CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANTIMICROBIANA E DE RESISTÊNCIA DE MEMBRANAS DE QUITOSANA REFORÇADAS POR CELULOSE NANOFIBRILADA INCORPORADAS COM SULFADIAZINA DE PRATA

Karyn Vanessa Perek (PROVIC), Priscileila Colerato Ferrari (Orientador), e-mail: priscileila@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas

Palavras-chave: Ciências da Saúde, Farmácia, Farmacotecnia.

Resumo

Membranas de quitosana são sistemas de liberação controlada de fármacos. A adição de nanocelulose modifica as propriedades da membrana, atuando como material de reforço, aumentando a resistência mecânica. O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de membranas de quitosana com celulose nanocristalina ou nanofibrilada contendo sulfadiazina de prata e a avaliação da atividade antimicrobiana. As membranas foram preparadas por *solvent casting*, por um delineamento fatorial 2^3 com variação do tipo de nanocelulose, da sua proporção (5% ou 10%) e presença de polietilenoglicol 400, como agente formador de poros (0 ou 1,5%). Os estudos indicaram formação de membrana homogêneas, de superfície lisa, e ainda que o tipo de nanocelulose incorporada modifica as suas propriedades como a tensão de ruptura que variou de 31 a 63 MPa, a deformação de 5 a 14 % e o modulo elástico de 343 a 3848 $N.mm^2$. Além disso as membranas apresentaram atividade antimicrobiana frente a quatro microrganismos, promissoras para uso como curativo em lesões cutâneas.

Introdução

Lesões de pele causadas por pressão são muito frequentes em pacientes acamados e essas lesões, se não observadas no início e tratadas, evoluem para um dano tecidual maior (BLANES, 2004).

Membranas de quitosana têm sido estudadas para liberação controlada de fármacos na pele, por ser biocompatível, biodegradável, e apresentar atividades antimicrobiana e cicatrizante conhecidas, contudo, para o tratamento de lesões há necessidade de um material com alta resistência mecânica. (BRITO, 2009 & QIAOBIN, 2016).

Nanoceluloses vem sendo adicionadas às membranas poliméricas, produzindo nanocompósitos de elevada resistência mecânica com modificação das características de permeabilidade e adsorção de água das membranas poliméricas (DAMASIO, 2015).

A Sulfadiazina de prata é um antibacteriano tópico derivado de sulfa, indicado como adjuvante na prevenção e tratamento da sepse das feridas na pele. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi desenvolver membranas de quitosana com nanocelulose incorporadas com sulfadiazina de prata e avaliar suas propriedades físico-químicas, mecânicas e antimicrobiana.

Material e Métodos

A obtenção das membras foi realizada pelo método do *solvent casting*.

O método consiste em dispersar a quitosana em ácido acético sob agitação em

banho maria a 50ºC durante uma hora. A etapa seguinte tem a adição de glicerina, hidroxitolueno butilado (BHT), metilparabeno, proprilparabeno, fámaco, também sob agitação em banho maria a 50ºC durante uma hora. Em seguida a dispersão é separada em quatro béqueres de 100 ml, sendo adicionada a nanocelulose e o Polietilenoglicol (PEG). As formulações foram definidas por um delineamento fatorial, com as variáveis independentes. As dispersões passam no Ultra Turrax na velocidade de 22000 rpm por 10 minutos para garantir melhor homogeneidade. Para reduzir as bolhas a dispersão fica em repouso de no mínimo oito horas; sendo pesadas 7,5 g em placas de Petri para secar na estufa a 50ºC.

Para avaliação da morfologia, da superfície, por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) no equipamento Mira 3 (Tescan), empregando voltagem de aceleração de 15 kv.

Para avaliação da atividade antimicrobiana, foram utilizadas cepas de Staphylococcus aureus ATCC 25923, Enterococcus faecalis ATCC 19433, Escherichia coli ATCC 25922 e Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 foi feita a semeadura das suspensões de bactérias, previamente preparadas de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Após 24 horas de incubação, os microrganismos, crescidos nos meios específicos, foram semeados em placa contendo ágar Mueller-Hinton, acidificado com solução de ácido acético e acetato de sódio, até pH 5,5. Em seguida, com auxílio de pinças, as membranas inteiras (60 mm de diâmetro) foram distribuídas nas placas, apresentando distância adequada entre elas. Após 18 horas de incubação a 37 ºC, foi avaliada a formação de halo de inibição e mensurados em mm.

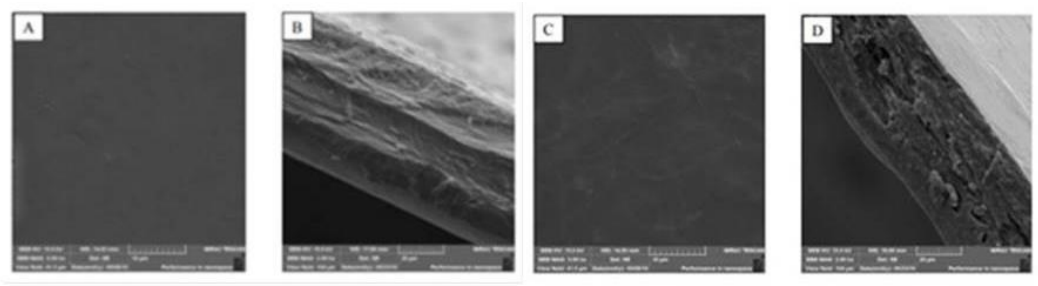
Para o teste de propriedades mecânicas, foi utilizada a Máquina Universal de Ensaios Mecânicos, modelo (Shimadzu AGI). As amostras foram cortadas nas dimensões de 2 x 5 cm, mensuradas a espessura (mm) utilizando micrometro digital e condicionadas em 53 % de Umidade Relativa (UR), que corresponde a solução saturada de $Mg(NO_3)_2$ a temperatura de 25 °C, por 48 horas antes da realização dos ensaios. Foram ajustadas às garras pneumáticas do equipamento, com distância entre as garras de 30 mm e a velocidade de tração utilizada foi de 50 $mm.min^{-1}$.

Resultados e Discussão

De acordo com o delineamento experimental, foram preparadas oito amostras. Na análise macroscópica, as membranas são castanho-claras e aparentemente homogêneas. Na análise microscópica (Fig. 1) observa-se que as membranas apresentam homogeneidade e superfície lisa. As imagens de fratura também mostram partículas sólidas dispersas. As adição de nanocelulose nas membranas foi evidenciada e diferenciada sendo possível visualizar as nanofibrilas das amostras preparadas com celulose nanofibrilada (Fig. 1C,D). Também foi possível observar uma leve porosidade relacionada a adição de PEG 400 nas formulações de M4 e M6.

Figura 1– Fotomicrografias de superfície e de fratura das membranas obtidas. A e B: preparadas com celulose nanocristalina; C e D: preparadas com celulose nanofibrilada.

ISSN 1676-0093



Com a análise antimicrobiana apresentada na Tabela 1, pode ser observado a formação do halo de inibição para todas as membranas testadas. Não há estudos sobre ação de membranas com sulfadiazina de prata sobre microrganismos, porém existem pesquisas sobre a ação antimicrobiana, com medição dos halos de inibição, deste fármaco na forma farmacêutica de creme, na concentração de 1,0 %, em que os halos de inibição variaram de 1 a 7 mm para cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (RAGONHA,2006). Juntamente com a sulfadiazina de prata, estudos apontam que a quitosana, principalmente em meio ácido, também apresenta propriedades antimicrobianas, por meio da ionização do grupamento amino. Ou seja, quando a quitosana apresenta alta massa molar, a sua ação ocorre em bactérias gram-positivas, formando um filme ao redor da bactéria, impedindo a nutrição. Porém, quando a quitosana apresenta baixa massa molar, a atividade é voltada para gram-negativas, uma vez que este polímero penetra no microrganismo, causando distúrbios metabólicos (FERNADES, 2009).

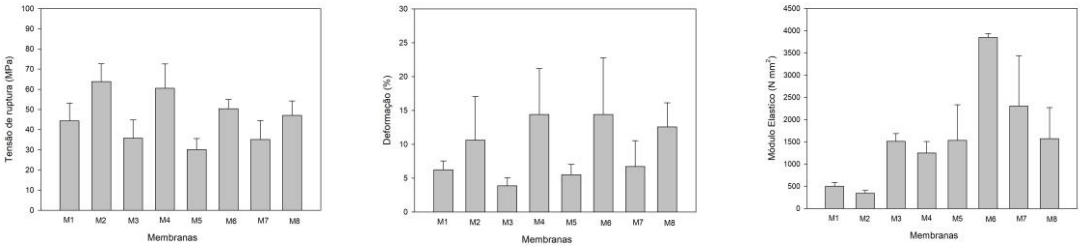
Tabela 1 - Atividade antimicrobiana das membranas a partir da medida dos halos de inibição do crescimento dos microrganismos. O halo da membrana é de 60 mm

Microrganismos	Halos de inibição (mm)	Resistência (R) ou sensibilidade (S)
Escherichia coli ATCC 25922	72,5 ± 2,5	S
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	77,5 ± 2,5	S
Staphylococcus aureus ATCC 25923	67,5 ± 2,5	S
Enterococcus faecalis ATCC 19433	87,0 ± 0,0	S

Quando avaliado a resistência mecânica (Fig.2) observa-se diferentes comportamentos de acordo com o tipo de nanocelulose. Nas membranas preparadas com celulose nanocristalina é possível verificar que o aumento da proporção de nanocelulose, assim como a presença de agente formador de poros reduz a tensão de ruptura(primeiro gráfico), enquanto que nas membranas preparadas com celulose nanofibrilada tanto o aumento da sua proporção quanto a presença de PEG aumentaram a tensão.

O parâmetro de tensão de ruptura avalia a resistência das membranas, ou seja, a força necessária para que ocorra a sua ruptura. A deformação (segundo gráfico) mede a elongação da membrana, ou seja, sua capacidade de alongamento antes de se romper. Já o modulo elástico (terceiro gráfico) mede a rigidez do material, sendo a rigidez um parâmetro de dureza.

Figura 2 – Resultados do estudo de resistência mecânica pela Tensão de Ruptura, Deformação e Módulo elástico. Obs: As membranas M3 e M7 apresentaram alta quantidade de bolhas.



A análise do delineamento fatorial mostra que para a variável tensão de ruptura, o tipo de nanocelulose é o fator que causa maior influência nas membranas, sendo observado maior efeito com aumento do nível. A presença de PEG também causou grande influência, sendo que o aumento no nível de PEG diminuiu causou efeito negativo na tensão de ruptura das membranas. Isso se deve a presença de poros, formados pelo PEG que reduz a tensão, facilitando a ruptura das membranas. Em relação ao modulo elástico, a presença de PEG aumentou a rigidez das membranas, sendo o fator que causou a maior influência. Quando avaliamos a interação entre os fatores, observamos que os três fatores interagem entre si para determinar a rigidez das membranas.

Conclusão/ões

A partir dos resultados obtidos, é possível observar que o método *solvent casting* mostrou-se adequado para o desenvolvimento de membranas de quitosana reforçadas com nanocelulose. O estudo de resistência mecânica indicou que a composição da membrana, principalmente o tipo de nanocelulose utilizada e a presença de poros, altera as suas propriedades físico-químicas, com tensão de ruptura variando de 31 a 63 MPa, deformação de 5 a 14 % e o modulo elástico de 343 a 3848 N.mm^2. Além disso as membranas apresentaram atividade antimicrobiana frente a quatro microrganismos, sendo promissoras como curativos na forma de sistemas de liberação controlada de sulfadiazina de prata para tratamento de lesões cutâneas ocasionadas por pressão.

Agradecimentos

A empresa Klabin SA, na pessoa de Renato A. P. Damásio, pela doação da celulose nanocristalina e celulose nanofibrilada. Agradecemos ainda o Complexo de Laboratórios Multiusuários (cLABMU), da Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Prof. Dr. Luis Antônio Esmerino pela concessão das cepas de bactérias utilizadas no estudo e pelo auxílio na realização do teste antimicrobiano.

Referências

1. BLANES, L.; DUARTE, I.S.; CALIL ,J.A. ; FERREIRA, L.M. **Rev Assoc Med Bras**. Pág 50, 182. 2004

2. BRITO, M.K.M.D, SCHELLINE, S.A.; PADOVANI, C.R. PELLIZZON, C.H. NETO, C.G.D.T,. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Vol. 84, 35. 2009

3. QIAOBIN, H., YANGCHAO, L. **Carbohydr. Polym**., 151, 624.2016

4. DAMASIO, R. A. P. **Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa**, 2015

5. RAGONHA, A.C.O.; FERREIRA, E. ANDRADE, D. ROSSI, L.A.. **Rev.Latino-Am. Enfermagem**. Vol 13. 2016

6. FERNANDES, L. L. **Tese de Graduação, UFRJ**, 2009