

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

***TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS.
AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!**

Título: BIODISSÍNTese DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO *Kalanchoe pinnata* VISANDO A APLICAÇÃO EM HIDROGÉIS PARA O COMBATE DE BACTÉRIAS RESISTENTES

Autor: Leandro Oliveira Feitosa

Orientador: Prof^a Dr^a. Renata de Lima

RESUMO

As bactérias resistentes a antibióticos tornaram-se um grande desafio para a saúde pública devido à dificuldade de combatê-las. Na busca por novas alternativas, as nanopartículas de prata (AgNPs) surgem como uma das possibilidades para ajudar nesta situação. A ação antibacteriana da prata é conhecida há anos, no entanto, o seu potencial é ampliado quando em escala nanométrica. Assim, as AgNPs podem ser uma promissora opção contra as bactérias resistentes. Este trabalho teve como objetivo realizar a síntese de AgNPs biogênica utilizando extrato de *Kalanchoe pinnata* com a intenção de ajudar a comprovar a eficácia das AgNPs contra bactérias resistentes. Também avaliar toxicidade *in vitro* e propor a aplicação das AgNPs em hidrogéis para futura utilização de tratamentos de feridas cutâneas. Inicialmente, foi realizada a otimização da síntese de AgNPs de modo a selecionar os melhores parâmetros para isto. Deste modo, foram realizadas a caracterização físico-química das AgNPs utilizando as técnicas de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e análise de rastreamento de nanopartículas (NTA). A atividade antibacteriana foi comprovada através do teste de disco-difusão em ágar e concentração mínima inibitória. A eficácia das AgNPs foi confirmada com ensaios de cinética de crescimento com bactérias resistentes. Para avaliar a citotoxicidade foram realizados os testes de redução de tetrazólio (MTT) e vermelho neutro. E para avaliar a genotoxicidade, utilizamos os testes de *Allium cepa* e ensaio do Cometa. Também foi testado a possibilidade de alergias através de expressão gênica de genes ligados a formação de inflamossomos e quimiocinas. Os resultados mostraram que a melhor condição de síntese de AgNPs foi na concentração de 0,06 mg.mL⁻¹ de extrato de *K. pinnata*, pH 9 e AgNO₃ a 1mM. Logo, geraram AgNPs com tamanho de 121 ± 6,5 nm, polidispersão 0,2 ±

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS – UNISO**

***TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS.**

AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!

0,1 pdi, potencial zeta de $-23 \pm 0,1$ mV e concentração de 9×10^{10} Np.mL⁻¹. As AgNPs foram eficazes contra bactérias resistentes a partir de concentrações de $0,9 \times 10^{10}$ Np.mL⁻¹. As AgNPs conseguiram interromper a formação de biofilme e inibir o crescimento bacteriano durante 24 h. Não apresentaram citotoxicidade *in vitro* até a concentração de 3×10^{10} Np.mL⁻¹. Apresentaram efeitos genotóxicos em raízes de *Allium cepa* em altas concentrações e no ensaio de cometa com células animais a partir da concentração de $0,9 \times 10^{10}$ Np.mL⁻¹ e indica alteração na expressão dos genes. As AgNPs foram incorporadas em hidrogéis poliméricos de polaxamer, e isto melhorou os perfis reológicos dos géis tanto em função da frequência quanto da temperatura, desta maneira, modificou a viscosidade e comportamento não Newtoniano do sistema. Ainda, os géis apresentaram ação antibacteriana, mostrando serem eficazes contra bactérias resistentes através do contato direto. Tendo em vista os resultados, as AgNPs de extrato de *K. pinnata* são eficazes contra bactérias resistentes, mesmo depois de incorporadas em hidrogéis. Desta forma, são uma excelente alternativa para tratar infecções causadas por bactérias resistentes. Palavras-chaves: AgNPs. Hidrogel. Bactérias resistentes. Citotoxicidade. Otimização.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS – UNISO**

***TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS.
AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!**

ABSTRACT

Antibiotic-resistant bacteria have become a major public health challenge due to the difficulty of combating them. In the search for new alternatives, silver nanoparticles (AgNPs) appear as one of the possibilities to help in this situation. The antibacterial action of silver has been known for years, however, its potential is increased when on a nanometer scale. Thus, AgNPs can be a promising option against resistant bacteria. This work aimed to carry out the synthesis of biogenic AgNPs using *Kalanchoe pinnata* extract with the intention of helping to prove the effectiveness of AgNPs against resistant bacteria. Also evaluate toxicity in vitro and propose the application of AgNPs in hydrogels for future use of skin wound treatments. Initially, the optimization of the synthesis of AgNPs was carried out in order to select the best parameters for this. Thus, the physical-chemical characterization of the AgNPs was carried out using the techniques of dynamic light scattering (DLS) and nanoparticle tracking analysis (NTA). The antibacterial activity was proven through the disk-diffusion test on agar and minimum inhibitory concentration. The effectiveness of AgNPs was confirmed with growth kinetics assays with resistant bacteria. Tetrazolium reduction (MTT) and neutral red tests were performed to assess cytotoxicity. And to assess genotoxicity, we used the *Allium cepa* tests and the Comet assay. The possibility of allergies was also tested through gene expression of genes linked to the formation of inflamossomes and chemokines. The results showed that the best condition for the synthesis of AgNPs was at the concentration of 0.06 mg.mL⁻¹ of *K. pinnata* extract, pH 9 and 1mM AgNO₃. Therefore, they generated AgNPs with a size of 121 ± 6.5 nm, polydispersion 0.2 ± 0.1 pdi, zeta potential of -23 ± 0.1 mV and concentration of 9 × 10¹⁰ Np.mL⁻¹. AgNPs were effective against resistant bacteria from concentrations of 0.9 × 10¹⁰ Np.mL⁻¹. AgNPs were able to stop biofilm formation and inhibit bacterial growth for 24 h. They did not show cytotoxicity in vitro until the concentration of 3 × 10¹⁰ Np.mL⁻¹. They showed genotoxic effects in *Allium cepa* roots in high concentrations and in the comet assay with animal cells from the concentration of 0.9 × 10¹⁰ Np.mL⁻¹ and indicates alteration in gene expression. The AgNPs were incorporated into polymeric polaxamer hydrogels, and this improved the rheological profiles of the gels both as a function of frequency and temperature, thus changing the viscosity and non-Newtonian behavior of the system. Also, the gels

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS – UNISO**

***TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS.**

AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS!

showed antibacterial action, showing to be effective against resistant bacteria through direct contact. In view of the results, *K. pinnata* extract AgNPs are effective against resistant bacteria, even after being incorporated into hydrogels. In this way, they are an excellent alternative to treat infections caused by resistant bacteria.

Keywords: AgNPs. Hydrogel. Resistant bacteria. Cytotoxicity. Optimization.