

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**ANAIS DO VII WORKSHOP DA REDE DE
NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

Maria Alice Martins
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Editores

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: cnpdia.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Sandra Protter Gouvea
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Dra. Lucimara Aparecida Forato

Revisor editorial: Valéria de Fátima Cardoso
Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Ângela Beatriz De Grandi
Imagem da capa: Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus
Loures Mourão, Viviane Soares

1a edição

1a impressão (2013): tiragem 50

Todos os direitos reservados.
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).
CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação

Anais do VII Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio –
2012 - São Carlos: Embrapa, 2012.

Irregular
ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Assis, Odílio Benedito Garrido de.
III. Ribeiro, Caue. IV. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. V. Embrapa Instrumentação.

© Embrapa 2013

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOFIBRAS DE PLA/PVP CONTENDO ÓLEO DE COPAÍBA PRODUZIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO

Bonan, R.F.¹, Albuquerque, A.J.R.², Mattoso, L.H.C.³, Medeiros, E.S.⁴, Oliveira, J.E.⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da UFPB – João Pessoa/PB; ² Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia – Renorbio; ³ Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio – Embrapa Instrumentação – São Carlos – SP; ⁴ Departamento de Engenharia de Materiais / UFPB – João Pessoa/PB; juliano.materiais@gmail.com

Projeto Componente: PC5 Plano de Ação: PA2

Resumo

Nos últimos anos, avanços científicos têm permitido o desenvolvimento de nanomateriais com aplicações biomédicas específicas, que incluem os sistemas nanométricos de liberação controlada de fármacos. O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de nanofibras de PLA/PVP com a incorporação de óleo de copaíba, utilizando-se a técnica da fiação por sopro em solução. O teste utilizado foi o da difusão em ágar e o microrganismo selecionado foi a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os resultados obtidos mostraram a presença do halo de inibição confirmando o potencial uso dessas nanofibras para liberação controlada de fármacos.

Palavras-chave: Nanofibras, Fiação por sopro em solução, Atividade antimicrobiana, Óleos essenciais, Copaíba

Introdução

A fiação por sopro em solução é uma técnica que permite a produção de fibras nanométricas, em escala industrial e com menor custo em relação a outras técnicas similares (MEDEIROS et al., 2009).

O estudo dessas nanofibras tem atraído grande atenção, particularmente devido suas peculiares propriedades físicas e químicas, ou seja, sua alta área superficial em relação ao volume e possibilidade do controle de suas propriedades de superfície, sendo adequadas para o uso em dispositivos de liberação controlada de fármacos (LU et al., 2011). Esses sistemas de liberação apresentam grandes vantagens em relação à terapêutica convencional como a manutenção da concentração do fármaco em níveis terapêuticos por maiores períodos de tempo, aumento nos intervalos de administração e diminuição dos efeitos colaterais (UBRICH et al., 1999). O uso de sistemas poliméricos nesses dispositivos de liberação desempenha um papel crucial, devido principalmente a sua variedade de estruturas químicas, juntamente com a possibilidade de

controle da sua arquitetura molecular e morfologia (PEPPAS et al., 2006). Entre os polímeros utilizados, se destaca o poli (ácido láctico), PLA, devido suas características como biodegradabilidade e biocompatibilidade. Porém, apresenta algumas limitações para uso biomédico, como baixa taxa de degradação, em relação a outros poliésteres, hidrofobicidade e presença de grupos laterais de baixa reatividade. Sendo assim, diversas técnicas podem ser empregadas visando melhorar as propriedades físico-químicas e biológicas do PLA, onde a produção de blendas com diferentes polímeros (degradáveis ou não) é provavelmente o método mais amplamente utilizado (RASAL et al., 2010). Recentemente, estudos têm se voltado para avaliar a incorporação de fitoterápicos a esses sistemas nanométricos de liberação, visando principalmente o seu potencial terapêutico, devido as suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas, associado ao seu menor custo em relação às medicações tradicionais (NADERI et al., 2011). O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana através do teste de difusão em ágar de nanofibras produzidas a partir de blendas de poli(ácido

lático) e poli(vinilpirrolidona) contendo óleo de copaíba.

Materiais e métodos

Foram preparadas 5 diferentes soluções poliméricas para fiação utilizando como solventes o clorofórmio e acetona na proporção 3:1 (v/v) e PLA, na proporção de 12% (m/v) com adição de diferentes proporções (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) em peso de PVP. Em todos os grupos foi adicionado o óleo de copaíba na proporção de 20% em relação ao peso total de polímero utilizado. Foi realizada a fiação por sopro em solução utilizando como parâmetros principais a pressão de 50 Psi, taxa de injeção de 120 $\mu\text{l}/\text{min}$ e distância de trabalho de 20 cm. As amostras foram coletadas em coletor cilíndrico sob rotação. Foi utilizada para o teste antimicrobiano uma cepa-padrão ATCC da bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). Para o procedimento, o microrganismo foi ativado em caldo BHI (Brain Heart Infusion), incubado em anaerobiose, a 37°C por 24 horas. A partir deste inóculo, foi padronizada a turvação até escala 0,5 de Mc Farland em solução salina 0,85%.

Posteriormente, foi semeado em placas de petri (90 mm de diâmetro) contendo ágar Mueller-Hinton. Sobre a superfície semeada, foram posicionados discos dos diferentes grupos das blendas, que foram previamente cortados no diâmetro de 20 mm. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. O teste foi realizado em triplicata. Como controle negativo, foram utilizados discos de nanofibras sem a presença do óleo e com as mesmas proporções de PVP do grupo teste. Foram realizadas 5 medições do halo de inibição, partindo-se da borda do disco até a margem onde há crescimento de microrganismos. Após as medidas, foi calculada a média aritmética dos valores encontrados.

Resultados e discussão

Os resultados deste estudo revelaram a presença do halo de inibição a partir do grupo com 5% de PVP na blenda polimérica. O halo se tornou maior com o aumento da concentração do PVP, conforme mostrado nas Fig. 1 a 5. O grupo contendo 20% de PVP demonstrou ser o mais eficiente, por determinar um maior halo de inibição frente a este microrganismo. Sob a área da blenda, em todos os grupos, houve inibição completa do microrganismo, conforme mostrado

na Fig 6. Os grupos sem óleo não apresentaram halo. A média aritmética das medidas dos halos de inibição está mostrada na Tab. 1. Esses resultados demonstram que o PVP desempenhou um papel facilitador para a liberação do princípio ativo através da nanoestrutura polimérica. O aumento da capacidade antimicrobiana da blenda, demonstrada através do aumento do halo de inibição, esteve diretamente relacionada com o aumento da quantidade do PVP, levando-se em consideração que os outros parâmetros foram mantidos inalterados. Isto pode ter ocorrido como consequência da natureza hidrofílica e higroscópica desse polímero, permitindo maior interação com o meio de cultura e favorecendo assim a liberação do fármaco. Porém, somente através desse estudo, não se pode prever qual o mecanismo (difusão, intumescimento seguido por difusão e/ou erosão) está conduzindo a liberação do fármaco, visto que diversos fatores relacionados ao polímero, ao fármaco e ao sistema interferem nesses processos.



Fig. 1: Halo de inibição do grupo com 0% de PVP

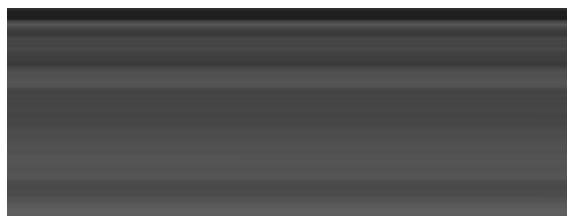


Fig. 2: Halo de inibição do grupo com 5% de PVP

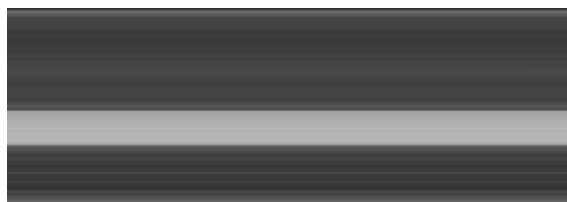


Fig. 3: Halo de inibição do grupo com 10% de PVP

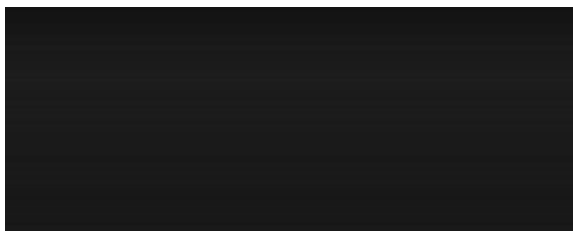


Fig. 4: Halo de inibição do grupo com 15% de PVP



Fig. 5: Halo de inibição do grupo com 20% de PVP

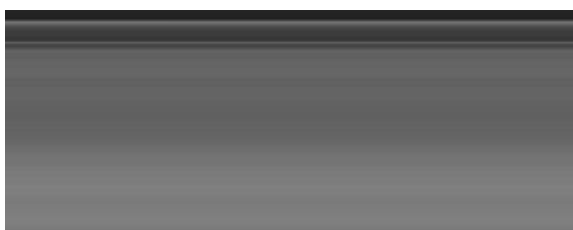


Fig. 6: Área sob a blenda com inibição completa do microrganismo estudado.

Tab. 1: Média aritmética do halo de inibição

Grupo	Halo de inibição (mm)
PLA puro	-----
PLA/ 5% PVP	0,358 ±0,220
PLA/ 10% PVP	0,869 ±0,239
PLA/ 15% PVP	1,124 ±0,445
PLA/ 20% PVP	1,465 ±0,184

Conclusões

A partir dos dados obtidos, concluiu-se que as nanofibras sintetizadas com a incorporação do óleo de copaíba apresentaram efeito contra o microrganismo *Staphylococcus aureus*, com presença de halo inibitório a partir do grupo com 5% de PVP. Os resultados iniciais se mostraram promissores, no que se refere ao seu potencial uso clínico como sistema de liberação controlada de

fármacos. Investigações adicionais em andamento estão sendo realizadas para explicar melhor os mecanismos de liberação do fitoterápico através da matriz polimérica nanoestruturada.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Processo 476362/2012-1), Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

Referências

LU, X.; ZHANG, W.; WANG, C.; WEN, T.; WEI, Y. One-dimensional conducting polymer nanocomposites: Synthesis, properties and applications. *Progress in Polymer Science*, v.36, n.5, p.671-712, 2011

MEDEIROS, E. S. ; GLENN, G. M. ; KLAMCZYNSKI, A. P. ; ORTS, W. J. ; MATTOSO, L. H. C. . Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 113, p. 2322-2330, 2009.

NADERI H.; MATIN M.M.; BAHRAMI, A.R. Review paper: Critical Issues in Tissue Engineering: Biomaterials, Cell Sources, Angiogenesis, and Drug Delivery Systems. *J. Biomater. Appl.* v. 26, n.4, p. 383-417, 2011.

PEPPAS, N. A.; HILT, J. Z. ; KHADEMOSSEINI, A.; LANGER, R. Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology. *Advanced Materials*, v.18, n.11, p.1345-1360, 2006.

RASAL, R. M., JANORKAR, A.V.; HIRT, D.E. Poly (lactic acid) modifications. *Progress in Polymer Science*, v.35, n.3, Mar, p.338-356, 2010.

UHRICH, K. E., S. M. CANNIZZARO, S.M.; LANGER, R.S.; SHAKESHEFF, K.M. Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*, v.99, n.11, p.3181-3198. 1999.