



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021020802-3 A2

(22) Data do Depósito: 17/10/2021

(43) Data da Publicação Nacional:
25/04/2023

(54) Título: DESENVOLVIMENTO DE UM SPRAY NANOESTRUTURADO DE NPSAGALGINATO@ (EDC/NHS) CONJUGADO, COMO POTENCIAL APLICAÇÃO EM SUPERFÍCIE DE CONTATO E EM EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIS).

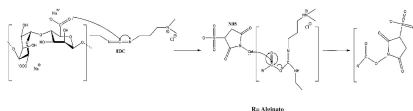
(51) Int. Cl.: A61L 2/238; A61L 2/00; A61L 101/02; A61L 101/34.

(52) CPC: A61L 2/238; A61L 2/0082; A61L 2101/02; A61L 2101/34.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): EDUARDO PADRÓN HERNÁNDEZ; SEVERINO ALVES JUNIOR; ROBERTA CLÁUDIA SANTOS NEVES.

(57) Resumo: DESENVOLVIMENTO DE UM SPRAY NANOESTRUTURADO DE NPsAgALGINATO@ (EDC/NHS) CONJUGADO, COMO POTENCIAL APLICAÇÃO EM SUPERFÍCIE DE CONTATO E EM EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIS). É divulgado nesta patente de invenção um Spray Nanoestruturado formado por hidrogel de alginato de sódio conjugado com agentes de acoplamento (EDC/NHS), associados com nanopartículas de prata, (NPsAgalginato@(EDC/NHS), para ser utilizados em superfícies de contato e equipamentos de proteção individual (EPIS), visado também ampliar suas aplicações em hospitais de rede pública. Além disso, o Spray Nanoestruturado obtido apresentou relevantes propriedades físico-químicas e morfológicas.



DESENVOLVIMENTO DE UM SPRAY NANOESTRUTURADO DE NPsAg-ALGINATO@(EDC/NHS) CONJUGADO, COMO POTENCIAL APLICAÇÃO EM SUPERFÍCIE DE CONTATO E EM EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIs).

01. A presente patente de invenção reporta a obtenção de um spray nanoestruturado conjugado a partir do hidrogel de alginato, EDC e NHS associado com nanopartículas de prata, NPsAg-alginato@(EDC/NHS), para ser utilizado em superfície de contato e em equipamentos de proteção individual (EPI), visado também ampliar suas aplicações em hospitais de rede pública.

02. Atualmente, faz-se necessário uma exploração maior em materiais nanoestruturados à base de nanopartículas metálicas associadas a redes poliméricas, por suas propriedades potências terapêuticas inerentes, tais como a de agentes antimicrobianos e antivirais, assim como, à grande propagação do vírus SARS-CoV-2. Este fato relevante que justifica estas aplicações é o aumento da incidência de resistência a antibióticos ter ganhado muita atenção nos últimos tempos.

03. Recentemente, há um interesse na aplicação de materiais nanoestruturados em superfícies de contato de diversos materiais como maçanetas de portas, bancadas, mesas, corrimãos de escadas e também em equipamentos de proteção individual (EPIs) utilizados em hospitais. Diante disso, é necessário e essencial uma abordagem eficiente para aumentar ainda mais a proteção das pessoas contra meios filtrantes do ar e superfícies contaminadas, como a finalidade de reforçar a infraestrutura, o ambiente de trabalho e também de preparar para melhor proteger a saúde dos profissionais, pacientes e pessoas em geral.

04. A nanotecnologia favorece a obtenção de uma ampla quantidade de novos nanomateriais para variados fins. Dentre eles o potencial antimicrobiano e antiviral tem sido objetivo de muitos trabalhos. Neles tem sido mostrado a obtenção de formulações eficazes para prevenir e tratar

infecções causadas por microorganismo, tais como bactérias, fungos e vírus em estágios iniciais, incluindo dentre estes o SARS-CoV-2.

05. Neste cenário, as Nanopartículas de Prata (NPsAg) têm atraído cada vez mais atenção na área biológica e em aplicações médicas devido ao seu processo de síntese fácil e serem consideradas bons agentes terapêuticos, biomédicos e curativos para feridas. Além disso, com intuito de serem comercialmente acessíveis, servem como dispositivos médicos, desodorantes sprays, para loções antibacterianas e para produtos para anti-queimaduras de longo prazo.

06. A partir dos diversos nanomateriais e devido à sua versatilidade, as nanopartículas de prata (NPsAg) têm sido empregadas como drogas químicas graças às suas propriedades físico-químicas, encontrando propriedades únicas de nanopartículas metálicas e características biológicas, como, antifúngicas, antibacteriana e antiviral.

07. O potencial antimicrobiano e antiviral a partir de formulações de prata coloidal, pode ser através da quantidade mínima da dosagem de prata. Tais formulações podem ser eficazes para prevenir e tratar infecções sistema respiratórios bacterianos e virais em estágios iniciais, incluindo o SARS-CoV-2.

08. Outro ponto relevante nas pesquisas envolvendo materiais nanoestruturados, é que há um interesse também nas pesquisas com os nanogéis poliméricos, pois, visam ser um transportador de agentes antivirais e possui propriedades antivirais.

09. Além disso, os hidrogéis poliméricos, geralmente têm propriedades semelhantes aos tecidos do corpo humano, possuem alta biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa citotoxicidade e são considerados uma das classes mais importantes dos biomateriais.

10. Dos diversos biopolímeros, podemos mencionar o alginato de sódio, pois consiste em cadeias poliméricas hidrofílicas interpenetrantes, capazes de acumular grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, considerados como um bom transportador para agentes antibacterianos.

11. Além das pesquisas envolvendo alginato de sódio, a reticulação covalente de alginatos produz matrizes com boas propriedades mecânicas, alguns agentes químicos de acoplamento como o EDC/NHS podem ser utilizados em síntese de alginatos. Isso é possível através da ativação do grupo ácido carboxílico presente no biopolímero criando redes poliméricas mais estáveis.

12. Sendo assim, o spray nanoestruturado foi obtido a partir da síntese do hidrogel de alginato de sódio conjugado com os agentes de acoplamento(EDC/NHS) e associados com as nanopartículas metálicas de prata (NPsAg), utilizadas para potencializar nosso protótipo. Estas apresentaram boas propriedades físico-química e morfológica, por isso consideradas como sistema sinérgico, de rápida obtenção, não tóxicas, biocompatíveis e promissoras. Com tudo isso, visando ser eficazes quando aplicado em superfície de contato e em equipamentos de proteção individual (EPIs) e ampliar suas aplicações em hospitais de rede pública.

13. Desta forma, a presente patente de invenção propõe obter um um spray nanoestruturado de NPsAg-Alginato conjugado, como potencial aplicação em superfície de contato e em equipamentos de proteção individual (EPIs), previamente apresentadas.

14. A obtenção do spray nanoestruturado ocorreu em três etapas.

15. Na primeira etapa, foi realizada a obtenção das nanopartículas de prata. As nanopartículas de prata foram obtidas via método de Lee e Meisel e modificações. Inicialmente, a solução de AgNO_3 (Sigma Aldrich), com concentração de 1mM, foi aquecida até a ebulição, sendo adicionado à mesma 300 μL de uma solução a 1% de polivinilpirrolidona (PVP) (Sigma Aldrich), em seguida 5mL de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (Sigma Aldrich), solução a 1%, na proporção de uma gota por segundo; a solução foi mantida em ebulição até a formação de uma coloração amarelo pálido, a qual é indicativa da formação das nanopartículas. A suspensão obtida foi mantida sobre a chapa de aquecimento após seu desligamento, por cerca de um minuto, até que a solução atingisse a cor amarelo pálido; em seguida, a mesma foi arrefecida lentamente, sob

agitação, em um banho à temperatura de 20-25°C, até a temperatura ambiente.

16. Na segunda etapa, foi obtido o hidrogel conjugado de alginato, o qual foi baseado na metodologia descrita por Rassu *et al* e Fan *et al*, com as seguintes modificações. O hidrogel conjugado, foi obtido inicialmente, a partir de massas dos reagentes de alginato de sódio (Sigma Aldrich), EDC (Sigma Aldrich) e NHS (Sigma Aldrich), em um béquer, uma relação (m/v), foi feita a partir de uma proporção de (100:5:1,5), em seguida a esta mistura foi adicionada à água milli-Q, sob agitação vigorosa, com o auxílio de um agitador magnético, com aquecimento a 40°C, conforme apresenta o mecanismo da reação em duas etapas no esquema da Figura 1.

17. A terceira etapa foi feita para obter hidrogel conjugado associados às NPsAg e obtiveram-se diferentes razões entre a relação (massa/volume) do alginato@(EDC/NHS) e as nanopartículas de prata, a estequiometria das sínteses foram ajustadas para determinar a estequiometria ideal entre nanopartículas de prata, o alginato de sódio e os reagentes orgânicos de acoplamento (EDC/NHS), através de volumes diferentes das soluções coloidal de NPsAg, concentração diferentes de massa do Alginato, EDC e NHS (Tabela 1). As NPsAg decoraram a superfície da rede polimérica do alginato conjugado. A síntese ficou sob agitação vigorosa por 3 horas, com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento a temperatura a 40°C.

Tabela 1- Quantidade dos reagentes em (mg) e volumes (mL) para obtenção do Spray Nanoestruturado.

Spray Nanoestruturado	Alginato sódio (mg)	de EDC (mg)	NHS (mg)	NPsAg (mL)	Água Milli-Q (mL)
S-1	200	10	3	5	5
S-2	200	10	3	1	9
S-3	100	5	1,5	3	7
S-4	100	5	1,5	2	8
S-5	200	10	3	7	3

18. Posteriormente à obtenção da síntese inicial do Spray Nanoestruturado de NPsAg-Alginato@(EDC/NHS) conjugado, foi feita uma análise de 7 dias de síntese para dar continuidade nos estudos através das estabilidades dos materiais dominados de: spray nanoestruturados (S-1, S-2, S-3, S-4 e S-5) (Figura 2).

19. Observou-se uma transição de fases e diferentes cores, indicando a mudança de tamanho das nanopartículas de prata das amostras (S-1, S-2 e S-5), esse fenômeno é devido às partículas se aglomerarem e se tornarem maiores e darmos continuidade, apenas com as amostras S-3 e S-4, por não sofrer alteração da cor indicando e mantendo uma boa estabilidade.

20. Os espectros na região do UV-Vis-NIR foram obtidos com o espectrofotômetro UV-Vis-NIR de alto desempenho com excelente desempenho fotométrico, modelo Cary 5000 e operando na faixa de (175-3300 nm). As medidas de Potencial Zeta (ζ) e o tamanho diâmetro hidrodinâmico médio (DLS) das nanopartículas e do spray nanoestruturado foram realizadas utilizando o equipamento NanoBrook Omni particle Analyzer da Brookhaven Instruments. O espectro de absorção na região do infravermelho foi obtido usando o espectrofotômetro com transformada de Fourier da Perkin Elmer (modelo: Spectrum 400, N° de série: 82287) na região entre 4000 e 400 cm^{-1} . Os padrões de difração foram medidos em difratômetro de raios-X Smartlab, X-Ray Diffractometer, com passo de $0,02^\circ$, tempo de aquisição de 1 segundo e janela angular de 0° - 60° . A morfologia de NPsAg, foi analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM). As amostras de NPsAg foram obtidas usando um microscópio eletrônico da marca termo-científico Jeol, JEM-2100, com voltagem de 200 kV. As medidas reológicas foram realizadas em um Reômetro de tensão controlada (model DHR da TA *Instruments*, $T = 25^\circ\text{C}$, *software* - MCR 301 da Anton Paar Physica), com geometria placa-placa, (50 mm diâmetro) e gap de 0,7 mm. As medidas reológicas dinâmicas oscilatórias foram realizado no modo de varredura de frequência, em que a tensão (τ) aplicada foi constante a (4 Pa) e frequência de oscilação (ω) variou de 6 a 200 Hz, na escala logarítmica de base10 e temperatura constante de 25°C .

21. A seguir, será apresentado o detalhamento das evidências para a presente patente de invenção.

22. A absorção na região do UV-Vis-NIR, indicou para as amostras S-3 e S-4 uma única banda de absorção máxima, característica das nanopartículas de prata esféricas por volta de 400-420 nm (Figura 3), um destaque para spray nanoestruturado S-3 que apresentou uma maior intensidade da banda de absorção plasmônica em relação ao S-4.

23. O mesmo perfil foi observado em estudos sobre síntese de NPsAg, pois o espectro de UV-Vis exibiu uma banda característica do íon Ag^+ , na presença do pico agudo observado na região de (400-440 nm), resultante da vibração das NPsAg na solução e apresentando um formato esférico.

24. A partir dessa análise, o spray nanoestruturado a base de alginato conjugado associados com as nanopartícula de prata, mostraram a absorbância máxima típica de nanopáticas de prata e confirmou a presença no spray nanoestruturado, preservando assim e mantendo a estrutura do produto obtido.

25. Outra observação foi em relação ao pH das nanopartículas de prata e do spray nanoestruturado S-3, observou um valor do pH na faixa= 6, indicando que de acordo com aumento do pH durante a reação, a formação de NPsAg tende a ser mais rápida, mais regulares, formato esférico e tamanho pequenos.

26. Após ajustar o pH durante a sínteses de nanopartículas de prata, elas apresentam menos agregados e possuem melhor estabilidade coloidal da solução, esse indicativo é referente à estabilidade coloidal das nanopartículas, que pode ser explicada por uma boa adsorção de ligantes na superfície das partículas coloidais e além disso, todos os grupos são desprotonados favorecendo assim a repulsão entre as nanopartículas.

27. O pH está diretamente relacionado à estabilidade das nanopartículas, a mudança no pH pode alterar as propriedades de camada dupla que podem influenciar diretamente no potencial zeta do sistema e cada tipo de nanopartícula é estável próximo ao ponto isoelétrico.

28. Para confirmar a estabilidade das NPsAg e do spray nanoestruturado, foi feita a determinação da análise do potencial zeta (ζ) apresentada na Tabela 2. O resultado observado do potencial zeta da NPsAg revelou o valor da carga superficial negativa de ($\zeta = -9,29 \pm 0,84$ mV) e indicou uma estabilidade na dispersão coloidal durante a obtenção das NPsAg.

29. Potencial Zeta com carga negativa é característico de nanopartícula de prata, devido a carga na superfície da partícula. O resultado da amostra S-3 apresentou o valor de ($\zeta = -52,40 \pm 1,32$ mV), esse resultado confirmou uma boa estabilidade para o spray nanoestruturado, devido a possuir carga negativa na superfície, características das NPsAg em suspensão na estrutura do material revestido com a camada de adsorção do alginato, EDC e NHS o que manteve estável ao longo do tempo.

Tabela 2 - Potencial Zeta das NPsAg e spray nanoestruturado (S-3).

Amostras	Potencial Zeta (mV)
NPsAg	-9,29±0,84 mV
S-3	-52,40±1,32 mV

30. A análise de dados a partir do histograma de espalhamento de Luz Dinâmica (DLS) foi feita para obter o raio hidrodinâmico médio das NPsAg e do spray nanoestruturado S-3 (Figura 4a-b).

31. Para as NPsAg a distribuição do raio hidrodinâmico médio das partículas obteve tamanho na faixa de 60,2 nm e o valor médio do índice de polidispersidade (PDI) de 0,30. Partículas com valor de PDI inferior a 0,5 são geralmente consideradas como de “boa” qualidade analisadas no DLS e indicou boa dispersão e estabilidade no tamanho.

32. O resultado referente ao valor médio do índice de polidispersidade (PDI) para o spray nanoestruturado S-3, também revelou boa qualidade apresentando um valor de 0,36. Em relação ao raio hidrodinâmico médio, o valor foi em torno de 1838 nm, esse valor sugere ser devido à formação de

rede polimérica e interação dos componentes presentes no sistema de síntese do spray nanoestruturado S-3.

33. O espectro de UV-Vis-NIR (Figura 5), foi obtido após 15 dias da síntese e indicou que as NPsAg se mantiveram estáveis também ao longo do tempo, com isso, foi possível analisar que a o perfil e a estabilidade coloidal do spray nanoestruturado S-3 foi mantida durante o seu armazenamento, devido a apresentar suspensões estáveis e de coloração amarela que são característica de NPsAg.

34. A Figura 6 apresenta o resultado do difratograma para o spray nanoestruturado S-3, que observou a intensidade de duas bandas largas de difração em torno de $2\theta = 13,2^\circ$ e $21,9^\circ$, atribuída ao alginato com característica de um material amorfo.

35. Também foram encontrados no difratograma (Figura 6), outros dois picos mais estreitos de difração em $2\theta = 38,19^\circ$ e $44,34^\circ$, referentes às NpsAg com planos cristalográficos de (111), (200) e estrutura cúbica de face centrada (CFC), característica da prata metálica e confirmou a distribuição das NPsAg no spray nanoestruturado S-3.

36. A Figura 7 apresenta o espectro de FT-IR do Alg@(EDC/NHS). As alterações dos picos característicos à base de alginato de sódio são observadas, nas frequências específicas de vibração da banda em 3310 cm^{-1} (grupo -OH), pico de estiramento -COO^- (1610 cm^{-1} e 1410 cm^{-1}) e de deformação angular de OH em 1025 cm^{-1} , referente ao -COO^- simétrico.

37. Um novo pico de absorção também foi observado em torno de 1710 cm^{-1} referente à deformação axial da carbonila (C=O), relacionado à ativação dos grupos carboxílico por meio da introdução do grupo funcional éster na obtenção da reticulação devido ao processo de obtenção do hidrogel do alginato de sódio com (EDC/NHS).

38. A morfologia das nanopartículas de prata foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A Figura 8a apresentou distribuição das NPsAg predominante esféricas dispersas, de forma esféricas

com tamanho característico predominante entre 20-60 nm de diâmetro, de acordo com Solomon *et al* e Jovanović *et al*. De acordo com o histograma o cálculo de distribuição de tamanho médio de partículas apresentou diâmetro de $49\pm 12\text{nm}$, calculando em torno de 160 partículas selecionadas aleatoriamente (Figura 8b).

39. Diante dos resultados entre as técnicas de TEM e DLS, observou que o tamanho das partículas do TEM foram menores que o raio hidrodinâmico obtido pelo DLS.

40. O DLS apresenta informações do raio hidrodinâmico das partículas influenciadas entre a interação do dipolo elétrico do solvente com o material conjugado/adsorvido, enquanto o TEM fornece informações apenas sobre o núcleo inorgânico.

41. Foi feita uma aplicação em pequena escala do spray em alguns locais do laboratório e também em alguns EPIs (Figura 9a-b). A aplicação foi para analisarmos o comportamento do material de acordo com as propriedades reológicas e o comportamento de aderência nas superfícies e nos EPIs.

42. As propriedades reológicas do Alg@(EDC/NHS) e do spray nanoestruturado S-3 (Figura 10), foram analisadas a partir do método oscilatório de varredura de frequência dinâmica.

43. Analisando os gráficos apresentados (Figura 11a-b), os módulos de armazenamento (G') e módulo viscoso (G'') para o Alg@(EDC/NHS) e para o spray nanoestruturado S-3, estiveram próximos em baixas frequências angular ($<8,63\text{Hz}$).

44. À medida que a frequência angular aumentou o módulo viscoso (G'') também aumentou em relação ao módulo de armazenamento (G'), característica predominante de um líquido viscoelástico onde ($G''>G'$), possui fluxo livre, com uma estrutura polimérica mais desordenada e relaxada (Figura 11a-b).

45. A seguir, será apresentada uma breve descrição das figuras utilizadas nesta patente de invenção. As características e vantagens da presente invenção se tornarão aparentes na descrição detalhada das características e resultados preferidos da invenção, com referências às figuras anexas.

46. Figura 1. Mecanismo da reação da conjugação do alginato e os agentes de acoplamento (EDC+NHS).

47. Figura 2. Imagens das amostras (S-1, S-2, S-3, S-4 e S-5), após síntese para observar efeito de estabilidade das nanopartículas de prata no material nanoestruturado.

48. Figura 3. Espectro de UV-Vis-NIR, da NPsAg e do spray nanoestruturado S-3 e S-4.

49. Figura 4. Distribuição do tamanho através de medida de espalhamento dinâmico da luz (DLS): a) NPsAg; b) Spray nanoestruturado S-3.

50. Figura 5. Espectro de UV-Vis-NIR, do spray nanoestruturado S-3 após 15 dias de estocagem e armazenamento em ambiente fechado. Insert da Figura 5: Imagem da amostra S-3 após 15 dias.

51. Figura 6. Difratoograma do Spray Nanoestruturado S-3.

52. Figura 7. Espectro de infravermelho por Transformada- Fourier (FT-IR) do Alg@(EDC/NHS).

53. Figura 8. Imagem do TEM para a) NPsAg e b) Histograma de distribuição de tamanho de partículas da NPsAg.

54. Figura 9. Imagem da aplicação do spray nanoestruturado. a) bancada do laboratório, maçaneta da porta e corrimão de escada. b) óculos de proteção individual e luvas.

55. Figura 10. Fotografia de Alg@(EDC/NHS) e do spray nanoestruturado S-3.

56. Figura 11. Análise reológica através do gráfico do módulo de armazenamento (G') e módulo viscoso (G'') versus frequência angular: a) Alg@(EDC/NHS); b) do spray nanoestruturado S-3.

57. A seguir serão apresentadas as referências utilizadas para confecção desta patente de invenção.

58. Aydemir, D.; Ulusu, N.N. **Correspondence: angiotensin-converting enzyme 2 coated nanoparticles containing respiratory masks, chewing gums and nasal filters may be used for protection against COVID-19 infection.** *Trav. Med. Infect. Dis.*, 101697, 2020.

59. Hamouda, T.; Ibrahim, H.M.; Kafafy, H.H.; Mashaly, H.M.; Mohamed, N.H.; Aly, N.M. **Preparation of Cellulose-Based Wipes Treated with Antimicrobial and Antiviral Silver Nanoparticles as Novel Effective High-Performance Coronavirus Fighter.** *Int. J. Biol. Macromol.*, 181: 990-1002, 2021.

60. Zachar, O.J.S.P. **Formulations for COVID-19 Early Stage Treatment via Silver Nanoparticles Inhalation Delivery at Home and Hospital**, 2020.

61. Rosa, R.M.; Silva, J.C.; Sanches, I.S.; Henriques, C. **Simultaneous photo-induced cross-linking and silver nanoparticle formation in a PVP electrospun wound dressing,** *Mater. Lett.*, 207: 145-148, 2017.

62. Deshmukh, S.P.; Patil, S.M.; Mullani, S.B.; Delekar, S.D. **Silver nanoparticles as an effective disinfectant: a review.** *Mater. Sci. Eng. C*, 97, 954-965, 2019.

63. Lee, H. I.; Kim, Y. J. **Enhanced cellular uptake of protoporphyrine IX/linolenic acid-conjugated spherical nanohybrids for photodynamic therapy.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 142:182-191, 2016.

64. Dey, P.; Bergmann, T.; Cuellar-Camacho, J.L.; Ehrmann, S.; Chowdhury, M.S.; Zhang, M.; Dahmani, I.; Haag, R.; Azab, W. **Multivalent flexible nanogels exhibit broad spectrum antiviral activity by blocking virus entry,** *ACS Nano*, 12: 6429-6442, 2018.

65. Garg, T.; Singh, O.; Arora, S.; & Murthy, R. S. R. **Scaffold: A novel carrier for cell and drug delivery.** *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 29(1): 1-63, 2012.

66. Gustafson, C. T.; Boakye-Agyeman, F.; Brinkman, C. L.; Reid, J. M.; Patel, R.; Bajzer, Z.; Yaszemski, M. J. **Controlled delivery of vancomycin via charged hydrogels.** *PLoS One*, 11(1), 2016.

67. Pawar, S. N.; Edgar, K. J. **Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications.** *Biomaterials*, 33: 3279-3305, 2012.

68. Yang, B. et al. **Facilely prepared inexpensive and biocompatible self-healing hydrogel: a new injectable cell therapy carrier.** *Polymer Chemistry*, 3,(12): 3235-3238, 2012.

69. Cholewinski, A.; Yang; F. K.; Zhao. B. **Underwater Contact Behavior of Alginate and Catechol-Conjugated Alginate Hydrogel Beads.** *Langmuir*, 33:.8353-8361, 2017.

70. Lee, P. C.; Meisel, D. **Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols.** *J. Phys. Chem.*, 86:3391,1982.

71. Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. **A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold.** *Faraday Discussions London*, 11: 55, 1951.

72. Rasso, G.; Salis, A.; Porcub, E. P.; Giunchedi, P.; Roldo, M.; Gavin, E. **Composite chitosan/alginate hydrogel for controlled release of deferoxamine: a system to potentially treat iron dys regulation diseases.** *Carbohydrate Polymers*, 136:1338-1347, 2016.

73. Fan, L. et al. **Sodium alginate conjugated graphene oxide as a new carrier for drug delivery system.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 93:582-590, 2016.

74. Solomon, S. D.; Bahadory, M.; Jeyarajasingan, A. V.; Rutkowsky, S. A.; Boritz, C. **Synthesis and study of silver nanoparticles.** *Journal of Chemical Education*, 84:322, 2007.

75. Jahan, I.; George, E.; Saxena, N.; Sen, S. **Silver-Nanoparticle-Entrapped Soft GelMA Gels as Prospective Scaffolds for Wound Healing.** *ACS Appl. Bio Mater*, 2019.

76. Fafal, T. et al. **Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using Asphodelus aestivus Brot. aerial part extract.** *South African Journal of Botany*, 112: 346-353, 2017.

77. Chen, K.; Wang, F.; Liu, S.; Wu, X.; Xu, L.; Zhang, D. **In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property.** *Int. J. Biol. Macromol.*, 148: 501-509, 2020.

78. Rahman, A.; Kumar, S.; Bafana, A.; Dahoumane, S. A. & Jefryes, C. **Biosynthetic conversion of Ag⁺ to highly Stable Ag⁰ nanoparticles by wild type and cell wall deficient strains of Chlamydomonas reinhardtii.** *Molecules*, 24: 1-10, 2019.

79. Riaz, M.; Mutreja, V.; Sareen, S.; Ahmad, B.; Faheem, M.; Zahid, N.; Jabbour, G.; Park, J. **Exceptional antibacterial and cytotoxic potency of monodisperse greener AgNPs prepared under optimized pH and temperature.** *Sci. Rep.*, 11: 1-11, 2021.

80. Gontijo, L. A. P.; Raphael, E.; Ferrari, D. P. S.; Ferrari, J. L.; Lyon, J. P.; Schiavon, M. A. **pH Effect on the Synthesis of Different Size Silver Nanoparticles Evaluated by DLS and Their Size-Dependent Antimicrobial Activity.** *Rev. Mater.*, 25 (4): 1-10, 2020.

81. Oćwieja, M.; Morga, M. **“Electrokinetic properties of cysteine-stabilized silver nanoparticles dispersed in suspensions and deposited on solid surfaces in the form of monolayers,”** *Electrochimica Acta*, 297: 1000-1010, 2019.

82. Guo, C.; Cui, W.; Wang, X.; Lu, X.; Zhang, L.; Li, X.; Li, W.; Zhang,

W.; Chen, J. Poly-L-lysine/Sodium Alginate Coating Loading Nanosilver for Improving the Antibacterial Effect and Inducing Mineralization of Dental Implants. *ACS Omega*, 5: 10562-10571, 2020.

83. Porter, G.C.; Schwass, D.R.; Tompkins, G.R.; Bobbala, S.K.R.; Medlicott, N.J.; Meledandri, C.J. AgNP/Alginate Nanocomposite hydrogel for antimicrobial and antibiofilm applications. *Carbohydr. Polym.*, 251: 117017, 2021.

84. Ramalingam, B.; Parandhaman, T.; Das S.K. Antibacterial Effects of Biosynthesized Silver Nanoparticles on Surface Ultrastructure and Nanomechanical Properties of Gram-Negative Bacteria viz. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, 2016.

85. Khan, M. J.; Shameli, K.; Sazili, A. Q.; Selamat, J.; Kumari, S. Rapid green synthesis and characterization of silver nanoparticles arbitrated by curcumin in an alkaline medium. *Molecules*, 24:719, 2019.

86. Gicheva, G.; Yordanov, G. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. Removal of citrate-coated silver nanoparticles from aqueous dispersions by using activated carbon. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 431: 51-59, 2013.

87. Ahsan, A.; Farooq, M. A. Therapeutic Potential of Green Synthesized Silver Nanoparticles Loaded PVA Hydrogel Patches for Wound Healing. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 54 (September), 101308, 2019.

88. Dao, H. M.; Chen, J.; Tucker, B. S.; Thomas, V.; Jun, H. W.; Li, X. C.; Jo, S. Hemopressin-Based PH-Sensitive Hydrogel: A Potential Bioactive Platform for Drug Delivery. *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 4 (7): 2435-2442, 2018.

89. Gola, A.; Bernardi, A.; Pasut, G.; Musiał, W. The Influence of Initiator Concentration on Selected Properties of Thermosensitive Poly(Acrylamide-Co-2-Acrylamido-2-Methyl-1-Propanesulfonic Acid)

Microparticles. *Polymers (Basel)*, 13 (7): 1-27, 2021.

90. Su, C. H. et al. **Preparation of cotton fabric using sodium alginate-coated nanoparticles to protect against nosocomial pathogens. *Biochemical Engineering Journal*, 117:28-35, 2017.**

91. Li, W. et al. **Poly (vinyl alcohol)/ sodium alginate / layered silicate based nanofibrous mats for bacterial inhibition. *Carbohydrate Polymers*, 92: 2232-2238, 2013.**

92. Zhao, K. et al. **Calcium alginate hydrogel filtration membrane with excellent anti-fouling property and controlled separation performance. *Journal of Membrane Science*, 492: 536-546, 2015.**

93. Sibaja, B. et al. **Preparation of alginate-chitosan fibers with potential biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 134:598-608, 2015.**

94. Liu, M.; Song, X.; Wen, Y.; Zhu, J.L.; Liet, J. **Injectable Thermoresponsive Hydrogel Formed by Alginate - g - Poly (N - isopropylacrylamide) That Releases Doxorubicin- Encapsulated Micelles as a Smart Drug Delivery System. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(41): 35673-35682, 2017.**

95. Jovanović, Z. et al. **Alginate hydrogel microbeads incorporated with Ag nanoparticles obtained by electrochemical method. *Materials Chemistry and Physics*, 133: 182-189, 2012.**

96. Niloy, M. S.; Hossain, M. M.; Takikawa, M.; Shakil, M. S.; Polash, S. A.; Mahmud, K. M.; Uddin, M. F.; Alam, M.; Shubhra, R. D.; Shawan, M. M. A. K.; Saha, T.; Takeoka, S.; Hasan, M. A.; Ranjan Sarker, S. **Synthesis of Biogenic Silver Nanoparticles Using *Caesalpinia Digyna* and Investigation of Their Antimicrobial Activity and in Vivo Biocompatibility. *ACS Appl. Bio Mater.*, 3 (11):7722-7733, 2020.**

97. Ahluwalia, V.; Elumalai, S.; Kumar, V.; Kumar, S.; Sangwan, R. S. **Nano silver particle synthesis using Swertia paniculata herbal extract and its antimicrobial activity.** *Microb. Pathog.*, 114: 402–408, 2018.

98. Feng, L.; Cao, Y.; Xu, D.; Wang, S.; Zhang, J. **Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry*, 34:609-615, 2017.

99. García, A.; Culebras, M.; Collins, M.N.; Leahy, J.J. J. **Stability and rheological study of sodium carboxymethyl cellulose and alginate suspensions as binders for lithium ion batteries.** *Appl. Polym. Sci.*, 135: 46217, 2018.

100. Gratieri, T.; Gelfuso, G.M.; Rocha, E.M.; Sarmiento, V.H.; de Freitas, O.; Lopez, R.F.V. **A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery,** *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 75:186-193, 2010.

101. Bitsch, B.; Dittmann, J.; Schmitt, M.; Scharfer, P.; Schabel, W.; Willenbacher, N. **A novel slurry concept for the fabrication of lithium-ion battery electrodes with beneficial properties,** *J. Power Sources*, 265:81, 2014.

REIVINDICAÇÕES

01. Spray Nanoestruturado **caracterizado por** ser constituído por hidrogel de alginato de sódio conjugado com agentes de acoplamento (EDC/NHS), associados a soluções de nanopartículas de prata.

02. Spray Nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** uma formulação preferencial a partir da hidratação de 0,08-0,20g do pó de alginato de sódio, com 0,0014-0,006g dos agentes de acoplamento (EDC-NHS) em 5-15mL de água Milli-Q, adicionando 1-8mL da solução de nanopartículas de prata.

03. Spray Nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** ser aplicado em superfícies de contato e equipamentos de proteção individual (EPIs), que possam ser utilizados como revestimento antibacteriano e antiviral em hospitais de rede pública.

DESENHOS

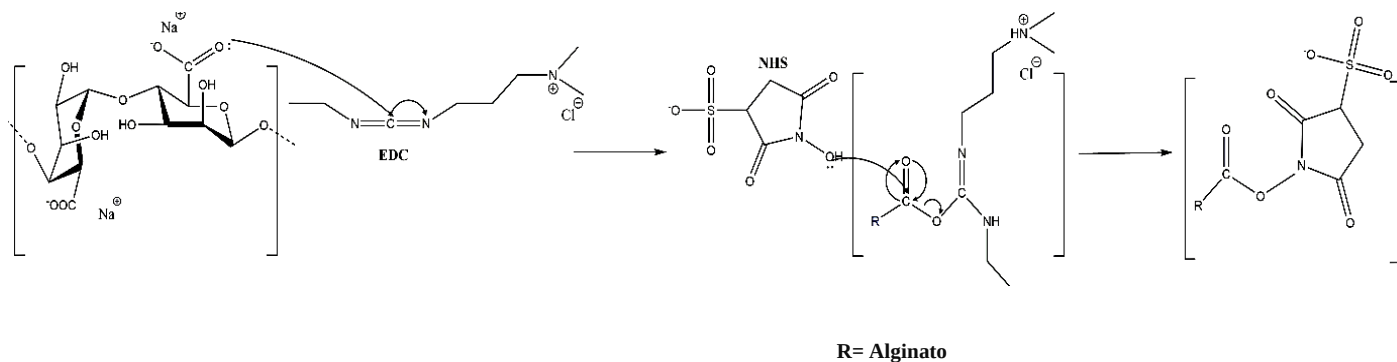


Figura 1



Figura 2

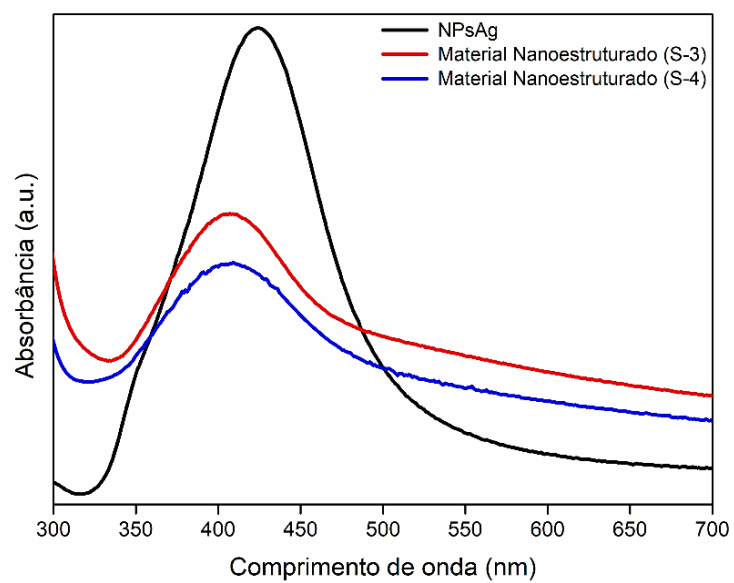


Figura 3

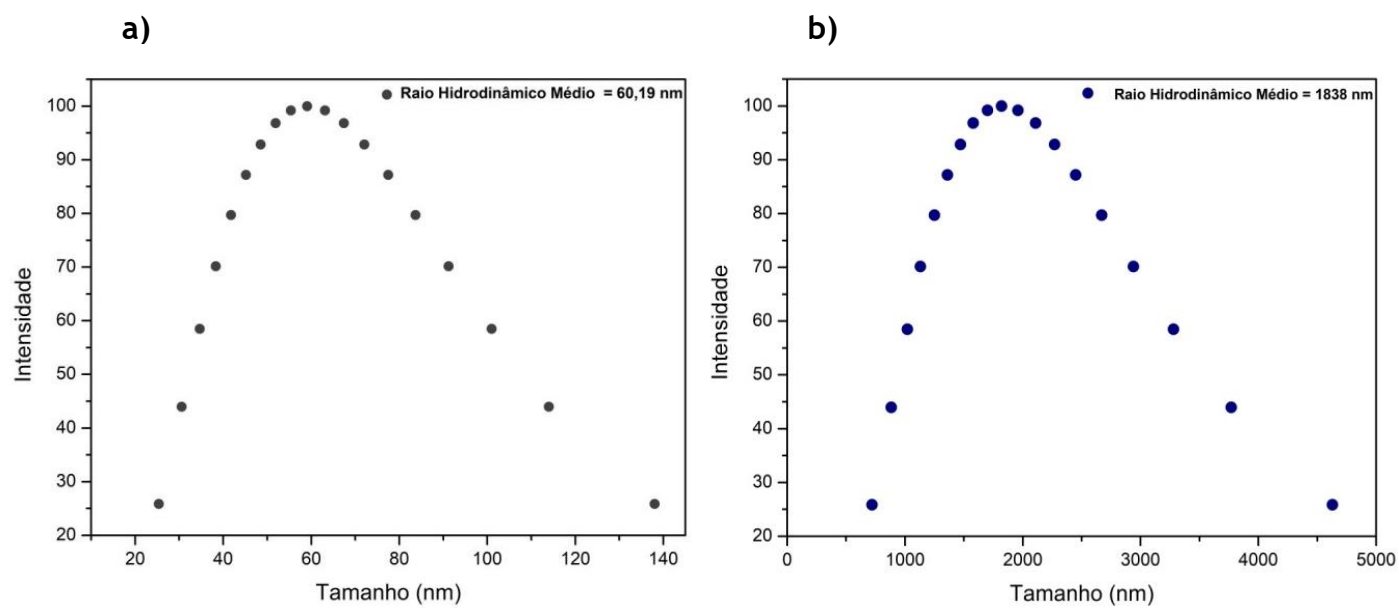


Figura 4

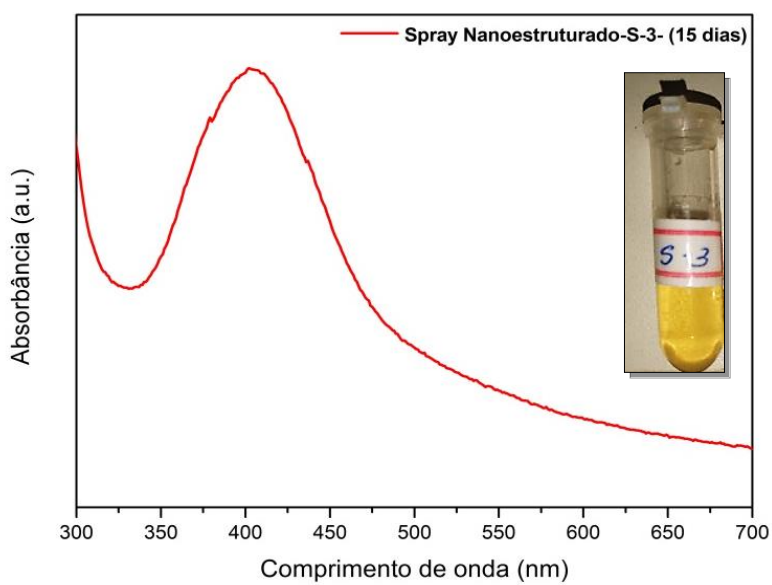


Figura 5

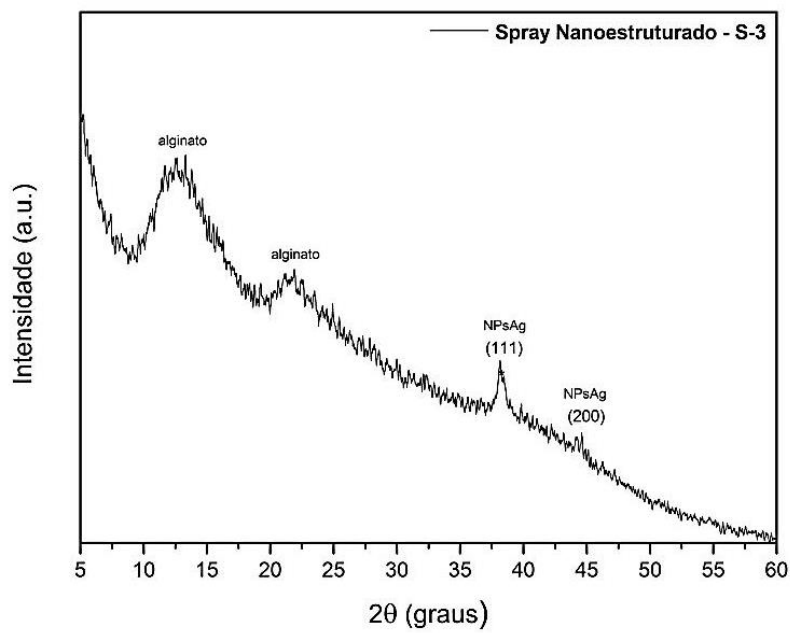


Figura 6

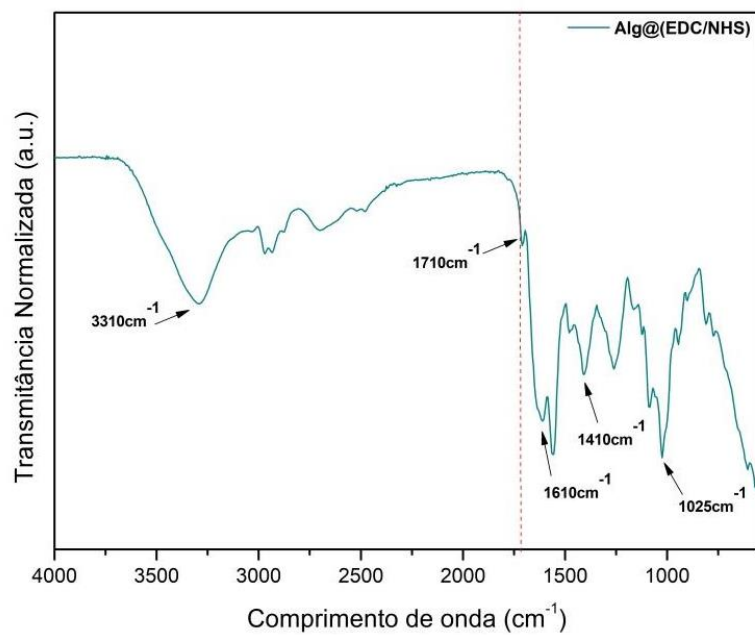


Figura 7

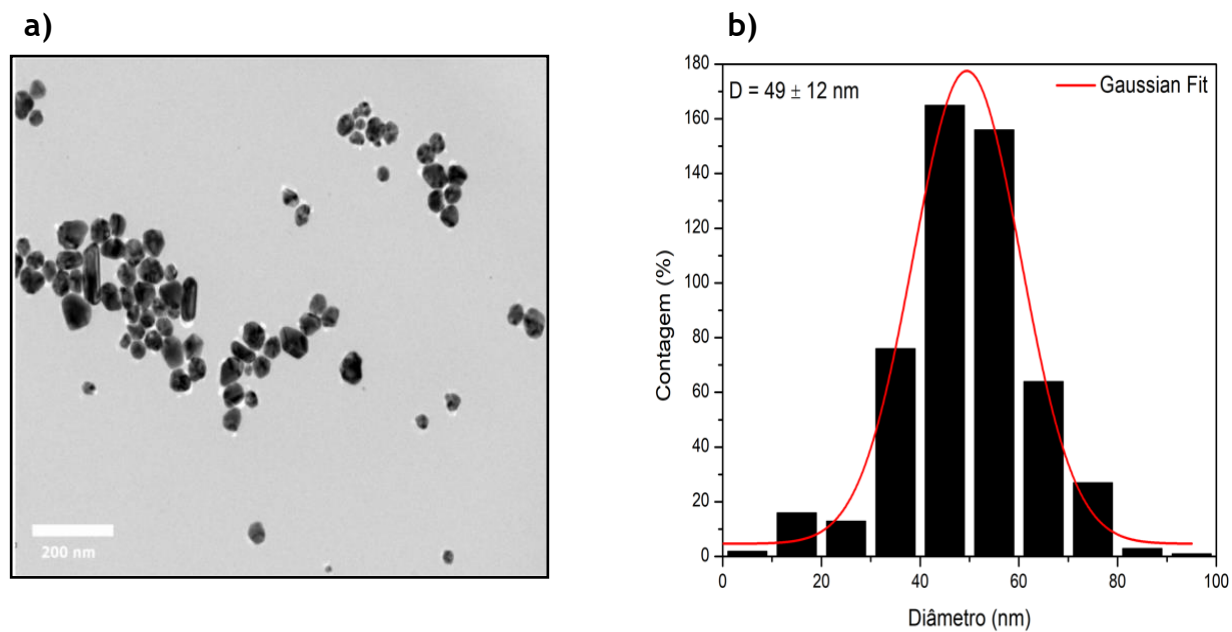


Figura 8



Figura 9

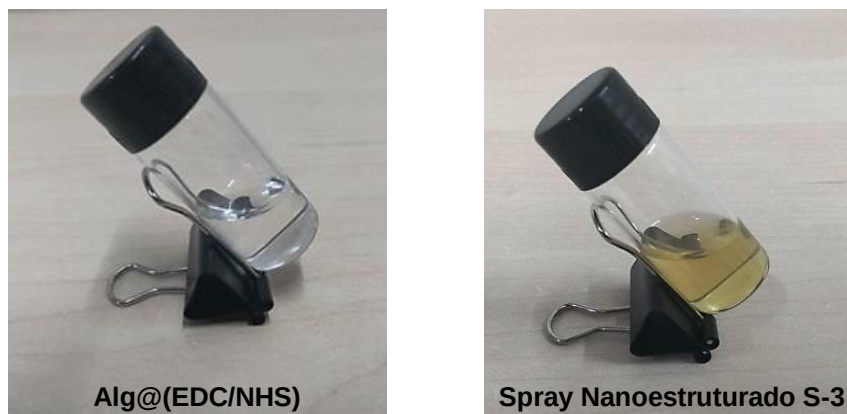


Figura 10

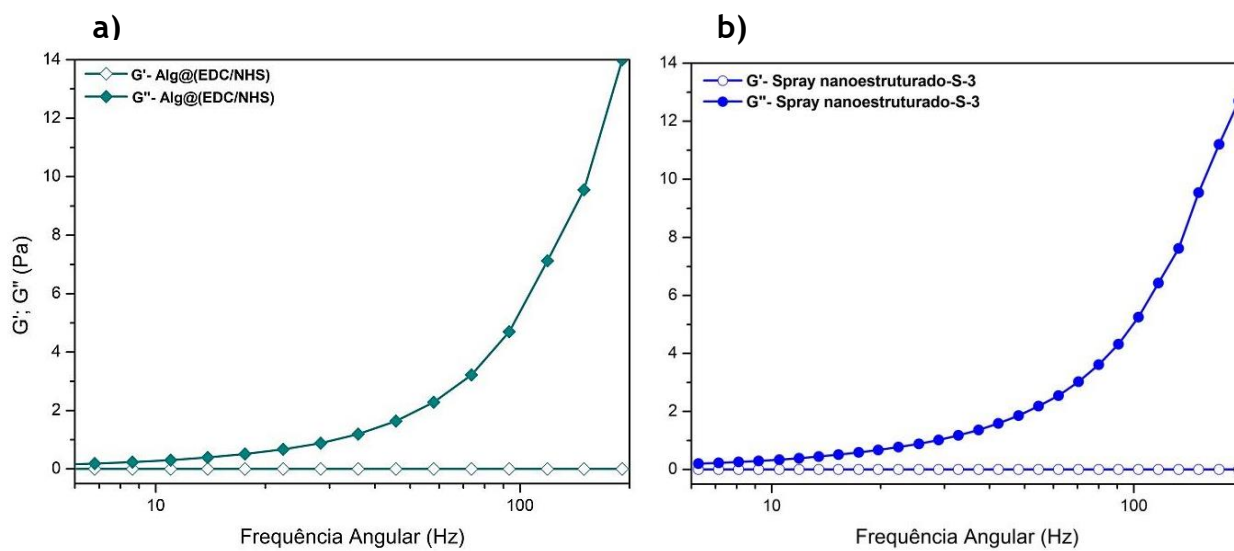


Figura 11

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE UM SPRAY NANOESTRUTURADO DE NPsAg-ALGINATO@(EDC/NHS) CONJUGADO, COMO POTENCIAL APLICAÇÃO EM SUPERFÍCIE DE CONTATO E EM EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIs).

É divulgado nesta patente de invenção um Spray Nanoestruturado formado por hidrogel de alginato de sódio conjugado com agentes de acoplamento (EDC/NHS), associados com nanopartículas de prata, (NPsAg-alginato@(EDC/NHS), para ser utilizados em superfícies de contato e equipamentos de proteção individual (EPIs), visado também ampliar suas aplicações em hospitais de rede pública. Além disso, o Spray Nanoestruturado obtido apresentou relevantes propriedades físico-químicas e morfológicas.