



## NANOINCORPORAÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS: UMA ABORDAGEM MOLECULAR

<sup>1</sup>*Sidney Rodrigues Ramos*; <sup>2</sup>*Bartolomeu Garcia de Souza Medeiros\**; <sup>3</sup>*Maria do Socorro Rocha Melo Peixoto*; <sup>4</sup>*Valeska Silva Lucena*

<sup>1</sup>*Graduando em Farmácia – Faculdade Maurício de Nassau- Campina Grande.,*

<sup>2</sup>*Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco.,*

<sup>3</sup>*Doutora em Recursos Naturais - Professora da Faculdade Maurício de Nassau – Campina Grande e da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)-Campina Grande.,*

<sup>4</sup>*Doutora em Biotecnologia/Renorbio – Professora da UNIFACISA e UNESC – Campina Grande.*

\*Corresponding author: [bar-to-garcia@hotmail.com](mailto:bar-to-garcia@hotmail.com)

### RESUMO

Nas últimas décadas, com o avanço da tecnologia, muitas formas de se inserir um determinado medicamento no homem têm sido desenvolvidas e, com isso, contribuído com o avanço no que diz respeito ao tratamento e, às vezes, a cura de muitas doenças. A incorporação de partículas por nanoestruturas é um exemplo desses avanços, os quais têm sido utilizados em diferentes áreas, inclusive na saúde. Uma das técnicas utilizadas para a formação dessas nanoestruturas é a *layer-by-layer* (camada-sobre-camada), que consiste em deposições sucessivas de polieletrólitos com diferentes cargas. A pesquisa teve como objetivo realizar um estudo molecular sobre a incorporação de diferentes partículas, que foi feita através de uma revisão bibliográfica. De acordo com as informações obtidas, as substâncias utilizadas para a formação das nanoestruturas têm que apresentar cargas elétricas e com sinais opostos. A formação da nanocamadas podem ser confirmadas por diferentes testes como o ângulo de contato e as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Diante o exposto, pode-se dizer que a incorporação de agentes bioativos por nanoestruturas é um processo que tem sido realizado como sucesso e confirmado com diferentes testes moleculares.

**Palavras-chave:** nanocamadas. Nanopartículas. camada-sobre-camada.

## NANOINCORPORATION OF BIOACTIVE AGENTS: A MOLECULAR APPROACH

### ABSTRACT

In the last decades, with the advancement of technology, many ways of inserting a particular medicine in man have been developed and, with this, contributed with the



advancement with regard to the treatment and, sometimes, the cure of many diseases . The incorporation of particles by nanostructures is an example of these advances, which have been used in different areas, including health. One of the techniques used for the formation of these nanostructures is layer-by-layer, which consists of successive depositions of polyelectrolytes with different charges. The aim of the research was to carry out a molecular study on the incorporation of different particles, which was done through a bibliographic review. According to the information obtained, the substances used for the formation of nanostructures have to show electrical charges and with opposite signs. The formation of nanolayers can be confirmed by different tests, such as contact angle and SEM images. Given the above, it can be said that the incorporation of bioactive agents by nanostructures is a process that has been carried out as a success and confirmed with different molecular tests.

**Keywords:** Nanolayers. Nanoparticles. Layer-by-layer.

## 1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma das áreas da ciência que vem apresentando excelentes resultados devido aos diversos materiais produzidos na escala nanométrica. Esses materiais nanoestruturados estão na dimensão menor do que 100 nanômetros. A nanotecnologia é um campo altamente multidisciplinar (MEDEIROS, 2012). Além disso, os materiais produzidos na escala nanométrica podem ter diferentes finalidades e com grande potencial econômico.

A partir do crescimento da Nanotecnologia, juntamente com o constante desenvolvimento de novas tecnologias, muitas formas de inserir um determinado medicamento no homem têm sido descobertas e, com isso, contribuído com o avanço no tratamento e, às vezes, com a cura de muitas doenças. Uma das formas, é a incorporação de moléculas em estruturas nanométricas, que têm sido utilizadas em diversas áreas como, por exemplo, na saúde.

A incorporação dessas partículas pode ser feita em nanocamadas que servirão de substrato para diferentes moléculas, como os agentes bioativos que posteriormente possam ser estudadas a sua liberação. Segundo MEDEIROS (2012), nanocamadas ou nanofilmes são estruturas muito finas. Estas estruturas são formadas na escala nanométricas e por diferentes substâncias. GOMES (2014) incorporou agentes antimicrobianos em nanocamadas de quitosana e alginato. PICHETH (2013) incorporou a proteína fator de crescimento epidermal (EGF) em nanocamadas de quitosana e alginato e, em seguida, estudaram a sua liberação.

Algumas características são de grande importância para que ocorra a sua formação das nanocamadas, como a presença de cargas elétricas, a não-toxicidade, além de outras como a presença de alguma propriedade econômica de interesse.



As nanocamadas utilizadas para a incorporação de agente bioativos podem ser obtidas por diferentes técnicas, tal como a *layer-by-layer* (LBL) – camada-sobre-camada em que seu princípio foi introduzido primeiramente por Decher em 1990 (DECHER *et al.*, 1992). O seu princípio é baseado nas interações eletrostáticas entre polieletrólitos que apresentam cargas elétricas opostas. Esta técnica é prática, não requer equipamentos sofisticados nem muito menos mão-de-obra muito especializada. Além disso, a mesma pode ser adaptada de acordo com as condições onde está sendo realizada. Essas substâncias polieletrólíticas para serem selecionadas com o objetivo de se construir nanoestruturas devem apresentar características físicas viáveis ao processo de interação eletrostática (MEDEIROS *et al.*, 2011). As mesmas ainda precisam ter propriedades químicas, físicas e biológicas que sejam importantes para uma determinada aplicação de interesse. Nesse sentido a estrutura molecular das substâncias que serão utilizadas para a incorporação dos agentes bioativos é determinante para que o processo seja realizado com êxito. Além disso, pode-se dizer que a LBL é adequada para a imobilização de moléculas, pois permite que as suas propriedades biológicas não se alterem (PICHETH, 2013).

Mediante o exposto, uma pesquisa bibliográfica que aborde alguns aspectos moleculares da nanoincorporação de agentes bioativos é de grande importância, pois possibilita um melhor entendimento sobre esse processo, que muito tem contribuído para a formação de novas estruturas com aplicação em diferentes áreas, inclusive na saúde.

Sendo assim, a pesquisa teve como objetivo estudar alguns aspectos moleculares da nanoincorporação de agentes bioativos para se ter um melhor conhecimento sobre esse processo.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta revisão bibliográfica foi realizada seguindo as seguintes etapas:

- Leitura e seleção de um grande número de artigos científicos, sites, dissertações e teses que abordavam assuntos relacionados com a nanoincorporação de agentes bioativos;
- Retirada de fragmentos relacionados não só com informações gerais sobre nanocamadas, mas também com informações sobre a nanoincorporação.
- Por fim, foi construído um texto em que foram citadas todas as fontes de onde os fragmentos e imagens foram extraídos, respeitando-se, sempre, as ideias e descobertas feitas pelos autores das fontes consultadas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incorporação de diferentes tipos de moléculas, inclusive agente bioativos em nanoestruturas ocorre através de diferentes métodos. Entre esses métodos, pode-se mencionar a técnica de deposição camada-sobre-camada. Essa técnica é versátil para

deposição de filmes finos e ultrafinos, tendo atraído muita atenção devido à simplicidade de preparação, à rentabilidade e, também, pelo processo ser ambientalmente correto (LEE *et al.*, 2005). A mesma pode ser laminar ou coloidal, sendo esta última utilizada para o encapsulamento de substâncias como os fármacos.

Segundo POPIOLSKI (2011), essas substâncias carregadas são denominadas de polieletrólitos que podem ser classificados como fortes ou fracos, dependendo do intervalo de pH em que o macro íon se dissocia em solução. Em solução, esses grupos são parcialmente ionizados, e dessa forma, pode-se obter diversas densidades de carga na cadeia, em geral solúveis em solventes polares. Polieletrólitos que possuem tanto grupos ácidos e básicos são denominados polianfóteros, sendo carregados positivamente ou negativamente em pH baixo ou alto, respectivamente (SILVA, 2006).

A técnica camada-sobre-camada, pode ser melhor entendida pela visualização da Figura 1, que apresenta uma ilustração das etapas em que essa técnica é realizada. Em todas as etapas ocorreu a adsorção dos polieletrólitos, porque eles apresentam cargas diferentes – policação e poliânions. Como resultado, a formação de nanocamadas.

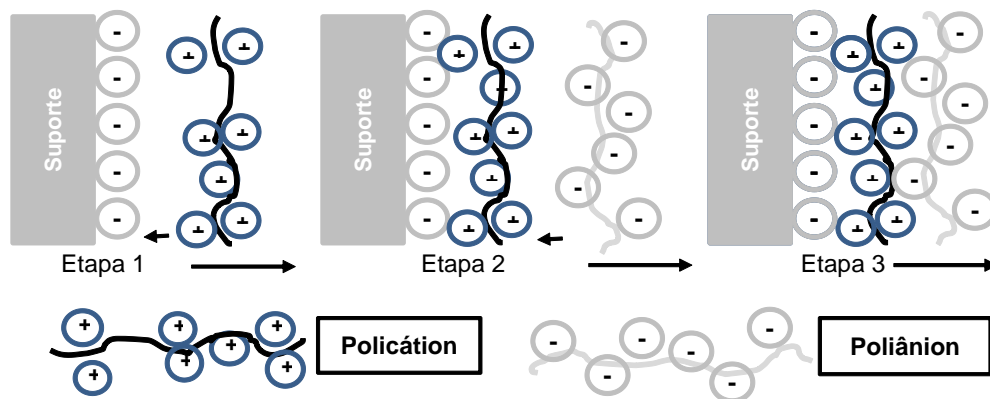


Fig  
ura 1 -  
Etapas  
da técnica camada-sobre-camada

Fonte: MEDEIROS (2012)

De acordo com a Figura 1, pode-se perceber o processo ocorrendo em três etapas em que poliânions (cargas negativas) interagem com polications (cargas positivas) sobre um substrato. Como resultado, há a formação de nanocamadas.

Algumas formas de se determinar a formação dessas nanocamadas são conhecidas. Uma delas é através da determinação do ângulo de contato ( $\theta$ ) que se forma entre uma gota – que pode ser de água - e a superfície que se deseja estudar. A medição é feita através da

determinação do ângulo entre a superfície e a tangente ao contorno da gota na sua extremidade (NJOBUNWU *et al.*, 2007). Dependendo da variação desse ângulo, pode-se inferir que a superfície apresenta uma diferença na sua textura, caracterizada por uma hidrofobicidade ou por uma hidrofiliidade. Quanto menor for os ângulos de contato, maior será a hidrofiliidade. Por outro lado, quanto maior for a o ângulos de contato maior será a hidrofobicidade da superfície e, assim, caracterizando superfícies com texturas diferentes e confirmado a deposição das diferentes nanocamadas que servirão de substrato para a incorporação do fármaco. SANTOS (2005) e VALCARCE *et al.* (2002) tem como parâmetro para uma superfície hidrofóbica ângulos maiores do que  $\theta > 50, 60$  ou  $65^\circ$ , respectivamente. Tal fato pode ser percebido através da análise da Figura 2.

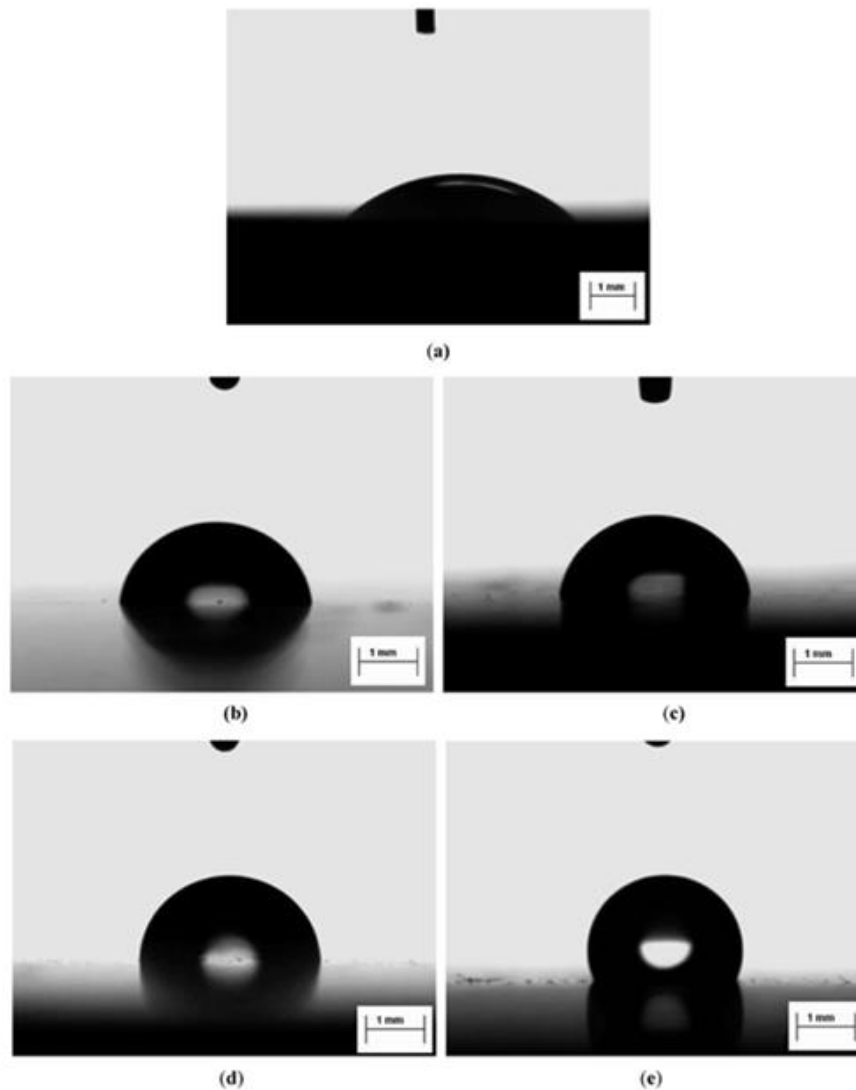


Figura 2 – Gotas de água sobre recobrimentos antes dos ensaios de degradação superficial: (a) esmalte cerâmico, (b) poliéster, (c) poliuretano, (d) resina acrílica e (e) silicone.



Fonte: FONTANELLA, OLIVIERA, HOTZA, (2008)

Na Figura 2, FONTANELLA, OLIVIERA, HOTZA (2008) confirmam a formação das nanocamadas através da diferença nos valores de ângulo de contato determinados. Percebe-se que nas figuras (d) e (e) as gotas sobre a superfície praticamente não alteraram sua forma e, com isso, há maiores ângulos de contato entre a tangente ao contorno da gota na sua extremidade e a superfície, por outro lado na figuras (b) e (c) já se percebe uma alteração na forma das gotas o que leva a um menor ângulo de contato entre a tangente ao contorno da gota na sua extremidade e a superfície. Por fim, a figura (a) mostra uma superfície bem hidrofílica, que é confirmada pela total alteração da gota, uma vez que a mesma está praticamente rente à superfície.

Sendo assim, essa determinação do ângulo de contato comprovou o recobrimento da superfície com camadas formadas por diferentes substâncias. PINHERIO *et al.* (2012) confirmaram a formação de nanocamadas de carragenato e quitosana através da determinação do ângulo de contato. Os maiores ângulos foram observados para as nanocamadas de quitosana e, os menores, para as nanocamadas de carragenato. CARNEIRO-DA-CUNHA *et al.* (2010) confirmaram a formação de nanofilmes de alginato e quitosana através de análises do ângulo de contato. Eles ainda observaram que nas nanocamadas de alginato, o ângulo de contato era maior, já nas de quitosana, os ângulos eram menores.

Além do ângulo de contato, outras análises podem ser utilizadas para confirmar a formação dessas nanocamadas em que serão incorporadas nanopartículas. Entre estas, pode-se mencionar as imagens MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) que é capaz de produzir imagens com alta resolução de uma superfície, tornando possível a visualização de amostras preparadas em escala muito pequenas - micrométrica ou nanométrica (BOGONI JUNIOR, 2016). Como resultado, permite a visualização de estruturas muito pequenas, menores até do que aquelas que podem ser vistas pelos microscópios ópticos. Essas estruturas muito pequenas são as nanocamadas, Figura 3.

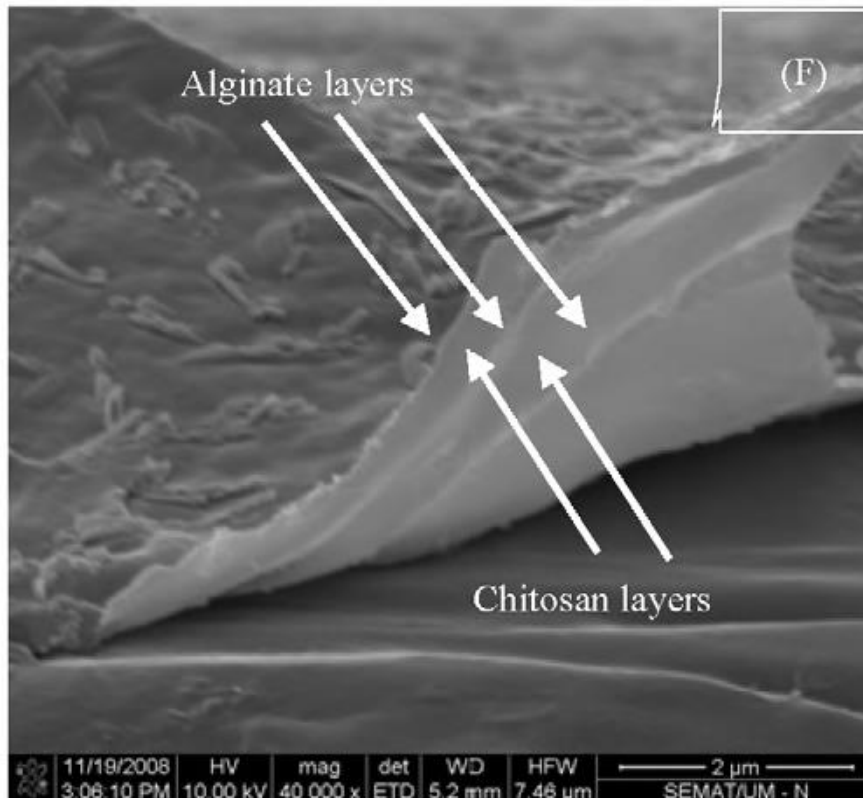


Figura 3- Imagen da morfologia de superfície de Microscopia Eletrônica de Varredura: (F) Imagem da secção transversal do filme aminolisado.

Fonte: CARNEIRO-DA-CUNHA *et al.*(2010)

Na figura 3 existem cinco camadas formadas (cujo nome está *layers*). Dessas cinco camadas, três são de alginato (que na figura está *Alginate*) e duas de quitosana (que na figura está *Chitosan*). Essa diferença nos nomes é por que a figura foi retirada de um periódico internacional cuja língua é o Inglês. Outras pesquisas também confirmaram, através do MEV a formação de nanocamadas. BOGONI JUNIOR (2016) conseguiu, utilizando imagens MEV, tanto visualizar a superfície como determinar a espessura de nanocamadas de nitretos e óxidos. As espessuras variaram entre 400nm e 4μm, aproximadamente. GERCHMAN (2015) conseguiu produzir monocamadas bidimensionais de Odiseleneto de tungstênio ( $WSe_2$ ) após a sua esfoliação. A visualização destas monocamadas só foi possível devido a utilização da técnica MEV.

São nessas nanocamadas que podem ser incorporados as partículas com diferentes finalidades, tal como a incorporação de agentes bioativos, Figura 4.

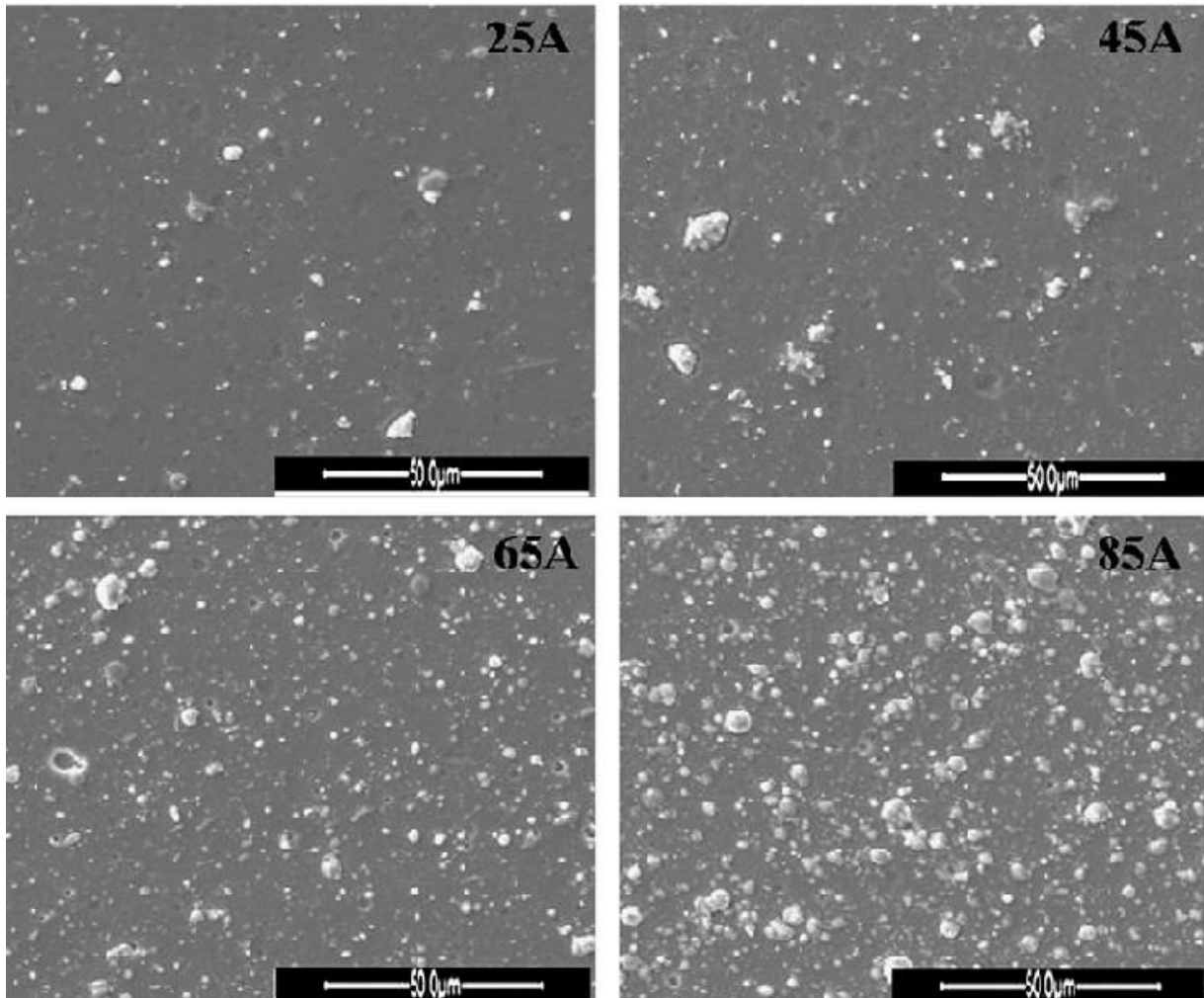


Figura 4 - Micrografia de superfície de revestimentos de nanocamadas de *Titanium Chromium Nitride* (Ti, Cr) N depositados com polaridade de substrato de -150 V e corrente de evaporador de 65 A Ti mostrando aumento de macropartículas com aumento da corrente de evaporador de Cr. Os glóbulos metálicos esféricos e brancos foram confirmados como macropartículas de Cr com sistema de energia dispersiva de raios X (*Energy Dispersive X ray - EDS*).

Fonte: WOLFE, GABRIEL, REEDY (2011)

A figura acima apresenta o aumento da incorporação de partículas de Cromo em nanocamadas de Ti e Cr à medida que a correnten de evaporação de incorporação aumenta 25 A, 45 A, 65 A e 85 A, respectivamente. Isto pode ser comprovado também





visualmente, pois percebe-se um maior aglomerado de partículas nessas nanocamadas com maior corrente de evaporação – 85 A. Essas moléculas que foram incorporadas podem ser utilizadas para diversos fins dependendo das suas propriedades biológicas. Segundo ROMASKEVIC *et al.*, (2006) a imobilização de enzimas têm sido uma prática utilizada em muitas áreas, porque mantém as moléculas protéicas aprisionadas em certas regiões de sua estrutura. Além disso, é interessante destacar que materiais nanoestruturados podem melhorar a eficiência na imobilização de enzimas (KIM *et al.*, 2006).

GOMES (2014) incorporou o agente microbiano L-cisteína (L-cys) em nanocamadas de alginato e quitosana que foram aplicadas em fibras de algodão. O resultado foi que essas nanocamadas com o L-cys tiveram uma atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. A autora ainda mencionou que o agente L-cys ficou imobilizado sem perder suas características bioativas.

CARVALHO (2014) modificou a superfície de filmes muito finos de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE) com a incorporação de prata com o objetivo de resistir às infecções nosocomiais de *Pseudomonas aeruginosa*, que são um grande problema devido a sua proliferação em implantes médicos, causando infecções para aos pacientes. Os filmes que tiveram a incorporação de prata apresentaram ação contra a *P. aeruginosa*, no entanto, as superfícies sem a prata não foram capazes de inibir a adesão e a proliferação de bactérias. Sendo assim, o autor conclui que o revestimento desenvolvido provou ser eficaz na modificação de implantes de (PTFE), conferindo-lhes a desejada ação contra *P. aeruginosa*.

#### 4 CONCLUSÃO

Com base nos estudos científicos analisados, pode-se dizer que a incorporação de agentes bioativos em nanocamadas vem sendo realizada com êxito, através da técnica camada-sobre-camada. Além disso, a formação dessas nanocamadas têm sido confirmadas por diferentes testes, como o ângulo de contato e as imagens MEV. Tais informações são de grande importância, pois contribuem com um melhor conhecimento sobre esses processos de nanoincorporação, os quais estão sendo tão utilizados por diferentes áreas, inclusive pela saúde.

#### REFERENCIAS

1. BOGONI JÚNIOR, N. Comportamento de Atrito por identificação em nanoescala de aço-carbono ASI 1045. Nitrato e pós-oxidação com diferentes nanocamadas de magnetita. Universidade de Caxias do Sul. **Dissertação de Mestrado** - 2016. Programa de pós- graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais. Universidade de Caxias do Sul. 65f. Rio Grande do Sul



2. CARNEIRO-da-CUNHA, M.G. et al. Physical and thermal properties of a chitosan/alginate nanolayered PET film. **Carbohydrate Polymers**, 82,1,p.153-159, 2010.
3. CARVALHO, D.L. DE. Modificação da superfície de poli(tetrafluoroetileno) para resistir a infecções nosocomiais de *Pseudomonas aeruginosa*. **Dissertação**. Pós-graduação em Engenharia de Materiais. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade de Coimbra, 2014 67p.
4. DECHER, G.; HONG, J.D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a selfassembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**. p. 831–835, 1992.
5. FONTANELLA, C.A.; OLIVEIRA, A.P.N. de; HOTZA, D. Recobrimentos poliméricos hidrofóbicos sobre isoladores elétricos de porcelana. **Revista Matéria**. V.13, n. 4, p. 624-635, 2008
6. GERCHMAN, D. 2015 Obtenção de nanocamadas de Wse<sub>2</sub> por esofoliação em diferentes sistemas de solventes. **Dissertação**. Porto Alegre Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de pós graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais. Pg 86.
7. GOMES, A.P. DE A.R. Layer-by-layer deposition of polyelectrolytes with incorporation of antimicrobial agentes as a new strategy to develop bioactive textiles. **Tese**. Universidade de Beira Interior, Coimbra, 2014. 153p.
8. MEDEIROS, B.G.S. Nanolaminados para a indústria alimentar: construção, caracterização e aplicação. **Tese de Doutorado em Ciências Biológicas**, UFPE-Recife, 138p. 2012.
9. MEDEIROS, B.G. *et al.* Polysaccharide/protein nanomultilayer coatings: construction, characterization and evaluation of their effect on ‘Rocha’ pear (*Pyrus communis*L.) shelf-life. **Food and Bioprocess Technology**, DOI:10.1007/s11947-010-0508-0, in press., 2011.
10. MEDEIROS, B.G.S. Nanolaminados para a indústria alimentar: construção, caracterização e aplicação. **Tese de Doutorado em Ciências Biológicas**, UFPE-Recife, 138p. 2012.
11. KIM, J.; GRATE, J.W.; WANG, P. Nanostructures for enzyme stabilization. **Chem. Eng. Scien.**, v. 61, p. 1017 – 1026, 2006.



12. NJOBUENWU, D.O.; OBOHO, E.O; GUMUS, R.H. Determination of contact angle from contact area of liquid droplet spreading on solid substrate. **Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies**, 10 p. 29-38, 2007.
13. PICHETH, G.F. Desenvolvimento de filmes nanoestruturados pela técnica *layer-by-layer* para controle de cinética de liberação protéica. **Dissertação**. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacéuticas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013, 80p.
14. PINHEIRO, A.C.; MEDEIROS, B. G.DE S.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G.; & VICENTE, A.A Interactions between  $\kappa$ -carrageenan and chitosan in nanolayered coatings—Structural and transport properties. **Carbohydrate Polymers**, 87, 2, 1081-1090.
15. SANTOS, S.F. Analysis of thick films ACC / PHANMCL techniques of DSC, DMA, XPS, contact angle and AFM. 2005 f. Dissertation in Physics, por extensor, PUC-RJ, Rio de Janeiro.
16. SILVA, M.C. Propriedades Ópticas do Poliestireno Sulfonado Dopado com Íons de Neodímio, **Dissertação (Mestrado em Física)** -Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, (2006).
17. ROMASKEVIC, T. *et al.*, Application of polyurethane – based material for immobilization of enzyme and cells: a review. **Chemija**, v. 17, p. 74-89, 2006.
18. VALCARCE, M.B.; BUSALMEN, J.P.; SÁNCHEZ, SR. The influence of the surface condition on the adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to copper and aluminum brass, *International Journal of Biodeterioration & Biodegradation*, 50, 1, p. 61-66, 2002.
19. WOLF, D.E.; REEDY, M.W.; BRIAN, M.G. Nanolayers (Ti, Cr)N Coatings for hard particle erosion resistance. *Surface and Coatings Technology*. 205 (19): 4569-4576. June. 2011.

Received: 06 December 2018

Accepted: 13 December 2018

Published: 30 January 2019