

CURATIVOS PRIMÁRIOS BIOATIVOS DE NANOPARTÍCULA DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE BIOGÊNICA COM PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS

Julliana C. Coimbra¹, Naile R. L. Santos¹, Izabel M^a. M. Amaral¹, Joyelanne K. C. Souza², Valcilaine T. Barbosa³, Camila B. Dornelas⁴

1. Graduanda de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas (ICF-UFAL)

2. Mestranda do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF-UFAL)

3. Doutoranda do Programa de Pós graduação em Materiais (CTEC-UFAL)

4. Professora Doutora do ICF-UFAL /Orientadora

Resumo

O curativo bioativo, composto por uma substância ativa e uma matriz carreadora, pode ser uma notável alternativa no tratamento de feridas. Neste estudo, a policaprolactona (PCL) foi o polímero de escolha para matriz e nanopartículas de prata (NPAg) produzidas por síntese biogênica com própolis vermelha de Alagoas (PVA) foram a substância ativa. O trabalho visou caracterizar os curativos primários bioativos sintetizados. Para isso, filmes foram feitos por *casting* contendo 1, 2 e 5% de NPAg-PVA. Na caracterização foi realizado DSC, intumescimento e liberação de prata. O DSC constatou que a temperatura de fusão e cristalinidade são inversamente proporcionais à concentração de NPAg. Os resultados de intumescimento foram de cerca de 1% para todos, independente do teor de NPAg-PVA. A liberação ocorreu após 24h, com valor aproximado de 0,2 mg/L, mantendo-se constante. Logo, o teste preliminar de liberação demonstrou ser um resultado promissor, além do trabalho alcançar os objetivos almejados.

Palavras-chave: Policaprolactona; *Casting*; Caracterização.

Trabalho selecionado para a JNIC: PROPEP-UFAL

Introdução

Os curativos são barreiras terapêuticas que funcionam garantindo limpeza e esterilização do ferimento (ANVISA, 2017), além de apresentarem função de acelerar a cicatrização e riscos de infecções locais (MOEINI et al., 2020), são uma solução eficiente e de baixo custo no tratamento de lesões cutâneas.

Os curativos bioativos primários são caracterizados pela composição de uma matriz polimérica junto com componentes bioativos. Como matriz polimérica, a policaprolactona (PCL) se destaca como polímero sintético pela garantia de flexibilidade e suas propriedades moduladoras de viscoelasticidade, hidrofobicidade e degradabilidade (SOTO-QUINTERO, 2017; JOSEPH et al., 2019). Ao ser associado com nanopartículas de prata garante bons resultados antimicrobianos frente às feridas, principalmente devido às suas propriedades em nanoescala (CHEN et al., 2020). A associação de PCL com NPAg é bastante relatada e essa combinação visa solucionar problemas de resistência de fármacos, bem como salientar a interação das nanopartículas com biomoléculas no ambiente fisiológico (CORTESE et al., 2019).

Nanopartículas de prata podem ser produzidas através de método biogênico, que utiliza como agente redutor um material biológico (SALLEH et al., 2020), como a própolis vermelha de Alagoas (PVA) que se destaca, pois é sabido que esta apresentou, em trabalho anterior do grupo (BARBOSA, 2018), um destaque contra bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus*, agente de infecções cutâneas.

Visto isso, o desenvolvimento de nanocompósito de PCL contendo nanopartículas de prata obtidas usando própolis vermelha de Alagoas se mostra uma alternativa promissora para tratamento de lesões de pele.

Metodologia

O extrato de própolis (PVA) foi obtido por remaceração utilizando como solvente álcool a 80%,. O extrato ressuspenso de PVA foi utilizado na síntese de nanopartículas de prata (NPAg-PVA) como agente redutor e encapsulante. Após sintetizadas, as nanopartículas foram obtidas na forma de pó com o auxílio de centrifugação 4500 rpm por 20 min, seguida de lavagem e secagem estufa a 50 ° C. Os filmes foram produzidos com PCL e NPAg, através da técnica de *casting* utilizando molde de vidro, em três diferentes concentrações de nanopartículas de prata,

Os curativos foram caracterizados através da técnica de calorimetria diferencial exploratória (DSC). O DSC avaliou o grau de cristalização (X_c), segundo a fórmula $X_c = (a \text{ entalpia de fusão da amostra } (\Delta H_f) / a \text{ entalpia de fusão do PCL } (\Delta H_f)) \times 100$, foi utilizado analisador térmico simultâneo SDT 650 (TA instruments, EUA). Foram observadas as temperaturas de fusão do PCL puro e em associação com NPAg, contendo 1, 2 e

5%. A análise utilizou faixa de temperatura de 35 a 100°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min e em atmosfera de N₂ com vazão de 50 mL/min.

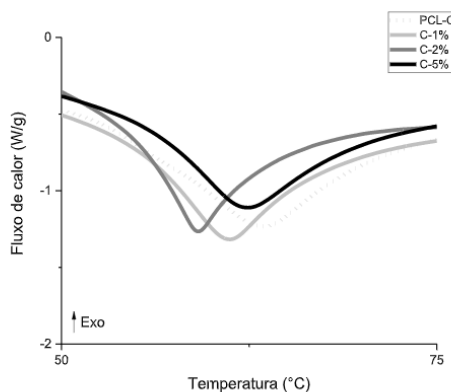
Para avaliação do teor de intumescimento, realizou-se acompanhamento diário dos valores de absorção de água pelo período pré-determinado de 14 dias, definido em função do peso do polímero seco, sob aplicação da fórmula $Ww (\%) = (Ww - Wd) / Wd \cdot 100\%$, sendo o Ww- peso úmido e Wd- peso seco. As amostras foram obtidas em triplicata, com dimensão 1x1 cm². Utilizou solução salina tamponada com fosfato (PBS).

O ensaio de liberação de prata do material foi realizado utilizando metodologia baseada em Zhang et al., 2017. O material escolhido foi o nanocompósito com uma concentração de prata de 5%, representado por C-5%. 75 mg do material foi colocado em recipiente plástico e adicionou-se 15 mL de água deionizada como meio para liberação. Os frascos foram selados e incubados em temperatura ambiente, sendo coletadas amostras nos períodos de 24h, 72h e 168h. Os ensaios foram feitos em duplicata e os íons prata foram medidos por Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES, modelo Arcos com visão radial, SPECTRO Analytical Instruments, Kleve, Alemanha).

Resultados e Discussão

Os dados obtidos por DSC mostraram uma redução da temperatura de fusão quando ocorreu adição de nanopartículas de prata, representado na figura 1, com relevante pico endotérmico de fusão do PCL. Observou-se que ocorreu uma baixa variação dos valores de fusão nos filmes, tais temperaturas foram demonstradas na tabela 1.

Figura 1: Resultados obtidos através da técnica de DSC



Fonte: Autores, 2021

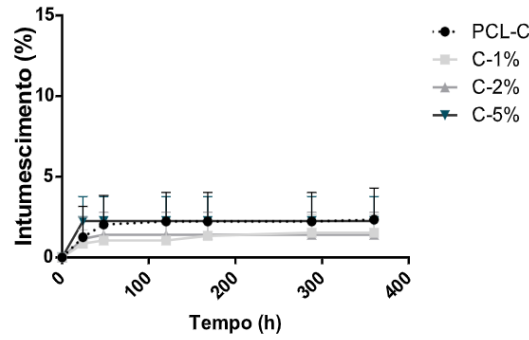
Tabela 1: Temperatura de fusão (T_f), entalpia de fusão (ΔH_f) e cristalinidade (X_c) obtidas por DSC dos produtos avaliados.

Produto	T _f (°C)	ΔH _f (J/g)	X _c (%)
PCL	63,59	15,80	11,61
PCL-NPAgP 1%	61,42	28,10	20,66
PCL-NPAgP 2%	59,02	22,19	16,32
PCL-NPAgP 5%	62,45	16,05	11,79

Fonte: Autores, 2021

A literatura demonstra que acima de 1% os aglomerados de nanopartículas, reduzem a temperatura de fusão, devido a formação de cristais lamelares finos, em decorrência do impedimento da nucleação (AUGUSTINE; KALARIKKAL; THOMAS, 2015). A pequena variação entre os nanocompósitos demonstra uma provável influência da adição de nanopartículas de prata na cristalização, mas ao que indica não há correlação com a concentração de prata. Já a relação entre as NPAg e a cristalização são inversamente proporcionais. Ao comparar os produtos puros com seus nanocompósitos, foram obtidos os valores de cristalinidade de 11,61%.

Os resultados de intumescimento estão representados na figura 2. Tanto o filme de PCL puro quanto os filmes contendo NPAg-PVA em diferentes concentrações foram avaliados e observou-se um resultado bastante similar para todos, independentemente da porcentagem de nanopartículas adicionadas, com valores de intumescimento muito pequenos e próximos de 1% mesmo no último dia de avaliação.

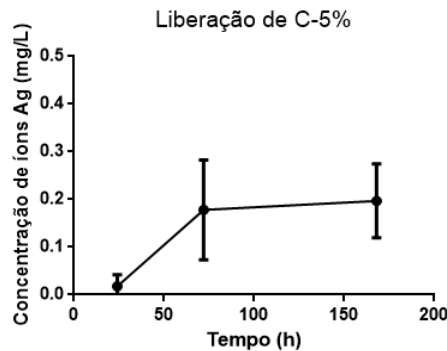
Figura 2: Intumescimento relativo dos filmes com NPAg por *casting* após 14 dias.

Fonte: Autores, 2021

Tais resultados eram esperados, pois sugerem a prevalência das características do polímero, PCL, conhecido pelo seu caráter hidrofóbico e degradação lenta (SHAWADAR et al., 2020; SOTO-QUINTERO, 2017). Além da baixa porosidade não ofertada pelo método de *casting* que influenciou negativamente a capacidade de absorção (HOFFMAN et al., 2012).

Outro fator observado foi a adição das nanopartículas de prata nas diferentes concentrações utilizadas, não apresentando influência no intumescimento. Segundo RAVINDRAN et al (2020) e ALCÂNTARA et al (2020), a propriedade de absorção de umidade está diretamente proporcional à concentração de nanopartículas; quantidade insuficiente de NPAg acarreta na abstenção da reticulação do hidrogel à base do polímero. Dessa maneira, conseguimos compreender a baixa porcentagem de intumescimento apresentada em nossos resultados, revelando uma variação de um máximo de apenas 5% de NPAg-PVA em função do polímero.

Os resultados obtidos pelo teste preliminar de liberação de prata estão demonstrados na figura 3. Estes revelaram que não ocorreu basicamente nenhuma liberação no período de até 24h. Posteriormente, uma liberação posterior em torno de 0,2 mg/L em 72h foi observada, mantendo-se praticamente inalterada durante o tempo avaliado.

Figura 3: Perfil de liberação de prata *in vitro* para amostra com concentração de 5% de NPAg-PVA em função do tempo

Fonte: Autores, 2021

Diversos autores demonstram o patamar regular de liberação após 48 horas (LIU et al., 2017, ZHANG et al., 2017). Embora o teor constante, o valor exposto se mostra promissor, corroborando com a garantia da atividade antibacteriana, além da taxa mínima de 0,1 mg/L necessária para desempenhá-la (ZHANG et al., 2017). Além de ser configurado como barreira através da inibição de formação de biofilmes, os curativos nessa concentração certificam uma cicatrização acelerada mediante otimização no processo de regeneração tecidual (LIU et al., 2017). Como performance adicional, a ação antimicrobiana pode ser obtida a partir da superfície de contato (ALCÂNTARA et al., 2020).

Existem estudos presentes na literatura retratando perfis com maior percentual de liberação, contudo o PCL é aplicado em associação com outros polímeros. ZHANG et al (2017) utilizaram PCL associado com colágeno de *Ranachensinensis* (RCSC), obtendo resultado de liberação de 3,22 mg/g para concentração de 2% de NPAg. Outra combinação possível foi PCL com óxido de polietileno (PEO), demonstrando alta capacidade de liberação desde as primeiras 24h, atingindo ao final de 96 h cerca de metade das NPAg liberadas (DUBEY et al., 2015). A agregação de propriedades de tipos distintos de polímeros serve para sustentar uma superfície hidrofílica, que pode influenciar diretamente no comportamento biológico do material. O desfecho encontrado em nosso estudo pode-se fundamentar no sistema mais similar encontrado por LIU et

al (2017), com apenas o uso de PCL, que demonstrou resultado de 0,57 mg/L após 7 dias. Ambos os valores estão abaixo da concentração citotóxica no organismo (10 mg/L), o que demonstra um baixo potencial citotóxico para o seu uso.

Conclusões

A caracterização obtida por DSC permitiu uma maior compreensão acerca da cristalinidade dos produtos, que parece estar inversamente proporcional com a concentração de NPAg, corroborada pelos cálculos. Os curativos bioativos produzidos e os ensaios de intumescimento e liberação foram realizados. Embora tenha apresentado baixo intumescimento causado pelo perfil altamente hidrofóbico, os curativos se mostraram favoráveis para desempenhar atividade antibacteriana, além disso, apresentaram um resultado promissor por sua concentração ser de baixo potencial citotóxico. Dessa forma, o trabalho alcançou os objetivos preestabelecidos, demonstrando os resultados dos ensaios realizados, para mais novos estudos e testes continuam acontecendo, para melhores conclusões.

Referências bibliográficas

- ALCÂNTARA, MTS; LINCOPAN, PM; RAMIREZ, AJC; BRANT, HG, RIELLA, AB. Física e Química da Radiação, vol. 169, **2020**, 108777.
- ANVISA - Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Brasília: Anvisa, **2017**.
- AUGUSTINE, R.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, S. Effect of zinc oxide nanoparticles on the in vitro degradation of electrospun polycaprolactone membranes in simulated body fluid. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, v. 65, n. 1, p. 28–37, **2015**.
- BARBOSA, Valcilaine Teixeira. Síntese biogênica de nanopartículas de prata usando própolis vermelha de Alagoas. 2018. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, **2018**.
- CHEN, K. et al. International Journal of Biological Macromolecules, v. 148, p. 501-509, **2020**.
- CORTESE, B et al. Cancers **2019** , 11 (9), 1338.
- DUBEY, P. et al. Journal of Applied Polymer Science, 132, 42473, **2015**.
- HOFFMAN, SA; Advanced Drug Delivery Reviews, Seattle, v.64, pp. 18-23, **2012**.
- JOSEPH, B et al. Materials Today Communications, v.19, p. 319–335, **2019**.
- LIU, M. et al. International Journal of Nanomedicine, v.12, p. 6827-6840, **2017**.
- MOEINI, A. et al. review. Carbohydrate Polymers, v. 233, n. January, p.115839, **2020**.
- MOGOSANU, GD; GRUMEZESCU, AM. International journal of pharmaceutics, v. 463, n. 2, p.127–136, **2014**.
- OLIVEIRA, N. et al. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, v. 40, p. 413–425, **2014**.
- RAVINDRAN, RS Ernest, et al. Arabian Journal of Chemistry, vol. 13, no. 7, **2020**, pp. 6056-6060.
- SALLEH, A et al. Nanomaterials. **2020** , 10 (8), 1566.
- SOTO-QUINTERO, A et al. Nanomaterials **2017** , 7 (8), 209.
- ZHANG, M et al. Applied Surface Science, 414, p. 52-62, **2017**.