

Hidróxido simple laminar de zinc/alantoína como fase activa antimicrobiana en películas bionanocomposite de hidroxipropilmetilcelulosa

Esther Marugán (1), Ediana P. Rebitski (1), Margarita Darder (1*), Gustavo del Real (2), Pilar Aranda (1)

(1) Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM). CSIC, 28049, Madrid (España)

(2) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). CSIC, 28040, Madrid (España)

* corresponding author: darder@icmm.csic.es

Palabras Clave: Hidróxido simple laminar, Alantoína, Actividad antimicrobiana, Apósito para heridas. **Key Words:** Layered simple hydroxide, Allantoin, Antimicrobial activity, Wound dressing.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el uso de apósitos para proteger heridas o quemaduras ya no es solo un mecanismo de barrera contra la infección, sino un componente que participa activamente en el proceso de curación (Boateng et al., 2008). Con este fin, se están desarrollando apósitos para heridas cargados de agentes antimicrobianos, basados principalmente en biopolímeros como soportes biocompatibles en los que se dispersan minerales de la arcilla que actúan como nanocontenedores del componente biocida (Lisuzzo et al., 2020; Darder et al., 2021). En el trabajo actual, se han desarrollado materiales celulósicos cargados con un nuevo hidróxido simple laminar (HSL) de zinc con alantoína en su estructura (alant-ZnHSL) para su potencial aplicación como apósitos para heridas, que exhiban simultáneamente propiedades antimicrobianas y regeneradoras de la piel por la presencia de iones zinc y alantoína, respectivamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon $ZnCl_2$, alantoína, NaOH e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de Sigma-Aldrich. El híbrido alant-ZnHSL se sintetizó adicionando una disolución de $ZnCl_2$ 62 mM a 200 ml de alantoína (1% (m/v)), con un dispensador automático Dosino 800 (Metrohm), bajo flujo de N_2 , goteando simultáneamente NaOH 1 M para mantener un pH de 9,0 (Rebitski, 2020). Tras 24 h el sólido obtenido se centrifugó, se lavó tres veces y se secó a 60 °C. Las películas de HPMC con 3,6%, 9%, 20% y 33% de alant-ZnHSL se prepararon con 2 g de HPMC en 50 mL de agua y adicionando entre 0,075 y 1 g del híbrido. El secado se realizó al 75% de humedad relativa y 35 °C.

El híbrido alant-ZnHSL se caracterizó mediante difracción de rayos X (D8-ADVANCE de Bruker), espectroscopía IR (Bruker Vertex 70V, en KBr), análisis químico elemental (LECO CHNS-932) y FESEM (microscopio FEI NOVA NANO 230 con detector EDAX-Ametek). Las películas bionanocomposite se caracterizaron con una máquina de ensayos universal INSTRON 3345 y un espectrofotómetro UV-1201 de Shimadzu.

La liberación de alantoína y Zn^{2+} del híbrido (aprox. 10 mg) se realizó en 5 mL de suero (NaCl 0,15 M + KCl 0,05 M, pH 6,8) con agitación a 50 rpm y 35 °C, recuperando a diferentes tiempos la disolución por filtración (0,45 μ m) y determinando la alantoína liberada en un analizador de carbono orgánico total Analytik Jena multi N/C 2100, y la cantidad de Zn^{2+} mediante fluorescencia de rayos X en un espectrómetro TXRF S2 PicoFox de Bruker.

La actividad antibacteriana de las películas bionanocomposite se evaluó por difusión en disco utilizando agar Mueller-Hinton (MHA), colocando discos de 6 mm en placas de agar inoculadas con bacterias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* CECT 239) o gram-negativas (*Escherichia coli* K 12 CECT 433), incubadas a 36 °C durante 24 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha desarrollado un HSL de zinc con alantoína en su estructura (alant-ZnHSL) que incorpora 378 meq de alantoína por 100 g HSL (60 g/100 g HSL). El difractograma de rayos X muestra una reflexión intensa a $4,88^\circ 2\theta$, que corresponde a un espaciado basal d_{001} de 1,81 nm. Esto indicaría una distancia interlaminar de 0,81 nm, considerando

que el espesor de la lámina de HSL es de 1 nm (Mohsin et al. 2013). Dado que la molécula de alantoína presenta unas dimensiones de 0,40 x 0,61 nm (Rebitski, 2020), las moléculas podrían intercalarse formando una bicapa entre las láminas de ZnHSL (Fig. 1A). A partir de los resultados de análisis químico, TG y EDX se puede estimar la fórmula $Zn_3(OH)_5Alant_{1,5} \cdot 1,14H_2O$. Mediante FESEM se comprobó la morfología laminar de las partículas de alant-ZnHSL, que se disponen con una estructura típica de rosa del desierto. La adición de alant-ZnHSL en suero a pH fisiológico produce una liberación gradual de sus componentes que se mantiene durante días (Fig. 1B).

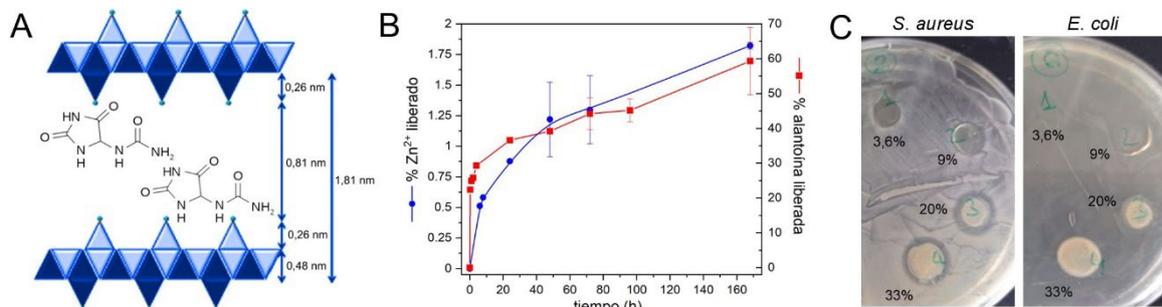


Fig 1. (A) Representación esquemática propuesta para la intercalación de alantoína entre las láminas de ZnHSL. (B) Cinéticas de liberación de Zn^{2+} y alantoína a partir del híbrido alant-ZnHSL en suero. (C) Discos de HPMC/alant-ZnHSL sobre placas de agar inoculadas con *S. aureus* y *E. coli*.

El híbrido alant-ZnHSL se incorporó en el biopolímero hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) con el fin de preparar apósitos para heridas. Las películas bionanocomposite resultantes presentan buenas propiedades mecánicas, con módulos de Young en torno a 2 GPa. La transmitancia de estas películas se mantiene entre 30 y 40% en la zona visible del espectro en aquellas con mayores cargas de híbrido (20 y 33%), mientras que se bloquea casi por completo el paso de la radiación UV. Se evaluó su acción antibacteriana frente a *E. coli* y *S. aureus* en placas de agar (Fig. 1C), observándose la formación de halos de inhibición en el caso de *S. aureus*, lo que confirma la potencial aplicación de las películas HPMC/alant-ZnHSL como apósitos para la curación de heridas.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado un nuevo hidróxido simple laminar (HSL) de zinc que incorpora alantoína, para su aplicación como fase antimicrobiana en apósitos para heridas basados en HPMC. Las películas bionanocomposite preparadas presentaron buenas propiedades mecánicas y de barrera al paso de luz UV. La inmersión del material en suero produce una liberación gradual de iones zinc y de alantoína que se mantiene durante días. Se observó la acción antibacteriana del material frente a la bacteria *S. aureus*, una de las principales causantes de infecciones cutáneas en humanos y animales, confirmándose el potencial de estos materiales para su aplicación en la curación de heridas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero del proyecto PID2019-105479RB-I00 (AEI, España).

REFERENCIAS

- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., Eccleston, G. M. (2008): Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *J. Pharm. Sci.*, **97**, 2892–2923. DOI: 10.1002/jps.21210.
- Darder, M., He, J., Charlet, L., Ruiz-Hitzky, E., Aranda, P. (2021): Gentamicin-montmorillonite intercalation compounds as an active component of hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite films with antimicrobial properties. *Clays Clay Miner.*, **69**, 576–588. DOI: 10.1007/s42860-021-00156-3.
- Lisuzzo, L., Wicklein, B. Lo Dico, G., Lazzara, G., del Real, G., Aranda, P., Ruiz-Hitzky, E. (2020): Functional biohybrid materials based on halloysite, sepiolite and cellulose nanofibers for health applications. *Dalton Trans.*, **49**, 3830–3840. DOI: 10.1039/C9DT03804C.
- Rebitski, E. P. (2020): Clay-based hybrid nanoplateforms: preparation, characterization and evaluation of properties for controlled release of bioactive species. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, 228 p.
- Mohsin, S.M.N., Hussein, M.Z., Sarijo, S.H., Fakurazi, S., Arulsevan, P., Hin, T.-Y.Y. (2013): Synthesis of (cinnamate-zinc layered hydroxide) intercalation compound for sunscreen application. *Chem. Central J.*, **7**, 26. DOI: 10.1186/1752-153X-7-26.