



AVALIAÇÃO DA PROPORÇÃO DE CARBOXIMETILPULULANA-ALGINATO DE SÓDIO NA PRODUÇÃO DE BIOMEMBRANAS PARA TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS

Lopes, L. R.¹; Medeiros, S. F.^{1,a};

¹Universidade de São Paulo / Escola de Engenharia de Lorena - USP/EEL
Estrada Municipal do Campinho, Nº 100, Campinho, Lorena/SP - CEP 12.602-810;

lilian.lopes@usp.br; ^asimonemedeiros@usp.br

RESUMO

Os tratamentos convencionais para feridas, como curativos sintéticos e gazes estéreis, têm limitações quanto à entrada de umidade, dificultando a cicatrização. Em resposta, pesquisas exploram métodos alternativos, como membranas, filmes e hidrogéis de polímeros biodegradáveis. Esses curativos mantêm a umidade, promovendo uma cicatrização mais eficaz, além de serem biocompatíveis, não tóxicos e biodegradáveis. As biomembranas produzidas tem como objetivo criar um ambiente propício para a cicatrização, evitando o ressecamento. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a proporção ideal de carboximetilpululana-alginato de sódio na produção de biomembranas pelo método de evaporação de solvente (*casting*), visando tratar feridas cutâneas. Foram realizadas análises como ângulo de contato, espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR), difração de raios X (XRD) e microscopia de força atômica (AFM) para determinar as propriedades das biomembranas. Os resultados definiram uma proporção otimizada de carboximetilpululana-alginato de sódio, indicando que essas biomembranas podem ser dispositivos biomédicos promissores, oferecendo uma alternativa de baixo custo para o Sistema Único de Saúde (SUS) e outras instituições públicas.

Palavras-chave: biomembranas, curativo, feridas cutâneas.

INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas, influenciada por fatores exógenos e endógenos, é vital para a integridade da pele. Condições de saúde como diabetes, imunossupressão e tabagismo podem agravar a capacidade de cicatrização, com pacientes diabéticos enfrentando desafios adicionais devido a anormalidades celulares(1). A interseção entre condições crônicas e o desenvolvimento de feridas é reconhecida na prática clínica, e a negligência pode levar à amputação(2). A cicatrização inadequada pode resultar em queloides e cicatrizes hipertróficas, representando desafios para a

medicina. É crucial compreender a gravidade das feridas cutâneas, considerando sua prevalência e impacto econômico(3). Lesões cutâneas, que variam desde queimaduras a cortes, podem evoluir para condições crônicas, representando um ônus para os sistemas de saúde(4). Essas feridas são caracterizadas por sua incapacidade de evoluir para os diferentes estágios de cicatrização, demandam cuidados especializados e tratamento contínuo para evitar complicações graves, como infecções e necrose tecidual(5). Diante disso, excipientes biomédicos preparados a partir de polímeros naturais são uma alternativa na produção de um curativo de baixo custo.

Na literatura, estudos relatam a produção de membranas a partir de polímeros naturais como quitosana(6), alginato de sódio(7), celulose bacteriana(8), gelatina(9), ácido hialurônico(10) e copolímero baseado em pululana(11). A vantagem da utilização de polímeros naturais é que esses materiais possuem diversas propriedades, como biodegradabilidade e não-toxicidade. Dessa forma, o estudo propõe uma nova abordagem na produção de curativos para a pele, utilizando carboximetilpululana e alginato de sódio.

Pululana é um polissacarídeo extracelular produzido por fungos, especialmente por *Aureobasidium pullulan*, que não é patogênico, nem possui odor ou sabor. É um dos polissacarídeos mais versáteis como excipiente farmacêutico devido às suas unidades de maltotriose conectadas por ligações glicosídicas (α -1,6) e (α -1,4). Essas ligações conferem à pululana grande flexibilidade estrutural, excelentes características de formação de filme e biocompatibilidade(12). Pululana é solúvel em água, mas a possibilidade de modificação química em sua estrutura permite que o material seja solúvel em outros solventes, resultando em soluções viscosas que otimizam suas aplicações(13). Derivados de pululana são utilizados para entrega de drogas direcionadas e tratamento de várias doenças em órgãos como fígado, pulmões, cérebro e pele. São também amplamente usados na produção de dispositivos biomédicos, incluindo hidrogéis, scaffolds, filmes, membranas para engenharia de tecidos e tratamento de câncer. Alginato de sódio também é destacado por suas aplicações na síntese de membranas de hidrogéis, devido à sua característica aniônica. É amplamente utilizado na indústria farmacêutica, engenharia de tecidos e cicatrização de feridas(14). A produção de filmes, membranas e hidrogéis de alginato de sódio conferem bons efeitos de biocompatibilidade e cicatrização de

feridas, além de possibilitar fácil reticulação desencadeada pela troca de íons Na^+ com cátions multivalentes (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Fe^{3+} , etc.)(15).

Portanto, este estudo pretende contribuir para o campo dos biodispositivos em evolução, avaliando a proporção ideal de carboximetilpululana e alginato de sódio na produção de biomembranas. O objetivo é otimizar a quantidade de cada material, de modo que as biomembranas produzidas possuam as propriedades físicas e mecânicas adequadas para o tratamento de feridas cutâneas. Essas biomembranas representam potenciais dispositivos biomédicos, oferecendo uma alternativa de baixo custo para uso no Sistema Único de Saúde (SUS) e outras instituições de saúde pública.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Para a execução deste projeto, a carboximetilpululana (CMPull) foi sintetizada pela própria autora. O alginato de sódio (P.A., 90%, Dinâmica) e o cloreto de cálcio anidro (P.A., grau analítico, Synth) foram utilizados como recebidos. A água empregada em todos os procedimentos foi previamente destilada.

Preparo das biomembranas

Inicialmente, foram preparadas biomembranas de carboximetilpululana (CMPull) e alginato de sódio (AS) através do método de evaporação de solvente (*casting*), buscando-se avaliar o efeito da proporção de material utilizado na preparação das biomembranas. Para isso, foram empregadas diferentes proporções de CMPull (Tabela 1).

Tabela 1: Proporções de CMPull e AS utilizadas no preparo das biomembranas

Componente (g)	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5
CMPull	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Alginato de sódio	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25

Diferentes proporções de CMPull e AS foram solubilizadas em 30 mL de água destilada, com o sistema agitado à temperatura ambiente durante 2 horas, ou até que o material estivesse totalmente dissolvido. Feito isso, a solução formadora de filme foi

transferida para placas de Petri de 10 cm de diâmetro, deixadas em temperatura ambiente para desgaseificação por 24 horas e, em seguida, transferidas para uma estufa de circulação de ar a 37°C por 24 horas, ou até que todo o solvente tivesse evaporado. Posteriormente, as biomembranas foram mergulhadas em uma solução de CaCl₂ (0,01 M) e o excesso de solução foi evaporado a 37°C. As biomembranas foram armazenadas em dessecador até serem avaliadas.

CARACTERIZAÇÕES

Ângulo de contato

O ângulo de contato superficial das biomembranas foi utilizado para avaliar quantitativamente o umedecimento das biomembranas através de medições ópticas estáticas da água, empregando um equipamento Ramé-Hart 300-F1. Uma gota de 1 µL de água destilada foi depositada na superfície da membrana e registrada usando um sistema de ângulo de contato de vídeo. Após desenhar a altura e a largura das gotas na superfície da biomembrana, o valor do ângulo de contato foi calculado automaticamente pelo sistema.

Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR-ATR)

A técnica de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier foi utilizada para investigar os grupos funcionais presentes na superfície das biomembranas, utilizando um espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR-ATR. A análise foi realizada com resolução de 8 cm⁻¹, com 32 varreduras no intervalo de comprimentos de onda de 650 a 4000 cm⁻¹.

Difração de raios-x (DRX)

As biomembranas foram analisadas qualitativamente quanto à cristalinidade utilizando a técnica de difração de raios-X em um difratômetro PANalytical Empyrean ACMS 101 (Malvern, UK). Utilizou-se um tubo de raio-X de cobre, fixando a corrente em 40 mA e a voltagem em 40 kV. O escaneamento foi realizado entre 10° e 90° (2θ) em temperatura ambiente.

Microscopia de força atômica (AFM)

As biomembranas foram avaliadas superficialmente em um microscópio de força atômica modelo XE7 (Park Systems). As biomembranas foram fixadas em uma lâmina metálica e as imagens foram obtidas sobre uma área de 10x10 µm, utilizando o modo contato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ângulo de contato

O ângulo de contato das biomembranas caracteriza a natureza hidrofóbica de sua superfície. Quanto maior o ângulo de contato, melhor é a hidrofobicidade das biomembranas. As biomembranas foram analisadas e os ângulos de contato são apresentados na (Figura 2). A (Tabela 2) fornece a média \pm desvio padrão de três repetições, enquanto a (Figura 1) mostra os ângulos de contato dinâmico ao longo do tempo. As biomembranas 1:1 apresentaram o maior ângulo médio de contato de 108° , indicando que suas propriedades hidrofóbicas foram as melhores. Os ângulos de contato das biomembranas 1:2 e 1:5 foram em torno de 70° , indicando menor hidrofobicidade em comparação com as biomembranas 1:1, enquanto as biomembranas 1:3 e 1:4 apresentaram ângulos de contato em torno de 50° . O tamanho do ângulo hidrofóbico das biomembranas foi relacionado ao número de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos em sua superfície. Estes resultados indicam que a superfície das biomembranas 1:1 possuía menos grupos hidrofílicos expostos do que as superfícies das demais biomembranas(16).

Figura 1: Ângulo de contato dinâmico ao longo do tempo das biomembranas

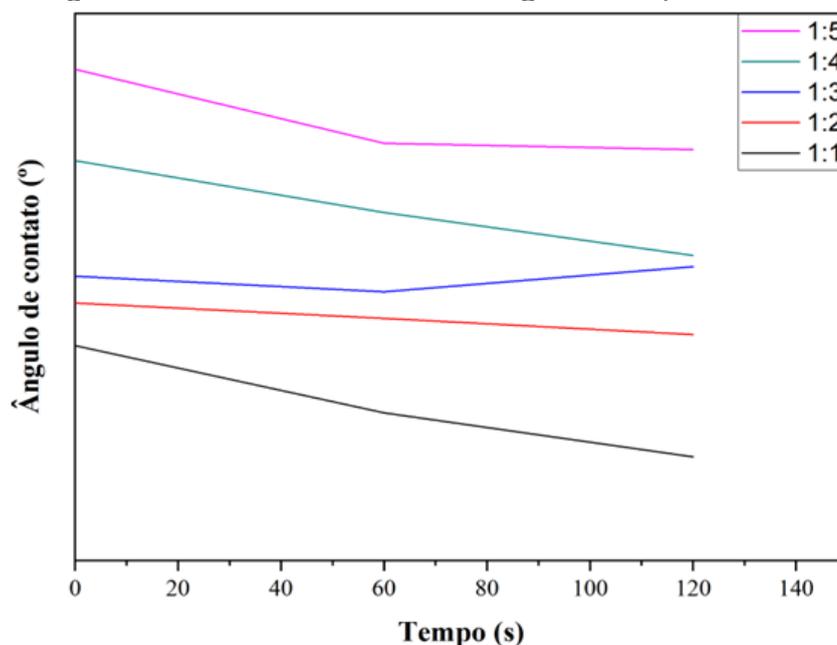


Figura 2: Ângulo de contato

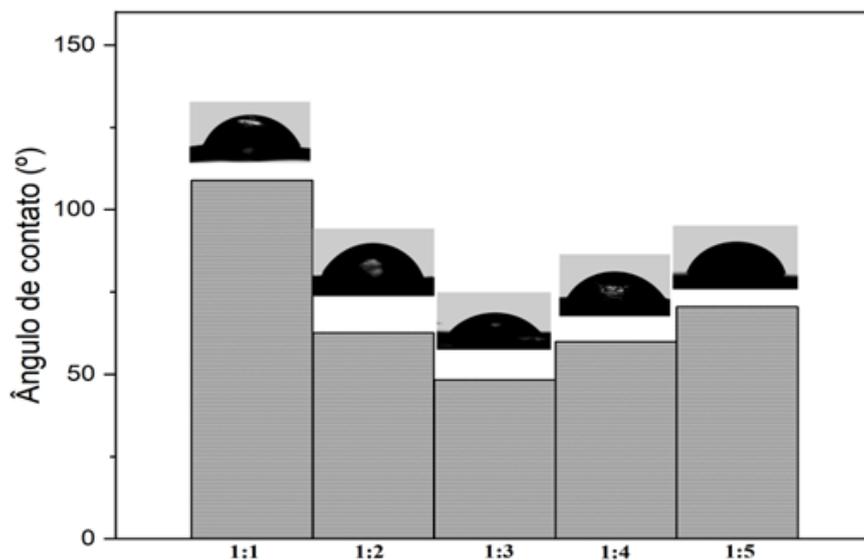


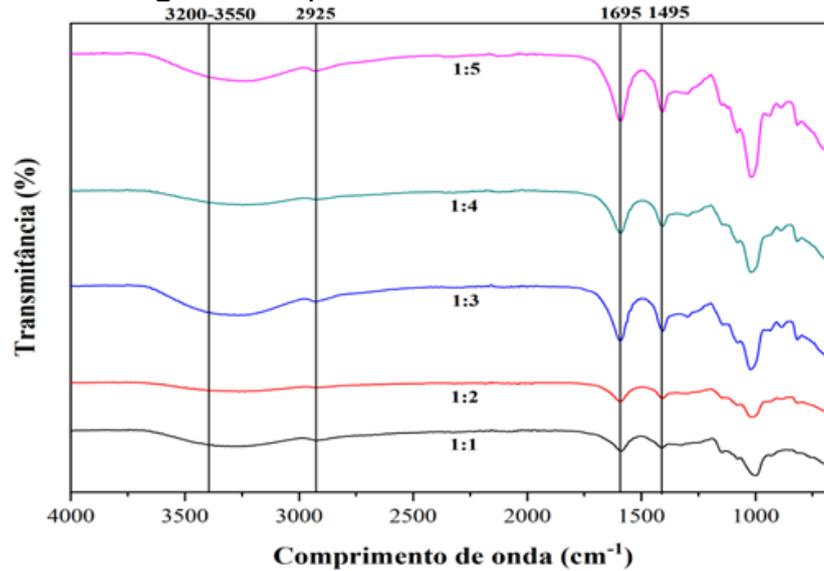
Tabela 2: Ângulo de contato das biomembranas

Biomembrana	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5
Média ± DP	108,90 ± 0,26	62,57 ± 0,1	48,32 ± 0,2	59,85 ± 0,2	70,52 ± 0,2

Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR das biomembranas são mostrados na (Figura 3). Todos os espectros apresentaram padrões semelhantes, indicando uma composição química comparável, com bandas características nas regiões de 3500-3000 cm^{-1} , 2925 cm^{-1} e 1695 cm^{-1} , correspondentes a vibrações de estiramento dos grupos OH e ligações de hidrogênio, CH de grupos alifáticos e C=O carbonila correspondente ao grupo carboximetil, respectivamente. A intensidade das bandas de estiramento OH foi mais fraca para as biomembranas 1:5 e 1:4, o que pode ser atribuído à menor proporção de CMPull na preparação dessas biomembranas. A banda em 1495 cm^{-1} foi mais expressiva para as biomembranas com maior concentração de AS, devido à sua estrutura molecular(17).

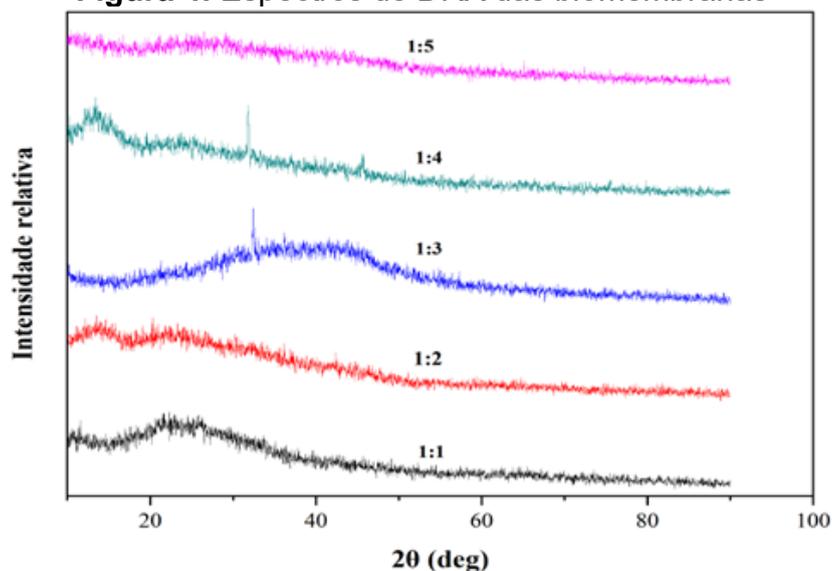
Figura 3: Espectros de FTIR das biomembranas



Difração de raios-X (DRX)

A análise de difração de raios-X (DRX) é um método importante para caracterizar a miscibilidade de dois materiais. Quando o componente cristalino e o componente não cristalino em uma mistura apresentam boa miscibilidade, a cristalinidade da mistura é inferior à dos componentes cristalinos individuais. As biomembranas foram analisadas e a (Figura 4) mostra os padrões de difração de raios-X. A biomembrana 1:1 exibiu um pico amplo em torno de 19,5°, indicando que o CMPull apresentava uma estrutura não cristalina, corroborando o estudo de Zhu et al. (2014)(18). Quando comparados com as demais biomembranas, que apresentavam proporções maiores de AS, os resultados mostraram picos sutis de cristalinidade em 15° e 19,5° para a biomembrana 1:2, um pico amplo em 40° para a biomembrana 1:3, e um pico íngreme em 10° para a biomembrana 1:4. A biomembrana 1:5 foi o único material a apresentar características amorfas em toda a análise. À medida que a concentração de AS aumentou, os picos foram reduzidos, o que pode estar relacionado às interações intermoleculares entre CMPull e AS, indicando que os dois polímeros têm boa miscibilidade.

Figura 4: Espectros de DRX das biomembranas

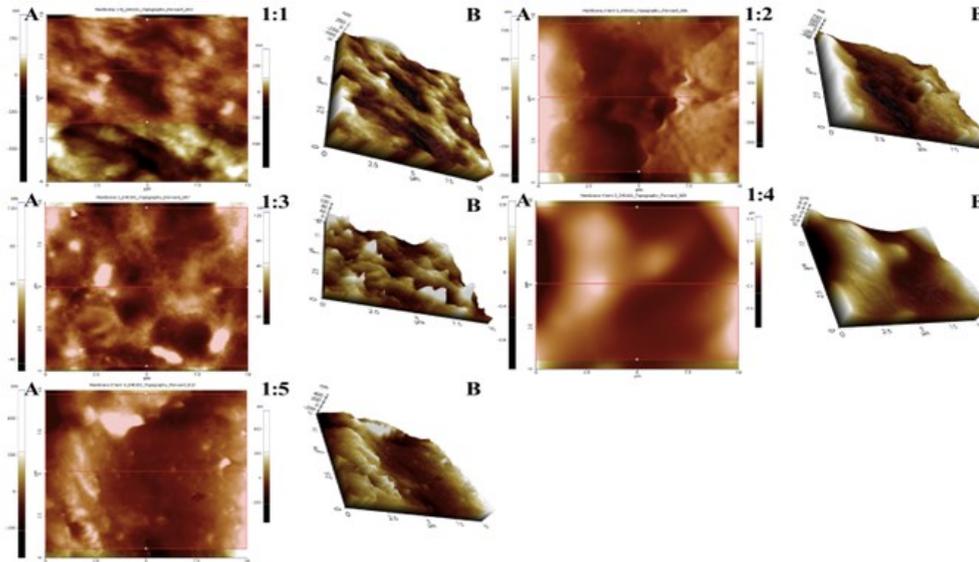


Microscopia de força atômica (AFM)

A análise de força atômica (AFM) foi utilizada para estudar a topografia da superfície das biomembranas, e os resultados são exibidos na (Figura 5). Nas imagens 3D obtidas do equipamento, as biomembranas 1:3 e 1:5 apresentaram uma superfície com estrutura desordenada, com muitas cristas e irregularidades semelhantes a vales. Na biomembrana 1:3, os picos cobriam uma pequena parte da superfície, enquanto nas biomembranas com maior proporção de AS, os picos cobriam quase toda a superfície. As imagens 3D das biomembranas 1:1, 1:2 e 1:4 revelaram diferentes extensões e ocorrências de rugosidade superficial. A biomembrana 1:4 exibiu uma estrutura de superfície lisa, com poucas irregularidades, possivelmente devido ao aumento das interações entre os polímeros. A ocorrência de cristas e estruturas semelhantes a vales foi reduzida devido aos emaranhados mais estreitos e fortes. No entanto, nenhuma das amostras apresentou uma superfície totalmente lisa, o que era esperado, pois a solução formada pela mistura polimérica não é majoritariamente homogênea. Alam et al. (2019) relataram resultados semelhantes quando a quantidade de material foi alterada na preparação dos filmes estudados(19).

Para melhor compreensão e comparação da topografia superficial de todas as biomembranas preparadas, também foram medidos os parâmetros do perfil de rugosidade superficial, com os seguintes valores: Ra-26,792 nm, Ra-203,626 nm, Ra-6,974 nm, Ra-0,180 e Ra-67,393 nm, para as biomembranas 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5, respectivamente.

Figura 5: Imagens superficial (A) e 3D (B) de AFM das biomembranas



CONCLUSÃO

O presente estudo teve como objetivo a produção e caracterização de biomembranas biodegradáveis utilizando uma blenda polimérica de carboximetil pululana (CMPull) e alginato de sódio (AS). Os resultados indicam que a biomembrana na proporção 1:1, contendo carboximetilpululana (CMPull) e alginato de sódio (AS), apresentou boas propriedades para uso como curativo, destacando-se pelo maior ângulo de contato médio de 108° , que sugere uma superfície mais hidrofóbica e adequada para repelir umidade e proteger feridas. Análises de FTIR-ATR mostraram que esta biomembrana possui uma composição química favorável, com boa interação entre os polímeros, enquanto as biomembranas com menor proporção de CMPull apresentaram bandas de estiramento OH mais fracas, portanto, são menos hidrofílicas. A análise de difração de raios-X revelou que a biomembrana 1:1 possui estrutura predominantemente não cristalina, e a análise de força atômica (AFM) destacou que a biomembrana 1:4, com uma superfície mais lisa, pode oferecer melhor conformabilidade para a aplicação desejada. Portanto, a biomembrana 1:1 e 1:4 se mostram as mais promissoras para aplicações em curativos devido às suas propriedades superiores de hidrofobicidade e adequação física, oferecendo uma alternativa eficaz e de baixo custo para uso no Sistema Único de Saúde (SUS) e outras instituições de saúde pública no tratamento de feridas cutâneas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio e financiamento indispensáveis para a realização deste estudo, processo nº 2023/07968-2.

REFERÊNCIAS

- (1) K. Kondej, M. Zawrzykraj, K. Czerwiec, M. Deptuła, A. Tymińska, and M. Piśkuła, "Bioengineering Skin Substitutes for Wound Management—Perspectives and Challenges," *Int J Mol Sci*, vol. 25, no. 7, 2024, doi: 10.3390/ijms25073702.
- (2) L. Maeso, P. E. Antezana, A. G. Hvozda Arana, P. A. Evelson, G. Orive, and M. F. Desimone, "Progress in the Use of Hydrogels for Antioxidant Delivery in Skin Wounds," *Pharmaceutics*, vol. 16, no. 4, 2024, doi: 10.3390/pharmaceutics16040524.
- (3) J. Yuan *et al.*, "Recent advances in harnessing biological macromolecules for wound management: A review," *Int J Biol Macromol*, vol. 266, p. 130989, 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130989>.
- (4) E. Lazarus *et al.*, "Engineering tools for stimulating wound healing," *Appl Phys Rev*, vol. 11, no. 2, p. 021304, Apr. 2024, doi: 10.1063/5.0173663.
- (5) P. Sanjarnia *et al.*, "Bringing innovative wound care polymer materials to the market: Challenges, developments, and new trends," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 207, p. 115217, 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2024.115217>.
- (6) Z. Zhang *et al.*, "Eggshell membrane powder reinforces adhesive polysaccharide hydrogels for wound repair," *Int J Biol Macromol*, vol. 269, p. 131879, 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131879>.
- (7) H. Zhang *et al.*, "Scalable and Versatile Metal Ion Solidificated Alginate Hydrogel for Skin Wound Infection Therapy," *Adv Healthc Mater*, vol. n/a, no. n/a, p. 2303688, Mar. 2024, doi: <https://doi.org/10.1002/adhm.202303688>.
- (8) X. Liu *et al.*, "Bacterial Cellulose-Based Bandages with Integrated Antibacteria and Electrical Stimulation for Advanced Wound Management," *Adv Healthc Mater*, vol. 13, no. 7, p. 2302893, Mar. 2024, doi: <https://doi.org/10.1002/adhm.202302893>.
- (9) J. L. Barbosa *et al.*, "Development of a membrane and a bilayer of chitosan, gelatin, and polyhydroxybutyrate to be used as wound dressing for the regeneration of rat excisional wounds," *J Biomed Mater Res A*, vol. 112, no. 1, pp. 82–98, Jan. 2024, doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37616>.
- (10) D. S. Kim *et al.*, "Antiadhesive Hyaluronic Acid-Based Wound Dressings Promote Wound Healing by Preventing Re-Injury: An In Vivo Investigation," *Biomedicines*, vol. 12, no. 3, 2024, doi: 10.3390/biomedicines12030510.
- (11) H. Mert, B. Özkahraman, and H. Damar, "A novel wound dressing material: Pullulan grafted copolymer hydrogel via UV copolymerization and crosslinking," *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 60, p. 101962, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101962>.
- (12) V. D. Prajapati, G. K. Jani, and S. M. Khanda, "Pullulan: An exopolysaccharide and its various applications," *Carbohydr Polym*, vol. 95, no. 1, pp. 540–549, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.082>.
- (13) C. N. Elangwe *et al.*, "Pullulan-Based Hydrogels in Wound Healing and Skin Tissue Engineering Applications: A Review," *Int J Mol Sci*, vol. 24, no. 5, 2023, doi: 10.3390/ijms24054962.
- (14) R. D. Silva, L. T. de Carvalho, R. M. de Moraes, S. de F. Medeiros, and T. M. Lacerda, "Biomimetic Biomaterials Based on Polysaccharides: Recent Progress and Future Perspectives," *Macromol Chem Phys*, vol. 223, no. 13, pp. 1–19, 2022, doi: 10.1002/macp.202100501.
- (15) T. Wang *et al.*, "Sodium alginate hydrogel containing platelet-rich plasma for wound healing," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 222, no. September 2022, p. 113096, 2023, doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.113096.

- (16) K. Li, J. Zhu, G. Guan, and H. Wu, "Preparation of chitosan-sodium alginate films through layer-by-layer assembly and ferulic acid crosslinking: Film properties, characterization, and formation mechanism," *Int J Biol Macromol*, vol. 122, pp. 485–492, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.188>.
- (17) Q. Tong, Q. Xiao, and L.-T. Lim, "Preparation and properties of pullulan–alginate–carboxymethylcellulose blend films," *Food Research International*, vol. 41, no. 10, pp. 1007–1014, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.08.005>.
- (18) G. Zhu, L. Sheng, and Q. Tong, "Preparation and characterization of carboxymethyl-gellan and pullulan blend films," *Food Hydrocoll*, vol. 35, pp. 341–347, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.009>.
- (19) J. Alam, M. Alhoshan, A. K. Shukla, A. Aldalbahi, and F. A. A. Ali, "k-Carrageenan – A versatile biopolymer for the preparation of a hydrophilic PVDF composite membrane," *Eur Polym J*, vol. 120, p. 109219, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.109219>.

EVALUATION OF CARBOXYMETHYLPULLULAN-SODIUM ALGINATE RATIO IN THE PRODUCTION OF BIOMEMBRANES FOR CUTANEOUS WOUND TREATMENT

Lopes, L. R.¹; Medeiros, S. F.^{1,a};

University of São Paulo / Lorena School of Engineering - USP/EEL¹
Estrada Municipal do Campinho, Nº 100, Campinho, Lorena/SP - CEP 12.602-810;

lilian.lopes@usp.br; ^asimonemedeiros@usp.br

ABSTRACT

Conventional wound treatments, such as synthetic dressings and sterile gauze, have limitations in terms of moisture ingress, hindering healing. In response, research is exploring alternative methods, such as membranes, films and hydrogels made from biodegradable polymers. These dressings retain moisture, promoting more effective healing, as well as being biocompatible, non-toxic and biodegradable. The biomembranes produced aim to create an environment conducive to healing, avoiding dryness. Therefore, the aim of this study was to evaluate the ideal ratio of carboxymethylpullulan to sodium alginate in the production of biomembranes using the solvent evaporation method (casting), with the aim of treating skin wounds. Analyses such as contact angle, Fourier transform infrared spectrometry (FTIR-ATR), X-ray diffraction (XRD) and atomic force microscopy (AFM) were carried out to determine the properties of the biomembranes. The results defined an optimized ratio of carboxymethylpullulan-sodium alginate, indicating that these biomembranes could be promising biomedical devices, offering a low-cost alternative for the Unified Health System (SUS) and other public institutions.

Keywords: biomembranes, dressing, cutaneous wounds.