

ESTUDO DA RETICULAÇÃO DA MATRIZ DE POLI(VINIL PIRROLIDONA) (PVP) e CARBOXIMETIL CELULOSE (CMC) PARA A OBTENÇÃO DE HIDROGÉIS UTILIZADOS EM CURATIVOS.

¹ M.T.S.Alcântara, ¹ E.Absy, ¹S.O. Rogero, ¹A.B.Lugão
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cid. Universitária – 05508-900 - São Paulo–SP
mtsalc@ipen.br

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN-SP

RESUMO

Alguns tipos de queimaduras graves altamente exsudativas necessitam de curativos com elevada capacidade de absorção de fluido fisiológico e boas propriedades mecânicas. As membranas de hidrogel à base de PVP reticuladas e esterilizadas de forma simultânea pela radiação, foram introduzidas no mercado europeu e agora estão alcançando outras regiões; porém, apresentam baixa absorção de fluido fisiológico apesar de suas excelentes propriedades mecânicas. O objetivo deste trabalho foi a obtenção de um hidrogel com alta fração gel; porém, com alto grau de intumescimento. Foi também realizada a avaliação quanto à citotoxicidade das formulações reticuladas por via química e/ou radiação. Foi utilizado PVP e CMC reticulado com sulfato de alumínio e radiação gama para a obtenção do hidrogel. Verificou-se que os hidrogéis obtidos com 1,4 e 2,8% de sulfato proporcionaram um aumento de 80% e 140%, respectivamente na fração gel; porém, obteve-se uma redução muito drástica em sua capacidade de intumescimento. Resultados de citotoxicidade mostraram que o hidrogel de PVP/CMC reticulado por radiação não apresentou toxicidade e que ao adicionar sulfato para a reticulação química do CMC a amostra tornou-se tóxica.

Palavras chave: hidrogel, poli(vinil pirrolidona), carboxi metilcelulose,

INTRODUÇÃO

Hidrogéis poliméricos apresentam estrutura reticulada tridimensional e capacidade de absorver água sem se solubilizar, sendo então estáveis na presença de água. Sua característica hidrofílica se deve à presença de grupos que apresentam afinidade em ligar-se com moléculas de água ⁽¹⁾.

Hidrogéis de PVP são muito utilizados como biomateriais por não apresentarem toxicidade, além disso, apresentam a propriedade de inchamento elevado ⁽²⁾. O carboximetil celulose de sódio (CMC) também apresenta alta capacidade de reter água ⁽³⁾, sugerindo que misturas destes dois polímeros poderiam fornecer hidrogéis com alto grau de intumescimento para as mais variadas aplicações.

O sulfato de alumínio pode ser utilizado para reticular o CMC enquanto que a radiação ionizante pode promover a reticulação do PVP e simultaneamente a esterilização do material.

Este trabalho é uma continuação de um estudo anterior que utilizou a metodologia de planejamento fatorial⁽⁴⁾ para a determinação dos vários parâmetros relevantes e suas dimensões ótimas. Neste estudo se introduziu a adição de sulfato de alumínio para reticulação do CMC.

O objetivo deste trabalho foi a avaliação do nível de reticulação e intumescimento do sistema CMC/PVP reticulado por via química e por radiação comparativamente ao mesmo sistema reticulado apenas por radiação, bem como a avaliação da citotoxicidade dos dois sistemas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O poli(vinil pirrolidona) usado neste estudo foi o Kollidon® 90F produzido pela Basf, o carboximetil celulose de sódio trata-se do produto Aqualon® 7MF da Hercules/Divisão Aqualon, cujo grau de substituição é 0,7, sendo ambos grau farmacêutico enquanto que o sulfato de alumínio usado foi grau PA, procedente da Reagen®.

Os hidrogéis foram preparados misturando 21,5% de CMC a 16,2% de PVP, adicionando-os à água e posteriormente homogeneizando-os (F1). Para as formulações F2 e F3 diluiu-se 1,4 e 2,8% respectivamente de sulfato de

alumínio na água. As amostras foram seladas em embalagem de polietileno após eliminação do ar e irradiadas com raios gama proveniente de fonte de ^{60}Co , na dose de 10 kGy.

Intumescimento e Fração Gel

Depois de irradiadas, as amostras, foram secas em estufa a 60°C até massa constante. Posteriormente foram imersas em água destilada e pesadas com 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480 e 1440min e o resultado do intumescimento foi obtido, usando a equação A.

$$\text{Intumescimento} = (m_i - m_s)/m_s \text{ (g H}_2\text{O/g polímero seco)} \quad (\text{A})$$

Onde: m_i é a massa do polímero intumescido e m_s é a massa do polímero seco

Para obtenção da fração gel as amostras irradiadas e secas, em estufa a 60°C até massa constante, foram imersas durante 24h em água fervente a qual foi trocada a cada 4h. O gel obtido foi seco em estufa e a fração gel calculada conforme a equação B.

$$\text{Fração gel (\%)} = (m_f / m_o)100 \quad (\text{B})$$

Onde: m_f é a massa do gel seco depois da extração e m_o é o peso do gel seco antes da extração.

Ensaio *in vitro* de citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo método de incorporação do vermelho neutro seguindo normas internacionais [ISO] e metodologia descrita em trabalho anterior⁽⁵⁾. Foram preparados extratos das amostras F1, F2 e F3 em meio de cultura celular MEM (meio mínimo de Eagle) durante 24h em estufa 37°C. Estes extratos diluídos (100, 50, 25, 12,5 e 6,25%) foram colocados em contato com uma cultura de células da linhagem NCTC clone L929 da American Type Culture Collection e o resultado obtido pela leitura de DO em espectrofotômetro leitor de ELISA, em 540nm.

A porcentagem da viabilidade celular foi calculada em relação ao controle de células no ensaio, correspondente a 100%. PVC atóxico foi utilizado como controle negativo e solução de fenol 0,02% como controle positivo para verificação da eficácia do método.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os hidrogéis depois de preparados apresentaram-se opacos, no entanto após intumescimento a formulação contendo PVP/CMC se apresentou transparente ao contrário das formulações contendo sulfato de alumínio, como pode ser observado na fig. 1.

Como já era de esperar, as amostras cujo CMC foi reticulado com sulfato de alumínio apresentaram intumescimento menor que as outras amostras que foram reticuladas apenas com radiação.

Os resultados de intumescimento para a formulação sem sulfato de alumínio mostraram-se muito elevado e com uma diferença muito pequena entre as formulações com 1,4 e 2,8% de $Al_2(SO_4)_3$.

A fig. 1 apresenta uma das triplicatas de cada formulação estudada no ensaio, seca antes do intumescimento e intumescida durante 24h.

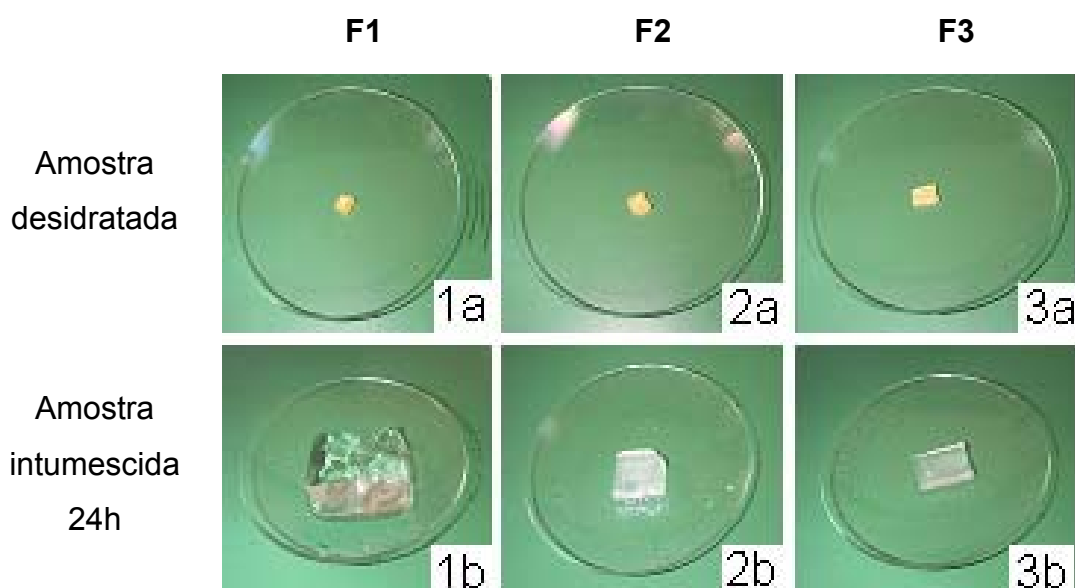


Figura 1. Amostras de F1(PVP/CMC), F2 (PVP/CMC/ 1,4% $Al_2(SO_4)_3$) e F3 PVP/CMC/ 2,8% $Al_2(SO_4)_3$ desidratadas e intumescidas durante 24h.

Os resultados obtidos nos ensaios de intumescimento estão apresentados na tabela 1 enquanto a Fig. 2 ilustra esses resultados.

Tabela 1. Média dos resultados de intumescimento das formulações F1, F2 e F3.

Tempo (min)	Intumescimento \pm dp (g H ₂ O absorvida/g polímero seco)		
	F1	F2	F3
15	2,4 \pm 0,1	2,1 \pm 0,5	1,8 \pm 0,1
30	5,6 \pm 0,4	3,5 \pm 0,6	2,7 \pm 0,1
45	8,8 \pm 0,7	4,6 \pm 0,3	3,9 \pm 0,6
60	13 \pm 1,2	5,6 \pm 0,6	4,4 \pm 0,4
90	25 \pm 2,3	7,8 \pm 0,9	5,5 \pm 0,5
120	40 \pm 3,1	10,2 \pm 1,4	6,8 \pm 0,7
180	71 \pm 8,1	13,8 \pm 1,8	8,3 \pm 0,9
240	110 \pm 13	16,9 \pm 2,3	9,8 \pm 1,3
360	180 \pm 21	20,8 \pm 2,3	11,5 \pm 1,1
480	228 \pm 29	23 \pm 2,4	12,8 \pm 1,2
1440	265 \pm 18	29 \pm 2,6	18,8 \pm 1,6

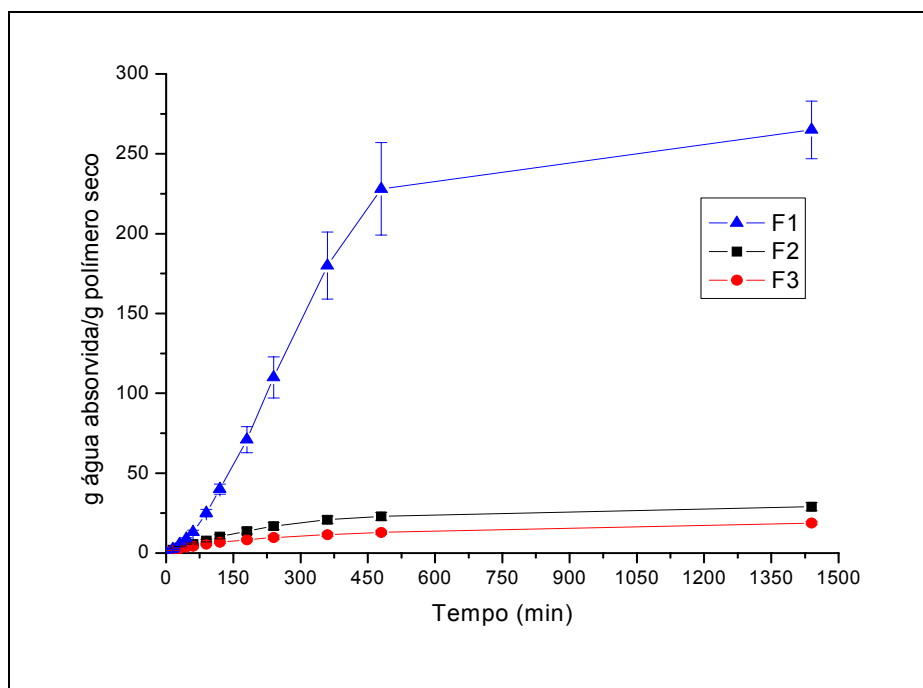


Figura 2. Intumescimento das formulações estudadas: F1(PVP/CMC), F2 (PVP/CMC/ 1,4% Al₂(SO₄)₃) e F3 PVP/CMC/ 2,8% Al₂(SO₄)₃).

Os resultados de fração gel mostram-se maiores para as formulações com sulfato de alumínio, indicando a reticulação química do CMC pelo sulfato de alumínio. Analisando os resultados é possível verificar um aumento de 18,4 e 31,8% na fração gel para as formulações F2 e F3 respectivamente. Os resultados e os desvios padrões obtidos nos ensaios de fração gel. Estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Resultados do ensaio de fração gel das formulações estudadas.

Fórmula	Mo (g)	Mf (g)	% Fração gel	% Fração gel (média)
F1	0,2948	0,0591	20,0	22,9 ± 6
	0,3042	0,0907	29,8	
	0,2908	0,0548	18,8	
F2	0,3343	0,1358	40,6	41,3 ± 3
	0,3847	0,1481	38,5	
	0,3257	0,1457	44,7	
F3	0,3787	0,2003	52,9	54,7 ± 10
	0,3449	0,2259	65,5	
	0,3500	0,1604	45,8	

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da % de viabilidade celular de cada diluição do extrato das amostras testadas, assim como dos controles. Projetando-se estes valores em função da concentração do extrato em gráfico foram obtidas as curvas de viabilidade celular, apresentadas na Fig. 3. Através deste gráfico pode ser obtido o índice de citotoxicidade $IC_{50\%}$, que significa a concentração do extrato que lesa 50% da população celular no ensaio. As amostras que apresentam curvas de viabilidade celular acima da linha do $IC_{50\%}$ são consideradas não citotóxicas.

Na Fig. 3 pode ser observado que as curvas de viabilidade celular das formulações contendo sulfato de alumínio estão abaixo da linha do $IC_{50\%}$, mostrando que houve lesão de praticamente todas as células em todas as concentrações do extrato, significando que estas amostras foram extremamente tóxicas. O hidrogel com PVP/CMC não causou nenhum efeito tóxico sobre as células, semelhante ao controle negativo. O controle positivo

apresentou IC_{50%} de cerca de 30, i.e., o extrato na concentração de 30% lesou 50% das células utilizadas no ensaio.

Tabela 3. Resultados de viabilidade celular das formulações estudadas.

Concentração	Controle (-)	Controle (+)	F1	F2	F3
	% Viab ± dp	% Viab ± dp	% Viab ± dp	% Viab ± dp	% Viab ± dp
100	99 ± 14	0 ± 0	65 ± 10	3 ± 13	5 ± 4
50	100 ± 17	21 ± 6	67 ± 15	2 ± 12	4 ± 9
25	98 ± 6	57 ± 12	77 ± 18	1 ± 16	4 ± 9
12,5	94 ± 21	74 ± 15	81 ± 14	1 ± 11	4 ± 8
6,25	95 ± 10	79 ± 18	91 ± 16	1 ± 20	4 ± 12

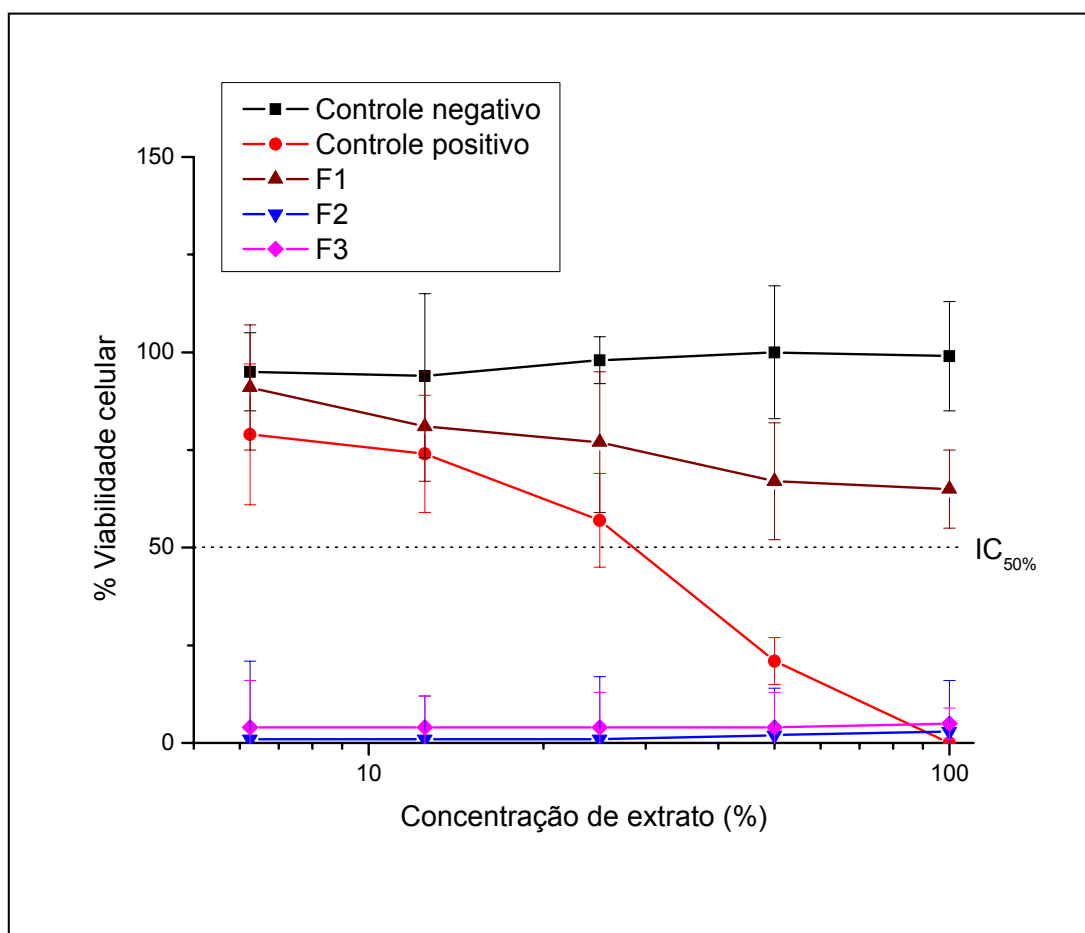


Figura 3. Curvas de viabilidade celular das formulações F1 (PVP/CMC), F2 (PVP/CMC/1,4% Al₂(SO₄)₃) e F3 (PVP/CMC/2,8% Al₂(SO₄)₃).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram concluir que o intumescimento cresce consideravelmente quando a quantidade do sulfato de alumínio é aumentada de 0 para 1,4% e a variação no intumescimento é muito pequeno quando o sulfato passa de 1,4 para 2,8%.

Da mesma forma, a fração gel aumenta drasticamente com a adição de 1,4% de sulfato de alumínio na formulação e a diferença de resultados para as formulações com 1,4 e 2,8% de sulfato é da ordem de apenas 13,4%.

O hidrogel de PVP/CMC reticulado apenas por radiação não mostrou citotoxicidade; porém, as amostras nas quais se adicionou sulfato de alumínio e em seguida se irradiou apresentaram-se tóxicas, indicando que o agente causador da toxicidade é o sulfato de alumínio.

AGRADECIMENTOS

À Biolab-Sanus e Hercules/Divisão Aqualon pelas matérias primas utilizadas, à EMBRARAD pela irradiação das amostras, e à BIOLAB pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. BAVARESCO, V.P; MACHADO, L.D. B.; ZAVAGLIA, C.A.C.; REIS, M.C. Caracterização Mecânica de Hidrogéis de PVAI para serem utilizados como cartilagem articular artificial reticulados por radiação. **Rev. Bras. Pesq. Des.**, v. 4(3) parte 2, p.1679-1681, 2002.
2. ROGERO, S.O; LORENZETTI, S.G; CHIN, G; LUGÃO, A.B. Hidrogel de poli(1-vinil-2-pirrolidona)(PVP) como matriz polimérica para sistema de liberação de fármaco, **Rev. Bras. Pesq. Des.**, v.4(3), p. 1447-1449, 2002.
3. F. ULLMANN, **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, VCH, v.A5, p.477- 479, 4nd Edition.

4. ALCÂNTARA, M.T.S. CHIRINOS H.; AMARAL, R. H., ROGERO, S. O., LUGÃO A. B. Estudo da reticulação induzida por radiação ionizante de poli(vinil pirrolidona) (PVP)/ carboximetil celulose (CMC). In: International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2005, Santos, SP, Brasil. CD-room.

5. ROGERO, S.O.; LUGÃO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S. Teste in vitro de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias. Mater. Res. v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

**STUDY OF POLY (VINYLPIRROLIDONE) (PVP) AND CARBOXIMETIL
CELULOSE (CMC) MATRIX CROSSLINKING TO OBTAIN HYDROGELS
FOR WOUND DRESSINGS.**

ABSTRACT

Deep burns, in general, produces a lot of body fluids, so they demand wound dressings with good mechanical properties and high capacity of swelling to absorb body fluids. Membranes of hydrogel based in PVP crosslinked and sterilized simultaneous by radiation were introduced in the European market and now they are reaching other regions, however they present low absorption of body fluid. The objective of this work was the development of a hydrogel with high gel fraction; but at the same time with high degree of swelling. Citotoxicity assays were also conducted for biocompatibility evaluation. In this work the hydrogels were prepared with PVP and CMC and crosslinked with aluminum sulphate and gamma radiation. It was verified that hydrogel crosslinked with 1,4 and 2,8% of sulphate also provided an increase of 80% and 140% in the gel fraction, respectively. However they showed a very drastic reduction in its capacity of swelling. The results of citotoxicity proved that the hidrogel of PVP/CMC crosslinked by radiation was not toxicity, but on the other hand, the ones partially crosslinked by sulphate were highly toxic.