



Adsorção de gentamicina e avaliação da atividade antibacteriana de hidrogéis a base de celulose modificados com β -ciclodextrina e κ -carragena

Adsorption of gentamicin and antibacterial activity of cellulose-based hydrogels modified with β -cyclodextrin and κ -carrageenan

L. O. Mota¹; K. O. Mota²; I. F. Gimenez^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais/CCET – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de Sergipe, 49100 000, São Cristóvão- SE, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciência Fisiológicas/CCBS – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, 49100 000, São Cristóvão- SE, Brasil

*iara.gimenez@gmail.com

(Recebido em 26 de fevereiro de 2022; aceito em 04 de abril de 2022)

A celulose é um biopolímero com elevado potencial de aplicação em áreas como a têxtil, alimentos e farmacêutica. Porém, a baixa solubilidade em água dificulta tais aplicações, o que pode ser contornado via modificações na estrutura, incluindo a oxidação medida por N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO). Além de aprimorar a solubilidade, as modificações abrem oportunidades de obtenção de novos materiais, dentre os quais os hidrogéis, que podem ser aplicados como adsorventes, curativos ou carreadores de fármacos. O presente trabalho avaliou a eficiência de adsorção de sulfato de gentamicina e a atividade antibacteriana dos hidrogéis a base de celulose microcristalina, previamente oxidada via mediação por TEMPO, reticulados quimicamente com epiclorigerina, na ausência e na presença dos modificadores β -ciclodextrina e κ -carragena. Os resultados de espectroscopia no infravermelho evidenciaram tanto o sucesso da oxidação da celulose quanto do processo de reticulação, enquanto a difratometria de raios X mostrou o caráter predominantemente não cristalino dos hidrogéis. Imagens de microscopia eletrônica de varredura revelaram morfologias semelhantes a esponjas e, finalmente, a avaliação da atividade antibacteriana por meio do teste de difusão em ágar mostrou que os hidrogéis preparados apresentam grande potencial como possíveis candidatos a utilização como carreadores de fármaco.

Palavras-chave: celulose, hidrogel, atividade antibacteriana.

Cellulose is a biopolymer with high potential in applications in areas such as textile, food and pharmaceutical. However, the low water solubility makes the applications difficult and can be overcome through structural modifications which include oxidation with 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO). In addition to improving the solubility, structural changes open opportunities to obtain new materials including hydrogels that can be applied as adsorbents, wound dressings and drug carriers. This work brings an evaluation of the adsorption efficiency of adsorption of gentamicin sulfate as well as of the antibacterial activity of the microcrystalline cellulose-based hydrogels. Cellulose has been previously oxidized upon TEMPO mediation and chemically crosslinked with epichlorohydrin both in the absence and in the presence of modifiers (β -cyclodextrin and κ -carrageenan). Results of infrared spectroscopy evidenced both the success of oxidation and the crosslinking process, while X ray diffractometry showed the predominant non-crystalline character of the hydrogels. Scanning electron microscopy images revealed sponge-like morphologies and, finally, evaluation of the antibacterial activity through agar diffusion method showed that the hydrogels obtained exhibit high potential as candidates to use as drug carriers.

Keywords: cellulose, hydrogel, antibacterial activity.

1. INTRODUÇÃO

A celulose, biopolímero mais abundante e de ampla disponibilidade, tem recebido grande atenção por parte de pesquisadores de todo o mundo. A celulose apresenta vantagens em relação a outros polímeros como a hidrofiliabilidade, ausência de toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, benignidade ambiental e baixo custo, favorecendo sua utilização em muitos campos industriais. No entanto, a celulose nativa é insolúvel em água e apenas levemente solúvel em determinados solventes orgânicos, devido à estrutura complexa das regiões cristalinas e não

cristalinas, bem como a forte interação das ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares [1]. Por outro lado, as hidroxilas possibilitam modificações estruturais capazes de melhorar as propriedades físico-químicas e aprimorar a aplicação em diferentes áreas, seja como biomateriais para implantes, seja na remoção de componentes químicos em água ou como hidrogéis capazes de carrear fármacos ou fertilizantes [2]. Porém, para que a celulose nativa possa ser empregada, geralmente uma etapa inicial de desagregação das fibras é necessária de modo a aumentar o grau de individualização das mesmas. Um dos métodos mais utilizados para atingir este objetivo é a oxidação assistida pelo agente TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina), que converte parte dos grupos -OH em grupos aldeído e carboxilato, reduzindo a quantidade de grupos hidroxilas e inserindo cargas negativas na superfície (COO^-) [3].

Dentre as modificações químicas possíveis após o tratamento inicial, destaca-se a reticulação, que ocorre através de interações físicas ou químicas conectando os grupos funcionais de uma cadeia polimérica a outra por meio de ligação covalente ou interações supramoleculares, como ligação iônica e ligação de hidrogênio [4]. A reticulação pode gerar materiais com diversas arquiteturas e, dentre eles, os hidrogéis que são o foco do presente trabalho. Os hidrogéis são redes tridimensionais compostas por cadeias poliméricas hidrofílicas, contendo pontos de interação denominados reticulações, que podem resultar de interações físicas ou químicas. Tais redes possuem a capacidade de absorver quantidades significativas de água, intumescendo quando imersos em meio aquoso e podem, se especificamente desenvolvidos, apresentar propriedades reológicas e mecânicas que possibilitem aplicação como biomateriais, dentre outras aplicações. No contexto de materiais com potencial para uso em curativos, vários requisitos devem ser atendidos, tais como biocompatibilidade, propiciar um ambiente com umidade apropriada, além de prevenir a proliferação de bactérias e proteger o ferimento frente a agressões mecânicas [5]. Dentro deste contexto, os hidrogéis são candidatos viáveis para estudos de avaliação de novas composições e do potencial para o desenvolvimento de curativos.

Neste trabalho, estudou-se a adsorção do antibiótico gentamicina e a atividade antibacteriana de hidrogéis a base de celulose, a fim de se avaliar preliminarmente o potencial de uso em curativos capazes de liberar fármacos. Para atingir este objetivo, a celulose microcristalina, previamente oxidada via mediação por TEMPO foi reticulada quimicamente com epiclorigina, na ausência e na presença dos modificadores β -ciclodextrina e alternativamente κ -carragena.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes celulose microcristalina (CMC, Sigma-Aldrich), 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO, Sigma-Aldrich), NaOH (Vetec), NaBr (Dinâmica), NaClO (Dinâmica), epiclorigina (Synth), β -ciclodextrina (β -CD, Sigma-Aldrich), κ -carragena (Sigma-Aldrich), Sulfato de Gentamicina (INLAB), ninhidrina (Vetec), fosfato de potássio monobásico (Dinâmica) foram utilizados sem etapas posteriores de purificação.

2.1 Preparação dos hidrogéis

2.1.1 Oxidação da celulose microcristalina

Para a oxidação da celulose microcristalina mediada por (TEMPO) [6], adicionou-se 5 g de celulose microcristalina (CMC) a 400 mL de água destilada, submetendo a suspensão a sonificação por 20 min. Em seguida, uma solução aquosa contendo TEMPO (0,10 mmol por 1 g de celulose) e NaBr (1 mmol por 1 g de celulose) foi adicionada a suspensão de CMC, agitando-se por 20 min. Neste ponto adicionou-se uma solução de teor 8% de NaClO (na proporção de 15 mmol por 1 g de celulose), corrigindo-se o pH para 10-11 com uma solução 1 mol L^{-1} de NaOH. O valor do pH decresceu significativamente durante a reação e foi corrigido a fim de mantê-lo na faixa 11-12, sendo que o fim da reação é detectado quando não mais se observa o decréscimo do pH. Neste ponto adicionou-se 50 mL de álcool etílico P.A., seguindo-se de lavagem da celulose com álcool etílico P.A. e posteriormente com água destilada. A celulose

microcristalina oxidada (CMCO) foi coletada por centrifugação, congelada a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ em ultra freezer e liofilizada.

2.1.2 Reticulação da celulose oxidada para formação dos hidrogéis

Preparou-se uma solução de NaOH/ureia/água na proporção de 7:12:81 em peso, refrigerando-se a mesma $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ [7]. Em seguida, uma massa de celulose oxidada foi adicionada imediatamente a solução de NaOH/ureia/água e sob agitação vigorosa por 5 min (foram utilizados dois valores desta massa, correspondendo a 9% e 12% em relação à massa total da mistura). Neste momento, 500 μL de epícloridrina foram adicionados e a mistura resultante agitada a temperatura ambiente por 20 min, sendo transferida para um béquer e aquecida por 1 h a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ em banho de areia. O hidrogel formado foi lavado repetidamente com água destilada para remoção de possíveis resíduos da reação.

Para a preparação dos hidrogéis com β -ciclodextrina e κ -carragena foi utilizada a mesma metodologia descrita no parágrafo anterior, adicionando-se em cada caso massas de β -ciclodextrina e κ -carragena correspondentes a 50% da massa da celulose oxidada. As quantidades e a identificação dos hidrogéis estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Quantidades dos componentes e identificação dos hidrogéis preparados.

CMCO (%)	β -ciclodextrina	κ -carragena	Hidrogel
6	–	–	HCO6%
6	½ da massa de celulose	–	HCO6% + β CD
6	–	½ da massa de celulose	HCO6% + κ C
9	–	–	HCO9%
9	½ da massa de celulose	–	HCO9% + β CD
9	–	½ da massa de celulose	HCO9% + κ C

2.2 Caracterização dos hidrogéis

2.2.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros infravermelhos das amostras na forma de pastilhas de KBr foram medidos em um espectrofotômetro Modelo Spectrum Two da Perkin Elmer, na faixa de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ com resolução de 8 cm^{-1} e varredura de 64.

2.2.2 Difratometria de raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X foram obtidos em um equipamento Rigaku X-RAY DIFFRACTOMETER usando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418\text{ \AA}$) em uma voltagem de 40 kV, corrente de tubo de 40 mA, passo de $0,04^{\circ}$ em modo de varredura contínuo com faixa 2θ e intervalo angular de 5° a 50° .

2.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens MEV foram adquiridas utilizando-se um microscópio JEOL JSM-5700 operando com voltagem de 5 kV. Foram feitos cortes transversais nos hidrogéis liofilizados para avaliar a superfície interna dos mesmos e as peças cortadas foram depositadas sobre a fita de carbono fixada nos *stubs* e metalizadas com prata.

2.3 Estudo de adsorção de sulfato de gentamicina e atividade antibacteriana

2.3.1 Adsorção de sulfato de gentamicina pelos hidrogéis

Os hidrogéis foram cortados na forma de discos e imersos em 10 mL de solução de sulfato de gentamicina a 0,5 mg/mL durante 24 h. Para o controle negativo, os discos de hidrogel foram imersos em água destilada pelo mesmo período de tempo. Como controle positivo, foram usados discos comerciais para antibiograma com 0,5 mg/mL de sulfato de gentamicina. Posteriormente, os discos foram retirados da solução de sulfato de gentamicina e o excesso da solução removido com papel filtro e utilizados imediatamente nos testes de atividade antibacteriana.

2.3.2 Quantificação da gentamicina adsorvida pelos discos de hidrogel

A concentração da solução de gentamicina na solução antes e após o contato com os discos de hidrogel foi determinada através de um método colorimétrico baseado na reação da ninhidrina com aminas primárias e secundárias, formando um complexo denominado Púrpura de Ruhemann que absorve em 400 nm [8]. Foram preparadas soluções estoques de ninhidrina na proporção 1,25% (p/v), de gentamicina com concentração de 2 mg/mL e tampão fosfato monobásico 0,2 mol L⁻¹ e pH ≈ 7,4. A curva padrão foi obtida diluindo-se a solução estoque de sulfato de gentamicina em tubos de ensaio com solução tampão fosfato monobásico e de ninhidrina. As amostras foram preparadas adicionando 1 mL da amostra em um tubo de ensaio contendo 7,5 mL de solução tampão fosfato monobásico e 1,5 mL de ninhidrina. Após o preparo das soluções (amostras e curva padrão), os tubos de ensaio foram vedados com plástico filme e levados para banho-maria a 95 °C por 15 min, em seguida resfriados em banho de gelo por 5 min. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro modelo UV-9200 da Rayleigh e a eficiência de remoção do sulfato de gentamicina pelos hidrogéis calculada pela Equação (1).

$$ER(\%) = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100 \quad (1)$$

Sendo, C_i e C_f as concentrações inicial e final (após contato com o hidrogel) da solução de sulfato de gentamicina.

2.3.3 Avaliação da atividade antibacteriana

Utilizou-se a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC25923, que foi mantida em meio Ágar Müller-Hinton, em tubo de ensaio inclinado e sob refrigeração a 4°C. A avaliação da atividade antibacteriana foi efetuada por meio do teste de difusão em ágar [9]. A cultura foi inoculada em solução salina e ajustada à escala 0,5 de McFarland e, em seguida, semeada com *swab* estéril em placas de Petri contendo meio Ágar Muller-Hilton em pH 7,2 - 7,4. Em seguida os discos de hidrogéis carregados com sulfato de gentamicina foram depositados na superfície do meio de cultura inoculado com o microrganismo. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C durante 24 h. Após incubação, foram realizadas as medidas dos halos de inibição e a interpretação dos resultados foi dada de acordo com as normas da NCCLS (2018) [10]. O procedimento completo está esquematizado na Figura 1.

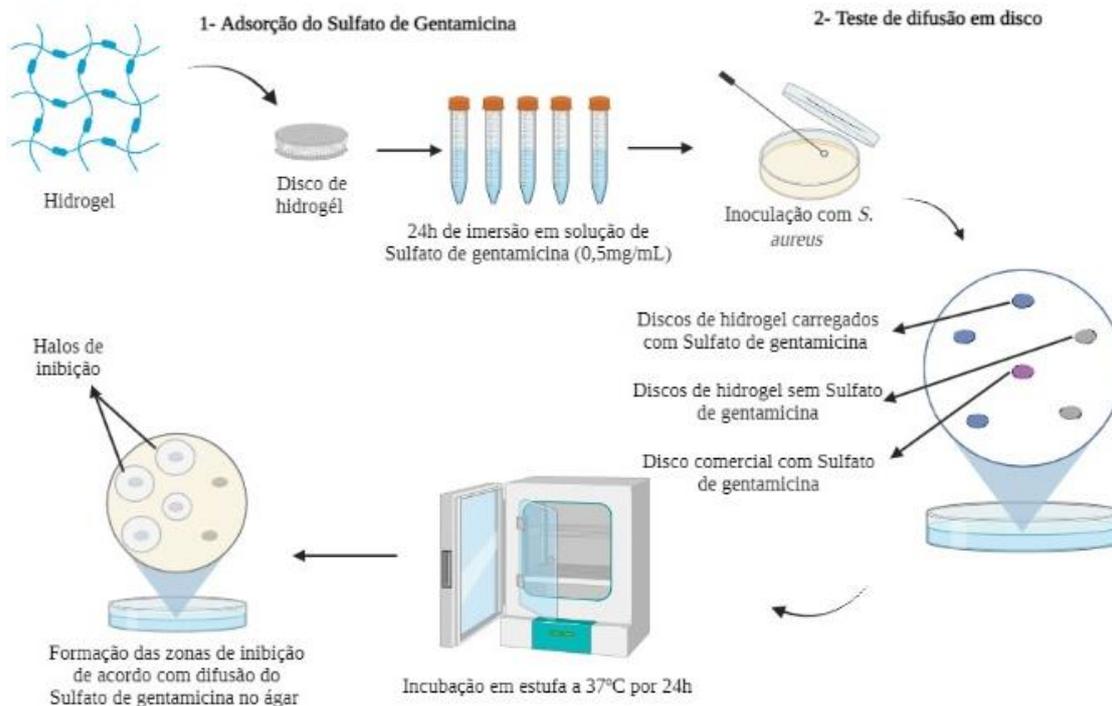


Figura 1: Esquema representativo do teste de difusão em disco com discos de hidrogel carregado com o fármaco. Fonte: figura produzida pelos próprios autores, utilizando o recurso disponível no site biorender.com

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos hidrogéis

A oxidação da celulose microcristalina foi evidenciada por meio de técnicas de caracterização tais como espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difratometria de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os espectros infravermelhos (Figura 2(a)) da celulose microcristalina antes e após a oxidação mediada por TEMPO apresentam como principal evidência da ocorrência de oxidação o deslocamento da banda em 1642 cm^{-1} para 1612 cm^{-1} na amostra CMCO. A banda em 1642 cm^{-1} é atribuída ao modo de deformação da ligação OH proveniente tanto de moléculas de água adsorvidas quanto de grupos hidroximetil presentes nas cadeias de celulose microcristalina. Após a oxidação, formam-se grupos carboxílicos que, em virtude de a reação ser feita em meio básico, apresentam-se na forma da carboxilato de sódio, ou seja, COO^-Na^+ , o que justifica a presença da banda de estiramento assimétrico COO^- em 1612 cm^{-1} , bem como a ausência da absorção associada ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ predominantes na forma ácida, esperado em 1710 cm^{-1} [11-14]. Nas demais regiões, os espectros são semelhantes, apresentando bandas entre $3550\text{ cm}^{-1} - 3200\text{ cm}^{-1}$, associadas ao estiramento assimétrico OH, além das bandas em 2880 cm^{-1} e 1430 cm^{-1} , atribuídas a estiramento e deformação CH, respectivamente. Os espectros mostram também uma banda centrada em 1062 cm^{-1} atribuída ao estiramento CO.

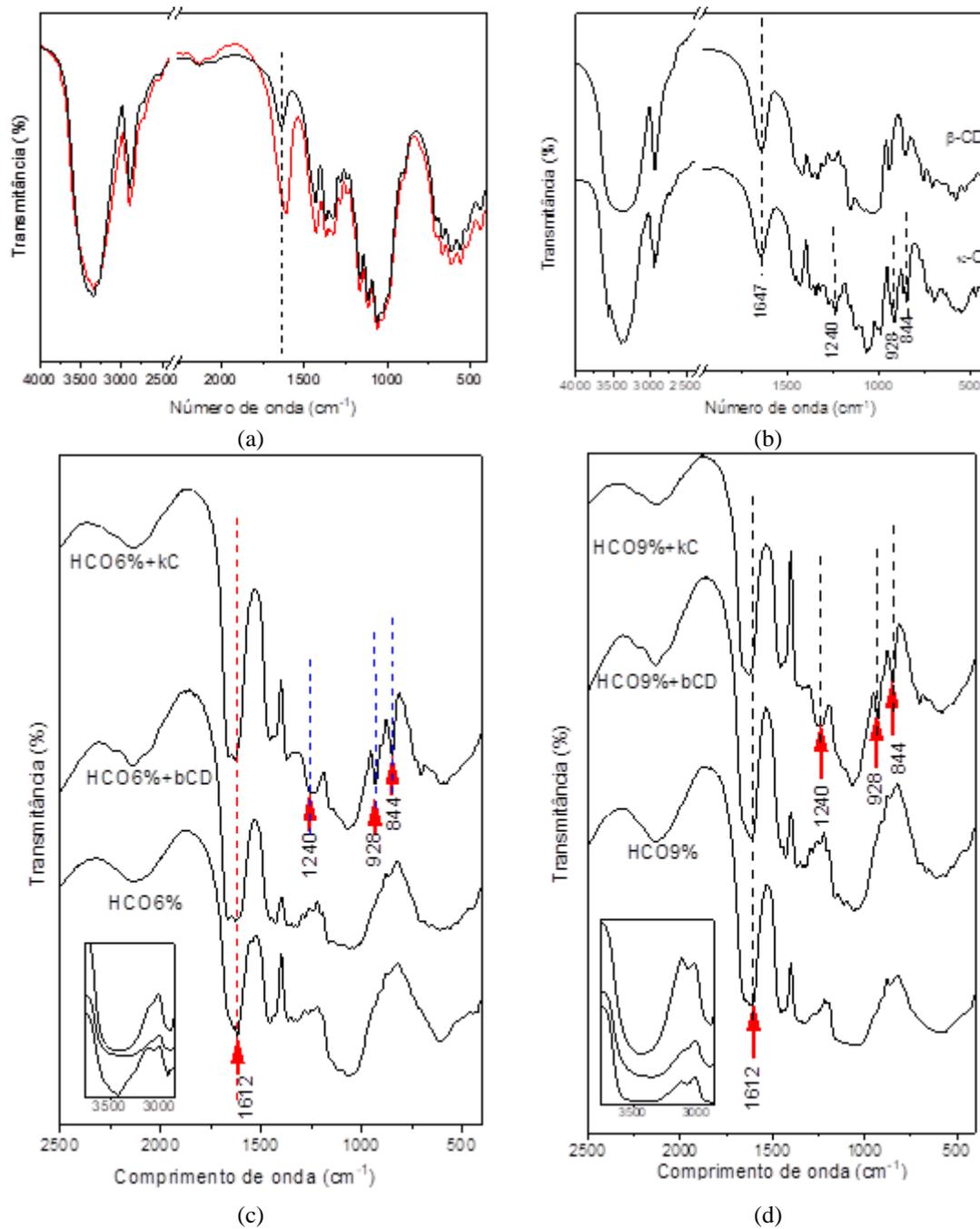


Figura 2: Espectros de FTIR da (a) celulose microcristalina antes (espectro com linha preta) e após oxidação mediada por TEMPO (espectro com linha vermelha), (b) β -ciclodextrina e da κ -carragena (c) hidrogéis com 6% de CMCO (d) hidrogéis com 9% de CMCO.

Os espectros da β -ciclodextrina e da κ -carragena, bem como dos hidrogéis preparados de acordo com a Tabela 1 são mostrados nas Figuras 2(b), 2(c) e 2(d). Por se tratarem de carboidratos, tanto a β -ciclodextrina como a κ -carragena apresentam absorções praticamente nas mesmas regiões da celulose (Figura 2(a)). No caso da β -ciclodextrina, estudos espectroscópicos existentes na literatura evidenciaram que nenhuma das absorções na região de 400-1500 cm^{-1} se deve a um modo vibracional isolado, sendo predominante a contribuição de deformações de grupos C-O-H [15]. Por outro lado, a κ -carragena apresenta como diferencial a presença de grupos do tipo éster sulfato, com absorções características e 1220 cm^{-1} (éster sulfato), 928 cm^{-1} (3,6-anidrogactose) e 844 cm^{-1} (galactose-4-sulfato) [16]. Os espectros de todos os hidrogéis apresentam a banda e 1612 cm^{-1} , característica do estiramento assimétrico COO^- da CMCO. Os espectros dos hidrogéis contendo β -ciclodextrina apresentam um alargamento significativo na região entre 1300-850 cm^{-1} .

¹, em virtude da contribuição dos modos de deformação C-O-H, enquanto que os hidrogéis modificados com κ -carragena apresentam bandas adicionais em 1240 cm^{-1} , 928 cm^{-1} e 844 cm^{-1} , atribuídas aos grupos éster sulfato.

Caracterizações complementares dos hidrogéis foram realizadas por difratometria de raios X (Figura 3a e 3b). Para comparação, são mostrados os difratogramas da β -ciclodextrina e da κ -carragena sólidas, evidenciando que se tratam de sólidos orgânicos cristalinos. No entanto, como ambas são dissolvidas e incorporadas na forma de moléculas/macromoléculas isoladas, seus padrões de difração não são observados nos hidrogéis. A CMCO se apresenta na forma cristalina, apresentando os polimorfos de celulose I ($2\theta \approx 14,8^\circ$, $16,4^\circ$, $22,5^\circ$ e $34,7^\circ$) e celulose II ($2\theta \approx 12,3^\circ$ e $20,2^\circ$) [17-19]. Com relação aos hidrogéis, as composições contendo somente CMCO reticulada com epiclorigrina se apresentaram não cristalinas, de acordo com a observação de halos amorfos. Por outro lado, os hidrogéis modificados tanto com β -ciclodextrina quanto com κ -carragena apresentaram indícios da reflexão em $2\theta \approx 22,5^\circ$ atribuída a celulose I, particularmente no caso da modificação com β -ciclodextrina. Tal observação sugere que a inserção de modificadores pode interferir no grau de ordenamento da CMCO, porém este fenômeno necessita de investigação posterior a fim de que se possa propor alguma justificativa.

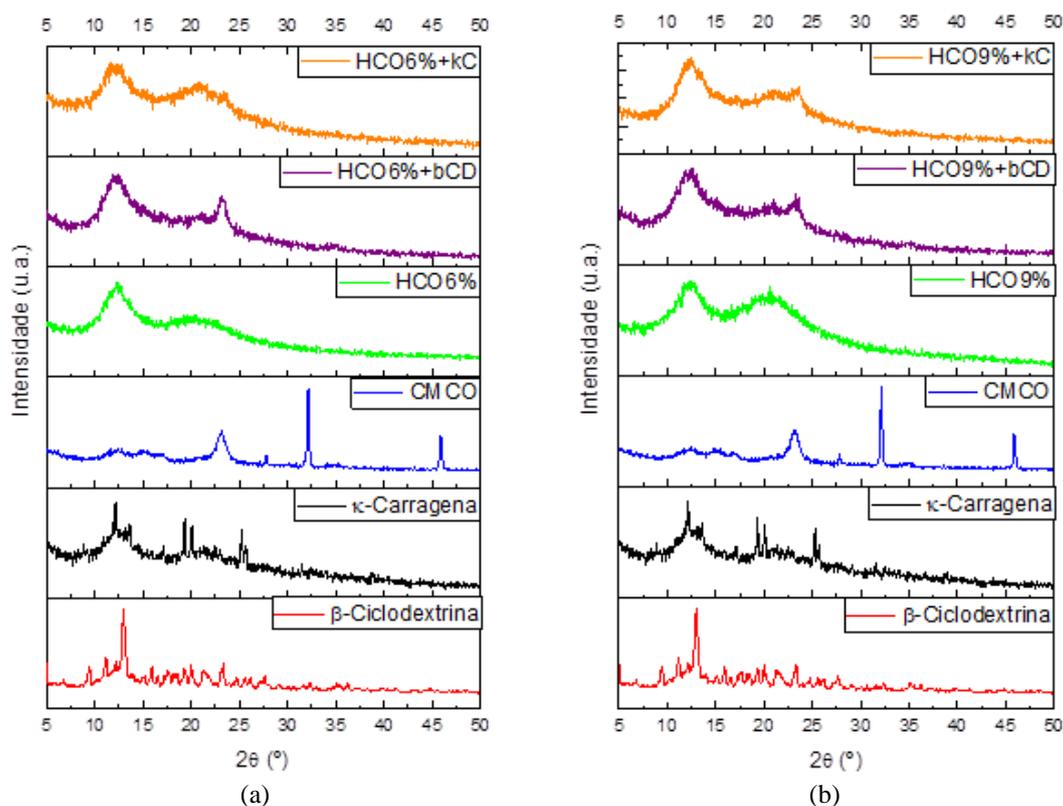


Figura 3: Padrões de DRX dos hidrogéis com (a) 6% de CMCO e (b) 9% de CMCO. Ambos com os padrões da celulose microcristalina oxidada, β -ciclodextrina e κ -carragena.

As imagens MEV dos hidrogéis obtidos com diferentes condições são mostradas na Figura 4 e Figura 5. A baixas ampliações, os hidrogéis se mostram na forma de folhas delgadas unidas gerando morfologias semelhantes a esponjas, repletas de cavidades. De um modo geral, esta é a morfologia característica de hidrogéis de polissacarídeos após a liofilização e guarda a memória da estrutura do hidrogel onde as cavidades eram preenchidas por água, revelando o alto grau de porosidade da estrutura. Dependendo da região, tais cavidades se mostram mais alongadas e orientadas em uma certa direção, enquanto que em outras regiões se nota um grau menor de alongamento. Ampliações maiores permitem observar a superfície de tais folhas, que se mostraram mais lisas no caso dos hidrogéis contendo somente CMCO reticulada com epiclorigrina, com o surgimento de rugosidades para os hidrogéis modificados tanto com a β -ciclodextrina como com a κ -carragena.

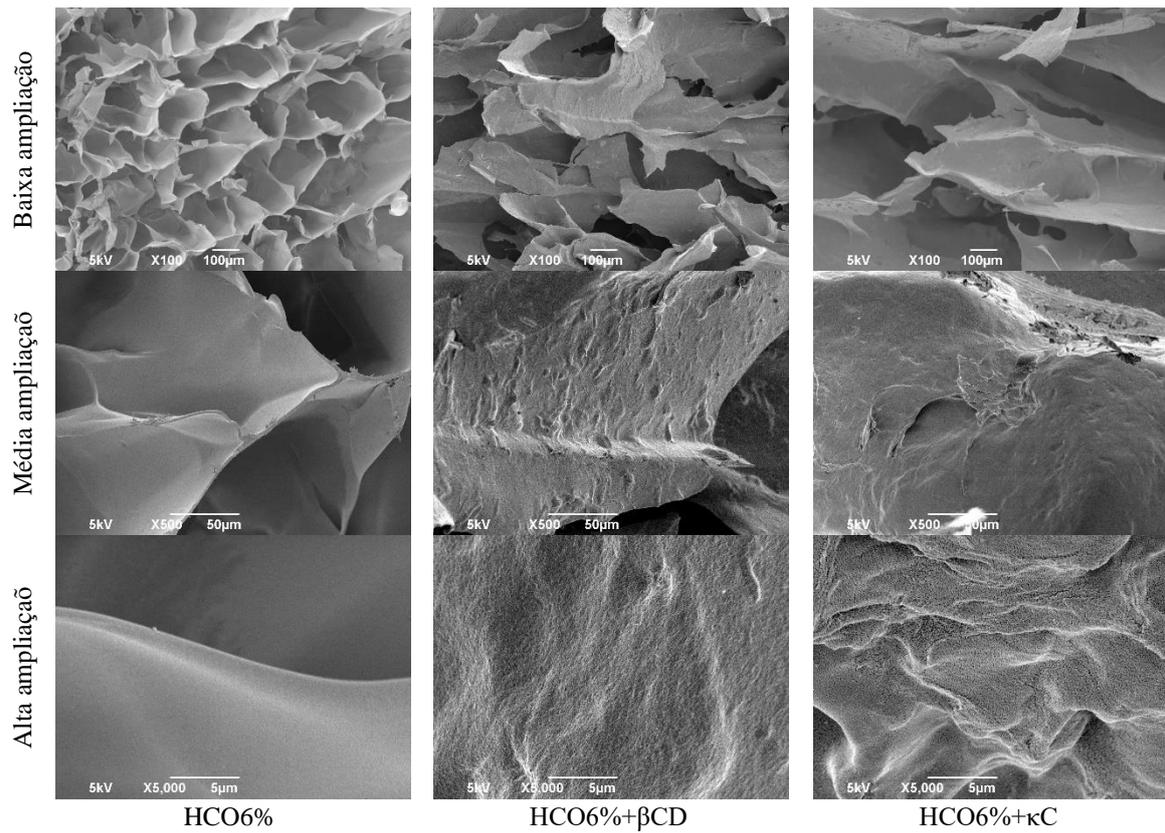


Figura 4: Imagens de microscopia eletrônica de varredura para os hidrogéis com 6% de celulose oxidada: apenas de CMCO (HCO6%), com CMCO e β-ciclodextrina (HCO6%+βCD) e CMCO e κ-carragena (HCO6%+κC).

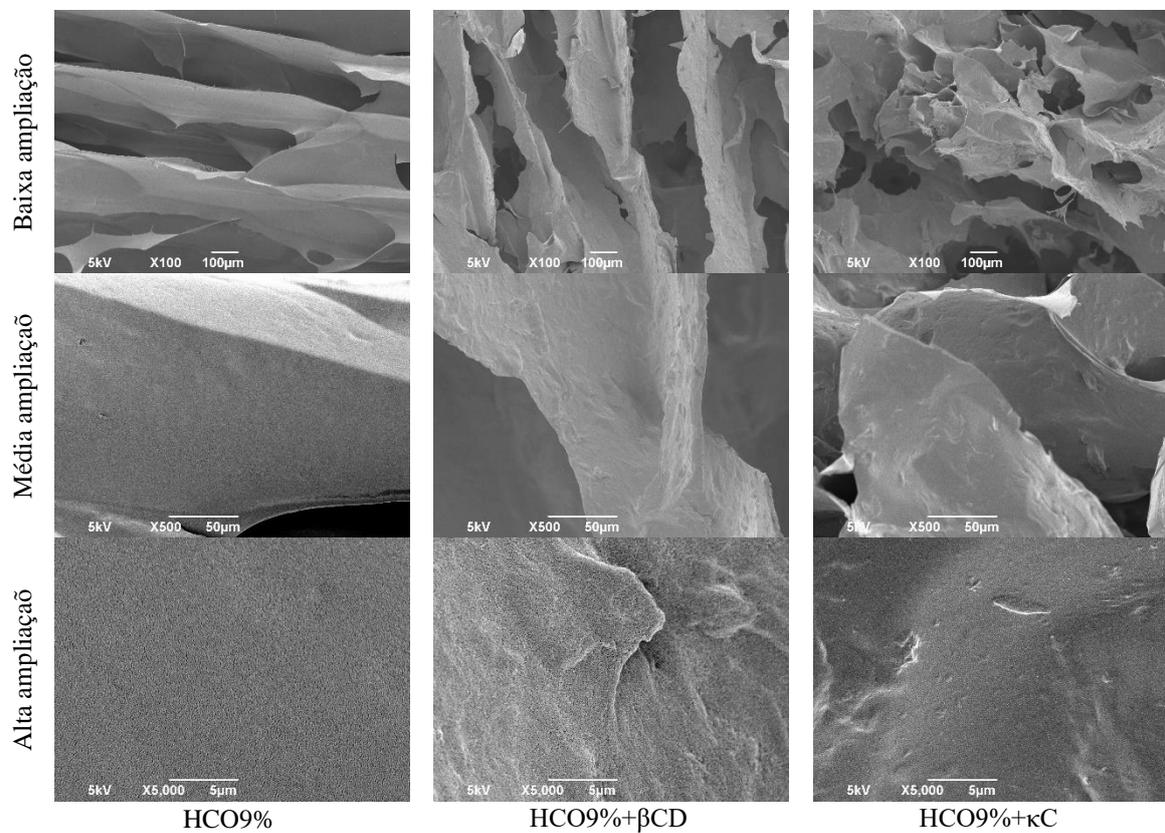


Figura 5: Imagens de microscopia eletrônica de varredura para os hidrogéis com 9% de celulose oxidada: apenas de CMCO (HCO9%), com CMCO e β-ciclodextrina (HCO9%+βCD) e CMCO e κ-carragena (HCO9%+κC).

Por fim, vale destacar que, entre os requisitos necessários para os hidrogéis serem avaliados no contexto da aplicação em curativos incluem-se hidrofiliabilidade, manuseabilidade, ou seja, possibilidade de serem manuseados sem ruptura estrutural, além de afinidade por biomoléculas e estrutura porosa. Ao reunir tais características, considera-se que um hidrogel apresente potencialidade para este tipo de aplicação. Neste sentido, os hidrogéis preparados neste trabalho apresentam estrutura porosa como observado nas imagens MEV, bem como manuseabilidade dada pela formação de hidrogéis com característica gelatinosa suficientemente rígida para manipulações com instrumentos de bancada. Adicionalmente, demonstraram elevada hidrofiliabilidade, evidenciada pela formação rápida de hidrogéis em meio aquoso, observável com a imersão dos sólidos liofilizados em água após 10 minutos.

3.2 Adsorção de gentamicina e atividade antibacteriana

Os hidrogéis obtidos preenchem vários requisitos para aplicação como biomaterial, incluindo a presença de componentes de origem natural, a capacidade de absorver água, a natureza química da superfície rica em grupos OH aptos a estabelecerem interações intermoleculares com inúmeras classes de compostos, bem como a característica porosa e a possibilidade de formar filmes, membranas, discos e outras formas monolíticas [20]. Diante disso, os hidrogéis preparados foram avaliados como possíveis adsorventes de um fármaco antibiótico e sua capacidade antibacteriana foi testada frente a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC25923 através da técnica de difusão em disco.

O antibiótico avaliado foi o sulfato de gentamicina, um aminoglicosídeo produzido a partir de *Micromonospora purpurea* e ativo contra uma ampla gama de bactérias gram-positivas e gram-negativas [21]. A concentração mínima de sulfato de gentamicina a ser usada foi avaliada adicionando-se 10 μ L de soluções nas concentrações de 1 mg/L, 0,5 mg/L e 0,25 mg/L sobre o disco comercial para antibiograma. A fotografia na Figura 6 mostra que todas as concentrações avaliadas foram suficientes para a formação de halos de inibição, de modo que a concentração intermediária foi escolhida para os estudos dos hidrogéis preparados no presente trabalho.

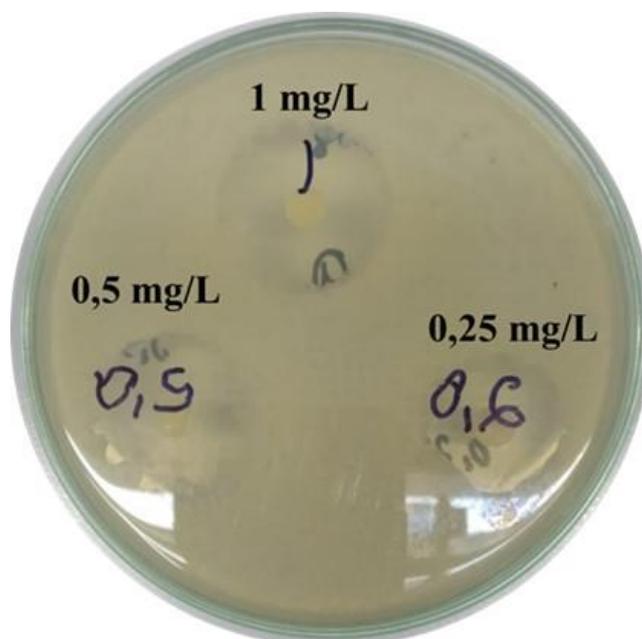


Figura 6: Halos de inibição produzidos por diferentes concentrações de sulfato de gentamicina contra *Staphylococcus aureus* ATCC25923 liberados por disco comercial antibiograma.

Inicialmente, os hidrogéis foram testados a fim de se avaliar a capacidade de adsorção do sulfato de gentamicina e a eficiência de remoção de cada hidrogel é mostrada na Figura 7. Observa-se que todos os hidrogéis apresentaram eficiência de remoção superior a 20%, sendo que

os hidrogéis contendo concentração mais elevada de CMCO apresentaram eficiências maiores. Adicionalmente, os hidrogéis modificados com κ -carragena foram os mais eficientes na adsorção do antibiótico, em contraste com aqueles modificados com β -ciclodextrina, que adsorveram quantidades menores que os hidrogéis não modificados. Tal resultado sugere que as possibilidades de interação entre o fármaco e as cadeias poliméricas são diferentes entre os hidrogéis estudados. Neste contexto, a literatura mostra que ciclodextrinas em solução aquosa são capazes de formar complexos de inclusão com gentamicina [22]. No entanto, os resultados observados no presente trabalho sugerem que quando incorporadas na estrutura do hidrogel, tais cavidades podem não estar plenamente disponíveis ou acessíveis para as moléculas de fármaco. Por outro lado, trabalhos descritos acerca de interações de sistemas poliméricos contendo κ -carragena atestam a possibilidade de interações bastante favoráveis com a gentamicina [23]. Quando comparada com ciclodextrinas, que são oligossacarídeos e que tem apenas uma cavidade por molécula, a κ -carragena, por ser um polímero, apresenta uma quantidade significativamente mais elevada de sítios de interação, mostrando-se mais acessível quando incorporada ao hidrogel.

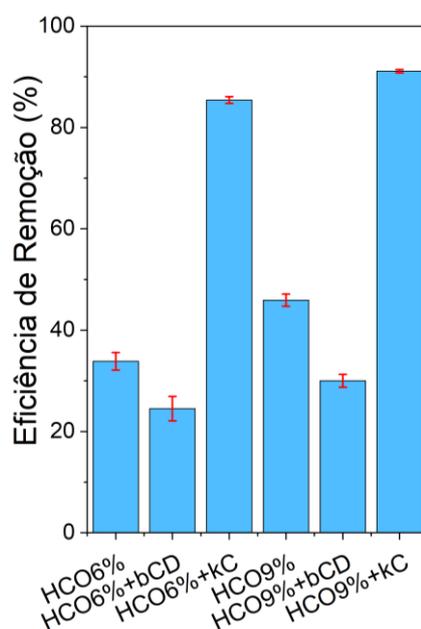


Figura 7: Eficiência de remoção de sulfato de gentamicina de cada hidrogel.

Os hidrogéis foram testados quanto à atividade antibacteriana frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC25923 e todos os hidrogéis contendo gentamicina apresentaram zona de inibição (Figura 8(a), (b) e (c)), enquanto que os hidrogéis sem o fármaco não formaram halos de inibição. Com base na medida dos diâmetros médios dos halos (Figura 8 (d)), observou-se que o hidrogel HCO6% formou halo ligeiramente maior que os demais.

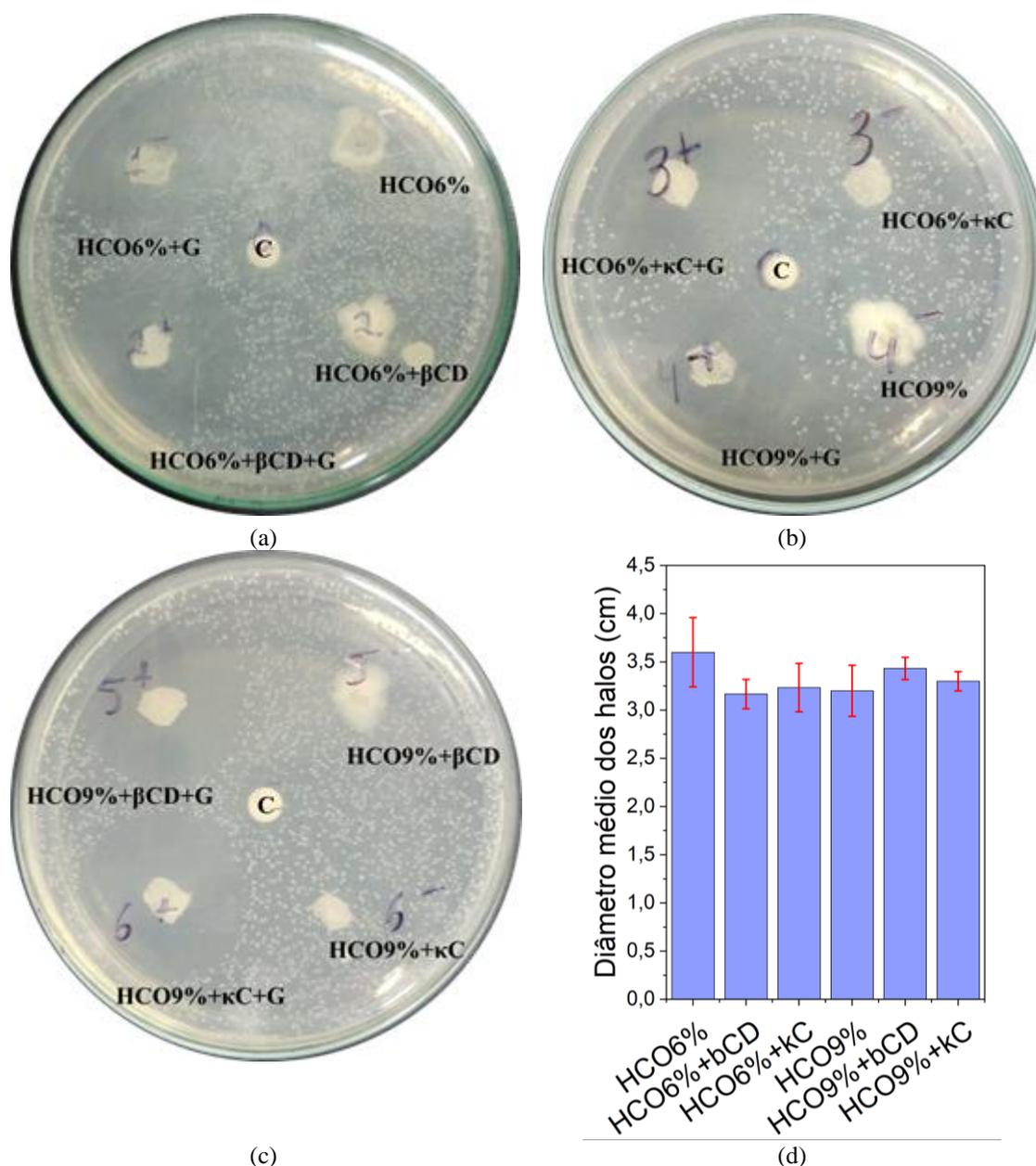


Figura 8: Atividade antibacteriana dos hidrogéis com e sem adição de sulfato de gentamicina (a), (b) e (c); Gráfico do diâmetro médio dos halos de inibição da *Staphylococcus aureus* ATCC25923 pelos hidrogéis carregados com sulfato de gentamicina (d).

Vale destacar que, apesar de os hidrogéis com κ -carragena terem adsorvido quantidades mais elevadas de sulfato de gentamicina, isso não foi suficiente para que tais hidrogéis induzissem halos de inibição significativamente maiores do que os hidrogéis que adsorveram quantidades inferiores do fármaco. Uma possível explicação é que a liberação do fármaco no meio deve ocorrer de modo favorável a propiciar a ação antibacteriana do fármaco, o que pode ter sido mais eficiente no caso do hidrogel não modificado (HCO6%). Não obstante, tais resultados são promissores, pois todos os materiais apresentaram atividade elevada e evidenciam a potencialidade dos hidrogéis em estudos posteriores.

3. CONCLUSÃO

Conclui-se que a oxidação da celulose microcristalina mediada por TEMPO levou a formação de grupos carboxilato de sódio na superfície da celulose, favorecendo seu uso na formação de hidrogéis reticulados por epícloridrina, na ausência e na presença de modificadores como

β -ciclodextrina e κ -carragena. A incorporação dos componentes na estrutura dos hidrogéis foi evidenciada por meio de espectroscopia no infravermelho pela observação de absorções características, enquanto que imagens MEV revelaram hidrogéis com morfologia porosa na forma de folhas delgadas interconectadas análogas a esponjas e presença de cavidades. A introdução de κ -carragena aumentou a capacidade de adsorção de sulfato de gentamicina em comparação com os hidrogéis não modificados, enquanto que a β -ciclodextrina acarretou em valores inferiores de remoção do fármaco a partir de solução aquosa. Por fim, todos os hidrogéis carregados com fármaco apresentaram atividade antibacteriana segundo testes de difusão em ágar, em contraste com a ausência de atividade por parte dos hidrogéis originais. No entanto, não se observou correlação entre a quantidade incorporada de fármaco e a intensidade da atividade.

4. AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq, a Capes, a Fapitec-SE, ao NUPEG, ao LBQPN e ao CMNano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dong Y-D, Zhang H, Zhong G-J, Yao G, Lai B. Cellulose/carbon composites and their applications in water treatment – a review. *Chem Eng J*. 2021;405:126980. doi: 10.1016/j.cej.2020.126980
2. Wang Y, Wang X, Xie Y, Zhang K. Functional nanomaterials through esterification of cellulose: a review of chemistry and application. *Cellulose*. 2018;25:3703-21. doi: 10.1007/s10570-018-1830-3
3. Liu S, Low Z-X, Xie Z, Wang H. TEMPO-oxidized cellulose nanofibers: A renewable nanomaterial for environmental and energy applications. *Adv Mater Technol*. 2021;6(7):1-23. doi: 10.1002/admt.202001180
4. Garavand F, Rouhi M, Razavi SH, Cacciotti I, Mohammadi R. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. *Int J Biol Macromolecules*. 2017;104:687-707. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.093
5. Zhang D, Zhou W, Wei B, Wang X, Tang R, Nie J, et al. Carboxyl-modified poly(vinyl alcohol)-crosslinked chitosan hydrogel films for potential wound dressing. *Carbohydr Polym*. 2015;125:189-99. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.02.034
6. Salminen R, Reza M, Vanhatalo K, Kontturi E. Influence of the quality of microcrystalline cellulose on the outcome of TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose*. 2017;24:5697-704. doi: 10.1007/s10570-017-1531-3.
7. Zhang H, Yang M, Luan Q, Tang H, Huang F, Xiang X, et al. Cellulose anionic hydrogels based on cellulose nanofibers as natural stimulants for seed germination and seedling growth. *J Agric Food Chem*. 2017;65(17):3785-91. doi: 10.1021/acs.jafc.6b05815
8. Frutos P, Torrado S, Perez-Lorenzo ME, Frutos G. A validated quantitative colorimetric assay for gentamicin. *J Pharm Biomed Anal*. 2000;21(6):1149-59. doi: 10.1016/s0731-7085(99)00192-2
9. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6. doi: 10.1093/ajcp/45.4_ts.493
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). NCCLS document M7-A6: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standards. 6th ed. Wayne (US): CLSI; 2006.
11. Jiang F, Han S, Hsieh Y-L. Controlled defibrillation of rice straw cellulose and selfassembly of cellulose nanofibrils into highly crystalline fibrous materials. *RSC Adv*. 2013;3(30). doi: 10.1039/C3RA41646A
12. Lal SS, Mhaske ST. TEMPO-oxidized cellulose nanofiber/kafirin protein thin film crosslinked by Maillard reaction. *Cellulose*. 2019;26:6099-118. doi: 10.1007/s10570-019-02509-7
13. Fukuzumi H, Saito T, Okita T, Isogai A. Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polym Degrad Stab*. 2010;95(9):1502-8. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.015
14. Hemraz UD, Boluk Y, Sunasee R. Amine-decorated nanocrystalline cellulose surfaces: Synthesis, characterization, and surface properties. *Can J Chem*. 2013;91(10):974-81. doi: 10.1139/cjc-2013-0165
15. Egyed O. Spectroscopic studies on β -cyclodextrin. *Vib Spectrosc*. 1990;1(2):225-7. doi: 10.1016/0924-2031(90)80041-2
16. Volery P, Besson R, Schaffer-Lequart C. Characterization of commercial carrageenans by fourier transform infrared spectroscopy using single-reflection attenuated total reflection. *J Agric Food Chem*. 2004;52(25):7457-63. doi: 10.1021/jf040229o
17. Xu N, Xue F, Ding E. Nonisothermal crystallization kinetics in isotactic polypropylene/microcrystalline cellulose (II) composites. *Polym Compos*. 2018;39(4):1064-75. doi: 10.1002/pc.24033

18. Kong X, Zhang S, Wang Y, Liu Y, Li R, Ren X, et al. Antibacterial polyvinyl alcohol films incorporated with N-halamine grafted oxidized microcrystalline cellulose. *Compos Commun.* 2019;15:25-9. doi: 10.1016/j.coco.2019.06.005
19. Zhang H, Chen Y, Wang S, Ma L, Yu Y, Dai H, et al. Extraction and comparison of cellulose nanocrystals from lemon (*Citrus limon*) seeds using sulfuric acid hydrolysis and oxidation methods. *Carbohydr Polym.* 2020;238:116180. doi: 10.1016/j.coco.2019.06.005
20. Zhang J, Tan W, Li Q, Liu X, Guo Z. Preparation of cross-linked chitosan quaternary ammonium salt hydrogel films loading drug of gentamicin sulfate for antibacterial wound dressing. *Mar Drugs.* 2021;19(9):479. doi: 10.3390/md19090479
21. Decandia G, Palumbo F, Treglia A, Armenise V, Favia P, Baruzzi F, et al. Initiated chemical vapor deposition of crosslinked organic coatings for controlling gentamicin delivery. *Pharmaceutics.* 2020;12(3):213. doi: 10.3390/pharmaceutics12030213
22. Topuz F, Kilic ME, Durgun E, Szekely G. Fast-dissolving antibacterial nanofibers of cyclodextrin/antibiotic inclusion complexes for oral drug delivery. *J Colloid Interface Sci.* 2021;585:184-94. doi: 10.1016/j.jcis.2020.11.072
23. Bajpai SK, Daheriya P. Kappa-carrageenan/PVA films with antibacterial properties: Part 1. Optimization of preparation conditions and preliminary drug release studies. *J Macromol Sci Part A Pure Appl Chem.* 2014;51(4):286-95. doi: 10.1080/10601325.2014.882687