

HIDROGEL DE PVP /CMC E NANOPARTICULAS DE PRATA

**Mara M. L. Munhoz, Maria J. A. Oliveira, Mara T. S. Alcântara, Kamila P. Linhares,
Sizue O. Rogero, Ademar B. Lugão**

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP
marazmunhoz@gmail.com

RESUMO

Interesse significativo tem sido demonstrado na utilização de polímeros hidrofílicos, naturais, sintéticos e híbridos como biomateriais. Para o desenvolvimento de materiais contendo nanopartículas metálicas tem interesses de pesquisas científicas e tecnológicas em anos recentes, devido às suas propriedades únicas e versáteis. Neste estudo os hidrogéis foram obtidos com poli (vinil-N-2-pirrolidona) (PVP), carboximetilcelulose (CMC) e nanopartículas de prata (NPAg). As caracterizações foram feitas usando: intumescimento, fração gel, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e citotoxicidade. Os resultados foram bastante consistentes com as expectativas, fornecendo testes preliminares in vivo.

Palavras-chave: Hidrogéis, Biomateriais, NPAg.

1. INTRODUÇÃO

Hidrogéis poliméricos nanocompósito pode ser definido como redes tridimensionais de polímero reticulado e intumescido com água, na presença de nanopartículas. O desenvolvimento de tais materiais que contenham nanopartículas metálicas têm despertado interesse da investigação científica e tecnológica nos últimos anos devido às suas únicas e versáteis propriedades [1].

O uso de curativos é uma maneira para proteger e cuidar de ferimentos. Nas últimas décadas hidrogéis tem sido utilizado como alternativa para um curativo ideal, tendo em vista suas características, entre elas transparência e grande quantidade de água retida na rede do polímero. O hidrogel de PVP e PEG pode ser usado como curativo para feridas, e a prata que é um agente antimicrobiano bem conhecido, tem sido utilizada há mais de um século contra ferimentos infectados.

Em estudos realizados por Wright et. al [2] foi avaliado a eficácia fungicida in vitro de uma variedade de diferentes agentes tópicos contra um espectro de fungos patogênicos comum em queimadura; os resultados indicaram que os curativos com prata nanocristalina apresentou atividade fungicida mais rápida e de maior espectro, podendo tornar os curativos com NPAg um bom candidato para minimizar o potencial de infecção fúngica, reduzindo assim as complicações decorrentes do atraso de cicatrização.

A atividade biocida de AgNPs dependem de varias características morfológicas e fisico-químicas (por exemplo, tamanho, forma e superfície) que influenciam diretamente no sucesso destes compostos como agentes antimicrobianos [3].

Este trabalho apresenta um hidrogel de PVP/CMC/NPAg, sendo o poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) um polímero sintético solúvel em água e solventes orgânicos, que apresenta boa biocompatibilidade e tem sido muito aplicado como biomaterial, enquanto que a carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) é um polissacarídeo aniônico amplamente utilizado em produtos farmacêuticos, cosméticos e indústria alimentar, que pode atuar como um agente hidrofílico, aumentando assim suas propriedades de intumescimento. Neste trabalho, apresentamos as propriedades de um hidrogel contendo prata.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Poly(vinil-2-N-pirrolidone) (PVP) K 90, PEG 300 (polietilenoglicol) e carboximetilcellulose de sódio (NaCMC) foram fornecidos pela êxodo, enquanto que as nanopartículas de prata (AgNP) foram fornecidas pela Khemia.

2.1.1. Método de preparação

Foram preparados 3 hidrogéis para para avaliação da reprodutividade de processo e os ensaios foram realizados em triplicada para cada uma das preparações. A síntese do hidrogel foi efetuada à partir da solução PVP/PEG/ágar/CMC/Ag. Para o processo de reticulação e esterilização, que ocorrem simultaneamente, a solução foi vertida em embalagens termoformadas, seladas e posteriormente irradiadas em fonte de ^{60}Co , com dose de 25kGy.

2.1.2 Intumescimento

Os ensaios de intumescimento foram realizados de acordo com a norma ASTM D570 [4] com algumas alterações. Três amostras com cerca de 2 g cada, para cada uma das preparações foram imersas em 100 ml de água bidestilada e mantidas entre 35 °C e 37 °C por 24 h. O intumescimento foi avaliado pesando cada uma das amostras a cada 30 min nas primeiras 2 h, a partir de então a cada 1 h ate completar 8 h de imersão; e para finalizar foi novamente pesada após 24 h. Para medir o intumescimento das amostras cada uma delas foi retirada da água, seca sutilmente em papel filtro e pesada. O grau de intumescimento foi obtido a partir da média do intumescimento de cada preparação de acordo com a equação (A):

$$\text{Intumescimento (\%)} = (m_f - m_0) \times 100 / m_0 \quad (\text{A})$$

Sendo:

m_f = massa final da amostras intumescida

m_0 = massa da amostra antes da imersão

2.1.3 Fração gel

A fração gel indica a parte insolúvel do polímero, é atribuída à fração polimérica reticulada e foi medido baseado na norma ASTM D2765 [5], com algumas modificações. Para avaliação da mesma foram cortadas 3 amostras de cada preparação, com cerca de 1,2 cm de diâmetro das membranas, previamente secas em estufa à temperatura 60 °C até peso constante. Após secagem foram embaladas em redes de tule, novamente pesadas, mergulhadas em Erlennmayer com 11 de água bidestilada e levadas à autoclave onde foram mantidas por 2 h a ca. De 120 °C/ 1kgf/cm². Posteriormente foram retiradas e levadas novamente à estufa para secagem até massa constante. O resultado foi calculado pela média obtida utilizando a equação B.

$$\text{Fração Gel (\%)} = m_f \times 100 / m_0 \quad (\text{B})$$

Sendo:

m_f = massa final da amostra seca

m_0 = massa inicial da amostra seca

2.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV-FEG

A técnica foi utilizada para verificação da estrutura polimérica da superfície das amostras. Para obtenção das imagens em alta resolução foi utilizado microscópio eletrônico marca EDAX PHILIPS®, modelo XL30, utilizando baixa tensão (5 kV). Para obtenção das imagens as amostras foram previamente secas em liofilizador e posteriormente recobertas com ouro.

2.1.5 – Citotoxicidade

Os testes preliminares de citotoxicidade dos hidrogéis obtidos foram realizados "*in vitro*" utilizando-se o método de incorporação do vermelho neutro seguindo normas internacionais ISO 10993-1 [6] e 10933-5 [7] e metodologia descrita conforme Rogero et al. [8]

No teste de citotoxicidade foram utilizadas células da linhagem NCTC Clone 929 (células de tecido conectivo de camundongo) da American Type Culture Collection (ATCC). Como controle negativo foi usado o polietileno de alta densidade (HDPE) e como controle positivo, filme de látex de borracha natural. O cultivo das células e a distribuição da suspensão celular na microplaca de 96 poços foram preparados e cedidos pelo Departamento de Culturas Celulares do Instituto Adolfo Lutz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 – Cinética de intumescimento e fração gel

A cinética de intumescimento das três preparações esta apresentada na Fig. 1. O perfil das curvas obtidas indicam semelhanças, porém os resultados apontam uma leve variação entre as três preparações, sendo que a estabilidade do intumescimento é observada após cerca de 8h, ao redor de 250 %. A cinética de intumescimento esta diretamente relacionada com o grau e densidade de reticulação do polímero, ou seja, quanto maior a densidade de reticulação do material, menor será a porosidade do hidrogel e conseqüentemente menor o espaço disponível para armazenamento do solvente, neste caso, da água.

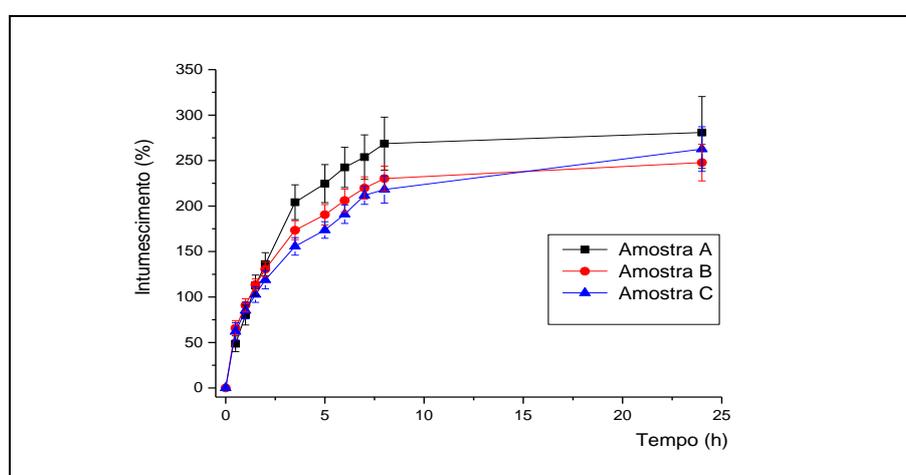


Figura 1: Média dos resultados de intumescimento para cada um dos hidrogéis preparados.

Durante a irradiação, a solução de PVP é quase completamente reticulado, entretanto a presença de PEG, que age como plastificante, reduz a reticulação tendo em vista que pode agir como radical scavenger [9]. Além disso, a degradação do CMC pela radiação ainda corrobora para a redução da reticulação reduzindo os níveis de reticulação do PVP. Mesmo assim, os resultados de fração gel, apresentados na Fig. 2 indicam índice de reticulação acima de 70 % e se apresentam consistentes com os resultados de intumescimento apresentados na Fig. 1. A amostra (A) apresenta menor índice de reticulação e maior intumescimento, como pode ser observado anteriormente; enquanto as amostras B e C apresentam resultados similares de fração gel e menor intumescimento para estas amostras. Esses fatores, entretanto favorecem o maior intumescimento do curativo, permitindo uma maior capacidade de absorção de exsudato do ferimento.

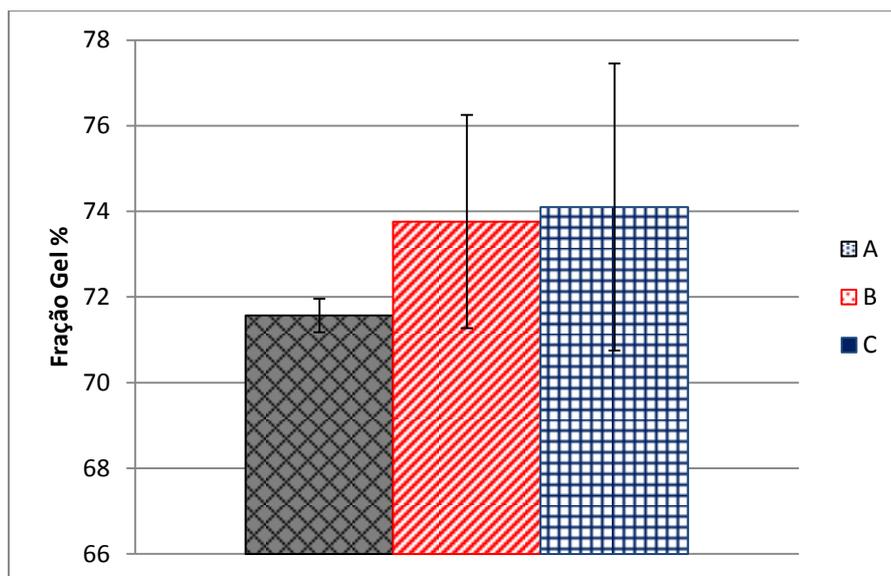


Figura 2: Fração Gel desvio padrão de cada uma das amostras analisadas.

3.2 –Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG)

A figura a seguir, apresenta a imagem obtida na microscopia eletrônica de varredura para a superfície de uma das amostras do hidrogel.

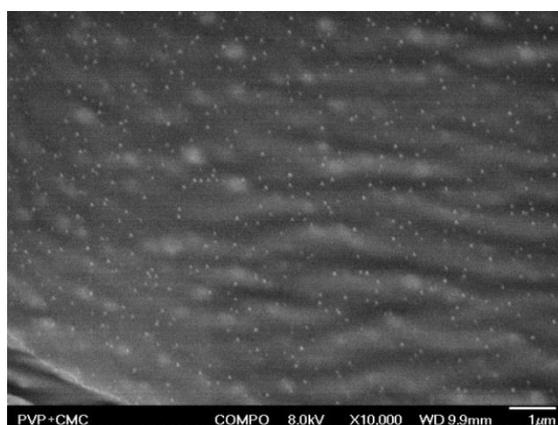


Figura 3: Microscopia Eletrônica de Varredura-FEG da superfície de hidrogel aumentada 10.000 vezes.

A imagem observada na Fig. 3, do hidrogel com nanopartículas de prata mostra uma superfície irregular com pontos que indicam a presença das nanopartículas de prata. A superfície da imagem apresenta uma leve rugosidade e pontos homogeneamente distribuídos, indicando as nanopartículas de prata. Observa-se ainda, pontos aglomerados, aparentemente pouco densos, com dimensões da ordem de $0,5\mu\text{m}$ que sugere ser CMC não totalmente dispersa.

4 – CITOTOXICIDADE

Na figura abaixo estão apresentados os resultados obtidos nos testes de citotoxicidade.

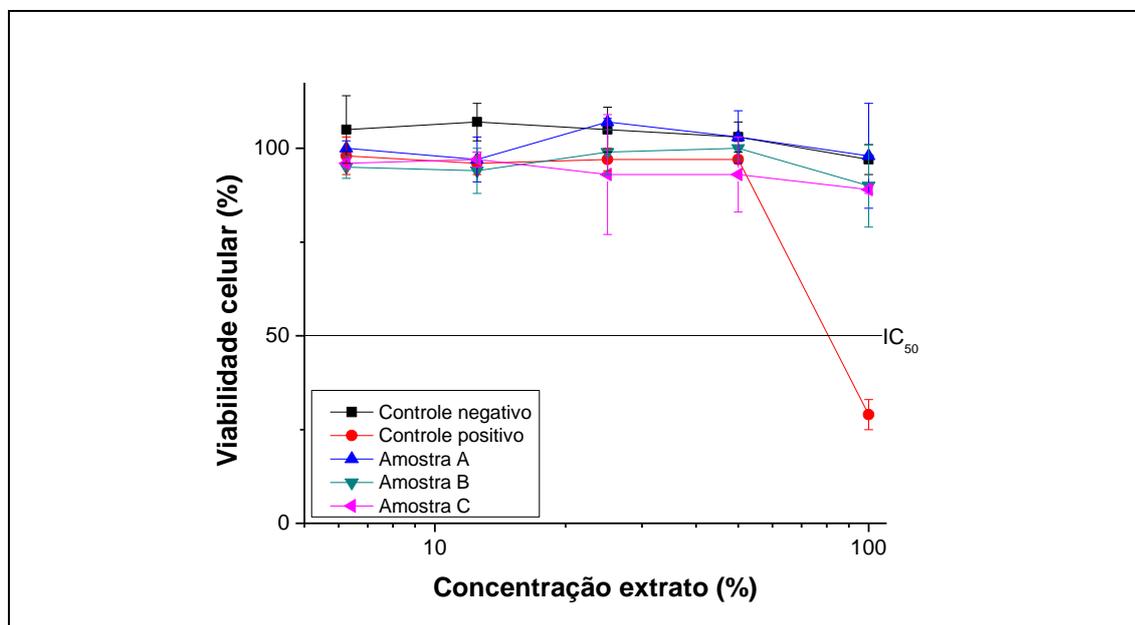


Figura 4: Curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro.

Os resultados apresentados na Fig. 4 para as amostras A, B e C apresentaram comportamentos semelhantes ao controle negativo, ou seja, viabilidade celular na ordem de 100%, demonstrando que os resultados dos ensaios indicaram que os hidrogéis sintetizados não apresentaram citotoxicidade.

5 – CONCLUSÕES

Os resultados de fração gel e intumescimento sugerem que o hidrogel de PVP/CMC apresenta propriedades adequadas como curativos, com capacidade para absorção de exudato. Entretanto novos estudos estão sendo realizados, uma vez que se faz necessário avaliar as propriedades bactericidas do curativo para confirmar sua atividade antibacteriana e antifúngica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Khemia pelo fornecimento da prata, ao Centro de Tecnologia das Radiações (CTR-IPEN-CNEN/SP), pela irradiação das amostras, ao Centro de Ciência e Tecnologia de Matérias (CCTM-IPEN-CNEN/SP) pelas imagens de microscopia e ao CNPQ e CAPES pelas bolsas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. Chandra Babu, M. N. Prabhakar, A. Suresh Babu, B. Mallikarjuna, M. C. S. Subha, K. Chowdoji Rao. “Development and Characterization of Semi-IPN Silver Nanocomposite Hydrogels for Antibacterial Applications” *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, **Volume 2013**, Pp 8 (2013).
2. J. B.Wright, K. Lam, D. Hansen, R. E. Burrell.“Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens”. *American Journal of Infection Control*, **Volume 27**, pp. 344- 350 (1999).
3. C.A. Dos Santos, M.M. Seckler, A.P.Ingle, I. Gupta, S. Galdiero, M. Galdiero, A. Gade, M. Rai, “Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **Volume 103**, pp. 1931-1944 (2014).
4. ASTM D570 – 98 - Standard Test Method for Water Absorption of Plastics.
5. ASTM D2765 – 11 - Standard Test Methods for Determination of Gel Content and Swell Ratio of Crosslinked Ethylene
6. ISO 10993-1: 2009 - Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process
7. ISO 10993-5: 2009 - Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity
8. S. O. Rogero, S. O. Malmonge, T. I. LugãoIkeda, L. Miyamaru, A. S.Cruz, Biocompatibility study of polymeric biomaterials”, *Artificial Organs*, **Volume 27**, pp. 424-427 (2003).
9. Z. Ajjji, I. Othman, J.M. Rosiak.; “Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, **Volume 229**, pp. 375–380, (2005).