

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS ANTIOXIDANTES FEITAS COM PRATA E POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DA ALGA *Crassiphycus birdiae*

C. G. DE MEDEIROS¹, R. L. S. VIANA², D. I. A. TEIXEIRA³, H. A. O. ROCHA⁴

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-2252-1221>
hugo@cb.ufrn.br⁴

Submetido 30/08/2020 - Aceito 25/08/2021

DOI: 10.15628/holos.2021.11100

RESUMO

Polissacarídeos sulfatados (PSs) da alga vermelha comestível *Crassiphycus birdiae* possuem atividade antioxidante. Trabalhos anteriores mostram que PSs, quando em forma de nanopartículas de prata (NpsAg), apresentam melhor atividade antioxidante do que em sua forma original. Contudo, não há dados referentes a NpsAg sintetizadas com PSs de *C. birdiae*. Portanto, NpsAg sintetizadas a partir dos PSs de *C. birdiae* foram obtidas e avaliadas como agentes antioxidantes. Foram realizadas a detecção e a medição de tamanho das NpsAg por dispersão de luz dinâmica (DLS). O extrato de PS foi avaliado quanto a sua capacidade redutora pelo teste de capacidade antioxidante total (CAT). A capacidade antioxidante das NpsAg e dos PS também foi determinada pelo teste de quelação férrica. O teor de

proteínas e de açúcar foi determinado por espectrofotometria. Os PS apresentaram CAT, e isso habilitou-os para a síntese de NpsAg. As NpsAg apresentaram tamanho médio de 117,6 nm. Nenhuma contaminação proteica foi encontrada nos PSs e nas NpsAg. O teor de açúcar na suspensão de NpsAg (55,7%) foi superior ao encontrado na solução de PSs (49,7%). A suspensão com NpsAg apresentou uma atividade quelante de ferro 25% maior que a solução de PSs. Os resultados mostraram que os PSs de *C. birdiae*, sob a forma de nanopartículas, tiveram a sua atividade quelante de ferro potencializada, indicando que as nanopartículas de prata podem ser objeto de futuros estudos para identificar seu potencial como agentes antioxidantes em diferentes aplicações.

PALAVRAS-CHAVE: Alga vermelha, nanopartículas metálicas, agaranas, quelação férrica, galactanas sulfatadas

GREEN SYNTHESIS OF ANTIOXIDANT SILVER NANOPARTICLES WITH SULFATED POLYSACARIDES FROM THE RED SEAWEED *Crassiphycus birdiae*

ABSTRACT

Sulfated polysaccharides (SPs) from the edible red seaweed *Crassiphycus birdiae* have antioxidant activity. Previous studies have shown that SPs, when in the form of silver nanoparticles (AgNps), had better antioxidant activity than in its original form. However, there is no data about AgNps synthesized with the SPs from *C. birdiae*. Then, AgNps synthesized with the SPs from *C. birdiae* were obtained and evaluated as antioxidant agents. The AgNps detection and size measurement were made by dynamic light scattering (DLS). The PS reducing capacity was evaluated by the total antioxidant capacity test (TAC). The antioxidant capacity of AgNps and SPs was also determined by ferric chelation test. In addition, their protein and sugar content were determined

spectrophotometrically. The PS showed TAC, and this allowed the synthesis of AgNps. The AgNps showed an average size of 117.6 nm. No protein contamination was found in the SPs neither AgNps. The sugar content in the AgNps suspension was higher (55.7%) than that found in the SPs solution (49.7%). The AgNps suspension presented an iron chelating activity 25% higher than the of SPs solution. The results showed that the SPs from *C. birdiae*, in the form of nanoparticles, had their iron chelating activity enhanced, indicating that the silver nanoparticles can be subject of further studies to identify their potential as antioxidants agents in different applications.

KEYWORDS: Red algae, Metallic nanoparticles, agaran, ferric chelation, sulfated galactans.



1 INTRODUÇÃO

A alga vermelha *Crassiphycus birdiae* era conhecida anteriormente como *Gracilaria birdiae* e foi reclassificada recentemente (Guiry et al., 2021), por isso não se acha artigos sobre essa alga usando o nome *Crassiphycus birdiae* como descritor. Ela é uma alga comestível que é cultivada principalmente no litoral dos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte. Neste último, ela é cultivada no município de Rio do Fogo pela AMAR (Associação das Maricultoras de Rio do Fogo - RN), que produz uma biomassa mensal de 0,9 a 3,5 Kg/m² (Marinho-Soriano et al., 2006). Foi demonstrado que animais que receberam essa alga como suplemento alimentar, apresentaram um ganho menor de peso em comparação com aqueles animais do grupo controle. Foi demonstrado, também, que polissacarídeos sulfatados (PSs) dessa alga inibem a diferenciação adipogênica de pré-adipócitos em condição de cultivo (Barros et al., 2018). O principal PS dessa alga foi purificado e caracterizado estruturalmente, trata-se de uma agarana (Maciel et al., 2008). Agaranas são uma família de polissacarídeos sulfatados constituídos de uma unidade dissacarídica principal formada por β -D-galactose 3-substituída, ligada a posição 4 de α -L-galactose, alguns desses resíduos são sulfatados em C6. Esta última pode estar, em parte, na forma de 3,6-anidro- α -L-galactose, além disso, resíduos de outros monossacarídeos, como β -D-xilose podem ser encontrados (Maciel et al., 2008). Vale salientar, que uma molécula de agarana não sulfatada, ou seja, neutra, é conhecida como agarose (Vasconcelos et al., 2015). Os PSs de *C. birdiae* são descritos também como agentes anti-inflamatórios (Vanderei et al., 2011; Silva et al., 2012; Brito et al., 2014). Mais recentemente, foi demonstrado que os PSs de *C. birdiae* também agem como agentes antioxidantes (quelantes de ferro) e como inibidores da formação de cristais de oxalato de cálcio, um das principais causas de cálculos renais em humanos (Oliveira et al., 2020).

Em nanotecnologia, uma partícula é definida como um pequeno objeto que se comporta como uma unidade inteira no que diz respeito ao seu transporte e propriedades. Contudo, não há acordo que defina exatamente o tamanho de uma nanopartícula. Alguns autores afirmam que nanopartículas (Nps) são aquelas cujo tamanho varia de 1 a 100 nm (Ahamed et al., 2010); já outros consideram que Nps possuem tamanhos maiores — em alguns casos, partículas de 10 até 1000 nm (1 μ m) (Mohanraj e Chen, 2006). As nanopartículas possuem propriedades (físicas, químicas, óticas e biológicas) que são fortemente influenciadas pelo seu tamanho, morfologia e estrutura (Wei et al., 2015). Essas propriedades são diferentes até de outros nanomateriais, o que gera nos campos da nanociência e da nanotecnologia um grande interesse em sintetizar Nps com diferentes tamanhos, composição e formatos, visando a busca de novas aplicações (Azizi et al., 2013).

Sobre nanopartículas de prata (NpsAg), pode-se dizer que elas são formadas a partir da redução de prata na presença de um composto redutor, que pode ser de origem orgânica ou não (WEI et al., 2015). NpsAg tem atraído atenção em vista de sua boa condutividade, sua estabilidade química e qualidades únicas, elétricas e óticas (Hussain e Pal, 2008). Além disso, possuem aplicações em várias indústrias, incluindo as ciências médicas (agentes contra o HIV) e indústrias de alimentos (agentes antibacterianos aplicados na embalagem de comidas) (Ahmad et al., 2003).



Na literatura há a descrição de vários métodos para sintetizar nanopartículas de prata; contudo, na maioria dos casos, esses métodos são onerosos e prejudiciais ao meio ambiente, sendo responsáveis por gerar alguns compostos químicos e tóxicos que podem causar efeitos adversos em aplicações finais (Asmathunisha e Kathiresan, 2013). Por isso, há uma necessidade crescente de desenvolver métodos de síntese de nanopartículas, métodos esses que sejam menos agressivos ao meio ambiente. Nesse contexto, surgiu o termo “síntese verde” de nanopartículas.

A abordagem verde de síntese de nanopartículas, de acordo com Morones e colaboradores (2005), concentra-se na utilização de materiais de baixo custo, eficazes, biocompatíveis, que causam poucos danos ao meio ambiente, por isso mais amigáveis ao meio ambiente, e originam nanopartículas estáveis para diversas aplicações. Em razão disso, novos métodos vêm sendo propostos e utilizados para a síntese de nanopartículas; por exemplo, têm sido utilizado extratos biológicos para reduzir íons de prata, por meio de protocolos simples, e assim produzir nanopartículas desse metal. (Asmathunisha e Kathiresan, 2013). Nesse tipo de síntese, a água é usada como solvente, substituindo solventes orgânicos tóxicos, e compostos biológicos são empregados como agentes redutores e estabilizadores para síntese de Nps metálicas (Park et al., 2011).

Há poucos trabalhos descrevendo a síntese NpsAg com polissacarídeos de algas e que utilizaram um método “verde”. Pode-se citar a síntese de NpsAg com uma fucana (polissacarídeo sulfatado que contém fucoses sulfatadas) purificada da alga *Spatoglossum schröderi* (Amorim et al., 2016) e NpsAg sintetizadas com fucanas da alga *Dictyota mertensii* (Fernandes-Negreiros et al., 2017). Nos dois casos, os polissacarídeos, na forma de nanopartículas, apresentaram atividade farmacológica superior aos polissacarídeos originais, o que indicou que a formação de NpsAg com esses polissacarídeos potencializa suas atividades.

O estresse oxidativo pode ser produzido por elevados níveis de espécies reativas e por defeitos no metabolismo, resultando no surgimento de várias doenças tais como desordens degenerativas, doenças cardiovasculares, doença de Parkinson, câncer. Além disso, pode também acelerar processos fisiológicos, como o processo de envelhecimento (Shashoua et al., 2004; Li et al., 2007). Para evitar isso, os organismos usam antioxidantes. Contudo, os antioxidantes endógenos nem sempre são suficientes. Por isso, os seres vivos obtêm moléculas antioxidantes exógenas para complementar sua ação (Gupta et al., 2012). Tendo isso em mente, atualmente, se procura novos antioxidantes que possam ser utilizados como componentes em medicamentos e/ou alimentos com intuito de se combater os danos causados pelas espécies reativas.

Antioxidantes são substâncias que atrasam, previnem ou removem o dano oxidativo de uma molécula alvo ou que neutralizam/previnem a oxidação de substratos (Apak, 2019). Os antioxidantes preventivos são os que previnem a formação de espécies reativas, inibindo as enzimas pró-oxidantes ou participando da quelatação de íons metálicos. Os bloqueadores de cadeia são os que eliminam diretamente as espécies reativas e os reparadores são aqueles que servem para reparar a lesão oxidativa (Zhang, 2006).

Como dito, a síntese de NpsAg com polissacarídeos potencializa a ação desse polissacarídeo (Amorim et al., 2016; Fernandes-Negreiros et al., 2017). Os PSs de *C. birdiae* possuem atividade



antioxidante, principalmente capacidade quelante de ferro (Oliveira et al., 2020), e não se identificou a síntese de NpsAg com esses polissacarídeos com intuito de aumentar sua atividade antioxidante. Por isso, nesse trabalho, teve-se como objetivo principal sintetizar NpsAg com PSs de *C. birdiae* e avaliá-las como agentes antioxidantes.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção dos PSs de *C. birdiae*

A alga *C. birdiae* foi cultivada pela AMAR, no município de Rio do Fogo (latitude 05° 16' 16,61" Sul; longitude 35° 22' 54,29" Oeste) e foi doada para este estudo. Os PSs foram extraídos por meio do protocolo descrito anteriormente (Oliveira et al., 2020). Sucintamente, as algas após a coleta, foram levadas ao laboratório, lavadas com água corrente para retirada de epífitas e incrustações. Posteriormente, entre 90 e 85,0 g desse material foram secas a 45 °C, trituradas e delipidadas com acetona. O material obtido foi suspenso em solução salina (0.25 M de NaCl) e a esse foi acrescido maxatase (proteases) com intuito de se realizar proteólise. Após 12 h, a 60 °C, o material foi centrifugado (10000 x g, 4 °C, 15 min) e o sobrenadante foi submetido a precipitação com o acréscimo de 2 volumes de metanol P.A. Após 12 h, o precipitado, que contém os PSs, foi coletado, seco a pressão reduzida e armazenado para posterior análise. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes para se obter a média e o desvio padrão do rendimento da técnica de extração. Esta pesquisa está registrada no SISGEN sob o nº A72AD2B.

2.2 Síntese das NpsAg com os polissacarídeos obtidos

Uma solução de PSs (40 mL, 10 mg/mL) foi misturada com outra solução de nitrato de prata (360 mL, 1 mM), em uma proporção de 1:9. A mistura de soluções foi mantida sob agitação, durante 24 horas, dentro de um Erlenmeyer coberto com papel alumínio (adaptado de Dipankar e Murugan, 2012). Em seguida, a mistura foi centrifugada a 10.000 g durante 30 minutos. O material precipitado foi liofilizado e guardado em microtubos de centrífuga, protegidos da luz, para uso posterior.

2.3 Espectroscopia de UV-vísivel

A redução da prata (I) pelo PSs e formação das nanopartículas foi acompanhada por uma mudança de cor da solução, monitorada por espectroscopia eletrônica na região UV-vísivel. Foram realizadas leituras de 350 a 600 nm nas soluções de nanoxilanas utilizando o espectrofotômetro DR 5000 (Hitach). Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise (n=3).

2.4 Análises por dispersão de luz dinâmica (DLS)

O diâmetro das nanopartículas foi determinado por espectroscopia de correlação de fótons, usando o equipamento DLS da Brookhaven 90 Plus (Brookhaven Instruments Corporation, New York, USA). As NpsAg (0,25 mg/mL), em água, foram analisadas em três experimentos



independentes, e os valores relatados são referentes aos valores médios obtidos, com os desvios padrões (\pm). Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise ($n=3$).

2.5 Análise por microscopia de varredura

NpsAg foi processada e analisada por MEV (microscópio eletrônico de Shimadzu, modelo SSX550; Shimadzu Corp., Kyoto, Japão). Resumidamente, 20 μ L de amostra (0,5 mg / mL) foram colocados em uma grade de cobre revestida com carbono sem revestimento de ouro e secos ao ar por 10 minutos sob vácuo. A câmara de grade foi colocada na sala SEM e incubada no escuro a 10–20 °C por 2 horas. Imagem apresentada é representativa de três experimentos independentes.

2.6 Análise por eletroforese em gel de agarose

As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose. O preparo das lâminas passa pela pesagem do gel de agarose 0,6% (m/v) e diluição no tampão 1,3 diamino propano acetato (PDA) 0,05 M, pH 9,0. Alíquotas de 5 μ L de cada amostra na concentração de 10 μ g/ μ L foram aplicadas em canaletas no gel e submetidos à eletroforese em cuba resfriada a 4 °C. Após a corrida eletroforética (a 100 Volts), os compostos foram precipitados com CETAVLON 0,1% por 2h, à temperatura ambiente. Em seguida, o gel foi seco sob uma corrente de ar quente e corado com azul de toluidina 0,1%, numa solução de ácido acético 1% e etanol 50%. O excesso de corante foi removido utilizando-se uma solução de ácido acético 1% em etanol 49% (solução descorante). A operação foi repetida até completo descoloramento do fundo da lâmina. A seguir, o gel foi seco à temperatura ambiente (Dietrich e Dietrich, 1976).

A revelação das bandas de migração foi feita pela atividade metacromática característica de cada composto. Neste caso, os compostos ricos em sulfato desenvolvem uma coloração roxa característica. Imagem apresentada é representativa de três experimentos independentes.

2.7 Avaliação da atividade antioxidante de polissacarídeos e nanopartículas

2.6.1 Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT) das amostras

O princípio deste ensaio se baseia na redução de Molibdênio (Mo^{+6}) para molibdênio (Mo^{+5}), através da ação da amostra aplicada, e a subsequente formação de um complexo esverdeado de Fosfato/ Mo^{+5} em pH ácido (Prieto et al., 1999). O padrão usado para atividade antioxidante foi o ácido ascórbico (vitamina C). A amostra foi adicionada a uma solução reagente (4 mM de molibdato de amônia + 0,6 M de ácido sulfúrico + 28 mM de fosfato de sódio). A solução foi mantida a 100 °C durante 90 minutos; depois foi resfriada a temperatura ambiente, por 30 minutos. A absorbância de cada solução foi medida a 695 nm contra um “branco” (água destilada + solução reagente). A capacidade antioxidante total foi expressa em equivalentes de ácido ascórbico (miligramas de vitamina C/gramas de amostra). Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise ($n=3$).

2.6.2 Avaliação da amostras como agentes quelante de íons de ferro

A capacidade quelante de ferro das amostras foi investigada utilizando o método descrito por Decker e Welch (1990) e modificado posteriormente por Wang et al. (2008). A amostra foi adicionada em diferentes concentrações (0,1 até 2 mg/mL) a uma mistura de reagentes que continha FeCl_2 (0,05 mL, 2 mM) e ferrozina (0,2 mL, 5 mM). Essa mistura foi agitada e incubada durante 10 minutos, a temperatura ambiente. A absorvância da mistura foi medida a 562 nm contra um branco (água destilada). O EDTA foi utilizado como controle positivo. Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise (n=3).

2.8 Caracterização química de polissacarídeos e nanopartículas

2.5.1 Quantificação do teor de proteínas das amostras

A quantificação de proteínas foi determinada utilizando o reagente de Bradford®, de acordo com o método mencionado por Bradford (1976) e por Melo et al. (2013). Um total de 10 µL da solução de amostra (10 mg/mL) foi aplicada em triplicata, em uma microplaca de 96 poços. Acrescentou-se à amostra 200 µL de reagente de Bradford® em um volume pré-determinado. Após 10 minutos, a temperatura ambiente, a microplaca com amostra e reagente foi lida em espectrofotômetro a 595 nm. Uma curva de albumina, variando de 0 a 50 µg, foi utilizada como padrão. Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise (n=3).

2.5.2 Quantificação do teor de açúcares das amostras

Os açúcares totais foram determinados através da metodologia descrita por Dubois et al. (1956), empregando o uso de fenol/ácido sulfúrico e utilizando D-galactose como padrão. O teor de açúcares existente em cada extração foi calculado com base em valores expressos em leitura por espectrofotometria a 490 nm. Foram feitas três análises independentes, utilizando triplicatas em cada análise (n=3).

2.9 Análises estatísticas

Os dados são apresentados na forma de média \pm desvio padrão. Os dados foram submetidos ao teste estatístico One-way ANOVA, seguido do pós-teste de Student-Newman-Keuls. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas, quando o valor de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção dos PSs de *C. birdiae*

Após processo de secagem, moagem e delipidação, a amostra apresentou uma perda de $3,93 \pm 0,51\%$ referente a sua massa. Em seguida, depois das etapas de proteólise, centrifugação e de secagem a vácuo, obteve-se $1,16 \pm 0,11$ g de um extrato rico em polissacarídeos sulfatados (PSs), corresponde a 1,3% do peso seco da alga delipidada. Esse valor foi 2,5 vezes maior do que o obtido pelo método anterior mencionado para extração de polissacarídeo sulfatado da mesma alga (Maciel et al. 2008). O método de extração aplicado influencia diretamente a eficiência da extração



de polissacarídeos. Nas algas marinhas, os polissacarídeos sulfatados são associados às proteínas na parede celular, e por isso, são mais resistentes a processos de extração. A mistura de enzimas proteolíticas usada no processo de extração promoveu a degradação de proteínas associadas a esses, o que por sua vez, aumentou a solubilização de polissacarídeos (Fidelis et al., 2014). Assim, credita-se o maior rendimento aqui observado a esta etapa adicional de proteólise.

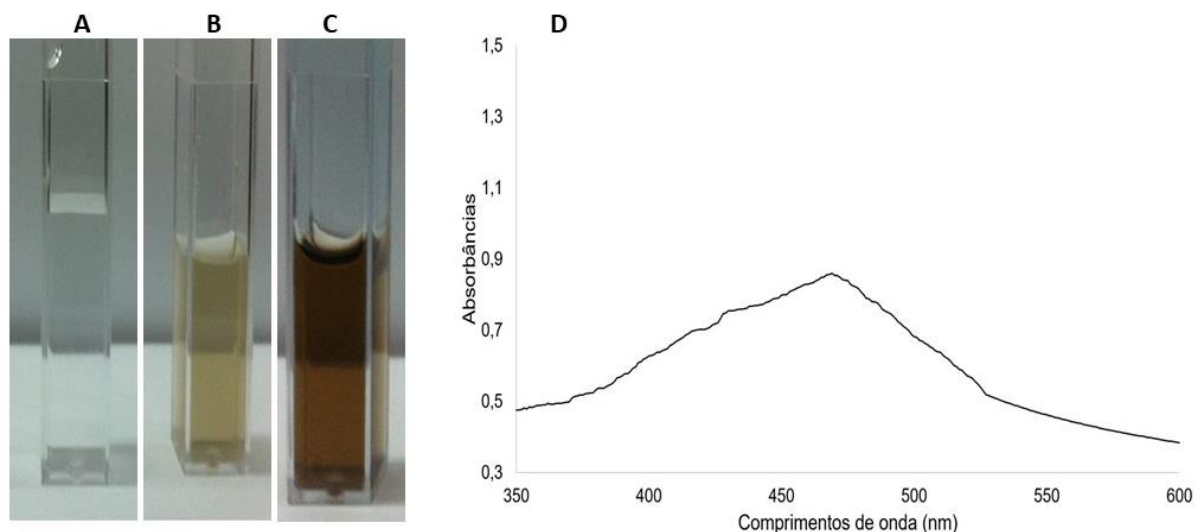
3.2 Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT) de PSs

Os PSs foram avaliados em relação a sua capacidade antioxidante total, com intuito de determinar o seu potencial para a formação de NpsAg. Os resultados mostraram que 1 g de extrato delipidado, proteolisado e seco apresentou em média uma CAT equivalente a $45,83 \pm 0,03$ mg de ácido ascórbico.

É comum as algas vermelhas marinhas apresentarem capacidade antioxidante. Entretanto, são poucos os relatos sobre essas algas cuja CAT foi avaliada, sendo mais comum encontrar tal informação em trabalhos com algas verdes e marrons. No total, foram encontrados dois relatos sobre a CAT de rodofíceas: um sobre a *Crassiphycus caudata* (Costa et al., 2010) e outro sobre a *C. birdiae* (Fidelis et al., 2014) e nos dois casos, os valores descritos se assemelham com os aqui apresentados. Devido à falta de mais artigos publicados que apresentassem dados relacionados ao CAT de polissacarídeos sulfatados, não foi possível fazer uma comparação dos dados aqui mostrados com os de outros autores. Fato que indica a necessária a realização de estudos futuros sobre a atividade antioxidante de algas vermelhas.

3.3 Síntese de nanopartículas de prata (NpsAg) a partir de PSs

Sabe-se que, para produzir nanopartículas de prata, é importante que o composto utilizado na síntese tenha capacidade de doar elétrons e reduzir a prata. Uma forma de avaliar esta capacidade é através do teste de capacidade antioxidante total (CAT). Diante do resultado da CAT, o extrato com PSs foi utilizado para a síntese de NpsAg utilizando o procedimento descrito em métodos. Na figura 1 são mostradas as soluções utilizadas nesse processo e a suspensão de NpsAg. Em A e B



observa-se a solução de nitrato de prata e a solução de PSs, respectivamente. Em C a suspensão NpsAg, que tem coloração mais escura que as outras duas outras soluções devido a redução da prata promovida pelo PSs.

Figura 1. Foto das soluções e suspensão envolvidas na síntese de NpsAg. A – Solução de nitrato de prata a 1 mM; B – Solução de PSs a 10 mg/mL. C – Suspensão de NpsAg; D- Espectros de UV- visível obtido durante a varredura da suspensão de NpsAg. A análise foi realizada a partir de uma varredura de 350 a 600 nm. Estas imagens são representativas de três experimentos independentes.

A partir de 400 mg de amostra em solução foram obtidos 17 mg de NpsAg liofilizadas, correspondendo a um rendimento de 4,25%. Este valor ficou bem a quem daqueles obtidos com outro extratos ricos em polissacarídeos sulfatados de algas. Por exemplo, com extratos alga *Dyctiota mertensii*, Fernandes-Negreiros e colaboradores (2017) obtiveram um rendimento de aproximadamente 50%. De acordo com Rodríguez-León e colaboradores (2013), a quantidade de nanopartículas de prata obtidas pode ser explicada pelo poder redutor de cada extrato. Quanto maior o poder redutor do extrato, maior a quantidade de nanopartículas obtidas. Portanto, o rendimento das nanopartículas aqui mencionadas variou entre as algas devido às propriedades do agente redutor (no caso, o polissacarídeo sulfatado da alga marinha) presente nos extratos. Como *C. birdiae* tem um CAT menor do que *D. mertensii* (Costa et al., 2010), isso justificaria esse menor rendimento.

Todavia, vale salientar que as os extratos estudados até o momento com intuito de produzir nanopartículas de prata, são extratos obtidos de algas não cultiváveis, enquanto a *C. birdiae* é cultivável, o que compensaria o menor rendimento durante o processo de síntese das nanopartículas. Uma vez que algas não cultiváveis tem obstáculos a serem superados para que se tornem viáveis o seu uso comercial.

A espectroscopia UV-Vis tem sido utilizada como uma ferramenta importante tanto para confirmar a obtenção de nanopartículas (Dipankar & Murugan, 2012). Portanto, após a síntese da nanopartícula, a solução obtida foi avaliada por esta técnica. Na figura 1D mostra-se o perfil de absorção de luz pela suspensão de NpsAg que foi obtido a partir de uma varredura de 350 a 600 nanômetros (nm).

No espectro representativo da absorção de luz obtido a partir da suspensão de NpsAg observa-se que na região próxima a 350 nm, os valores de absorbância estão em torno 0,5, contudo esses valores começam a aumentar na região de 400 nm e chegam ao máximo de absorção na região de 469 nm. Esse tipo de comportamento também foi observado por outros autores que sintetizaram nanopartículas de prata (Pandey et al., 2012). E de acordo com Gurunathan e colaboradores (2013) isso ocorre devido a ressonância da superfície de plasmon, que se forma devido a presença da prata reduzida e causa desvio da luz. Vale salientar que nessa mesma faixa de comprimento não foi detectado nenhum sinal de absorção de luz quando se avaliou a solução de nitrato de prata, bem como, a solução de PSs (Dado não mostrado).

As nanopartículas obtidas com o extrato de *C. birdiae*, após filtração, tiveram seu diâmetro analisado por DLS, como já foi descrito em Métodos, e o resultado obtido foi de $117,64 \pm 4,31$ nm, o que pode ser considerado elevado em comparação com aqueles obtidos nanopartículas que contêm extratos de outras algas. Por exemplo, nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato rico em polissacarídeos de *Sargassum muticum* apresentaram tamanhos de 5 a 15 nm (Azizi et al., 2013); as de *Ulva lactuca*, um tamanho de 48,6 nm (Kumar. et al., 2013a); as de *Sargassum cinereum*, tamanhos de 45 a 76 nm (Mohandass et al., 2013). Estes diferentes tamanhos não parecem estar relacionados com o gênero das algas, pois as Nps sintetizadas com as algas do gênero *Sargassum* apresentaram tamanhos diferentes. É provável que as moléculas presentes nos extratos das algas tenham uma grande importância para delinear o tamanho das Nanopartículas. Espera-se no futuro determinar possíveis fatores que venham a influenciar estes tamanhos.

Coradeghini e colaboradores (2013) relatam que nanopartículas muito pequenas podem apresentar grande citotoxicidade comparadas a nanopartículas maiores. Por outro lado, nanopartículas grandes não são facilmente absorvidas pelos tecidos, dificultando a ação em seu respectivo alvo (Elsabahy & Wooley, 2012). Assim, de acordo com estes autores, as nanopartículas com tamanhos 20-200 nm são particularmente indicadas para possíveis aplicações *in vivo*, sendo que para alguns casos, como aplicação de fármacos para o fígado, podem-se utilizar também nanopartículas com tamanhos de até 500 nm. Como as NpsA encontram-se próximas a esta faixa de tamanho, espera-se que também sejam adequadas para aplicações *in vivo*.

3.4 Morfologia das nanopartículas

A morfologia das nanopartículas foi avaliada por MEV. Na figura 2 tem-se uma imagem representativa das análises realizadas. As NpsAg são predominantemente esféricas, agregadas e com o tamanho médio de $50,3 \pm 10,0$ nm. Essa diferença de tamanho das nanopartículas determinadas por MEV e por DLS se justificam porque para as análises de MEV, as amostras foram desidratadas, e ao perderem água, o diâmetro das partículas diminuiu. Por outro lado, nas análises de DLS, a desidratação não ocorre.

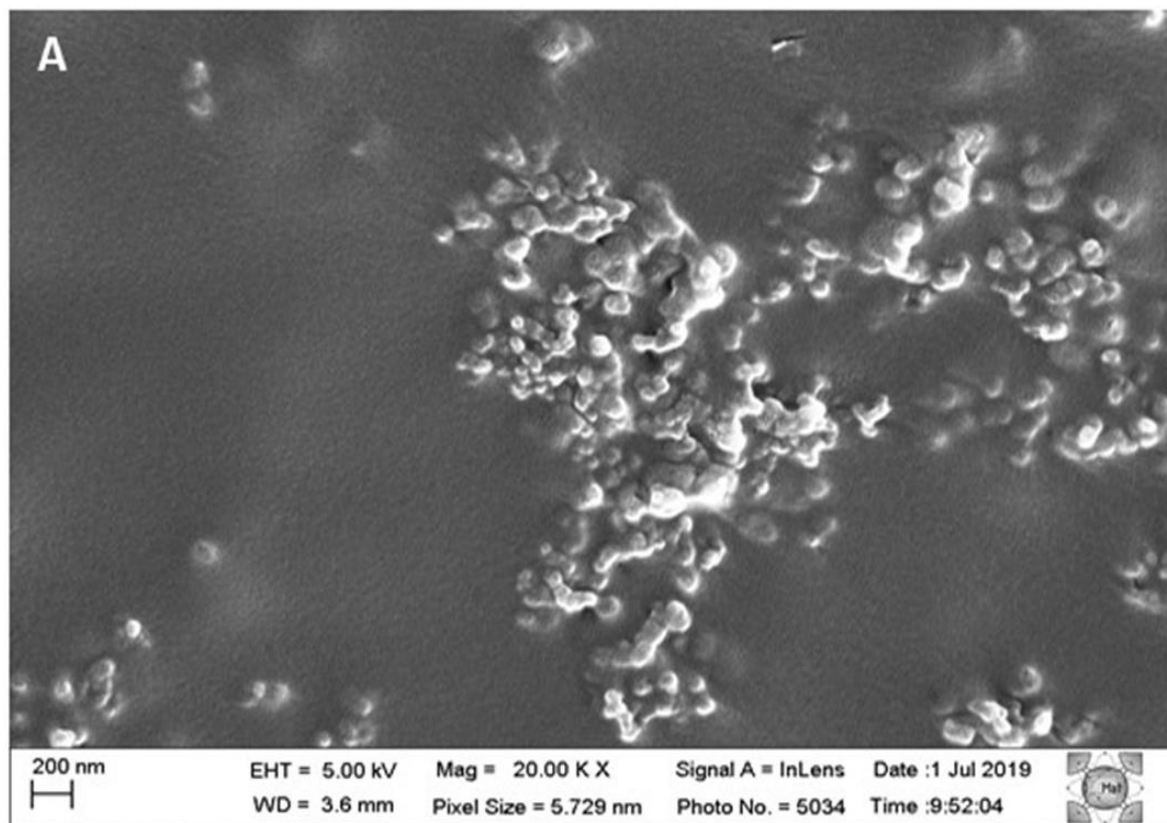


Figura 2. Imagem de MEV das nanopartículas. As nanopartículas foram obtidas como descrito em métodos e depois submetidas a análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As NpsAg se apresentam agregadas e com formato arredondado. Esta é uma imagem representativa de três experimentos feitos de forma independente.

Esta geometria arredondada das NpsAg já foi descrita para diversas nanopartículas de prata (Okafor, et al., 2013; Gurunathan, et al., 2013). Porém, nanopartículas podem ser amorfas ou assumirem diferentes formas geométricas. Entretanto, no caso das nanopartículas de polissacarídeos obtidos de diversas fontes (Pandey et al., 2012; Akmaz *et al.*, 2013), inclusive nanopartículas feitas com polissacarídeos sulfatados de algas (El-Rafie, El-Rafie & Zahran, 2013, Amorim et al., 2016, Fernandes-Negreiros et al., 2017), a única forma geométrica identificada até o momento foi a forma arredondada. E isso leva a proposta de que nanopartículas de prata contendo polissacarídeos assumem exclusivamente a forma arredondada.

O fato das nanopartículas com polissacarídeos assumirem sempre a forma arredondada é um ponto positivo, pois nanopartículas arredondadas são menos citotóxicas comparadas outras formas, como por exemplo, triangulares (Pal, Tak & Song, 2007). Assim, espera-se que as NpsAg deste estudo também sejam pouco tóxicas às células.

3.5 Dosagem de açúcares totais presentes em PSs e em NpsAg

A suspensão com NpsAg e a solução com PSs foram submetidas a dosagens de açúcares para confirmar a presença de polissacarídeos. Identificou-se que a suspensão com NpsAg é constituída

por 55,7% de polissacarídeos. Na solução com PSs, verificou-se um teor de 46,9% de açúcares totais (Figura 3). Estes valores foram significativamente diferentes ($p < 0,001$).

Negreiros (2015) produziu nanopartículas de prata com extratos de 4 algas diferentes, a saber: *Dictyota mertensii*, *Spatoglossum schröderi*, *Sargassum filipendula* e *Dictyopteris justii*. Aquelas sintetizadas com os dois primeiros extratos apresentaram o mesmo teor de açúcares que esses. Por outro lado, as nanopartículas sintetizadas com extratos de *S. filipendula* e *D. justii* apresentaram um teor de açúcares superior em 13 e 27%, respectivamente, em comparação com seus extratos. A justificativa dos autores para esse aumento de açúcares na nanopartículas é que cada alga sintetiza açúcares diferentes, por isso eles apresentam propriedades diferentes. E que, portanto, os açúcares de *S. filipendula* e *D. justii* devem ter uma afinidade maior pela prata do que os das outras duas algas, o que provavelmente favoreceu uma maior agregação desses, em detrimento de outros componentes dos extratos. Acredita-se que o mesmo ocorreu aqui nesse trabalho, o que justificaria se observar uma maior quantidade de açúcar em NpsAg do que em na solução de PSS.

3.6 Dosagem de proteínas totais presentes em PSs e em NpsAg

O teor proteico das amostras também foi determinado. Observou-se que tanto na solução com PSs quanto na suspensão com NpsAg não se identificou a presença de proteínas nas condições testadas. Ou seja, as amostras estavam livres da contaminação por proteínas.

As proteínas são contaminantes difíceis de retirar de extratos ricos em polissacarídeos algáceos. Fidelis e colaboradores (2014), utilizando extração aquosa com auxílio de ultrassom, obtiveram um extrato rico em PSs de *C. birdiae* com 3% de contaminantes proteicos, um resultado acima do aqui observado. Essa diferença pode ser justificada pelo fato de aqui ter se usado proteólise como etapa de obtenção dos PSs. A proteólise promove a destruição das proteínas da amostra.

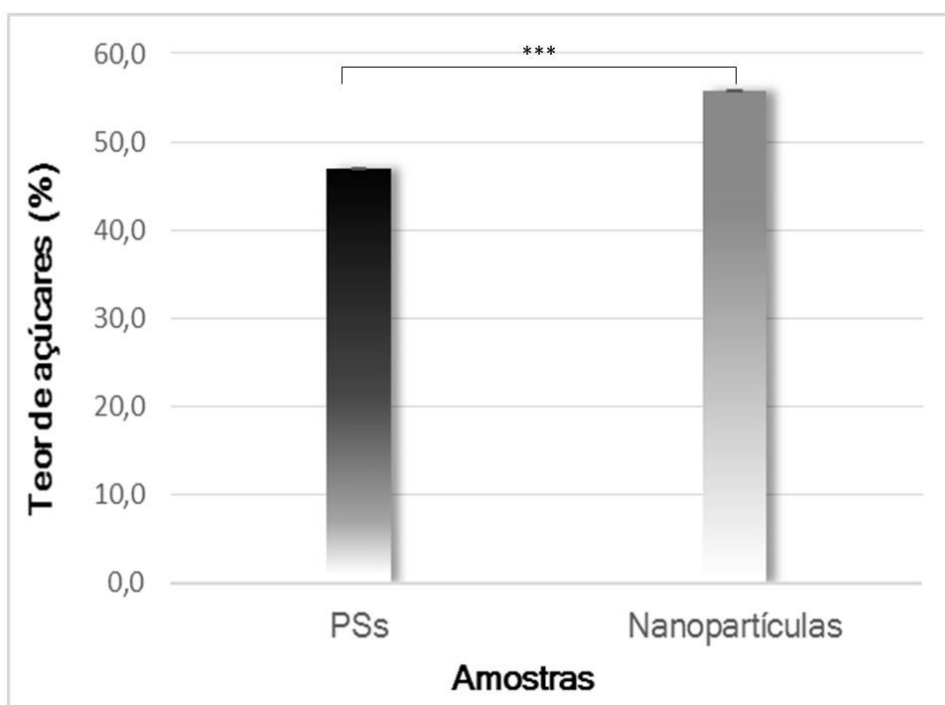


Figura 3. Quantidade de polissacarídeos presentes nas amostras. O valores representam a média de três experimentos independentes \pm desvio-padrão. *** indica diferença significativa entre os valores observados ($p < 0,001$).

3.7 Eletroforese em gel da agarose

As amostras foram submetidas a análise por eletroforese em gel de agarose. Na figura 3 tem-se uma imagem representativa de três análises feitas independentemente. Pode-se observar a presença de uma banda em PSs. Esta coloração azul arroxeado é indicativo da presença de grupos sulfato no polissacarídeo, já quando a amostra assume tons de rosa ou tons azul anil, há a indicação de grupos carboxila ou a presença de proteínas na amostra, respectivamente (Dietrich e Dietrich, 1976). Além disso, a presença de uma única banda é indicativa da existência de apenas uma população de um polissacarídeo sulfatado nessa amostra. O mesmo ocorre com a NpsAg.

Observa-se ainda, que as duas amostras apresentaram a mesma mobilidade eletroforética. Quando uma fucana da alga *S. schröderi* e sua correspondente NpsAg foram submetidas a eletroforese se observou esse mesmo padrão (Amorim et al., 2016). Esses dados indicam que os polissacarídeos sulfatados presentes em NpsAg são os mesmos que se encontram em PSs.

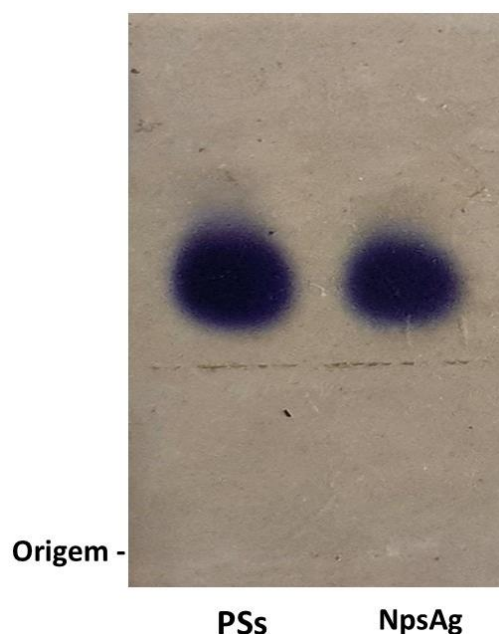


Figura 4. Eletroforese em gel agarose das amostras. 100 μ g de cada amostra foram aplicadas no gel de agarose 0,6% em tampão PDA (1,3-diaminopropano), pH 9,0 e submetidas a eletroforese à 100 V/cm por 1 hora. Após esse período, o gel foi mantido em CTV (Cetiltrimetilamônio), desidratado e os polissacarídeos corados com azul de toluidina 0,1%.

3.8 Avaliação da capacidade quelante de íons de ferro das amostras

Na figura 5 mostra-se os dados das análises de quelação férrica com as amostras. A solução com PSs e a suspensão com NpsAg apresentaram atividade quelante de ferro. Nos dois casos, pode-se verificar que as amostras tiveram um aumento expressivo de suas atividades quando se

compara as concentrações de 0,1 e 0,5 mg/mL. Este aumento de atividade não foi observado nas demais concentrações, o que indica uma estabilização da atividade quelante das amostras. Percebe-se que, com exceção da concentração 0,1 mg/mL, a atividade da suspensão com nanopartículas, nas demais concentrações, foi maior do que a da solução com extrato rico em PSs. A atividade máxima (75%) foi obtida na concentração de 1,5 mg/mL da suspensão com Nps.

Quando o extrato de *C. birdiae* foi transformado em nanopartículas, isso aumentou a sua atividade quelante de ferro. Nas concentrações de 0,5 e de 1 mg/mL, a atividade quelante, em geral, subiu de $\approx 60\%$ (no caso do PSs) para $\approx 70\%$ (no caso das nanopartículas), um aumento de 10%. Este aumento poderia ser explicado devido ao maior teor de PS na suspensão com nanopartículas.

Contudo, este aumento no teor de polissacarídeos foi de 8,0%. Quem seria o responsável pelo restante da atividade quelante? Uma explicação plausível seria a mudança da conformação dos polissacarídeos quando estes se ligam a prata. Esta mudança os deixaria mais ativos como agentes quelantes de ferro. Estudos futuros confirmarão esta hipótese.

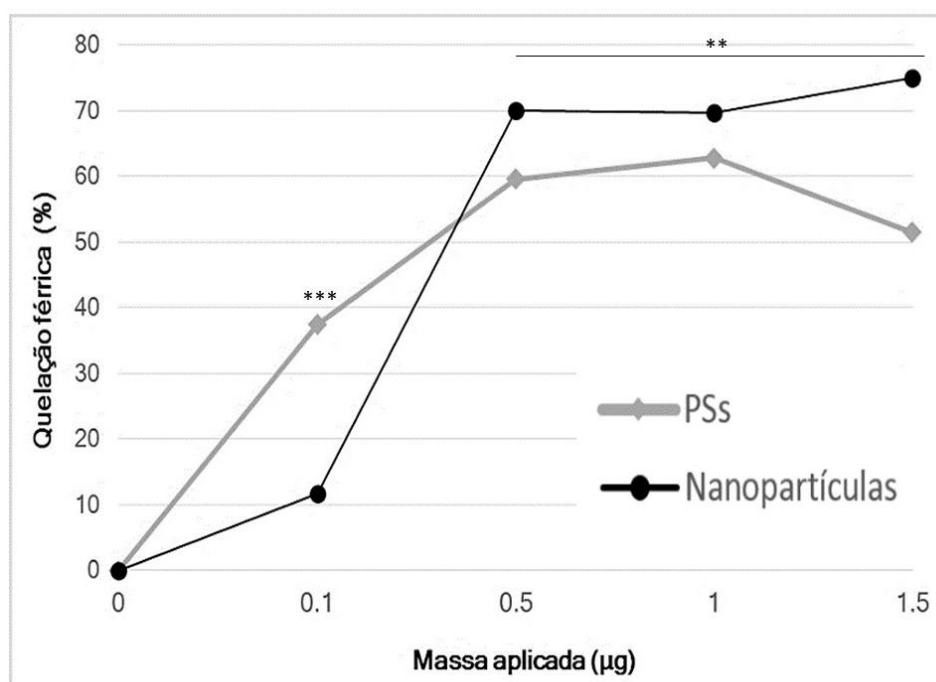


Figura 5. Atividade quelante de ferro das amostras. Os valores representam a média de três experimentos independentes \pm desvio-padrão. *** ($p < 0,001$) e ** ($p < 0,01$) indicam diferença significativa entre os efeitos das amostras quando comparadas com a mesma massa.

O ferro é um mineral importante para o ser humano e é encontrado complexado a proteínas como a hemoglobina (envolvida no transporte de oxigênio), mioglobina nos músculos e enzimas heme (Kremastinos & Farmakis, 2011). Porém, em grandes quantidades ele pode ser tóxico. Para evitar isso, a concentração de ferro é fortemente controlada em pessoas saudáveis, mas é relativamente descontrolada em pessoas com hemocromatose hereditária (De Domenico, Ward,

& Kaplan, 2007), por exemplo. Não há via excretora para este metal, e seu acúmulo acima dos níveis seguros pode levar à formação de espécies reativas, principalmente do oxigênio, que são as principais responsáveis pela peroxidação lipídica, e danos a outras estruturas celulares (Ayala et al., 2014). Além disso, os níveis excessivos de ferro podem causar diabetes (Hansen et al., 2014), câncer de fígado e osteoporose, dentre outras doenças (Dixon & Stockwell, 2014). Até o momento, não há cura para pacientes com sobrecarga de ferro. Assim, os níveis de ferro são controlados por flebotomia ou administração de quelantes de ferro (Hansen et al., 2014). Portanto, a descoberta e o estudo de agente quelantes de ferro como as NpsAg é algo estimulado. Espera-se que estudos posteriores possam elucidar o mecanismo de ação dessas nanopartículas e estimular o desenvolvimento de novos produtos que possam ser utilizados em pacientes com acúmulo de ferro no organismo.

4 CONCLUSÃO

Utilizando uma metodologia já estabelecida foi possível obter polissacarídeos sulfatados antioxidantes da alga *G. birdiae*. Foi possível sintetizar nanopartículas de prata com esses polissacarídeos. Além disso, estas nanopartículas apresentaram maior atividade quelante de ferro o que os PSs originais. O que indica que os PSs na forma de NpsAg podem ter suas atividade potencializadas.

5 AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (processo nº 408369/2016-7) pelo financiamento dessa pesquisa. Rony L S Viana agradece por sua bolsa de doutorado da CAPES. Hugo A O Rocha agradece por sua bolsa de pesquisador do CNPq.

6 REFERÊNCIAS

- Ahamed, M., Alsalhi, M. S., Siddiqui, M. K. J. (2010) Silver nanoparticles applications and human health. *Clinica Chimica Acta*, 411, 1841-1848. Doi.org/10.1016/j.cca.2010.08.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M., Kumar, R., Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 20, 313–318. Doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00174-1.
- Akmaz, S., Akmaz, S., Dilaver, E., Ad, J., Yasar, M., Erguven, O. (2013). The effect of Ag content of the chitosan-Silver nanoparticle composite material on the structure and antibacterial Activity. *Advances in Materials Science and Engineering*, 12–18. doi.org/10.1155/2013/690918.
- Amorim, M. O. R., Gomes, D. L., Dantas, L. A., Chiquetti, S. C., Viana, R. L. S., Lima, J. A., Costa, L. S., Rocha, H. A. O. (2016). Fucan-coated silver nanoparticles synthesized by a green method



induce human renal adenocarcinoma cell death. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 57-65. Doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.043.

Apak, R. (2019). Current issues in antioxidant measurement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 9187-9202. Doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03657.

Asmathunisha, N., Kathiresan, K. A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms. (2013). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 283-287. Doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.10.030.

Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31. Doi.org/10.1155/2014/360438.

Azizi, S., Namvar, F., Mahdavi, M., Ahmad, M. B., Mohamad, R. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles using brown marine macroalga, *Sargassum muticum* aqueous extract. *Materials*, 6, 5942-5950. Doi.org/10.3390/ma6125942.

Barros, J. A. C., Nascimento, D. L. A., Silveira, A. C. R., Silva, R. K., Gomes, D. L., Melo, K. R. T., Almeida-Lima, J., Camara, R. B. G., Silva, N. B., Rocha, H. A. O. (2018). Evaluation of the antioxidant activity and protective action of the seaweed *Gracilaria birdiae*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-12. Doi.org/10.1155/2018/9354296.

Brito, T. V., Neto, J. P., Prudêncio, R. S., Batista, J. A., Júnior, J. S., Silva, R. O., Franco, A. X., Aragão, K. S., Soares, P. M., Souza, M. H., et al. (2014). Sulfated-polysaccharide fraction extracted from red algae *Gracilaria birdiae* ameliorates trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66, 1161–1170. Doi.org/10.1111/jphp.12231.

Coradeghini, R., Gioria, S., García, C. P., Nativo, P., Franchini, F., Gilliland, D., Ponti, J., Rossi, F. (2013). Size-dependent toxicity and cell interaction mechanisms of gold nanoparticles on mouse fibroblasts. *Toxicology Letters*, 217, 205–216, 2013. Doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.11.022

Dietrich, C. P., Dietrich, S. M. (1976). Electrophoretic behaviour of acidic mucopolysaccharides in diamine buffers. *Analytical Biochemistry*, 70, 645-647. Doi.org/10.1016/0003-2697(76)90496-6.

Dipankar, C., Murugan, S. (2012). The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from *Iresine herbstii* leaf aqueous extracts. *Colloids and surfaces. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 98 (1), 112–121. doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.04.006.

Dixon, S. J., & Stockwell, B. R. (2014). The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nature Chemical Biology*, 10, 9-17. Doi.org/10.1038/nchembio.1416.



- El-rafie, H. M., El-rafie, M. H., Zahran, M. K. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydrate polymers*, 96(2), 403–410. doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.071.
- Elsabahy, M. & Wooley, K. L. (2012) Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2545-2561. Doi.org/ 10.1039/c2cs15327k.
- Fernandes- Negreiros, M. M. F., Machado, R. I. A., Bezerra, F. L., Melo, M. C. N., Alves, M. G. C. F., Filgueira, L. G. A., Morgano, M. A., Trindade, E. S., Costa, L. S., Rocha, H. A. O. (2017). Antibacterial, antiproliferative, and immunomodulatory activity of silver nanoparticles synthesized with fucans from the alga *Dictyota mertensii*. *Nanomaterials*, 8, 6. Doi.org/10.3390/nano8010006.
- Guiry M.D. in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2021). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>. Acessado em 30 de março de 2021.
- Gupta, S. C., Hevia, D., Patchva, S., Park, B., Koh, W., Aggarwal, B. B. (2012). Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16, 1295-1322. Doi.org/ 10.1089/ars.2011.4414.
- Gurunathan, S., Raman, J., Malek, S. N. A., John, P. A., Vikineswary, S. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ganoderma neo-japonicum* Imazeki: A potential cytotoxic agent against breast cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 4399–4413. Doi.org/ 10.2147/IJN.S51881.
- Hansen, J. B., Moen, I. W., & Mandrup-Poulsen, T. (2014). Iron: the hard player in diabetes pathophysiology. *Acta Physiologica*, 210, 717-732. Doi.org/10.1111/apha.12256.
- Hussain, S., Pal, A. K. (2008). Incorporation of nanocrystalline silver on carbon nanotubes by electrodeposition technique. *Materials Letters*, 62, 1874–1877. Doi.org/10.1016/j.matlet.2007.10.021.
- Kremastinos, D. T., & Farmakis, D. (2011). Iron overload cardiomyopathy in clinical practice. *Contemporary Reviews in Cardiovascular Medicine*, 124, 2253-2263. Doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.050773.
- Li, L., Ng, T. B., Song, M., Yuan, F., Liu, Z. K., Wang, C. L., Jiang, Y., Fu, M., Liu, F. (2007). A polysaccharide-peptide complex from abalone mushroom (*Pleurotus abalonus*) fruiting bodies increases activities and gene expression of antioxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in senescence-accelerated mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75, 863-869. Doi.org/10.1007/s00253-007-0865-4.
- Maciel, J. S., Chaves, L. S., Souza, B. W. S., Teixeira, D. I. A., Freitas, A. L. P., Feitosa, J. P., Paul, R. C. M. (2008). Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated



polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Carbohydrate Polymers*, 71, 559–565. Doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.06.026.

Marinho-Soriano, E., Moreira, W. S. C., Carneiro, M. A. A. (2006). Some aspects of the growth of *G. Birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) in an estuary in Northeast Brazil. *Aquaculture Internacional*, 14, 327-336. Doi.org/10.1007/s10499-005-9032-z.

Mohanraj, V. J., Chen, Y. (2006). Nanoparticles - a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 561-573. Doi.org/10.4314/tjpr.v5i1.14634.

Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10) 2346–2353. Doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059.

Negreiros, M. M. F. (2015). Nanopartículas de prata contendo polissacarídeos sulfatados de algas: caracterização química, morfológica e identificação de suas atividades antioxidante, bactericida, antiploriferativa e imunomodulatória. Dissertação de mestrado. Programa Pós-graduação em Bioquímica, UFRN, Natal-RN.

Okafor, F., Janen, A., Kukhtareva, T., Edwards, V., Curley, M. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(10), 5221–5238. Doi.org/10.3390/ijerph10105221.

Oliveira, L. C. B. P., Queiroz, M. F., Fidelis, G. P., Melo, K. R. T., Camara, R. B. G., Alves, M. G. C. F., Teixeira, D. I. A., Silveira, R. F. M., Rocha, H. A. O. (2020). Antioxidant sulfated polysaccharide from edible red seaweed *Gracilaria birdiae* is an inhibitor of calcium oxalate crystal formation. *Molecules*, 25, 2055. Doi.org/10.3390/molecules25092055.

Pal, S., Tak, Y. K., Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712–1720. Doi.org/10.1128/AEM.02218-06.

Pandey, S., Goswami, G. K., Nanda, K. K. (2012). Green synthesis of biopolymer-silver nanoparticle nanocomposite: an optical sensor for ammonia detection. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4), 583-589. Doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.033.

Park, Y., Hong, Y. N., Weyers, A., Kim, Y. S., Linhardt, R. J. (2011). Polysaccharides and phytochemicals: a natural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. *IET Nanobiotechnology*, 5, 69-78. Doi.org/10.1049/iet-nbt.2010.0033.

Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., & Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 318. Doi.org/10.1186/1556-276X-8-318.



- Santos, C. A., Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., Gade, A., Rai, M. (2014). Silver nanoparticles: therapeutical uses, toxicity, and safety issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103, 1931-1944. Doi.org/10.1002/jps.24001.
- Shashoua, V. E., Adams, D. S., Volodina, N. V., Li, H. (2004). New synthetic peptides can enhance gene expression of key antioxidant defense enzymes *in vitro* and *in vivo*. *Brain Research*, 1024, 34-43. Doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.086.
- Silva, R. O.; Santana, A. P., Carvalho, N. S., Bezerra, T. S., Oliveira, C. B., Damasceno, S. R., Chaves, L. S., Freitas, A. L., Soares, P. M., Souza, M. H., et al. (2012). A sulfated-polysaccharide fraction from seaweed *Gracilaria birdiae* prevents naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. *Marine Drugs*, 10, 2618–2633. Doi.org/0.3390/md10122618.
- Vanderlei, E. S. O., Araújo, I. W. F., Quinderé, A. L. G., Fontes, B. P., Eloy, Y. R. G., Rodrigues, J. A. G., Chaves, H. V., Jorge, R. J., de Menezes, D. B., Evangelista, J. S., et al. (2011). The involvement of the HO-1 pathway in the anti-inflammatory action of a sulfated polysaccharide isolated from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Inflammation Research*, 60, 1121–1130. Doi.org/10.1007/s00011-011-0376-8.
- Vasconcelos, A. G., Araújo, K. V. (2015). Polissacarídeos extraídos de algas marinhas e suas aplicações biotecnológicas: uma revisão. *Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde*, 5, 27–51. Doi.org/10.18816/r-bits.v5i3.5898.
- Wei, L., Lu, J.; Xu, H., Patel, A., Chen, Z., Chen, G. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*, 20, 595-601. Doi.org/10.1016/j.drudis.2014.11.014.
- Zhang, H. Y., Yang, D. P., Tang, G. Y. (2006). Multipotent antioxidants: from screening to design. *Drug Discovery Today*, 11, 749–754. Doi.org/10.1016/j.drudis.2006.06.007.

COMO CITAR ESTE ARTIGO:

Medeiros, C. G. de, Viana, R. L. S., Teixeira, D. I. A., Rocha, H. A. O. (2021) síntese verde de nanopartículas antioxidantes feitas com prata e polissacarídeos sulfatados da alga *Gracilaria birdiae*. *Holos*. 37(5), 1-19.

SOBRE OS AUTORES

C. G. DE MEDEIROS

Bacharel em Biologia (UFRN). E-mail: cauebr@hotmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7119-1639>

R. L. S. VIANA

Bacharel em Biologia (UFRN), mestre em Bioquímica (UFRN) e doutorando em Bioquímica e Biologia Molecular (UFRN). E-mail: rony_lucas@hotmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-5015-9595>

D. I. A. TEIXEIRA



Engenheiro de Pesca pela Universidade Federal do Ceará (UFC), Mestre em Bioquímica pela UFC, desenvolveu atividades de pesquisa na University of Portsmouth, Inglaterra, Pós Graduação em estudos de Macroalgas na Universidad de Magallanes, Chile, Doutor em Bioquímica pela Universidade Federal do Ceará. E-mail: darlioteixeira@gmail.com
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-6504-1802>

H. A. O. ROCHA

Formado em Farmácia pela UFRN, mestre em Biologia Molecular e doutor em Ciências, os dois títulos obtidos na UNIFESP. Atua na área de produtos naturais, principalmente na área de extração, purificação, caracterização estrutural e aplicações farmacológicas de polissacarídeos. E-mail: hugo@cb.ufrn.br
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-2252-1221>

Editor(a) Responsável: Francinaide de Lima Silva Nascimento

Pareceristas Ad Hoc: RANIERE SILVEIRA E ANDERSON JÁCOME DE FRANÇA

