



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

SÍNTESE DE MICROCARREGADORES DE ALGINATO E FIBROÍNA DE SEDA VIA MICROFLUIDICA DE GOTAS

CARVALHO BG¹, TAKETA TB¹, HAN SW² e DE LA TORRE LG¹

¹Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Materiais e Bioprocessos

²Universidade Federal de São Paulo, Centro de Terapia Celular e Molecular
E-mail para contato: latorre@feq.unicamp.br

RESUMO - *Esse trabalho visa o desenvolvimento de micropartículas formadas por blendas poliméricas de alginato e fibroína de seda, como potenciais microcarregadores para liberação sustentada de fármacos. A blenda polimérica foi investigada em processo convencional de gelificação do alginato, gotejamento em solução de CaCl₂. As partículas foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier no modo de reflexão total atenuada (ATR-FTIR). Os espectros obtidos apresentaram bandas referentes ao ácido L-gulurônico (G) do alginato de cálcio (1406 cm⁻¹ e 1593 cm⁻¹) e da fibroína, amida I e II (1629 cm⁻¹-1529 cm⁻¹) indicando a presença de fibroína no hidrogel de alginato. A fim de garantir uma baixa polidispersidade as micropartículas foram sintetizadas via microfluídica de gotas e gelificação interna pela troca iônica entre diferentes complexos (complex ligand exchange crosslinking ion - CLEX). No processo microfluídico as micropartículas apresentaram diâmetro médio de 53 µm e coeficiente de variação igual a 3 %, indicando monodispersidade. Tais resultados apontam que é possível a formação de micropartículas de alginato contendo fibroína em sua matriz e com diâmetro reduzido quando comparado a processos convencionais.*

1. INTRODUÇÃO

A matriz porosa do hidrogel apresenta-se como alternativa para liberação sustentada de fármacos. A estabilidade dessas matrizes pode ser melhorada com a formação de blendas, que possuem melhores propriedades físico-químicas (Hoare *et al.*, 2008). Alguns biopolímeros se destacam pela fácil formação desses hidrogéis, assim como o alginato (ALG), cadeia de polissacarídeo. A fim de fornecer melhores propriedades outros biopolímeros podem ser incorporados na matriz, assim como a fibroína de seda (FS), cadeia proteica, fornecendo resistência mecânica, porosidade e outras características importantes que favorecem a liberação sustentada do material desejado (Mandal *et al.*, 2009).

Neste contexto, a microfluídica de gotas surge como uma técnica promissora para formação de microcarregadores de hidrogel, na qual trabalha-se com pequenos volumes de reagentes (10⁻⁹ a 10⁻¹⁸ litros) e com a imiscibilidade entre dois líquidos, sendo possível reproduzir características importantes para as micropartículas, assim como baixo diâmetro médio (<100 µm) e baixa polidispersidade (Bassett *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2005). Tais microcarregadores podem ser utilizados para encapsulação e liberação sustentada de vetores para terapia gênica e entrega de fármacos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo das soluções de alginato de sódio (Na-ALG) e fibroína de seda (FS): A solução final de 2 g.ml^{-1} de alginato de sódio da Sigma-Aldrich (EUA) foi preparada em tampão MOPS, da Merck (EUA) (1 mol/L) e pH igual a 6,7. Para o preparo das soluções Zn-EDDA e Ca-EDTA foram utilizados os reagentes da Sigma-Aldrich (EUA), $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, EDTA e EDDA. A solução final de 5 g.ml^{-1} de fibroína de seda foi preparada conforme descrito em (de Moraes *et al.*, 2015).

Método convencional de gotejamento para formação de partículas: As soluções de Na-ALG/FS preparadas nas proporções 2/0,5 e 2/0,1 (m/v) foram adicionadas em seringas de vidro de 1 ml (Hamilton, USA) com agulhas de diâmetro interno iguais a 1,2 mm. A injeção das soluções na solução de CaCl_2 (1 mol/L) foi feita por uma bomba seringa da Harvard Apparatus (EUA) com vazão de 1 ml.min^{-1} e distância de gotejamento (h) de 10 cm (Figura 1). As micropartículas híbridas foram analisadas por ATR-FTIR em um espectrofotômetro Perkin Elmer 100 FT-IR (EUA) utilizando resolução 4 cm^{-1} e 32 scans.

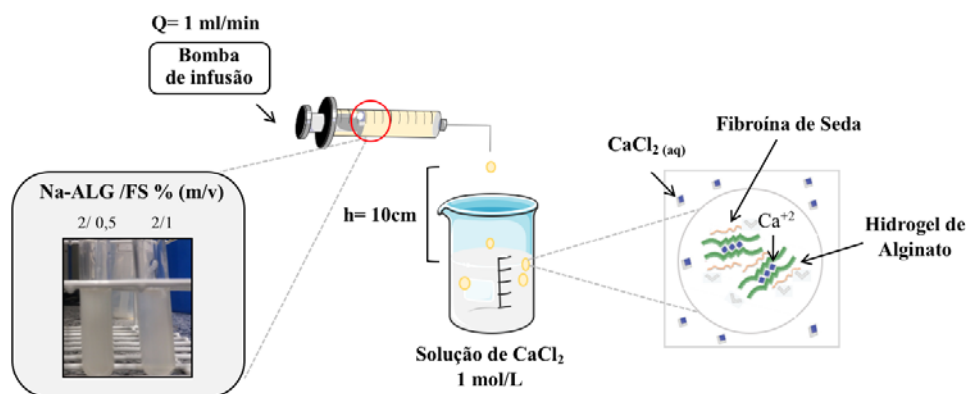


Figura 1 – Esquema representativo da produção de partículas pelo método convencional de gotejamento. Fonte: Autora.

Microfluídica de gotas para formação de micropartículas: Na microfluídica as micropartículas foram formadas utilizando a metodologia de gelificação interna do alginato, método CLEX (Bassett *et al.*, 2016). Este método propõe a troca iônica por meio dos ligantes complexos, Ca-EDTA e Zn-EDDA (fases dispersas), para formação do hidrogel de alginato de cálcio. Esta troca iônica foi emulsificada numa fase oleosa (fase contínua) utilizando o óleo HFE 7500 da 3M (EUA) com 1 % (v/v) de 008-fluorosurfactante da Ran Biotechnologies (EUA) e para quebra da gota foi utilizado o demulsificante 1H,1H,2H,2H-Perfluoro-1-octanol (PFO) da Sigma-Aldrich (EUA).

A formação das gotas foi observada por microscópio invertido de fluorescência da Nikon Instruments, modelo Eclipse Ti-U, (EUA) e os dispositivos microfluídicos em **Polidimetilsiloxano**/vidro foram construídos utilizando a técnica de litografia macia (Figura 2). A estabilidade e a polidispersidade das micropartículas foram avaliadas considerando o tamanho médio e o coeficiente de variação (CV) das micropartículas formadas, sendo CV a razão entre o desvio padrão e a média da amostra.

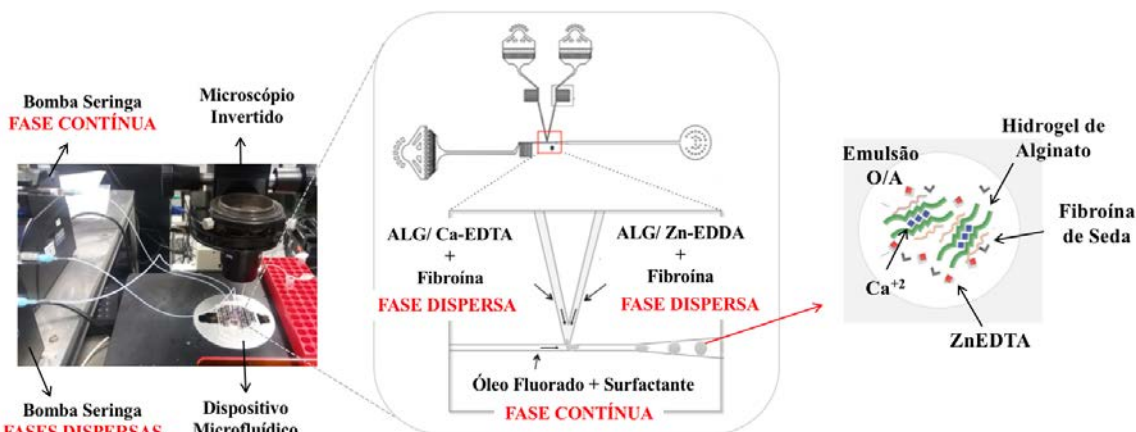


Figura 2 - Aparato experimental para produção das micropartículas via microfluídica de gota e esquema representativo do método CLEX nos microcanais. Fonte: Autora.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Avaliação da incorporação de fibroína no hidrogel de alginato

A avaliação foi feita utilizando o método convencional de gelificação, com gotejamento em CaCl_2 (1 mol/L), para formação das partículas (Figura 1). As partículas de Ca-ALG foram formadas mantendo-se constante a concentração mássica de 2 g.ml^{-1} da solução de Na-ALG e variando as concentrações de FS em 0,5 e 1 g.ml^{-1} , conforme apresentado na Figura 3 (a), dado em % (m/v). Após a formação das partículas híbridas, o alginato, polímero com caráter aniônico, foi marcado com o corante azul de metileno, molécula com carga positiva, Figura 3 (b).

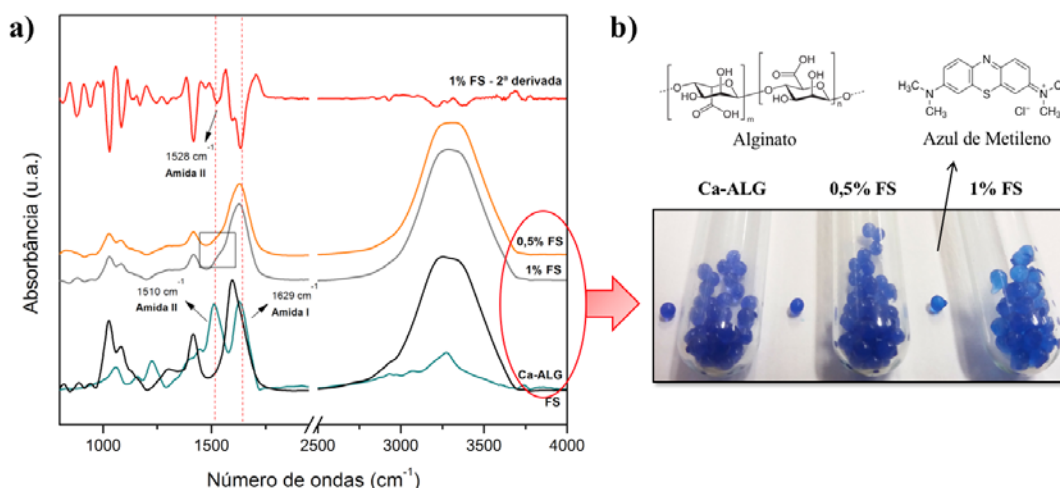


Figura 3 - a) Espectros de IR da fibroína (FS) em pó e hidrogéis de Ca-ALG e híbridos Ca-ALG/FS com 0,5 e 1 g.ml^{-1} de FS e segunda derivada do espectro 1 g.ml^{-1} de FS. b) Partículas com diâmetro de 2-3 mm marcadas com azul de metileno.

Nos espectros com 1 e $0,5 \text{ g.ml}^{-1}$ de FS, Figura 3 (a), é possível verificar a presença do pico característico da amida I (1629 cm^{-1}), não havendo sobreposição desse pico pela banda do ácido L-gulurônicos (G), Ca-ALG (1596 cm^{-1}), que é o responsável pela formação do modelo *egg-box*. Nesses espectros também há presença de ombros na banda de absorção da amida II

que podem ser causados pela sobreposição espectral de modos vibracionais. A fim de identificar os espectros sobrepostos, a segunda derivada do espectro 1 g.ml^{-1} FS foi calculada e com isso verificada a presença da banda amida II (1528 cm^{-1}) da fibroína. Conforme pode ser visto também na Figura 3 (b) é possível notar diferença entre as colorações das diferentes blendas, o que indica incorporação da fibroína, pois a mesma não é corada na presença de azul de metileno. Os resultados obtidos sugerem a incorporação de fibroína na matriz do hidrogel de alginato.

3.2. Síntese de Micropartículas ALG/FS via microfluídica de gotas

As micropartículas foram formadas utilizando vazões de $4 \mu\text{L.min}^{-1}$ para a fase contínua e de $2 \mu\text{L.min}^{-1}$ para cada fase dispersa, respectivamente, em um sistema de fluxo cruzado apresentado na Figura 2. Os diâmetros das micropartículas foram medidos usando o Software ImageJ (NHI, EUA) e a distribuição de tamanhos foi avaliada por meio do coeficiente de variação (CV), conforme apresentado na Figura 4.

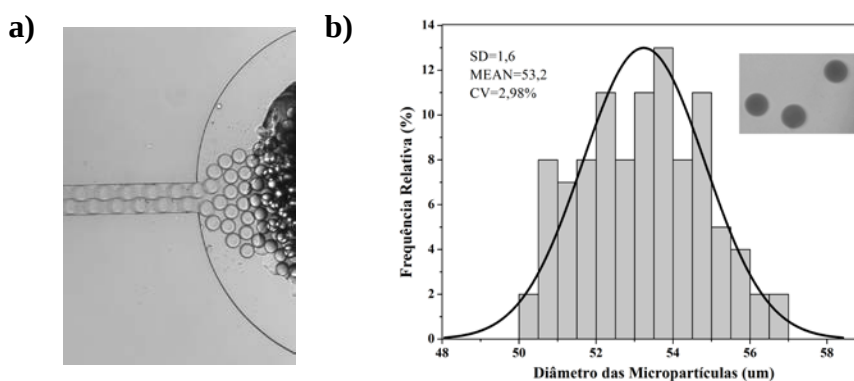


Figura 4 - (a) micropartículas na fase oleosa sendo coletada no final do microcanal e (b) distribuição de tamanhos das micropartículas com N=100.

O diâmetro médio obtido para as micropartículas com $1,2 \text{ g.ml}^{-1}$ de ALG e $0,086 \text{ g.ml}^{-1}$ fibroína interpenetrada foi de $53,2 \mu\text{m}$ e CV igual a 2,98 %, sendo consideradas monodispersas, pois possuem $\text{CV} < 5 \%$ (Xu *et al.*, 2005). Neste contexto, a gelificação externa auxilia na formação de micropartículas de ALG/FS, como alternativa na formação de partículas na microescala e com baixa polidispersidade.

5. REFERÊNCIAS

- BASSETT DC, HATI AG, MELO TB, STOKKE BT, SIKORSKI P, Competitive ligand exchange of crosslinking ions for ionotropic hydrogel formation. *J. Mater. Chem. B*, v. 4, n. 37, p. 6175–6182, 2016.
- DE MORAES MA, MAHL CRA, SILVA MF, BEPPU MM, Formation of silk fibroin hydrogel and evaluation of its drug release profile. *J. Appl. Polym. Sci*, v. 132, n. 15, p. 1–6, 2015.
- HOARE TR, KOHANE DS, Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 2008.
- MANDAL BB, KUNDU SC, Calcium alginate beads embedded in silk fibroin as 3D dual drug releasing scaffolds. *Biomaterials*, v. 30, n. 28, p. 5170–5177, 2009.
- XU S, NIE Z, SEO M, LEWIS P, KUMACHEVA E, STONE HA, GARSTECKI P, WEIBEL DB, GITLIN I, WHITESIDES GM, Generation of monodisperse particles by using microfluidics: Control over size, shape, and composition. *Angew. Chem. Int. Ed*, v. 44, n. 5, p. 724–728, 2005.



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP