

BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO POR UV-VIS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADAS POR RUTINA E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Camylly D. A. Nascimento¹; Igor D. S. Sampaio¹; Ricardo L. Leite¹; Daniel A. Silva¹; José T. M. C. Júnior¹; João P. A. M. Silva¹; José V. P. Barbosa^{1,2}; Gilson Bezerra¹; Amanda R. Sena^{1,2}; Tonny C. C. Leite¹

¹Instituto Federal de Pernambuco – Campus Barreiros.

²Departamento de Antibiótico - Universidade Federal de Pernambuco – Campus Recife.

Palavras-Chave: Atividade biológica, Flavonoide, Nanotecnologia.

1 Introdução

Os flavonoides constituem um amplo grupo de metabólitos secundários, amplamente presentes em folhas, frutas, ervas, cereais, nozes, vegetais e sementes. Eles desempenham um papel fundamental na proteção das plantas contra agentes oxidantes que provocam estresse oxidativo, danificando suas células. Existem várias classes de flavonoides, incluindo flavononas, flavonóis e antocianinas, cada uma com diversos benefícios à saúde. (Ullah *et al.* 2020).

A rutina, pertencente a classe dos flavonóis, é comumente encontrado em cascas de frutas cítricas, folhas de chá e maçãs. Este flavonol possui diversas propriedades farmacológicas, incluindo efeitos anticancerígenos, antioxidantes, antidiabéticos, antimicrobianos, anti-Alzheimer, cito-protetores, neuro-protetores, vaso-protetores e cardioprotetores (Reddy *et al.* 2023).

A nanotecnologia verde, em particular, tem demonstrado ser fundamental no campo biomédico para o tratamento de diversas doenças. Nanopartículas metálicas funcionalizadas com fitoquímicos apresentam propriedades farmacológicas significativas e elevada biocompatibilidade (Reddy *et al.* 2023).

As nanopartículas de prata se destacam por suas notáveis propriedades físico-químicas e biológicas. Entre as características físico-químicas, incluem-se a elevada atividade catalítica, propriedades óticas e térmicas, alta condutividade elétrica, morfologia ajustável, síntese simplificada, elevada razão superfície/volume e capacidade de entrega intracelular. No que diz respeito às propriedades biológicas, essas nanopartículas demonstram características antibacterianas, antifúngicas, antivirais e anticancerígenas. Devido a essas propriedades, as nanopartículas de prata são aplicadas em diversas áreas, como saúde, indústria cosmética, alimentos e bebidas, entre outras. Atualmente, essas nanopartículas estão cada vez mais presentes em produtos do cotidiano, mesmo que sua presença não seja visível a olho nu (Souza *et al.* 2022).

Nesse contexto, a "Química Verde" surge como uma alternativa significativa. Esse movimento científico começou na década de 1990, quando a comunidade química passou a se preocupar com os resíduos gerados por suas atividades e buscou promover práticas sustentáveis, visando reduzir substâncias tóxicas e valorizar compostos naturais com propriedades benéficas (Gaspar *et al.* 2024).

A maioria das técnicas físico-químicas tradicionalmente empregadas na síntese de nanopartículas metálicas (NPMs) utiliza solventes tóxicos, resultando na geração de resíduos potencialmente prejudiciais à saúde e ao meio ambiente. Isso limita, em várias circunstâncias, o uso amplo dessas NPMs nas áreas farmacêutica e clínica. Nesse cenário, há um crescente interesse na busca por rotas alternativas de síntese que sejam mais seguras e tenham menor impacto ambiental, sendo a síntese verde uma abordagem promissora (Ribeiro, 2022).

A partir do exposto, o presente estudo teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata utilizando a rutina e avaliar *in vitro* seu potencial antioxidante.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção da Rutina

O flavonoide foi adquirido em uma farmácia de manipulação localizada em Recife, Pernambuco. Posteriormente, a rutina foi submetida a uma análise por cromatografia em camada delgada (CCD). Nesta análise, a amostra foi comparada com um padrão de rutina, e a confirmação da identidade do flavonoide foi feita com base na correspondência das bandas observadas na placa de sílica gel.

2.2 Biossíntese das nanopartículas de prata utilizando Rutina

A síntese das nanopartículas de prata estabilizadas pelo flavonoide rutina foi realizada conforme descrito por Reddy *et al.* (2023) e, Mohammad e AminI (2024), com algumas modificações. Inicialmente, 20 mg do flavonoide rutina foram pesados e dissolvidos em 2,5 mL de água destilada e 2,5 mL de etanol (EtOH). Em seguida, 0,0170 mg de nitrato de prata (AgNO_3) dissolvido em 100 mL de água destilada. Após a dissolução do flavonoide e do nitrato, as soluções foram homogeneizadas em um béquer e 3 mL de hidróxido de sódio (NaOH, 0,1 M) foi adicionado para ajustar o pH para 8,8. Posteriormente, adicionou-se mais 20 mL de água destilada.

A síntese foi conduzida, ao abrigo da luz, em evaporador rotativo a 60 °C e 8 rpm por 4 horas. Após a síntese o material obtido foi seco em estufa a 80 °C.

2.3 Atividade Antioxidante

2.3.1 Avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH

A análise para a determinação da atividade antioxidante, foi realizada utilizando o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) baseada no método descrito por Cavin *et al.* (1998) com algumas modificações. Em eppendorfs foram adicionados 50 μL da solução de nanopartículas (1 mg/mL) e 950 μL do radical DPPH (0,004%, p/v). As absorbâncias das soluções foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS (517 nm) após 30 min. Um controle negativo foi utilizado, trocando-se a amostra por etanol. A capacidade de sequestro do radical DPPH foi calculada em porcentagem.

2.3.2 Atividade Avaliação da sequestradora do cátion radical ABTS^{•+}

O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Re *et al.* (1999). O cátion radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico). A amostra da nanopartícula de prata com rutina foi utilizada na mesma concentração supracitada. Em eppendorfs foram adicionados 50 μL das amostras e 950 μL da solução de ABTS^{•+}. As soluções foram agitadas e, após 6 minutos de reação, a absorbância das amostras foi medida em um espectrofotômetro (734 nm). Um controle negativo foi utilizado, trocando-se a amostra por etanol. A capacidade de sequestro do radical ABTS^{•+} foi calculada em porcentagem.

3 Resultados e Discussão

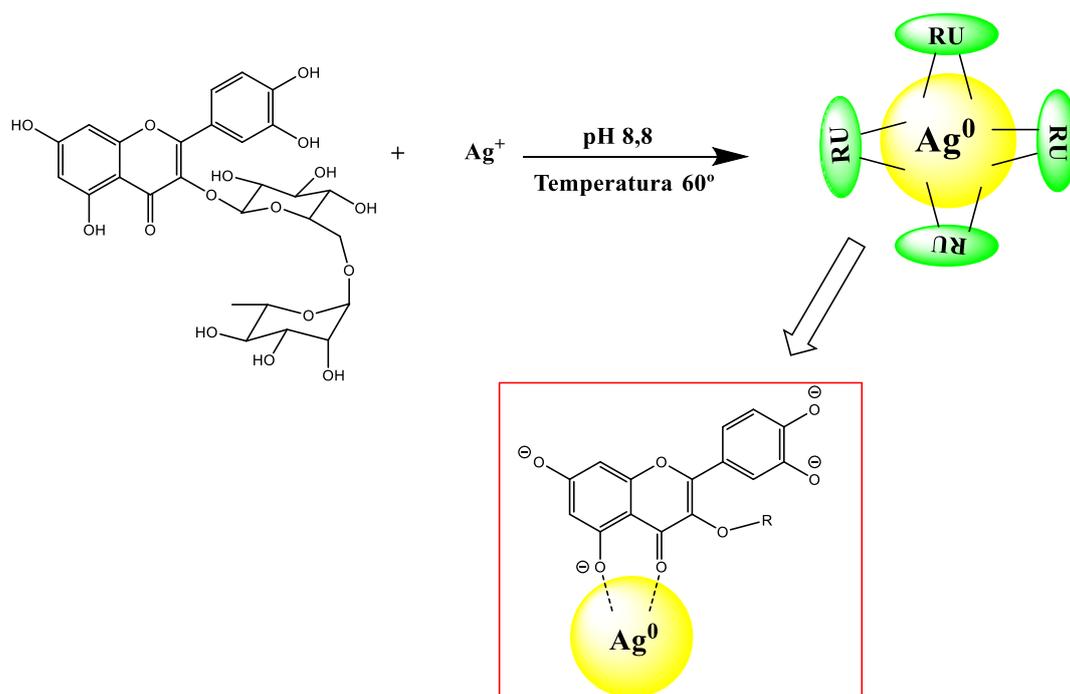
3.1 Biossíntese de nanopartículas de prata estabilizadas com Rutina

A síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) ocorre devido a transferência de elétrons da molécula de rutina para os íons de prata (Ag^+). Neste processo, a oxidação da rutina é um exemplo típico. É importante ressaltar que a síntese das nanopartículas de prata mediada por rutina (RU-AgNPs) requer um meio reacional básico para ocorrer.

A rutina participou como agente redutor devido à sua estrutura química, que contém um sistema de ligações duplas conjugadas e 10 grupos hidroxila, conferindo-lhe uma elevada capacidade redutora. Após a redução dos íons Ag^+ , a estabilização das nanopartículas de prata acontece por meio da adsorção do ânion da rutina à superfície das AgNPs. Esse processo é facilitado pela desprotonação do grupo 5-hidroxicromen-4-ona, que se coordena à superfície das nanopartículas, promovendo uma estabilização eficiente através da formação de uma camada protetora (Coutinho *et al.*, 2019).

O esquema 1 ilustra de forma esquemática a reação entre a rutina e os íons de prata, bem como o mecanismo de estabilização das nanopartículas de prata.

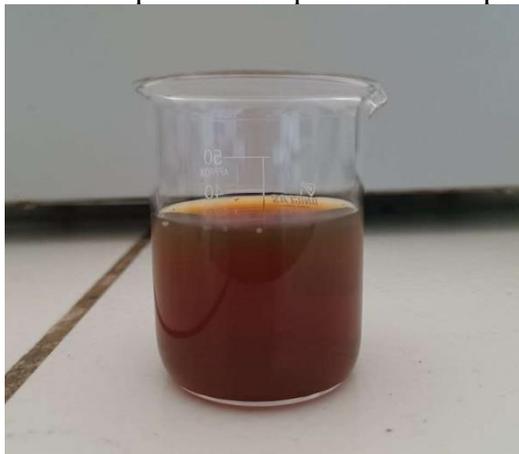
Esquema 1 – Mecanismo da biossíntese das nanopartículas de prata.



Fonte: adaptado Coutinho *et al.*, (2019).

O resultado do experimento demonstrou a formação de nanopartículas de prata (AgNPs) a partir de nitrato de prata como material de partida, e o flavonoide rutina como agente redutor e estabilizante. Ao término da síntese, percebeu-se uma mudança na coloração da solução, que apresentou uma cor visível (marrom/amarelado) conforme a Figura 1, confirmando a redução da prata e a formação de nanopartículas.

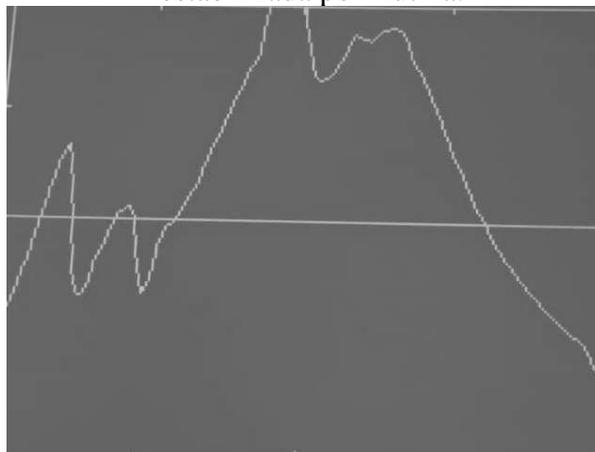
Figura 1 - Nanopartícula de prata mediada por Rutina.



Fonte: os autores (2024).

Para a análise das nanopartículas de prata utilizou-se espectroscopia no UV-Vis. As medições de absorvância e concentração de prata ajudaram a criar curvas analíticas. As nanopartículas mostraram ressonância plasmônica de superfície (RPS) na luz visível, causando uma coloração característica. O espectro de absorção teve um pico máximo de 432 nm, confirmando a formação de nanopartículas Figura 2.

Figura 2 - Espectro de absorção na região visível referente à nanopartícula de prata estabilizada por Rutina.



Fonte: os autores (2024).

3.2 Avaliação das atividades antioxidantes das AgNPs

É possível avaliar de diferentes formas a atividade antioxidante de substâncias biologicamente ativas. Devido aos diferentes tipos de radicais livres e suas diferentes formas de atuação, não é possível utilizar apenas um método universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser medida precisa e quantitativamente, com isso, se faz necessário utilizar mais de um método de análise para avaliar a atividade antioxidante de uma substância (Alves *et al.*, 2010).

Após o término do processo de síntese, foi avaliada a atividade antioxidante por dois métodos, sendo eles: radical DPPH e cátion radical ABTS^{•+}. Os resultados das atividades antioxidante estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultado das atividades antioxidantes.

Amostra	Radical DPPH	Radical ABTS ^{•+}
	AA (%)	AA (%)
AgNPs de Rutina	71,0 ± 0,02	45,7 ± 0,007

AA: Atividade Antioxidante.

A tabela acima indica que a atividade realizada com nanopartículas de prata estabilizadas por rutina mostrou-se eficaz no sequestro do radical DPPH (71 %). Um estudo realizado por Akintola *et al.*, 2020, onde as AgNPs biossintetizadas a partir do extrato metanólico da folha de *Blighia sávida* (castanheiro-de-áfrica) apresentaram um sequestro ao redor de 75,42 % para o radical DPPH. Sendo assim, indicando que as nanopartículas de prata carregaram as propriedades bioativas, tornando-se capazes de atuar como agentes antioxidantes.

Já o cátion radical ABTS^{•+} as nanopartículas de prata apresentaram uma capacidade de sequestro em torno de 45,7 %. Comparando com a literatura, o estudo realizado por Macovei *et al.*, 2023, mostra que a atividade antioxidante das AgNPs derivadas dos extratos ricos em flavonoides da casca de *Pinus sylvestris* (pinheiro-silvestre). Os autores encontraram um percentual de 37,8 %, um valor inferior quando comparado ao presente estudo.

Assim, as nanopartículas de prata (AgNPs) obtidas nesta pesquisa incorporaram as propriedades antioxidantes do composto bioativo (rutina), tornando-se agentes antioxidantes eficazes. Isso aumenta sua capacidade de neutralizar radicais livres e proteger contra o estresse oxidativo.

Conclusões

O estudo demonstrou que a produção ecológica de nanopartículas de prata utilizando rutina foi tanto eficiente quanto sustentável. A caracterização por UV-vis confirmou a formação das nanopartículas, evidenciando a função da rutina como agente redutor e estabilizador. Os testes *in vitro*, para a capacidade antioxidante, indicaram que os produtos obtidos apresentam potencial antioxidante, sugerindo sua eficácia na proteção contra estresses oxidativos. Esses resultados abrem novas oportunidades para pesquisas futuras, bem como suas aplicações terapêuticas e tecnológicas.

Agradecimentos

Ao IFPE - *Campus* Barreiros pela infraestrutura disponível e a Facepe pela bolsa concedida.

Referências

AKINTOLA, A. O. *et al.* Propriedades antioxidantes de nanopartículas de prata biossintetizadas a partir do extrato metanólico da folha de *Blighia sapida*. **Na série de conferências IOP: Ciência e Engenharia de Materiais**, v. 805, n. 1, p. 012004, 2020.

CAVIN, A. *et al.* Antioxidant and lipophilic constituents of *Tinospora crispa*. **Planta medica**, [S. l.], v. 64, n. 5, p. 393-396, 1998.

GASPAR, C. S. *et al.* Ensino de química verde no Brasil: mapeamento de publicações a partir da análise de redes sociais. **Educ. quím**, Cidade do México, v. 34, n. 4, p. 156-172, 2024.

MACOVEI, I. *et al.* Silver nanoparticles synthesized from abies alba and pinus sylvestris bark extracts: characterization, antioxidant, cytotoxic, and antibacterial effects. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 797, 2023.



MOHAMMADI, E., AMINI, S. M., Green synthesis of stable and biocompatible silver nanoparticles with natural flavonoid apigenin. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 38, p. 101175, 2024.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, 1999.

REDDY, J. R. S. M. *et al.* Eradication of dental pathogens using flavonoid rutin mediated silver-selenium nanoparticles. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 157, p. 111391, 2023.

RIBEIRO, G. S. **Síntese de nanopartículas de prata mediada por extratos aquosos de açaí (*Euterpe oleracea*)**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara, 2022.

RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. 2007.

SOUSA, Adelaide *et al.* Nanopartículas de prata. **Revista de Ciência Elementar**, v. 10, n. 3, 2022.

ULLAH, A. *et al.* Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5243, 2020.