

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Síntese verde de nanopartículas de zinco funcionalizadas com a fração orgânica acetato de etila das folhas de *Maytenus Illicifolia* Mart. Ex Reissek

Penélope Marques Chagas

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia – MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Síntese verde de nanopartículas de zinco funcionalizadas com a fração orgânica acetato de etila das folhas de *Maytenus Illicifolia* Mart. Ex Reissek

Penélope Marques Chagas

Orientador:

Profº. Drº. Foued Salmen Espindola, IBTEC, UFU

Coorientador:

Vinícius Prado Bittar, IBTEC, UFU

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia – MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Síntese verde de nanopartículas de zinco funcionalizadas com a fração orgânica acetato de etila das folhas de *Maytenus Illicifolia Mart. Ex Reissek*

Penélope Marques Chagas

Orientador:

Prof.º. Dr.º. Foued Salmen Espindola, IBTEC, UFU

Coorientador:

Vinícius Prado Bittar, IBTEC, UFU

Homologado pela coordenação do Curso
de Biotecnologia em __/__/__

Coordenador do Curso:

Nilson Nicolau Junior

Uberlândia – MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Síntese verde de nanopartículas de zinco funcionalizadas com a fração orgânica acetato de etila das folhas de *Maytenus Ilicifolia Mart. Ex Reissek*

Penélope Marques Chagas

Aprovado pela Banca Examinadora em: / / Nota: ____

Uberlândia-MG
2023

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a toda minha família, meus pais, meus irmãos, meus cunhados, meus sobrinhos, meu namorado, minha sogra e meus amigos que contribuíram e estiveram presentes em cada uma das etapas enfrentadas antes e durante minha graduação. Agradeço cada chamada de vídeo atendida e entendo as que não foram.

Gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Foued Salmen Espindola por ter acreditado em mim e me acolhido no laboratório. Gostaria de agradecer meu coorientador Vinícius Prado Bittar por todos os ensinamentos e paciência durante a elaboração do trabalho. E junto, agradecer toda a equipe do LABIBI que contribuíram para meu aprendizado.

RESUMO

O estudo aborda a síntese verde de nanopartículas de óxido de zinco funcionalizadas com a fração orgânica de acetato de etila obtida da partição do extrato das folhas de *Maytenus ilicifolia* (ZnNPs-Mi). A caracterização das ZnNPs-Mi foi realizada por meio de espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Potencial Zeta e métodos para determinar o potencial antioxidante *in vitro* das ZnNPs-Mi, pela eliminação de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) e capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC). Os espectros UV-Vis mostraram picos de absorção em torno de 450 nm devido à elevada energia de excitação de ligação. Análises de FT-IR confirmaram ligações químicas no óxido de zinco, enquanto DLS revelou o tamanho da nanopartícula em 967 nm. O Potencial Zeta, foi de -5,83 mV, evidenciando a presença de FAE-Mi como uma camada de revestimento sobre as nanopartículas. As análises do potencial antioxidante revelaram que a ZnNPs-Mi possuíram efeitos antioxidantes. Com isso, foi abordado um projeto mais sustentável e econômico com potencial de aplicações biomédicas e agrícolas.

Palavra-Chave: Espinheira Santa, Nanopartículas ZnO, Biossíntese.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2-4
2. OBJETIVOS	4-5
2.1. Objetivos Gerais	4
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. METODOLOGIA	5-10
3.1. Preparação do Extrato das folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i>	5
3.2. Partição do Extrato das folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i>	6
3.3. Síntese Verde de ZnNPs-Mi.	6
3.4. Caracterização das Nanopartículas	7
3.4.1 Caracterização física da ZnNPs-Mi	7
3.5. Capacidade antioxidante	8
3.5.1 Avaliação da capacidade de redução do férrico (FRAP)	8
3.5.2. Avaliação da capacidade de absorção de radicais livres de oxigênio (ORAC). ...	8
3.5.3 Avaliação do sequestro do radical DPPH (DPPH)	9
4. RESULTADOS	10-18
4.1. Rendimento dos extratos e frações de <i>Maytenus ilicifolia</i>	10
4.2. Síntese Verde de ZnNPs-Mi	10
4.3. Espectros UV-Vis.....	12
4.4. DLS	12
4.5. FT-IR	14
4.6. DPPH.....	14
4.4. FRAP.....	15
4.5. ORAC	16
5. DISCUSSÃO	18-21
6. CONCLUSÃO	21-22
REFERÊNCIAS	23-27

1. INTRODUÇÃO

A espinheira santa, com nome científico *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reissek, é uma planta nativa do Brasil. É utilizada na medicina popular por auxiliar no tratamento de problemas gastrointestinais, como gastrite, úlceras, azia, má digestão e refluxo ácido (Lorenzi & Matos, 2002). No entanto, é evidente, que os usos populares e mesmo tradicionais não são suficientes para validar a eficácia e segurança do uso medicinal das plantas (ARGENTA, 2011).

Atualmente, a planta possui diversos estudos e comprovações científicas sobre seu potencial e propriedades medicinais para problemas de gastrite e úlcera gástrica comprovadas por pesquisas coordenadas pelo CEME (Central de Medicamentos) do Ministério da Saúde do Brasil (Di Stasi, 2004). Desde 2009 o uso da *M. ilicifolia* é estimulado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) como tratamento complementar para problemas gastrointestinais.

A espinheira santa pertence à família Celastraceae, também conhecida popularmente como “cancorosa”, sendo nativa do sul do Brasil, Uruguai, Paraguai e norte da Argentina (Vitória et al., 2013). Hoje em dia a Espinheira-santa consta na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) e na lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado da RDC 26/2014. Essa resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os procedimentos para o registro simplificado de medicamentos fitoterápicos tradicionais. A RDC 26/2014 apresenta critérios específicos para a comprovação da segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos tradicionais, com base na experiência de uso consolidada por um período mínimo de 30 anos. Esses medicamentos são geralmente produzidos a partir de matérias-primas vegetais e utilizados na medicina popular.

A *M. ilicifolia* contém uma variedade de compostos químicos que são responsáveis pelas suas propriedades terapêuticas, tais como triterpenos e polifenóis (flavonoides e taninos) (Xavier et al, 1996; Cordeiro et al., 1999; Carvalho et al., 2008; Marlière et al., 2008). Estas substâncias químicas presentes na planta contribuem para os efeitos benéficos que ela possui

no tratamento de certas condições de saúde. Os polifenóis, por sua vez, são substâncias que combatem os radicais livres e vêm despertando muito interesse devido à sua capacidade de prevenir ou reduzir o estresse oxidativo causado por esses radicais (Lien et al., 1999; Morais et al., 2009; Rocha et al., 2007). As propriedades antioxidantes são associadas à habilidade dos polifenóis de neutralizar os radicais livres, seja por meio da doação de hidrogênio e formação de complexos químicos estáveis, seja pela capacidade de quelar metais presentes no estresse oxidativo ou inibir enzimas que contribuem para a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (S. Kumar, 2013).

Por outro lado, temos a nanotecnologia que se refere à capacidade de manipular átomos e moléculas em uma escala nanométrica, que varia de 0,1 a 100 nanômetros, a fim de criar estruturas com uma nova organização molecular (*Atividades de Pesquisa Em Biotecnologia e Nanociências*, 2019). Esta é uma inovação tecnológica em ascensão com o potencial de revolucionar diversos domínios científicos (Fakhari et al., 2019). Os nanomateriais têm diversas aplicações devido às suas dimensões e formas, sendo de grande importância nas ciências básicas e aplicadas (Fakhari et al., 2019).

Atualmente as nanopartículas são fundamentais na biomedicina, usadas em diagnósticos, terapias e na produção de produtos farmacêuticos devido às suas pequenas dimensões (Khan et al., 2019). As estruturas em escala nanométrica exibem propriedades únicas e distintas, incluindo maior resistência, pureza aprimorada e, às vezes, novas capacidades catalíticas e magnéticas em comparação com o material original (*Atividades de Pesquisa Em Biotecnologia e Nanociências*, 2019). A variedade de nanopartículas disponíveis, com características únicas como composição química específica e dimensões reduzidas em relação à sua superfície, oferece um notável potencial de interação com sistemas biológicos (Benatti Justino et al., 2023, Jeevanandam et al, 2018). As propriedades das nanopartículas, incluindo tamanho, forma, estabilidade e características químicas e físicas, são influenciadas por

condições experimentais, interação dos íons metálicos com agentes redutores e processos de adsorção dos agentes estabilizantes nelas (*Bio-NaNoparticles*, 2015). A nanotecnologia é uma indústria potencialmente multibilionária, com diversas aplicações viáveis na medicina, no meio ambiente, nos alimentos, na captação de energia, entre outros (Khan et al., 2019).

A nanomedicina utiliza nanomateriais com propriedades e modificações diversas. Por serem menores que as células, são valiosos em várias aplicações médicas, incluindo a administração direcionada de medicamentos (Moghimi, 2012). Esses nanomateriais, são conhecidos como "drug delivery" e estes, otimizam a administração precisa de agentes terapêuticos em locais específicos, representando um avanço crucial no tratamento de doenças crônicas (Patra et al., 2018). No entanto, ao serem introduzidas no corpo por ingestão ou inalação, as nanopartículas podem migrar para diferentes órgãos e tecidos, potencialmente causando reatividade e efeitos toxicológicos (Khan et al., 2019). É provável que essas nanopartículas interajam de maneira única com células e tecidos, o que pode resultar em citotoxicidade por meio de mecanismos distintos em comparação com átomos ou íons (*Bio-NaNoparticles*, 2015). Também há estudo que indica que a aplicação de NPs para tratamento ambiental pode resultar na liberação de NPs modificadas no solo ou nos sistemas aquáticos, causando preocupações (Khan et al., 2019).

O óxido de zinco (ZnO), um composto metálico versátil, é amplamente reconhecido como um dos óxidos metálicos mais eficazes em nanoescala devido às suas notáveis propriedades ópticas e elétricas (Vayssieres et al., 2001). A síntese de nanopartículas de zinco pode ser realizada tanto quimicamente quanto biologicamente. No entanto, o processo químico é mais complexo e pode resultar em efeitos tóxicos prejudiciais ao ecossistema (Mathin et al., 2023). Por contrapartida, a produção biológica de nanopartículas de zinco requer menos tempo, é mais econômica e mais ecologicamente sustentável (Mathin et al., 2023). Além disso, as ZnNPs são semicondutores versáteis, caracterizados por sua notável transparência óptica e

propriedades luminescentes na faixa UV-Visível. Seu valor tem aumentado devido à notável estabilidade química e térmica (Fakhari et al., 2019). Por esse motivo, os cientistas têm demonstrado crescente interesse em métodos biológicos para a síntese de nanopartículas de zinco (Mathin et al., 2023).

A síntese verde fitomediada é uma abordagem econômica e ecológica, permitindo a produção eficiente de nanoestruturas (Benatti Justino et al., 2023). E está atraindo muitos pesquisadores devido à viabilidade e natureza menos tóxica dos processos, pois são econômicos e ecológicos, devido a síntese de NPs ser realizada por meio de sistemas biológicos, como o uso de extratos vegetais (Khan et al., 2019). A síntese verde se encaixa na técnica “Bottom-Up Syntheses” que segue uma abordagem inversa, pois as nanopartículas são formadas a partir de substâncias comparativamente mais simples, “de baixo, para cima”. É por isso que também é conhecida como abordagem de construção. Exemplos disso incluem técnicas como a sedimentação (Irvani, 2011). A sinergia entre nanotecnologia e práticas de química verde é essencial para edificar uma sociedade ambientalmente sustentável no século XXI (Green Biosynthesis of Nanoparticles Mechanisms and Applications, 2013).

Neste estudo, sintetizamos ZnNPs funcionalizadas com *Maytenus Illicifolia*. Utilizamos o acetato de zinco como precursor e funcionalizamos com a fração acetato de etila (FAE-Mi). As propriedades estruturais das ZnNPs-Mi sintetizadas foram caracterizadas usando espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), análises de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral:

O objetivo deste estudo foi sintetizar nanopartículas de Zinco (ZnNPs) funcionalizadas com *Maytenus ilicifolia* (ZnNPs-Mi).

2.2. Objetivos específicos

- Realizar a maceração, produzir e quantificar o rendimento do extrato bruto das folhas de *Maytenus ilicifolia*.
- Realizar a partição do extrato para obtenção das frações orgânicas, como a fração acetato de etila (MiEAF).
- Realizar a Síntese de ZnNPs funcionalizadas com a fração orgânica das folhas de *Maytenus ilicifolia* (ZnNPs-Mi).
- Avaliar a caracterização físico-química das ZnNPs-Mi através dos métodos UV-Vis, FTIR, DLS.
- Avaliar a capacidade antioxidante das ZnNPs-Mi através dos métodos DPPH (sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ORAC (capacidade de absorção de radicais de oxigênio) e FRAP (capacidade de redução do ferro).

3. METODOLOGIA

3.1. Preparação do Extrato das folhas de *Maytenus ilicifolia*

Para a obtenção do extrato etanólico, foram utilizadas folhas secas de *Maytenus ilicifolia* adquiridas da empresa Santos Flora Comércio de Ervas Ltda. (Mariporã, São Paulo, Brasil), devidamente registrada na ANVISA. 200 gramas das folhas secas foram submetidas a uma maceração estática em 1 litro de etanol com 98% de pureza, na proporção de 1:5 (m/v), por um período de sete dias, à temperatura ambiente e protegidas da luz. Após essa etapa, a solução foi filtrada usando um filtro de papel comum, e o solvente remanescente foi removido por

rotaevaporação a 40°C, sob pressão controlada e reduzida, utilizando o equipamento Buchi Rotavapor R-215 da Suíça. O extrato etanólico de *M. ilicifolia* obtido foi posteriormente liofilizado, utilizando o equipamento L101 da Liotop do Brasil, para assegurar a completa remoção da água presente na amostra. Este procedimento foi repetido 4 vezes para obtenção de 30 gramas de extrato etanólico (Bittar et al., 2024).

3.2. Partição do extrato das folhas de *Maytenus Ilcifolia*

Para obter as frações orgânicas, 20 gramas do extrato etanólico de *M. ilicifolia* (EE-Mi) foram diluídos em uma solução hidrometanólica composta por 90% de metanol (36 ml) e 10% de água ultrapura (4 ml). Após a diluição, a mistura foi submetida a um processo de particionamento líquido-líquido, utilizando diferentes solventes orgânicos selecionados. Os solventes foram adicionados em um volume fixo de 200 mL, na seguinte ordem crescente de polaridade: hexano (FH-Mi), diclorometano (FDM-Mi), acetato de etila (FAE-Mi) e n-butanol (FB-Mi). A fração hidrometanólica (FHM-Mi) representa o resíduo final do processo de particionamento, após todas as adições dos solventes orgânicos. Os solventes restantes em cada etapa do processo de particionamento foram removidos por liofilização (utilizando o equipamento L101 da Liotop, Brasil) e secagem. As amostras de EE-Mi, FH-Mi, FDM-Mi, FAE-Mi, FB-Mi e FHM-Mi, já secas, foram armazenadas a -20°C até serem utilizadas nos experimentos (Bittar et al., 2024).

3.3. Síntese Verde de ZnNPs-Mi

As nanopartículas de zinco funcionalizadas com *M. ilicifolia* (ZnNPs-Mi) foram sintetizadas utilizando $Zn(OAc)_2$ (Sigma-Merck, EUA) e a fração orgânica acetato de etila obtida do particionamento líquido-líquido, conforme descrito anteriormente. O método de síntese foi baseado no procedimento proposto por Khoobchandani et al. (2016) e Fakhari

(2019), com algumas modificações. Para a síntese, 1,0 mL da solução FAE-Mi (3 mg/mL) foi diluída em 5 mL de água deionizada, enquanto era agitado vigorosamente usando um agitador magnético por 20 minutos a 50°C. Após esta etapa, foram adicionados 120 µL de 0,1 M de Zn(OAC)₂ à mistura, que foi agitada suavemente por 2 horas na ausência de luz à temperatura ambiente (25°C) (adaptado de Khoobchandani et al. (2016) e Nune et al. (2009)).

O início da síntese foi indicado por uma mudança de cor de amarelo claro que gradualmente escureceu até atingir a cor amarelo escuro após as 2 horas de agitação. Para atingir o pH 7 foram utilizadas gotas de KOH 3 M. As ZnNPs-Mi sintetizadas foram centrifugadas a 15.000xg a 12°C por 15 minutos e lavadas com água deionizada. Esse processo foi repetido três vezes para remover qualquer resíduo de solução FAE-Mi ou Zn(OAC)₂ não reagido. O sedimento resultante foi disperso em 1 mL de água deionizada a pH neutro e coletado em um único tubo, que foi então liofilizado por 24 horas para total remoção da água restante. O procedimento de síntese foi repetido várias vezes para obtenção da concentração necessária para realização de todos os ensaios físicos e biológicos descritos.

3.4 Caracterização das Nanopartículas

3.4.1 Caracterizações físicas da ZnNPs-Mi

Para a caracterização da ZnNPs-Mi, foram utilizadas as seguintes técnicas analíticas: espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), análises de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta. O ensaio de UV-Vis foi realizado a 25°C, utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer LS 55 (Massachusetts, EUA), abrangendo a faixa de 230 até 1000 nanômetros, com uma resolução espectral de 1 nm. Para a análise FT-IR, empregou-se um espectrômetro Vertex 70 da Bruker Optics (Reinstetten, Alemanha), no qual as amostras,

previamente liofilizadas, foram analisadas na faixa de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . As análises de DLS foram conduzidas com um analisador de dispersão de luz DelsaMax Pro da Beckman Coulter Inc. (Atlanta, GA, EUA). Além disso, o Potencial Zeta das nanopartículas foi analisado para caracterização do potencial elétrico no plano de cisalhamento das mesmas.

3.5. Capacidade antioxidante

3.5.1 Avaliação da capacidade de redução do ferro (FRAP)

A técnica FRAP, é usada para avaliar a capacidade de um composto em reduzir Fe^{3+} para Fe^{2+} . Neste método, o Fe^{2+} forma um complexo com o reagente 2,4,6-tri-(2 piridril)-s-triazida (TPTZ), resultando numa coloração azul intensa (Antolovich et al., 2002). As amostras, em concentrações de 2 mg/mL, 1 mg/mL e 0,50 mg/mL, foram incubadas com o reagente FRAP (composto por tampão acetato de sódio a 300 mM e pH 3,6, TPTZ e cloreto férrico a 20 mM, na proporção de 10:1:1, respectivamente) numa microplaca de 96 poços, por 6 minutos a 37°C para permitir a reação. Após esse período, a absorbância dos poços foi medida a 593 nm utilizando uma leitora de microplacas (Versamax, Molecular Devices, EUA). Para garantir a precisão dos resultados, foi criada uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), um composto análogo da vitamina E. Os resultados foram expressos em μmol de trolox por grama (eq.g).

3.5.2. Avaliação da capacidade de absorção de radicais livres de oxigênio (ORAC)

O método empregado visa avaliar a capacidade antioxidante das amostras ao reduzir a taxa de decaimento da fluorescência causada pela oxidação da fluoresceína (uma sonda fluorescente). Isso ocorre na presença de radicais peroxilas gerados pela reação com o reagente Azobis (Diidrocloreto de 2,2-azobis (2-metilpropionamidina)), conforme descrito por Litescu et al. em 2014.

As amostras foram incubadas em uma placa de 96 poços com Fluoresceína (0,085 mM) e Azobis (153 mM), ambos os reagentes diluídos em tampão fosfato a 75 mM e pH 7,4. A fluorescência foi medida com 485 nm de excitação e 528 nm de emissão de 3 em 3 minutos ao longo de 90 minutos, a 37°C, utilizando um leitor de microplacas (EnSpire, PerkinElmer, EUA). Adicionalmente, foi construída uma curva padrão analítica utilizando trolox para quantificar a capacidade antioxidante das amostras neste ensaio. O tampão fosfato foi empregado como controle negativo, enquanto a FAE-Mi foi utilizada como controle positivo.

3.5.3. Avaliação do sequestro do radical DPPH (DPPH)

A técnica do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) se fundamenta na avaliação da capacidade antioxidante de uma amostra específica ao neutralizar o radical estável DPPH, transformando-o em hidrazina. Quanto maior a atividade antioxidante da amostra, mais a solução adquire uma coloração amarela. Por outro lado, amostras com menor atividade antioxidante apresentam uma coloração violeta, indicando a presença do radical DPPH (Huang et al., 2005).

Em uma placa de 96 poços, as amostras foram incubadas nas concentrações de 2 mg/mL, 1 mg/mL e 0,50 mg/mL com o radical DPPH 60mM (previamente diluído em metanol) por 30 minutos a 37°C, na ausência de luz. Posteriormente, a absorbância foi medida a 517nm utilizando um leitor de microplacas (Versamax, Molecular Devices, EUA). O cálculo da atividade antioxidante das amostras foi realizado com base na seguinte equação matemática:

$$DPPH (\%) = \frac{X_{controle} - X_{amostra}}{X_{controle} - X_{branco}} \times 100$$

Figura 1: Equação matemática para calcular a atividade antioxidante do DPPH

Em que o termo "X controle" indica a absorvância do DPPH diluído em metanol, "X amostra" refere-se à absorvância do sistema composto pelo DPPH e pela amostra e "X branco" corresponde à absorvância das amostras diluídas em metanol sem a presença do DPPH (metanol + amostras). O controle negativo foi representado pelo metanol.

4. RESULTADOS

4.1. Rendimento dos extratos e frações de *Maytenus ilicifolia*

A tabela 1 apresenta o rendimento obtido do particionamento das folhas de *Maytenus ilicifolia* utilizando 20 gramas do extrato bruto.

Tabela 1. Rendimento do processo de extração e partição das folhas de *Maytenus ilicifolia*. Observação: FHM-Mi: fração hidrometanólica, FAE-Mi: fração acetato de etila, FNB-Mi: fração n-butanol, FHE-Mi: fração hexano, FDM-Mi: fração diclorometano.

Rendimento obtido a partir da execução e particionamento das folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i>		
	Massa (g)	Rendimento (%)
FHM-Mi	1,8614	9,3
FAE-Mi	6,0315	30
FNB-Mi	2,2750	11,3
FHE-Mi	0,3852	1,9
FDM-Mi	1,0201	5,1

4.2. Síntese Verde de ZnNPs-Mi

A síntese de ZnNps funcionalizadas com a FAE-Mi foi verificada através da observação de uma mudança de cor de amarela clara para amarelo escuro.

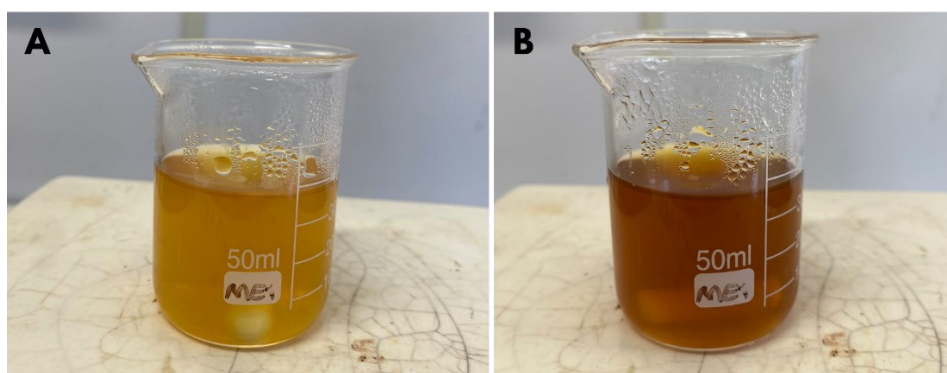


Figura 2. A figura 2A apresenta o início da síntese verde de ZnNps-Mi. A figura 2B apresenta a síntese verde de ZnNps-Mi após 2h.

O rendimento das nanopartículas está apresentado Tabela 2.

Tabela 2. Rendimento obtido da síntese verde de ZnNPs funcionalizadas com a FAE-Mi das folhas de *Maytenus ilicifolia*.

Rendimento obtido na síntese de ZnNPs-Mi	
Síntese	Massa (g)
1º Síntese	0,0017
2º Síntese	0,0009
3º Síntese	0,0004
4º Síntese	0,001
5º Síntese	0,0016
6º Síntese	0,0021
7º Síntese	0,0013

4.3. Espectros UV-Vis

A espectroscopia UV-vis foi usada para caracterizar as propriedades de absorção óptica das ZnNPs-Mi, FAE-Mi e Ac.Zn. A Figura 3 mostra o espectro UV-Visível dessas amostras. A absorção na faixa de 400-450 nm é característica das nanopartículas de zinco devido à sua energia de ligação de excitação (Bhuyan et al., 2015). A baixa intensidade desse pico está relacionada ao tamanho da partícula, sendo que partículas menores tendem a ser mais reativas e apresentam um pico de absorção mais pronunciado (Fakhari et al., 2019). A variação na absorbância do espectro da *Maytenus ilicifolia* é resultado da presença de diversas moléculas na fração acetato de etila. O acetato de zinco isolado não apresentou nenhuma variação de absorbância.

Para determinação desses valores foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 10.0.0 para fazer uma análise ANOVA.

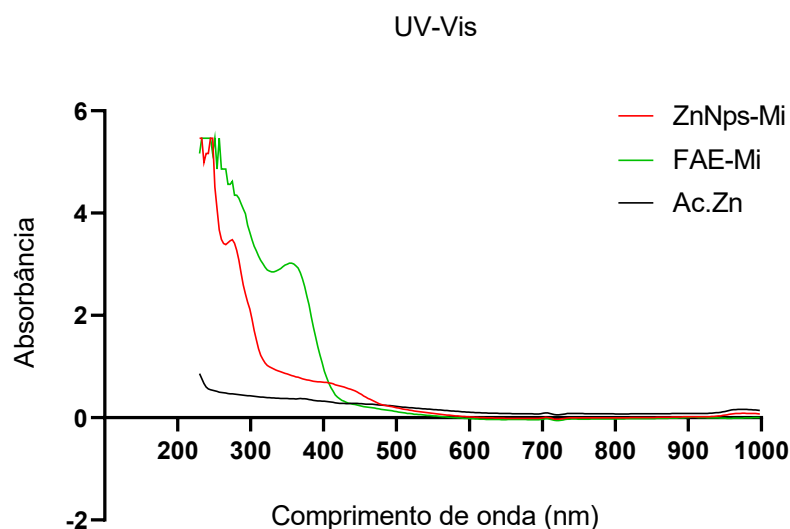


Figura 3. Espectro UV-Visível de nanopartículas de *Maytenus ilicifolia* conjugadas com acetato de zinco (ZnNPs-Mi), fração acetato de etila de *Maytenus ilicifolia* (FAE-Mi) isolada e acetato de zinco puro (Ac.Zn).

4.4. DLS

Tabela 3: Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) da nanopartícula de *Maytenus ilicifolia* conjugadas com acetato de zinco (ZnNps-Mi).

Diâmetro Hidrodinâmico	967,18 nm
Índice de Polidispersão	11,99%
Coefficiente de Difusão	0,43 cm ² /s
Potencial Zeta	- 5,83 mV
Condutividade	0,0044 mS/cm

A distribuição de tamanhos das nanopartículas foi analisada usando Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS). Conforme apresentado na Tabela 3, os resultados indicam um índice de polidispersão de 11,99%, sugerindo que a maioria das nanopartículas na amostra possui um diâmetro hidrodinâmico próximo a 967 nanômetros. O coeficiente de difusão foi calculado como 0,43 cm²/s. O potencial zeta das nanopartículas foi encontrado como negativo (- 5,83mV), no valor de indicando uma carga superficial na amostra e a condutividade da nanopartícula foi de 0,0044 mS/cm.

4.5. FT-IR

Os espectros de FT-IR da FAE-Mi e das ZnNPs-Mi estão apresentados na Figura 4. Foram conduzidas análises de espectroscopia infravermelha na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ para investigar a composição química e estrutural das amostras estudadas. Conforme ilustrado na figura acima, vários picos de comprimento de onda foram observados em todos os espectros, indicando a presença de grupos funcionais específicos em cada amostra analisada.

Conforme descrito por Pavia et al., 2008, nos dois espectros, o pico em 3300 cm⁻¹ corresponde às vibrações de estiramento das ligações O-H, indicando a presença desses grupos hidroxila, possivelmente devido aos fenóis encontrados nas folhas de *Maytenus ilicifolia*. É

notável um estiramento com maior área sob a curva dessas hidroxilas nas folhas de *M. ilicifolia* em comparação com as nanopartículas, sugerindo que esses grupos foram possivelmente utilizados na redução das nanopartículas. De acordo com Smith et al, 1998, os picos distintos observados exclusivamente no espectro da FAE-Mi em 1408 cm^{-1} (curvatura O-H em ácidos carboxílicos), 1490 cm^{-1} (curvatura assimétrica de CH_3 em anéis aromáticos), 1552 cm^{-1} (curvatura de N-H em amidas secundárias) e 1610 cm^{-1} (estiramento C=O em cetonas) sugerem que esses compostos podem estar sendo utilizados na conjugação do Ac.Zn com a FAE-Mi.

Para determinação desses valores foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 10.0.0 para fazer uma análise ANOVA.

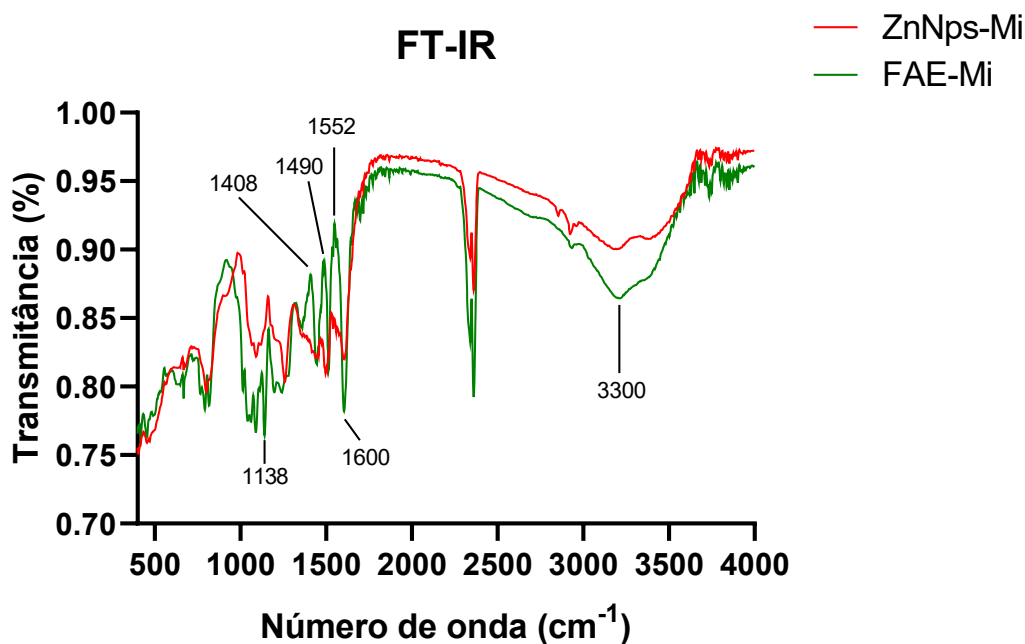


Figura 4: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) da nanopartícula de *Maytenus ilicifolia* conjugadas com acetato de zinco (ZnNPs-Mi) e fração acetato de etila de *Maytenus ilicifolia* (FAE-Mi) isolada.

4.6. DPPH

A análise do gráfico (Figura 5) revela que a FAE-Mi, em todas as concentrações testadas, apresentou a maior capacidade de sequestrar o radical livre DPPH, com valores de $(98 \pm 1,13\%)$ na concentração de $0,5\text{ mg/mL}$, $(94 \pm 0,08\%)$ na concentração de $0,25\text{ mg/mL}$ e $(62$

$\pm 4,03\%$) na concentração de 0,025 mg/mL. Em seguida, observam-se os valores das ZnNPs-Mi, que apresentaram uma capacidade de sequestro menor em comparação com a FAE-Mi, com valores de $(80 \pm 2,08\%)$ na concentração de 0,5 mg/mL, $(50 \pm 2,90\%)$ na concentração de 0,25 mg/mL e $(21 \pm 0,69\%)$ na concentração de 0,025 mg/mL. Os menores valores foram encontrados em todas as concentrações de Acetato de Zn (Ac.Zn), sendo $(37,66 \pm 1,51\%)$ na concentração de 0,5 mg/mL, $(8,41 \pm 1,04\%)$ na concentração de 0,25 mg/mL e $(8,25 \pm 0,56\%)$ na concentração de 0,025 mg/mL. Para determinação desses valores foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 10.0.0 para fazer uma análise ANOVA.

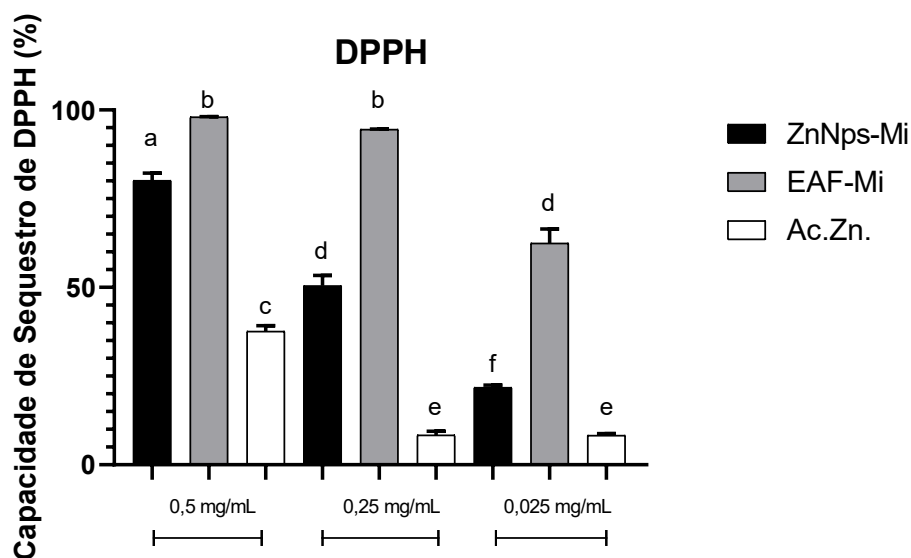


Figura 5. Gráfico comparativo da capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) em diferentes concentrações de ZnNPs-Mi (nanopartículas de zinco funcionalizadas com *Maytenus ilicifolia*, da FAE-Mi (fração acetato de etila) e do acetato de zinco. As letras iguais correspondem às amostras que não apresentaram diferença estatística significativa entre si. A análise estatística foi realizada com confecção de Anova e pelo pós teste de Tukey ($p < 0.05$).

4.7. FRAP

A análise dos dados do método FRAP, conforme apresentados na Figura 6, revela que os níveis mais elevados de atividade antioxidante foram registrados no extrato acetato de etila (FAE-Mi) em ambas as concentrações. Na concentração de 0,070 mg/mL, obteve-se uma

atividade antioxidante de $(929 \pm 11,40 \mu\text{mol trolox eq.g})$, na concentração de $0,035 \text{ mg/mL}$, a atividade antioxidante foi de $(900 \pm 10,26 \mu\text{mol trolox eq.g})$, e na concentração de $0,0035 \text{ mg/mL}$, a atividade antioxidante foi de $(92 \pm 1,14 \mu\text{mol trolox eq.g})$. Por outro lado, as ZnNPs-Mi apresentaram atividade antioxidante menor. Na concentração de $0,070 \text{ mg/mL}$, a atividade antioxidante foi de $(331 \pm 4,56 \mu\text{mol trolox eq.g})$, na concentração de $0,035 \text{ mg/mL}$, foi de $(141 \pm 0,45 \mu\text{mol trolox eq.g})$, e na concentração de $0,0035 \text{ mg/mL}$, não foi detectada atividade antioxidante $(0 \pm 0 \mu\text{mol trolox eq.g})$. O acetato de zinco não demonstrou atividade antioxidante em nenhuma das concentrações testadas. Para determinação desses valores foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 10.0.0 para fazer uma análise ANOVA.

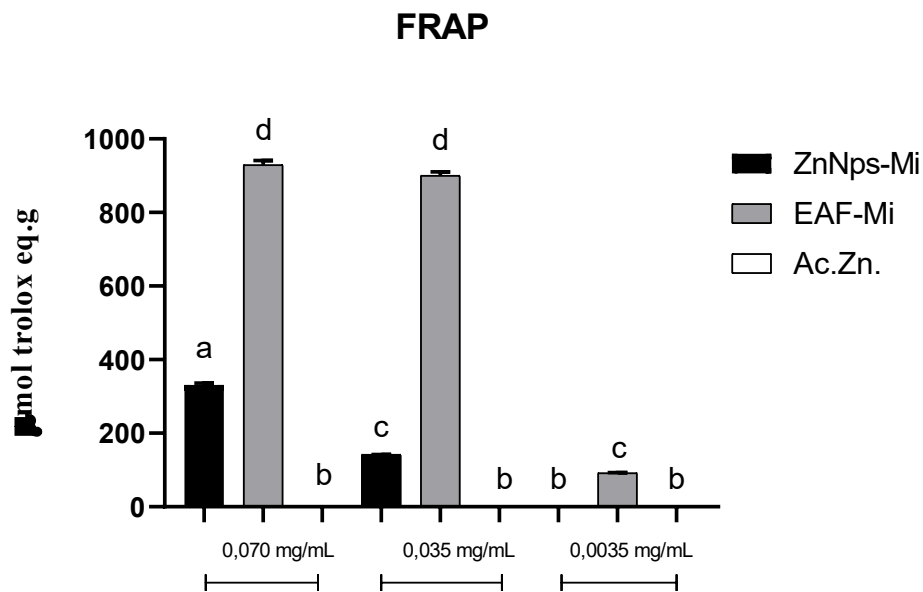


Figura 6. Gráfico comparativo da capacidade de redução de Fe^{3+} em Fe^{2+} entre FAE-Mi (fração acetato de etila) (controle positivo), as ZnNPs-Mi nanopartículas de zinco funcionalizadas com *Maytenus ilicifolia* e o acetato de zinco. As letras iguais correspondem às amostras que não apresentaram diferença estatística significativa entre si. A análise estatística foi realizada com confecção de Anova e pelo pós teste de Tukey ($p < 0.05$).

4.8. ORAC

A análise dos dados do método ORAC, apresentados na Figura 7, revela que a fração orgânica acetato de etila de *Maytenus ilicifolia* (FAE-Mi) demonstrou a maior atividade antioxidante na concentração de 0,0024 mg/mL, com um valor de $2473 \pm 57,9$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$. Nas concentrações de 0,0012 mg/mL e 0,00012 mg/mL, a FAE-Mi apresentou atividades antioxidantes de $2494 \pm 69,2$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$ e $2219 \pm 24,2$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$, respectivamente. Por outro lado, as ZnNPs-Mi mostraram atividade antioxidante menor em comparação com a FAE-Mi. Na concentração de 0,0024 mg/mL, a atividade antioxidante das ZnNPs-Mi foi de $2029 \pm 34,4$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$. Nas concentrações de 0,0012 mg/mL e 0,00012 mg/mL, as ZnNPs-Mi apresentaram atividades antioxidantes de $1547,2 \pm 86,4$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$ e $1258 \pm 24,2$ $\mu\text{mol trolox eq.g}$, respectivamente. O acetato de zinco não apresentou atividade antioxidante em nenhuma das concentrações testadas. Para determinação desses valores foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 10.0.0 para fazer uma análise ANOVA.

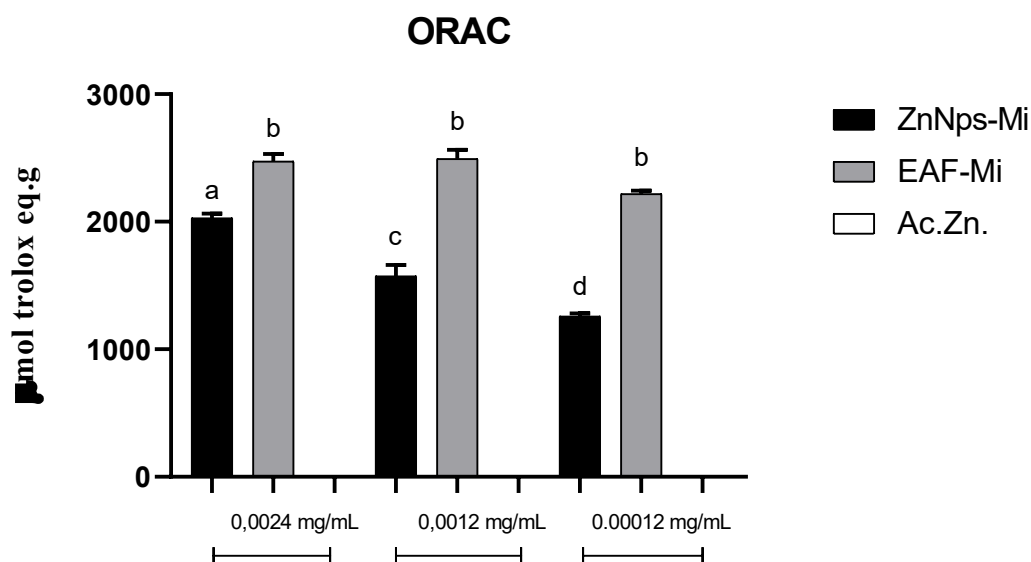


Figura 7. Gráfico comparativo da capacidade de transferência de elétrons entre FAE-Mi (controle positivo), as ZnNPs-Mi e o Ac.Zn. As letras iguais correspondem às amostras que não apresentaram diferença estatística significativa entre si. A análise estatística foi realizada com confecção de Anova e pelo pós teste de Tukey ($p < 0.05$).

5. DISCUSSÃO

Segundo o estudo realizado por Bittar et al., 2024, a partição do extrato de *Maytenus Ilicifolia* que apresentou maior capacidade antioxidante foi a FAE-Mi, atingindo níveis semelhantes aos da molécula de referência quercetina, uma molécula com alto potencial antioxidante. De modo geral a *Maytenus Ilicifolia* é rica em polifenóis, flavonoides, taninos, etc e segundo Basnet et al., 2018, estes fitoquímicos são responsáveis pela redução dos sais metálicos que levam à formação de nanopartículas de ZnO.

Na síntese de nanopartículas, a FAE-Mi atuou como agente redutor para os sais de zinco, como o precursor acetato de zinco utilizado na síntese. Essa abordagem visa reduzir o sal de zinco sem a necessidade de produtos químicos. Em seguida, ocorre a complexação do íon zinco com os compostos presentes no extrato vegetal, resultando na produção de nanopartículas de ZnO funcionalizadas com a FAE-Mi.

Os espectros de absorção UV-vis da amostra de nanopartículas biossintetizadas (ZnNPs-Mi) (Figura 3) revelam um pico de absorção situado na faixa de 400-450 nm. Este achado está em concordância com os resultados obtidos por Bhuyan et al., 2015, que conduziram a biossíntese de nanopartículas de zinco (com pico de absorção em 377 nm), valor próximo ao encontrado, reforçando assim a confirmação da presença das nanopartículas.

Conforme observado por Azizi et al., os picos de comprimento de onda das nanopartículas de Zn, obtidas por meio da síntese com extrato de plantas, apresentou pico em 382 nm. Ao observarmos nosso pico deslocado ligeiramente para a direita em comparação a literatura, torna-se evidente que essa alteração aponta para modificações na morfologia, tamanho e microestrutura superficial das partículas em que podemos comprovar em outras análises de caracterização realizadas. Segundo Fakhari et al., 2019 e Goh et al., 2014, é relevante destacar que a intensidade deste pico está diretamente associada ao tamanho da partícula, o que consolida as descobertas de estudos anteriormente citados.

Partículas de menor tamanho tendem a exibir maior reatividade, resultando em um pico de absorção mais pronunciado (Bhuyan et al., 2015). Esta observação sugere que o controle do tamanho das nanopartículas pode ser um fator chave na modulação de suas propriedades reativas, sendo que partículas maiores podem ser desejáveis em certas aplicações, devido à sua menor reatividade.

Importante destacar que os espectros de absorção óptica de nanopartículas de metais nobres exibem propriedades únicas devido à Ressonância Plasmática de Superfície (SPR), que varia para comprimentos de onda mais longos com o aumento do tamanho das partículas (Sangeetha et al., 2011). A posição e largura da banda plasmônica são influenciadas pelo tamanho, forma e constante dielétrica das espécies adsorvidas na superfície e no meio (Smitha et al., 2008).

A caracterização da nanopartícula pelo método DLS revelou um tamanho de 967,18 nm (Tabela 3), para as ZnNPs-Mi produzidas, o que inicialmente surpreendeu devido à sua dimensão além do esperado para uma nanopartícula. No entanto, mesmo com esse tamanho relativamente maior, é importante ressaltar que ainda apresenta aplicações valiosas no âmbito científico.

Segundo Justino et al., 2023, a disparidade no tamanho da nanopartícula pode estar atribuída à atuação do composto isolado de uma planta utilizado em seu experimento, como agentes de proteção, formando uma cobertura protetora nas nanopartículas. Sendo assim, é possível acontecimento similar em nosso experimento devido ao uso da FAE-Mi que possui diversos compostos. Além disso, a nanopartícula indicou um índice de polidispersidade moderado de 11,99%, indicando uma distribuição de tamanho uniforme (Danaei et al., 2018).

A medição do Potencial Zeta foi de - 5,83 mV (Tabela 3), demonstrando a existência de FAE-Mi como camada de revestimento sobre as nanopartículas. A carga negativa é originada dos grupos hidroxila presentes na superfície da nanopartícula, o que gerou forças repulsivas que

evitaram a aglomeração das ZnNPs-Mi (Chavva et al., 2019). A formação de pontes de hidrogênio entre os grupos da cadeia polietilênica e interações dipolo-dipolo, resultando em valores negativos de potencial zeta, pode ser uma explicação para essa observação (Soares et al., 2012). Tais ligações podem ser comprovadas pelos resultados do FT-IR (Figura 4).

O valor do Potencial Zeta observado neste estudo pode ser atribuída a diversos fatores, como variações na composição química das nanopartículas ou nas condições de síntese. Conforme evidenciado na Figura 4, segundo Pavia et al., 2008, o pico em 3.300 cm^{-1} corresponde às vibrações de estiramento das ligações O-H e apresentou maior intensidade na FAE-Mi. Apesar da redução desse pico na ZnNPs-Mi, ele foi detectado. Segundo Azizi et al., esse alongamento OH pode estar relacionado a taninos, ácidos graxos e flavonoides. Sendo assim, podem significar o potencial antioxidante, que permaneceu nas nanopartículas como comprovado nos experimentos antioxidantes apresentados nas Figuras 5, 6 e 7.

A análise revelou que as nanopartículas de ZnO biossintetizadas com o uso da FAE-Mi estavam envoltas por metabólitos, incluindo flavonoides com grupos funcionais. Com base nesses resultados, sugere-se que esses metabólitos desempenham um papel fundamental na formação e estabilidade das nanopartículas de ZnO, conforme observado. Além disso, a banda em 1408 cm^{-1} , foi associada a ácidos carboxílicos (Smith, 1998). Estudos prévios trouxeram que os grupos carbonila provenientes de resíduos de polifenóis têm uma maior afinidade para ligação com o metal, sugerindo que esses polifenóis têm a capacidade de formar uma camada ao redor das nanopartículas metálicas, estabilizando o meio. (Joy Prabu & Johnson, 2015).

Além disso, foi testada a capacidade antioxidante usando os ensaios DPPH, FRAP e ORAC, conforme mostrado nas Figuras 5, 6 e 7. Esses ensaios avaliam a habilidade das substâncias em neutralizar radicais livres ou estabilizar espécies reativas de oxigênio, o que permite a avaliação de suas propriedades antioxidantes (Justino et al., 2019). As ZnNPs-Mi apresentaram uma vantajosa capacidade antioxidante nos métodos DPPH, FRAP e ORAC. Em

comparação com a FAE-Mi pura, as nanopartículas demonstraram uma menor capacidade antioxidante, pois observamos que o acetato de zinco não obteve quase nenhum efeito antioxidante nos experimentos realizados.

Fazendo uma comparação das análises com a análise de vibrações do FT-IR, o Ac.Zn. pode ter interagido com os grupos OH redox-ativos da FAE-Mi durante a síntese, como observado nos resultados encontrados. Apesar da possível redução na atividade antioxidante devido à interação entre Ac.Zn. e o grupo OH da FAE-Mi, observou-se que a ZnNPs-Mi ainda é capaz de neutralizar radicais livres por meio de processos envolvendo transferência de elétrons e oxigênio, não perdendo o potencial antioxidante.

A habilidade da ZnNPs-Mi de eliminar radicais livres por meio de mecanismos variados a torna um candidato promissor em diversas aplicações biomédicas.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo aborda uma estratégia sustentável tanto do ponto de vista ambiental quanto economicamente acessível para a biossíntese de nanopartículas de zinco, as quais foram funcionalizadas com o extrato acetato de etila (FAE-Mi) extraído das folhas de *Maytenus ilicifolia*. Este composto demonstrou eficácia como agente redutor e estabilizante. A síntese das nanopartículas foi conduzida utilizando acetato de zinco (Ac.Zn) como precursor para a produção do ZnO, eliminando a necessidade de produtos químicos adicionais. Apesar das ZnNPs-Mi terem alcançado uma escala nanométrica um pouco maior do que o esperado para aplicações biomédicas, suas notáveis propriedades antioxidantes conferem-lhes relevância significativa no campo científico, sugerindo um potencial de aplicação em diversas áreas. A análise por FT-IR evidenciou de forma explícita a formação de ZnO, ao mesmo tempo que indicou a presença de diversos fitoquímicos no extrato vegetal. Esses compostos desempenham

papel crucial como agentes de proteção e estabilização das ZnNPs sintetizadas. Este estudo destaca de maneira consistente o potencial dessas nanopartículas como agentes antioxidantes, apontando para perspectivas promissoras em futuras aplicações e avanços na área da nanotecnologia. Porém, serão feitas outras análises, como Difração de Raios X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para conferir o tamanho das nanopartículas e sua morfologia. Posteriormente, será feito testes em culturas de células para averiguar a citotoxicidade nas nanopartículas e ver seu alcance até células alvo. Assim, poderemos confirmar sua aplicabilidade como “drug delivery”.

REFERÊNCIAS

1. ANTOLOVICH, D. et al. Fadiga termomecânica: mecanismos e análise prática da vida. **por WT BECKER e RJ SHIPLEY, ASM Handbook**, v. 738-745, 2002.
2. ASEMANI, M. et al. Detailed FTIR spectroscopy characterization of crude oil extracted asphaltenes: Curve resolve of overlapping bands. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 185, p. 106618, 1 fev. 2020.
3. ARGENTA, S. et al. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.
4. AZIZI, S. et al. Effect of annealing temperature on antimicrobial and structural properties of bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Anchusa italica*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 161, p. 441–449, ago. 2016.
5. BASNET, P. et al. A review on bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 183, p. 201–221, jun. 2018.
6. BENATTI JUSTINO, A. et al. Curcumin-functionalized gold nanoparticles attenuate AAPH-induced acute cardiotoxicity via reduction of lipid peroxidation and modulation of antioxidant parameters in a chicken embryo model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 646, p. 123486, 5 nov. 2023.
7. BHUYAN, T. et al. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from *Azadirachta indica* for antibacterial and photocatalytic applications. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 32, p. 55–61, 1 abr. 2015.
8. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Memento fitoterápico. 1ª ed. Brasília, DF, 2016.

9. CARVALHO, A. C. B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314–319, jun. 2008.
10. CHAVVA, S. et al. Epigallocatechin Gallate-Gold Nanoparticles Exhibit Superior Antitumor Activity Compared to Conventional Gold Nanoparticles: Potential Synergistic Interactions. **Nanomaterials**, v. 9, n. 3, p. 396, 8 mar. 2019.
11. CORDEIRO, P. J. M. et al. HRGC-MS analysis of terpenoids from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium* (“espinheira santa”). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, p. 523–526, 1 dez. 1999.
12. DANAIEI, M. et al. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 18 maio 2018.
13. DA SILVA NETO, B.R. Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências. 2019.
14. DI STASI, L.C. Aspectos químicos e farmacológicos da espinheira-santa: uma análise da utilidade dos dados. In: REIS, M.S.; SILVA, S.R. (Org.). Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa. Brasília: IBAMA, 2004. 204p.
15. DL Pavia, et al. Introdução à Espectroscopia, (quarta edição), Cengage Learning (2008).
16. FAKHARI, S. et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 12, n. 1, p. 19–24, 2 jan. 2019.
17. GOH, E. G, et al. Effect of particle size on the UV absorbance of zinc oxide nanoparticles. **Scripta Materialia**, v. 78-79, p. 49–52, maio 2014.
18. HAISS, W. et al. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV–Vis Spectra. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4215–4221, jun. 2007.

19. HUANG, D. et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–56, 2005.
20. IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638, 2011.
21. JOY PRABU, et al. Plant-mediated biosynthesis and characterization of silver nanoparticles by leaf extracts of *Tragia involucrata*, *Cymbopogon citronella*, *Solanum verbascifolium* and *Tylophora ovata*. *Karbala International Journal of Modern Science*, v. 1, n. 4, p. 237–246, dez. 2015.
22. KHAN, I. et al. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, maio 2017.
23. KHOOBCHANDANI, M. et al. Laminin Receptor-Avid Nanotherapeutic EGCg-AuNPs as a Potential Alternative Therapeutic Approach to Prevent Restenosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 3, p. 316, 1 mar. 2016.
24. LIEN, E. J. et al. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 3-4, p. 285–294, fev. 1999.
25. LITESCU, S. C. et al. Utilização dos ensaios de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e capacidade antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) na avaliação das propriedades antioxidantes de bebidas. In: **Processamento e impacto em antioxidantes em bebidas**. Imprensa acadêmica, 2014. p. 245-251.
26. LORENZI, H. et al. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo, Editora Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002, p. 512
27. NUNE, S. K. et al. Green nanotechnology from tea: phytochemicals in tea as building blocks for production of biocompatible gold nanoparticles. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 19, p. 2912, 2009.

28. MARLIÈRE, L. D. P. et al. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 754–760, dez. 2008.
29. MATHIN, S. A. et al. Synthesis, characterization and activities of Zinc oxide nanoparticles using plant extracts. 2023.
30. MORAIS, S. M. DE et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 315–320, 1 mar. 2009.
31. PATRA, J. K. et al. Nano Based Drug Delivery systems: Recent Developments and Future Prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, 19 set. 2018.
32. ROCHA, F. D. et al. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 631–639, 1 dez. 2007.
33. SANGEETHA, G. et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. **Materials Research Bulletin**, v. 46, n. 12, p. 2560–2566, dez. 2011.
34. SANTOS, G. S. DOS et al. Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas lipídicas destinadas à aplicação tópica de dapsona. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1388–1394, 2012.
35. SHAIK, A. M. et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous root extract of *Sphagneticola trilobata* Lin and investigate its role in toxic metal removal, sowing germination and fostering of plant growth. **Inorganic and Nano-Metal Chemistry**, p. 1–11, 6 fev. 2020.
36. SMITHA, S. L. et al. Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 71, n. 1, p. 186–190, 1 nov. 2008.

37. SMITH, B. C. Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach. [s.l.] CRC Press, 2018.
38. S. KUMAR, AK P. Química e atividades biológicas de flavonóides: uma visão geral, ScientificWorldJournal 2013 (2013), 162750.
39. VAYSSIERES, L. et al. Three-Dimensional Array of Highly Oriented Crystalline ZnO Microtubes. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 12, p. 4395–4398, 7 nov. 2001.
40. VITÓRIA, J. M. et al. Ocorrência de cochonilhas em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 176–179, 2013.
41. XAVIER, H. S.; D'ANGELO, L. C. A. Perfil cromatográfico dos componentes polifenólicos de *Maytenus ilicifolia* mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 1, p. 20–28, 1996.