

## SÍNTESE VERDE E CARACTERIZAÇÃO POR UV-VIS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA DA QUERCETINA OBTIDA COMERCIALMENTE EM FARMÁCIA DE MANIPULAÇÃO NO MUNICÍPIO DE RECIFE E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Igor D. S. Sampaio<sup>1</sup>; Ricardo L. Leite<sup>1</sup>; Daniel A. Silva<sup>1</sup>; Camylly D. A. Nascimento<sup>1</sup>; Gilson B. Silva<sup>1</sup>; Amanda R. Sena<sup>1</sup>; José V. P. Barbosa<sup>2</sup>; José T. M. C. Júnior<sup>1</sup>; João P. A. M. Silva<sup>1</sup>; Tonny C. C. Leite<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Pernambuco – Campus Barreiros.

<sup>2</sup>Departamento de Antibiótico - Universidade Federal de Pernambuco – Campus Recife.

**Palavras-Chave:** Atividade biológica, Nanotecnologia, Síntese verde.

### 1. Introdução

As reações oxidativas prejudiciais podem ocorrer no organismo e serem removidas mediante mecanismos antioxidativos tanto enzimáticos como não enzimáticos. Há condições em que o aumento de oxidantes e a diminuição de antioxidantes não pode ser prevenida e em consequência ocorre um desequilíbrio do estado oxidativo levando ao desenvolvimento do estresse oxidativo, o qual tem sido implicado em muitas desordens (Erel, 2004; Ferreira; Matsubara, 1997).

Uma substância antioxidante, por definição, é uma substância capaz de impedir a oxidação ou que mesmo em baixa concentração comparada ao substrato oxidável, minimiza ou inibe a oxidação deste substrato. Do ponto de vista biológico, define-se antioxidante como compostos que protegem os sistemas biológicos contra os efeitos negativos dos processos ou reações que levam à oxidação de moléculas ou estruturas celulares (Vannucchi; Marchini, 2014).

Os compostos fenólicos obtidos de fontes vegetais podem ser divididos em dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo que ambos são metabólitos especiais presentes em frutas e vegetais. Os denominados de flavonoides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6. (Melo; Guerra, 2002; Burns *et al.*, 2001).

Os flavonoides extraídos das plantas e alimentos são compostos naturais que possuem estrutura química caracterizada por polifenóis e são consideravelmente utilizados na inibição de radicais livres e atividades quelantes de íons metálicos por conta de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo um destes o flavonoide quercetina, que possui atividades antioxidantes, anticancerígenas e protetoras ao sistema cardiovascular, renal e hepático (Behling *et al.*, 2008).

O uso de flavonoides isolados para síntese de nanopartículas de prata pode influenciar o aprimoramento das nanopartículas por conta de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo viável e sustentável sua utilização como síntese verde. Por exemplo, o uso do flavonoide apigenina na rota de síntese de nanopartículas de prata apresentou atividade antioxidante em baixas concentrações e pró-oxidantes em altas concentrações de acordo com método DPPH, segundo (Mohammadi; Amini, 2024).

De acordo com Sathishkumar *et al.* (2019), o mecanismo geral para a redução dos íons de prata e a consequente formação das nanopartículas de prata por meio da ação biológica ocorre por meio da doação de elétrons de um agente redutor presente na biomassa utilizada. Nesse processo, os compostos fenólicos presentes na biomassa reduzem os íons de prata ( $Ag^+$ ) a prata reduzida ( $Ag^0$ ), enquanto são oxidados os compostos químicos. A estabilização das nanopartículas é alcançada pela adsorção de grupos funcionais presentes na superfície das nanopartículas, como carboxilatos, aminos e hidroxilas

As nanopartículas de prata quando sintetizadas com demais compostos tendem a potencializar suas propriedades terapêuticas, como por exemplo a combinação de

nanopartículas de prata com antibióticos a qual melhoram sua capacidade antimicrobiana, reduzindo a dosagem e a toxicidade do antibiótico (Sanchez; Ladino, 2023).

Portanto a partir do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a síntese das nanopartículas de prata utilizando quercetina de uma farmácia de manipulação e avaliar *in vitro* atividade antioxidante.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Obtenção da quercetina

O flavonoide quercetina foi adquirido em uma farmácia de manipulação localizada em Recife, Pernambuco. Posteriormente, a quercetina foi submetida a uma análise por cromatografia em camada delgada (CCD). Nesta análise, a amostra foi comparada com um padrão de quercetina, e a confirmação da identidade do flavonoide foi feita com base na correspondência das bandas observadas na placa de sílica gel. Esta abordagem assegurou a autenticidade e a pureza da quercetina utilizada no estudo.

### 2.2 Síntese das nanopartículas de prata por redução química utilizando quercetina

A síntese das nanopartículas estabilizadas com o flavonoide foi realizada segundo (Reddy *et al.*, 2023) e (Mohammadi; Amini., 2024) com algumas modificações, na qual foi dissolvido 20 mg de quercetina em 5 ml de água destilada e etanol em temperatura ambiente. Posteriormente dissolveu-se 0,0170 mg de  $\text{AgNO}_3$  em 100 ml de água destilada dentro de um becker, também a temperatura ambiente. Após total dissolução, adicionou-se na solução de  $\text{AgNO}_3$  a solução de quercetina, homogeneizando-a com um bastão de vidro.

Após isso, ajustou-se o pH da solução a 8.6 com a adição de 3 ml de NaOH e 20 ml de água destilada. Colocando a solução final dentro de um balão de fundo redondo envolto de papel alumínio, mantendo a temperatura a 60 °C e rotação a 10 rpm. Após 4 horas, observou-se a mudança de coloração da solução para a cor castanho coloidal indicando a redução da prata com formação de nanopartículas. Em seguida a solução prata/flavonoide foi caracterizada por UV-VIS.

### 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. Uma solução de DPPH 0,004% foi adicionada a amostra na concentração de (1mg/ml). foi adicionado em um eppendorf 50  $\mu\text{L}$  do extrato e em seguida adicionou-se 950  $\mu\text{L}$  do radical DPPH. A absorbância das soluções foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (517 nm) após 30 min. A porcentagem de atividade sequestradora (% AS) foi calculada pela equação:

#### 2.3.2 Atividade Avaliação da sequestradora do cátion radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$

O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Re *et al.* (1999). O cátion radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico). A amostra da nanopartícula de prata com quercetina foi preparada na concentração de (1mg/ml), na qual foi adicionado 50  $\mu\text{L}$  das amostras, em seguida adicionou-se 950  $\mu\text{L}$  da solução de  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ . As soluções foram agitadas e, após 6 minutos de reação, a absorbância das amostras e do padrão foram medidas em um espectrofotômetro em comprimento de onda de 734 nm. A atividade de inibição foi calculada em porcentagem.

#### 2.3.3 Avaliação da atividade Antioxidante total pelo Método de Poder Redutor

A atividade antioxidante através da determinação do potencial redutor é baseada no método proposto por Waterman e Mole (1994), com adaptações. Neste ensaio foram

preparadas, em triplicata, misturas reacionais contendo 100  $\mu\text{L}$  de solução de AgNPs de quercetina (1 mg/ml). Em seguida foi acrescentado 8,5 ml de água destilada e 1,0 ml de uma solução de  $\text{FeCl}_3$  0,1 mol/L. Após três minutos, adicionou-se 1,0 ml de uma solução de ferricianeto de potássio 0,08 mol/L e, após 15 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da mistura em espectrofotômetro a 720 nm. O surgimento da cor azul da Prússia é indicativo de potencial redutor.

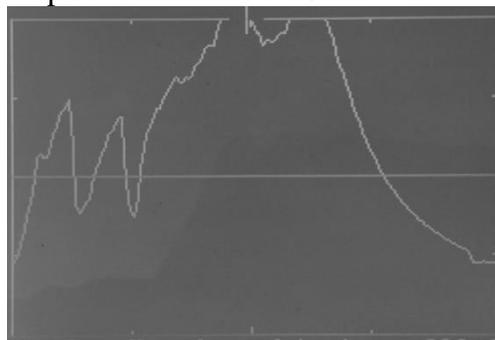
### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Síntese da nanopartícula de prata

##### 3.1.1 Síntese de nanopartículas de prata estabilizadas com quercetina

A utilização do flavonoide quercetina como agente redutor da  $\text{Ag}^+$  para  $\text{Ag}^0$  no processo de síntese se apresentou de maneira satisfatória, visto que a mudança de coloração para castanho coloidal ao término da síntese evidencia a criação das nanopartículas de prata, pois durante o processo de síntese, a coloração inicial da solução se distingue da coloração final após o término das 4 horas, de acordo com a figura 2. A caracterização feita em espectrofotômetro UV-VIS em faixa de comprimento de onda de 300 nm a 600 nm, a qual apresentou pico em 446 nm, conforme a figura 1.

**Figura 1** - Espectro de absorção na região visível referente às AgNPs de quercetina, pico máximo em 446 nm



Fonte: o autor, (2024).

As nanopartículas de prata apresentam coloração amarelada/castanho por conta da Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS), excitação coletiva dos elétrons que confirmam sua formação e propriedades ópticas. De acordo com o estudo realizado por Vanaraj; Keerthana; Preethi, (2017), as nanopartículas sintetizadas com quercetina também apresentaram mudança de coloração em comparação a solução de  $\text{AgNO}_3$  sem o flavonoide (agente redutor) e pico característico que variou entre 430 à 465 nm, o que é usualmente observado nas reduções dos íons de prata como evidencia de sua formação, ainda assim, faz-se necessário o uso de mais caracterizações além da UV-vis para investigar outras propriedades como por exemplo tamanho, morfologia e estabilidade.

**Figura 1** – Amostra da solução da AgNPs de quercetina.

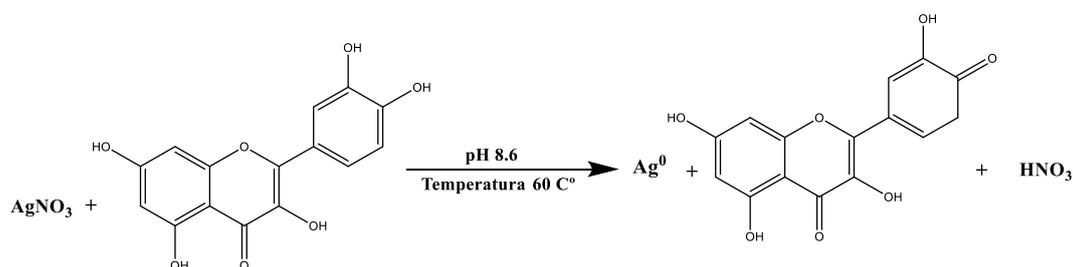


Fonte: o autor, (2024).

A síntese de AgNPs envolve transferência de elétrons da molécula de flavonoide para íons  $\text{Ag}^+$ . Aqui, a síntese de AgNPs com oxidação da quercetina é apresentada como um exemplo típico. Observe que um meio de reação básico é necessário para a síntese de AgNPs mediada por quercetina. A quercetina atua como agente redutor por causa da sua estrutura que contém um sistema de ligações duplas conjugadas com cinco grupos hidroxila, que levam a uma alta capacidade redutora e estabilização. Após a redução, a quercetina é oxidada para sua respectiva forma de quinona e os dois oxigênios presentes no anel B do flavonoide presente na forma oxidada coordena com a superfície de NPs que causa estabilização por cobertura na superfície. A representação esquemática da reação da quercetina com nitrato de prata e estabilização de AgNPs com forma oxidada de quercetina é ilustrada no esquema 1.

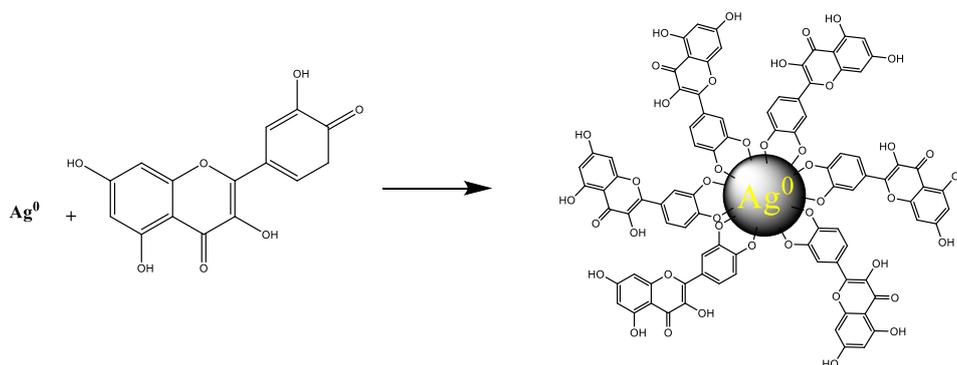
**Esquema 1** – Mecanismo de síntese de AgNPs utilizando quercetina.

**Formação das nanopartículas de prata**



Fonte: o autor, (2024).

### Estabilização das nanopartículas de prata



Fonte: o autor, (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 realizada avaliação da atividade antioxidante por três métodos, sendo eles: radical DPPH, cátion radical ABTS<sup>+</sup>, Poder Redutor. Os resultados das atividades antioxidante estão expressos na tabela 1.

**Tabela 1** - resultado das atividades antioxidantes.

Amostra	Radical DPPH AA (%)	Radical ABTS <sup>+</sup> AA (%)	Poder Redutor/AA (Mg EQ/g)
AgNPs de Quercetina	95,40 ± 0,001	81,20 ± 0,01	14,10 ± 0,01

**AA:** Atividade Antioxidante. **Mg EQ/g** miligramas equivalentes de ácido ascórbico.

Conforme apresenta a tabela 1, no método da atividade DPPH a nanopartícula sintetizada com flavonoide mostrou-se eficaz na inibição do radical, visto que apresentou 95,40 % de inibição de acordo com o padrão 100%. Comparando com a literatura, o trabalho desenvolvido por Chahardoli *et al.*, 2021, que sintetizou e avaliou as AgNPs de quercetina demonstrou menor atividade antioxidante com percentual de inibição de 82,2 % frente aos 95,40 % de inibição obtidos pelas AgNPs de quercetina obtida neste trabalho.

Pelo método cátion radical ABTS as AgNPs com quercetina mostrou-se eficaz uma vez que inibiu cerca de 81%, esse método apresenta uma grande vantagem pois interage com amostras que tenha caráter apolar e polar. Um estudo realizado segundo Bhutto *et al.*, 2018, avaliou a atividade antioxidante das nanopartículas de prata da quercetina onde encontrou percentual de 58.18% que é menor frente ao 81,20 % encontrado nesse trabalho. Sendo assim, indicando que as nanopartículas de prata carregaram consigo as propriedades antioxidantes dos compostos vegetais, tornando-se capazes de atuar como agentes antioxidantes.

Na análise da capacidade redutora das nanopartículas de prata sintetizadas com quercetina, observou-se que elas demonstraram a habilidade de reduzir íons férricos (Fe<sup>3+</sup>) a íons ferroso (Fe<sup>2+</sup>). Este comportamento foi quantificado e expresso como 14,10 mg de ácido ascórbico equivalente. Esse resultado evidencia que as nanopartículas de prata possuem um

significativo potencial redutor, o que é um indicativo de sua eficácia em processos que envolvem a neutralização de espécies reativas.

## Conclusões

A síntese verde de nanopartículas de prata utilizando quercetina obtida comercialmente em farmácias de manipulação no município de Recife mostrou-se eficiente e sustentável, com a caracterização por UV-vis confirmando a formação das nanopartículas e a ação da quercetina como agente redutor e estabilizador. A avaliação *in vitro* revelou que essas nanopartículas possuem uma atividade antioxidante promissora, indicando seu potencial para aplicações em proteção contra estresses oxidativos. Esses resultados destacam a eficácia da quercetina na síntese de nanopartículas de prata de forma ecológica e sugerem novas direções para pesquisas sobre métodos sustentáveis e suas aplicações terapêuticas e tecnológicas.

## Agradecimentos

Ao IFPE - Campus Barreiros pela infraestrutura disponível e ao CNPq pela bolsa concedida.

## Referências

- BEHLING, E. V. *et al.* Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2008.
- BHUTTO, A. A. *et al.* Quantitative structure–activity relationship between antioxidant capacity of phenolic compounds and the plasmonic properties of silver nanoparticles. **Talanta**, v. 189, p. 174-181, 2018.
- CHAHARDOLI, Azam *et al.* Otimização da síntese de nanopartículas de prata assistida por quercetina e avaliação de seus efeitos de hemocompatibilidade, antioxidantes, anti-inflamatórios e antibacterianos. **Global Challenges**, v. 5, n. 12, p. 2100075, 2021.
- 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.* & Sathishkumar, P. Eradication of dental pathogens using flavonoid rutin mediated silver-selenium nanoparticles. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 157, p. 111391, 2023.
- SÁNCHEZA, M. A.; FISCAL LADINO, J. A. Avaliação antimicrobiana de nanopartículas de prata usando extratos de *Crescentia cujete* L. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e270215, 2023.
- SATHISHKUMAR, P. *et al.* Biogenic silver nanoparticles: synthesis, characterization, antimicrobial activity, and toxicity analysis. **Journal of Nanobiotechnology**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 1-23, 2019.
- VANARAJ, S.; KEERTHANA, B. B.; PREETHI, K. Biossíntese, caracterização de nanopartículas de prata usando quercetina de *Clitoria ternatea* L para aumentar a toxicidade contra biofilme bacteriano. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 27, p. 1412-1422, 2017.
- WATERMAN, P.G.; MOLE, S. Analysis of phenolic plant metabolites. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford, pp. 66-103, 1994.