distribución de tamaños de partículas relativamente amplio. Este hecho es consecuencia del mayor campo barrido por AFM, que permite observar un conjunto de partículas estadísticamente significativo. Debido al efecto de convolución de la punta del AFM los diámetros aparentan ser mayores que los obtenidos por microscopía electrónica de transmisión.

En la figura 5b se muestra la composición de las nanopartículas analizada mediante fluorescencia de rayos X. En la misma se aprecian claramente los picos del Fe y el Au.

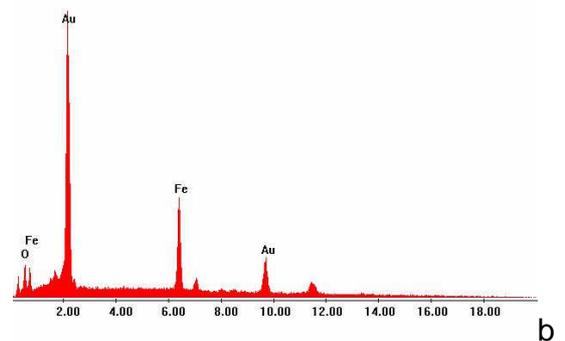
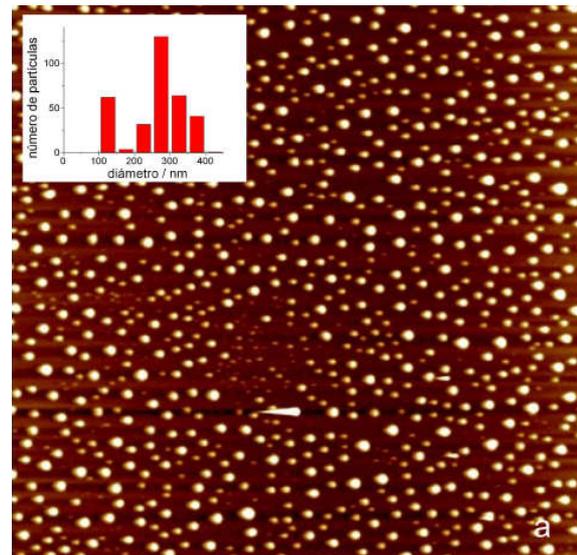


Figura 5. a) Imagen AFM de nanopartículas núcleo-cáscara sobre una superficie de Si plana a nivel atómico ($15 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$). b) Espectro de fluorescencia de rayos x.

Las características magnéticas de las nanopartículas se estudiaron por microscopía de fuerza magnética. En la figura 6 se muestran las imágenes topográfica y magnética de un conjunto de partículas. Se observa que las nanopartículas de menor diámetro ($d < 80$ nm) muestran una imagen magnética bipolar, asignable a dominios únicos (*single-domain*) [v,vi]. Las partículas de mayor diámetro muestran una estructura magnética compleja. Dado que los núcleos magnéticos de Fe_3O_4 tienen en promedio 10 nm y deben comportarse como dominios únicos, las imágenes probablemente reflejen el hecho que el núcleo de las partículas de mayor diámetro esté compuesto por un aglomerado de nanopartículas de magnetita recubierto por una cáscara de oro.

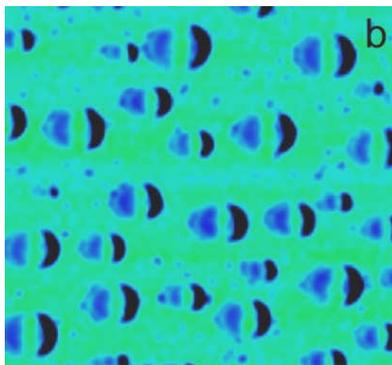
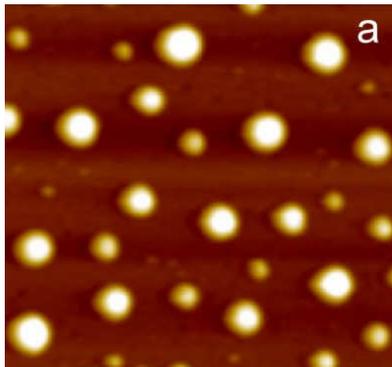


Figura 6. Imágenes de microsonda de barrido de las nanopartículas núcleo-cáscara ($3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$): (a) imagen topográfica; (b) imagen magnética.

Para usos biomédicos (resonancia magnética, hipertermia, liberación controlada) las nanopartículas magnéticas deben funcionalizarse con grupos adecuados para su posterior unión a estructuras de interés, por ejemplo proteínas. Las nanopartículas sintetizadas se hicieron reaccionar con grupos afines al oro (aminas y tioles) tales como cisteína, ácido 3-mercaptopropiónico, dodecanotiol y nonaditio. A modo de ejemplo, en la figura 7 se muestran los espectros infrarrojos de las nanopartículas funcionalizadas con cisteína.

Puede apreciarse que los compuestos que contengan un grupo tiol pueden ser efectivamente anclados sobre las partículas (espectro b). De esta forma puede modificarse la superficie de las nanopartículas con grupos reactivos (amino, carboxilato) que pueden a su vez unirse a moléculas más complejas.

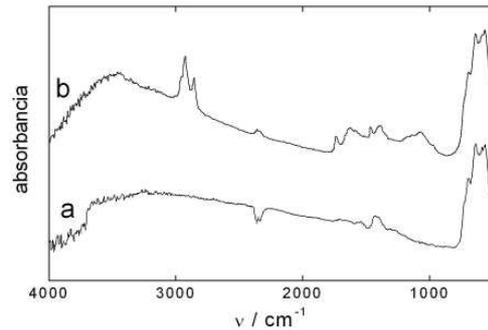


Figura 7. Espectros infrarrojos típicos de las nanopartículas *core-shell* desnudas (a) y funcionalizadas con cisteína (b).

Conclusiones

El presente trabajo presenta la síntesis de nanopartículas magnéticas cubiertas por una cáscara de oro (estructura *core-shell*) siguiendo un método desarrollado en nuestro laboratorio. De acuerdo a las condiciones de reacción se obtiene una distribución de tamaños de partículas. Las nanopartículas de menor diámetro se comportan como dominios magnéticos unitarios, indicando que contienen un único núcleo de magnetita cubierto por una cáscara de oro. Las partículas de mayor diámetro presentan imágenes magnéticas complejas, probablemente debidas a un núcleo magnético formado por un conjunto de nanopartículas de magnetita. Las nanopartículas pueden modificarse superficialmente con tiocompuestos que presentan grupos funcionales que pueden utilizarse para ulteriores reacciones bioquímicas.

Agradecimientos

Al Dr. Ramón Barnadas Rodríguez de la Universidad Autónoma de Barcelona por las imágenes TEM de la magnetita sintetizada.

Referencias

- [i] J. Lyon, D. Fleming, M. Stone, P. Schiffer, M.E. Williams, *NanoLetters* **4** (2004) 719.
- [ii] J. Fang, J. He, E.Y. Shin, D. Grimm, C. O'Connor, M.J. Jun, *Materials Research Society Symposium Proceedings* 2003, p. 774.
- [iii] M. Brust, M. Walker, O. Bethell, D.J. Schiffrin and R. Whyman, *Chemical Communications*, Vol. 104 (1994), p. 801.

[iv] E. Budevski, G. Staikov, W.J. Lorentz, "Electrochemical phase formation and growth", VCH Weinheim, Germany, 1996.

[v] C.A. Moina, M. Vazdar, "Electrodeposition of nano-sized nuclei of magnetic Co-Ni alloys onto n-Si (100)", Electrochemical Communications, Vol. 3 (2001), p. 159.

[vi] C.A. Moina, L. de Olivera-Versic, M. Vazdar, "Magnetic domain states in nano-sized Co nuclei electrodeposited onto monocrystalline silicon", Materials Letters, Vol. 58 (2004), p. 3518.

Para mayor información contactarse con:

Carlos Moina – moina@inti.gov.ar