

ESTUDO DO AMBIENTE FORMADO POR HIDROGÉIS DERIVADOS DE DEXTRANA EM SOLUÇÃO UTILIZANDO AS PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS DO PIRENO

Adriana Lima¹, Douglas Gassetta², 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 – A partir de reação de esterificação seguida de reação fotoquímica radicalar, foram gerados hidrogéis derivados do polissacarídeo dextrana. Estes sistemas foram sintetizados por incorporação de grupamentos acrilatos na cadeia principal, os quais são passíveis de sofrer reação de fotopolimerização em presença de sistema iniciador/co-iniciador adequado e quando em solução, geram microdomínios capazes de solubilizar drogas e efetuar seu transporte. Tais microdomínios foram caracterizados utilizando a técnica de espectroscopia de fluorescência, usando como sonda fotofísica o pireno. A análise dos dados mostrou que ocorrem mudanças significativas na polaridade do ambiente formado e que estes favorecem agregados moleculares com propriedades interessantes para o transporte sustentado de drogas hidrofóbicas.

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

Área de conhecimento: ENGENHARIA BIOMÉDICA, QUÍMICA.

Introdução

Polissacarídeos solúveis em água têm sido tratados para se tornarem insolúveis, por intermédio de reações de intercruzamento de cadeias. O grau da reação de intercruzamento é controlado de modo a permitir um controle do tamanho dos poros resultantes na matriz do gel. Alguns polissacarídeos como a dextrana e agarose tem sido intercruzados para fornecer meios cromatográficos comerciais do tipo Sephadex (DAVIDSON, 1967). Além disso, dextrana, um polissacarídeo D-glucopiranosose com ligações α -1,6 e baixa porcentagem de ligações laterais α -1,2, α -1,3 e α -1,4, é comumente usado em muitas aplicações biomédicas (WHISTLER; BEMILLER, 1973).

Os microdomínios hidrofóbicos, bem como a cac (concentração de agregação crítica) de derivados de polissacarídeos hidrofobicamente modificados têm sido avaliados utilizando-se sondas fotofísicas introduzidas em soluções destes sistemas. Alguns trabalhos com aplicação de técnicas fluorescentes para estudar géis poliméricos no tocante às suas propriedades químicas e físicas têm sido descritos (PEKCAN; ERDOGAN, 2002; RODRIGUES, 2005; RODRIGUES, 2005; MILLER; MILLER, 2003; SCHNITZER et al., 2000; NGIMHUANGA et al., 2004). Particularmente, os espectros de fluorescência de muitos destes compostos são sensíveis à polaridade do ambiente em que se encontram (KALYANASUNADARAM, 1987).

Neste trabalho, foi usado um hidrogel sintetizado em nosso grupo e a caracterização do ambiente formado em solução foi feita mediante os espectros de emissão da sonda fotofísica

pireno. O objetivo desse estudo foi correlacionar as características do ambiente com a estrutura macromolecular do hidrogel em questão. Este tipo de trabalho tem importância por fornecer contribuições a uma futura aplicação destes sistemas como modelo de carregadores de drogas com aplicações biomédicas.

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 o pireno (Py, Fluka) 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 em 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 do pireno (1.10^{-6} mol.L⁻¹) foram coletados por uma fibra de sílica de 600 µm e acoplada em um espectrômetro (Oriel Instruments MS257) provido de uma grade de 300 linhas/mm. Uma CCD com 256x1024 pixels foi conectada à porta do detector. O CCD e o tempo de retardo foi controlado por um equipamento modelo DG535 da Stanford Research.

A formação de microdomínios hidrofóbicos pode ser detectada pelo uso de sondas fluorescentes. Na questão do efeito Ham (KALYANASUNADARAM, 1987), as interações do solvente perturbam principalmente as intensidades relativas da estrutura vibracional fina do espectro de emissão do pireno. A banda I do espectro de emissão do pireno em ~372 nm apresenta aumento significativo em solventes polares. Então, a razão entre as intensidades de fluorescência dos picos I e III (~384 nm) foi usada para verificar a polaridade local do ambiente.

Resultados

A Figura 1 apresenta o espectro de emissão do pireno em água bem como em solução aquosa do hidrogel de dextrana DX-AC2. Os demais derivados apresentaram comportamento similar.

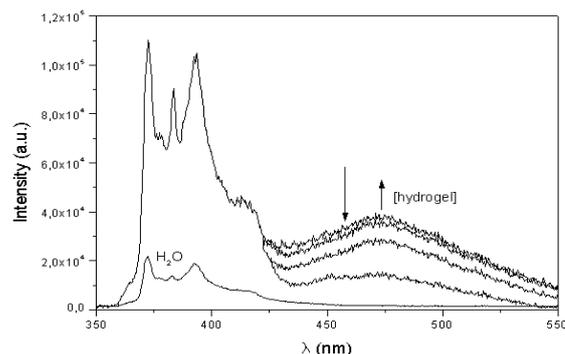


Figura 1. Espectro de emissão do pireno como função da concentração de DX-AC2.

Discussões

De acordo com a Figura 1, espectro de emissão do pireno em água e em solução aquosa do hidrogel de dextrana DX-AC2, algumas observações podem ser feitas: primeira, todas as intensidades de emissão aumentam drasticamente na presença do hidrogel e permanecem constantes, independentes da concentração do mesmo; segunda, a intensidade relativa do terceiro pico (~ 384 nm) aumenta com respectivo aumento no primeiro (~ 372 nm). Este comportamento indica que o hidrogel fornece um microambiente hidrofóbico e capaz de solubilizar o pireno. Além disso, a mesma figura apresenta a formação de banda de excímero (banda larga em ~470nm (KALYANASUNADARAM, 1987)) quando moléculas do pireno livres são transferidas para o microambiente do hidrogel, a qual diminui com o aumento da concentração do mesmo. Quando o pireno é incorporado ao hidrogel (e independente da concentração deste) começa a ocupar um microambiente mais rígido, a intensidade de fluorescência aumenta e a formação de excímero é favorecida. Os excímeros são redistribuídos entre vários hidrogéis que são formados com o aumento da concentração e a emissão em 470 nm diminui.

Em trabalhos anteriores, o aumento da concentração de dextrana (RODRIGUES, 2005) e quitosana (RODRIGUES, 2005) modificadas, e conseqüente incorporação de pireno no agregado hidrofóbico, causou uma variação na intensidade de fluorescência do pireno com o aumento do tamanho do agregado. Agora, os microambientes não são formados por agregação intra- e/ou intermolecular mas, sim por intercruzamento. Então, estes microambientes têm um tamanho pré-estabelecido.

Conclusão

Com o objetivo de gerar hidrogéis como carregadores de drogas, o intercruzamento de um precursor de hidrogel baseado em dextrana foi obtido por irradiação de luz. Com o uso de pireno, os hidrogéis foram descritos como geradores de microambientes polares quando dissolvidos em solução. Estes microambientes favorecem a formação de agregados moleculares. Os resultados deste trabalho fornecem uma visão da natureza do ambiente hidrofóbico criado pelo hidrogel de dextrana em meio aquoso, a qual é de extrema importância para aplicações futuras como carregadores de drogas com aplicações biomédicas.

Agradecimentos

Agradecemos ao suporte financeiro fornecido pela FAPESP (processo 02/00272-6). Agradecemos também ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica fornecida (DG) 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

- DAVIDSON, E.G. **Carbohydrate Chemistry**. New York: Reinhart and Winston., 1967.
- KALYANASUNADARAM K. **Photochemistry in Microheterogeneous Systems**. New York: Academic Press, 1987.
- 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.
- 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.
- WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N. **Industrial Gums - Polysaccharides and Their Derivatives**. New York: Academic Press, 1973.