

MATERIAIS POROSOS DE COLÁGENO COM EXTRATOS NATURAIS PARA POTENCIAL APLICAÇÃO COMO MATERIAL HEMOSTÁTICO

Gustavo H. Porfirio*, Eduardo Pedro Milan

Ana Maria de Guzzi Plepis

Instituto de Química de São Carlos/Universidade de São Paulo

*gustavoporfirio@usp.br

Objetivo

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de materiais com possibilidade de uso como agente hemostático. Visando isto, esse projeto buscou desenvolver e caracterizar matrizes neutras de colágeno reticuladas com extratos de semente de uva e de casca de jaboticaba, que contém antocianidinas, proantocianidinas e taninos, compostos com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e antifúngicas.

Métodos e procedimentos

Preparação dos materiais e matrizes: As matrizes de colágeno foram obtidas a partir da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), por hidrólise alcalina 24h¹. O extrato de jaboticaba foi obtido através das cascas, que após limpas, foram liofilizadas e trituradas, sendo homogeneizadas com etanol acidificado em HCl 1,5 mol L⁻¹. Após filtração foi congelado e liofilizado. O extrato de uva foi obtido em uma farmácia de manipulação e purificado por suspensão em ácido acético 0,5% (m/m), filtração e liofilização. As matrizes foram cortadas e divididas em três grupos, que foram colocados em 25 mL de soluções a temperatura de 25°C durante 24h com agitação de 25 rpm, sendo posteriormente removidas, congeladas e liofilizadas. sendo: **Grupo A** - solução de ácido acético (0,1%, g/g)/etanol (1:1). **Grupo B**: soluções (10 mg mL⁻¹) do extrato de casca de jaboticaba em ácido acético (0,1%, g/g)/etanol (1:1). **Grupo C**: soluções (10 mg mL⁻¹) do extrato de semente de uva em ácido acético (0,1%, g/g)/etanol

(1:1). Para a determinação da quantidade de extrato incorporado nas matrizes uma alíquota de 0,5 mL da solução após incorporação foi diluída para 50 mL em PBS (tampão fosfato salino, pH 7,40) sendo a concentração determinada por interpolação na curva de calibração no comprimento de onda máximo para cada extrato.

Ensaio de porosidade: - As matrizes secas e pesadas (W_{inicial}) foram medidas com um paquímetro (largura, comprimento, espessura) e o volume total foi calculado. Posteriormente foram imersas em 5 mL de etanol, à temperatura ambiente e após 24h foram retiradas, novamente pesadas (W_{final}) e a porcentagem de porosidade foi calculada:

$$\%_{\text{porosidade}} = [[(W_{\text{final}} - W_{\text{inicial}})/\rho_{\text{EtOH}}]/V_{\text{total}}] \times 100 \quad (1)$$

sendo (ρ_{EtOH}) = 0,790 mg mL⁻¹.

Cinética de absorção em PBS - As matrizes foram colocadas em câmaras na presença de NaOH e sílica para retirada de umidade. Foram pesadas (w_{seco}) e em seguida colocadas em frascos contendo tampão PBS por tempos variáveis, sendo novamente pesadas (w_{final}). O processo foi feito em quintuplicata.

$$\%_{\text{absorção}} = [(W_{\text{final}} - W_{\text{seco}}) / W_{\text{seco}}] \times 100 \quad (2)$$

Ensaio de Liberação: As matrizes foram imersas em frascos contendo 10 mL de tampão fosfato salino (PBS) pH 7,4 e colocados em um Banho Dubnoff sob agitação de 75 rpm e temperatura de 25°C. Retirou-se alíquotas de 3,0 mL em intervalos de tempo até 48h. A leitura foi feita em espectrofotômetro de UV-visível da HITACHI, modelo U-1100, em

comprimento de onda máximo para cada extrato (278 nm). A determinação da quantidade de extrato liberado na solução de tampão PBS foi por interpolação dos valores de absorbância na curva de calibração. O ensaio foi feito em triplicata.

Resultados

A porosidade porcentual média obtida foi de $84,21\% \pm 7,49\%$ (grupo A), $75,58\% \pm 14,38\%$ (grupo B) e $69,91\% \pm 6,54\%$ (grupo C). O ensaio de absorção com tampão fosfato salino (PBS) possibilitou determinar a absorção das matrizes no período de 24 horas. As matrizes sem extrato apresentaram absorção de $408,0\% \pm 61,5\%$, enquanto as que tinham extrato apresentaram absorção de $257,6\% \pm 27,43\%$ (grupo C) e de $425,6\% \pm 53,57\%$ (grupo B).

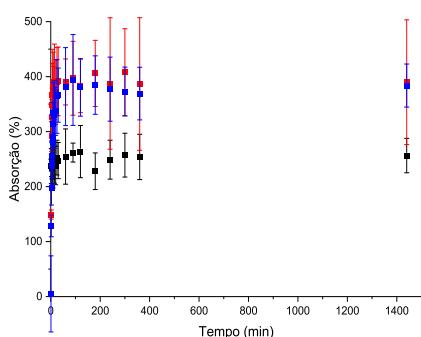


Figura 1 - Absorção das matrizes sem extrato (■), com extrato de casca de jaboticaba (□) e com extrato de semente de uva (■).

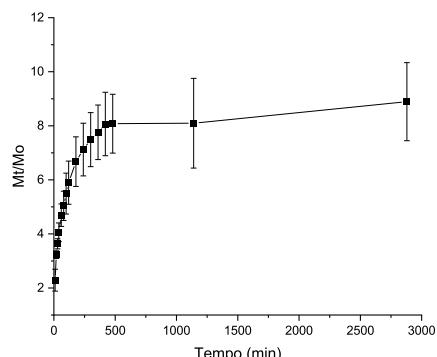


Figura 2 - Liberação das matrizes com extrato de casca de jaboticaba

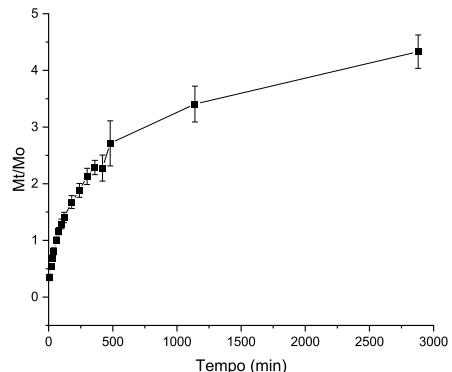


Figura 3 - Liberação das matrizes com extrato de semente de uva

As amostras apresentaram estabilização antes de 24 horas. A matriz com extrato de jaboticaba apresentou maior liberação que as matrizes com extrato de uva, sendo que o extrato que não foi liberado ficou retido na amostra.

Conclusões

Foi possível a obtenção de matrizes de colágeno a partir de pele de tilápia, bem como a incorporação de extratos de jaboticaba e uva. A adição dos extratos promoveu alterações nas matrizes de colágeno. Houve uma diminuição da porosidade ao se adicionar os extratos e a liberação de extrato na matriz de jaboticaba foi mais rápida que na matriz com extrato de uva.

Referências Bibliográficas

- 1- Milan, E.P.; Rodrigues, M.Á.V.; Martins, V.C.A.; Plepis, A.M.G.; Fuhrmann-Lieker, T.; Horn, M.M. - *Molecules*, 26, p. 2899, 2021.
- 2- Garcia, C.F.; Marangon, C.A.; b , Massimino, L.C; Klingbeil, M.F.G; Martins, V.C.A.; Plepis, A.M.G.- *Materials Science & Engineering C* *Materials Science and Engineering: C*, 23, 2021, 111955.