

“Síntesis verde de nanopartículas de plata usando extractos acuosos de *Buddleja globosa* (matico) con potencial aplicación en curación de heridas”

Autores: Josefa Sofía Hernández Lillo

josefahernandez96@hotmail.com

Profesor asesor: Juan Carlos Araya Vargas

juan.araya@ucentral.cl

Universidad Central de Chile, Santiago, Región Metropolitana, Chile

RESUMEN

*En este proyecto se describe la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata mediante una metodología amigable para el medio ambiente, es decir, el reemplazo de reactivos químicos tóxicos y de alto costo por metabolitos secundarios obtenidos de plantas nativas de la región (Argentina, Chile y Perú), específicamente *Buddleja globosa* (matico) y el uso de agua como medio de reacción, el que siempre será preferido sobre los disolventes orgánicos tradicionales. Los resultados experimentales señalan que a través de esta síntesis verde es posible realizar la reducción de los iones plata, obteniéndose un nanomaterial relativamente uniforme, con un tamaño entre 63 y 90 nm. La presencia de plata (Ag) fue confirmada mediante espectroscopia EDX. El potencial de este tipo de materiales en la curación de heridas se plantea en función de las potenciales propiedades antimicrobianas de la plata y las cualidades antiinflamatorias y cicatrizantes que presente el matico. Esta investigación se encuentra en progreso y se mostrarán más adelante los primeros resultados de actividad biológica.*

Palabras Claves: Nanopartículas, síntesis verde, metabolitos secundarios, *Buddleja globosa*.

Introducción y Marco Teórico

Una herida es una lesión producida por un agente externo sobre el organismo que provoca una ruptura de la superficie cutánea o mucosa y una discontinuidad del epitelio que la reviste, constituyendo uno de los mayores motivos de demanda de los servicios de urgencias. Por este motivo, se hace importante estudiar e investigar nuevos materiales que ayuden a facilitar el proceso de curación de heridas. [1] En relación al desarrollo de materiales para estos propósitos, se han reportado diversos estudios en el tratamiento de heridas, enfocándose en diferentes fases de la reparación. Al respecto, las dos principales categorías de nanomateriales utilizados son aquellos que exhiben propiedades intrínsecas para beneficiar la curación de heridas y los que actúan como vehículos para los agentes terapéuticos. Entre los materiales intrínsecamente terapéuticos se encuentran los metales y sus óxidos, reconocidos por sus propiedades contra bacterias multi-

resistentes y formadoras de biopelículas, las que son características de las heridas crónicas.

Un ejemplo, es la sulfadiazina de plata, utilizada en infecciones de quemaduras y heridas crónicas. Sin embargo, este compuesto podría resultar tóxico para el tejido. Por el contrario, las nanopartículas de plata debido a su alta relación superficie-volumen se muestran más eficientes a concentraciones más bajas que los materiales tradicionales.[2]

A escala de laboratorio la síntesis de nanopartículas metálicas en solución acuosa, utiliza en general las sales inorgánicas de los metales y agentes reductores tales como formaldehído, hidracina, metanol, borohidruro de sodio, monóxido de carbono, etc, los que participan en un proceso de reducción de los iones metálicos a nanopartículas. También, se requiere de un agente protector o estabilizante como alcoholpolivinílico, poliacrilato de sodio, polivinilpirrolidina, entre otros. Las nanopartículas se caracterizan

por tener tamaños entre 1,0 y 100 nm, pudiendo formar distintos tipos de materiales nanoestructurados y los métodos de preparación de los mismos pueden ser variados a) método coloidal, b) reducción fotoquímica, c) irradiación con microondas, d) uso de dendrímeros, e) síntesis solvotermal.[3]

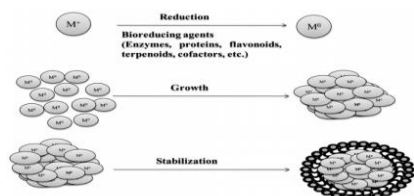


Figura 1. Posible mecanismo de formación de nanopartículas metálicas.

Este tipo de métodos de síntesis se generan desechos tóxicos y nocivos para el medio ambiente, y el uso de reactivos químicos encarece el costo de la producción de estos materiales a mayor escala.[4]

En consideración a lo antes expuesto, se propone la síntesis “verde” de nanopartículas de plata a partir de la reducción de una de sus sales, utilizando extractos acuosos de *Buddleja* globosa, los que actuarán como agente reductor y estabilizante, gracias a su contenido de metabolitos secundarios. Con este tipo de método no solo se eliminan los reactivos químicos para la síntesis, sino que también los disolventes orgánicos, los que son reemplazados por agua.

Un posible mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de sales y extractos de plantas involucraría en primer lugar la reducción de iones metálicos (Ag^+) a los respectivos átomos metálicos (Ag^0), seguido ocurriría del crecimiento de la partícula por aglomeración de átomos de metal, la que sería estabilizada a través de las mismas moléculas presentes en el extracto de plantas. Un esquema de lo antes expuesto se muestra en la figura 1.[5]

Los metabolitos secundarios que se encuentran en los extractos de plantas tienen estructuras químicas diversas. Entre ellos se destacan los compuestos fenólicos por su alto

poder reductor, así como también se le ha adjudicado propiedades reductoras a terpenoides, polisacáridos y flavonas presentes en los extractos. La estabilización de las nanopartículas metálicas y su consecuente término de la nucleación, se le adjudican a compuestos con grupos carboxílicos como ácido cítrico, proteínas, aldehídos, cetonas, etc. [6]

Por otra parte, en Chile existen plantas reconocidas como antiinflamatorias cuyas infusiones se utilizan en la curación de heridas dentro de la medicina popular. Un caso concreto de lo anterior, es la *Buddleja* globosa (matico). Estudios demuestran que los extractos hidro-alcohólicos (o alcohólicos) de hojas de matico contienen diversos principios activos responsables de la actividad antiinflamatoria y la proliferación de fibroblastos que combinado con sus propiedades antioxidantes podrían favorecer la curación de heridas. Las moléculas identificadas en estos extractos corresponden principalmente a triterpenoides, esteroides, flavonoides y feniletanoides, reconocidos metabolitos secundarios presentes en plantas medicinales.[7]

La combinación de las propiedades antibacterianas y de baja toxicidad de las nanopartículas de plata con los beneficios antiinflamatorios, antioxidantes y promoción de los fibroblastos presentes en los extractos del matico podrían permitir la generación de un nuevo material para la fabricación de apósitos o hidrogeles que pudieran ser utilizados en la curación de heridas avanzada.

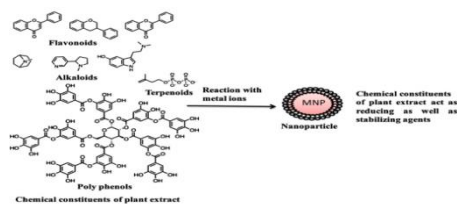


Figura 2. Constituyentes químicos de extractos de plantas responsables de la reducción y estabilización de nanopartículas metálicas.

Problema de Investigación

¿Es posible producir nanopartículas de plata a través de un método amigable con el medio ambiente, utilizando extractos de plantas nativas?

Hipótesis

Si se utilizan extractos acuosos de *Buddleja globosa* como agente reductor y estabilizante se podrá lograr la síntesis de nanopartículas de plata de manera sencilla y amigable con el medio ambiente.

Objetivo General

Preparar de nanopartículas de plata reducidas en un extracto acuoso de *Buddjela globosa* (matico).

Objetivos Específicos

1. Caracterizar un extracto de *Buddleja globosa*, mediante ensayos de identificación de metabolitos secundarios
2. Preparar nanopartículas de plata por reducción de nitrato de plata con extractos de matico.
3. Caracterizar las nanopartículas obtenidas a través de microscopia de barrido electrónico (SEM).
4. Realizar ensayos de resistencia antimicrobiana por test de difusión de agar con las nanopartículas sintetizadas.

Metodología

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Investigación de Química Aplicada en Salud de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Central de Chile.

El material vegetal (matico), se obtuvo de comercialmente, seco y liofilizado, siendo utilizado tal como se recibió.

Los reactivos AgNO_3 , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, KOH , HCl 37 %, etanol anhidro absoluto, fueron adquiridos de la empresa Merck y fueron utilizados sin tratamiento posterior.

Para las caracterizaciones por cromatografía en placa fina se utilizaron cromatofolios de sílica gel 60 con revelador F254, soportado sobre láminas de aluminio. Las placas se

revelaron con una lámpara UV portátil (254/365 nm).

Preparación del material vegetal:

En un mortero de porcelana provisto con pistilo se trituraron aproximadamente 600 g de *Buddleja globosa*. El matico pulverizado se guarda en una caja de plástico con tapa, provista de papel Kraft para mantener protegido el material vegetal de la luz y humedad externa.

Determinación del porcentaje de humedad:

Se colocaron exactamente 3,000 g de material vegetal sobre un vidrio reloj de masa conocida dentro de una estufa que se encuentra a 105 °C durante 2 horas. Luego, se deja enfriar en desecadora hasta temperatura ambiente. Se vuelve a masar en frío, y se determina el porcentaje de humedad en triplicado.

Confirmación taxonómica del material vegetal mediante microscópico óptico:

Se realizó un estudio morfológico del material vegetal con la finalidad de confirmar su identidad, para esto se realizó una preparación en fresco simple, colocando una gota de agua con una muestra de matico triturado sobre un portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos.

Caracterización química del extracto acuoso de *Buddleja globosa*

El extracto acuoso se obtuvo mediante reflujo de 10 g de material vegetal en 50 mL de agua destilada durante 60 minutos.

A continuación se sometió al reconocimiento cualitativo de los siguientes metabolitos secundarios:

- Antraquinonas [8]
- Flavonoides [9]
- Taninos [10, 11]
- Saponinas [12]

Síntesis de nanopartículas de plata:

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se agregan 90 mL de una disolución acuosa de AgNO_3 $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ y 10 mL de extracto

acuoso de *Buddleja globosa* (matico), la mezcla se calienta a 70°C durante 60 minutos, obteniéndose una suspensión de color pardo, la que se separa por centrifugación, el residuo se lava con agua bidestilada y etanol, se seca en estufa a 70°C durante cuatro horas.

Resultados y Discusión

Respecto al material vegetal (matico) el porcentaje de humedad determinado es de 5,992 % \pm 0,0534 en base húmeda, siendo adecuado para asegurar que la actividad enzimática de la planta ha sido detenida y no alterará los resultados.

La observación taxonómica en microscopio óptico de una muestra preparada al fresco, muestra la presencia de tricomas en forma de estrella (figura 3). Lo que confirma la identidad de la especie *Buddleja globosa* y que el material está conformado mayoritariamente por hojas de matico.



Figura 3. Observación de *Buddleja globosa* en microscopio óptico, utilizando objetivo menor.

De los ensayos químicos de caracterización del extracto acuoso de *Buddleja globosa* se pudo determinar la presencia de los siguientes metabolitos secundarios:

Tabla 1. Resumen de la caracterización química del extracto acuoso de *Buddleja globosa* (matico).

| Ensayo | Reactivo | Resultado extracto acuoso |
|--------------------|-----------------------|---------------------------|
| Antraquinonas | Revelador UV/KOH | + |
| Taninos gálicos | FeCl ₃ 5 % | + |
| Taninos catéquicos | HCl 37%/EtOH/AI | - |
| Saponinas | Agua | - |

Los resultados indican que en el extracto se encuentran los metabolitos secundarios antraquinonas, flavonoides y taninos. Confirmar la presencia de estas especies químicas en el extracto acuoso es importante para continuar con la etapa de síntesis de nanopartículas de plata, ya que se espera que estos metabolitos actúen tanto como agente reductor y estabilizante.

Durante el proceso de síntesis verde de las nanopartículas de plata se utilizó un blanco preparado con 10 mL de extracto acuoso y 90 mL de agua bidestilada (disolución control), el que también fue calentado a 70°C durante una hora, para descartar que el cambio de color observado sea producto de descomposición térmica.

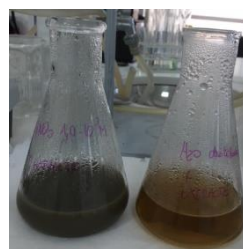


Figura 4. Reacción de AgNO₃ 1,0·10⁻³ M con extracto acuoso (izquierda) y disolución de control (derecha).

Se pudo observar que la disolución de control no sufrió ningún cambio visible, mientras que la disolución de AgNO₃ en presencia del extracto adquirió un color marrón, este color es característico de la formación de nanopartículas de plata en disolución acuosa. Posterior a la separación por centrifugación del producto formado, se realizaron varios lavados con agua bidestilada para retirar los restos del extracto, y luego con etanol para su posterior secado.

La presencia de plata (Ag) elemental fue confirmada mediante espectrometría EDX (Energy-dispersive X-ray spectroscopy). El eje vertical muestra el conteo de rayos X mientras que el eje horizontal muestra la energía en keV de la línea de identificación de la plata (Ag) en el espectro de la figura 5.

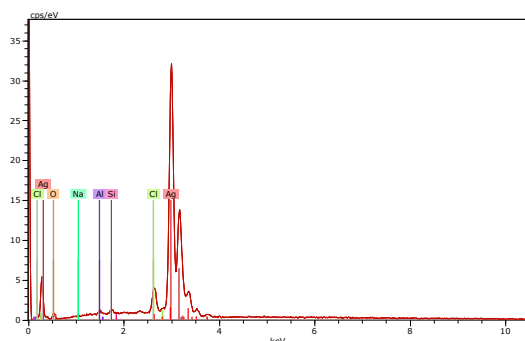


Figura 5. EDX de nanopartículas obtenidas a través de la síntesis verde.

El material obtenido fue caracterizado mediante microscopia electrónica de barrido (SEM, scanning electronic microscopy), la imagen a 1 μm muestra la presencia de partículas relativamente uniformes y de forma casi esférica con tamaños entre 63 y 90 nm aproximadamente (figura 6). Lo que estaría indicando la formación de las nanopartículas y cierta agregación de las mismas.

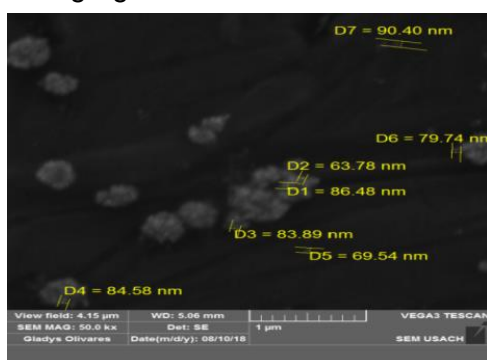


Figura 6. Imagen SEM de las nanopartículas sintetizadas.

En la actualidad se encuentran en proceso la obtención de la distribución del tamaño de las nanopartículas. Además de la caracterización mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR). Por último, es importante mencionar que al momento de hacer el envío de este documento, están en pleno progreso los estudios de la actividad biológica de las nanopartículas sintetizadas, en particular en ensayos de actividad antimicrobiana con cepas de bacterias Gram (+), Gram (-) y hongos, los que serán presentados durante en el evento.

4. Conclusión

En este trabajo ha quedado demostrado que es posible realizar la bio-reducción de iones plata en medio acuoso, utilizando metabolitos secundarios de plantas en lugar de reactivos químicos tradicionales. El método resulta ser simple, económico y amigable con el medio ambiente, permitiendo producir un nanomaterial relativamente uniforme.

Además, es importante dar la relevancia del uso de especies nativas de la región como *Buddleja* globosa, presente en Chile, Argentina y Perú. La síntesis verde podría abrir el espacio a la generación de nanomateriales a mayor escala y con menor costo y un bajo impacto ambiental.

La proyección de este trabajo es principalmente la introducción de otras especies nativas y endémicas para la síntesis verde de nanopartículas metálicas, y la aplicación de estos nanomateriales en diferentes áreas, tales como salud, catálisis y energía.

Bibliografía

- Andrades, P. Sepúlveda, S. y González, J. *Rev. Chilena de Cirugía*, **2004**, 56, 396-403.
- Hamdan, S. Pastar, I. Drakulich, S. Dikici, E. Tomic-Canic, M. Deo, S. y Daunert, S. *ACS Cent. Sci*, **2017**, 3, 163-175.
- Wang, Y., Xia, Y. *Nano Lett.* **2004**; 4: 2047–2050.
- Paosen S, Saising J, Septama A, Voravuthikunchai, S.. *Material Letters.* **2017**; 209: 201-206.
- Akhtar M, Panwar J, Yun Y-S. *ACS sustainable Chem. Eng.* **2013**; 1: 591-602.
- Rajeshkumar S, Bharath L.. *Chemico-Biological Interactions.* **2017**; 273: 219-227.
- Letelier, M. Jones, R. López, C. Palma, K. Aracena, P. Razmilic, I. Polanco, X. y Vogel, H. *Rev. Farmacol. Chile*, **2012**, 5, 13-19.