

MALHAS DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) DOADORAS DE ÓXIDO NÍTRICO PARA AUMENTO DA VASODILATAÇÃO DÉRMICA

Leonardo P. Giglio¹, Scheila D. F. Alves², Marcelo G. de Oliveira³

1. Graduando do curso de Farmácia da Fac. De Ciências Farmacêuticas - UNICAMP

2. Doutoranda do Instituto de Química da UNICAMP

3. Prof. Titular do Instituto de Química da UNICAMP/Orientador

Resumo:

A aplicação tópica de biomateriais doadores de óxido nítrico (NO) tem se mostrado efetiva para promover o aumento da vasodilatação dérmica e a cicatrização de lesões. Os principais objetivos deste projeto foram o desenvolvimento de uma nova plataforma para a liberação tópica de NO, baseada em malhas de poli(tereftalato de etileno) (PET) impregnadas com poliéster polinitrosado (PNPE) e a correlação das cinéticas de liberação de NO *in vitro* com os resultados de sua atividade vasodilatadora dérmica *in vivo*.

O PNPE foi obtido através da policondensação de um diol com um diácido sulfidrilado, gerando inicialmente um poliéster polisulfidrilado (PSPE). As malhas de PET foram impregnadas com solução PSPE em acetona, secas e nitrosadas por via úmida (HONO).

Os grupos SNO presentes no PNPE foram quantificados por quimiluminescência e a ação vasodilatadora tópica das malhas impregnadas foi avaliada por fluxometria Laser Doppler na pele do antebraço dos próprios autores.

Autorização legal: O protocolo utilizado nas medidas de vasodilatação dérmica por fluxometria laser Doppler em voluntários foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (CAAE N° 26914414.2.0000.5404, parecer N° 789.838).

Palavras-chave: Biomateriais; Óxido nítrico; Vasodilatação dérmica.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP. (Proc. No 2016/07741-4).

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UNICAMP.

Introdução:

O NO é uma molécula produzida por

uma ampla variedade de tipos celulares e possui várias ações biológicas, incluindo a vasodilatação, relaxando as células musculares lisas e controlando o tônus vascular e a pressão sanguínea¹. O NO também está envolvido na capacidade do sistema imunológico de destruir células tumorais e parasitas intracelulares² e nos processos de cicatrização³ e coagulação sanguínea⁴, entre outros.

Desde a descoberta das propriedades biológicas do NO, tem havido um crescente interesse em formulações e biomateriais capazes de armazenar e liberar o NO de maneira controlada. Os S-nitrosotióis (RSNOs) são metabólitos biológicos que podem ser usados em biomateriais como reservatórios de NO, sendo mais estáveis que o NO em sua forma livre no organismo⁵. Estas moléculas se decompõem térmica ou fotoquimicamente para liberar o NO, de acordo com a equação geral⁶:



As ações dos RSNOs no organismo são similares à do NO, provocando relaxamento das células musculares lisas, vasodilatação e inibição da agregação plaquetária⁷.

Materiais poliméricos são largamente usados na confecção de dispositivos médicos de implante tais como cateteres e próteses. Pesquisas mais recentes, têm tentado otimizar a estabilidade e o desempenho desses materiais *in vivo*, uma vez que hidrogéis ou polímeros hidrossolúveis na sua forma reticulada podem ser utilizados como sistemas de liberação controlada e localizada de drogas⁸. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de uma nova plataforma para a liberação tópica de NO, baseada na impregnação de malhas de PET com um poliéster polisulfidrilado sintético (PET/PSPE). Esta malha foi, posteriormente nitrosada, gerando malhas de PET impregnadas com um poliéster polinitrosado (PET/PNPE). A partir de dados de trabalhos anteriores, sabemos que o PNPE pode liberar NO a partir da decomposição dos grupos –

SNO, proporcionando assim a aplicação tópica de NO^{9,10}.

Metodologia:

O PSPE foi sintetizado a partir da policondensação do tioglicerol (3-mercaptopropano-1,2-diol) com o ácido mercaptosuccínico¹¹ (Fig. 1).

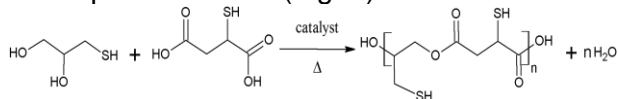


Fig 1. Esquema da reação de poliesterificação do 3-mercaptopropano-1,2-diol com o ácido mercaptosuccínico.

O poliéster sintetizado foi solubilizado em acetona, de modo a gerar quatro soluções poliméricas de concentrações diferentes. As impregnações foram feitas aplicando-se soluções de PSPE em almofadas de curativos da marca Band-aid® de 4 cm², obtendo-se malhas de PET contendo 5, 10, 15 e 25% em massa de PSPE. As malhas impregnadas foram secas em estufa a 60 °C por 30 min.

A morfologia das malhas de PET foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio eletrônico (FEI, modelo Quanta 250). A espectroscopia de energia dispersiva (EDS) acoplada ao MEV foi utilizada para o mapeamento de átomos de enxofre nas fibras que compõe a malha. A calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi utilizada para a caracterização das temperaturas de transição vítrea (T_g) do PET das malhas e do PSPE. Os termogramas de DSC foram obtidos em um calorímetro (TA Instruments, modelo Q-100).

As malhas, cortadas em quadrados de 1 cm², foram nitrosadas por imersão em solução ácida de nitrito de sódio (Fig. 2), com três enxagues de 30 s cada, após a reação de nitrosação, para remoção completa do resíduo de ácido nítrico.

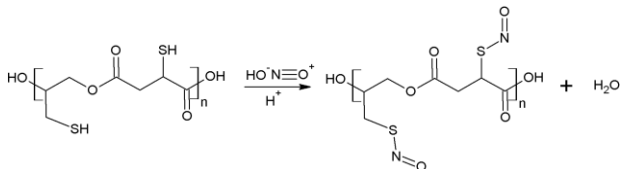


Fig 2. Reação de nitrosação via úmida do poliéster polisulfidrilado (PSPE), formando o poliéster polinitrosado (PNPE).

A vasodilatação dérmica, obtida na aplicação das malhas de PET/PNPE sobre a pele íntegra do antebraço dos autores, foi medida por fluxometria Laser Doppler. Um monitor de perfusão Laser Doppler (*Transonic Systems Inc.* modelo BLF21D) foi utilizado para registrar a perfusão sanguínea em tempo

real. Após o registro do fluxo sanguíneo basal em um local específico do antebraço, as malhas de PET/PNPE foram aplicadas no mesmo local da medição basal. Após 10 min, as malhas foram removidas e a medida foi realizada. Todas as medições foram realizadas em um laboratório termoestabilizado a 25°C, com os indivíduos deitados na posição supina e com o braço experimental ao nível do coração.

A dose de NO das malhas de PET/PNPE foi medida por quimiluminescência utilizando um analisador de NO (Sievers/GE *Analytical Instruments*, modelo 280i). As malhas foram inseridas no compartimento de amostragem do instrumento e uma solução de ascorbato foi utilizada como agente redutor para liberação quantitativa de NO a partir dos grupos -SNO das malhas PET/PNPE.

Resultados e Discussão:

A Fig. 3 mostra o aumento do fluxo sanguíneo dérmico em aplicações tópicas de malhas de PET/PNPE contendo 4 diferentes porcentagens em massa de PNPE.

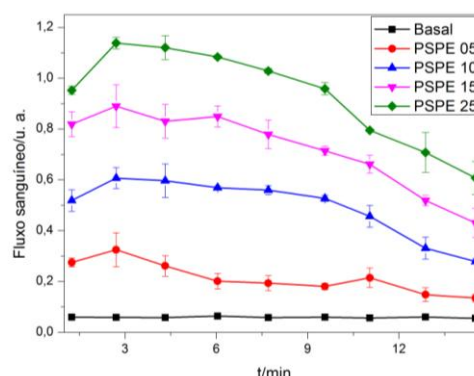


Fig 3. Dose-resposta de aumento do fluxo sanguíneo dérmico em aplicações tópicas das malhas PET/PNPE na pele do antebraço.

A quantidade molar de grupos SNO presente nas malhas de PET/PNPE apresentou uma correlação direta com a vasodilatação dérmica obtida. As malhas contendo 5 e 10% de PNPE geraram aumentos de ca. 430 e 860% na vasodilatação dérmica respectivamente, enquanto que as malhas contendo 15 e 25% em massa de PNPE geraram aumentos de ca. 1290 e 1640% na vasodilatação dérmica, respectivamente, em relação ao nível basal.

Conclusões:

A impregnação de malhas de PET com poliéster polinitrosado gerou uma nova plataforma de liberação localizada e controlada de NO. Por promover uma vasodilatação dérmica, esta plataforma tem potencial de uso

clínico para o tratamento tópico de doenças isquêmicas da pele e para o estímulo do processo de cicatrização.

Poly-nitrosated Polyesters: preparation, characterization, and potential use for topical nitric oxide release. *Biomacromolecules*, 2005; 6: 2512-2520.

Referências bibliográficas

[1] Wanstall J.C., Jeffery T.K., Gambino A., Lovren F., Triggle C.R. Vascular smooth muscle relaxation mediated by nitric oxide donors: A comparison with acetylcholine, nitric oxide and nitroxyl ion. *British Journal of Pharmacology*, 2001; 134: 463-472.

[2] MacMicking J., Xie Q., Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology*, 1997; 15: 323-350.

[3] Witte, M.B., Barbul, A. Role of nitric oxide in wound repair. *American Journal of Surgery*, 2002; 183: 406-412.

[4] Reichenbach G., Momi S., Gresele P. Nitric oxide and its antithrombotic action in the cardiovascular system. *Current Drug Targets - Cardiovascular and Haematological Disorders*, 2005; 5: 65-74.

[5] de Oliveira M.G. S-nitrosothiols as platforms for topical nitric oxide delivery. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 118, 2016. Doi:10.1111/bcpt.12588

[6] de Oliveira M.G., Shishido S.M., Seabra A.B., Morgon N.H. Thermal Stability of Primary S -Nitrosothiols: Roles of Autocatalysis and Structural Effects on the Rate of Nitric Oxide Release. *J. Phys. Chem.*, 2002; 106: 8963–8970.

[7] Tziros C., Freedman J.E. The many antithrombotic actions of nitric oxide. *Current Drug Targets*, 2006; 7: 1243-1251.

[8] da Silva R.G., de Oliveira M.G. Effect of the cross-linking degree on the morphology of poly (NIPAAm-co-AAc) hydrogels. *Polymer*, 2007; 48: 4114-4122.

[9] Seabra A.B., Martins D., Simões M.M.S.G., da Silva R., Brocchi M., de Oliveira M.G. Antibacterial nitric oxide-releasing polyester for the coating of blood-contacting artificial materials. *Artif Organs*, 2010; 34: 204-214.

[10] Marcilli R.H.M., de Oliveira M.G. Nitric oxide-releasing poly (vinyl alcohol) film for increasing dermal vasodilation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014; 116: 643-651.

[11] Seabra A.B., da Silva R., de Oliveira M.G.