XIV Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica
Maringá, Paraná
12 a 14 de novembro de 2022

PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS À BASE DE POLICAPROLACTONA E ATORVATINA POR EXTRUSÃO A QUENTE – UM INSUMO PARA IMPRESSÃO 3D APLICADA À PRODUÇÃO DE DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS E REGENERAÇÃO TECIDUAL

N. P. de J. Junior[1], L. da Silva[1] , E. C. de Almeida[1*], C. E. R. da Silva[2] e R. H. Mendonça[1]

[1]Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil
[2]Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de Janeiro, Brasil
**E-mail de autor correspondente: estercosta@ufrrj.br*

A extrusão por fusão a quente (HME) é uma das principais técnicas para a produção de implantes de longa duração, formas farmacêuticas de liberação prolongada/sustentada e filamentos utilizados para a produção, por impressão 3D, de sistemas para a entrega de fármacos A liberação de fármacos, do inglês DDS (*Drug delivery*) visa resolver problemas relacionados à dosagem. A artovastatina (ATV), por exemplo, tem efeitos pleitrópicos benéficos para o anabolismo ósseo. Além disso, é possível destacar seu uso na cardiologia. A policaprolactona (PCL), tem sido usada em manufatura aditiva e DDS. Neste trabalho, nanocompóstitos de PCL/ATV (PCL_ATVf) foram produzidos por HME e caracterizados por espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e calorimetria de varredura diferencial. O HME promove a dispersão da ATV no PCL.

Palavras-chave: Policaprolactona; atorvastatina; impressão 3D; filament; liberação controlada.

INTRODUÇÃO

A associação de materiais poliméricos como carreadores de fármacos vem ganhando visibilidade e estreitando as pesquisas nos campos farmacêuticos e de engenharia (Ferreira, 2017). Muitas tecnologias e métodos de processamento já populares na engenharia vêm sendo introduzidas nas áreas biomédicas e farmacêuticas. Destacam-se as técnicas de impressão 3D, como a Fused Deposition Modelling (FDM), a Selective Laser Sintering (SLS), a Stereolithography (SLA) e a Hot-Melting Extrusion (HME). Estas técnicas têm sido usadas de formas mais amplas nessas indústrias pelo processamento simples, pelo impacto ambiental reduzido. (Lima, 2019).

A HME destaca-se como uma das principais técnicas para a produção de implantes de longa duração, de formas farmacêuticas de liberação sustentada/prolongada e de filamentos utilizados na produção de sistemas de liberação feitos por impressão 3D. Enquanto as técnicas de impressão 3D, especificamente a FDM, vêm sendo aplicadas, preferencialmente, as diversas formas farmacêuticas de liberação. Esse método de administração de fármaco vem sendo utilizado, principalmente, no tratamento de doenças crônicas, porque exige menor dosagem, quantidade total de fármaco e garantem maior conforto e controle ao paciente (Lima, 2019; Simas, Santos, 2009).

Os polímeros se destacam entre os principais materiais para a produção de biomateriais pela possibilidade de alterações químicas, físicas e tratamentos superficiais. Além disso, a amplitude de características, como resistência mecânica e polaridade, tornam o campo de aplicação dos polímeros como biomateriais muito maior. A policaprolactona (PCL) é um polímero termoplástico biodegradável de origem sintética do tipo poliéster alifático com T_g de -60ºC, T_m na faixa de 59ºC a 64ºC e temperatura de degradação de aproximadamente 350ºC. (Siddiquiet al., 2018; Hayashi, 1994; Labet, Thielemans, 2009; Domingos, 2012). A PCL é um dos principais polímeros utilizados para produção de biomateriais como micelas, nanopartículas ou filamentos (Siddqui et al., 2018). Pode-se destacar os trabalhos Alex et al (2016), Davoodi et al (2016), Chen et al (2017) e Sultanova et al (2016) que utilizam a PCL como matriz incorporadas com diversos medicamentos como sistemas de liberação. Liberação de fármaco pode ser definida como a forma com que o fármaco se torna disponível para absorção do organismo e o sistema de liberação é a forma com a qual o fármaco é levado ao organismo (Duran, 2006; Hoffman, 2008).

A atorvastatina é uma estatina sintética, mais potente que as estatinas naturais, lipossolúvel de terceira geração e tradicionalmente utilizada para tratamento de dislipidemias e outras enfermidades associadas aos níveis elevados de colesterol, e esta tem se demonstrado uma alternativa promissora na prevenção de perda de massa óssea e na reabsorção/neoformação óssea (Mundy et al., 1999; Mundy, 2001; McTaggart et al., 2001; Horiuchi, Maeda, 2006). Segundo Mundy (2001), os fármacos da classe das estatinas, especificamente a atorvastatina conseguem estimular a formação de tecido ósseo a partir da estimulação do fator de crescimento promovido pela proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2), em vista disso para que o efeito de estimulação de formação do tecido ósseo ocorra a dosagem de estatina utilizada, necessariamente, precisa ser mais elevada do que a utilizada normalmente para tratamento de dislipidemias. Este fármaco pode ser uma alternativa promissora para prevenir a perda de massa óssea e estimular a reabsorção e neoformação óssea. (Mundy et al., 1999; Mundy, 2001; McTaggart et al., 2001; Horiuchi; Maeda, 2006. Além disso, a principal via de administração desse tipo de medicamento é a oral, sendo assim, são necessárias diversas doses em elevada concentração para que o efeito da BMP-2 se mantenha (Mundy et al, 1999; Reiner, 2013). Também é possível destacar o uso da atorvastatina no tratamento de doenças cardiovasculares (Nenna et al, 2021) e em estudos relacionados à neuroinflamação (XU et al, 2017).

Estudos envolvendo a utilização de PCL e ATV foram conduzidos no Laboratório de Desenvolvimentos de Materiais da UFRRJ (LADEMAT), dentre eles destaca-se o de Pereira (2020), o qual desenvolveu filmes de PCL carregados com atorvastatina e os resultados obtidos foram promissores no que tange a liberação do fármaco (Pereira, 2020). No presente trabalho, visando a produção de insumos para a produção de dispositivos via impressão 3D, foram produzidos nanocompósitos de PCL/ATV via HME.

METODOLOGIA

Produção do filamento por Hot Melting Extrusion (HME)

Inicialmente, solubilizou-se 2,4 g de Atorvastatina (ATV) em 75ml de clorofórmio, em seguida, adicionou-se 20 g de PCL e homogeneizou-se sob agitação magnética e aquecimento intermitente à 30ºC por 4h horas com a ajuda de um bastão de vidro. Alíquotas de 10 ml da solução foram vertidas em placas de petri para a evaporação do solvente e solidificação da matriz. Após secagem o material foi cominuído e alimentados na extrusora Filmaq3D STD – Brasil (Laboratório de Desenvolvimento de Materiais – LADEMAT – IT/DEQ/UFRRJ), com temperatura setada em 69 ºC . Os filamento obtidos foram nomeados como PCL_ATVf (filamento contendo fármaco) e PCLf (filamento de PCL).

Espectroscopia Raman

As análises das amostras PCLf e PCL_ATVf e das amostras foram realizadas em espectrômetro Raman FT Bruker MultiRAM da Central Analítica MultiusuárioUFRRJ. Equipamento com laser sintonizado em 1064 nm (infravermelho próximo), detector de germânio resfriado em nitrogênio líquido (sendo o espectrômetro controlado por um microcomputador via conexão USB, utilizando o software Opus), apresentando potência ajustada em 150 mW e faixa espectral entre 200 a 4000 cm-1 e resolução 4 cm^{-1}.

Calorimetria Diferencial de Varredura – DSC

Amostras *de* PCL, ATV e PCL_ATVf foram analisadas em um calorímetro DSC 250, TA Instruments, Brasil – Laboratório de Micro e Nanotecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, utilizando taxa de aquecimento de 10°C/min até atingir 300°C.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Visando o entendimento da morfologia das amostras PCLf e PCL_ATVf , foi realizada a análise no microscópio eletrônico de varredura (FEI, Quanta FEG 450 - Centro de Caracterização de Nanotecnologia - INT). Foi realizada, também, nesse microscópio, a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para investigar a composição química do filamento. Para a realização das análises todas as amostras foram recobertas por uma fina camada de platina por pulverização a vácuo (25 mA durante 4 minutos) e observadas na faixa de 15kV- 20 kV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram produzidos filamentos de PCL (PCLf) e PCL e ATV (PCL_ATVf) utilizando a técnica de HME. Os filamentos obtidos foram analisados por escpectroscopia Raman e os espectros obtidos podem ser observado na Figura 1.

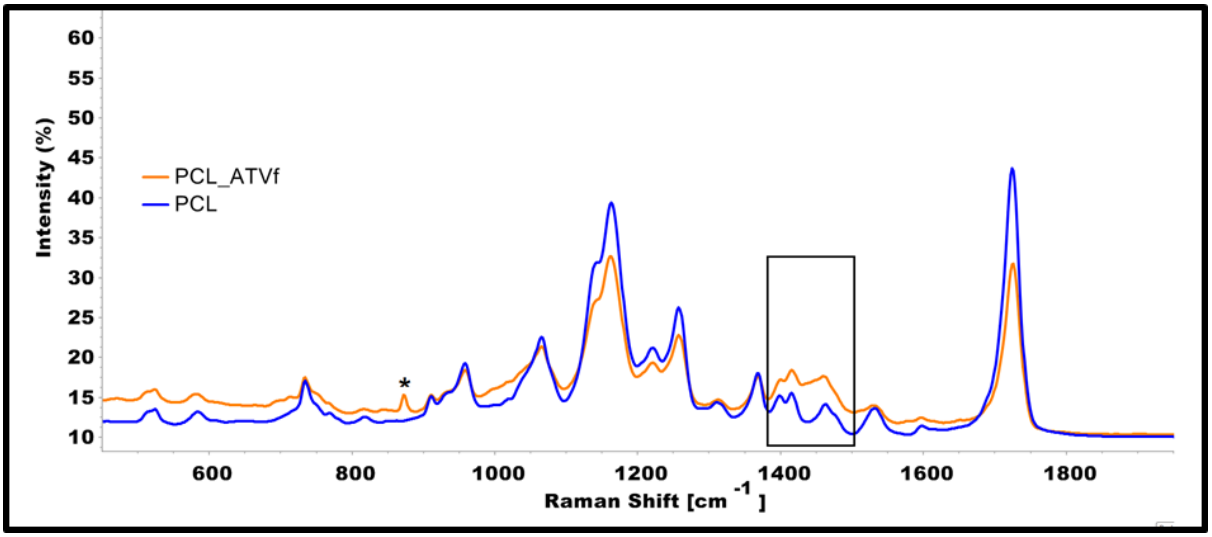

Figura 1. Espectroscopia Raman: Sinal de ATV indicado por (*) e alterações no espectro do PCL em destaque.

Na Figura 1 é possível observar que o espectro da amostra PCL_ATVf apresenta cararacterísticas tanto do PCLf quanto da ATV. Um pico é por volta de 890 cm^{-1} relacionado à ATV.

A Figura 2 mostra as curvas de DSC dos filamentos de PCL puro e dos PCL_ATVf. Na curva do PCLf observa-se uma uma transição térmica em torno de 58ºC relacionada à fusão do PCL. A curva do filamento de PCL incorporado com ATV (PCL_ATVf) apresenta dois picos endotérmicos. O primeiro em torno de 60ªC referente à fusão do polímero e o segundona faixa de 100 ºC a 140ºC referente à ATV.

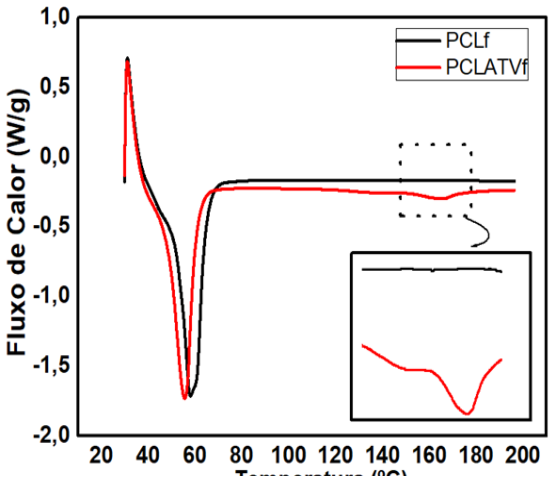

Figure 2. Curvas de DSC do filamento de PCL (PCLf) e do filamento de PCL e ATV (PCL_ATVf).

A Figura 3 mostra imagens de micrscopia eletrônica de varredura dos filamentos PCLf e PCL_ATVf. Comparando as imagens obtidas para os filamentos, é possível dizer que as superfícies são similares. As estruturas observadas na Figura 3b também são observadas na Figura 3a.

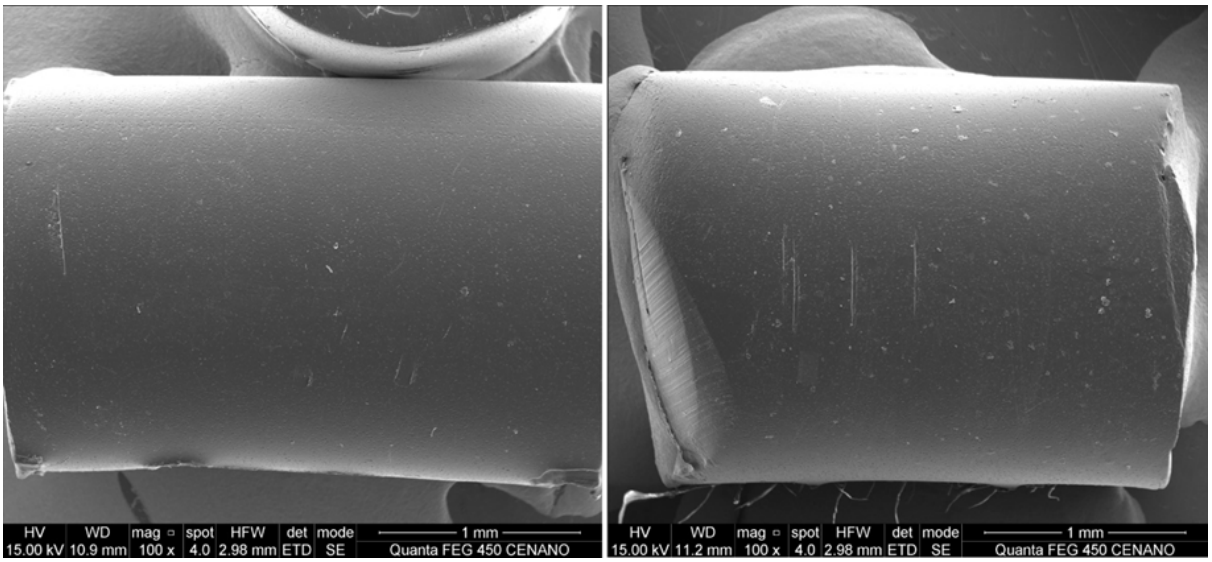

Figura 3. Imagem de miscroscopia eletrônica de varredura (MEV): (a) Filamento de PCL; (b) Filamento de PCL_ATVf.

A Figura 4 apresenta imagens de MEV da superfície de fratura dos filamentos PCLf e PCL_ATVf. As amostras apresentaram superfícies similares, não sendo possível distinguir partículas de ATV na siperfície. No entanto, a análise de EDS (Figura 5) mostra apresença de ATV na superfície do filamento, isso por que, observa-se no espectro de EDS, a presença do elemento Ca que é um dos elementos constituintes da ATV. Além disso, na Figura 4 c é possível observar nanopartículas de ATV (em destaque).

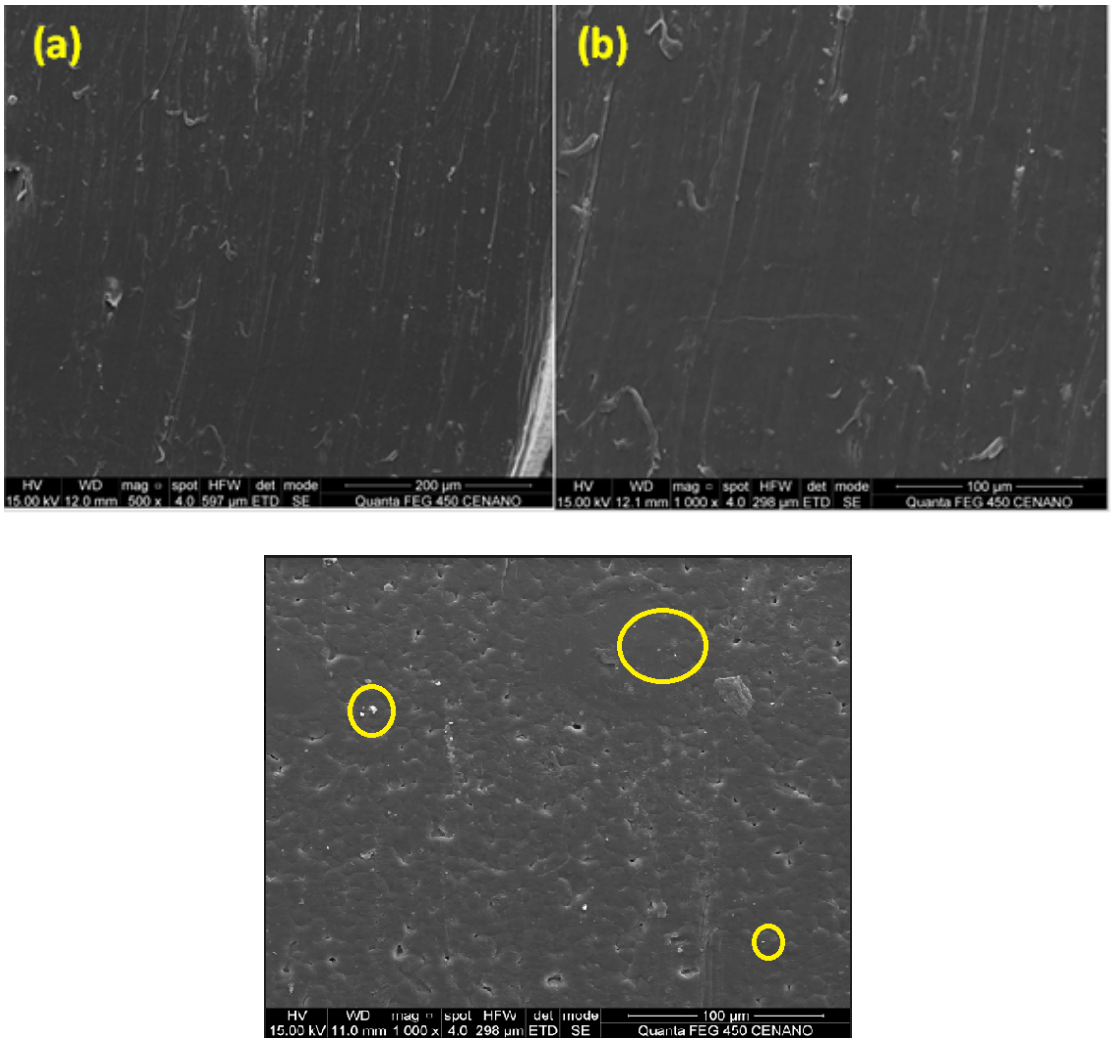

Figura 4. Imagem de miscroscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de fratura: (a) Filamento de PCL; (b) e (c) Filamento de PCL_ATVf. O destaque em (c) mostra nanopartículas de ATV.

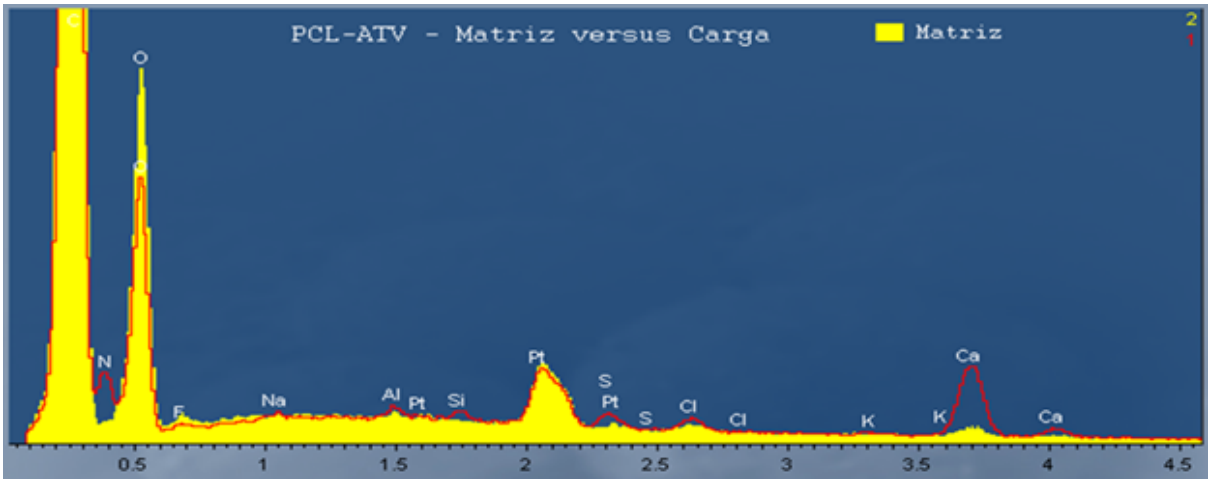

Figura 5. EDS do filamento de PCL/ATV.

CONCLUSÃO

Filamentos de PCL e ATV foram obtidos por hot melting extrusion (HME) para aplicação em impressão 3D. A análise de microscopia de eletrônica de varredura mostrou a presença de nanopartículas de ATV na superfície de fratura do filamento indicando que a metodologia empregada foi eficiente para a produção de nanocompósitos de PCL/ATV.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à rede de inovação em nanosistemas para saúde – NanoSAÚDE / FAPERJ. Rio de Janeiro, RJ, Brazil (E-26 / 010.000983/2019).

REFERÊNCIAS

DOMINGOS, M. Caracterização mecânica e biológica de scaffolds produzidos por biocell printing, Tese de Doutorado, Universidade de Girona, Girona, Espanha, 2012.

HAYASHI, T. Biodegradable polymers for biomedical uses, **Progress in Polymer Science**, v. 19, p. 663-702, 1994.

HORIUCHI, N.; MAEDA, T. Statins, and bone metabolism, **Oral Diseases**, v. 12, p. 85-101, 2006.

LABET, M., THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: A review, **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 3848-3504, 2009.

LIMA, A.C.; FERREIRA, H.; REIS, R.L.; NEVES, N.M. Biodegradable polymers: An update on drug delivery in bone and cartilage diseases, **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 16, p. 795-813, 2019.

MCTAGGART, F.; BUCKETT, L.; DAVIDSON, R.; HOLGATE, G.; McCORMICK, A.; SCHNECK, D.; SMITH, G.; WARNICK, M. Preclinical and clinical pharmacology of rosuvastatin: A new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, **American Journal of Cardiology**, v. 87, p. 28-32, 2001.

MUNDY, G.; GARRET, R.; HARRIS, S.; CHAN, J.; Chen, D.; ROSSINI, G.; BOYCE, B.; ZHAO, M.; GUTIERREZ, G. Stimulation of bone formation in vitro and rodents by statins, **SCIENCE**, v. 286, p. 1946-1949, 1999.

MUNDY, G.R. Statins and their potential for osteoporosis, **Bone**, v. 29, n. 6, p. 495-497, 2001.

PEREIRA, D. B. **Estudo de filmes de policaprolactona carreados com atorvastatina para potencial aplicação em Regeneração Tecidual**. 2020. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SIDDIQUI, N.; ASAWA, S.; BIRRU, B.; BAADHE, R.; RAO, S. PCL-based composite scaffold matrices for tissue engineering applications, **Molecular Biotechnology,** v. 60, p. 506-532, 2018.

SIMAS, M. P., SANTOS Jr., A. R. **Regeneração Tecidual Guiada**, Centro de Ciências Naturais e Humanas – Universidade Federal do ABC, 2009.

XU X., GAO W., CHENG S., YIN D., LI F., WU Y., SUN D., ZHOU S., WANG D., ZHANG Y., JIANG R., ZHANG J. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of atorvastatin in a murine model of traumatic brain injury. **Journal of Neuroinflammation**. 14, p 1-15, 2017.