



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THAYLLAN TEIXEIRA BEZERRA

NANOCOMPÓSITOS DE AgNPs FUNCIONALIZADAS COM OS CONSTITUINTES
DO LCC E GALACTOMANANA COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTILEISHMANIA

FORTALEZA

2019

THAYLLAN TEIXEIRA BEZERRA

NANOCOMPÓSITOS DE AgNPs FUNCIONALIZADAS COM OS CONSTITUINTES DO
LCC E GALACTOMANANA COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEISHMANIA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química

Orientadora: Profa. Dra. Selma Elaine Mazzetto

Coorientador: Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B469n Bezerra, Thayllan Teixeira.

Nanocompósitos de AgNPs funcionalizadas com os constituintes do LCC e galactomanana com potencial atividade antileishmania / Thayllan Teixeira Bezerra. – 2019.
76 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Selma Elaine Mazzetto.

Coorientação: Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira.

1. Nanopartículas de prata. 2. Líquido da Casca da Castanha de Caju. 3. Galactomanana. 4. Leishmaniose. I. Título.

CDD 540

THAYLLAN TEIXEIRA BEZERRA

NANOCOMPÓSITOS DE AgNPs FUNCIONALIZADAS COM OS CONSTITUINTES DO
LCC E GALACTOMANANA COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEISHMANIA

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Ceará, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química. Área de Concentração: Química

Aprovada em: 04/02/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Selma Elaine Mazzetto (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Claudenilson da Silva Clemente
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Viviane Gomes Pereira Ribeiro
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof. Dr. Pierre Basílio de Almeida Fachine
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais e familiares.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À minha família, por se unir e me apoiar emocionalmente e financeiramente quando precisei me mudar para outro estado e, começar uma nova página na minha vida. Obrigado por fazer o possível e o impossível para que eu consiga alcançar meus sonhos. Eu não teria ido tão longe se sua ajuda.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À professora Dra. Selma Elaine Mazzetto, por ter me acolhido em seu laboratório mesmo sem me conhecer. Sou grato por sua atenção, disposição em ajudar e, por todas as oportunidades que a senhora me proporcionou. Espero poder retribuir por tudo que tem feito por mim.

À Rita de Cássia, minha amiga desde o início do mestrado, por todos os bons momentos, por sua companhia, pela ajuda nos estudos, por sua companhia nos finais de semana que trabalhamos juntos, por ser alguém que eu possa dividir minhas loucuras e angústias sem ser julgado. Que nossa sincronia se mantenha!

À professora Dra. Viviane Gomes por ser um exemplo de como nosso esforço e empenho no trabalho são sempre recompensados, por sua disposição em me ajudar e aconselhar, por abrir as portas da sua casa para nossas confraternizações, por sua família acolhedora que sempre me recebeu da melhor forma possível. Foi uma grande honra ser seu *personal assitent* e professor de inglês, mesmo que por um breve período.

À Mestre Mayara Oliveira por ser minha companhia de todos os dias no laboratório e no restaurante, por ser uma amiga atenciosa, pelos bons momentos, pelas risadas, por dividir as mesmas angústias e ranços, por sua ajuda enquanto estudávamos para o concurso, por sempre estar disponível a me ajudar. Você é uma pessoa maravilhosa e de coração puro, eu desejo tudo de bom a você.

À Mestre Nayane Maria por ser uma guerreira, um exemplo de perseverança. Você é mãe, esposa, professora, aluna de doutorado e uma grande amiga, sempre disposta a ajudar. Não há tempo ruim para você e, seu esforço será recompensado. A sua história me ensinou a nunca desistir, mesmo quando tudo vai contra nossos objetivos.

Aos demais colegas da UFC por sua ajuda e colaboração, em especial aos colegas do LABPOL, LAFIPLAM II, e LBPN por abrir a porta de seus laboratórios para que eu pudesse realizar as análises e procedimentos necessários para meu projeto.

À professora Dra. Maria Jânia (Departamento de Patologia e Medicina Legal - UFC) e seus alunos, por sua receptividade e disposição ao abrir seu laboratório para que os testes citotóxicos e antileishmania pudessem ser realizados, por sua ajuda no entendimento da doença e, pelos bons momentos de descontração.

Ao Danilo, meu primeiro IC, por sua amizade, companheirismo e, ajuda durante o desenvolvimento do meu projeto.

Aos meus amigos por todo apoio e companheirismo.

“O mundo não se divide em pessoas boas e más. Todos temos Luz e Trevas dentro de nós. O que importa é o lado o qual decidimos agir. Isso é o que realmente somos.” (Sirius Black, J.K. Rowling, Harry Potter e a Ordem da Fênix, 2003).

RESUMO

A Leishmaniose é uma das Doenças Tropicais Negligenciadas, transmitida por flebótomos fêmeas contaminadas com protozoários do gênero *Leishmania*. O tratamento da doença consiste na administração de antimoniais pentavalentes, drogas de elevada toxicidade para o protozoário e para o corpo humano. Tendo em vista a carência de novos estudos e medicamentos menos tóxicos e mais eficientes, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um novo nanocompósito com potencial aplicação nesta área, a partir de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas no interior de agregados micelares formados pelos constituintes do Líquido da Casca de Castanha de Caju (LCC): Ácido Anacárdico, Cardanol, Cardol e, os respectivos sais de sódio derivados destes. Calculou-se a concentração micelar crítica destes compostos na presença e ausência das AgNPs, determinando, as melhores condições de síntese. O uso da irradiação por micro-ondas aumentou o rendimento das reações em comparação ao método convencional. As análises de condutividade, UV-Vis, Fluorescência, Potencial Zeta e EDL, demonstraram que os sais dos constituintes do LCC estabilizaram melhor as AgNPs e, promoveram maior rendimento das mesmas. Em seguida, as nanopartículas foram imobilizadas em galactomana de sementes de *Adenanthera pavonina* L. e analisados por Espectroscopia de Reflectância Difusa para observar as bandas RPSL, comprovando a presença de nanopartículas no sólido. Não foram observadas mudanças nas propriedades ópticas das AgNPs, indicando que o processo de imobilização não alterou a forma e o tamanho das NPs. A galactomana, além de impedir a agregação e aglomeração das NPs, aumenta a biocompatibilidade dos nanomateriais, uma vez que os macrófagos possuem um receptor de manose, permitindo a entrega oral ou tópica, sem danificar a célula. Isto permite que os constituintes do LCC e as AgNPs sejam entregues dentro da célula e possam atacar o protozoário por ataque às enzimas glicolíticas e bloqueio dos mecanismos de resposta oxidativa, respectivamente.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Líquido da Casca da Castanha de Caju. Galactomanana. Leishmaniose.

ABSTRACT

Leishmaniasis is one of the Neglected Tropical Diseases, transmitted by female sandflies contaminated with protozoa of the genus *Leishmania*. The treatment of the disease consists of the administration of pentavalent antimonials, drugs of high toxicity to the protozoan and to the human body. In view of the need for new studies to produce less toxic and more efficient drugs, this work aimed at the development of a new nanocomposite with potential application in this area, with silver nanoparticles (AgNPs) synthesized within micellar aggregates formed by the constituents of the Cashew Nut Shell Liquid (CNSL): Anacardic Acid, Cardanol, Cardol, and the respective sodium salts derived therefrom. The critical micellar concentration of these compounds was calculated in the presence and absence of AgNPs, determining the best synthetic conditions. The use of microwave irradiation increased the reaction yield compared to the conventional method. The conductivity, UV-Vis, Fluorescence, Zeta Potential, and DLS analyzes showed that the salts of the CNSL constituents better stabilized the AgNPs and promoted higher yields. The AgNPs were immobilized in galactomannan of *Adenanthera pavonina* L. seeds and analyzed by Diffuse Reflectance Spectroscopy to observe the RPSL bands, confirming the presence of nanoparticles in the solid. No changes were observed in the optical properties of AgNPs, indicating that the immobilization process did not alter the shape and size of the NPs. In addition to preventing aggregation and agglomeration of NPs, galactomannan increases the biocompatibility of nanomaterials, since macrophages have a mannose receptor, allowing oral or topical delivery, without damaging the cell. This allows the constituents of LCC and AgNPS to be delivered into the cell and can attack the protozoan by attacking glycolytic enzymes and blocking the oxidative response mechanisms, respectively.

Keywords: Silver nanoparticles. Cashew Nut Shell Liquid. Galactomannan. Leishmaniasis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Número de casos de Leishmaniose Visceral no Brasil, na Região Nordeste e no estado do Ceará.....	19
Figura 2	– Flebótomo fêmea se alimentando.....	19
Figura 3	– Processo de transmissão e repasto dos protozoários do gênero Leishmania.	20
Figura 4	– Principais compostos utilizados no tratamento de leishmaniose.....	23
Figura 5	– Produção anual de castanha de caju.....	25
Figura 6	– LCC natural e seus constituintes.....	26
Figura 7	– Descarboxilação do ácido anacárdico.....	26
Figura 8	– Tripanotona (N1, N8-bis(glutatonila)espermidina).....	27
Figura 9	– Estrutura da galactomanana.....	29
Figura 10	– Receptor de manose encontrado nos macrófagos.....	31
Figura 11	– Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.....	31
Figura 12	– Modo de atuação das AgNPs na enzima Tripanotiana reductase.....	32
Figura 13	– Síntese do Anacardato de Cálcio.....	35
Figura 14	– Síntese do Ácido Anacárdico.....	35
Figura 15	– Síntese do Anacardato de Sódio.....	36
Figura 16	– Ilustração de coluna de LCC técnico.....	36
Figura 17	– Síntese dos fenóxidos de cardanol e cardol.....	37
Figura 18	– UV-Vis de LCC natural, LCC técnico, Ácido Anacárdico, Cardanol e Cardol.....	41
Figura 19	– FTIR do (a) LCC natural, (b) ácido anacárdico, e (c) anacardato de sódio.....	42
Figura 20	– FTIR do (a) LCC técnico, (b) cardanol, e (c) cardol.....	42
Figura 21	– UV-Vis das AgNPs sintetizadas em chapa de aquecimento e microondas.....	44
Figura 22	– Nanopartículas de prata estabilizadas por micelas.....	46

Figura 23 – Absorbância máxima da banda RPSL para AgAcAn, AgCDN e, AgCD (Solvente: água/etanol).....	48
Figura 24 – Comprimento de onda da absorvância máximo de AgAcAn, AgCDN e, AgCD (Solvente: água/etanol).....	49
Figura 25 – Comprimento de onda da absorvância máxima de AgNaAcAn, AgNaCDN e AgNaCD (Solvente: água).....	50
Figura 26 – UV-Vis dos nanomateriais (a)AgNPs estabilizadas pelos constituintes do LCC e (b)AgNPs estabilizadas pelos sais dos constituintes do LCC.....	51
Figura 27 – Discretização dos níveis energéticos de nanopartículas metálicas.....	52
Figura 28 – Espectro de Fluorescência de AgAcAn, AgCDN e AgCD.....	53
Figura 29 – Espectro de Fluorescência de AgNaAcAn, AgNaCDN e AgNaCD.....	53
Figura 30 – Potencial Zeta de NPs carregadas negativamente.....	54
Figura 31 – Imagens de MEV das (a)AgNPs, (b)AgAcAn, (c)AgCDN, (d)AgCD, (e) AgNaAcAn, (f) AgNaCDN e (g)AgNaCD.....	57
Figura 32 – Fluxo de Marangoni.....	58
Figura 33 – Imagens de Fluorescência de Raios-X (a) e Espectro de EDX (b) de AgNaAcAn.....	59
Figura 34 – Espectros de RMN ¹ H e ¹³ C da galactomanana de Adenantha pavonina L.	61
Figura 35 – Espectro na região do Infravermelho da galactomanana.....	62
Figura 36 – Nanocompósitos encapsulados em galactomanana.....	63
Figura 37 – Espectroscopia de Reflectância Difusa de (a) Gal@AgAcAn, Gal@AgCDN e, Gal@AgCD; (b)Gal@AgNaAcAn, Gal@AgNaCDN e, Gal@AgNaCD.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Doenças Tropicais Negligenciadas.....	18
Tabela 2 – Relação entre as manifestações clínicas e as espécies do gênero Leishmania.....	21
Tabela 3 – Medicamentos utilizados no tratamento de Leishmanioses.....	24
Tabela 4 – Composição química do LCC natural e LCC técnico.....	26
Tabela 5 – Massa dos surfactantes.....	38
Tabela 6 – CMC dos constituintes do LCC na ausência e presença de AgNPs.....	47
Tabela 7 – CMC dos derivados do LCC na ausência e presença de AgNPs.....	47
Tabela 8 – CMC das AgNPs com os derivados do LCC.....	49
Tabela 9 – Potencial Zeta, EDL e IPD.....	63
Tabela 10 – Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C	69
Tabela 11 – Estiramentos e deformações da galactomanana.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcAn	Ácido Anacárdico
AgAcAn	Nanopartículas de prata estabilizadas com ácido anacárdico
AgCDN	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardanol
AgCD	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardol
AgNaAcAn	Nanopartículas de prata estabilizadas com anacardato de sódio
AgNaCDN	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardanil de sódio
AgNaCD	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardil de sódio
AgNPs	Nanopartículas de prata
CD	Cardol
CDN	Cardanol
CMC	Concentração micelar crítica
EDL	Espalhamento dinâmico de luz
EDX	Espectroscopia de Raios-X por dispersão de energia
Gal@AgAcAn	Nanopartículas de prata estabilizadas com ácido anacárdico encapsuladas em galactomanana
Gal@AgCDN	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardanol encapsuladas em galactomanana
Gal@AgCD	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardol encapsuladas em galactomanana
Gal@AgNaAcAn	Nanopartículas de prata estabilizadas com anacardato de sódio encapsuladas em galactomanana
Gal@AgNaCDN	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardanil de sódio encapsuladas em galactomanana
Gal@AgNaCD	Nanopartículas de prata estabilizadas com cardil de sódio encapsuladas em galactomanana
LC	Leishmaniose Cutânea
LCC	Líquido da casca da castanha de caju
LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa
LM	Leishmaniose Mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral
LVPC	Leishmaniose Visceral Pós-Calazar
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

RMN

Ressonância Magnética Nuclear

RPSL

Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Doenças tropicais negligenciadas.....	18
1.2	Leishmaniose.....	19
1.3	Líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	25
1.4	Nanopartículas metálicas (NMs).....	27
1.5	Galactomanana.....	28
1.6	Possível mecanismo de atuação dos nanocompósitos.....	30
2	OBJETIVOS.....	33
2.1	Geral.....	33
2.2	Específicos.....	33
3	METODOLOGIA.....	34
3.1	Materiais e reagentes.....	34
3.2	Extração do LCC natural.....	34
3.2.1	<i>Separação do ácido anacárdico.....</i>	34
3.2.2	<i>Síntese do anacardato de sódio.....</i>	35
3.3	Separação do cardanol e cardol a partir do LCC técnico.....	36
3.4	Síntese do fenóxido de sódio.....	36
3.5	Síntese de nanopartículas de prata sem estabilizantes.....	37
3.6	Determinação da concentração micelar crítica.....	37
3.7	Extração da galactomanana de <i>Adenantha pavonina</i> L.	38
3.8	Imobilização dos nanomateriais em galactomanana.....	39
3.9	Instrumentação.....	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1	Pureza e caracterização do LCC e seus constituintes.....	41
4.2	Síntese de AgNPs em aquecimento convencional versus irradiação por microondas.....	43
4.3	Determinação da concentração micelar crítica.....	45
4.4	Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	50
4.5	Espectroscopia de fluorescência.....	52
4.6	Potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz.....	54
4.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	56

4.8	Espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDX)	58
4.9	Imobilização da AgNPs na galactomanan de <i>Adenantha pavonina</i> L.....	60
4.9.1	<i>Espectros de RMN ¹H e ¹³C</i>	60
4.9.2	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR)</i>	61
4.9.3	<i>Caracterização dos nanocompósitos por espectroscopia de reflectância difusa</i>	62
5	CONCLUSÃO.....	65
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	66
	REFERÊNCIAS.....	67
	APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN ¹ H DO (A)AcAn, (B) CDN E (C) CD.....	72
	APÊNDICE B – CMC DO (A) AcAn, (B) AgAcAn, (C) CD E (D) AgCD.....	75
	APÊNDICE C – CMC DO (A) NaAcAn, (B)AgNaAcAn, (C)NaCDN, (D)AgNaCDN, (E)NaCD E (F)AgNaCD.....	77
	APÊNDICE D – CMC OBTIDAS PELA BANDA RPSL DE (A)AgNaAcAn, (B) AgNaCDN E (C)AgNaCD (SOLVENTE: ÁGUA).....	79

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas

A Organização Mundial da Saúde (OMS) lista um grupo de vinte (20) infecções comunicáveis (doenças transmitidas por contato com sangue e fluidos corporais, inalação de vírus, picadas de insetos, dentre outros), dispostas na Tabela 1, mais conhecidas como Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs). Estas prevalecem em áreas tropicais e subtropicais, em aproximadamente 149 países, atingindo, principalmente, as populações que vivem nos bolsões de pobreza, sem saneamento básico e em contato com vetores infecciosos e animais domésticos/silvestres (WHO, 2019).

Tabela 1 - Doenças Tropicais Negligenciadas

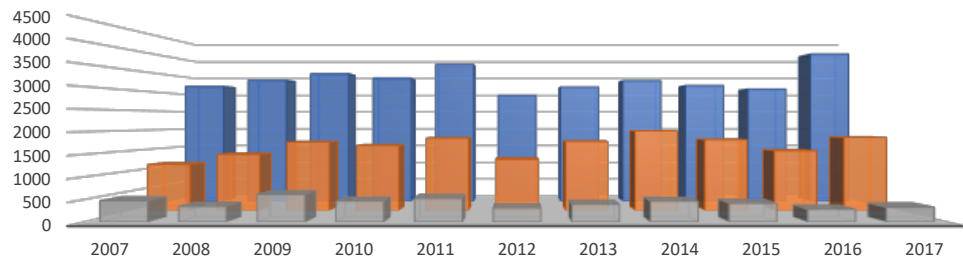
Forma de Contágio	Doenças
Contato	Úlcera de Buruli, Boubá, Hanseníase, Raiva
Vermes	Dracunculose, Trematodíases, Helmintoses, Teníases, Neurocistoses
Insetos	Dengue e Chikungunya, Tripanossomíase Humana Africana, Leishmaniose, Doença de Chagas, Filarióse linfática, Cegueira dos Rios
Parasitas	Micetoma e Cromoblastomicose, Piolho e outros ectoparasitas, Tracoma
Outros	Envenenamento por picada de cobra

Fonte: World Health Organization, 2019.

O Brasil, como um país em desenvolvimento, sofre da maioria destas DTNs, as quais estão concentradas nas regiões Norte (N) e Nordeste (NE). Os indicadores de saúde e econômico-sociais são menores nestas regiões do que no restante do país, levando a uma sobreposição geográfica dessas enfermidades (BRASILa, 2019; ODONNE *et al.*, 2017). A Figura 1 mostra que entre 2007 a 2017, o Brasil registrou 37342 casos, apenas de Leishmaniose Visceral (forma letal), dos quais 17735 (47,49%) são provenientes da Região Nordeste e,

somente o estado do Ceará contribui com 4584 casos (12,27%), atrás apenas do estado do Maranhão com 5490 casos (14,70%).

Figura 1 - Número de casos de Leishmaniose Visceral no Brasil, na Região Nordeste e, no estado do Ceará



	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Brasil	3204	3381	3557	3433	3816	2953	3183	3362	3223	3127	4103
Nordeste	1145	1397	1706	1620	1804	1276	1720	1986	1767	1490	1824
Ceará	468	345	611	464	523	309	388	459	413	281	323

Fonte: Ministério da Saúde, 2019.

1.2 Leishmaniose

As Leishmanioses são um grupo de doenças transmitidas para animais domésticos/silvestres e humanos através da picada do inseto flebótomo fêmea (*Lutzomyia*), também conhecido como “mosquito-palha” ou “birigui” (Figura 2) contaminado com uma das 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Este inseto mede entre 2-3 mm, sua picada é indolor e costuma se alimentar no início da manhã e ao anoitecer. Entre humanos a doença pode ser transmitida por compartilhamento de seringas, transfusão de sangue, ou pela placenta (KEVRIC *et al.*, 2015).

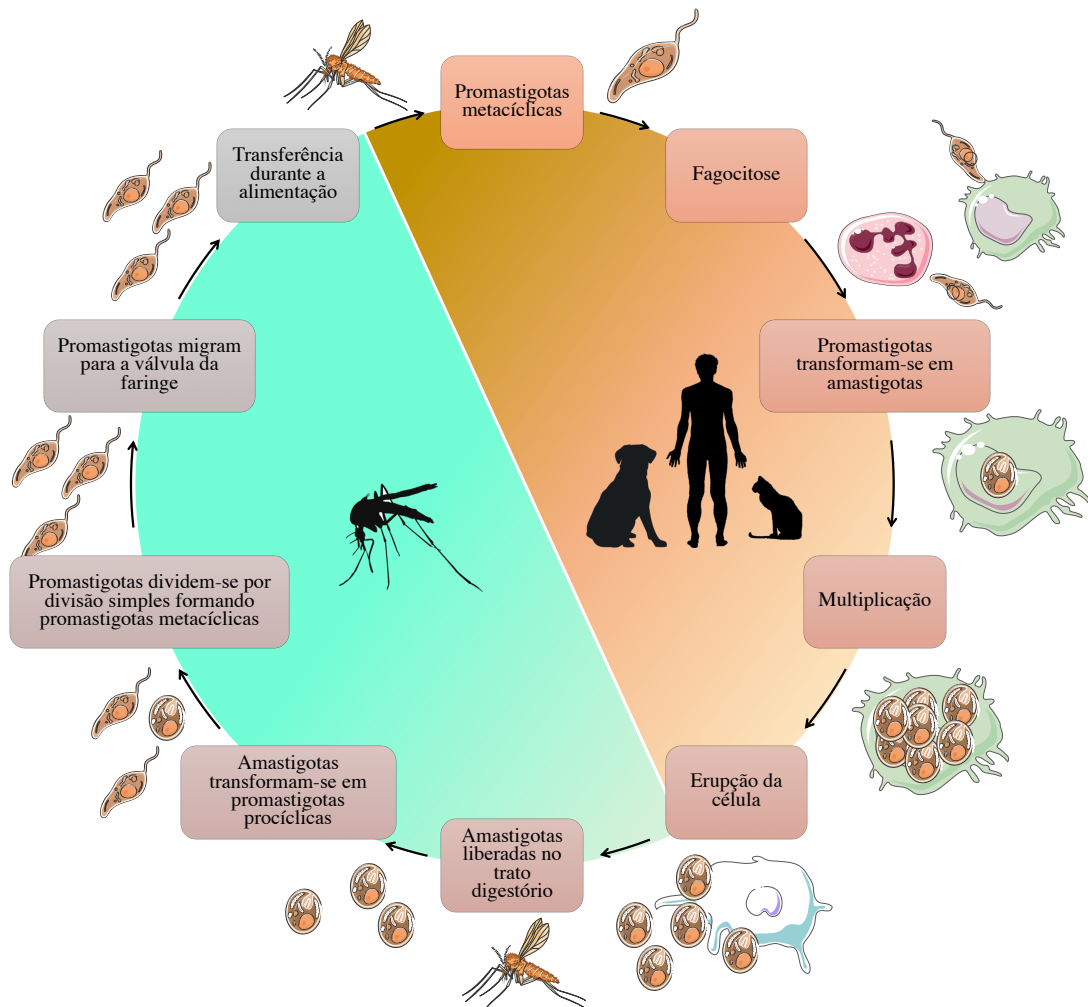
Figura 2 – Flebótomo fêmea se alimentando



Fonte: Centro Europeu para Controle e Prevenção de Doenças.

A Figura 3 mostra o processo de transmissão da leishmaniose. Os protozoários que residem no trato digestório dos flebótomos estão na sua forma promastigota ou flagelada e utilizam este flagelo para vencer a corrente sanguínea e infectar os organismos. Uma vez dentro do organismo, as células de defesa, tais como macrófagos, células dendríticas e neutrófilos fagocitam os protozoários os quais, perdem o flagelo e adquirem sua forma arredonda e infecciosa, denominada de amastigota. Estes protozoários modulam a ação das células, utilizando-as como receptáculos para sua reprodução por divisão binária até que a membrana plasmática se rompa dando início à infecção (Kevric *et al.* 2015).

Figura 3 - Processo de transmissão e repasto dos protozoários do gênero *Leishmania*



Fonte: Elaborado pelo autor.

A apresentação da doença depende da complexidade da interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e da espécie de protozoário (Tabela 2). Eren *et al.* (2016) mostra que algumas espécies, como a *L. guyanensis*, apresentam um vírus de RNA, denominado LRV (*Leishmania Resident Virus* / Vírus Residente de Leishmania) que é considerado como o responsável pela persistência dos parasitas no organismo e pela resistência aos medicamentos, pois ao modular a resposta inata dos macrófagos, esses vírus permitiriam a permanência e reprodução dos protozoários.

Tabela 2 - Relação entre as manifestações clínicas e as espécies do gênero *Leishmania*

Complexo	Espécie	Manifestação clínica
	<i>L. mexicana</i>	LC, LCD
<i>Leishmania mexicana</i>	<i>L. amazonensis</i>	LC, LCD, LM, LV, LVPC
	<i>L. venezuelensis</i>	LC, LCD
<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	LC, LM, LV
	<i>L. guyanensis</i>	LC, LM
	<i>L. panamensis</i>	LC, LM
	<i>L. peruviana</i>	LC

* LC = Leishmaniose Cutânea, LCD = Leishmaniose Cutânea Difusa, LM = Leishmaniose Mucocutânea, LV = Leishmaniose Visceral, e LVPC = Leishmaniose Visceral Pós-Calazar.

Fonte: Adaptado de Kevric *et al.*, 2015.

Há cinco manifestações clínicas da doença, que podem ser assintomáticas ou letais. A Leishmaniose Cutânea (LC) é a mais comum, caracterizada por uma ou mais lesões no local da infecção, com bordas duras e uma erosão central. As lesões podem se tornar superinfectadas e sobrepor alguma articulação. A cura espontânea ocorre após semanas ou meses, deixando uma cicatriz atrófica e cibriforme, na qual ainda podem existir protozoários, levando a uma possível reincidência da doença (BRASILa, 2019; KEVRIC *et al.* 2015).

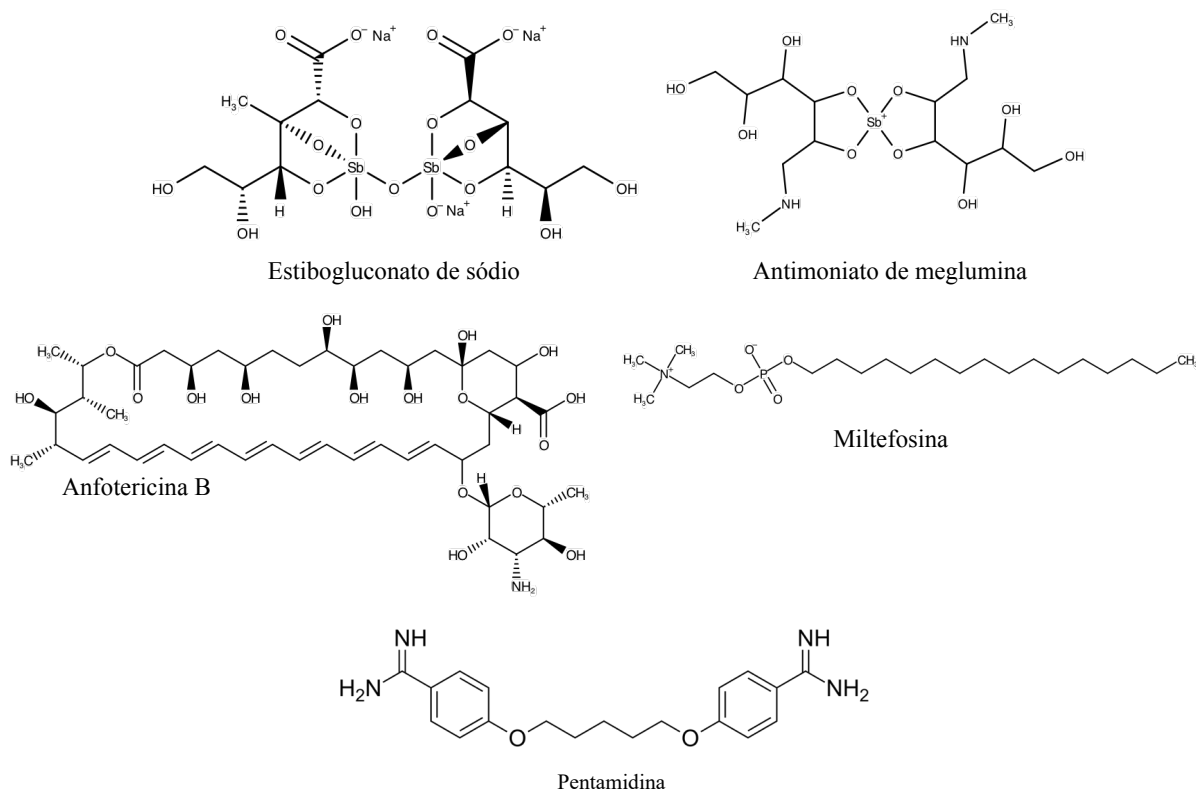
A Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) é rara e, apresenta-se na forma de pápulas e nódulos disseminados pelo corpo, principalmente na face. Essa manifestação também é conhecida como leishmaniose lepromatosa (KEVRIC *et al.* 2015).

A Leishmaniose Mucocutânea (LM), também conhecida como Leishmaniose Cutânea Metastática, é uma sequela incomum que ocorre após 1 ou 2 anos do tratamento de LC. As primeiras manifestações incluem sangramento e congestão nasal, rouquidão, além de eritemas e edemas que evoluem para uma ulceração com liberação de pus. Podem ocorrer mutilações e destruição das membranas mucosas do nariz, boca, garganta e tecidos adjacentes (KEVRIC *et al.* 2015).

A Leishmaniose Visceral (LV), popularmente conhecida como Calazar, é a segunda forma mais comum da doença, e também a mais letal. Os sintomas surgem após meses ou anos da inoculação. Os pacientes apresentam febre, perda de peso, anorexia, fraqueza, palidez, tosse, diarreia, sangramento nasal, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia e retardamento do crescimento (crianças). Se não tratada adequadamente, o(a) paciente tem no máximo 2 anos de vida (BRASILb, 2019; KEVRIC *et al.* 2015). Além disso, a LV, se não tratada corretamente, gera uma sequela subclínica denominada Leishmaniose Visceral Pós-Calazar (LVPC), caracterizada por máculas hiperpigmentadas, erupções cutâneas, pápulas, nódulos e placas em todas as partes do corpo. Esta manifestação é praticamente exclusiva do Leste da África e da Índia (KEVRIC *et al.* 2015).

Os medicamentos aplicados no tratamento da Leishmaniose estão longe do ideal devido às suas elevadas toxicidades crônicas, custos altos, baixa eficiência e, o surgimento de parasitas resistentes. A literatura é pobre em resultados a respeito do desenvolvimento de novas drogas e tratamentos efetivos. A Figura 4 contém as fórmulas químicas das drogas utilizadas na quimioterapia de leishmanioses: estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina, anfotericina B, anfotericina B lipossomal, miltefosina e pentamidina (KEVRIC *et al.*, 2015; BLANCO e NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Figura 4 - Principais compostos utilizados no tratamento de leishmaniose



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 3 destaca os efeitos colaterais destes medicamentos. Os antimoniais pentavalentes (Sb^{5+}) são a primeira linha no tratamento da doença e, entre seus efeitos colaterais incluem-se: problemas gastrointestinais, fadiga, dores músculo-esqueléticas, transaminite, lipase elevada, leucopenia, trombocitopenia, alterações em exames de eletrocardiograma (ECG) e cardiotoxicidade. As anfotericinas B são medicamentos de segunda linha, usados quando não há resposta aos antimoniais e, apesar da sua maior eficiência, seu preço elevado o torna inacessível para vários segmentos da população. A pentamidina é um medicamento alternativo aqueles intolerantes aos antimoniais. O Miltefosine, um agente quimioterápico, é o único tratamento oral com eficácia *in vivo* comprovada. Todos os agentes terapêuticos para o tratamento de Leishmaniose possuem efeitos colaterais severos, fazendo-se necessário o surgimento de tratamentos menos tóxicos e mais eficazes (KEVRIC *et al.*, 2015; ORYAN e AKBARI, 2016; BLANCO e NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Tabela 3 - Medicamentos utilizados no tratamento de Leishmanioses

Droga	Nome comercial	Aplicação	Dosagem	Efeitos Colaterais	Taxa de Cura
Estibogluconato de sódio	Pentostam	IV	20 mg/kg/dia 3-4 semanas	Problemas gastrointestinais, fadiga, dores músculo-esqueléticas, transaminite, lipase elevada, leucopenia, trombocitopenia, e cardiotoxicidade	90%
Antimotiato de meglumina	Glucantime	IM			90%
Deoxicolato de Amfotericina B		IV	0.5-1.0 mg/kg 15 dias	Baixa tolerabilidade, febre, nefrotoxicidade, hipocalcemia, anemia. Não há estudos sobre o efeito em gestantes.	>90%
Amfotericina B lipossomal	AmBisome	IV	10-15 mg/dia 3-5 dias	Há falta de estudos adequados sobre o uso deste medicamento	95%
Miltefosina	Impavido	O	2,5 mg/kg/dia 4 semanas	Náusea, vômitos, tontura, dor de cabeça, diarreia, e elevação nos níveis de creatina. Contraindicado para gestantes e lactantes.	95% (LV) 60-80% (LM)
Pentamidina		IM	2-4 mg/kg 2-7 doses	Hiperglicemia, elevação nos níveis de creatina, cardiotoxicidade, hipotensã, nefrotoxicidade e, hepatotoxicidade. Nã há estudos em gestantes e lactantes.	35-90%

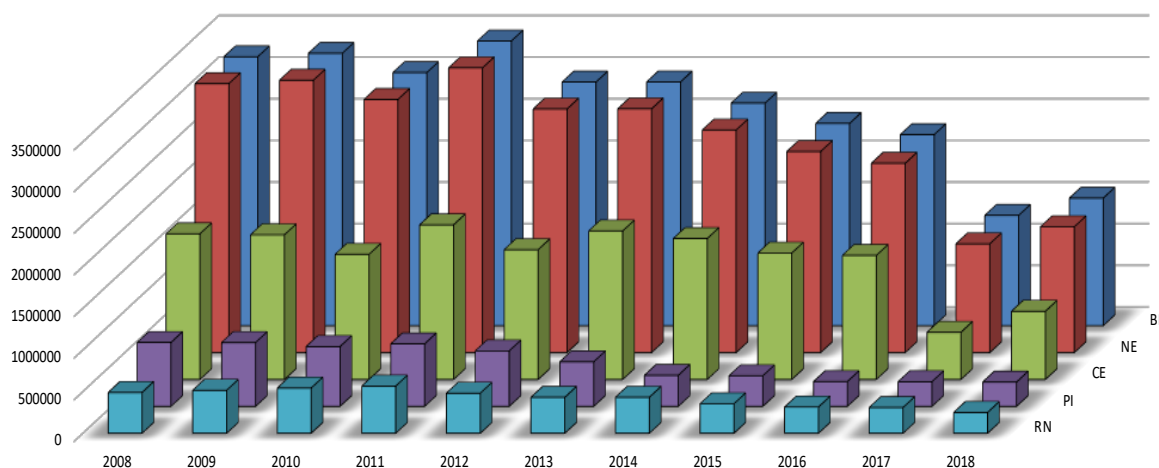
Fonte: Kevric *et al.*, 2015.

1.3 Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC)

Odone *et al.* (2017) lista uma série de compostos naturais amazônicos com potencial aplicação no tratamento de Leishmanioses. Dentre estes, o autor menciona as plantas da espécie *Anacardium occidentale L.*, mais conhecida como cajueiro, cujo pedúnculo (caju) e fruto (castanha) são de elevada expressão comercial e social, sendo que 95% da produção nacional está centrada na região Nordeste (VIDAL, 2018; LOMONACO, MELE e MAZZETTO, 2009).

A cajucultura sofreu um declínio acentuado devido ao longo período de estiagem (2012-2016), mas o Estado do Ceará continua sendo responsável pela maior produção nacional de castanha de caju, como mostra a Figura 5 (VIDAL, MF 2018).

Figura 5 – Produção anual de castanha de caju

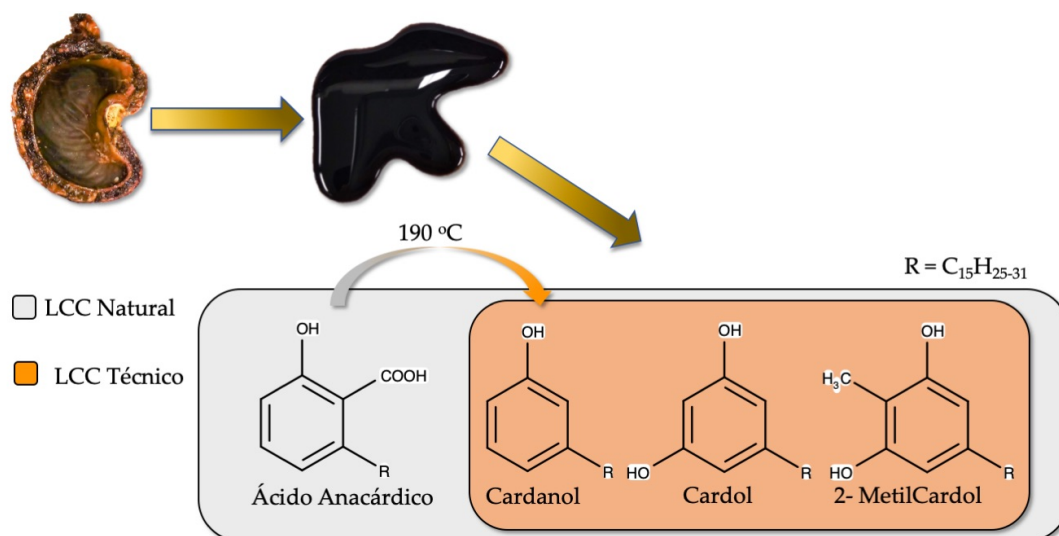


*BR=Brasil, NE=Nordeste, CE=Ceará, PI=Piauí, RN=Rio Grande do Norte

Fonte: IBGE, 2019.

A castanha de caju é constituída pela casca e pela amêndoa, que é produto principal de comercialização. A Figura 6 destaca um líquido escuro e viscoso, denominado de Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC), presente no mesocarpo esponjoso na casca das castanhas. Na forma *in natura*, o LCC é principalmente constituído por Ácido Anacárdico (AnAc), Cardanol (CDN), Cardol (CD) e, 2-metilcardol (2-MCD) (LOMONACO, MELE, MAZZETTO 2009).

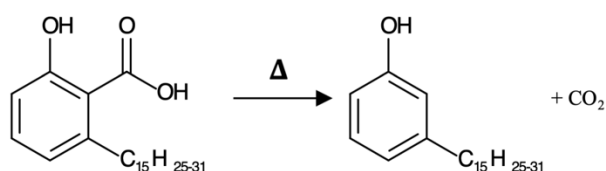
Figura 6 – LCC e seus constituintes



Fonte: Elaborado pelo autor.

A indústria de processamento das amêndoas de caju utiliza o LCC para aquecer as castanhas e, durante este processo, o líquido é aquecido à elevadas temperaturas ($190\text{ }^{\circ}\text{C}$). Isto promove a descarboxilação do AcAn (Figura 7) e, portanto, cardanol torna-se o produto majoritário, como mostra a Tabela 4 (MAZZETTO *et al.*, 2009).

Figura 7 - Descarboxilação do ácido anacárdico



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4 – Composição química do LCC natural e LCC técnico

	Ácido Anacárdico (%)	Cardanol (%)	Cardol (%)	2-metilcardol (%)
LCC natural	71,70 – 82,0	1,60 – 9,20	13,80 – 20,10	1,65 – 3,90
LCC técnico	1,09 – 1,75	67,82 – 94,60	3,80 – 18,86	1,20 – 3,98

Fonte: Adaptado de MAZZETTO, LOMONACO & MELE, 2009.

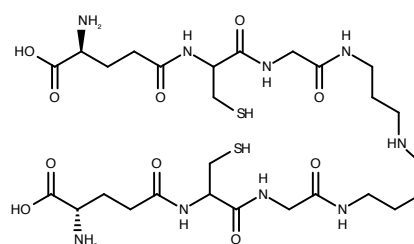
O LCC e seus constituintes possuem uma ampla gama de atividades biológicas, tais como antimicrobiana, antitumoral, moluscicida, antifúngica e inseticida (MAZZETTO *et al.*, 2009). Pereira *et al.* (2008) investigou a atividade do AcAn na inibição da enzima gliceraldeído-

3-fosfato desidrogenase (GAPDH) que atua na via glicolítica de parasitas como o *Trypanossoma cruzi*, e que possuem cerca de 90% de semelhança com outros protozoários, como os do gênero *Leishmania*. O bloqueio desta enzima torna os protozoários não-infecciosos, uma vez que estes dependem da produção de trifosfato de adenosina (ATP) para sobreviverem. Em contraste aos medicamentos utilizados atualmente no tratamento de Leishmanioses, o LCC se destaca por ser natural e de fácil obtenção.

1.4 Nanopartículas metálicas (NMs)

Além dos produtos naturais, as nanopartículas metálicas são amplamente difundidas na literatura como antibióticos no tratamento de doenças infecciosas (MEDICI *et al.*, 2015). O tamanho pequeno (1-100 nm) e a elevada área superficial em relação ao volume, permitem a interação com componentes vitais de agentes infecciosos, como membrana plasmática, DNA, RNA, enzimas, além da produção de espécie reativas de oxigênio (O_2^- , H_2O_2 , 1O_2 , e $HO\cdot$) que são capazes de danificar estruturas celulares dos parasitas (AGNIHOTRI *et al.*, 2014; HEINZ *et al.*, 2017). A literatura é escassa em investigação sobre o uso de nanopartículas metálicas como agentes antileishmania, apesar de sua capacidade em inibir o metabolismo de tripanotona (Figura 8), vital para a sobrevivência de parasitas do gênero *Leishmania* (AKBARO *et al.*, 2017).

Figura 8 – Tripanotona (N1, N8-bis(glutatonila)espermidina)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Entre as NMs, as nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam destaque em função da sua natureza antimicrobiana e caráter oligodinâmico, ou seja, suas características dependem do tamanho e da morfologia. De acordo com a literatura, quanto menor o tamanho das NPs melhor a atividade antimicrobiana; quanto à morfologia, as NPs triangulares são mais eficazes,

contudo, as esféricas são mais adequadas para aplicação prática, na forma coloidal ou imobilizada (AGNIHOTRI *et al.* 2014; HEINZ *et al.* 2017).

As AgNPs são eficientes no combate a diversos agentes patogênicos. A probabilidade de haver resistência é baixa, pois o mecanismo de atuação envolve ligações ao DNA ou RNA para o caso de alguns vírus, além de possuir uma baixa citotoxicidade para células animais (AGNIHOTRI *et al.*, 2013; HEINZ *et al.*, 2017). Apesar de serem as nanopartículas mais utilizadas para aplicação médica, há alguns problemas que restringem sua utilização das AgNPs, como a necessidade de um suporte (matriz orgânica, carboidratos, polímeros, micelas, dentre outros) para evitar agregação e controlar a liberação de Ag^+ em meio aquoso, além disso, o descarte deste material no meio ambiente pode acarretar em sérios problemas, pois podem afetar a microbiota aquática e, por consequência, afetando a cadeia alimentar (AGNIHOTRI *et al.*, 2013; MCGILLICUDDY *et al.*, 2017).

Em vista deste problema, os constituintes do LCC podem ser excelentes candidatos para atuar como estabilizantes de nanopartículas, uma vez que o possuem um grupo hidroxila que forma complexos facilmente com a prata, além de uma longa cadeia lateral ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}$) que confere um caráter de surfactante à estas moléculas, permitindo a formação de estruturas micelares.

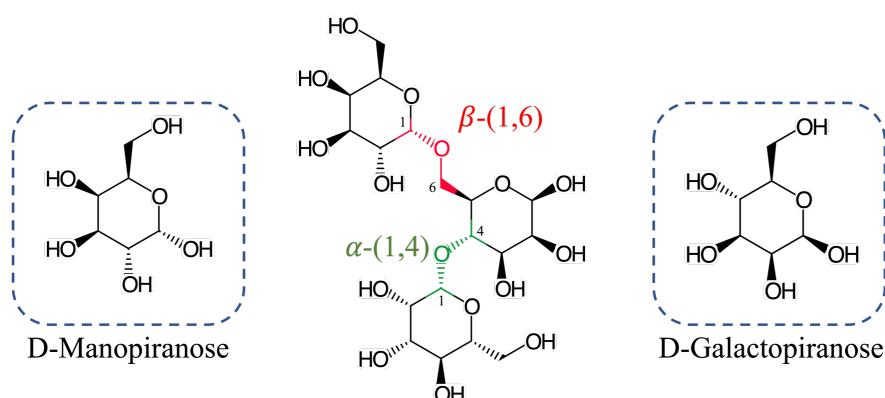
1.5 Galactomananas

A imobilização das AgNPs reduziria o impacto ambiental, além de permitir a aplicação na superfície onde ocorre a infecção ou por entrega oral. Alguns materiais são utilizados com esse propósito, destacando-se os polissacarídeos, por sua biocompatibilidade e biodegradabilidade. Dentre esses, os obtidos de sementes são uma das mais importantes fontes de gomas utilizadas na indústria alimentícia melhorando a textura e a sensação dos alimentos na boca (DOS SANTOS *et al.*, 2015).

As galactomananas, por exemplo, são encontradas no endosperma de sementes dicotiledôneas, particularmente das leguminosas. Esses polissacarídeos heterogêneos são compostos por uma estrutura de β -(1 \rightarrow 4)-D-manana (polímero linear composto por unidades de manose) com ramificações de D-galactose unidas por uma ligação α -(1 \rightarrow 6), Figura 9. A relação manose/galactose (M/G) varia de acordo com a fonte, causando mudanças significantes na solubilidade, viscosidade e, na interação com outros polissacarídeos. Os valores de M/G variam até na mesma espécie devido a processos metabólicos distintos, por fatores ambientais e, até pelo método de extração (DOS SANTOS *et al.*, 2015; GUSM *et al.* 2018).

As maiores fontes de galactomanana são alfarrobeira (*Ceratonia siliqua* – M/G 3,5:1), guar (*Cyamopsis tetragonoloba* – M/G 2:1), tara ou falso-pau-brasil (*Caesalpinia spinosa* – M/G 3:1) e feno-grego (*Trigonella foenum-graecum* L. – M/G 3,5:1). No entanto, neste trabalho, utilizou-se as sementes olho-de-pavão (*Adenantha pavonina* L. – M/G 1,46:1), facilmente encontradas na região Nordeste e pouco abordadas na literatura (GUSM *et al.*, 2018).

Figura 9 - Estrutura da galactomanana



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na indústria farmacêutica, galactomananas são empregadas como espessantes e estabilizantes em cremes ou loções e em matrizes para liberação controlada de drogas por via oral (LEA *et al.*, 2011; DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2016). Nessa linha, Pires (2013) sintetizou e caracterizou nanopartículas de prata (AgNPs) estabilizadas e reduzidas por galactomanana de fava danta (*Dimorphandra gardneriana*), obtendo um pó por liofilização. As nanopartículas se mostraram estáveis após ressuspensão, comprovando que a galactomanana não causou aglomeração e coalescência das nanopartículas.

Polissacarídeos podem ser utilizados como moldes para cicatrização, contudo, sua aplicação é limitada devido a vulnerabilidade a contaminações microbianas. A este respeito, Auddy *et al.* (2013) mostrou bons resultados para goma guar impregnadas com AgNPs para cicatrização de feridas em ratos Wistar, uma vez que, as nanopartículas impediam a proliferação de fungos e bactérias no polissacarídeo e na ferida do rato. Em vista disso, este trabalho utilizou a galactomana da *Adenantha pavonina* L. para imobilizar e obter as AgNPs na forma de pó, para uma potencial aplicação oral ou tópica no tratamento de Leishmanioses.

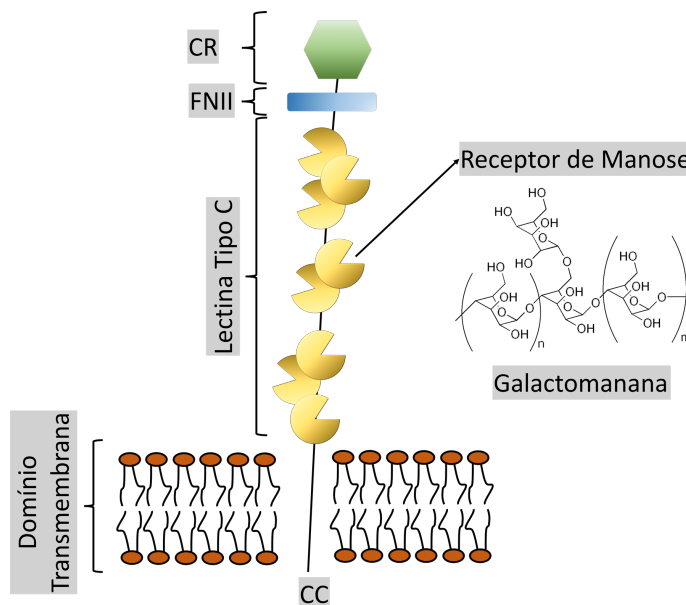
1.6 Possível mecanismo de atuação dos nanocompósitos

As galactomananas são biopolímeros capazes de armazenar medicamentos para entrega oral como excipientes, agentes desintegrantes, matriz e revestimento de tablets, ou aplicação tópica como pomadas ou gel aplicado sobre a pele. A galactomanana é resistente à pH ácidos, sendo dissolvida apenas no cólon (pH básico), pois a absorção nesta região é muito mais rápida e eficaz do que no estômago (LÉA *et al.* 2011).

Os protozoários do gênero *Leishmania* são fagocitados pelos macrófagos e transformam-se na forma amastigota (aflagelada). Esses protozoários modulam a resposta imunológica, utilizando os macrófagos como receptáculos para sua reprodução por divisão binária. Os medicamentos atualmente utilizados no tratamento da doença são tóxicos tanto para os protozoários, como para os macrófagos infectados e saudáveis, prejudicando todo o sistema imunológico do organismo (JAIN & JAIN, 2018).

Macrófagos contém um receptor de manose (RM), que possui duas atividades lectinicas distintas mediadas pela região extracelular: (a) uma rica em cisteína, que reconhece carboidratos como galactose e N-acetilgalactosamina sulfurados, e (b) uma parte mediada por um domínio de lectina tipo C que reconhece Manose, Fucose e N-acetilglicosamina (Figura 10). Galactomananas são constituídas pelo segundo maior grupo de polissacarídeos encontrados em plantas no mundo (manose e galactose), principalmente nos endospermas de diversas famílias botânicas. (LÉA *et al.*, 2011; MARTINEZ-POMARES *et al.*, 2006). Neste projeto a galactomanana foi escolhida por apresentar uma extensa cadeia linear de manose, portanto, facilmente reconhecida pelos macrófagos, permitindo assim, a liberação dos compostos imobilizados sem a destruição das células.

Figura 10 -Receptor de manose encontrado nos macrófagos.

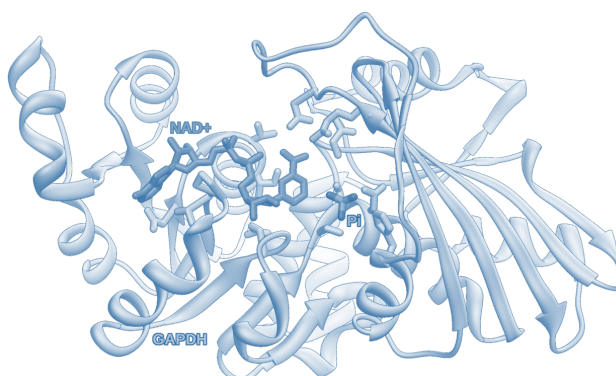


CR = Rico em Cisteína, FNII = Fibronectina Tipo II, CC = Cauda Citoplasmática

Fonte: Adaptado e modificado de MARTINEZ-POMARES *et al.*, 2006.

Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), apresentada na Figura 11, é uma importante enzima glicolítica, as amastigotas necessitam da glicólise para produzir ATP, e a inibição da enzima GAPDH impede os protozoários do gênero *Leishmania* de serem infecciosos. Pereira *et al.* 2008, demonstrou que o AnAc tem atividade como inibidor não competitivo de GAPDH, uma vez que se liga à enzima livre e ao complexo enzima-substrato. Isto indica que os constituintes do LCC têm potencial atividade antileishmania como inibidores de GAPDH (GANAPATHY-KANNIAPPAN, 2018; JAIN & JAIN, 2018; LIBERTI *et al.*, 2017).

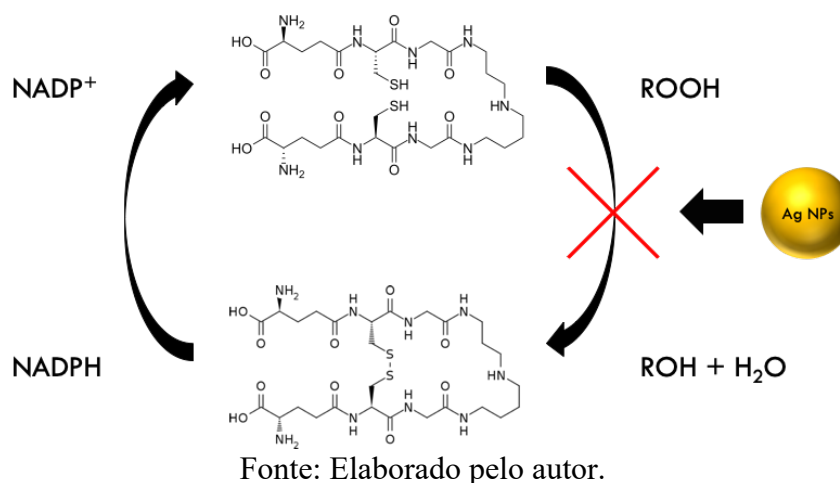
Figura 11 – Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase



Fonte: Elaborado pelo autor.

Dentre as moléculas-alvo para quimioterapia de Leishmaniose, tem-se a enzima Tripanotiana reductase (TR), responsável por manter o ambiente redox intracelular dos protozoários. Estas moléculas endógenas não estão presentes nas células do sistema imunológico e são capazes de contra-atacar as espécies reativas de oxigênio (ERO) criadas pelo sistema imunológico e espécies oxidantes presentes em algumas drogas, logo, aumentando a resistência do parasita. A Figura 12 demonstra como as AgNPs são capazes de inibir a atuação da TR, uma vez que a prata se liga facilmente ao grupo tiol, impedindo a formação da ponte dissulfeto, logo, o parasita fica susceptível ao estresse oxidativo, levando-o à morte (JAIN & JAIN, 2018; PRESTI *et al.*, 2015).

Figura 12 – Modo de atuação das AgNPs na enzima Tripanotiana reductase



Em vista dos possíveis mecanismo demonstrados acima, a combinação de galactomanana, AgNPs e, os constituintes do LCC podem atuar como um tratamento alternativo de baixa toxicidade para o organismo e elevada eficácia no combate aos protozoários do gênero *Leishmania*.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Sintetizar, caracterizar e preparar novos nanocompósitos constituídos por nanopartículas de prata estabilizadas pelos constituintes e derivados do LCC (AcAn, CDN, CD) e galactomanana de *Adenantha pavonina* L. para avaliação do potencial antileishmania.

2.2 Específicos

- Extrair, separar e caracterizar por UV-Vis, FTIR e, RMN ^1H , os constituintes do LCC (natural e técnico), caracterizando-os;
- Sintetizar as nanopartículas de prata reduzidas com NaBH_4 sem estabilizantes como controle para as reações;
- Estimar a concentração micelar crítica (CMC) dos constituintes do LCC e seus sais de sódio com e sem AgNPs, através de medidas de condutividade e pela banda RPSL;
- Comparar o efeito da concentração de LCC na absorbância, comprimento de onda de absorção das bandas RPSL das AgNPs via espectroscopia UV-Vis;
- Avaliar o efeito das alterações no pH na síntese das AgNPs;
- Sintetizar as AgNPs com os constituintes e derivados do LCC, em concentrações acima da CMC e caracterizá-las por espectroscopia de UV-Vis, Fluorescência, Potencial Zeta, EDL, MEV e EDX;
- Extrair, purificar e, caracterizar as galactomananas obtidas de *Adenantha pavonina* L. por FTIR e RMN ^1H e ^{13}C ;
- Imobilizar e caracterizar os nanomateriais nas galactomanana por Espectroscopia de Reflectância Difusa.
- Propor o possível mecanismo de atuação dos nanocompósitos no organismo.

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais e Reagentes

As castanhas de caju foram fornecidas pela Amêndoas do Brasil (Fortaleza – CE). Os frascos reacionais utilizados nas reações foram limpos com água-régia (3 HCl: 1 HNO₃) para remoção de impurezas e água deionizada com resistência de 18.2 MΩ cm⁻¹. Dentre os reagentes utilizados têm-se: AgNO₃ ≥99.9% (VETEC), NaBH₄ ≥98.0% (Sigma-Aldrich), Ca(OH)₂ ≥99.9% (Sigma-Aldrich), NaOH ≥99.9% (Synth), Na₂SO₄ Anidrido – P.A. (VETEC). Os solventes utilizados foram: C₂H₅OH ≥99.5% (Synth), HCl P.A. – ACS (Synth), HNO₃ 65% P.A. (VETEC), CH₃CH₂CO₂CH₂CH₃ P.A.-ACS (Synth), Acetona Pura (Synth) e CHCl₃ ≥99.5% (Synth).

3.2 Extração do LCC Natural

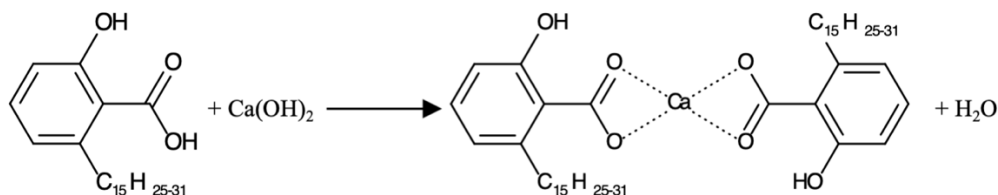
As castanhas de caju foram bisseccionadas com uma guilhotina e, em seguida removeu-se as amêndoas com o auxílio de uma espátula. Posteriormente, aproximadamente 50 g de cascas das castanhas foram mergulhadas em 200 mL de acetato de etila e aquecidas sob refluxo à 60 °C por 90 minutos.

A fração líquida (LCC natural) foi separada por filtração simples, e as cascas de castanhas foram acondicionadas para uso posterior. O LCC foi seco com Na₂SO₄ anidro, seguido filtração comum, e rotoevaporação para remoção do solvente. As cascas filtradas foram seccionadas com uma tesoura, e repetiu-se o processo de extração citado anteriormente. O LCC natural representa aproximadamente 25% do peso da castanha, e obteve-se 10 g do produto final (rendimento de 80%).

3.2.1 Separação do Ácido Anacárdico

O AcAn foi obtido de acordo com a metodologia de Ribeiro *et al.* (2013), com modificações. Inicialmente, diluiu-se 10 g de LCC natural em uma mistura etanol/água (95% v/v) com 5 g de Ca(OH)₂. A mistura foi aquecida sob irradiação de microondas (400 W) por 15 minutos a 50 °C. Ao término, houve formação de um precipitado de coloração rósea, denominado anacardato de cálcio (Figura 13), Ca(AcAn)₂, o qual foi filtrado a pressão reduzida e lavado 3 vezes com 10 mL de etanol.

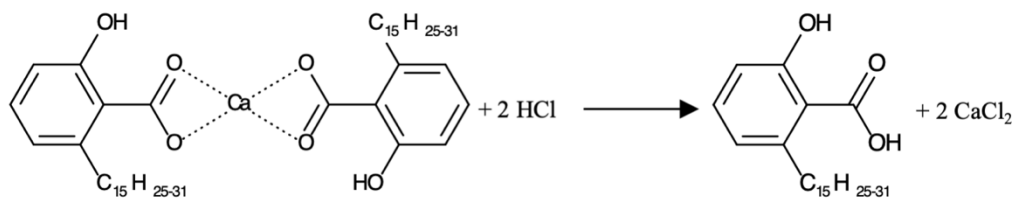
Figura 13 - Síntese do Anacardato de Cálcio



Fonte: Elaborado pelo autor.

O $\text{Ca}(\text{AcAn})_2$ foi tratado com 50 mL de água destilada e 20 mL de HCl 10% para remover os íons Ca^{2+} e formar o AcAn (Figura 14). A mistura foi transferida para um funil de separação com 50 mL de acetato de etila, onde a fase orgânica, de coloração amarelo-escuro, foi removida e tratada com Na_2SO_4 anidro. Após filtração simples, o AcAn foi concentrado por rotoevaporação à pressão reduzida e o solvente foi recuperado. Foram obtidos 6,8 g de um líquido escuro, o AcAn (rendimento de 94%).

Figura 14 - Síntese do Ácido Anacárdico

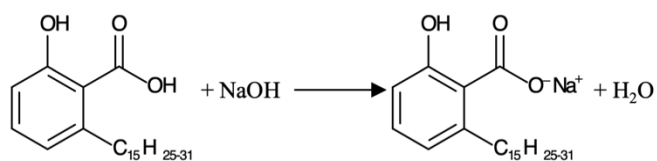


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.2 Síntese do Anacardato de Sódio

A Figura 15 mostra a reação de síntese do anacardato de sódio (NaAcAn). Este foi preparado a partir de 1 g (2,89 mmol) de AcAn em 20 mL de uma solução 95% etanol, seguido da adição de NaOH 0,668g (16,7 mmol). A mistura foi aquecida sob irradiação de micro-ondas (400 W) à 50 °C por 15 minutos, com acompanhamento reacional via Cromatografia de Camada Delgada (CCD). Após rotoevaporação do etanol, transferiu-se a fase orgânica para um funil de separação, onde adicionou-se 50 mL de acetato de etila e 20 mL de água deionizada para separação das fases. Separou-se e secou-se a fase orgânica (NaAcAn) com Na_2SO_4 , a qual passou por uma filtração simples e posteriormente, concentrada por rotoevaporação a pressão reduzida. O sólido obtido foi liofilizado para obter-se um pó fino de coloração marrom-clara. O rendimento da reação foi de 95%, 977 mg.

Figura 15 - Síntese do Anacardato de Sódio

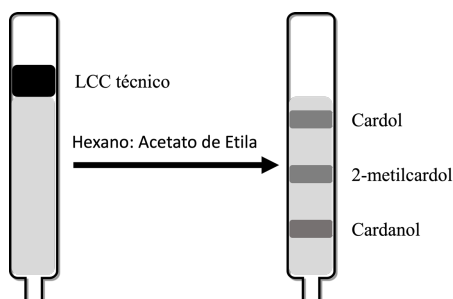


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 Separação do Cardanol e cardol a partir do LCC Técnico

Transferiu-se 45 g de LCC técnico para uma coluna cromatográfica de especificações 60 cm altura x 6 cm de diâmetro, utilizando sílica gel como fase estacionária (Figura 16). Para a fase móvel utilizou-se misturas de solventes hexano:acetato de etila, em grau crescente de polaridade nas proporções 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 e, 50:50. As frações eluídas foram analisadas por Cromatografia de Camada Delgada. Cardanol é obtido na primeira fração eluída, seguido de 2-metil-cardol e, por último Cardol. As frações foram concentradas em evaporador rotatório, obtendo-se 20 g de CDN e 4,75 g de CD.

Figura 16 - Ilustração de coluna de LCC técnico

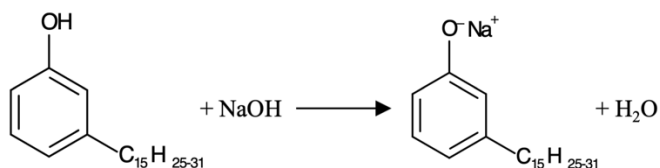


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Síntese do Fenóxidos de Sódio

CDN 1g (3,32 mmol) ou CD 1g (3,15 mmol) foram dissolvidos em 20 mL de CHCl_3 , seguido da adição de NaOH 132,7 mg (3,32 mmol) para CDN e 252 mg (6,30 mmol) para CD (Figura 17). As misturas foram mantidas sob aquecimento em microondas a 60 °C e agitação constante por 30 minutos. Ao final da reação observa-se uma coloração roxa, característica da desprotonação de fenóis. As soluções foram levadas a um rotoevaporador e removeu-se o solvente sob pressões reduzidas, restando apenas um líquido muito viscoso de coloração roxa bem escura.

Figura 17 - Síntese do fenóxido de cardanol



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.5 Síntese de nanopartículas de prata sem estabilizantes

As nanopartículas de prata foram sintetizadas sem estabilizantes pelos métodos de irradiação por micro-ondas e aquecimento convencional. Preparou-se soluções-padrão de AgNO_3 (1,7 mg/10 mL) e NaBH_4 (0,76 mg/10 mL) para as sínteses. No método convencional, 1 mL da solução de NaBH_4 foi diluído para 9 mL e aquecido a 60 °C sob agitação constante, ao atingir a temperatura desejada, adicionou-se 1 mL da solução de AgNO_3 , resultando no surgimento imediato de uma coloração amarela-clara característica das AgNPs e, manteve-se o aquecimento por 30 minutos. Após resfriada, as AgNPs foram acondicionadas sob abrigo de luz.

Para a reação sob irradiação de micro-ondas, utilizou-se as soluções de NaBH_4 e AgNO_3 na mesma proporção do método convencional. A solução de NaBH_4 foi submetida a uma potência de 400W e, uma rampa de aquecimento por 2 minutos até atingir 60 °C. Nesta temperatura, adicionou-se a solução de AgNO_3 . Ocorreu o surgimento de uma coloração amarelo-escuro e, manteve-se o aquecimento e agitação por 5 minutos. Após resfriamento, as suspensões foram mantidas sob abrigo de luz.

3.6 Determinação da Concentração Micelar Crítica (CMC)

Determinou-se a CMC dos componentes isolados do LCC, seus derivados e, dos nanomateriais por condutividade e absorvância máxima da banda Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (RPSL) das AgNPs por Espectroscopia na região do UV-Vis. Preparou-se soluções dos materiais: 10 mL de Ag^+ 1 mmol L^{-1} (1,7 mg / 10^{-5} mol), 20 mL dos surfactantes com concentração 2 mmol L^{-1} (Tabela 5) e 5 mL de NaBH_4 2 mmol L^{-1} (7,6 mg / 2×10^{-4} mol). Adicionou-se 40 mg (1 mmol) de NaOH às soluções de NaCDN e NaCD, para favorecer a dissolução.

Tabela 5 - Massa dos surfactantes

Amostra	Massa/Mol	Amostra	Massa/Mol
AcAn	13,82mg/4x10 ⁻⁵ mol	NaAcAn	14,7 mg/4x10 ⁻⁵ mol
CDN	12,06 mg/ 4x10 ⁻⁵ mol	NaCDN	12,94 mg/4x10 ⁻⁵ mol
CD	12,7 mg/ 4x10 ⁻⁵ mol	NaCD	14,46 mg/4x10 ⁻⁵ mol

Fonte: Elaborado pelo autor.

As soluções iniciais foram diluídas de forma seriada para gerar soluções de concentração entre 0,1 mmol L⁻¹ até 0,8 mmol L⁻¹ em 5 mL de etanol (AcAn, CDN e CD) ou água (NaAcAn, NaCDN e NaCD). Adicionou-se 1 mL da solução de Ag⁺ e, em seguida, completou-se o volume com água deionizada para 9,5 mL.

As nanopartículas foram preparadas sob irradiação de micro-ondas em um balão de 25 mL com 3 bocas, acoplado a um condensador. Utilizou-se uma rampa de aquecimento de 2 minutos sob potência de 400W. Ao atingir 60 °C, adicionou-se 0,5 mL de NaBH₄, e manteve-se a temperatura e agitação por 5 minutos.

Estas proporções foram utilizadas para determinação da CMC. O ponto de inflexão foi encontrado nos gráficos pela intercessão dos dados da condutividade *versus* concentração de surfactante. Para determinação da CMC dos surfactantes isolados, utilizou-se as mesmas concentrações sem adição do AgNO₃ e NaBH₄.

3.7 Extração de galactomanana da *Adenanthera pavonina* L.

As sementes de *Adenanthera pavonina* L. foram colhidas na Universidade Federal do Ceará – UFC. Estas foram lavadas e peneiradas em água corrente para remoção de materiais indesejados. Em um béquer de 250 mL, adicionou-se 50 gramas das sementes e 200 mL de água destilada. Este sistema foi mantido sob aquecimento em chapa à 80 °C e, agitação constante por 2 horas. Ao término, o sistema ficou sob repouso em água por mais 22 horas para facilitar o entumescimento das sementes. Em seguida, as mesmas foram lavadas e peneiradas para remoção do pigmento vermelho presente na casca e outras impurezas. Após secagem, removeu-se manualmente os endospermas (galactomanana), uma fina película, transparente, presente entre o cotilédone e o epicarpo.

Os endospermas (8,5 g) foram imersos em etanol por 2 horas para remoção de impurezas e enzimas lipossolúveis. O etanol foi removido e os endospermas triturado em

liquidificador com 100 mL água destilada. A mistura foi centrifugada a 6000 rpm por 30 minutos e, o precipitado formado foi descartado. A galactomana foi obtida na forma de uma fibra branca, pela adição lenta do sobrenadante em etanol na proporção 1:2 (v/v), respectivamente, sob agitação lenta. Após filtração em funil sinterizado #4, lavou-se 2 vezes com 20 mL etanol e 10 mL acetona para remover a água e facilitar a secagem. O produto obtido foi macerado em um almofariz sob ar quente, até obter um pó fino de coloração branca. O rendimento foi calculado a partir da massa de endosperma. Foram obtidas 6g de galactomana (70,5% de rendimento)

3.8 Imobilização dos Nanomateriais em Galactomanana

Preparou-se uma solução aquosa de galactomanana 100 mg mL⁻¹ por aquecimento em chapa e agitação a 70 °C por 5 minutos, para garantir a dissolução completa do material. Após resfriar a solução, adicionou-se a mesma quantidade em volume de nanomaterial, mantendo sob agitação e abrigo de luz por 30 minutos. A precipitação e o tratamento do nanocompósito seguiram o procedimento do item 3.7. O pó obtido no final foi armazenado em *ependorfs* e mantido sob abrigo de luz e umidade.

3.9 Instrumentação

Para a síntese das nanopartículas, utilizou-se um aparelho de Micro-ondas StartSynth Microwave Synthesis LabStation operando a 400W, com rampa de aquecimento de 2 minutos. A espectroscopia de absorção na região do UV-Vis foi realizada em um Agilent Cary 60, com varreduras de 200 a 800 nm em cubetas de quartzo com 1 cm de diâmetro. A espectroscopia vibracional na região do infravermelho foi realizada em um Perkin Elmer FTIR/NIR FRONTIER com acessório de reflectância total atenuada (ATR) com superfície de cristal de seleneto de zinco (ZnSe), resolução de 4 cm⁻¹, usando a média aritmética de quatro varreduras, na faixa de número de ondas de 4000-600 cm⁻¹.

A espectroscopia de fluorescência foi realizada em um Shimadzu RF-6000, com comprimento de excitação de 420 nm, largura de banda de 5nm e cubetas de quartzo com 1 cm de diâmetro. As análises de reflectância difusa foram realizadas em um Shimadzu UV-2600 com varredura de 200 a 800 nm, com um suporte para sólido ISR-2600 com ângulo de incidência de 0° /8°.

As análises de potencial zeta e EDL foram realizadas em um Malvern ZetaSizer Nano ZS90 com ângulo de espalhamento de 90 ° no intervalo de 0,3 nm a 5µm. Para as análises de potencial zeta utilizou-se uma célula capilar e para o EDL utilizou-se uma cubeta de poliestireno 4,5 mL.

Os dados de CMC foram obtidos em um condutivímetro Gehada CG1800 com precisão de 0,5%. As análises de RMN de ¹H foram realizadas no CENAURMN, com um BRUKER Avance DPX-300 operando a 300 MHz. Utilizou-se como padrão interno o TMS e, todos os analitos foram dissolvidos em CDCl₃. Os RMNs de ¹H e ¹³C da galactomanana foram realizados no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN) – EMBRAPA, em um Agilent DD2 operando a 80 °C. O aparelho é equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. O solvente utilizado foi D₂O.

Analizou-se a morfologia dos nanomateriais por MEV em um Quanta 450-FEG FEI, pertencente à Central Analítica da UFC. O aparelho operou a 30.00 kV e as amostras foram gotejadas em um *stub* de alumínio com fita de carbono seguido da evaporação do solvente à temperatura ambiente e metalização da superfície com ouro por um Sputter Coater Q150T ES.

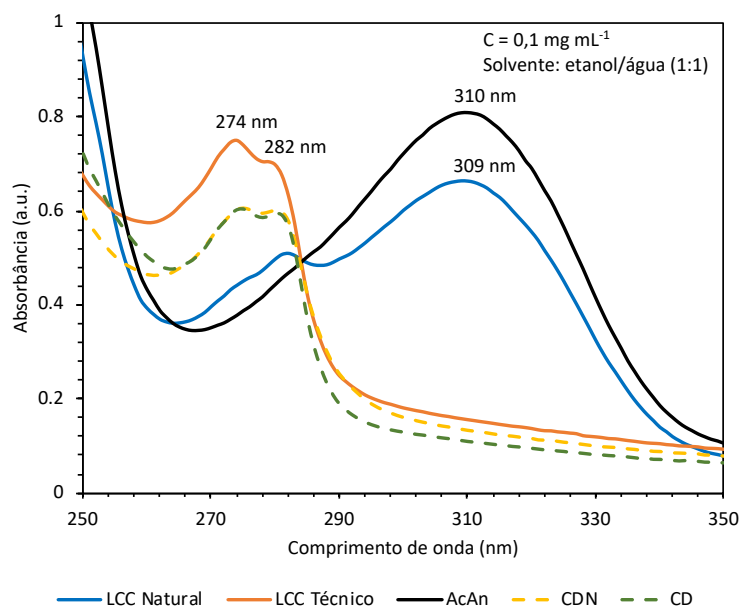
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pureza e Caracterização do LCC e seus Constituintes

Neste trabalho, o LCC foi separado em seus componentes principais (AcAn, CDN e, CD) com o intuito de estudar sua utilização como estabilizantes na síntese das AgNPs. Portanto, a pureza destes materiais é de suma importância para evitar erros ou contaminações durante as análises. Em vista disso, os componentes do LCC foram analisados por UV-Vis, FT-IR e RMN de ^1H .

A Figura 18 mostra os espectros de UV-Vis do LCC (natural e técnico) e seus componentes. O LCC natural apresenta uma banda em 309 nm referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ do grupo funcional carbonila (C=O) do ácido anacárdico, uma banda B em 282 nm referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel benzênico. No espectro do AcAn isolado, a banda B aparece próximo ao limite de detecção (200-230 nm) do aparelho, portanto, sofre bastante interferência e o sinal apresenta diversos ruídos. O LCC técnico apresenta duas bandas B em 274 nm e 282 nm, que também aparecem nos espectros de Cardanol e Cardol isolados. (BAI *et al.*, 2012)

Figura 18 - UV-Vis de LCC natural, LCC técnico, Ácido Anacárdico, Cardanol e, Cardol

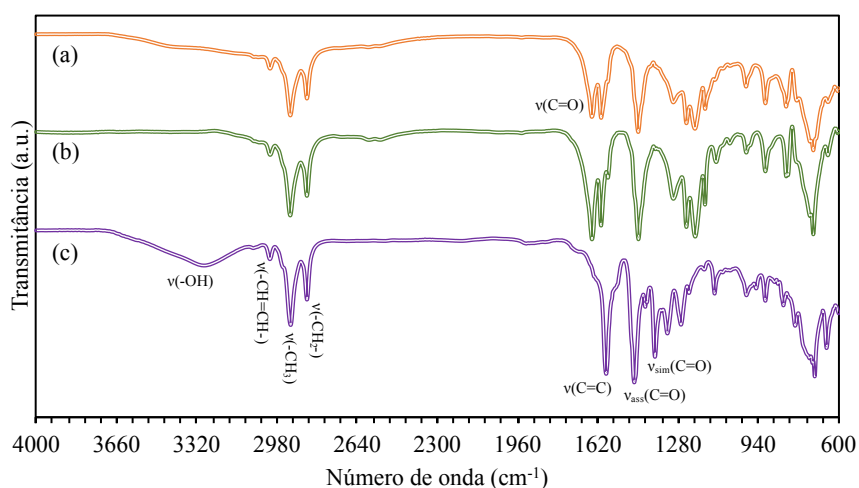


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 19 apresenta o espectro de Infravermelho do LCC natural, AcAn e NaAcAn. Os espectros apresentam os estiramentos da cadeia lateral de 15 carbonos com

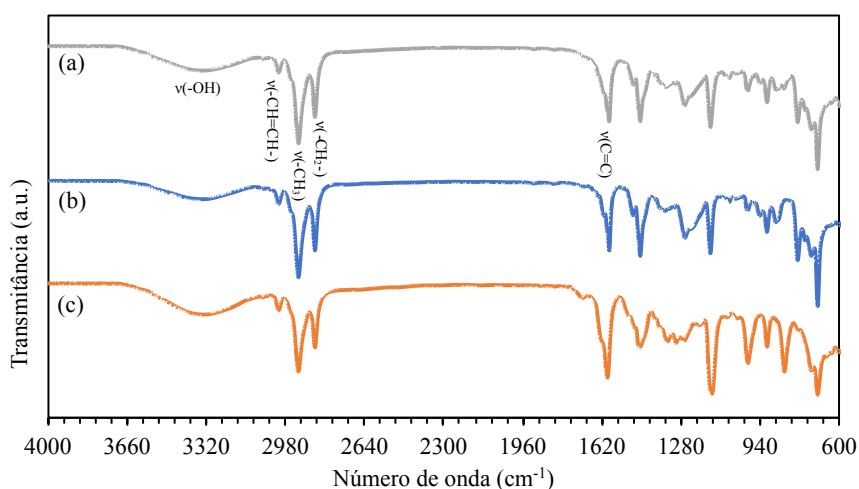
insaturações, $\delta 3010\text{ cm}^{-1}$ $\nu(-\text{CH}=\text{CH}-)$, $\delta 2925\text{ cm}^{-1}$ $\nu(-\text{CH}_3)$, $\delta 2854\text{ cm}^{-1}$ $\nu(-\text{CH}_2)$. O LCC natural e o AcAn apresentam o estiramento $\delta 1646\text{ cm}^{-1}$ $\nu(\text{C}=\text{O})$ que foi substituído pelos estiramentos assimétricos e simétricos da carbonila, $\delta 1463\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{ass}}(\text{C}=\text{O})$ e $\delta 1378\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{sim}}(\text{C}=\text{O})$ no Anacardato de Sódio. O estiramento $\nu(-\text{OH})$ aparece apenas para o NaAcAn, uma vez que no AcAn isolado há formação de dímeros por ligações de hidrogênio (Malik *et al.* 2013). A Figura 20 mostra os espectros do LCC técnico e seus componentes. Cardanol e cardol apresentaram praticamente os mesmos estiramentos, com pequenas diferenças de número de onda, devido a presença de outro grupo doador de elétrons (-OH) no cardol.

Figura 19 - FTIR do (a) LCC natural, (b) ácido anacárdico, e (c) anacardato de sódio



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 20 - FTIR do (a) LCC técnico, (b) cardanol, e (c) cardol



Fonte: Elaborado pelo autor.

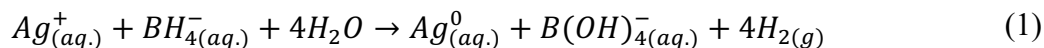
O Apêndice A mostra os espectros de RMN de ^1H que foram utilizados para complementar a caracterização dos constituintes do LCC. Todos os espectros indicam que há uma mistura de compostos mono, di e triinsaturados.

4.2 Síntese de AgNPs em Aquecimento Convencional *versus* Irradiação por Micro-ondas

Neste trabalho, os íons de prata (Ag^+) foram reduzidos a Ag^0 com NaBH_4 , um forte agente redutor ($E_0 = -0,481\text{V}$). O processo não segue o modelo de La Mer, sendo marcado por uma redução mais rápida que o processo de crescimento das NPs, este último sendo governado pela coalescência. Esse comportamento permitiu a síntese NPs com tamanhos menores que 10 nm, porém polidispersas e com curto tempo de estabilidade coloidal na ausência de outras substâncias, razão pela qual, utilizou-se o LCC como agente estabilizante em etapa subsequente.

O processo observado seguiu o modelo proposto por Polte (2015). O primeiro passo na formação das AgNPs é chamado de *seed-mediated growth*, onde ocorre a redução rápida de Ag^+ para Ag^0 (menos de 0,2 s). Estes átomos, então, colidem e formam dímeros, trímeros, e assim por diante até formar *clusters*. Em aproximadamente 5 segundos, os clusters coalescem gerando NPs de 2-3 nm. Estas NPs entram num estado metaestável, mantendo seu tamanho por 5 a 10 minutos, para então coalescer novamente, finalizando com NPs entre 5-8 nm. Os íons BH_4^- são responsáveis pela estabilidade coloidal durante este estado intermediário, impedindo a coalescência. Após seu consumo total, podem ocorrer processos de oxidação na superfície das AgNPs e a oxidação parcial gerando um precipitado, o óxido de prata (Ag_2O) reduzindo a estabilidade coloidal, logo, as forças de atração de *van der Waals* superam a repulsão eletrostática causando a coalescência das nanopartículas.

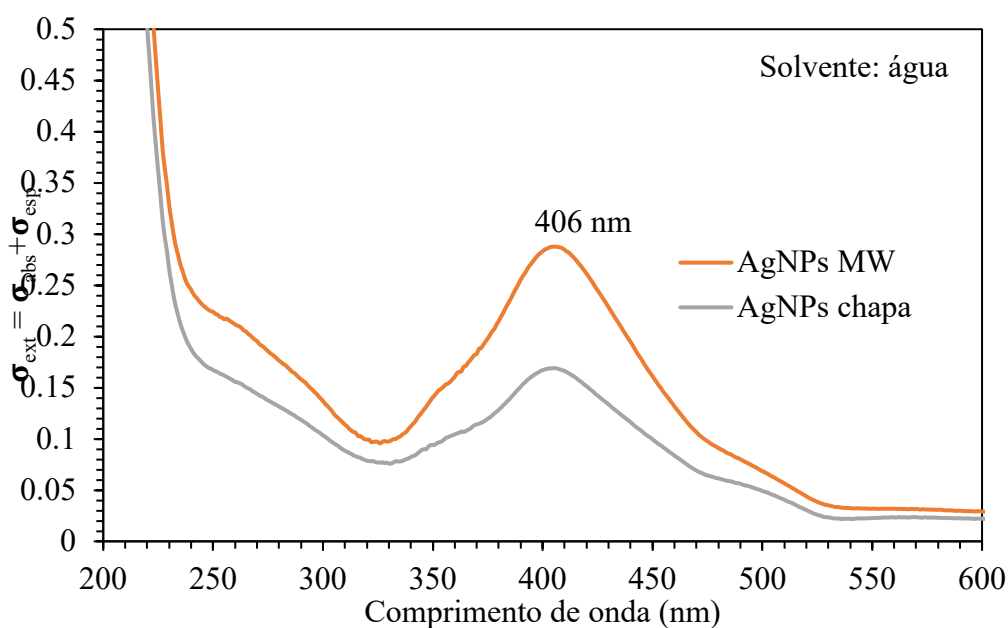
Assim, o uso do NaBH_4 permite que os precursores metálicos sejam completamente reduzidos levando a concentrações elevadas de átomos e clusters metálicos no início do processo sintético. Estas pequenas NPs têm maior probabilidade de colidirem entre si, causando a coalescência até atingir um tamanho em que probabilidade de colisão seja mínima, e então, o crescimento passa a ser governado pela repulsão eletrostática (POLTE, 2015). Diante do exposto, apesar da estequiometria de redução dos íons de Ag^+ ser 1:1 em relação molar de NaBH_4 , houve a necessidade do uso do agente redutor em excesso. Como demonstra a equação 1, os íons BH_4^- excedentes são hidrolisados lentamente formando B(OH)_4^- e, estes são responsáveis por manter a estabilidade coloidal.



Nas reações em chapa de aquecimento e sob irradiação de micro-ondas, adicionou-se os íons de Ag^{+} à uma solução com excesso de NaBH_4 , assim as AgNPs formadas se mantiveram estáveis por algumas horas. Se a ordem for invertida, as NPs formadas precipitam rapidamente pela formação do borato de prata hidratado ($\text{Ag}_3\text{BO}_5\text{H}_4$), conhecido como espelho de prata. A temperatura também tem influência no tamanho das NPs, por isso, utilizou-se 60 °C em ambos os métodos, pois sob esta temperatura o processo de desidrogenação atinge seu máximo, e, por conseguinte, a redução dos íons prata é catalisada. Comportamento análogo foi observado por Agnihotri *et al.* (2014) em seus estudos de síntese de AgNPs com NaBH_4 e citrato de sódio.

A análise de UV-Vis foi utilizada para avaliar a eficiência do aquecimento dielétrico de micro-ondas em relação ao método convencional. A Figura 21 mostra que a banda RPSL das AgNPs sintetizadas sob irradiação de micro-ondas tem quase o dobro da intensidade em relação ao método convencional, contudo, ambas possuem o mesmo comprimento de absorção máxima, $\lambda_{\text{máx}} = 406 \text{ nm}$. Isto sugere que a síntese com NaBH_4 seguiu os padrões da literatura, originando partículas com até 10 nm. A irradiação por micro-ondas levou à formação de uma maior quantidade de espécies absorventes neste comprimento de onda, e não houve uma redução na polidispersão, pois ambas apresentam a mesma largura à meia altura.

Figura 21 - UV-Vis das AgNPs sintetizadas em chapa de aquecimento e micro-ondas



Fonte: Elaborado pelo autor.

No micro-ondas, as moléculas de água se orientam com o campo elétrico e, ao se reorientar com a mudança do campo, a fricção molecular gera perda de energia na forma de calor, promovendo um aquecimento homogêneo (DAHAL *et al.*, 2012). A síntese em chapa de aquecimento aumenta as chances de erro e diminui a reprodutibilidade, uma vez que a distribuição de calor não é homogênea e a taxa de aquecimento não é controlada.

O processo de nucleação induzido por micro-ondas foi mais rápido e eficiente comparado aos métodos convencionais. Este resultado foi utilizado como controle para determinar as melhores condições de síntese das AgNPs estabilizadas pelas micelas de constituintes e derivados do LCC.

4.3 Determinação da Concentração Micelar Crítica

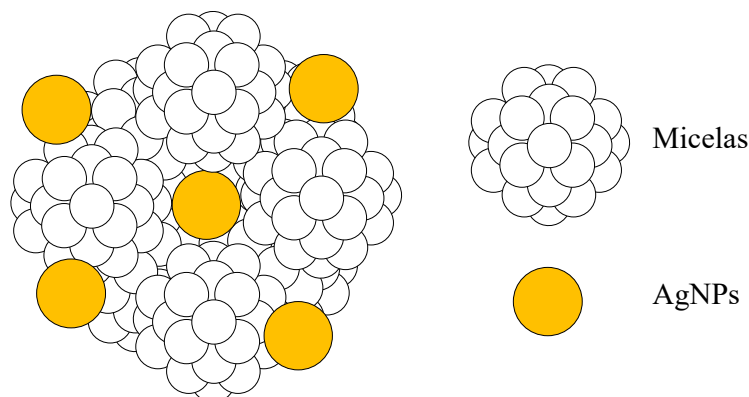
Os constituintes do LCC pertencem a classe dos tensoativos ou surfactantes, pois possuem grupo hidrofóbico (cadeia lateral apolar - C₁₅H₃₁) e um grupo hidrofílico (-COOH, -OH) ligado ao anel aromático. Na presença de água e, sob determinadas concentrações, os constituintes do LCC podem formar micelas, estruturas globulares supramoleculares auto-organizadas. O aumento na quantidade de surfactantes na interface ar/água leva a uma redução gradual na tensão superficial, indicando que as moléculas de surfactantes tendem a adsorver na interface ar/líquido e vice-versa. Sob certas concentrações, a interface ar/água é completamente coberta por moléculas de surfactante adsorvidas na forma de micelas. Esta concentração é chamada de concentração micelar crítica (CMC) (ABD-ELAAL *et al.*, 2015).

O valor de CMC é importante para determinar diversas características de um surfactante, tais como estabilização, isolamento, cristalização, dentre outros. A concentração do surfactante tem grande influência na coadsorção de surfactantes binários, afetando a cobertura e a carga da superfície de nanopartículas em solução, resultando em alterações drásticas nos processos de colisão e adesão (Zhang *et al.* 2007). De acordo com a literatura, a CMC pode ser determinada pela relação entre uma propriedade física *versus* a concentração do surfactante. A formação de uma micela promove mudanças abruptas em certas propriedades físicas, tais como tensão superficial, viscosidade, condutividade, e espalhamento de luz.

A presença de nanopartículas metálicas em uma emulsão causa alterações na CMC. Karimi *et al.* (2015) determinou a CMC de dodecil sulfato de sódio e brometo de trimetilamônio através da banda de ressonância plasmônica de superfície localizada (RPSL) das AgNPs. A posição da banda de RPSL depende das propriedades da superfície metálica e mudanças no meio, tais como tamanho, forma, constante dielétrica do solvente, e interações

eletromagnéticas entre as nanopartículas. O autor observou que o aumento da concentração do surfactante até o valor crítico (CMC) gera um aumento na intensidade de absorção, pois os íons de Ag^+ estão rodeados pela micela e ao serem reduzido para Ag^0 , as AgNPs são formadas dentro de um espaço entre as micelas, evitando agregação e/ou coalescência (Figura 22).

Figura 22 - Nanopartículas de prata estabilizadas por micelas



Fonte: Elaborado pelo autor.

A relação condutividade *versus* concentração de surfactante é uma das mais exatas para determinar o valor de CMC. De acordo com Chakraborty *et al.* (2011), ao formar micelas, o número de espécie portadoras de carga diminui, gerando um ponto de inflexão pela diminuição na taxa de crescimento da condutividade. A Tabela 6 apresenta os valores de CMC para AcAn, CD e seus respectivos nanomateriais, enquanto os gráficos estão expostos no Apêndice B. mostram que o ponto de inflexão do AgAcAn ($0,37 \text{ mmol L}^{-1}$) é menor do que o AcAn isolado ($0,50 \text{ mmol L}^{-1}$). Isto é causado pela diminuição na repulsão eletrostática entre as cabeças polares do surfactante, favorecendo energeticamente a formação de estruturas micelares com menores quantidades de surfactante.

Não foi possível determinar a CMC do CDN e do AgCDN, nas concentrações testadas. A baixa polaridade do CDN e o menor número de grupos funcionais, reduzem a interação com os íons de prata, formando complexos instáveis e, portanto, interferindo nas análises. Por outro lado, o ponto de inflexão para o gráfico AgCD ($0,56 \text{ mmol L}^{-1}$) foi encontrado com sucesso, indicando uma melhor interação com as AgNPs. A natureza aniônica do AcAn o torna uma opção mais adequada de surfactante, pois as hidroxilas do CDN e CD tendem a formar ligações de hidrogênio ao invés de formar complexos com a prata. Assim sendo, os surfactantes podem ser classificados por ordem crescente de interação como AcAn >

CD, demonstrando que a polaridade do surfactante também deve ser levada em consideração na escolha do melhor estabilizante para as AgNPs.

Tabela 6 - CMC dos constituintes do LCC na presença e ausência de nanopartículas de prata

Amostra	CMC	Amostra	CMC
AcAn	0,50 mmol L ⁻¹	AgAcAn	0,37 mmol L ⁻¹
CD	0,64 mmol L ⁻¹	AgCD	0,56 mmol L ⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em vista disso, os constituintes do LCC foram tratados com hidróxido de sódio para formar anacardato de sódio (NaAcAn), cardanil de sódio (NaCDN) e cardil de sódio (NaCD), pois além da possibilidade de dispersão apenas em água, estes compostos já apresentam CMC menor do que seus precursores. A Tabela 7 apresenta os valores de CMC para NaAcAn, NaCDN, NaCD e seus respectivos nanomateriais, enquanto os gráficos estão dispostos no Apêndice C.

A desprotonação das hidroxilas do grupo carboxila do AcAn e dos fenóis de CDN e CD, promovem uma maior interação com a prata, reduzindo ainda mais o valor de CMC, como mostra a Figura 25. A força de interação com as AgNPs segue o mesmo padrão anterior: NaAcAn > NaCD > NaCDN. Observa-se também um aumento nos valores de condutividade, oriundo da presença de íons de sódio em solução e da desprotonação dos surfactantes.

Tabela 7 – CMC dos derivados do LCC na ausência e presença de nanopartículas de prata

Amostra	CMC	Amostra	CMC
NaAcAn	0,44 mmol L ⁻¹	AgNaAcAn	0,268 mmol L ⁻¹
NaCDN	0,56 mmol L ⁻¹	AgNaCDN	0,62 mmol L ⁻¹
NaCD	0,47 mmol L ⁻¹	AgNaCD	0,26 mmol L ⁻¹

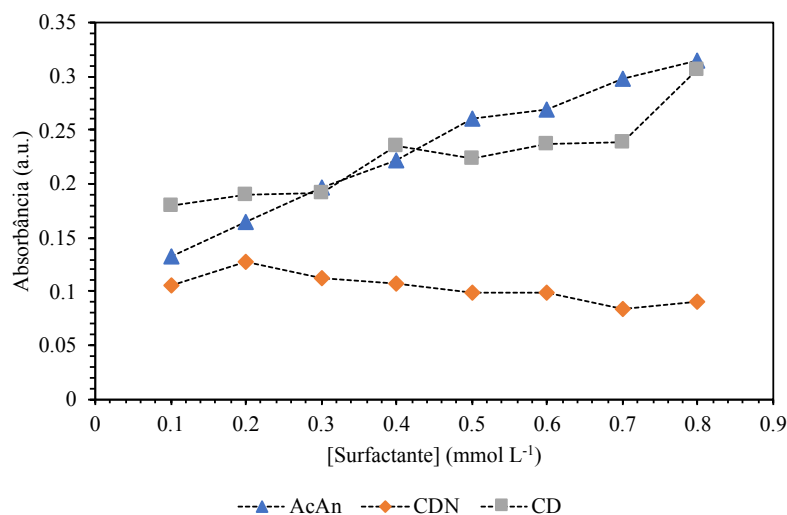
Fonte: Elaborado pelo autor.

Seguindo as ideias de Karimi *et al.* (2015), utilizou-se a banda RPSL das AgNPs para determinar a CMC, avaliar os efeitos da formação de micelas na síntese das NPs e como suas propriedades ópticas são afetadas, além de comparar os dados obtidos com os valores de condutividade. As nanopartículas metálicas, especialmente as de metais nobres, absorvem em comprimentos de onda característico em análises de UV-Vis, originando a chamada banda de

ressonância de superfície plasmônica localizada (RPSL). Esta banda RPSL é resultante da oscilação coletiva dos elétrons na superfície das NPs e a extensão do seu deslocamento reflete a força da interação entre a cabeça hidrofílica do surfactante e a superfície das AgNPs.

O aumento ou decréscimo agudo da posição desta banda com a formação das micelas gera o ponto de inflexão (CMC). A Figura 23 mostra que as bandas de RPSL para AgAcAn e AgCD sofrem um aumentam a intensidade (deslocamento hiperacrômico) com o aumento da concentração do surfactante. Esta mudança pode ocorrer por uma maior quantidade de nanopartículas formadas, levando a um maior espalhamento de luz, aumentando a absorbância. O aumento da concentração de CDN resulta na diminuição na intensidade de absorção (deslocamento hipocrômico). A inconstância nos valores de absorbância está relacionada a baixa interação com as AgNPs, que possivelmente sofreram processo de agregação e/ou aglomeração, devido as colisões sofridas durante e após a síntese. Em nenhum dos casos acima foi possível determinar o ponto de inflexão da CMC.

Figura 23 – Absorbância máxima da banda RPSL para AgAcAn, AgCDN e AgCD (Solvente: água/etanol)

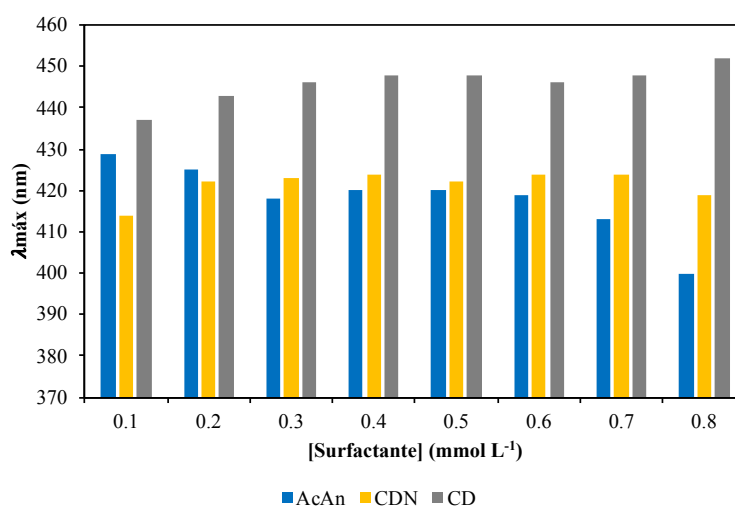


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 24 mostra a variação no comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) da banda RPSL. Observa-se que as AgAcAn apresentam o menor valor de $\lambda_{\text{máx}}$ mesmo em concentrações acima da CMC quando comparado a CD e CDN. O valor de $\lambda_{\text{máx}}$ depende diretamente do tamanho e morfologia da AgNPs, além da constante dielétrica do meio (Agnihotri *et al.*, 2014). A energia necessária para excitar o plasmon de superfície é inversamente proporcional ao tamanho das

AgNPs. Portanto, uma vez que ocorre agregação e coalescência, observa-se um deslocamento batocrômico (deslocamento para região do vermelho) no espectro de UV-Vis.

Figura 24 - Comprimento de onda da absorbância máximo de AgAcAn, AgCDN e, AgCD (Solvente: água/etanol)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os sais dos constituintes do LCC atuaram como excelentes estabilizantes na síntese de AgNPs, e permitiram a determinação da CMC pela espectroscopia de absorbância, em concordância com os dados de condutividade. A Figura 24 mostra um aumento na absorbância máxima de todos os compostos em relação aos constituintes do LCC na forma protonada, indicando que mais íons de prata foram reduzidos e que as NPs se mantiveram estáveis após a síntese. Contudo, há uma diferença nos valores comparado aos dados de condutividade, principalmente para AgNaCDN, como mostra a Tabela 08. Esta variação é normal e já esperada, pois são técnicas com sensibilidades e precisões diferentes.

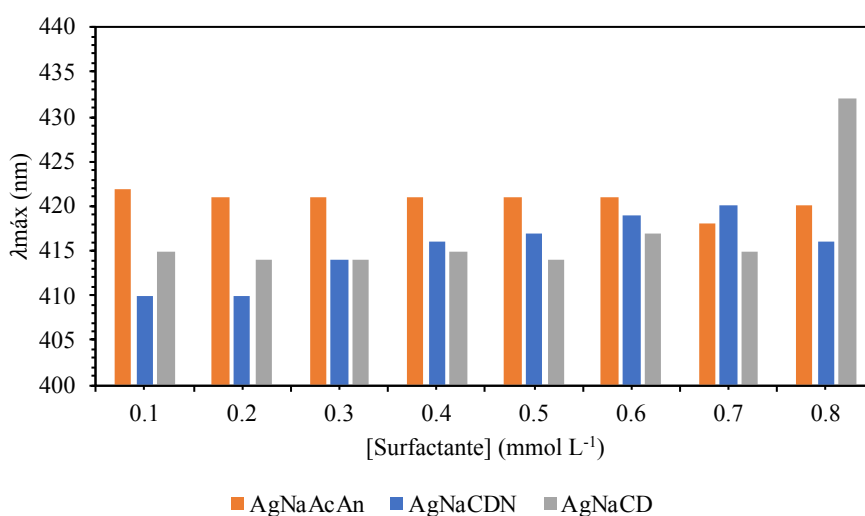
Tabela 8 - CMC das nanopartículas de prata com os derivados do LCC

Amostra	CMC
AgNaAcAn	0,29 mmol L ⁻¹
AgNaCDN	0,62 mmol L ⁻¹
AgNaCD	0,26 mmol L ⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor.

Estes estabilizante controlam com maior eficácia a nucleação e crescimento das NPs, isto é demonstrado pela pequena variação no comprimento de onda de absorção das AgNPs e pelos menores valores em relação aos estabilizantes protonados, exibidos na Figura 25.

Figura 25 – Comprimento de onda da absorbância máxima de AgNaAcAn, AgNaCDN e, AgNaCD (Solvente: água)



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis

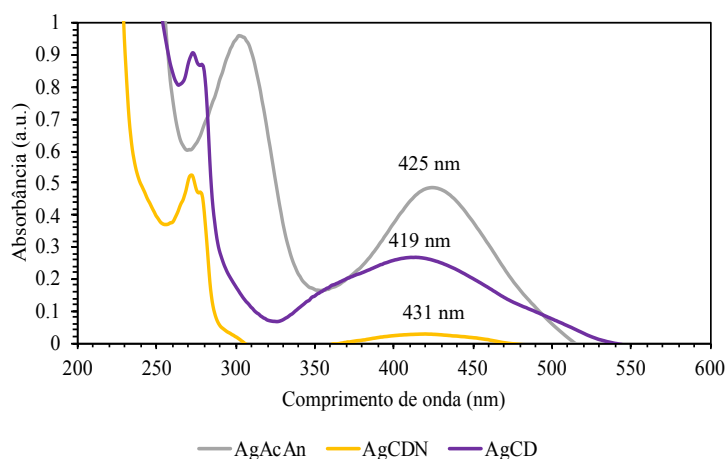
Após a determinação dos valores de CMC, foi possível determinar quais as melhores condições para as sínteses das AgNPs. Como não foi possível determinar a CMC do CDN, utilizou-se o mesmo valor obtido para cardol, uma vez que ambos possuem estruturas similares. A formação das micelas, afeta diretamente nas propriedades das NPs, permitindo controle do tamanho e evitando a agregação, contudo, levou-se em consideração a força de interação com as cabeças polares dos surfactantes.

A Figura 26(a) mostra os espectros de UV-Vis para os nanomateriais sob mesma concentração de Ag⁺ e acima da CMC dos surfactantes, determinadas anteriormente. As AgNPs apresentam uma banda característica na região de 390 a 450 nm, referente a banda RPSL, dependente do tamanho e formato das AgNPs. As AgAcAn ($\lambda_{máx}=425$ nm) tiveram o maior rendimento e a menor variação no tamanho (menor largura de banda). A banda das AgCDN ($\lambda_{máx}=431$ nm) é muito pequena e larga, indicando que poucas NPs se mantiveram estáveis na presença de CDN, resultando na rápida oxidação a Ag₂O. As AgCD ($\lambda_{máx}=419$ nm) foram mais

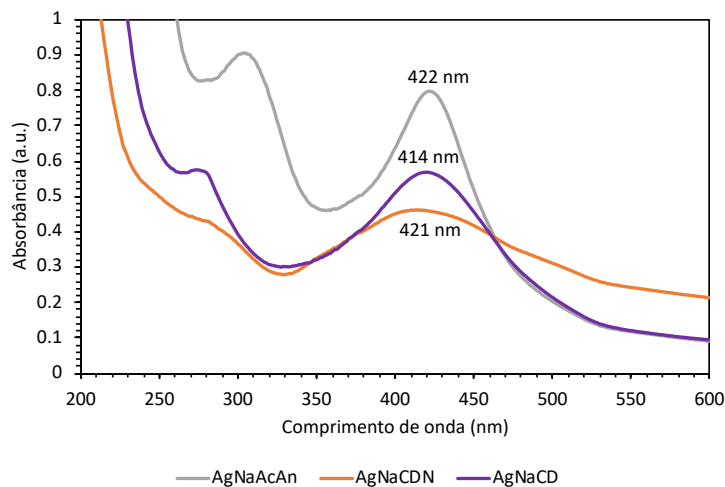
estáveis que o as AgCDN, contudo, apresentam uma banda larga e de baixa intensidade, indicando elevada polidispersão.

Figura 26 – UV-Vis dos nanomateriais (a) AgNPs estabilizadas pelos constituintes do LCC e (b) AgNPs estabilizadas pelos sais dos constituintes do LCC.

(a)



(b)



Fonte: Elaborado pelo autor.

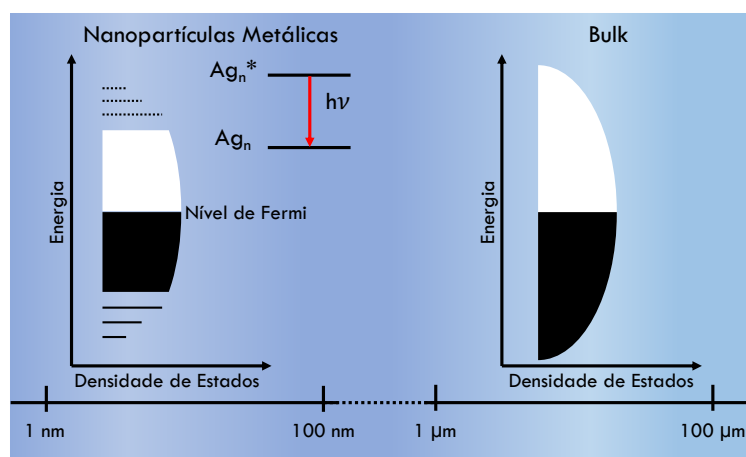
O tratamento dos constituintes do LCC com uma base forte (NaOH), torna-os solúveis em água, permitindo a síntese de AgNPs sem adição de etanol. A Figura 26(b) mostrou que AgNaAcAn ($\lambda_{\text{máx}}=422\text{nm}$), AgNaCDN ($\lambda_{\text{máx}}=414\text{ nm}$), e AgNaCD ($\lambda_{\text{máx}} = 421\text{ nm}$) apresentaram rendimentos melhores (maior absorvância) e menos polidispersão (bandas mais estreitas), indicando que os sais dos constituintes do LCC são estabilizantes melhores.

4.5 Espectroscopia de Fluorescência

As AgNPs absorvem e emitem luz com comprimento de onda específico. Este processo é denominado de fluorescência que ocorre pela excitação de um elétron no estado fundamental para níveis mais energéticos, seguido da relaxação do elétron excitado produzindo emissão de fótons. Essa nanopartículas ligam-se às estruturas específicas de microrganismos e células cancerígenas, podendo ser utilizadas como sondas fluorescentes para estudar amostras biológicas (DAS e SARKAR, 2015; SARKAR e DAS, 2018).

A Figura 27 demonstra que no estado *bulk* os níveis energéticos estão tão próximos que o tempo de relaxação do elétron é muito curto ($<10^{-15}$ s) para que o fenômeno de fluorescência possa ser observado. Contudo, no tamanho de nanopartículas, este tempo de relaxação é maior, permitindo a visualização destes fenômenos. Para AgNPs, os elétrons *d* e *s* mais externos geram 6 bandas, das quais 5 estão abaixo do nível de Fermi (bandas *d*) e uma banda acima (banda *sp* ou banda de condução). O espectro de emissão das AgNPs ocorre pela recombinação do processo de espalhamento da luz de *eletron-fóton* e *hole-fóton* entre as bandas 4*d* e 5*sp*, que levam a uma perda de energia e a fluorescência de um elétron para a banda *sp* desocupada com um *hole*. (DAS e SARKAR, 2015; SARKAR e DAS, 2018).

Figura 27 - Discretização dos níveis energéticos de nanopartículas metálicas

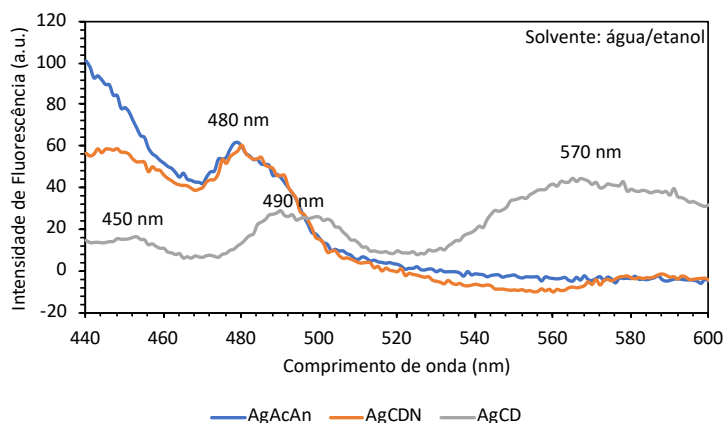


Fonte: Elaborado pelo autor.

As AgNPs estabilizadas pelos constituintes do LCC foram excitadas com um feixe de luz de comprimento de onda de 420 nm na análise de fluorescência. Este valor de excitação foi determinado a partir dos dados obtidos na espectroscopia de UV-Vis. Observa-se na Figura 28, que as AgNPs apresentaram duas bandas, uma pequena em $\lambda=450$ nm e outra em $\lambda=480$ nm para AgAcAn e AgCDN, respectivamente, enquanto para AgCD, esta última banda ocorreu

em $\lambda=490$ nm. Segundo Das e Sakar (2015), a banda de maior energia refere-se à transição interna das bandas $sp \rightarrow d$ e a de menor energia à excitação da ressonância de superfície plasmônica. Observa-se uma terceira banda para AgCD, que possivelmente está relacionada com a presença de Ag_2O e NPs com morfologia diferente das AgAcAn e AgCDN.

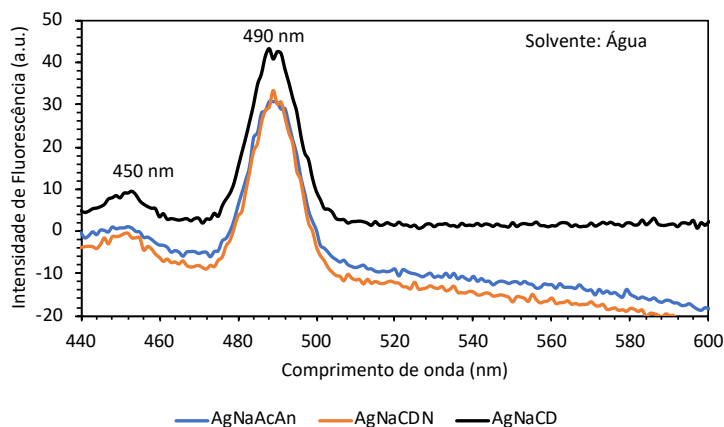
Figura 28 – Espectro de Fluorescência de AgAcAn, AgCDN e, AgCD



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 29 mostra que todas as espécies emitiram em $\lambda=490$ nm, referente à transição interna das bandas $sp \rightarrow d$ e apresentaram bandas mais estreitas, devido a menor variação no tamanho das NPs. A banda RPSL ($\lambda=490$ nm) é proporcional ao volume de NPs e não à área superficial, isto significa que ela é mais proeminente quando há mais NPs no meio.

Figura 29 – Espectro de Fluorescência de AgNaAcAn, AgNaCDN e, AgNaCD



Fonte: Elaborado pelo autor.

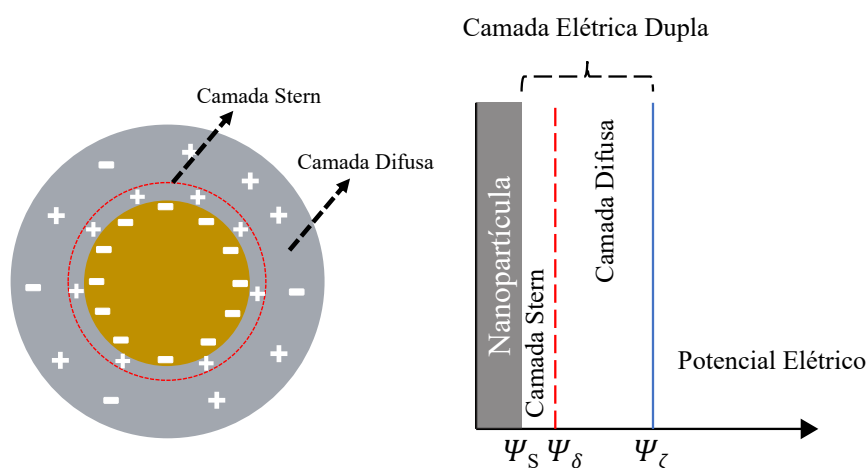
Diante dos resultados apresentados, foi possível verificar que as AgNPs são formadas em maior quantidade e com menor variação no tamanho na presença dos sais NaAcAn, NaCDN, NaCD, logo, estes são mais indicados para aplicação como sondas nos estudos da atividade antileishmania.

4.6 Potencial Zeta e Espalhamento Dinâmico de Luz

A Figura 30 mostra uma partícula carregada negativamente e adsorvidos à sua superfície há uma camada com íons de carga oposta (positivos, +), denominada camada Stern. Na segunda camada, ou camada difusa, há íons livres de ambas cargas, atraídos por força Coulombianas à camada Stern. A somatória dessas duas camadas forma a camada elétrica dupla que possui um determinado potencial elétrico. O potencial zeta (ζ) é a diferença de potencial entre o meio dispersante e a camada elétrica dupla de fluidos ligada à partícula dispersada (POLTE, 2015).

Os valores obtidos são indicadores de estabilidade para dispersões coloidais, pois a magnitude do potencial zeta indica o grau de repulsão eletrostática entre as partículas adjacentes com cargas similares. Quando o potencial é pequeno ($>-25\text{mV}$ ou $<+25\text{mV}$), as forças de atração superam a repulsão, gerando aglomeração das partículas, que podem coagular, flocular e precipitar. Valores elevados de potencial zeta ($<-25\text{mV}$ e $>+25\text{mV}$) conferem estabilidade, pois as partículas resistem à agregação e a dispersão coloidal é mantida (POLTE, 2015).

Figura 30 - Potencial Zeta de NPs carregadas negativamente



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores de potencial zeta estão expostos na Tabela 9. Observou-se valores negativos para todos os nanomateriais, indicando que a superfície das AgNPs está carregada negativamente. Isto sugere que houve a interação com os grupos funcionais dos constituintes e derivados do LCC. O AcAn (-32,0 mV) foi um estabilizante razoável na forma protonada, comparado as AgNPs sem estabilizantes (-25,1 mV), este valor indica que há repulsão eletrostática suficiente entre as nanopartículas para manter a suspensão coloidal. As AgNPs preparada com CDN e CD apresentam potencial menor que -25 mV, indicando que as micelas destes compostos não são capazes de manter a estabilidade das AgNPs, promovendo a coalescência e oxidação das mesmas.

Na teoria clássica de Gouy-Chapman, uma micela pode ser descrita como uma esfera uniformemente carregada, cercada por uma camada dupla difusa de íons de carga contrária, cuja concentração diminui com o afastamento da superfície da nanopartícula. A espessura da dupla camada elétrica depende fortemente da força iônica do meio contínuo e desempenha um papel muito importante em termos de estabilização de micelas carregadas, pois afeta as interações entre partículas. O aumento da força iônica, através da adição de um sal a uma suspensão micelar iônica, reduz a força elétrica de dupla camada, portanto, as forças de *van der Waals* predominam, resultando em agregação das micelas (VERWEY e OVERBEEK, 1946 *apud* GARDEN *et al.*, 2014).

A desprotonação dos constituintes do LCC em meio básico aumentou a densidade de carga na carboxila do AcAn e nas hidroxilas do CDN e CD e, por conseguinte, aumentou a repulsão eletrostática entre os surfactantes. A presença dos íons de prata e sódio reduz essa repulsão permitindo a formação de nanopartículas mais estáveis, além de reduzir a CMC e aumentar consideravelmente os valores de potencial zeta. Os valores observados indicam que estes materiais são excelentes estabilizantes.

Tabela 9 - Potencial Zeta, EDL e, IPD

Nanomaterial	Potencial Zeta (mV)	EDL (nm)	IPD
AgNPs	-25,1±5,01	33,06	0,551
AgAcAn	-32,0±5,66	299,3	0,206
AgCDN	-24,5±3,38	1039	0,216
AgCD	-8,09±3,62	550,5	0,182
AgNaAcAn	-94,7±10,6	167,6	0,342

AgNaCDN	-75,4±7,43	101,6	0,540
AgNaCD	-80,9±18,6	260,1	0,455

Fonte: Elaborado pelo autor.

O Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) é uma análise *in situ* que mostra o diâmetro hidrodinâmicos das nanopartículas e micelas, além do índice de polidispersão ou distribuição do tamanho das NPs. As AgNPs na ausência de surfactantes apresentam um tamanho hidrodinâmico de 33,15 nm, porém estas não são monodispersas (IPD <0,2). Garden *et al.* (2014) afirma que as micelas normais podem formar agregados a partir da adição do NaBH₄, que atuam como moldes (*templates*) ou estruturas de suporte para a síntese das AgNPs, na CMC ou acima desta. Dentro dessa linha de trabalho, observou-se pelas medidas de EDL, na Tabela 9, que todas os AgNPs com constituintes do LCC estariam fora da classificação de NPs (1-100 nm). No entanto, os valores observados são uma somatória de agregados micelares e das nanopartículas metálicas.

O diâmetro obtido por medidas de EDL representam o tamanho de uma esfera hidratada se difundindo na mesma taxa das partículas. Logo, a conformação não-esférica dos agregados micelares contendo as AgNPs pode afetar a interpretação da velocidade de difusão, resultando em uma distribuição de tamanho multimodal. Isto é, com o valor de IPD elevados. Em vista desse problema, realizou-se a microscopia eletrônica de varredura, para observar a morfologia das NPs

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

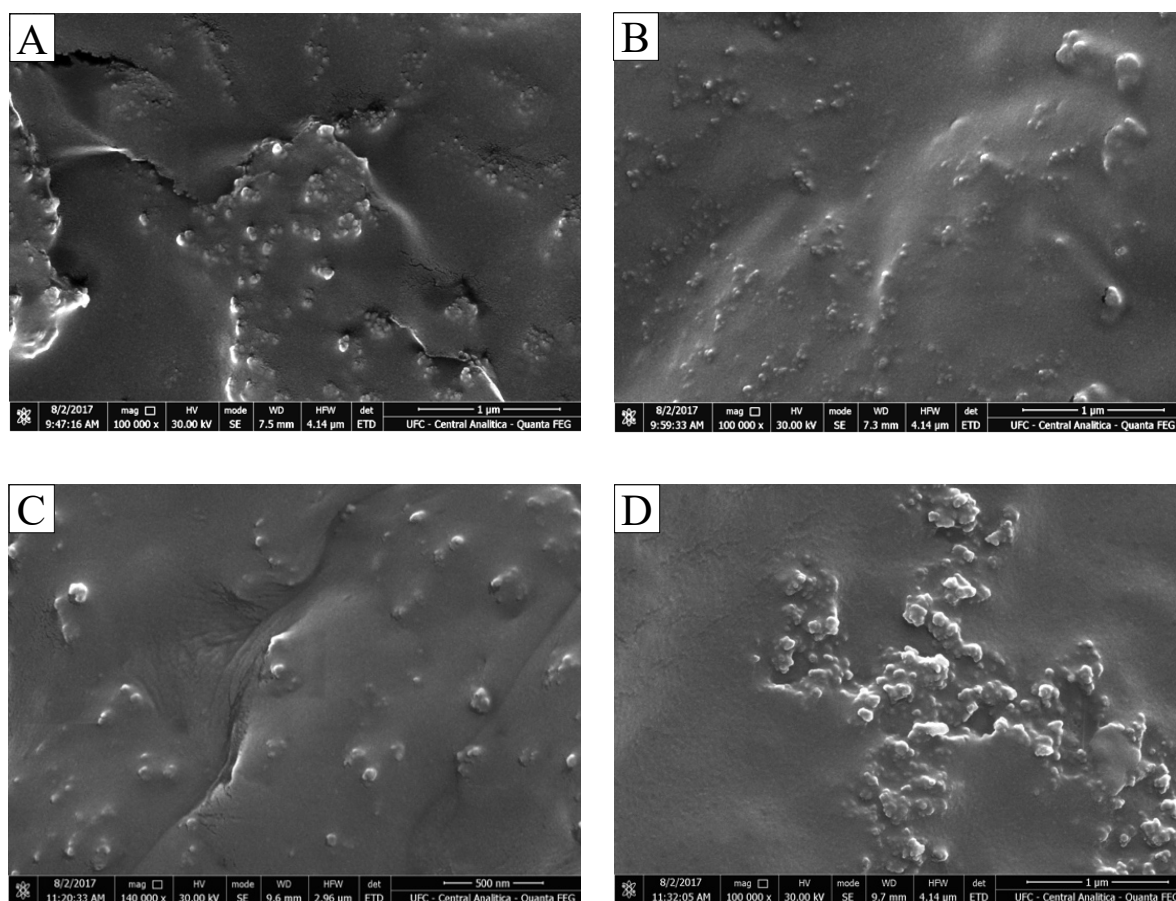
O controle da forma e tamanho permite moldar as propriedades ópticas e antimicrobianas das AgNPs (Agnihotri *et al.*, 2014). A adição de agentes estabilizantes pode causar alterações na energia livre de diferentes planos cristalográficos, guiando o crescimento das NPs (Polte, 2015). Os agregados micelares dos constituintes do LCC atuam como moldes para a síntese das AgNPs. Avaliou-se a morfologia dos nanomateriais por MEV, a partir dos elétrons retroespalhados, uma vez que metais pesados, como a prata, espalham elétrons mais intensamente que elementos leves ($Z < 56$) e, portanto, aparecem de forma mais clara nas análises (GICHEVA e YORDANOVE, 2013).

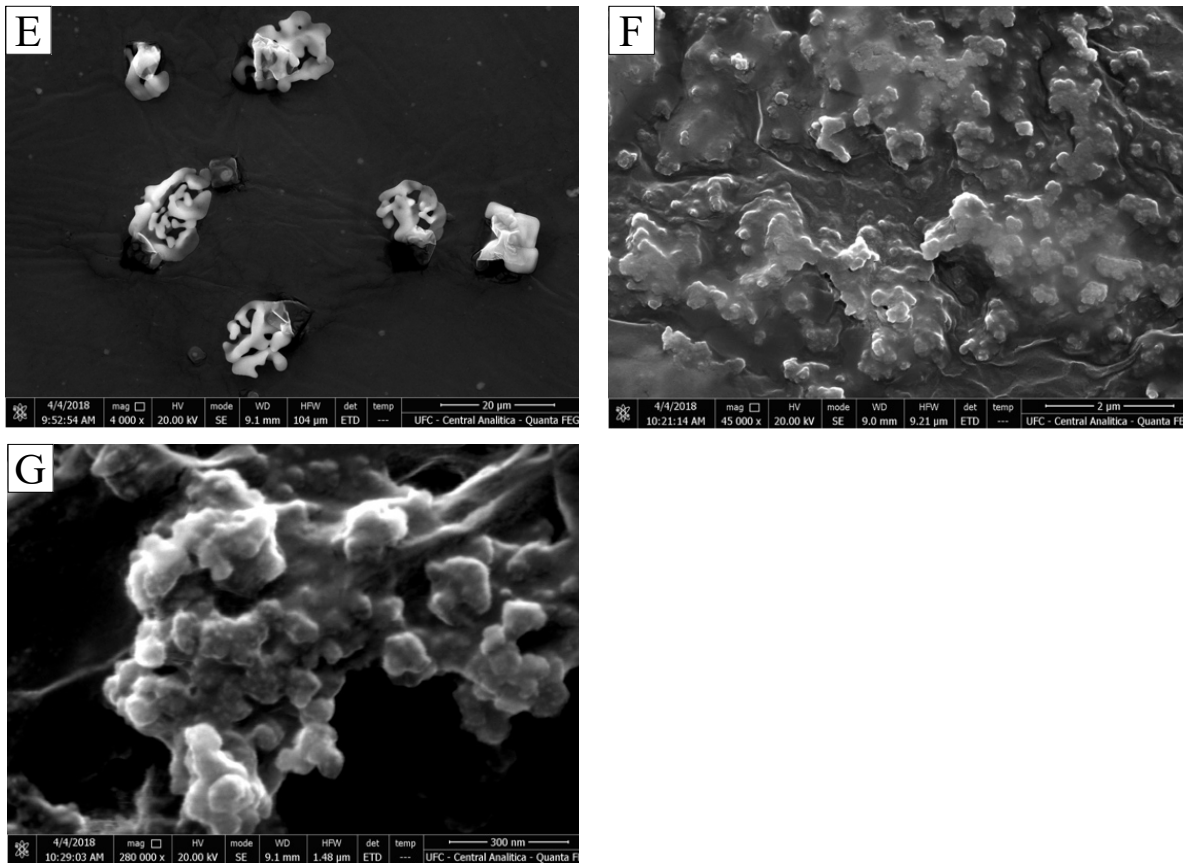
A MEV é uma técnica *ex situ*, ou seja, podem ocorrer mudanças nas características das AgNPs uma vez que não estão na sua forma mais estável. Durante o processo de secagem, a evaporação do solvente leva a um aumento na concentração das NPs e nas forças de atração

(*van der Waals*), promovendo a deposição e aglomeração das AgNPs nas bordas da gota (efeito *coffe-ring*). Os problemas decorrentes da secagem de NPs coloidais são chamados de *drying-artifacts* (MICHEN *et al.*, 2015).

Os constituintes do LCC formam uma camada recobrendo as AgNPs e, assim, impedindo a visualização completa da morfologia, como nas AgNPs sem estabilizantes, Figura 31a. A baixa concentração de AgNPs em relação à concentração do surfactante também promove os *drying artifacts*, ocasionando uma falsa representação da morfologia real das NPs e impedindo a contagem das mesmas (GARDEN *et al.*, 2014).

Figura 31 – Imagens de MEV das (a) AgNPs, (b) AgAcAn, (c) AgCDN, (d) AgCD, (e) AgNaAcAn, (f) AgNaCDN e (g) AgNaCD.

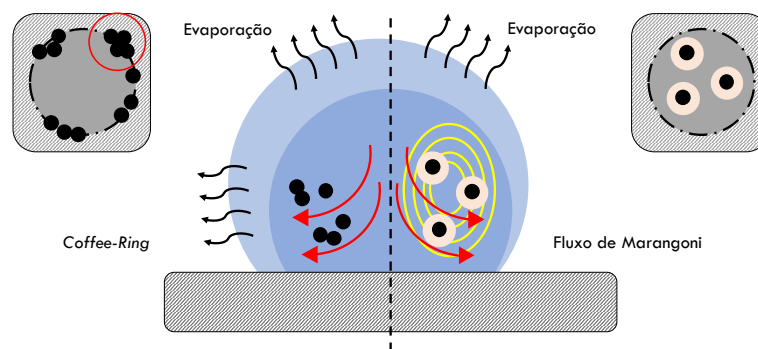




Fonte: Elaborado pelo autor.

As AgNPs com os constituintes do LCC (Figuras 31b, 31c e 31d) mostram AgNPs mais separadas, do que aquelas com os sais (Figuras 31e, 31f e 31g). Este fenômeno ocorre devido a presença de etanol na gota, que reduz a tensão superficial e o tempo de secagem, contribuindo para o fluxo de *Marangoni* (Figura 32), que é a deposição homogênea das NPs na superfície, enquanto as amostras cujo meio era apenas água, sofreram do efeito *coffe-ring* que é a deposição nas nanopartículas nas bordas da gota.

Figura 32 - Fluxo de Marangoni



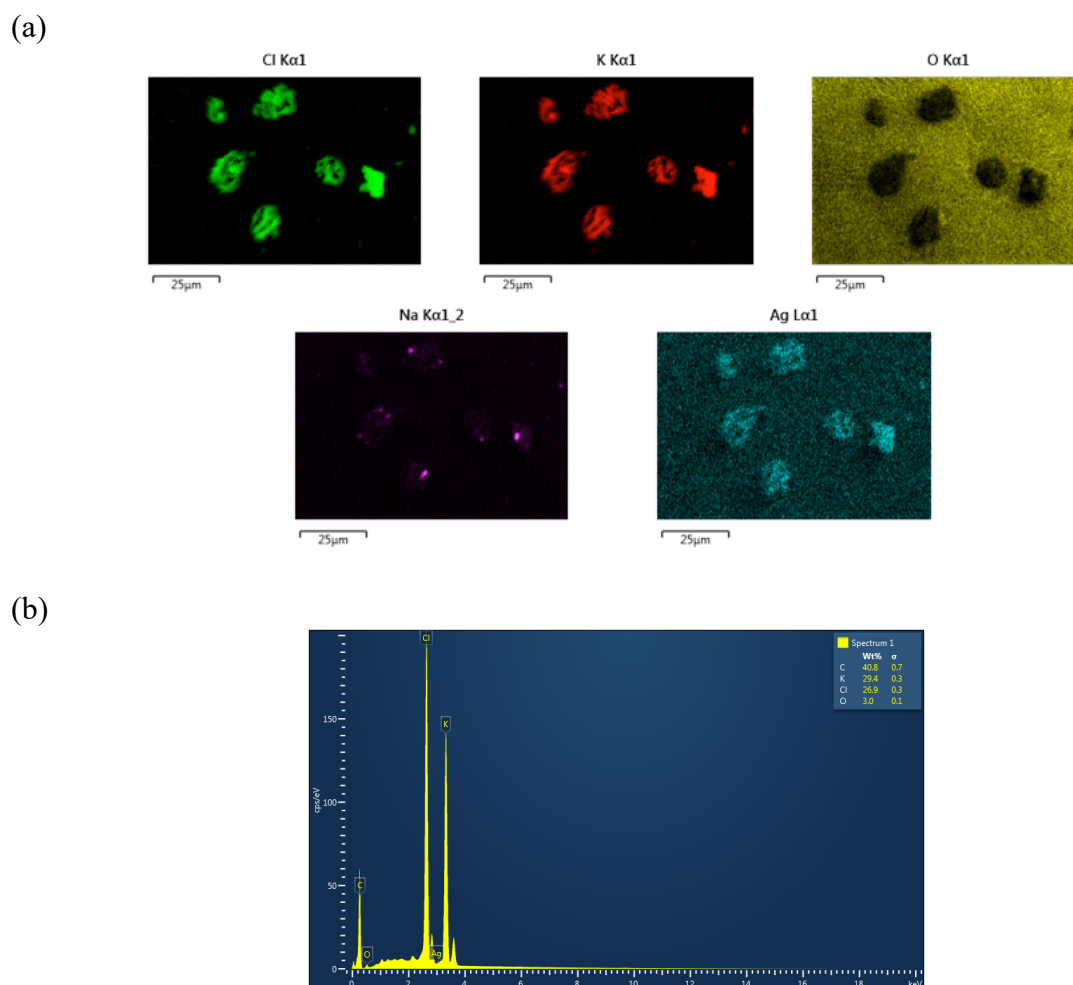
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.8 Espectroscopia de Raios-X por Dispersão de Energia (EDX)

As análises de UV-Vis, Fluorescência, e potencial zeta indicam que o produto AgNaAcAn teve as melhores propriedades entre os demais, contudo, as imagens de MEV não permitiram a visualização das nanopartículas. As imagens de EDX (Figura 33) mostraram que o hidróxido de sódio utilizado na preparação de NaAcAn estava contaminado com átomos de Cl e K, os quais formaram cristais de KCl.

As AgNPs possuem um tamanho fora do alcance de magnificação do MEV, por esta razão não puderam ser observadas nas imagens regulares, contudo nas imagens de fluorescência, observamos as nanopartículas e os átomos de oxigênio espalhados pela fita de carbono, indicando que as nanopartículas não formaram agregados devido a estabilização por NaAcAn.

Figura 33 – Imagens de Fluorescência de Raios-X (a) e Espectro de EDX (b) de AgNaAcAn



Fonte: Elaborado pelo autor

4.9 Imobilização das AgNPs na Galactomanana de *Adenantha pavonina* L.

4.9.1 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C

Apesar dos constituintes do LCC e seus derivados atuarem como estabilizantes, não foi possível obter as AgNPs na forma de sólida por ultra-centrifugação e liofilização. Isto impossibilitava a caracterização destes nanomateriais por outras técnicas como DRX e espectroscopia de Raman. Em busca de alternativas, a galactomanana da semente de *Adenantha pavonina* L. surge como um candidato, pois alguns trabalhos já reportaram sua interação AgNPs e aplicação antimicrobiana (AUDDY *et al.* 2013).

A galactomanana de *Adenantha pavonina* L. foi caracterizada por espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C (Figura 34). A região anomérica mostrou dois sinais, atribuídos como C1 de α -D-galactose ($\delta = 100,65$ ppm) e C1 de β -D-manose ($\delta = 99,486$ ppm). O sinal em 61,82 ppm foi atribuído ao C6 de unidades α -D-galactopiranosose não substituídos, enquanto em 67,1 ppm foi associado ao C6 de unidades β -D-manopiranosose substituídas por unidades α -D-galactopiranosose. Os demais sinais são apresentados na Tabela 10.

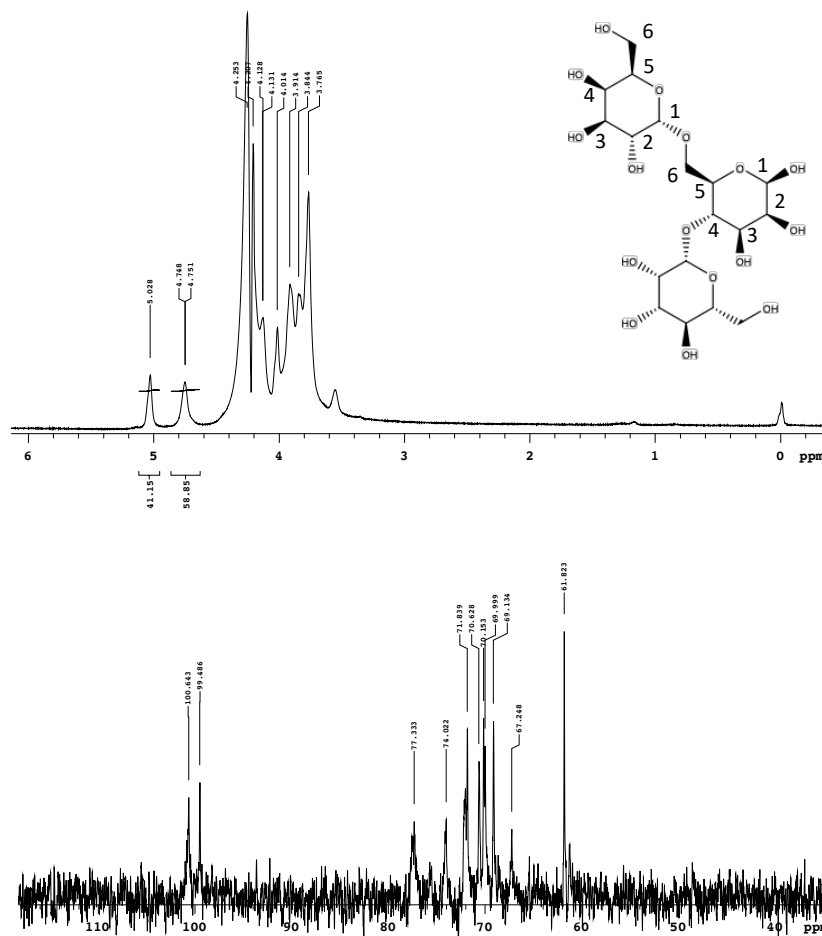
A partir das integrações dos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios dos carbonos anoméricos do espectro de RMN ^1H para a galactomanana, determinou-se a relação molar entre Manose e Galactose (M/G). O aumento na quantidade de unidades de α -D-galactopiranosose implica diretamente no aumento da solubilidade e na interação com outras substâncias. (GUSM *et al.* 2018). A α -D-galactopiranosose ($\delta = 5,03$ ppm) e β -D-manopiranosose ($\delta = 4,75$ ppm), apresentaram valores de integração iguais a 41,15 e 58,85, respectivamente, proporcionando uma razão M/G=1,43/1,00. Esta razão é menor que as três maiores fontes comerciais de galactomanana: goma guar M/G =1,5; tara M/G=3,00 (LEA *et al.* 2011).

Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C da galactomanana

Número	α -D-galactopiranosose		β -D-manopiranosose	
	H	C	H	C
1	5,03	100,65	4,75	99,486
2	4,01	70,6	4,01	69,1
3	3,91	72,0	4,13	70,15
4	3,91	77,3	4,12	70,0
5	3,83	74,0	4,20	71,83
6	3,76	61,82	3,84	67,1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 34 - Espectros de RMN ^1H e ^{13}C da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L.

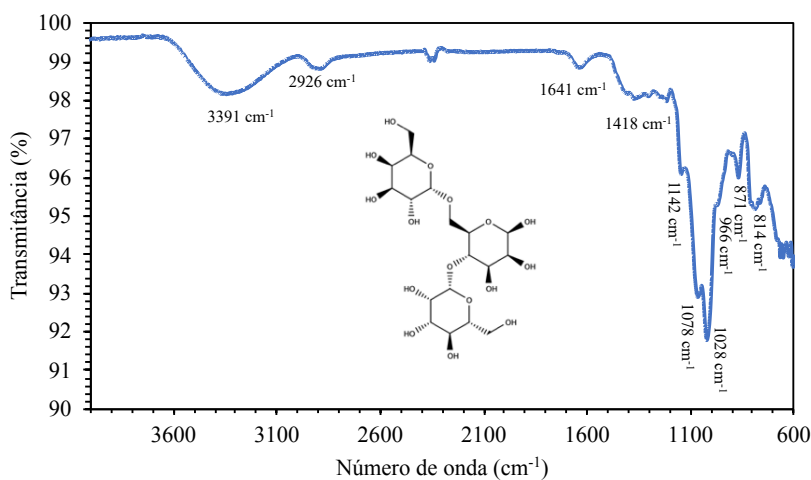


Fonte: Elaborado pelo autor

4.9.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR)

A galactomanana é um biopolímero bastante caracterizado na literatura. Porém o espectro de infravermelho apresenta pequenas variações dependendo da espécie de planta utilizada. A Figura 35 mostra o espectro na região do infravermelho da galactomanana de *Adenanthera pavonina* L e os estiramentos e vibrações estão expostos na Tabela 11.. O estiramento $\nu\text{O-H}$ em 3391 cm^{-1} é referente às hidroxilas dos carboidratos e a presença de umidade. O pico em 2926 cm^{-1} indica o estiramento C-H, combinado aos picos entre $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ são referentes aos grupos funcionais característicos de carboidratos poliméricos. O estiramento em 1653 cm^{-1} indica a presença de grupos amida, provenientes de proteínas presentes na galactomanana. As deformações em 871 cm^{-1} e 814 cm^{-1} são referentes às configurações anoméricas (oscilações C-H dos conformeros α e β) e ligações glicosídicas atribuídas às unidades de $\beta\text{-D}$ -manopirranose e $\alpha\text{-D}$ -galactopirranose.

Figura 35 - Espectro na região do Infravermelho da galactomanana



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 11 - Estiramentos e deformações da galactomanana

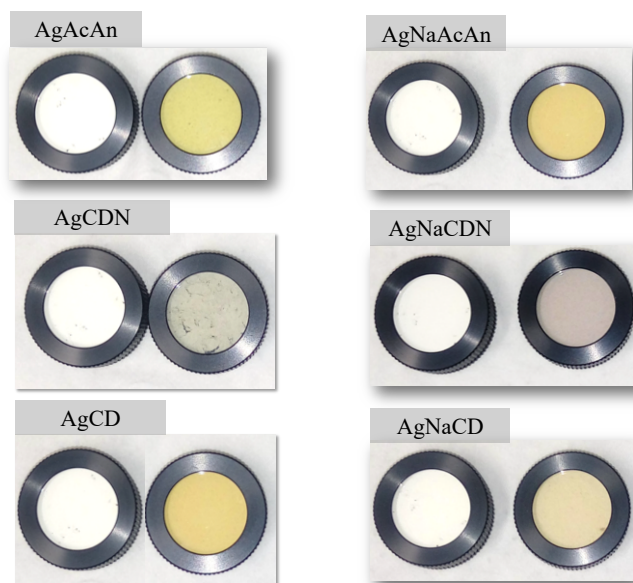
Número de onda (cm ⁻¹)	Estiramento	Deformação
3391	vO-H	
2926	vC-H	
1641	v-CONH-	
1418		δC-OH
1142		δC-O-C
1078		δC-O
1028		δC-OH
966		δC-OH
871		β-D-manopirranose
814		α-D-galactopirranose

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.9.3 Caracterização dos nanocompósitos por Espectroscopia de Reflectância Difusa

Durante o preparo dos nanocompósitos, ao misturar a os nanomateriais à galactomanana, a elevada viscosidade reduz o movimento browniano das AgNPs e, conseqüentemente, reduz as colisões entre as NPs, portanto, impedindo a coalescência das mesmas. A Figura 36 mostra que após o processo de precipitação em etanol, as fibras foram maceradas sob ar quente, formando pós finos, cujas colorações variavam de acordo com os nanomateriais encapsulados.

Figura 36 - Nanocompósitos encapsulados em galactomanana

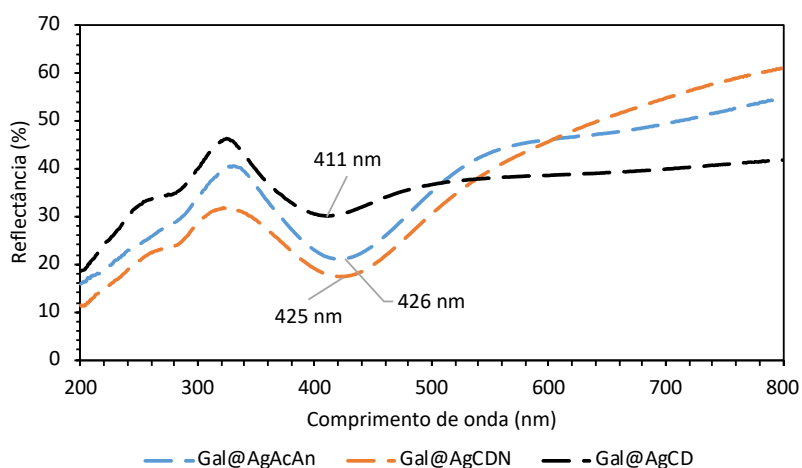


Fonte: Elaborado pelo autor.

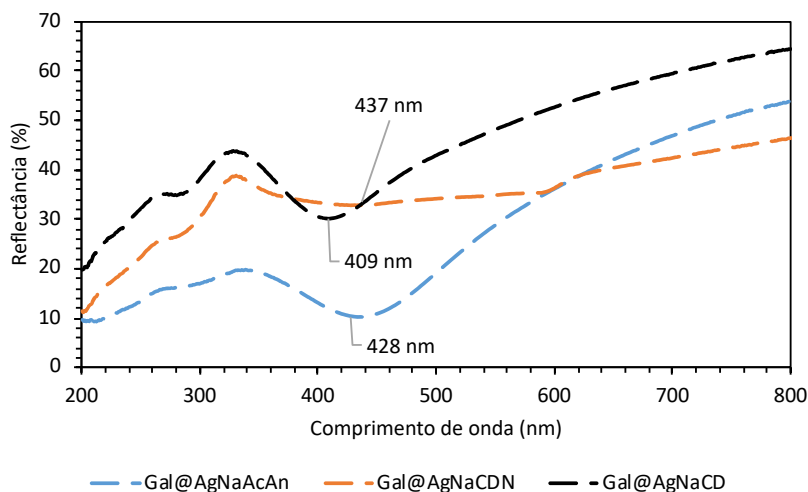
A luz não pode penetrar amostras opacas (sólidos), sendo refletida pela superfície das mesmas. A imobilização foi realizada imediatamente após a síntese das AgNPs, para garantir o rendimento máximo, como estas foram armazenadas em pequenas quantidades de galactomanana, observou-se um aumento na absorbância e um deslocamento no comprimento de onda de absorção. A Figura 37 mostra os espectros de Reflectância Difusa das AgNPs com os constituintes do LCC e os sais imobilizados em galactomanana.

Figura 37 - Espectroscopia de Reflectância Difusa de (a) Gal@AgAcAn, Gal@AgCDN e, Gal@AgCD; (b)Gal@AgNaAcAn, Gal@AgNaCDN e, Gal@AgNaCD.

(a)



(b)



Fonte: Elaborado pelo autor.

O nanocompósito Gal@AgNaAcAn apresentou a maior taxa de absorção em comparação aos outros compostos, uma vez que possui a menor reflectância/menor absorbância. Os nanocompósitos Gal@AgNaCDN e Gal@AgNaCD não apresentaram um bom aspecto físico, nem a coloração amarela característica das AgNPs, apesar dos espectros de reflectância difusa confirmarem a presença dessas. Isto pode ser atribuído à uma interação menor entre CDN e a Galactomanana, o que por consequência, reduz a estabilidade das NPs.

Observou-se que há um limite de adsorção dos nanomateriais à galactomanana dependente do tipo de nanomaterial a ser imobilizado. As AgNPs imobilizadas com LCC no estado protonado apresentaram excelentes rendimentos, uma vez que a precipitação ocorre imediatamente, pois há etanol na solução. As AgNaAcAn apresentaram boa interação com a galactomanana, enquanto as AgNaCDN e AgNaCD não adsorveram bem à superfície ou foram solubilizadas durante a lavagem.

A coloração da galactomanana foi alterada de acordo com os nanomateriais adsorvidos. A presença destes nanomateriais, aumentam a resistência da galactomanana e o tempo de prateleira, pois constituintes do LCC e as AgNPs têm propriedades antimicrobianas.

5 CONCLUSÃO

Os constituintes do LCC natural e técnico foram separados e purificados com sucesso, obtendo-se o AcAn, CDN e, CD. A reação destes materiais com NaOH promoveu a formação dos sais NaAcAn, NaCDN e, NaCD, os quais são solúveis em água e comportam-se como surfactantes aniônicos. O estudo de comparação entre o efeito do aquecimento por método convencional *versus* irradiação de micro-ondas na síntese de AgNPs demonstrou que este último promove a formação de NPs em maior quantidade sem afetar o tamanho das mesmas.

Além disso, determinou-se a CMC dos surfactantes por medidas de condutividade e espectroscopia de UV-Vis, na presença e ausência das NPs. A desprotonação dos constituintes do LCC e a presença de AgNPs reduziu a quantidade de surfactante necessária para haver formação de micelas, implicando em menor polidispersão. Essas análises demonstraram que o CDN e o CD não interagiram fortemente com as AgNPs promovendo agregação e aglomeração das mesmas. A espectroscopia de Fluorescência mostrou que os nanomateriais, quando excitados por um laser com comprimento de onda de $\lambda=420$ nm, emitiram luz na região do azul ($\lambda=490$ nm), sugerindo sua utilização como sondas fluorescentes para análises em amostras biológicas.

A estabilidade coloidal foi avaliada por potencial zeta, a qual demonstrou que as AgNPs estão com a superfície carregada negativamente. AgNaAcAn, AgNaCDN e AgNaCD apresentaram elevada estabilidade coloidal ($\xi < -60$ mV). O EDL mostrou que os constituintes do LCC reduziram a polidispersão e o aumento na densidade de carga dos sais reduziu o tamanho dos agregados micelares. As AgNPs sofreram de *drying-artifacts* nas análises de MEV, promovendo a agregação das AgNPs nas bordas da gota e impedindo a estimativa do tamanho. A galactomanana de *Adenantha pavonina* L. atuou como excelente imobilizante para as AgNPs, permitindo a obtenção das mesmas na forma de pó e expandindo as aplicações biológicas deste nanocompósito com potenciais agentes antileishmania.

O estudo a possível atuação dos nanocompósitos indica que estes podem ser entregues por via oral e dissolvidos no cólon. Devido a presença de um grupo receptor de manose (constituente majoritário da galactomanana) nos macrófagos, os compostos seriam entregues sem danificar a célula. Os constituintes do LCC podem bloquear a atuação e uma enzima glicolítica importante, o GAPDH, causando a morte dos protozoários, enquanto as AgNPs interagem com a tripanotona reductase, deixando o protozoário susceptível ao estresse oxidativo.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Realizar os testes de citotoxicidade (CC_{50}) e de atividade antileishmania (LC_{50}) dos nanocompósitos em protozoários do gênero *Leishmania*;

REFERÊNCIAS

- ABD-ELAAL, A. A.; TAWFIK, S. M.; SHABAN, S. M. Simple one step synthesis of nonionic dithiol surfactants and their self-assembling with silver nanoparticles: characterization, surface properties, biological activity. **Applied Surface Science**, v. 342, p. 144–153, 2015.
- AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Immobilized silver nanoparticles enhance contact killing and show highest efficacy: elucidation of the mechanism of bactericidal action of silver. **Nanoscale**, v. 5, n. 16, p. 7328, 2013.
- AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **RSC Advances**, v. 4, n. 8, p. 3974–3983, 2014.
- AKBARI, M.; ORYAN, A.; HATAM, G. Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: a review. **Acta Tropica**, v. 172, p. 86–90, 2017.
- BAI, W. *et al.* Synthesis and characterization of cross-linked polymer from cardanol by solvent-free grinding polymerization. **Progress in Organic Coatings**, v. 75, n. 3, p. 184–189, 2012.
- BLANCO, V.R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N.M. Leishmaniasis: general aspects related with the disease, the parasite cycle, available drugs, novel prototypes and vaccines. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 861–876, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose Tegumentar**. 2019. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-tegumentar>. Acesso em: 13 jan. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose Visceral**. 2019. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-visceral>. Acesso em: 13 jan. 2019.
- DAHAL, N. *et al.* Beneficial Effects of Microwave-Assisted Heating versus Conventional Heating in Noble Metal Nanoparticles Synthesis. **ACS Nano**, v.6, n.11, p. 9433-9466, 2012.
- DAS, R.; SARKAR, S. Optical properties of silver nano-cubes. **Optical Materials**, v. 48, p. 203–208, 2015.
- DE ALBUQUERQUE, P. B. S. *et al.* Biotechnological Applications of Galactomannan Matrices: Emphasis on Immobilization of Biomolecules. **Advances in Research**, v. 6, n. 5, p. 1–17, 2016.
- DOS SANTOS, V. R. F. *et al.* Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 8292–8299, 2015.
- GANAPATHY-KANNIAPPAN, S. Expert opinion on therapeutic targets evolution of GAPDH as a druggable target of tumor glycolysis ? **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 22, n. 4, p. 295–298, 2018.

GARDEN, A. L. *et al.* Optimized colloidal chemistry for micelle-templated synthesis and assembly of silver nanocomposite materials. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 441, p. 367–377, 2014.

GHOSH AUDDY, R. *et al.* New guar biopolymer silver nanocomposites for wound healing applications. **BioMed Research International**, p. 1–8, 2013.

GICHEVA, G.; YORDANOV, G. Removal of citrate-coated silver nanoparticles from aqueous dispersions by using activated carbon. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 431, p. 51–59, 2013.

GRISEL, M. *et al.* Impact of fine structure of galactomannans on their interactions with xanthan: Two co-existing mechanisms to explain the synergy. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 449–458, 2015.

GUSM, Í. *et al.* Antidiabetic effects of galactomannans from *Adenantha pavonina* L. in streptozotocin-induced diabetic mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 11, n. 2, p. 116–122, 2018.

HEINZ, H. *et al.* Nanoparticle decoration with surfactants: molecular interactions, assembly, and applications. **Surface Science Reports**, v. 72, n. 1, p. 1–58, 2017.

HRUBÝ, M.; HRADIL, J.; BENEŠ, M. J. Interactions of phenols with silver(I), copper(II) and iron(III) complexes of chelating methacrylate-based polymeric sorbent containing quinolin-8-ol groups. **Reactive and Functional Polymers**, v. 59, n. 2, p. 105–118, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>. Acesso em: 13 jan. 2019.

JAIN, V.; JAIN, K. Molecular targets and pathways for the treatment of visceral leishmaniasis. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 1, p. 161–170, 2018.

KARIMI, M. A. *et al.* A new simple method for determining the critical micelle concentration of surfactants using surface plasmon resonance of silver nanoparticles. **Journal of Analytical Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 35, 2015.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New world and old world Leishmania infections: a practical review. **Dermatologic Clinics**, v. 33, n. 3, p. 579–593, 2015.

LÉA, J. *et al.* Pharmaceutical use of galactomannans. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 292–299, 2011.

LIBERTI, M. V *et al.* A predictive model for selective targeting of the warburg effect through GAPDH inhibition with a natural product. **Cell Metabolism**, v. 26, n. 4, p. 648–659.e8, 2017.

MALIK, M. A. *et al.* The synthesis, spectroscopy and X-ray single crystal structure of catena-[(μ -anacardato)-copper(ii)bipyridine][Cu₂{(μ -O₂CC₆H₃(*o*-OH)(*o*-C₁₅H₃₁)}₄(NC₅H₅)₂]. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 40, p. 14438, 2013.

MARTINEZ-POMARES, L. *et al.* Carbohydrate-independent recognition of collagens by the macrophage mannose receptor. **European Journal of Immunology**, v. 36, n. 5, p. 1074–1082, 2006.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Cashew nut oil: Opportunities and challenges in the context of sustainable industrial development. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 732–741, 2009.

MCGILLICUDDY, E. *et al.* Silver nanoparticles in the environment: sources, detection and ecotoxicology. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 231–246, 2017.

MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329–350, 2015.

MUKHA, I. *et al.* The pH-dependent structure and properties of Au and Ag nanoparticles produced by tryptophan reduction. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2016.

NIMMERMARK, A.; ÖHRSTRÖM, L.; REEDIJK, J. Metal-ligand bond lengths and strengths: are they correlated? A detailed CSD analysis. **Zeitschrift für Kristallographie**, v. 288, n. 7, p. 311–317, 2013.

ODONNE, G. *et al.* Treating leishmaniasis in Amazonia: a review of ethnomedicinal concepts and pharmaco-chemical analysis of traditional treatments to inspire modern phytotherapies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 199, n. October 2016, p. 211–230, 2017.

ORYAN, A.; AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 925–932, 2016.

PEREIRA, J. M. *et al.* Anacardic acid derivatives as inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 16, n. 19, p. 8889–8895, 2008.

PIRES, N. DA R. **Síntese verde e parcialmente verde de nanopartículas de prata estabilizadas por galactomanana da fava danta**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2013. 101 p. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/15675>. Acesso em: 21 nov. 2018.

POLTE, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. **CrystEngComm**, v. 17, n. 36, p. 6809–6830, 2015.

PRAJAPATI, V. D. *et al.* Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 83–92, 2013.

PRESTI, M. S. LO *et al.* Trypanothione reductase inhibitors: overview of the action of thioridazine in different stages of Chagas disease. **Acta Tropica**, v. 145, p. 79–87, 2015.

RIBEIRO, V. G. P. *et al.* Magnetic nanoparticles coated with anacardic acid derived from cashew nut shell liquid. **Journal of Materials Science**, v. 48, n. 22, p. 7875–7882, 2013.

SALEM, J. K. *et al.* Utilization of surface plasmon resonance band of silver nanoparticles for determination of critical micelle concentration of cationic surfactants. **Journal of Molecular Liquids**, v. 223, p. 771–774, 2016.

SALEM, J. K. *et al.* Utilization of surface plasmon resonance band of silver nanoparticles for determination of critical micelle concentration of cationic surfactants. **Journal of Molecular Liquids**, v. 223, p. 771–774, 2016.

SARKAR, S.; DAS, R. Shape effect on the optical properties of anisotropic silver nanocrystals. **Journal of Luminescence**, v. 198, n. April 2017, p. 464–470, 2018.

TSUJI, M. Microwave-assisted synthesis of metallic nanomaterials in liquid phase. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 2, p. 805–819, 2017.

VERWEY, E.J.W.; OVERBEEK, J.T.G. Long distance forces acting between colloidal particles. **Transactions of the Faraday Society**, v. 42, p. 117–123, 1946.

VIDAL, M. F. Cajucultura nordestina continua em declínio. **Caderno Setorial ETENE**, v. 2, n. 22, p. 1–11, 2017.

World Health Organization. **Leishmaniasis**. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/en/>. Acessado em: 01 de maio de 2018.

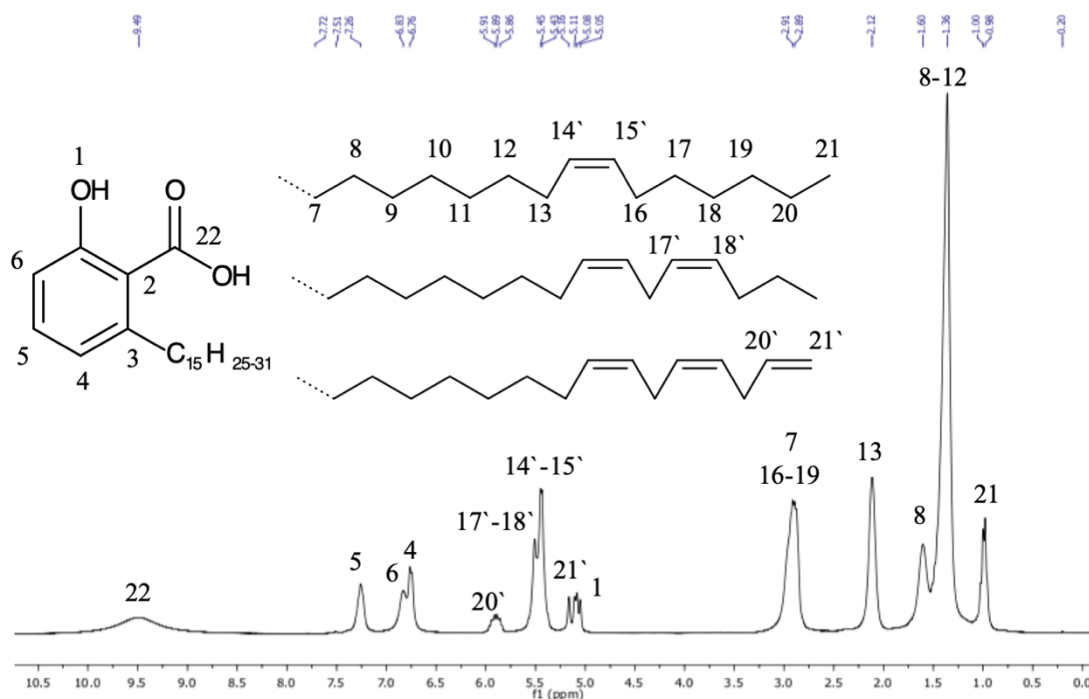
ZHANG, W.; QIAO, X.; CHEN, J. Synthesis of silver nanoparticles — Effects of concerned parameters in water / oil microemulsion. **Materials Science and Engineering B**, v. 142, p. 1–15, 2007.

ZHANG, Z. *et al.* Surface plasmon-driven photocatalysis in ambient, aqueous and high-vacuum monitored by SERS and TERS. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 47, n. 8, p. 100–112, 2015.

ZULFIQAR, B.; SHELPER, T. B.; AVERY, V. M. Leishmaniasis drug discovery: recent progress and challenges in assay development. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 10, 2017

APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN ¹H DO (A) ÁCIDO ANACÁRDICO, (B) CARDANOL E (C) CARDOL

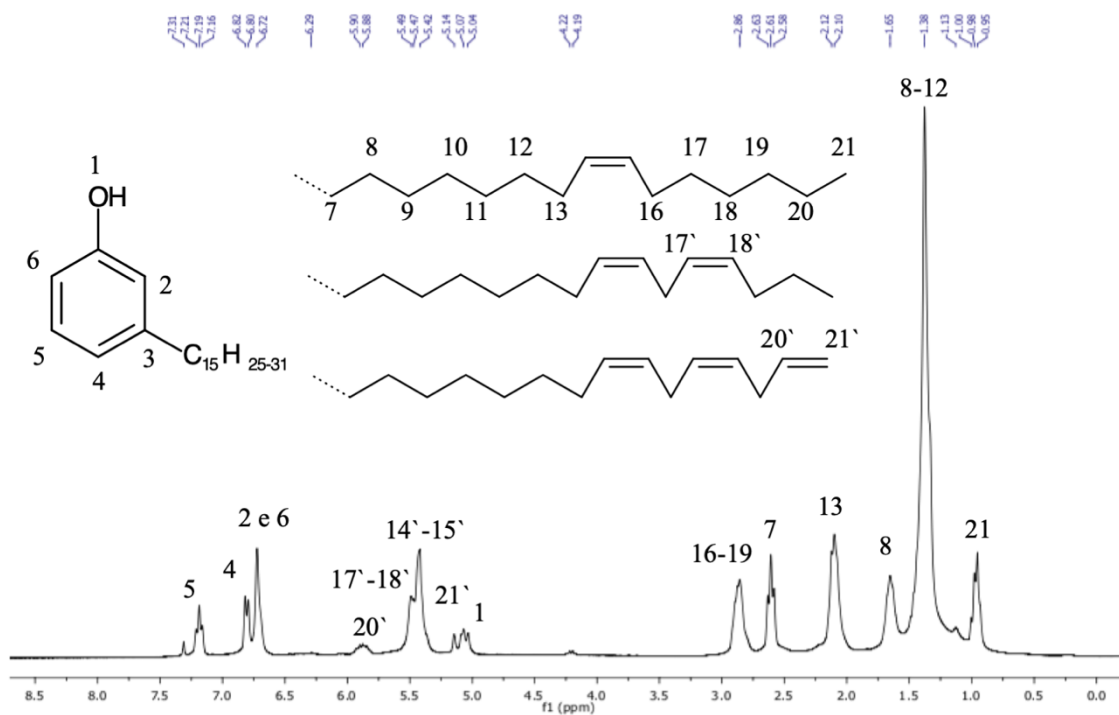
(a)



RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 9,49 ppm (COOH); 7,51 ppm (1H,t, H-5); 6,83 ppm (1H, d, H-6); 6,76 ppm (1H, d, H-4); 5,89 ppm (2H, m, H-20'); 5,44 ppm (4H, m, H-14',15',17',18'); 5,16 ppm (1Ha, dd, *cis*, H-21'); 5,08 ppm (1Hb, dd, *trans*, H-21'); 2,89 ppm (2H, t, H-7); 2,89 ppm (4H, m, H-16,19); 2,11 ppm (2H, t, H-13); 1,60 ppm (2H, m, H-8); 1,36 ppm (8H, m, H-9,10,11,12); 0,99 ppm (3H, t, H-21).

Fonte: Elaborado pelo autor.

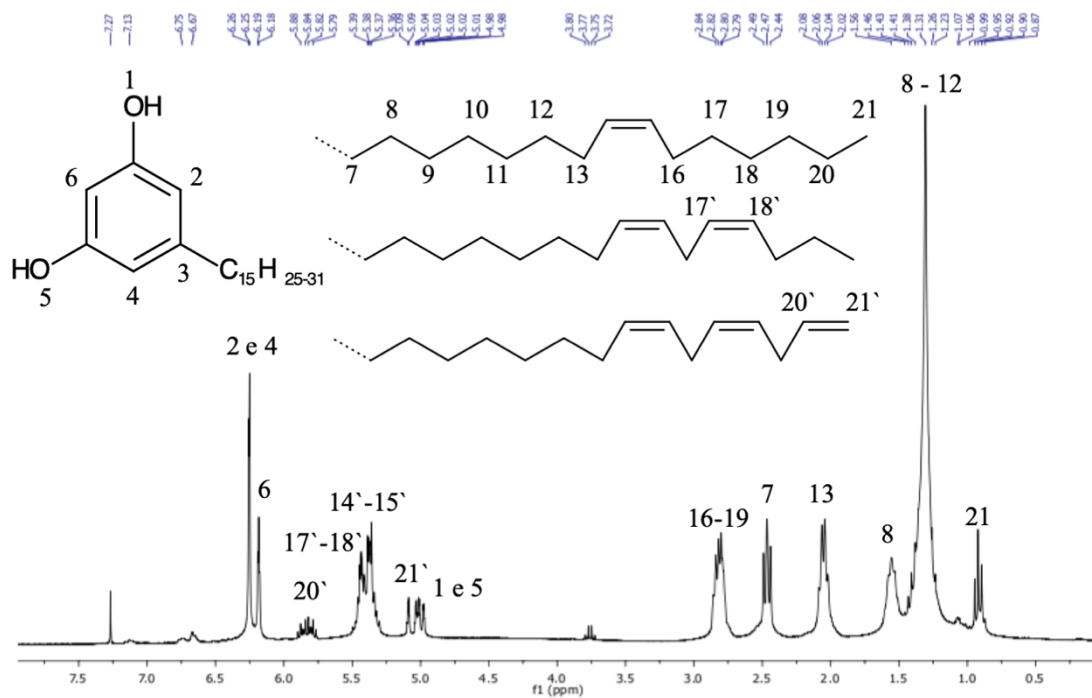
(b)



RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7,20 ppm (1H, t, H-5); 6,82 ppm (1H, d, H-4); 6,72 ppm (2H, d, H-2,6); 5,89 ppm (2H, m, H-20'); 5,44 ppm (4H, m, H-14',15',17',18'); 5,16 ppm (1Ha, dd, *cis*, H-21'); 5,08 ppm (1Hb, dd, *trans*, H-21'); 2,90 ppm (4H, m, H-16,19); 2,61 ppm (2H, t, H-7); 2,11 ppm (2H, t, H-13); 1,60 ppm (2H, m, H-8); 1,38 ppm (8H, m, H-9,10,11,12); 0,97 ppm (3H, t, H-21).

Fonte: Elaborado pelo autor.

(c)

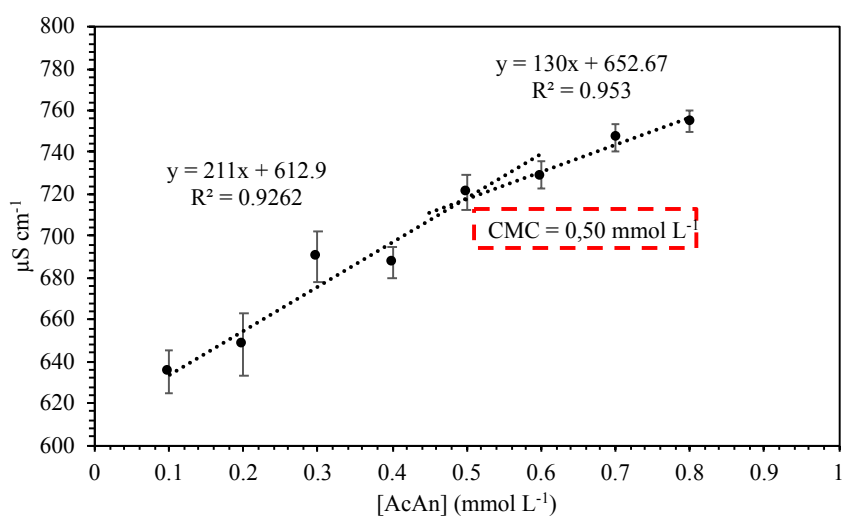


RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) δ: 6,26 ppm (2H, s, H-2,4); 6,18 ppm (1H, s, H-6); 5,84 ppm (2H, m, H-20'); 5,38 ppm (2H, m, H-14',15',17',18'); 5,09 ppm (1H_a, dd, *cis*, H-21'); 5,01 ppm (1H_b, dd, *trans*, H-21'); 2,82 ppm (2H, t, H-16,19); 2,47 ppm (2H, m, H-7); 2,06 ppm (2H, t, H-13); 1,56 ppm (2H, m, H-8); 1,31 ppm (8H, m, H-9,10,11,12); 0,95 ppm (3H, t, H-21).

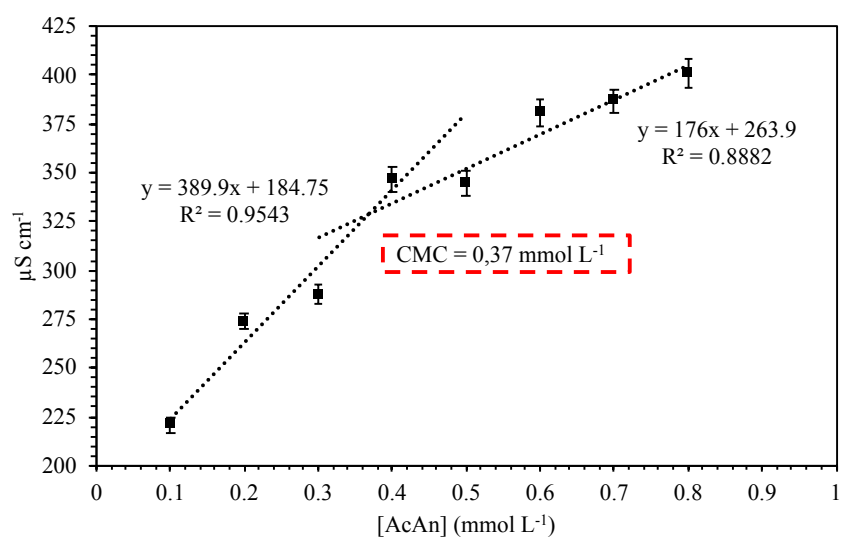
Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE B - CMC DO (A) AcAn, (B) AgAcAn, (C) CD E (D) AgCD

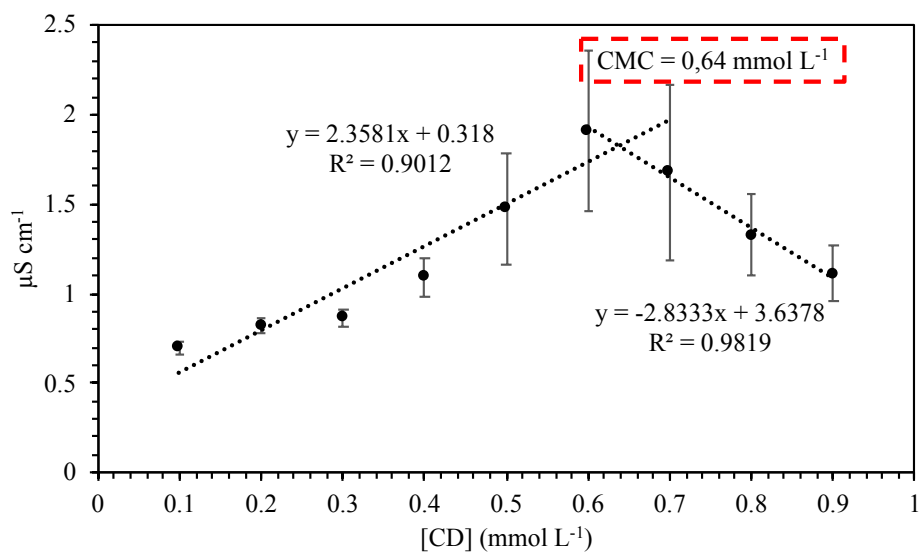
(a)



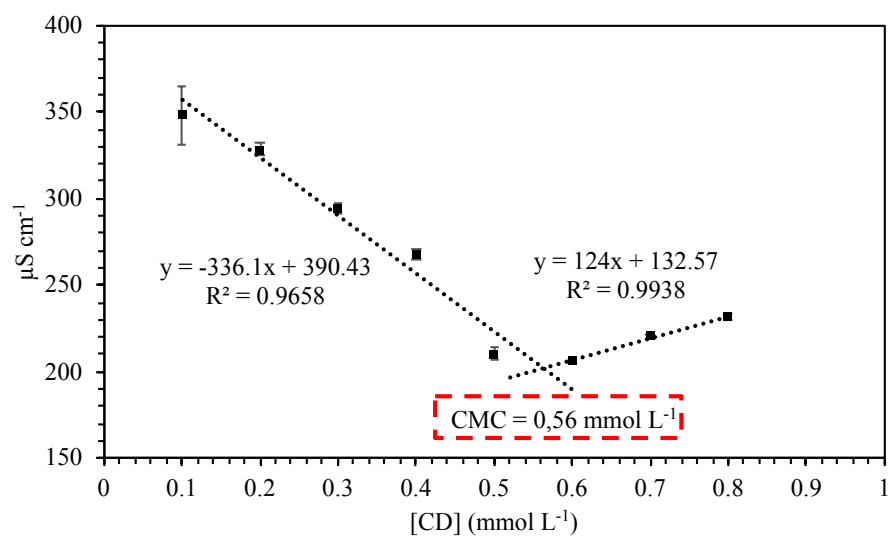
(b)



(c)



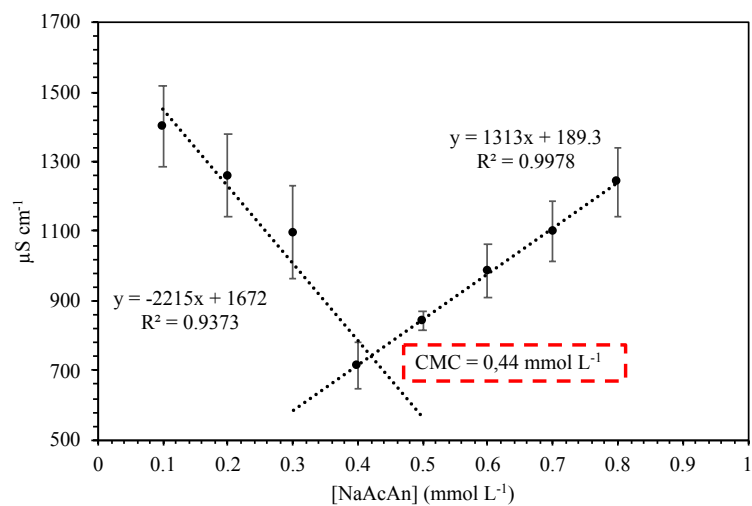
(d)



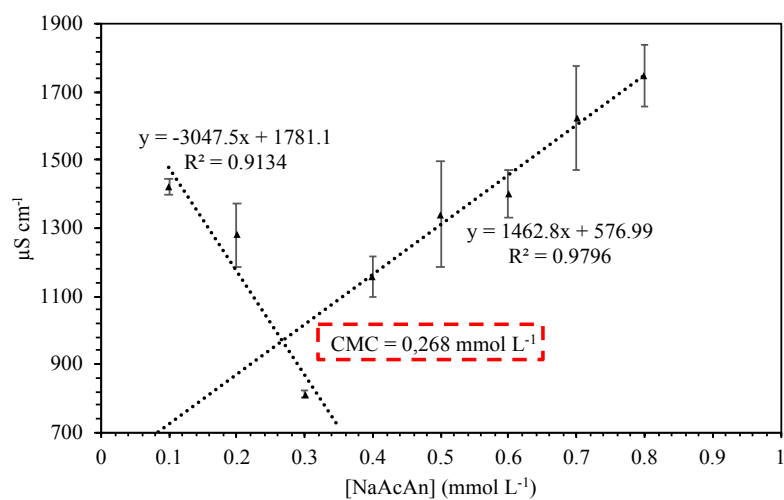
Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE C - CMC DO (A) NaAcAn, (B) AgNaAcAn, (C) NaCDN, (D) AgNaCDN,
(E) NaCD E (F) AgNaCD

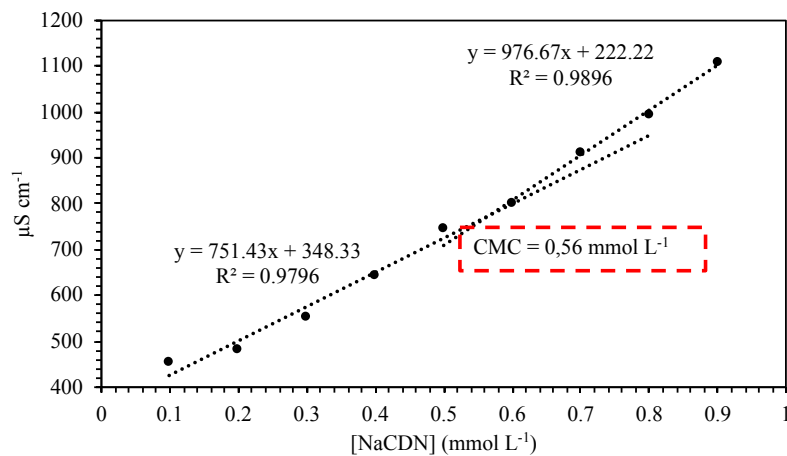
(a)



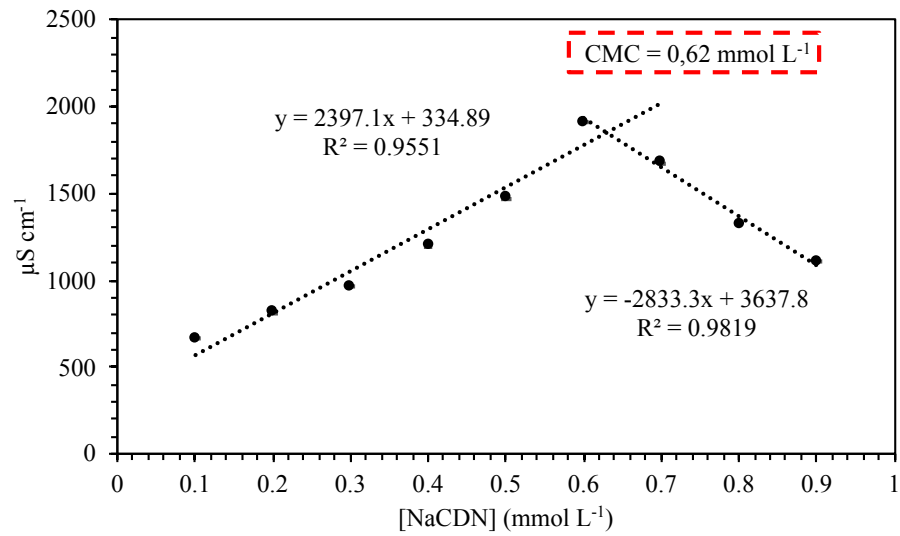
(b)



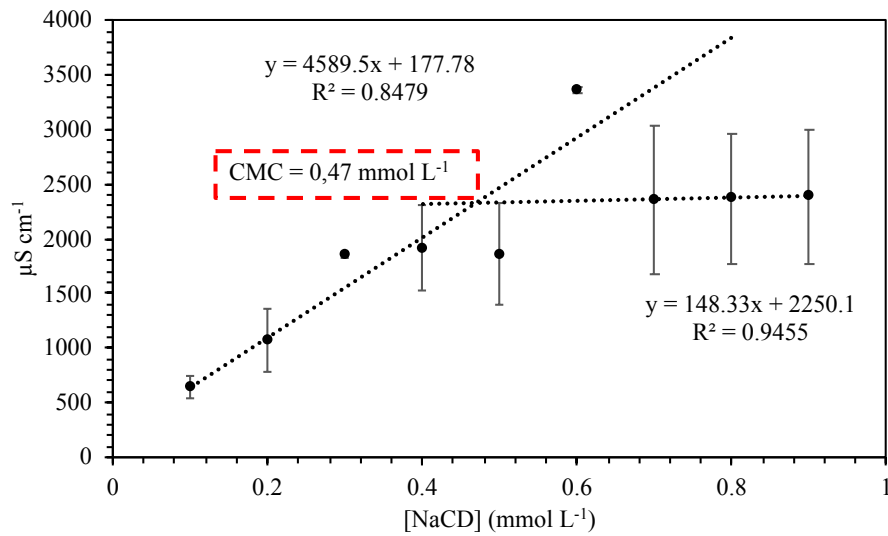
(c)



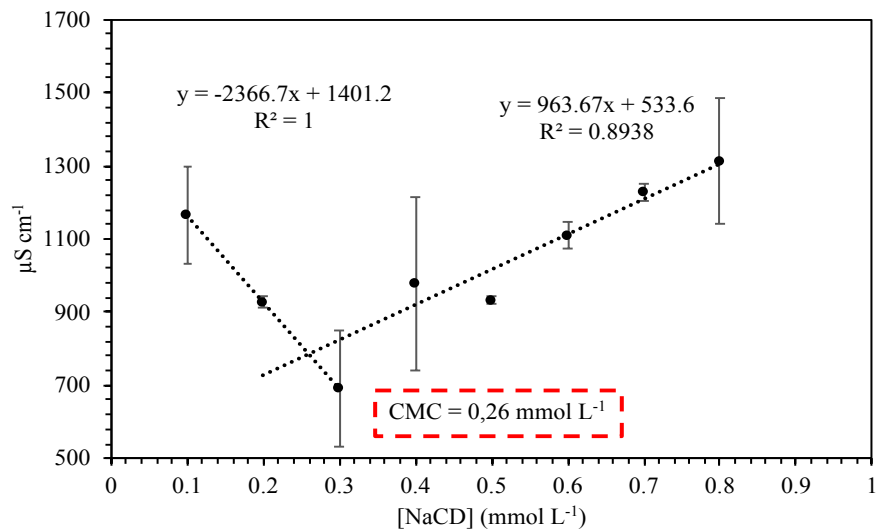
(d)



(e)

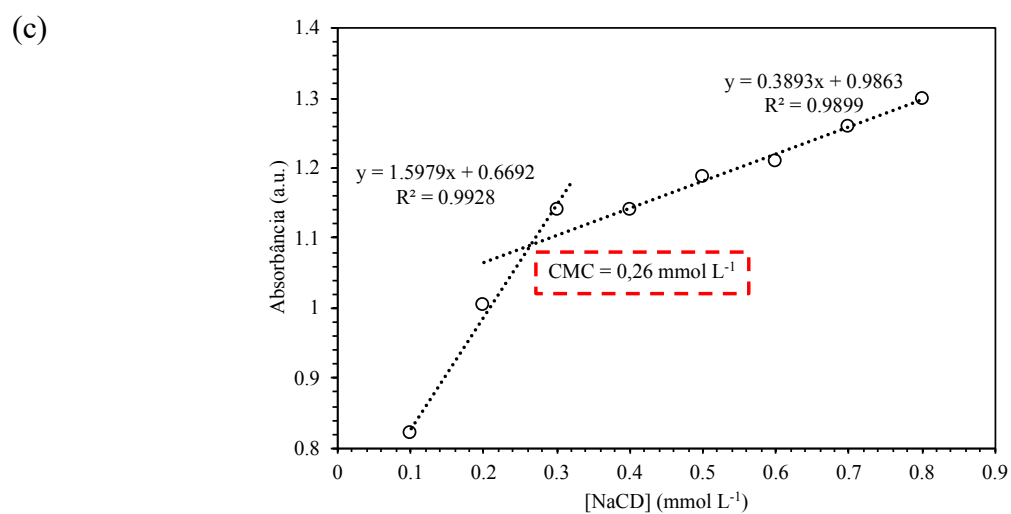
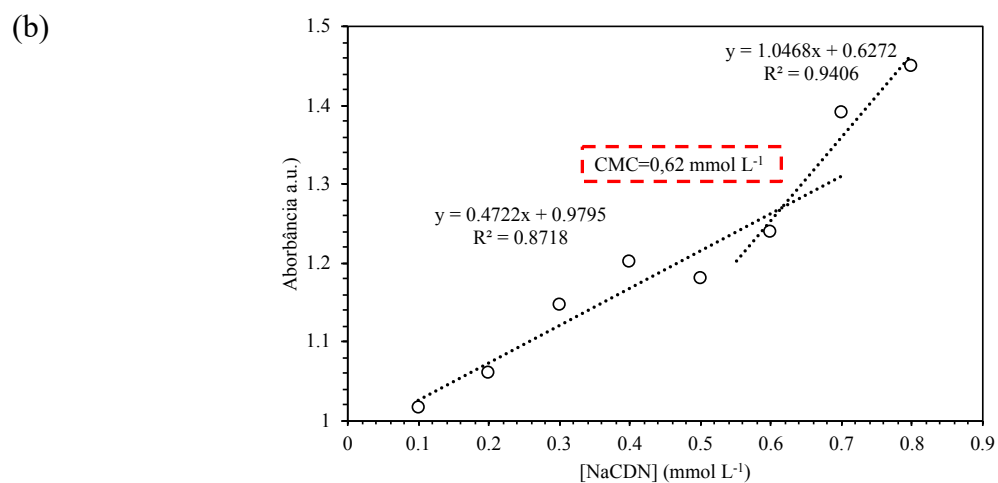
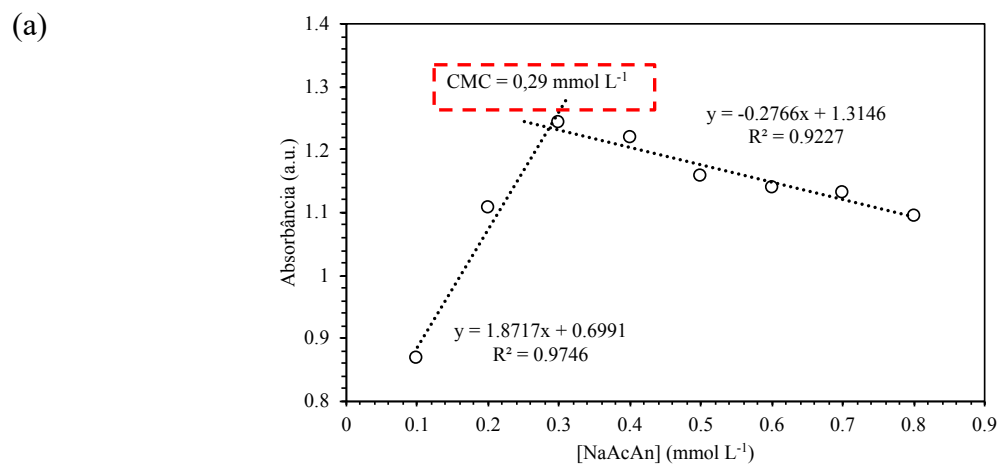


(f)



Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE D – CMC OBTIDAS PELA BANDA RPSL DE (A)AgNaAcAn, (B) AgNaCDN e (C) AgNaCD (SOLVENTE: ÁGUA)



Fonte: Elaborado pelo autor.