

# FORMULAÇÃO DE HIDROGEL COM AÇÃO CICATRIZANTE USANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS COM EXTRATO DA PLANTA *Camellia sinensis*

Palavras-Chave: Hidrogel, Nanopartículas de prata biogênicas, *Camellia sinensis*

Autores/as:

Gabriela Gomes Silva, IQ, UNICAMP

Merianne Mitamara Vasconcelos de Moura, IQ, UNICAMP

Prof.<sup>(a)</sup> Dr.<sup>(a)</sup> Ljubica Tasic (orientadora) IQ, UNICAMP

## INTRODUÇÃO:

Dentro do avanço da nanobiotecnologia, as nanopartículas de prata (AgNP) vêm sendo amplamente aplicadas a setores como cosméticos e farmacêuticos, explorando suas características como o baixo custo, uma forte ação antimicrobiana, podendo atuar como agentes antibacterianos, antivirais, anti-inflamatórios, regeneradores, dentre outras atividades [1].

As AgNP podem ser sintetizadas através de rotas sintéticas ou biogênicas, sendo que nesta última, faz-se o uso de extratos, na maioria das vezes aquosos, de plantas que contêm moléculas capazes de reduzir os íons prata, além de ser uma rota de menor custo, mais sustentável por não gerar resíduos tóxicos e conferir um revestimento à nanopartícula trazendo, assim, uma maior estabilidade [2].

Além disso, observam-se cada vez mais pesquisas em relação a materiais que auxiliam no tratamento de feridas, dentre eles o hidrogel de carboximetilcelulose (CMC) que, devido a

sua eficácia, seu baixo custo e fácil armazenamento, é uma alternativa para a reparação dos tecidos, além de atuar como uma barreira contra possíveis agentes externos [3]. Assim, este projeto tem o objetivo de explorar as propriedades de nanopartículas de prata e do hidrogel no processo de cicatrização no tratamento de feridas.

## METODOLOGIA:

### EXTRATO DE FOLHAS

Neste projeto, a planta utilizada para a síntese de nanopartículas é a *Camellia sinensis* (chá verde), por também apresentar propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, o que potencializam o tratamento durante o processo de cicatrização de feridas [4]. Para se obter o extrato, usou-se 1 g de folhas frescas de chá verde obtidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, SP, Brasil), que foram pesadas e colocadas em um béquer com 30 mL de água Milli-Q. O sistema permaneceu sob agitação e em aquecimento por 30 min a 50°C. Em

seguida, o extrato foi filtrado e o pH foi ajustado para 7,4 utilizando uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mmol L<sup>-1</sup>. Por último, o extrato foi armazenado em geladeira, conforme esquematizado na Figura 1.

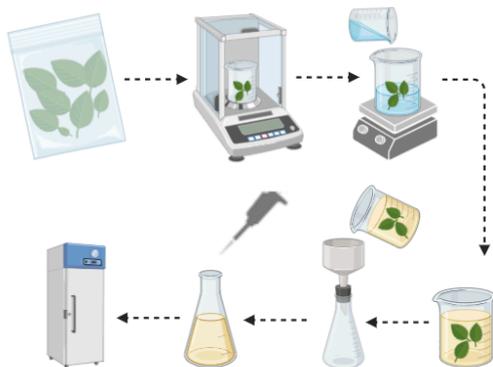


Figura 1: Esquema representativo para a síntese do extrato.

## BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS

Para a síntese de nanopartículas, abreviadas a partir desse momento como AgNP@BioCVerde, foram realizados quatro experimentos, sumarizados na Tabela 1, variando os volumes de extrato e as condições do sistema reacional. Para isso, utilizou-se uma solução de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) 1 mmol L<sup>-1</sup>, adicionando gota-a-gota ao volume do extrato. Logo após as sínteses, as amostras foram caracterizadas por Espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic Light Scattering* – DLS), medindo-se os tamanhos e a estabilidade com o equipamento ZETASIZER NANO - ZS - ZEN 3600 e Espectroscopia de ultravioleta visível (UV-Vis, Espectrofotômetro Agilent 8453).

Experimento	Extrato	AgNO <sub>3</sub>	Com agitação	Sem agitação
1	10 mL	10 mL	15 min	-
2	10 mL	10 mL	-	X
3	20 mL	10 mL	15 min	-
4	20 mL	10 mL	-	X

## HIDROGEL

Foram formulados quatro hidrogéis (Tabela 2), variando a proporção de carboximetilcelulose (CMC) e o agente umectante sendo glicerina ou polietilenoglicol (PEG). Inicialmente, os respectivos volumes de água foram aquecidos até 60 °C para solubilizar o conservante líquido constituído pela combinação de fenoxietanol e etilhexilglicerina (*Phenoxyethanol and Ethylhexylglycerin* - PEHG). Em seguida, as soluções foram resfriadas à temperatura ambiente antes da adição dos agentes umectantes. Por último, a CMC foi adicionada e o sistema foi levado ao homogeneizador (ULTRA TURRAX IKA T18 basic).

Hidrogel	CMC (%)	PEHG (%)	Glicerina (%)	PEG (%)	Água Milli-Q
1	2	0,1	10		Qsp* 50 g
2	2			10	
3	3,5		15		
4	3,5			15	

\* Qsp: Quantidade suficiente para.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### CARACTERIZAÇÃO DAS AgNP@BioCVerde

Após a síntese, as amostras (Figura 2), foram caracterizadas em cinco momentos: 0 h (após a síntese), 24 h, 48 h, 72 h e 6 meses depois, para que fosse possível acompanhar a formação das nanopartículas e sua estabilidade ao longo do tempo.

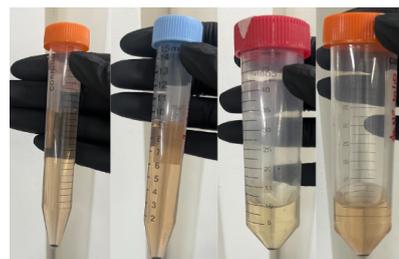


Figura 2: AgNP@BioCVerde sintetizadas conforme experimentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente, da esquerda para direita.

<b>Tabela 3: Resultados obtidos pela análise do DLS das AgNP@BioCVerde</b>			
<b>Experimento</b>	<b>Tamanho (nm)*</b>	<b>Potencial zeta (mV)*</b>	<b>Índice de polidispersividade (PDI)*</b>
<b>1</b>	46,06 ± 3,47	-28,7 ± 1,5	0,326 ± 0,063
<b>2</b>	50,13 ± 5,06	-28,6 ± 1,5	0,242 ± 0,017
<b>3</b>	45,12 ± 3,43	-26,2 ± 3,1	0,375 ± 0,121
<b>4</b>	47,37 ± 3,81	-28,3 ± 4,0	0,345 ± 0,057

\* Os valores apresentados na tabela são expressos como média dos resultados obtidos nas cinco análises.

Na Tabela 3 estão sumarizados os resultados da caracterização físico-química das nanopartículas obtidas. Visto que a estabilidade do sistema coloidal é dada quando o valor do potencial zeta é menor que -30 mV ou maior que +30 mV, ou seja, valores em que as amostras terão menor chance de agregação e sedimentação, tem-se que as AgNP@BioCVerde apresentaram resultados satisfatórios se comparados aos pré-estabelecidos pela literatura [5].

O tamanho das nanopartículas varia a depender da condição em que ela foi sintetizada, logo, a agitação durante a titulação com AgNO<sub>3</sub> é um fator que deve ser considerado para a variação de tamanho das nanopartículas a depender da velocidade de agitação e do tempo [6]. Analisando os dados, os experimentos realizados com agitação - Experimentos 1 e 3 (Tabela 3) - apresentaram tamanhos menores em relação às nanopartículas obtidas em experimentos sem agitação (Experimentos 2 e 4) estando, assim, de acordo com a literatura.

Ademais, os extratos vegetais contêm moléculas, como flavonóides, proteínas e aminoácidos, capazes de reduzir os íons prata Ag<sup>+</sup> e revestirem as nanopartículas, podendo, assim, aumentar o tamanho, além de conferir estabilidade e proteção [7].

Além disso, a homogeneidade do sistema é dada através do índice de polidispersividade (PDI), que, quando menor que 0,3, mais homogêneo é o sistema e, dos valores apresentados na Tabela 3, as amostras de AgNP@BioCVerde são consideradas de tamanhos homogêneos [8].

Por meio da espectroscopia UV-Vis, foram obtidos os espectros de absorção (Figura 3) das soluções coloidais de AgNP@BioCVerde em que o máximo de absorção foi em 480 nm (Banda de Plasmon) considerado satisfatório em relação à literatura, visto que o intervalo que indica a presença de nanopartículas de prata esféricas na solução é dado entre 400 e 530 nm [8].

Pelas bandas obtidas, nota-se que, após 6 meses, as amostras dos experimentos com estequiometria 1:1 (Figuras 3A e 3B) permaneceram mais intensas e de valores próximos às primeiras análises realizadas, diferente das amostras 2:1 (Figuras 3C e 3D) que apresentaram uma queda na absorbância mais significativa, podendo ser justificada pela agregação de partículas, que, conseqüentemente, interfere no comprimento de onda que será absorvido [9].

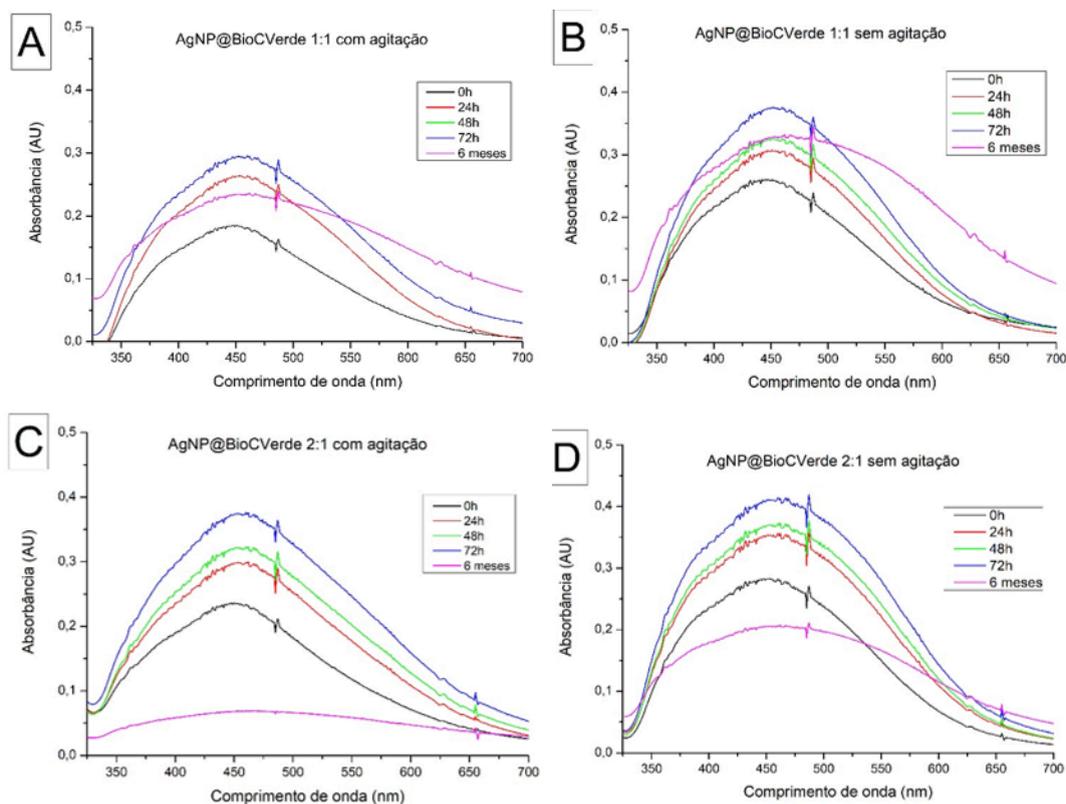


Figura 3: Espectros de absorção para amostras de AgNP@BioCVerde (a) Experimento 1 (b) Experimento 2 (c) Experimento 3 (d) Experimento 4.

## FORMULAÇÃO DE HIDROGEL

Para estudar as formulações de hidrogel, mostradas na Tabela 2, variou-se a concentração da CMC, a fim de se observarem características distintas entre cada material, além de utilizar diferentes agentes umectantes (glicerina e polietilenoglicol), que alteram a viscosidade do hidrogel [3]. Comparando os hidrogéis com 2% de CMC (Hidrogéis 1 e 2, Tabela 2), notou-se que a glicerina deixou o material mais fluido (Figura 4A) em relação ao hidrogel com polietilenoglicol (Figura 4B). A mesma característica se observou nos hidrogéis com 3,5% de CMC (Hidrogéis 3 e 4, Tabela 2, Figuras 4C e 4D, respectivamente), sendo o Hidrogel 4 com polietilenoglicol a formulação mais consistente dentre as demais.

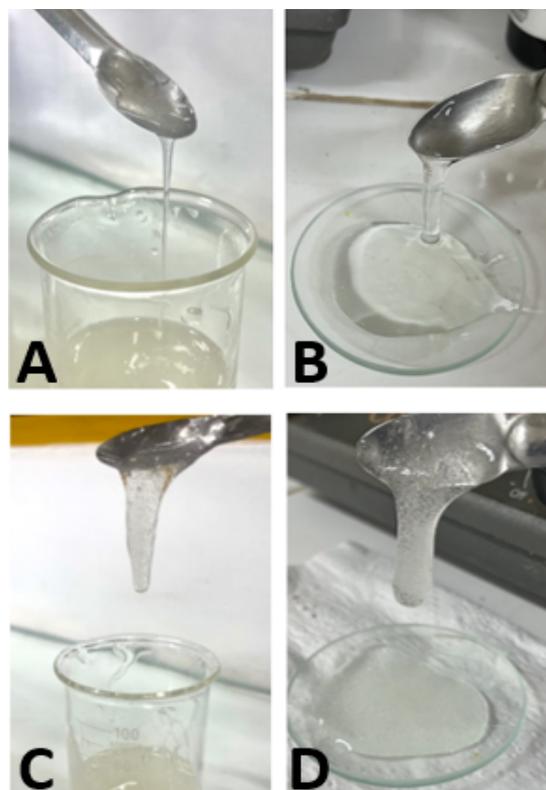


Figura 4: Formulações de hidrogéis com carboximetilcelulose (a) Hidrogel 1 (b) Hidrogel 2 (c) Hidrogel 3 (d) Hidrogel 4.

## CONCLUSÃO

Considerando que este trabalho de iniciação científica ainda está em andamento, até o momento a metodologia para a biossíntese de AgNP@BioCVerde tem sido estudada quanto a sua reprodutibilidade, utilizando folhas secas do chá verde, a fim de obtermos resultados satisfatórios em relação a literatura, assim como as amostras já sintetizadas apresentaram. Ademais, nota-se que é possível sintetizar as nanopartículas de prata biogênicas com o extrato de folhas da *Camellia sinensis*, explorando sua capacidade redutora dos íons prata. Além disso, conclui-se que os volumes de extrato e a condição em que a síntese ocorre (com ou sem agitação) interfere no tamanho, no revestimento e na estabilidade da nanopartícula, podendo ser fatores que levam a uma sedimentação ou agregação das partículas.

Em relação às formulações de hidrogel com carboximetilcelulose, a glicerina como agente umectante deixou o material mais fluido em relação ao polietilenoglicol, porém é necessário realizarmos a incorporação das nanopartículas ao hidrogel, para que se avalie qual formulação é a mais adequada para sustentar a solução coloidal.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] DURÁN, N.; ROLIM, W.R.; DURÁN, M.; FÁVARO, W.J.; SEABRA, A.B. **Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos**. *Quim. Nova*, 42, 206-213, 2019.
- [2] RAI, M. **Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos**. *Cienc. Cult*, 65, 44-48, 2013.
- [3] MONTEIRO, M.S.D.S.B.; SANTOS, T.M. D.; OLIVEIRA, C.A.; FREITAS, Z.M.F.D; SANTOS, E.P.D. **Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis de carboximetilcelulose para o tratamento de feridas**. *Infarma Cienc. Farm.*, 32, 41-55, 2020.
- [4] ABOULWAFI, M. M.; YOUSSEF, F.S.; GAD, H.A.; ALTVAR, A.E.; AL-AZIZI, M.M.; ASHOUR, M.L. **A comprehensive insight on the health benefits and phytoconstituents of *Camellia sinensis* and recent approaches for its quality control**. *Antioxidants*, 8, 455, 2019.
- [5] DAS, P.; DAS, M.K. **Production and physicochemical characterization of nanocosmeceuticals**. In *Nanocosmeceuticals Innovation, Application, and Safety*; 95-138, 2022.
- [6] BADRI, W.; MILADI, K.; EDDABRA, R.; FESSI, H.; ELAISSARI, A **Elaboration of Nanoparticles Containing Indomethacin: Argan Oil for Transdermal Local and Cosmetic Application**. *Journal of Nanomaterials*, 1-9, 2015.
- [7] Faculdades Oswaldo Cruz. **Nanopartículas de prata: aplicações e impacto ambiental**. *Rev. Acad.*, 16, 2017.
- [8] GOMES, D.M.D. **Otimização da síntese verde de nanopartículas de prata para incorporação em gel antimicrobiano**. Dissertação de mestrado, Manaus, 2019.
- [9] TASIĆ, L. **Química em 50 ensaios**, Campinas: Editora Átomo, 274-281, 2017.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil. À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ljubica Tasic por toda orientação e auxílio, assim como a toda a equipe dos Laboratórios de Espectroscopia e de Química Biológica, que deram suporte sempre que precisei.