

Nanopartículas metálicas de ouro (AU) e prata (AG) associadas a substâncias naturais, uma proposta de síntese Biogênica pouco explorada

Metallic nanoparticles of gold (AU) and silver (AG) associated with natural substances, a proposal for a little explored Biogenic synthesis

DOI:10.34117/bjdv8n5-385

Recebimento dos originais: 21/03/2022

Aceitação para publicação: 29/04/2022

Renato André Zan

Doutor em Química de Produtos Naturais

Instituição: Instituto Federal do Sul de Minas – IFSULDEMINAS – Campus Pouso Alegre

Endereço: Avenida Maria da Conceição Santos nº 900, Bairro Parque Real, - Pouso Alegre/MG, CEP: 37560-260

E-mail: renato.zan@ifsuldeminas.edu.br

Andrômeda Serpa Hermano de Souza Zan

Licenciada em Química

Endereço: Pouso Alegre – MG, CEP: 37557-000

RESUMO

A nanotecnologia pode ser aplicada em processos de produção de novos catalisadores, fármacos, em processos de diagnósticos, etc. Sabendo-se que as pesquisas em nanotecnologia crescem a cada dia, e, em particular, as pesquisas envolvendo nanopartículas de Au e Ag, torna-se importante a compreensão de como este material pode ser produzido, em especial quando utiliza materiais vegetais como fontes de agentes redutores. Também é necessário o conhecimento dos métodos de caracterização das NPs após sua síntese e de qual seu potencial de aplicação em testes de importantes atividades biológicas de grande interesse para o homem. Apresentar o estado-da-arte acerca da síntese, caracterização e aplicação biológica de nanopartículas metálicas de Ouro (Au) e Prata (Ag) com ênfase na utilização de extratos vegetais para sua produção e sua associação com produtos naturais.

Palavras-chave: ouro, prata, síntese biogênica, produtos naturais.

ABSTRACT

Nanotechnology can be applied in production processes for new catalysts, drugs, in diagnostic processes, etc. Knowing that research in nanotechnology grows every day, and, in particular, research involving Au and Ag nanoparticles, it is important to understand how this material can be produced, especially when using plant materials as sources of energy. reducing agents. It is also necessary to know the methods of characterization of NPs after their synthesis and their potential application in tests of important biological activities of great interest to man. To present the state-of-the-art about the synthesis, characterization and biological application of metallic nanoparticles of Gold (Au) and Silver (Ag) with emphasis on the use of plant extracts for their production and their association with natural products.

Keywords: gold, silver, biogenic synthesis, natural products.

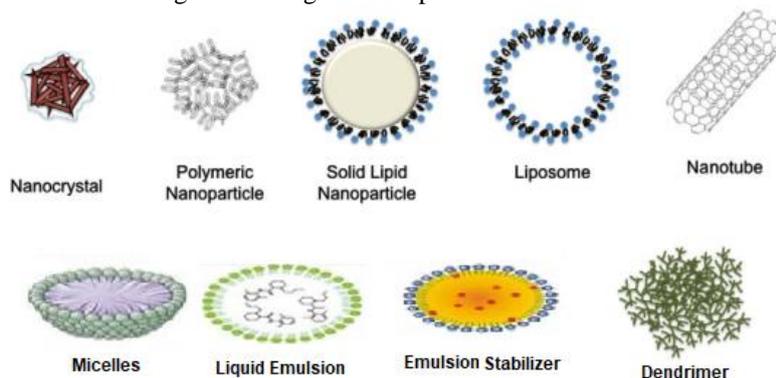
1 INTRODUÇÃO

A Nanociência é definida como uma parte da ciência que estuda a manipulação dos materiais em escalas atômica, molecular e macromolecular, conduzindo à construção de estruturas na escala nanométrica entre 1 e 1.000 nm [01]. A nanotecnologia, por sua vez, é um campo de pesquisa em crescente desenvolvimento e relaciona conceitos da física, química, biologia e objetos tecnológicos (robótica) em escala reduzida. Por ser uma ciência de ampla aplicabilidade, contribui para o progresso da medicina, física, química, engenharia de materiais e diversos outros setores [02].

Mesmo a nanotecnologia estando no cotidiano das pessoas há milhares de anos, somente em 1959 o físico americano Richard Feynman, proferindo uma palestra na Reunião da Sociedade Americana de Física, propôs a construção e manipulação de materiais em escala nanométrica, proposta essa que se tornou um marco e uma nova concepção em nanociência e nanotecnologia [03]. Em 1974, Norio Taniguchi passa a definir o termo “nanotecnologia” como sendo a habilidade para manipular materiais em escala nanométrica, e a partir de então, as nanopartículas passaram a ser utilizadas para diversas aplicações na área de Ciência e tecnologia [03][04].

As nanopartículas são aglomerados de átomos e/ou moléculas de tamanho variando entre 1 a 1.000 nm, que se comportam como uma unidade inteira em termos de seu transporte e propriedades, e têm como característica possuírem uma área superficial bastante alta, o que facilita a reação com diferentes ligantes funcionais [01][03]. O seu pequeno tamanho permite sua aplicação no desenvolvimento de novos dispositivos ou ferramentas utilizadas nos campos da biomedicina e farmácia [05]. Como exemplo, pode-se mencionar alguns nanossistemas utilizados para veicular substâncias ativas através de sistemas biológicos, como os lipossomas, dendrímeros, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanopartículas metálicas, nanotubos de carbono e etc [06], cujas estruturas podem ser vistas na Figura 1.

Figura 01: Alguns exemplos de nano-sistemas.



Fonte: Adaptado de [06][07]

As atuais pesquisas sobre nanotecnologia geraram grandes avanços na ciência e tecnologia e tem protagonizado o desenvolvimento e descoberta de novos materiais para as mais variadas aplicações em diversos setores como a engenharia molecular, biomedicina, química, farmacologia, mecânica, agricultura, medicina, entre outras, [4][5].

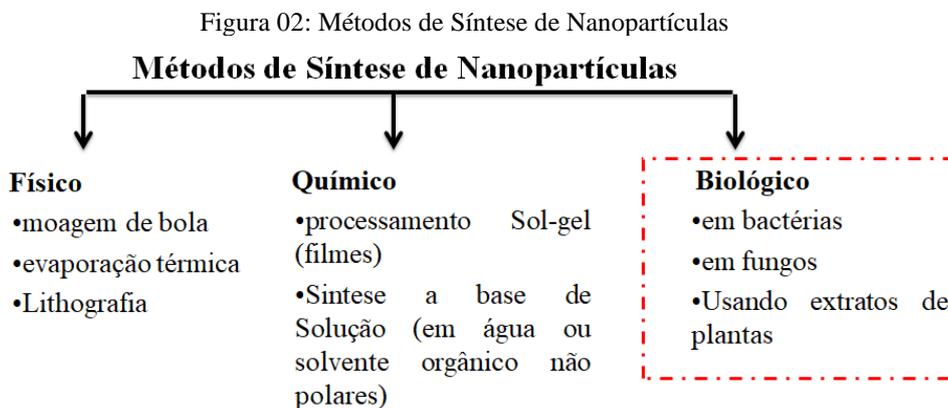
Essa tecnologia auxilia no entendimento, auxiliando no desenvolvimento de novas possibilidades para a sínteses de pesticidas, fármacos e seu tratamento direcionado, na medicina regenerativa e para novas propostas de análise, diagnóstico e terapia. Em relação aos fármacos, a diminuição do tamanho das partículas a escala de sub-mícron aumenta a capacidade de dissolução destas, favorecendo a biodisponibilidade[4][6].

O interesse das pesquisas em nanotecnologia na área de novas drogas usando nanopartículas metálicas portadoras de moléculas pequenas e grandes tem aumentado muito. A ideia de expandir os limites de sensibilidade e a especificidade de testes e métodos bioquímicos e biossensores permite o aumento da eficiência, conforto e segurança dos fármacos. Uma das propostas mais importantes para o uso das nanopartículas metálicas é a entrega e direcionamento de farmacos ou drogas para lesões, entre outras atuações como agentes catalíticos, além de atividades leshmanicida e antimicrobiana [5][6][8].

Katas e colaboradores [9] relata que, nos últimos anos, as nanopartículas metálicas, em especial as de prata (Ag), ouro (Au), platina (Pt) e paládio (Pd), têm sido crescentemente estudadas devido às suas propriedades únicas. Estas propriedades englobam especialmente o seu tamanho e sua grande superfície de contato. Ressalta-se

que as nanopartículas metálicas são bastante compatíveis com sistemas biológicos, sendo empregadas de modo na medicina diagnóstica e na terapêutica.

A síntese das nanopartículas metálicas pode ser feita de diversas maneiras, incluindo métodos físicos, químicos ou biológicos (**fig. 2**) [10].



Fonte: Adaptado de [10]

Os processos biológicos de síntese (conhecida como “verde, biogênica”) de nanopartículas metálicas vem ganhando popularidade no meio científico devido ao seu promissor custo-benefício e baixa geração de resíduos tóxicos, não sendo, assim, agressiva ao meio-ambiente. Por outro lado, os métodos físicos e químicos estão associados a diversos riscos toxicológicos, biológicos e ambientais, sendo que, na grande maioria, ainda geram grande volume de resíduos [9].

Produtos naturais têm sido utilizados na medicina desde a Antiguidade e, nos tempos atuais, muitos dos medicamentos mais vendidos são derivados de substâncias de origem natural. Estas substâncias, obtidas ou derivadas de plantas ou de microrganismos, demonstram grande potencial de uso como agentes terapêuticos contra o câncer, infecções microbianas, inflamações e outras doenças. Contudo, seu sucesso em ensaios clínicos tem sido pouco significativo, o que é atribuído, na grande maioria das vezes, à sua baixa biodisponibilidade no organismo humano [11].

Avaliando-se as inúmeras propriedades terapêuticas dos produtos naturais e as várias vantagens relatadas pelos sistemas nanoparticulados, surgem estudos sobre o desenvolvimento de nanopartículas metálicas ou poliméricas atuando como carreadoras de produtos naturais [9][13].

Metais como Au e Ag são muito requisitados para a síntese de nanopartículas metálicas, pois no estado manométrico possuem comprovadas

propriedades antibacterianas e são amplamente utilizadas também em outros ramos da medicina [09][14]. Na síntese destas nanopartículas observa-se o emprego da química verde, envolvendo o uso de extratos de plantas, ricos em substâncias que agem como agentes redutores de íons metálicos, através de um processo biotecnológico chamado de biorredução. Assim, observa-se a transformação do íon metálico em metal no estado fundamental, resultando em nanopartículas geradas sem a produção de resíduos tóxicos, conseqüentemente sendo considerado um método eficaz, limpo e ecológico [14].

Diante disso, a proposta deste trabalho é discutir as condições de síntese de nanopartículas de Au e Ag associadas a produtos naturais, englobando aspectos de sua síntese pelo uso de culturas de bactérias, fungos ou através de extratos vegetais. Será enfatizada esta última metodologia, com a apresentação de exemplos publicações recentes e relevantes. Os métodos de caracterização deste material através de técnicas como Espectrometrias de UV-Vis e FTIR, Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM), Espectroscopia de Dispersão de Energia por Raios-X (EDX), entre outras técnicas também serão destacados, bem como as aplicações biológicas das nanopartículas auxiliando agentes antimicrobianos, antifúngicos entre outros.

2 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Conforme comentado anteriormente, a síntese de nanopartículas se dá por métodos físicos, químicos e biológicos. Na grande maioria das vezes, os métodos físicos e químicos demandam um alto custo energético e envolvem a geração e o uso de substâncias tóxicas em diversas etapas dos métodos de síntese empregados. Considerando-se estes aspectos, tem crescido o interesse do uso de materiais de origem natural como bactérias, fungos e plantas na síntese de nanopartículas metálicas [09][12].

Ainda são poucos os resultados da literatura que descrevem os efeitos que a exposição prolongada a nanopartículas pode ocasionar a saúde e ao meio ambiente. Em virtude desses fatos, tem se pesquisado muito sobre a aplicação da química verde na síntese de nanopartículas. Além de minimizar os danos causados pelo envolvimento de substâncias tóxicas nos processos de síntese, a química verde tem procurado garantir a biocompatibilidade e biodisponibilidade das nanopartículas em contato com o organismo no qual estão sendo aplicados [12][13].

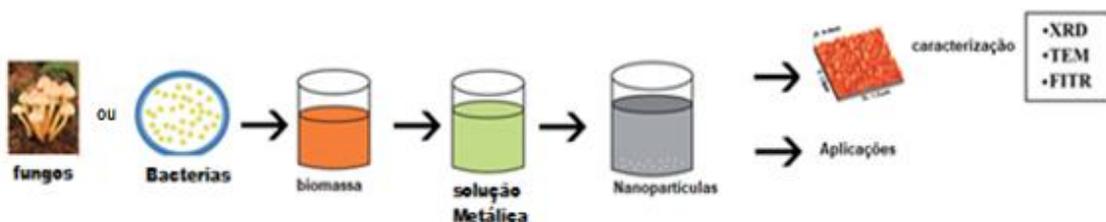
Os mecanismos de ação das nanopartículas metálicas ainda não são totalmente conhecidos. Existem alguns relatos na literatura descrevendo possíveis mecanismos por

trás de suas atividades biológicas. Khandel e Shashi (2018) sugerem que a propriedade antimicrobiana das nanopartículas metálicas depende em grande parte de parâmetros como o tamanho, a forma e a carga superficial da partícula. Assim, estas nanopartículas metálicas, em geral, ligam-se à parede da célula, podendo ou não atravessá-la, assim interrompendo a síntese protéica, inativando o DNA, desnaturando as enzimas e levando à morte da célula bacteriana.

2.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS ATRAVÉS DE FUNGOS OU BACTÉRIAS

Fungos ou bactérias podem produzir nanopartículas metálicas através de mecanismos extra- ou intracelulares, o que os torna potenciais “biofábricas” para a síntese de nanopartículas de metais nobres como Au e Ag [17], conforme mostrado na Figura 3.

Figura 03: Diagrama esquemático para síntese de nanopartículas metálicas usando fungos e bactérias



Fonte: Adaptado [17]

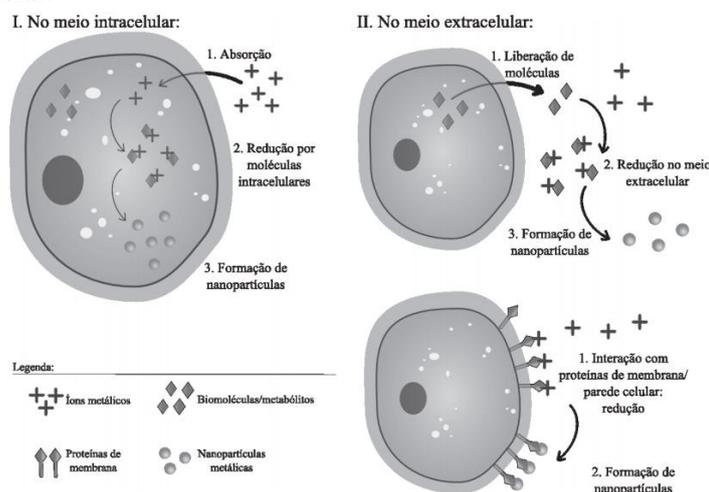
Devido às biomoléculas, em especial enzimas, presentes nas estruturas celulares destes organismos, notadamente envolvidas em seus processos metabólicos, à capacidade de bioacumulação e alta tolerância a metais, os torna potenciais produtores para a síntese, através de diferentes métodos, de nanopartículas metálicas [12][14].

A síntese extracelular e intracelular de nanopartículas em fungos ou bactérias ocorre através da escolha de diferentes microrganismos levando-se em conta as características de cultivo de bactérias ou da seleção de fungos para diferentes processos de síntese. Esta seleção de fungos ou bactérias torna a síntese verde promissora para a produção de nanopartículas em larga escala [9][14][17]. É, no entanto, importante ressaltar, que alguns fungos e bactérias utilizados na síntese de nanopartículas são patogênicos e, assim, nocivos a seres humanos, animais e plantas [14][15].

Os mecanismos de formação de nanopartículas metálicas por fungos ou bactérias são diversificados, podendo acontecer através da internalização de alguns íons, que podem sofrer redução no meio citoplasmático (ou periplasmático), ou, alternativamente,

serem reduzidos no exterior da célula, seja pela ação de metabólitos secretados ou pela ação de moléculas existentes na superfície externa [12][14] conforme ilustrado na Figura 04.

Figura 04: Possíveis mecanismos de síntese de nanopartículas metálicas mediada por células em meio intracelular e extracelular.

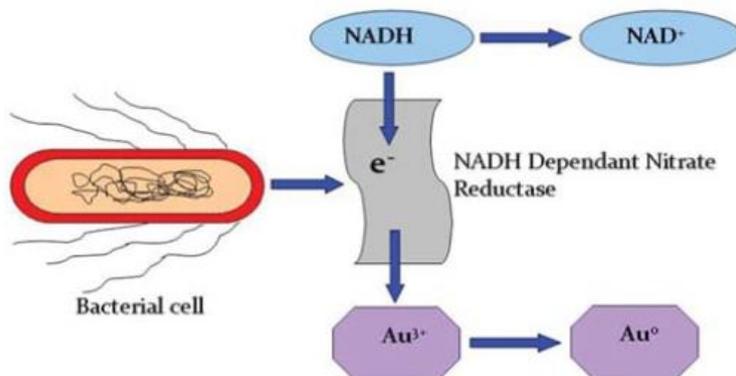


Fonte: [12].

Segundos pesquisa realizada por Rai e colaboradores em 2013 [16], onde foi estudada a síntese de nanopartículas de ouro usando *Rhodopseudomonas capsulata*, confirmou-se que NADH e a enzima redutase NADH-nitrato dependente foram os fatores essenciais para a síntese de nanopartículas metálicas. Este mesmo estudo ilustra que a secreção de enzimas NADH e NADH-dependentes, da bactéria *R. capsulata* é necessária para a redução dos íons de ouro para a formação de Au metálico, que será o constituintes da estrutura destas nanopartículas metálicas. Sugere-se que esta redução pode acontecer via transferência de elétrons do NADH, o agente redutor, para os cátions Au^{3+} , catalisado pela redutase NADH-dependente.

Desta forma, são formadas as nanopartículas de Au metálico. Porém, são necessários estudos mais conclusivos para se elucidar o mecanismo exato. A representação esquemática do mecanismo proposto por Rai e sua equipe, para a síntese de nanopartículas de ouro através de bactérias é mostrada na Figura 5.

Figura 05: Representação do possível mecanismo de síntese de nanopartículas de ouro usando bactérias.

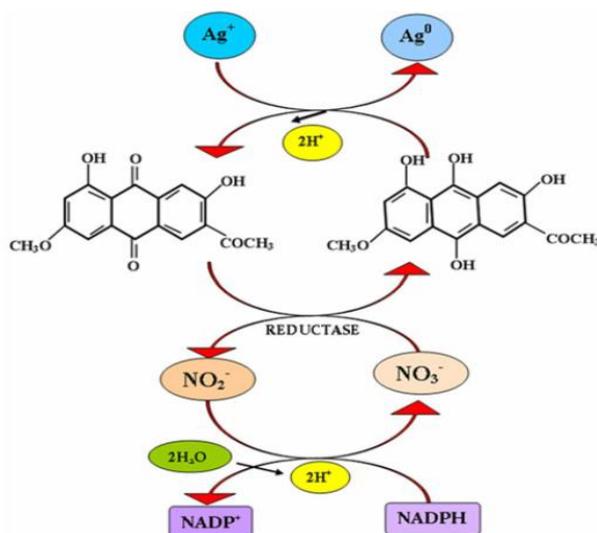


Fonte: [16]

O mecanismo para síntese de nanopartículas metálicas utilizando fungos foi descrito em [16] [17][18][19]. Estes estudos descrevem a síntese de nanopartículas de Ag utilizando o fungo *Fusarium oxysporum*, e, na proposta apresentada, é inicialmente realizado o ensaio de detecção de redutases NADH-dependente. Analogamente às bactérias, esta é a enzima que catalisa a redução dos íons Ag^+ a Ag^0 , levando, como consequência, a formação de nanopartículas de Ag.

Duran e colaboradores (2011) descrevem a síntese de nanopartículas de Ag ocorrendo na presença de antraquinonas e da redutase NADPH-nitrato dependente de *F. oxysporum*, onde o elétron necessário para suprir a deficiência de íons de prata Ag^+ e convertê-lo em Ag^0 foi doado por ação conjunta entre a quinona e pelo NADPH conforme ilustrado na Figura 06.

Figura 06: Representação do possível mecanismo de síntese de nanopartículas de prata usando *F. Oxysporum*



Fonte: [16]

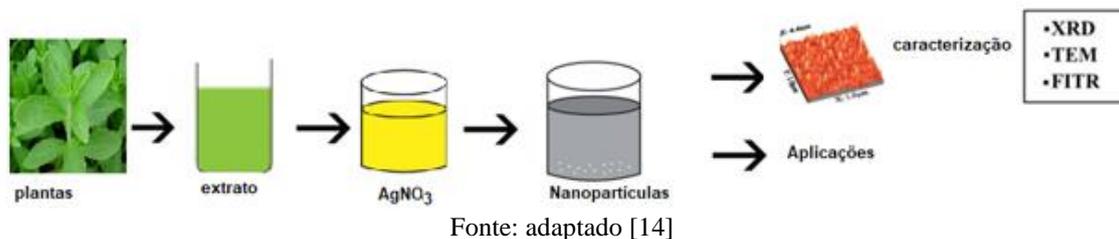
2.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS ATRAVÉS DE ALGAS

A biodiversidade do ecossistema aquático é ampla e variada e substâncias acumuladas pelos organismos marinhos caracterizam-se por serem produtores de substâncias de caráter redutor (incluindo alcaloides, compostos fenólicos e proteínas), além de precursores de substâncias como a sílica, o cálcio metálico, a quitosana, entre outros [12][14].

A vida marinha, em especial as algas, vêm chamando a atenção da comunidade científica nos últimos tempos, devido a sua crescente importância para a natureza e para os seres humanos. As algas são classificadas como *Chlorophyta* (algas verdes), *Rhodophyta* (algas vermelhas), e *Phaeophyta* (algas Castanhas). Ambas as algas verde e vermelha pertencem ao mesmo reino, *Plantae*, enquanto as algas castanhas pertencem ao reino *Chromista*, sendo esses organismos classificados como macroalgas ou algas marinhas. As algas são importantes representantes do ecossistema aquático e apresentam uma grande diversidade na sua composição química, influenciada tanto por mudanças ambientais (temperatura, nutrientes, salinidade, entre outros), quanto por interações bióticas. [12][14][20]

Por também produzirem substâncias de estruturas químicas diversificadas, as algas também podem ser empregadas na síntese de nanopartículas metálicas, apesar dos mecanismos que levam à essa produção ainda serem pouco compreendidos [12][14][20]. No entanto, a maioria das pesquisas realizadas com algas sugere a metodologia descrita na figura 07 para a síntese de nanopartículas metálicas a partir de extratos destes organismos na presença de nitrato de prata [12][14][20].

Figura 07: Mecanismo de síntese de nanopartículas usando o sistema eucariótico.

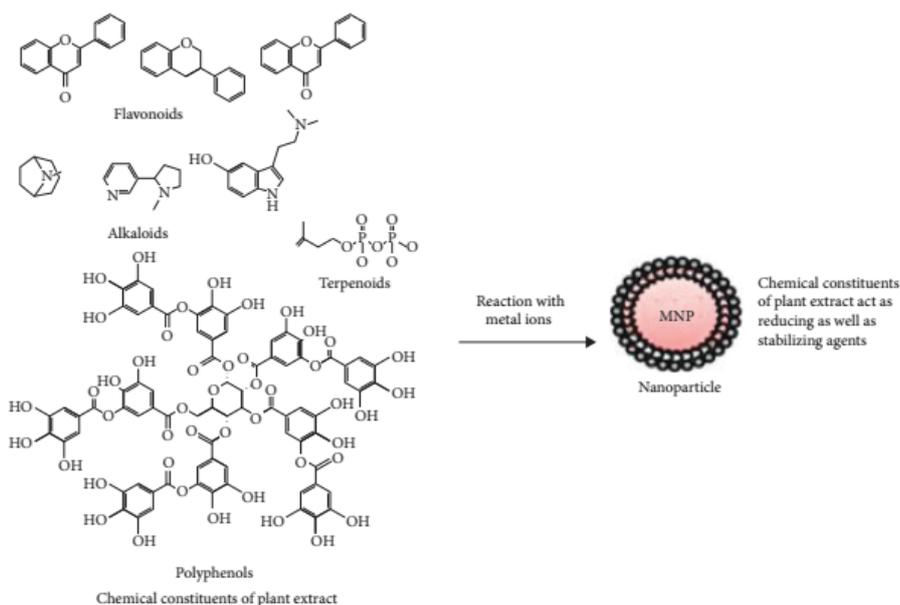


2.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS ATRAVÉS DE PLANTAS

A síntese de nanopartículas metálicas através de plantas, seja pelo uso de extratos de diferentes partes da planta ou o próprio organismo vivo, são atualmente as mais pesquisadas. As plantas utilizam metabólitos entre eles, flavonoides, terpenoides, saponinas e polifenóis e proteínas em diversos aspectos da sua fisiologia [5][12][14].

Essas moléculas são as responsáveis por fazer das plantas poderosos biorreatores e fornecedores de substratos para síntese verde. Levando-se em consideração esse fato, acredita-se que as plantas produzam uma grande quantidade de metabólitos que atuam, possivelmente, de maneira sinérgica, na redução de íons metálicos e/ou na estabilização das nanopartículas metálicas formadas [14], conforme esquematizado na figura 08.

Figura 08: Constituintes químicos presentes nos extratos vegetais responsáveis pela redução dos íons metálicos (MNP: nanopartículas metálicas)



Fonte: [9]

A maioria dos trabalhos da literatura apontam para a hipótese de que a redução dos íons metálicos no processo de síntese é realizada por compostos como flavonoides, compostos fenólicos, aminoácidos, terpenoides, enzimas, peptídeos, polissacarídeos etc., atuando como agentes redutores adequados nas condições empregadas [9][14].

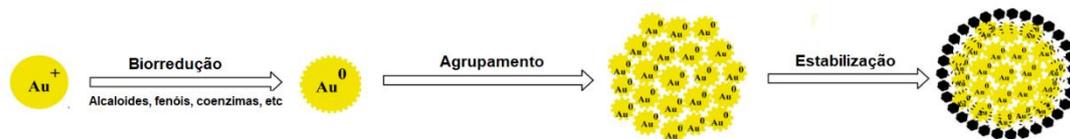
Apesar do crescente número de publicações relacionadas à síntese verde de nanopartículas metálicas utilizando extratos de plantas, a dificuldade de caracterização química total dos extratos empregados limita a atribuição inequívoca de um mecanismo final para essas sínteses [12][18]. Acredita-se que isso deve-se às diferenças do perfil químico de cada espécie, onde haverá concentrações e combinações diferentes para as substâncias que agem como agentes redutores, assim determinando a dificuldade de atribuição da eficiência das substâncias do extrato na formação da nanopartícula [12].

2.1.1 Síntese de nanopartículas metálicas de ouro através de plantas

O interesse para a síntese de nanopartículas de ouro têm crescido muito devido às propriedades deste metal, pois o ouro é inerte e resistente à oxidação, o que faz com que seja bastante requisitado para dispositivos de nanotecnologia [5]. O uso de nanopartículas de ouro na medicina depende do tamanho destas, sua forma e estabilidade. Elas têm se mostrado promissoras para aplicações biológicas, como na conjugação de anticorpos, na entrega de drogas, proteção contra raios UV, purificação de água, para fins de diagnóstico, como agente antimicrobiano, dentre outros [5][9][21].

Diferentes metodologias têm sido escolhidas para a síntese de nanopartículas de ouro, como chamados métodos físicos (sonicação, laser e radiação), químicos (condensação, Sol-gel e redução) e biológicos. O método biológico de síntese, conforme citado anteriormente, tem se mostrado uma alternativa simples, segura, dinâmica e energeticamente eficiente [22]. A utilização de extratos de plantas para esta síntese tem ganhado notoriedade, pois, neste método, os metabólitos (proteínas, açúcares, enzimas, compostos fenólicos, terpenos, alcaloides, flavonoides, etc) que fazem parte da mistura estão diretamente envolvidos nos processos de redução dos íons metálicos e em sua estabilização [10] conforme figura 09.

Figura 9: Proposta mecanística para síntese de nanopartículas de Ouro.



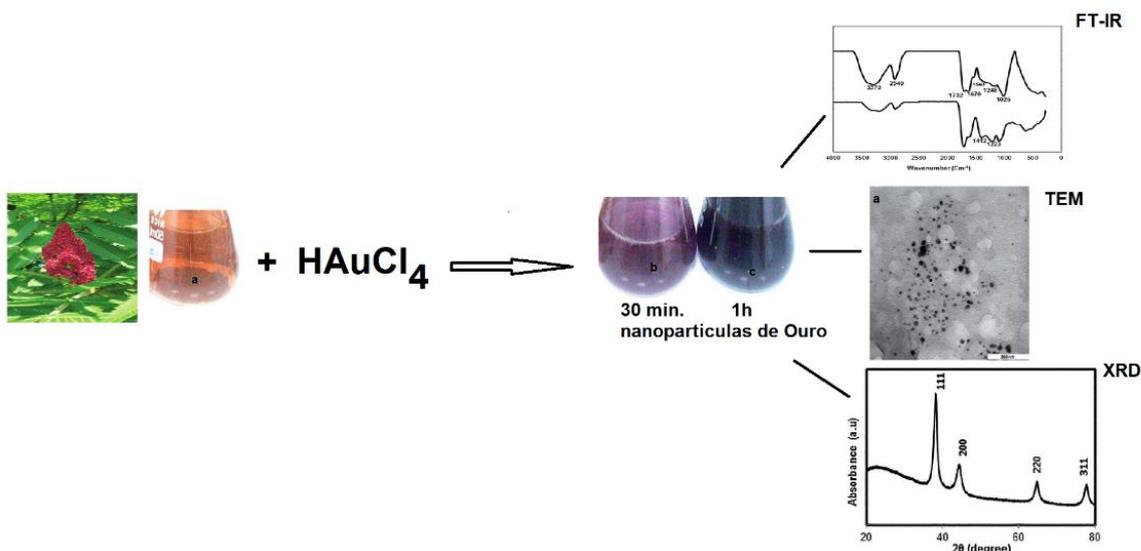
Fonte: Adaptado [10]

Nanopartículas de Ag ideais devem possuir uma grande área de superfície, dispersar-se bem em meio aquoso e ter boa estabilidade à temperatura ambiente por um longo período de tempo. Para atingirem maior área de superfície as nanopartículas tendem a agregar-se entre si [10].

Para a síntese de nanopartículas de ouro, utiliza-se na sua maioria das vezes uma solução de ácido cloroáurico (HAuCl_4) como fonte de íons metálicos (Au^{3+}), e também se faz necessário um agente de proteção que vai impedir o crescimento e a aglomeração de outras partículas por adsorção na superfície das nanopartículas, controlando assim, o seu tamanho e forma. Estes agentes redutores e estabilizantes, na maioria das vezes, são encontrados em plantas algas, bactérias e fungos [9].

A literatura descreve a síntese de nanopartículas de ouro através de HAuCl_4 e extrato aquoso de uma planta conhecida como Sumac (*Rhus coriaria L*), que atua como agente redutor de íons de ouro, bem como agente de cobertura para as nanopartículas formadas (Fig. 10). Estas nanopartículas foram caracterizadas por Espectroscopia na região do UV-visível (UV-Vis), cujos espectros de absorção exibiram uma banda bem definida em cerca de 530 nm, característica de nanopartículas de Au. A análise por Difração de Raios-X (DRX) determinou que o tamanho das nanopartículas era de cerca de 16 nm. As imagens de TEM mostraram nanopartículas próximas a 15 e 25 nm. A forma foi relatada como esférica, de diâmetro igual a 20,83 nm com alguns desvios. O capeamento de biomoléculas aniônicas na superfície das nanopartículas foi confirmado pela avaliação do potencial zeta (-25,3 mV) que é responsável pela estabilidade eletrostática [22].

Figura 10: Representação esquemática da síntese de nanopartículas de ouro do extrato das folhas de *Sumac*, (*Rhus coriaria L*) e sua caracterização por diferentes técnicas.

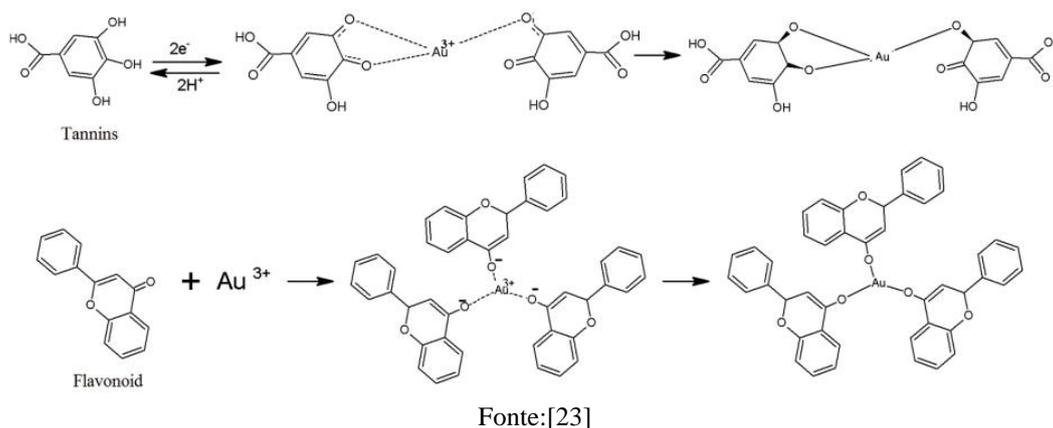


Fonte: adaptado de [22]

Através da Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR) observou-se a redução de uma banda de absorção típica, correspondente a grupos OH. Ao ser comparado com o espectro de FT-IR do extrato puro, verificou-se o aparecimento de uma forte banda de absorção de C=O, sugerindo a oxidação dos metabólitos do extrato, necessária para a redução do cátion Au^{+4} .

Esta banda ocorre mais frequentemente em taninos e outros compostos fenólicos indicando a possível participação destas biomoléculas na síntese das nanopartículas de Au. Mecanicamente existe a sugestão de que taninos e outros fenóis são oxidados na presença de AuCl_4 e, portanto, grupos -OH são convertidos em grupos C=O. As ligações entre grupos C=O e íons metálicos apresentam uma banda de absorção bem característica no espectro FT-IR em 1.723 cm^{-1} [22]. Portanto, pode-se supor que essas substâncias, como o flavonóide, os taninos e outros compostos fenólicos, atuem como o agente de encapsulamento na formação de nanopartículas de ouro, que auxiliam de forma semelhante na estabilização de nanopartículas [22], conforme proposto na Figura 11.

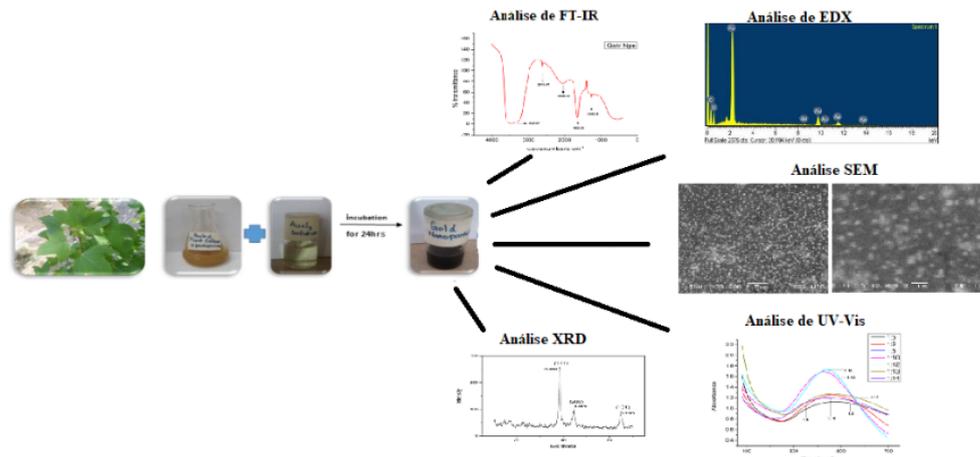
Figura 11: Ação redutora de Taninos e de flavonóide para produzir nanopartículas de ouro.



Os testes da atividade antioxidante *in vitro* mostraram que as atividades de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2, 2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) aumentaram de maneira dose-dependente, ou seja, com o aumento da dosagem de nanopartículas metálicas aumenta proporcionalmente a atividade antioxidante. Nesse sentido, as nanopartículas biossintetizadas podem ser potencialmente úteis em aplicações farmacêuticas e biomédicas [22].

Na Figura 12 está esquematizada a síntese de nanopartículas de Au a partir do extrato de folhas aquosas de *Acer pentapomicum*, que atuou como agente redutor e estabilizante. Esta síntese foi confirmada através da observação de uma alteração visível na cor da solução e o produto foi caracterizado por espectroscopia na região do UV-visível, microscopia Eletrônica de Varredura (SEM), EDX, DRX e FTIR [23]. A morfologia, tamanho e propriedades estruturais das nanopartículas obtidas foram determinadas pelas técnicas de MEV, EDX e DRX, onde, caracterizadas por SEM, definiu-se a forma esférica e tamanho de 19-24 nm. Uma grande banda de absorção entre 3.525,87 e 3.448,72 cm^{-1} característicos de absorção de OH também foi observada, indicando que os fenóis e substâncias alcoólicas do extrato vegetal estão envolvidos no processo. A difração de raios-X do material em pó destacou a natureza cristalina das nanopartículas.

Figura 12: Representação esquemática da síntese de nanopartículas de ouro do extrato das folhas de *Acer pentapomicum*, sua caracterização por diferentes técnicas

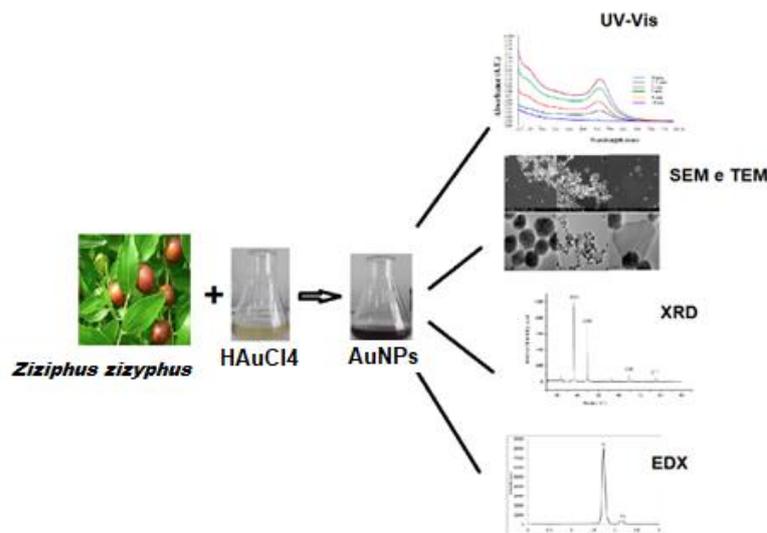


Fonte: adaptado de [23]

As nanopartículas apresentaram grande potencial bactericida contra *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* e *X. compestris* além de possuírem atividades fungicidas. As nanopartículas também apresentaram grande potencial antioxidante contra o DPPH [23].

As nanopartículas de ouro sintetizadas com extratos vegetais da *Ziziphus zizyphus* (Figura 13), foram caracterizadas por UV-Vis que revelou um máximo de absorção no intervalo entre 527-535 nm do espectro, sendo esse intervalo característico para nanopartículas de ouro esféricas com um diâmetro de 30–50 nm[24]. A análise de DLS das nanopartículas mostrou um diâmetro hidrodinâmico médio de $51,8 \pm 0,8$ nm. O índice de polidispersividade foi de 0,340%. Imagens SEM e TEM revelaram que as partículas geradas consistem principalmente em nanopartículas esféricas, policristalinas. Formas anisotrópicas, como plaquetas triangulares e hexagonais, além de nanopartículas truncadas, apareceram quase em todas as amostras fotografadas, a TEM confirmou a estrutura de rede dessas partículas [24].

Figura 13: Representação esquemática da síntese de nanopartículas de ouro do extrato das folhas de *Ziziphus zizyphus* e sua caracterização por diferentes técnicas



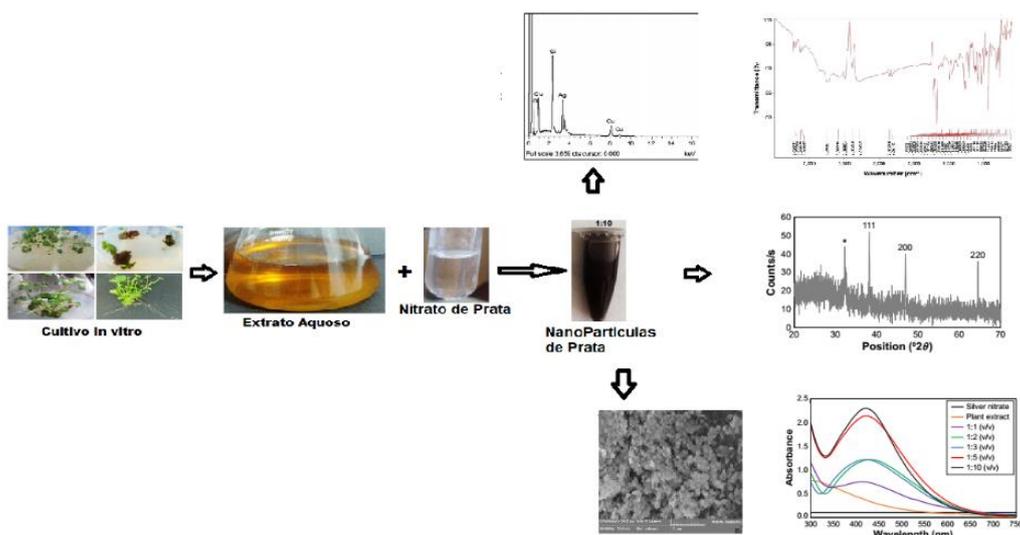
Fonte: adaptado de [24]

As nanopartículas não apresentam atividade antimicrobiana ou antifúngica até concentrações de 5 mg.mL^{-1} , independentemente de seu tamanho. Devido a este fato, o autor propõe que a atividade antimicrobiana e antifúngica seja consequência da presença de íons de ouro e não uma propriedade das nanopartículas de ouro, sugerindo a possibilidade do uso de nanopartículas de ouro para entrega oral ou intranasal dos fármacos, sem interferir com a microbiota humana [24].

2.1.2 Síntese de nanopartículas metálicas de prata através de plantas

Nanopartículas de Ag foram sintetizadas através de solução de nitrato de Prata (AgNO_3) combinadas ao extrato aquoso de *Phlomis bracteosa* cultivadas *in vitro* (germinadas e crescidas em laboratório). A caracterização das nanopartículas através de UV-Vis mostrou uma banda característica de nanopartículas de Ag na faixa de 420-429 nm [25]. A cristalinidade com sistema cúbicos de faces centradas, de formas esféricas quase uniformes e tamanho (22,41 nm) foram caracterizadas por DRX e SEM. A análise de raios X por dispersão de energia endossou ainda mais a presença de prata elementar nas nanopartículas sintetizadas [25], e as análises estão representadas na Figura 14.

Figura 14: Representação esquemática da síntese de nanopartículas de ouro pelo extrato das folhas de *Phlomis bracteosa* e sua caracterização por diferentes técnicas

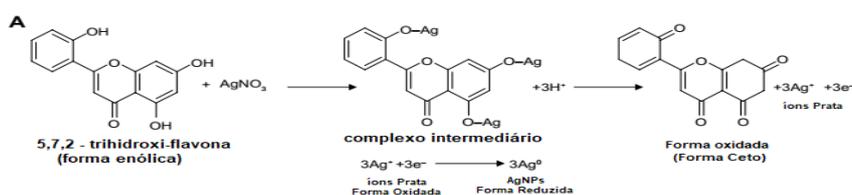


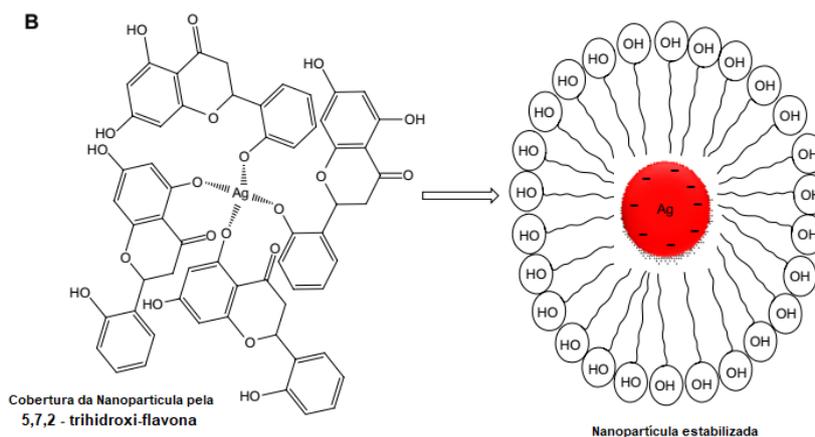
Fonte: adaptado de [25]

Na espectroscopia de FT-IR os dados indicaram o possível envolvimento de polifenóis (compostos fenólicos e flavonoides), ácidos carboxílicos e compostos aromáticos e carbonílicos, oriundos do extrato vegetal, atuantes na redução e nivelamento das nanopartículas. Além disso, revelou o potencial dos polifenóis como principais responsáveis pela redução e pelo encapsulamento das nanopartículas sintetizadas [25].

Através desses resultados os pesquisadores propoem o mecanismo de redução de íons de prata por ação do agente oxidante 5,7,2-tri-hidroxi-flavona através de uma reação redox conforme figura 15A. Nesta reação, devido a presença de Ag^+ no extrato forma-se primeiro um complexo intermediário de prata com 5,7,2-tri-hidroxi-flavona que, posteriormente, oxida este metabólito a sua forma ceto com a liberação de elétrons livres e íons Ag^+ . Esses íons Ag^+ são, então, reduzidos a Ag^0 na presença de elétrons livres produzidos no processo de redução. A figura 15B mostra o possível mecanismo de cobertura e estabilização da nanopartícula por hidroxilas da 5,7,2-tri-hidroxi-flavona [25].

Figura 15: Proposta mecanística da síntese da Nanopartícula de Prata: (A) reação redox mostrando o mecanismo de redução de Ag^+ em Ag^0 usando 5,7,2-tri-hidroxi-flavona. (B) cobertura e estabilização da nanopartícula por hidroxilas da 5,7,2-tri-hidroxi-flavona.



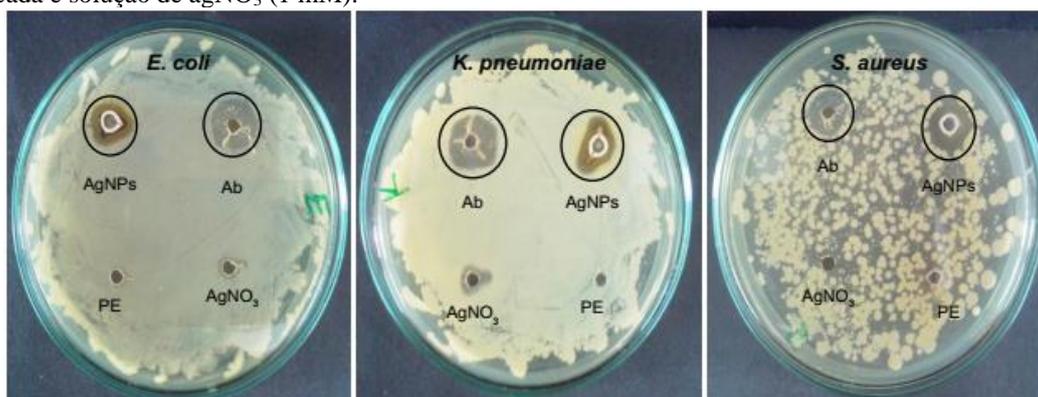


Fonte: Adaptado de [25]

As nanopartículas de prata foram testadas contra três cepas bacterianas (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*) altamente resistentes a múltiplas drogas e exibiram uma atividade bactericida significativamente maior contra um antibiótico padrão (Ampiclox, GlaxoSmithKline plc, London, UK), utilizando-se um AgNO_3 (1 mM) como controle positivo e como controle negativo o extrato da planta (PE).

A solução de AgNO_3 ou o PE sozinho mostraram níveis mínimos de atividade bactericida em comparação com as nanopartículas. Já as nanopartículas apresentaram zona de inibição semelhante ao antibiótico padrão, sugerindo seu papel como potentes agentes antimicrobianos [25], como observado na Figura 16.

Figura 16: ensaio antibacteriano com a nanopartículas. A zona de inibição de Pe, ab, agNPs foi de $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ cada e solução de agNO_3 (1 mM).



Fonte: [2]

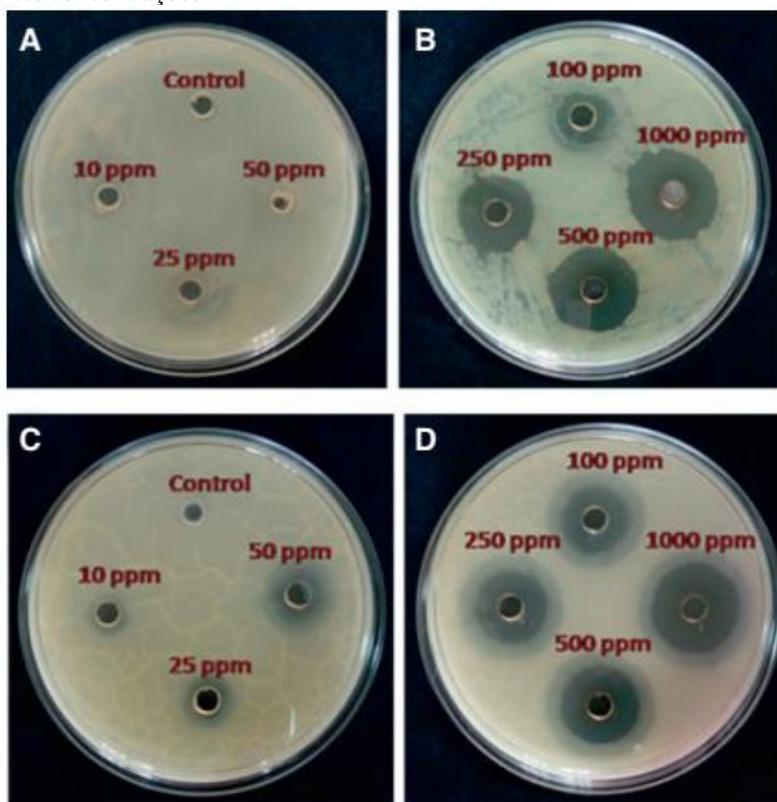
A síntese de nanopartículas de prata a partir de AgNO_3 e o extrato de sementes de *Leucaena leucocephala* como agente redutor em temperatura ambiente foi realizada e seus resultados foram caracterizados por UV-vis onde as nanopartículas de prata obtidas apresentaram um máximo de absorção característico a 420 nm [26]. As imagens de TEM

e SEM mostraram as nanopartículas com formato esférico sobre as quais o revestimento de extrato era muito distinto.

Outras análises como espalhamento dinâmico de luz (DLS), microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a espectrofotometria de dispersão de energia, XRD e análise termogravimétrica (TGA) comprovaram a formação das nanopartículas de Ag [26]. A triagem fitoquímica para os extratos de sementes de *L. leucocephala* evidenciou a presença de terpenos, flavonóides, cumarinas e esteróis. Os dados da triagem fitoquímica qualitativa do extrato, quando correlacionados com os espectros de FTIR ajudaram na melhor compreensão de sua interação com a superfície da nanopartícula. A atividade das nanopartículas sintetizadas contra duas espécies de fungos, *Phlebiopsis gigantea* e *Echinodontium taxodii*, apresentou resultados positivos significativos.

Os efeitos antimicrobianos das nanopartículas foram investigados contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* utilizando diferentes concentrações das nanopartículas (Fig. 17). O potencial antioxidante das nanopartículas apresentou resultados positivos em testes contra o DPPH [26].

Figura 17: Atividade antimicrobiana de *Escherichia coli* (A), (B) e *Staphylococcus aureus* (C) e (D) em função de diferentes concentrações.



Fonte: [26]

3 CONCLUSÃO

A síntese de nanopartículas metálicas, em especial as de Au e Ag tem ganhado destaque nos últimos anos devido às múltiplas aplicações na ciência, principalmente na nanomedicina, na medicina diagnóstica e no tratamento de doenças, além de uso crescente em sondas, na catálise, remediação, transporte celular. Essas nanopartículas metálicas são sintetizadas através de diferentes métodos físicos e químicos, mas, a síntese verde através da redução do sal metálico por substâncias de origem natural presentes em extratos oriundos de fontes naturais é um processo atrativo por ser barato, ecológico e seguro. Não há produtos químicos, contaminantes ou resíduos tóxicos produzidos neste processo.

O potencial de estabilidade e redução são atribuídos a moléculas bioativas presentes nos recursos biológicos utilizados para síntese, e entre os biorredutores apresentados, os extratos vegetais são, segundo as pesquisas os mais benéficos quando comparados aos outros recursos. Portanto, o uso de fontes vegetais para a síntese de nanopartículas metálicas apresenta-se como uma interessante alternativa. Contudo, são necessários estudos mais detalhados sobre o mecanismo exato do processo química e quais substâncias estão efetivamente envolvidas no processo de redução.

A toxicidade também é um fator a ser aprofundado e deve ser levado em consideração, visando diminuir ao máximo os possíveis riscos a saúde humana. Respondidas e sanadas as questões relativas aos aspectos toxicológicos, sintéticos e mecanísticos da produção de nanopartículas, esse processo desponta como método viável e promissor tanto em pequena quanto em larga escalas.

AGRADECIMENTOS

Ao “Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - IFSULDEMINAS”

REFERÊNCIAS

- [1] Khatoon N., Mazumder J.A., Sardar M. (2017) Biotechnological Applications of Green Synthesized Silver Nanoparticles. *J Nanosci Curr Res* 2: 107.
- [2] Harshada S., Pallavi M., Hitendra M., Yogesh S., Tripti B., Ravi K. A., Mohan K., Smita Z. (2016) Green synthesis of gold and silver nanoparticles by an *Actinomyces Gordonia amicalis* HS-11: mechanistic aspects and biological application. *Process Biochemistry*, V. 51/3, 374-383.
- [3] Ramsden J.R. (2009) Applied Nanotechnology, Elsevier, pag. 10
- [4] Sbalqueiro G. R., Balvedi L.T., Bettiato R., Ribas J. L. C., (2018) Uso da nanotecnologia para o desenvolvimento de fármacos, *Revista Saúde e Desenvolvimento* | v.12/10.
- [5] Singh, P., Pandit, S., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkaapati, V.R., Sultan, A., Thygesen, A., Mackevica, A., Mateiu, R.V., Daugaard, A.E., Baun, A., Mijakovic, I. (2018) Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition, *Int J Nanomedicine*. V. 21/13,3571-3591
- [6] Ravindra B. C., Kishor S. S., Machindra J. C. (2018) Emerging use of green synthesis silver nanoparticle: an updated review, *IJPSR*, V. 9/10: 4029-4055
- [7] Faraji A. H., Wipf P. (2009) Nanoparticles in cellular drug delivery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V17/8, 2950–2962.
- [8] Reza T.-M., Raha H. Behnam T., Sana F., Mehravar M., Nasiri R. (2017) Green synthesis of gold nanoparticles using plant extract: Mini-review. *Nanochem Res* V. 2/1: 8-19.
- [9] Katas H., Moden N. Z., Lim C. S., et al., (2018) Biosynthesis and Potential Applications of Silver and Gold Nanoparticles and Their Chitosan-Based Nanocomposites in Nanomedicine. *Journal of Nanotechnology*, v. 2018/13
- [10] Nadeem M., Bilal Haider Abbasi, Muhammad Younas, Waqar Ahmad & Taimoor Khan (2017) A review of the green syntheses and anti-microbial applications of gold nanoparticles, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 10:4, 216-227,
- [11] Xu, B., Watkins, R., Wu, L., Zhang, C., & Davis, R. (2015). Natural product-based nanomedicine: recent advances and issues. *International Journal of Nanomedicine*, 6055.
- [12] Silva, L. P.; Bonatto, C. C.; Pereira, F. D. E. S.; Silva, L. D.; Albernaz, V. L., Polez, V. L. P. , Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas, In: *Biotechnologia aplicada à agro&indústria : fundamentos e aplicações - volume 4 [livro eletrônico] / organizado por Rodrigo Ribeiro Resende ; colaboração de Soccol C. R. e França L. R. . – São Paulo: Blucher, 2016. 1069 p, cap. 26, pag. 967-1011.*
- [13] Rai, M. (2013). Nanobiotechnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. *Ciência e Cultura*, 65(3), 44-48

- [14] Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2016). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(7), 1272–1291.
- [15] Menon, S., S., R., & S., V. K. (2017). A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 516–527.
- [16] Rai M, Ingle A. P., Gupta I. R., Birla S. S., Yadav A. P., Abd-Elsalam K. A. (2013) Potential Role of Biological Systems in Formation of Nanoparticles: Mechanism of Synthesis and Biomedical Applications. *Current Nanoscience*, 9, 576-587
- [17] Durán N., Marcato P.D., Alves O.L., De Souza G.I.H., Esposito E. (2005) Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *J Nanobiotechnol* 3:8.
- [18] Durán N, Marcato PD, Durán M., Yadav A., Gade A., Rai M. (2011) Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants. *Appl Microbiol Biotechnol* 90:1609–1624.
- [19] Khandel, P., & Shahi, S. K. (2018). Mycogenic nanoparticles and their bio-prospective applications: current status and future challenges. *Journal of Nanostructure in Chemistry*.
- [20] Ponnuchamy, K., & Jacob, J. A. (2016). Metal nanoparticles from marine seaweeds – a review. *Nanotechnology Reviews*, 5(6).
- [21] Vijaya Kumar, P., Mary Jelastin Kala, S., Prakash, K. S. (2018). Green synthesis of gold nanoparticles using *Croton Caudatus Geisel Leaf* extract and their biological studies. *Materials Letters*.
- [22] Shabestarian, H., Homayouni-Tabrizi, M., Soltani, M., Namvar, F., Azizi, S., Mohamad, R., & Shabestarian, H. (2016). Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Sumac* Aqueous Extract and Their Antioxidant Activity. *Materials Research*, 20(1), 264–270.
- [23] S. KHAN*, J. BAKHT, F. (2018) Syed green synthesis of gold nanoparticles using *acer pentapomicum* leaves extract its characterization, antibacterial, antifungal and antioxidant bioassay Digest. *Journal of Nanomaterials and Biostructures* V. 13/2. 579 – 589
- [24] Aljabali, A., Akkam, Y., Al Zoubi, M., Al-Batayneh, K., Al-Trad, B., Abo Alrob, O., Evans, D. (2018). Synthesis of Gold Nanoparticles Using Leaf Extract of *Ziziphys zizyphus* and their Antimicrobial Activity. *Nanomaterials*, 8(3), 174.
- [25] Abbasi, B., & Anjum, S. (2016). Biomimetic synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using in vitro-propagated plantlets of a medicinally important endangered species: *Phlomis bracteosa*. *International Journal of Nanomedicine*, 1663.

[26] Kumar, R., Sharma, P., Bamal, A., Negi, S., & Chaudhary, S. (2017). A safe, efficient and environment friendly biosynthesis of silver nanoparticles using *Leucaena leucocephala* seed extract and its antioxidant, antimicrobial, antifungal activities and potential in sensing. *Green Processing and Synthesis*, 6(5).