SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA CONJUGADAS COM GENTAMICINA

Adrian Vriesman Gabriel de Oliveira (PIBIC/CNPq/UEPG), Josiane de Fátima Padilha de Paula (Orientador), e-mail: jopadilha@terra.com.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Desenvolvimento e avaliação de produtos farmacêuticos, cosméticos e cosmecêuticos.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, gentamicina, caracterização.

Resumo

Objetivou-se a síntese de nanopartículas de prata pelo método de síntese verde, utilizando-se extrato aquoso de *Salvia officinalis* L. e solução de nitrato de prata. Após a síntese, foram realizados estudos para a caracterização das nanopartículas de prata formadas, onde foram avaliados o tamanho de partícula, potencial zeta, assim como os aspectos morfológicos mediante Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo e também análises de Infravermelho e Ultravioleta. Posteriormente foi realizada a conjugação das nanopartículas de prata com a gentamicina.

Introdução

Existe grande interesse tanto da ciência, quanto pela tecnologia na produção de nanomateriais com aplicações diversas. Na medicina as nanopartículas são utilizadas como carreadores de moléculas ativas aos sítios específicos de ação dos fármacos, constituindo-se em uma alternativa para biodistribuição de fármacos após administração. As nanopartículas metálicas, em especial, as de prata têm mostrado grande potencial em uma variedade de aplicações biológicas, incluindo a utilização em testes de diagnóstico com altas sensibilidades (KIM,2010). Desta forma, as nanopartículas são um dos principais sistemas para liberação do fármaco em seu alvo. A função desses transportadores é aumentar o potencial terapêutico de um fármaco, impedindo que esse se perca no trajeto para um alvo específico, evitando simultaneamente a ocorrência de efeitos secundários nocivos em outra parte do organismo (COSTA, 2013; CASANOVA, 2010).

A gentamicina é um antibiótico pertencente à classe dos aminoglicosídeos, sendo utilizada no tratamento de infecções por bacilos Gram-negativos, com ação contra *P. aeruginosa* ou *S. marcescens*.

Materiais e Métodos

Foram preparados extratos de *Salvia officinalis* a partir do método de turbo extração, onde as folhas e o caule da planta foram triturados com o auxílio de um liquidificador com adição de água destilada, sendo o extrato aquoso formado, posteriormente filtrado em papel de filtro. Também foi preparado o extrato a partir do método de infusão, que consiste no aquecimento das folhas e do caule da planta em um recipiente contendo água destilada. A solução de nitrato de prata (AgNO3) foi preparada a 1milimolar.

Após o preparo dos extratos e da solução de AgNO3, foram misturadas diferentes concentrações dos extratos com a solução de AgNO3. Primeiramente em um béquer, foi misturado 0,5 ml do extrato obtido por turbo extração em uma concentração de 10% com 2,5 ml da solução de AgNO3 (amostra 1), em outro béquer misturou-se 0,5 ml do extrato obtido por turbo extração a 5% com 2,5 ml da solução de AgNO3 (amostra 2). Com o extrato obtido por infusão, realizou-se o mesmo procedimento descrito acima, com a concentração de 10% (amostra 3) e a concentração de 5% (amostra 4).

Através da espectroscopia UV-Vis é possível analisar se ocorreu a formação das nanopartículas em solução. O espectro resultante apresenta bandas de absorção características das nanopartículas, sendo a banda dos plasmons SPR característica pela absorção da luz incidente das nanopartículas de prata que mostra um comprimento de onda centrado (λmax) em 400 nm.

Para a caracterização das nanopartículas formadas, foi realizada a análise por espectroscopia no infravermelho através do Espectrômetro Infra Vermelho FTIR (modelo IRPrestige-21 com acessório de refletância difusa, DRS-8000/ Shimadzu), onde os espectros obtidos permitem caracterizar os grupos funcionais que poderiam estar envolvidos na síntese das nanopartículas de prata. Também obtiveram-se os valores do potencial zeta e do índice de polidispersão, que são utilizados para a determinação do tamanho da nanopartícula e para indicar se o tamanho das nanopartículas está homogêneo, respectivamente. Esta análise foi realizada pelo equipamento Nano Zs90 / Malvern.

As características morfológicas das nanopartículas foram obtidas pelas imagens formadas pela Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (FEG). As imagens das partículas foram obtidas com auxílio do microscópio (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca) no Laboratório Multiusuários da UEPG.

Resultados e Discussão

Observa-se na Figura 1, através do espectro de absorção UV-Vis, a presença da banda de plásmons em torno de 400 nm, sendo indicativo da forma esférica das nanopartículas de prata e de tamanho menor a 100 nm (CARDOSO et al., 2014).

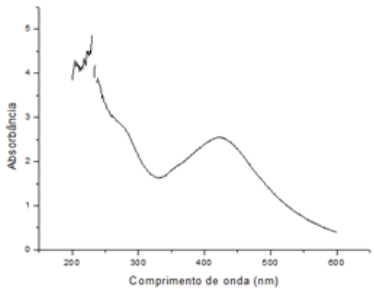


Figura 1 – Espectro de absorção UV-Vis com pico próximo a 400 nm.

As características morfológicas, além da confirmação da presença das nanopartículas de prata foram obtidas pelas imagens formadas pela Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (FEG). As fotomicrografias mostram que as nanopartículas formadas apresentam formato amorfo, quase esférico, possuindo também aglomerados de nanopartículas. O tamanho individual das nanopartículas foi calculado pelo software do equipamento, onde variaram de 50-70 nm.

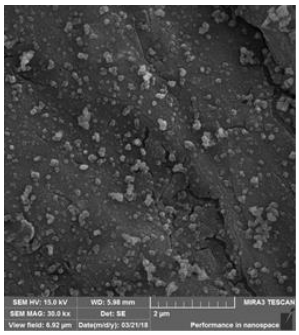


Figura 2- Fotomicrografia obtida por FEG.

Os resultados do potencial Zeta (PZ), do índice de polidispersão (PDI) e diâmetro médio (DM) das AgNPs foram colocados na Tabela 1.

Tabela 1- Valores resultantes de PZ, PDI e DM.

Amostras	PZ	PDI	DM
Amostra 1	-25,3 mV	0,979	52,48 nm
Amostra 2	-32 mV	0,561	110,1 nm
Amostra 3	-28,7 mV	1,000	748,2 nm
Amostra 4	-7,39 mV	0,433	866 nm

Sendo assim, a Amostra 1, onde foi utilizado o extrato de Sálvia a 10% obtido por turbo extração, apresentou melhor resultado dentre as amostras, onde o diâmetro médio foi de 52,48 nm, possuindo um tamanho desejável de nanopartícula de prata, além de possuir um valor de potencial Zeta próximo de |30| mV, indicando que as nanopartículas estão relativamente estáveis. Já o PDI apresentou um valor próximo de 1, o que indica que a amostra está polidispersa, ou seja, possui uma distribuição de tamanhos muito ampla.

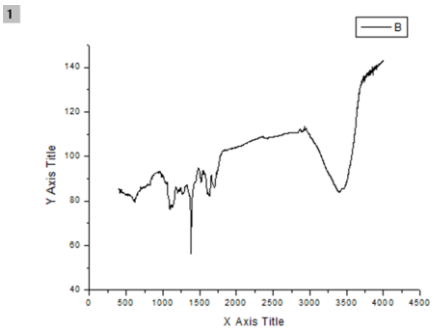


Figura 3- Espectro no FTIR de extrato com AgNP.

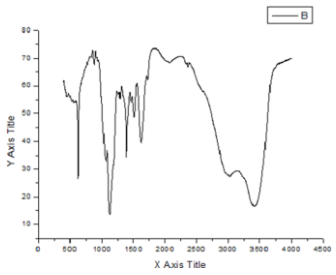


Figura 4- Espectro no FTIR contendo Gentamicina**.**

As figuras 3 e 4, mostram respectivamente, o espectro formado pelo Infravermelho da amostra 1 e extrato de *Salvia officinalis* com nanopartículas de prata com adição de gentamicina. Os resultados obtidos mostram algumas bandas com grande intensidade, sendo a próxima de 3500 cm-1 referente aos grupos hidroxila (O-H) presente nos compostos fenólicos do extrato de *Salvia officinalis*, possíveis grupos funcionais envolvidos na redução da prata iônica, como observado na Figura 5, e aos grupamentos amina presentes na estrutura química da gentamicina, como observado na Figura 6. Outras bandas presentes referem- se a ligações entre carbono e hidrogênio em anéis aromáticos (C-H 3000 cm-1), a duplas ligações entre carbonos em anel aromático (C=C 1500 cm-1), a possíveis grupamentos ésteres, éteres, álcoois ou fenóis (C-O 1020-1300 cm-1) e prováveis grupamentos cetonas ou ésteres (C=O 1700-1750 cm-1).

Conclusões

O método de síntese verde utilizado para a formação das nanopartículas de prata a partir do extrato de *Salvia officinalis* mostrou-se viável, sendo de fácil execução e de baixo impacto ambiental.

Através da determinação do potencial zeta e da analise das imagens obtidas por FEG, a amostra que obteve melhor representatividade, através da formação de nanopartículas de tamanhos desejáveis, foi a amostra 1, contendo o extrato de *Salvia officinalis* obtido pelo método de turbo extração a 10 %.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo excelente ambiente oferecido aos seus alunos e os profissionais qualificados que disponibiliza para nos ensinar e auxiliar. As professoras Josiane de Fátima Padilha de Paula e Ana Cristina Oltramari Toledo, pela orientação e por toda a ajuda ofertada. Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

AHANGARI, A. **Development of gentamicin-gold nanospheres for antimicrobial drug delivery to Staphylococcal infected foci**. Drug Deliv. v. 20, n.1, p. 34–39, 2013.

CARDOSO, V. S. et al. **Collagen-based silver nanoparticles for biological applications: synthesis and characterization**. Journal of nanobiotechnology, v. 12, n. 1, p. 36, 2014.

CASANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis**. 2010, 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Química de São Carlos – USP. São Carlos, 2010. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-23062010-164224/pt-br.php Acesso em 04 fev. 2017.

ESPINOZA, J. T., **Desenvolvimento tecnológico e caracterização de lipossomas carregados com nanoparticulas de prata obtidas por síntese verde.** 2017, 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2017.