

ESTUDO DA FORMAÇÃO DO AMBIENTE GERADO DURANTE A SÍNTESE DE HIDROGÉIS DERIVADOS DE DEXTRANA UTILIZANDO AS PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS DA NABUMETONA

Adriana Lima¹, Douglas Gasetta², Máira R. Rodrigues Magini³

1. UniVap/FCS / UniVap/IP&D– Av. Shishima Hifumi, 2911, São José dos Campos, SP
2. UniVap/FEAU / UniVap/IP&D- Av. Shishima Hifumi, 2911, São José dos Campos, SP
3. UniVap/IP&D - Av. Shishima Hifumi, 2911, São José dos Campos, SP. mrr@univap.br

Resumo – Hidrogéis preparados a partir de dextranas acrilatadas, as quais sofreram posterior reação de intercruzamento conduzida na presença de luz, foram caracterizados em presença de nabumetona utilizando a técnica de espectroscopia UV-Vis e de fluorescência. Esta sonda é sensível a mudanças no ambiente e a análise dos dados provenientes da espectroscopia podem ser correlacionados a estas mudanças. A análise dos dados mostrou mudanças significativas na polaridade do ambiente formado durante a reação de intercruzamento de cadeias. Estes sistemas têm particular interesse em aplicações biomédicas por servirem de meio para o transporte de drogas. Entretanto, para isso, estes devem ser caracterizados quanto ao micro ambiente formado em solução, como descrevemos aqui.

Palavras-chave: hidrogel, dextrana, ambiente hidrofóbico, sonda fotofísica, nabumetona.

Área de conhecimento: QUÍMICA, ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Introdução

A utilização da técnica de fluorescência para estudar géis poliméricos no tocante às suas propriedades químicas e físicas vem sendo muito descrita na literatura (PEKCAN; ERDOGAN, 2002; RODRIGUES, 2005; RODRIGUES, 2005; MILLER; MILLER, 2003; SCHNITZER et al., 2000; NGIMHUANGA et al., 2004). Este é um estudo importante quando se deseja utilizar tais produtos para o transporte de drogas e obter-se informações sobre a polaridade do ambiente formado quando em solventes apropriados. Estas informações podem ser obtidas pelo uso de sondas fluorescentes adequadas já que as interações com as moléculas de solvente afetam a energia entre o estado fundamental e o excitado. Esta diferença de energia tem dependência com o índice de refração e a constante dielétrica do solvente (VALEUR, 2002) e o fenômeno tem sido usado com sucesso para investigar a estrutura conformacional de inúmeros microambientes (SCHNITZER et al., 2000; NEUMANN; RODRIGUES, 1994; NEUMANN et al., 1995; VALERO; VELÁZQUEZ, 2004; VALERO ET AL., 2000; IU; THOMAS, 1990).

Neste trabalho foi usado um hidrogel sintetizado em nosso grupo e a caracterização do microambiente foi feita através de medidas de absorção e emissão de luz da sonda fotofísica nabumetona. O objetivo desse estudo foi caracterizar as propriedades fotofísicas dessa sonda nos microambientes formados por este hidrogel e correlacionar estas propriedades com a estrutura macromolecular do sistema em questão

durante a reação de intercruzamento ou formação do hidrogel.

Materiais e Métodos

Cloreto de 3,3-dimetilacrilóila (AC, 97%) e Trietilamina (TEA, 99%, destilada a vácuo) foram obtidos da Acros Organics. Dextrana foi obtida da Pharmacia Uppsala. O corante tionina (ThH^+ , Aldrich) e a sonda nabumetona (NAB, Aldrich) foram usados sem purificação prévia, assim como os demais reagentes (grau analítico).

O precursor do hidrogel de dextrana foi preparado em meio reacional contendo dextrana 20% (w/v), TEA e cloreto de 3,3-dimetilacrilóila (AC) conforme descrito na literatura (RODRIGUES, 2006) e então purificado conforme descrito por LU et al. (1991). O grau de substituição (DS) foi controlado pela quantidade de cloreto de 3,3-dimetilacrilóila. As proporções de reagentes usadas nas sínteses são mostradas na Tabela 1.

A polimerização induzida por luz foi feita conforme descrito em trabalhos anteriores (RODRIGUES et al, 1999; RODRIGUES et al, 1999; RODRIGUES; NEUMANN, 1998). Os precursores do hidrogel de dextrana 3,5% (w/v) foram dissolvidos juntamente com ThH^+ $0,80 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ e TEA $0,10$ mol.L⁻¹ em solução aquosa. As soluções resultantes foram irradiadas com um fotopolimerizador Kavo operando a 600 mW e na ausência de oxigênio pelo borbulhamento de nitrogênio. Depois da irradiação, os hidrogéis foram precipitados, lavados e secos a vácuo.

O sucesso da reação foi confirmado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e

espectroscopia na região do infravermelho (RODRIGUES, 2006).

Tabela 1. Proporções molares para os derivados de dextrana com quantidades dextrana (DX), cloreto de 3,3-dimetilacrilóila (AC), e TEA.

Acrilato de dextrana	Proporção molar DX:AC:TEA
DX- AC2	1,0:0,70:6,7
DX- AC3	1,0:0,33:6,7
DX- AC4	1,0:0,15:6,7

Os sinais de fluorescência da e nabumetona ($5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) foram coletados por uma fibra de sílica de 600 μm e acoplada em um espectrômetro (Oriel Instruments MS257) provido com uma grade de 300 linhas/mm. Uma CCD com 256x1024 pixels foi conectada à porta do detector. O CCD e o tempo de retardo foram controlados por um equipamento modelo DG535 da Stanford Research. O espectro de absorção da nabumetona foi medido com um espectrofotômetro Cary-50 Varian. A nabumetona foi usada para monitorar as propriedades dos hidrogéis em solução já que possui espectros de absorção e emissão sensíveis as mudanças na microvizinhança local (VALERO ET AL., 2000; VALERO; VELÁZQUEZ, 2004).

Resultados

Tanto a absorção quanto a emissão da nabumentona, uma molécula que apresenta baixa fluorescência em água e diferente comportamento fotofísico em outras soluções (VALERO; COSTA; SANTOS, 2000; VALERO; VELÁZQUEZ, 2004), foram coletadas durante o processo de inter cruzamento em diferentes tempos de irradiação.

A Figura 1 apresenta um espectro típico de absorção da nabumetona (um composto naftalênico di-substituído) (MURREL, 1963) onde a banda em altos comprimentos de onda é mais sensível à mudanças na polaridade do solvente (MURREL, 1963) e o máximo de absorção pode ser relacionado à permissividade relativa do ambiente da droga (VALERO; COSTA; SANTOS, 2000). Os demais derivados apresentaram comportamento similar.

Similarmente, também foram estudados os espectros de emissão da nabumetona durante o processo de inter cruzamento (Figura 2).

Discussões

Da Figura 1, espectro de absorção da nabumetona tomada a diferentes tempos de irradiação, observa-se que antes e à curtos tempos de irradiação, os sinais permanecem praticamente constantes. A tempos longos, as variações são mais significativas e, terminada a polimerização, os espectros permanecem constantes. Em vias gerais, os espectros se deslocam para maiores comprimentos de onda com a formação de ambientes hidrofóbicos durante o processo de inter cruzamento, indicando que a nabumetona é transferida da água para o ambiente menos polar dentro do hidrogel de dextrana. Isto é uma tendência conhecida (VALERO et al, 2000; VALERO et al, 2002) e foi observada em todos os experimentos.

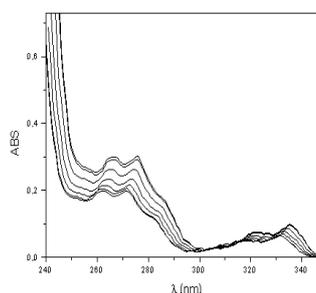


Figura 1. Espectros de absorção da nabumetona em solução de hidrogel DX-AC2 como função do tempo de irradiação.

O espectro de emissão da nabumetona apresentou uma significativa modificação quando a nabumetona foi dissolvida no derivado de dextrana, durante o inter cruzamento das cadeias (Figura 2). Os espectros apresentam comportamentos similares com os de absorção quando medidos à diferentes tempos de irradiação. A banda centrada em $\sim 350 \text{ nm}$ aumenta quando a sonda está sendo transferida para o microambiente mais hidrofóbico, onde é protegida da supressão de sua fluorescência pela água. Quando o processo termina, a emissão permanece constante indicando que a nabumetona foi incorporada ao hidrogel.

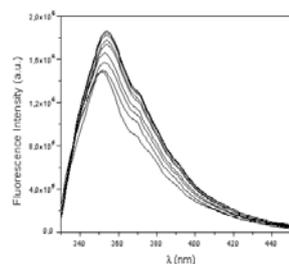


Figura 3. Espectros de emissão da nabumetona em solução de hidrogel DX-AC2 como função do tempo de irradiação.

Conclusão

Com o uso da nabumentona, os hidrogéis derivados de dextrana foram descritos como geradores de microambientes polares. Os resultados deste trabalho fornecem uma visão da natureza do ambiente hidrofóbico criado pelo hidrogel de dextrana durante o processo de intercrossamento de cadeias e os dados mostram que as sondas (moléculas de nabumetona) preferem ficar dentro do microambiente hidrofóbico formado pelo hidrogel. Este ambiente favorece o processo de agregação molecular da sonda formando espécies com características distintas da sonda livre.

Agradecimentos

Agradecemos ao suporte financeiro fornecido pela FAPESP (processo 02/00272-6). Agradecemos também ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica (DG) fornecida e, também, ao prof. Dr. Egberto Munin (IP&D-UniVap) por ter permitido o uso do equipamento de fluorescência (Projeto Fapesp 1996/5590-3).

Referências

- IU, K.K.; THOMAS, J.K. Photophysical Properties of Pyrene in Zeolites. 2 - Effect of Coadsorbed Water. **Langmuir**. V. 6, n. 2, p. 471-478, 1990.
- LU, M.; TJERNELD, F.; JOHANSSON, G.; ALBERTSSON, P.A.O. Preparation of Benzoyl Dextran and its use in Aqueous Two-Phase Systems. **Bioseparation**. V. 2, n. 5, p. 247-252, 1991.
- MILLER, E.; MILLER, J.S. Fluorescence studies of the sol-gel transition in deoxygenated conditions. **Colloid. Polym. Sci.** V. 281, n. 8, p. 745-753, 2003.
- MURREL, J.N. **The Theory of Electronic Spectra of Organic Molecules**. New York: Wiley, 1963. 328 p.
- NEUMANN, M.G.; RODRIGUES, M.R. Photochemical Determination of Aggregation in Polyelectrolytes and the Binding Constants of Quencher Molecule. **J. Photochem. Photobiol. A**. V. 83, n. 2, p. 161-164, 1994.
- NEUMANN, M.G.; TIBERTI, L.; RODRIGUES, M.R. Binding of Metallic Cations to Poly(styrene sulphonate) Polymers and Copolymers **J. Braz. Chem. Soc.** V. 6, n. 2, p. 179-183, 1995.
- NGIMHUANGA, J.; FURUKAWAB, J.; SATOHA, T.; FURUIKEA, T.; SAKAIRIA, N. Synthesis of a novel polymeric surfactant by reductive N-alkylation of chitosan with 3-O-dodecyl-D-glucose. **Polymer**. V. 45, n. 6, p. 837-842, 2004.
- PEKCAN, Ö.; ERDOGAN, M. Slow release from gels in various solvents: a fluorescence study. **Eur. Polym. J.** V. 38, n. 6, p. 1105-1111, 2002.
- RODRIGUES, M.R.; NEUMANN, M.G. The mechanism of the photoinitiation of the polymerization of MMA by the thionine-triethanolamine system. **Polymer**. V. 39, n. 8-9, p. 1657-1661, 1998.
- RODRIGUES, M.R.; NEUMANN, M.G.; CATALINA, F. Photoinitiation of MMA polymerization by thionine / amina systems in the presence of SDS micelles. **J. Photochem. Photobiol. A**. V. 124, n. 1-2, p. 29-34, 1999.
- RODRIGUES, M.R.; NEUMANN, M.G.; CATALINA, F. MMA Photopolymerization by thionine / triethylamine.. **J. Photochem. Photobiol. A**. V. 127, n. 1-3, p. 147-152, 1999.
- RODRIGUES M.R. Synthesis and Investigation of Chitosan Derivatives formed by Reaction with Acyl Chloride. **J. Carbohydr. Chem.** V. 24, n. 1, p. 41-54, 2005.
- RODRIGUES M. R. Hydrophobic Derivatives of Dextran Polysaccharide: Characterization and Properties. **J. Carbohydr. Chem.** V. 24, n. 7, p. 733-744, 2005.
- RODRIGUES M. R. Hydrogel produced by photocrosslinking of dextran chain: characterization and properties. **J. Carbohydr. Chem.** 2006, *in press*.
- SCHNITZER, E.; DAGAN, A.; KRIMSKY, M.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I.; SHINAR, H.; YEDGAR, S. Interaction of hyaluronic acid-linked phosphatidylethanolamine (HyPE) with LDL and its effect on the susceptibility of LDL lipids to oxidation. **Chem. Phys. Lipids**. V. 104, n. 2, p. 149-160, 2000.
- VALERO, M.; COSTA, S.M.B.; SANTOS, M.A. Conformations of a non-steroidal anti-inflammatory drug nabumetone in aqueous environments. **J. Photochem. Photobiol. A**. V. 132, n. 1-2, p. 67-74, 2000.
- VALERO, M.; DEL ARCO, A.; RODRIGUEZ, L.J. New Insights into the Structure of CTAB micelles in the Presence of Cyclodextrins, using Non Steroidic Anti-Inflammatory agents -Nabumetone, Naproxen- as Fluorescent Probes. **J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.** V. 42, n. 1-2, p. 121-130, 2002.
- VALERO, M.; VELÁZQUEZ, M.M. Effect of the Addition of water-soluble polymers on the interfacial properties of aerosol OT vesicles. **J. Colloid Interface Sci.** V. 278, n 2, p. 465-471, 2004.
- VALEUR, B. **Molecular Fluorescence**. New York: Wiley, 2002.