



DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ANDAIMES DE BLENDA DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANA COM N-METIL-D-GLUCAMINA PELO MÉTODO SOLUTION BLOW SPINNING PARA APLICAÇÃO EM LEISHMANIOSE CUTÂNEA

Miguel Higinio Neto¹, Salete M Alves^{1*} e Rogerson R. Ramos²

1 – Programa de Pós-graduação em Engenharia Têxtil, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

2 - Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.
Av. Senador Salgado Filho, s/n Lagoa Nova, Natal, CEP 59072-910, RN.

salete.alves@ufrn.br

RESUMO

A preocupação com uma rápida cicatrização de feridas crônicas, como as observadas nas lesões cutâneas causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, se tornou a razão de diversos grupos de estudos desenvolverem curativos de alto desempenho. Este estudo teve como objetivo desenvolver blendas de nanofibras pela técnica de fiação por sopro em solução (Solution Blow Spinning - SBS), a partir da combinação dos biopolímeros policaprolactona (PCL) e quitosana, com incorporação de N-metil-D-glucamina, droga para tratamento da leishmaniose cutânea. Inicialmente, foi preparada uma solução contendo a concentração de 25% (m/v) e 75% (m/v) de quitosana e PCL, respectivamente, diluídos em ácido acético glacial 99.8% sendo adicionada a esta solução a droga N-metil-D-glucamina a concentração de 6,7% (m/v). A solução foi transferida para seringa acoplada a bomba de ejeção para obtenção da nanofibra. A microscopia eletrônica de varredura (MEV), a espectroscopia de infravermelho (FTIR) foram utilizados para caracterização das nanofibras. A liberação do NMDG desse novo sistema foi analisada através da espectroscopia de luz visível (UV-VIS). A partir das análises de MEV, foi possível observar diferenças significativas na média de diâmetro das nanofibras, a incorporação do fármaco aumentou o diâmetro das nanofibras. A análises de FTIR mostrou a presença da droga após a obtenção das nanofibras. A mistura de dois polímeros se mostrou uma técnica eficaz para obter um novo material com propriedades desejáveis, que podem ser relevantes para otimizar incorporação de fármacos e as propriedades de entrega e direcionamento de drogas.

Palavras-chave: Andaimas; Nanofibras; Policaprolactona (PCL); Quitosana; Fiação por Sopro em Solução; Leishmaniose.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de curativos de nanofibras de biopolímeros surge com uma alternativa de tratamento mais eficiente para diversas doenças cutâneas. Nanofibras de biopolímeros apresentam a vantagens de poder agir com um sistema controlado de entrega de drogas (*drug delivery system* – DDS) e acelerar o processo de cicatrização, ações possíveis devido a sua

grande área de superfície e a possibilidade de, por diferentes meios, modificar sua composição através de ajustes no processo de fabricação ⁽¹⁾. Os polímeros naturais possuem a vantagem de serem biocompatíveis, baixa toxicidade, biodegradabilidade, atividade antibacteriana e estrutura química favorável que os tornam adequados para a aplicação biomédica ⁽²⁾.

Dentre os biopolímeros disponíveis, o policaprolactona (PCL), um poliéster biodegradável e biocompatível, tem apresentado uma variedade de aplicações na engenharia e reconstrução de tecidos quando associado a outros biopolímeros ⁽³⁾. Outro biopolímero com excelentes propriedades é a quitosana. Aplicada em diversos nanossistemas, como hidrogéis e nanoencapsulamento, a quitosana apresenta ação não tóxica, antibacteriana, propriedades biodegradáveis e biocompatíveis. Devido a essas propriedades, é um biopolímero amplamente utilizadas para aplicações biomédicas, como administração de drogas, andaimes de engenharia de tecidos, curativos para feridas e revestimentos antibacterianos ⁽⁴⁾.

Em 2009, Medeiros et al. propuseram o SBS pela primeira vez. A fiação por sopro de solução (SBS) é uma tecnologia de fabricação de nanofibras que está em constante aperfeiçoamento. Esta tecnologia tem atraído interesse por empregar e desenvolver um método fácil de fabricar nanofibras, proveniente de materiais diferentes para atender as aplicações variadas, tais como energia e eletrônica, biomédica, ambiental, separação por membrana e têxtil e aplicações de materiais inteligentes ⁽⁵⁾.

Assim, a produção de nanofibras com fármaco adicionado em sua estrutura parece ser uma alternativa de tratamento mais humanizado e acessível para a Leishmaniose cutânea. Para essa doença negligenciada, a OMS estima que ocorram aproximadamente 1,5 milhão de novos casos, 350 milhões de pessoas em risco de infecção e cerca de 20 mil a 40 mil mortes causadas pelas leishmanioses em 88 países todos os anos ⁽⁶⁾. Diante deste cenário, o presente trabalho teve por objetivo de desenvolvimento de uma nanofibra de biopolímero produzido pela técnica de Solution Blow Spinning (SBS), por meio da mistura dos biopolímeros quitosana/PCL com incorporação do fármaco N-metil-D-glucamina como protótipo para futura aplicação no tratamento da Leishmaniose.

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente, foi preparada uma solução contendo a concentração de 25% (m/v) e 75% (m/v) de quitosana e PCL, respectivamente, diluídos em ácido acético glacial 99.8%. Em uma segunda solução, nas mesmas condições foi incluída a droga N-metil-D-glucamina a concentração de 6,7% (m/v). Ambas as soluções foram homogeneizadas sob agitação de barra magnética por 24h, em temperatura ambiente, A incorporação da solução do fármaco N-metil-D-glucamina, se deu de maneira a obter uma concentração final 0,1875 mg/ml do fármaco sobre solução polimérica PCL/quitosana. As soluções foram transferidas para seringa acoplada a bomba de ejeção para obtenção da nanofibra, a pressão do jato era de 80 Psi e a taxa de trabalho 7,8 mL/h. A Distância do bico soprador para o coletor foi 20cm

As caracterizações morfológicas das amostras foram realizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram revestidas com 20nm ouro-paládio (Fine Coat Íon Sputter JFC-1100, JEOL) por 1 minuto, a 30mA e observadas ao MEV JEOL T-200. A caracterização química das nanofibras foi realizada. As análises foram realizadas no espectrofotômetro FTIR BRUKER modelo FT-I VERTEX 70

A microscopia eletrônica de varredura (MEV), a espectroscopia de infravermelho (FTIR) foram utilizados para caracterização das nanofibras. A liberação do NMDG desse novo sistema foi analisada através da espectroscopia de luz visível (UV-VIS). A determinação da quantidade do medicamento liberada fez-se por meio do espectro de absorção do (NMDG) concedido pelo espectrofotômetro modelo UV-1800 Shimadzu UV-VIS Spectrophotometer SERIES N/S 201401163, na faixa de comprimento de onda situada entre 200 nm e 400 nm. As absorbâncias

foram lidas em comprimento de onda (λ) de 209,2 nm (λ de absorção máxima para a substância determinada experimentalmente). As amostras da blenda de nanofibras PCL/quitosana com a incorporação do fármaco N-Metil-D-Glucamine (NMDG) foi imersa em 35 mL de solução tampão PBS com PH 7,13 e mantida pelo período de análises das leituras de absorbância pelo tempo determinado. As leituras foram realizadas com 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das imagens geradas pelo MEV (Figura 1) foi possível realizar diversos tipos de análises das nanofibras, considerando sua estrutura e morfologia. Como esperado as nanofibras não possui uma única orientação, são como fios entrelaçados. Não se observa presença de fase não dispersa e nem impureza. Comparando as imagens de MEV das nanofibras incorporadas com e sem fármaco na Figura 1, observou-se que a presença de fármacos nas fibras não ocasionou nenhum defeito nas propriedades morfológicas das fibras, e as nanofibras carregadas com drogas ainda são uniformes e com aspecto semelhante às que não possuem a droga. A incorporação do medicamento também levou a um aumento na média de diâmetro da fibra em 365.8 ± 113.2 nm em comparação com 320.1 ± 93.5 nm da fibra sem fármaco. Esta diferença está relacionada à viscosidade da solução usada na produção das fibras, a inserção do fármaco aumenta a viscosidade ⁽⁷⁾.

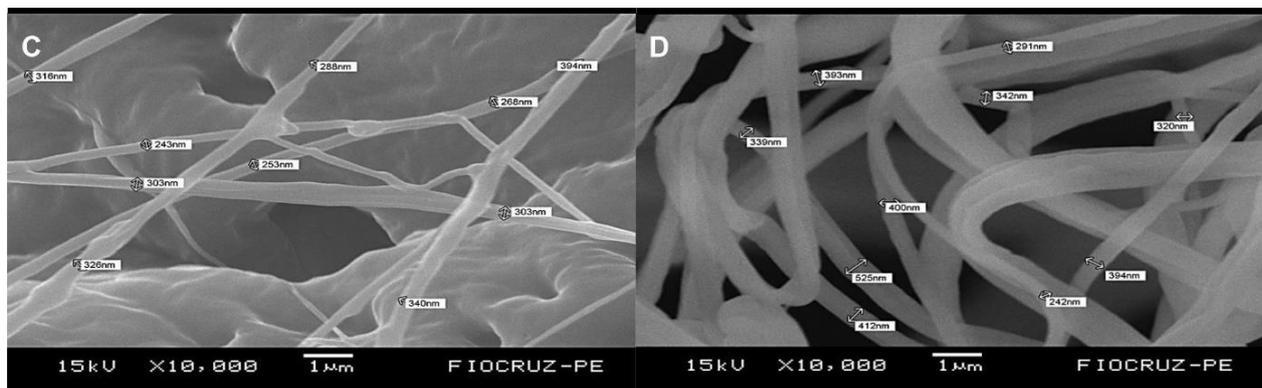


Figura 1: Imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura sem e com incorporação de NMDG.

A partir dos espectros de FTIR da Figura 2 para amostras sem e com medicamento, comparando com os dados da literatura (Tabela 4). Verifica-se os picos típicos da quitosana à 2943 cm^{-1} e 1041 cm^{-1} ⁽⁸⁾. O PCL apresenta picos próximos aos observados para quitosana, 1720 e 1238 cm^{-1} , referentes a ligação C=O do éster e estiramento da ligação C-C-O, respectivamente ⁽⁹⁾. A formação de um pico pouco intenso a 1700 cm^{-1} , evidencia a presença do NMDG ⁽¹⁰⁾, a baixa intensidade é, provavelmente, devido à baixa concentração do fármaco na mistura em comparação com os polímeros.

A cinética da liberação do Antimoniato (NMDG) em meio a solução tampão contendo PBS com PH 7,13 está apresentada na Figura 3. A curva de liberação foi realizada por 7 dias, pois observou-se que ocorreu a estabilidade da concentração. Diante do caráter hidrofílico das nanofibras do quitosana e hidrofóbico das nanofibras do caprolactona (PCL) e (NMDG), as cinéticas de liberação apresentaram perfil de liberação ascendente. A cinética da NMDG no espectrofotômetro UV-Vis com comprimento de onda em 209.2 nm apresentou um resultado de 0,23 mg/mL, com liberação controlada concluída em 7 dias.

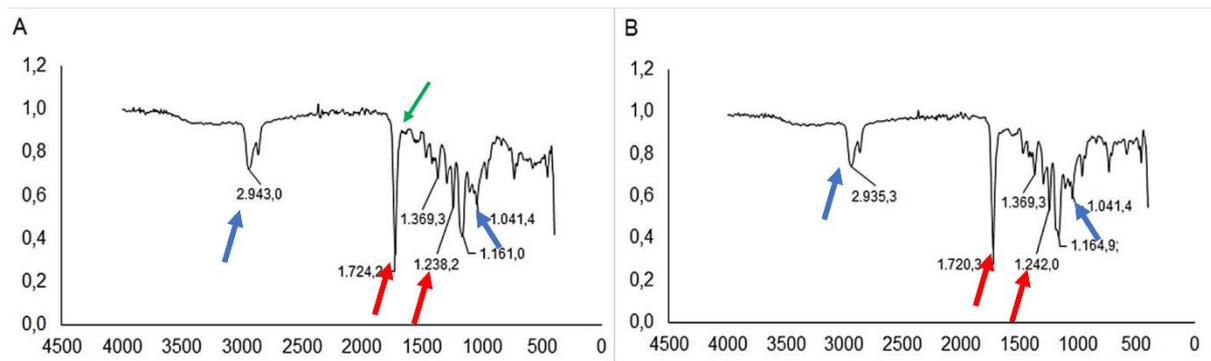


Figura 2: Análise de FTIR da nanofibra de PCL/Quitosana sem e com incorporação do NMDG: a) com a droga e b) sem a droga.

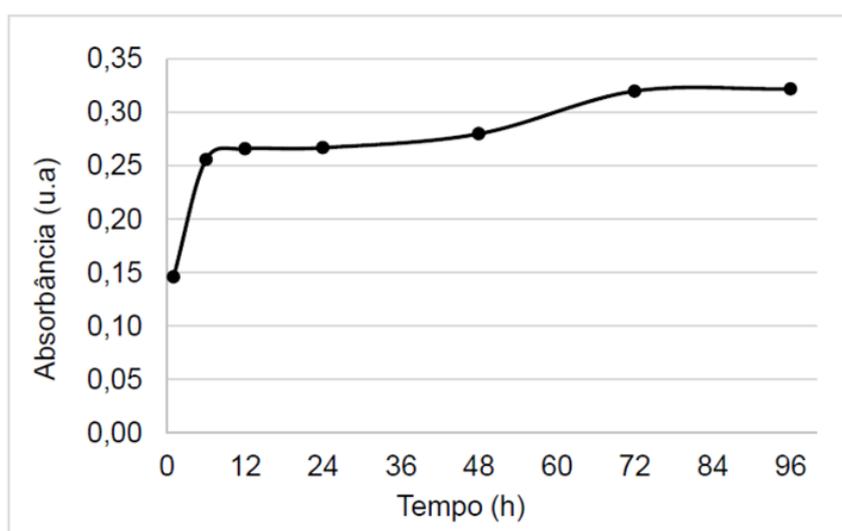


Figura 3: Cinética de liberação do fármaco N-metil-D-glucamina.

CONCLUSÕES

O processo de produção desenvolvido nesta pesquisa permitiu a obtenção de andaimos de blendas pela combinação dos biopolímeros 75%/25% PCL e quitosana, sem e com o medicamento N-metil-D-glucamina, utilizando a técnica de fiação por sopro em (SBS). A partir das análises de MEV, foi possível observar diferenças significativas na média das nanofibras nos andaimos de blendas, que apresentaram valores de 320.9 ± 93.5 nm sem fármaco e 365.8 ± 113.2 nm para a nanofibra com o fármaco. A caracterização FTIR indica nas fibras a presença de grupos funcionais característicos de cada material usado e produzido, permitindo, detectar a incorporação do medicamento com aumento de 6,2% na transmitância das nanofibras. A liberação do NMDG desse novo sistema de liberação de medicamentos foi analisada através da espectroscopia de luz visível (UV-VIS), apresentou um resultado de 0,23 mg/ml, com liberação controlada concluída em 7 dias, confirmando a eficiência das blendas PCL/quitosana com a incorporação do medicamento leishmanicida. Este trabalho apresenta três pontos relevantes: o método de dissolução com solvente único e técnica SBS utilizada para a produção das nanofibras, bem como o sucesso na incorporação do medicamento e sua liberação controlada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a IAM/FIOCRUZ-PE pelo apoio a esta pesquisa com a doação do Fármaco e realização da microscopia eletrônica de varredura.

REFERÊNCIAS

1. ALISHAHI, M.; KHORRAM, M.; ASGARI, Q.; DAVANI, F.; GOUDARZI, F.; EMAMI, A.; ARASTEHFAR, A.; ZOMORODIAN, K.. Glucantime-loaded electrospun core-shell nanofibers composed of poly(ethylene oxide)/gelatin-poly(vinyl alcohol)/chitosan as dressing for cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Biological Macromolecules*, [S. l.], v. 163, p. 288–297, 2020.
2. SYLVESTER, M. A.; AMINI, F.; KEAT, T. C.. Electrospun nanofibers in wound healing. *Materials Today: Proceedings*, [S. l.], v. 29, n. November 2018, p. 1–6, 2019.
3. JANMOHAMMADI, M.; NOURBAKHS, M. S. Electrospun polycaprolactone scaffolds for tissue engineering: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, [S. l.], v. 68, n. 9, p. 527–539, 2019.
4. KALANTARI, K.; AFIFI, A. M.; JAHANGIRIAN, H.; WEBSTER, T. J. Biomedical applications of chitosan electrospun nanofibers as a green polymer – Review. *Carbohydrate Polymers*, [S. l.], v. 207, p. 588–600, 2019.
5. MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, [S. l.], v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 2009.
6. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis worldwide, 2018. 2018. Disponível em: https://www.who.int/leishmaniasis/burden/GHO_CL_2018.pdf?ua=1. Acesso em: 26 fev. 2021
7. MALHEIRO, V. N.; CARIDADE, S. G.; ALVES, N. M.; MANO, J. F. New poly(ϵ -caprolactone)/chitosan blend fibers for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 418–428, 2010.
8. PAWLAK, A.; MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends, *Thermochimica Acta*, volume 396, Issues 1–2, 2003,
9. Chakrapani, V.Y., Gnanamani, A., Giridev, V., Madhusoothanan, M. and Sekaran, G., Electrospinning of type I collagen and PCL nanofibers using acetic acid. *J. Appl. Polym. Sci.*, 125: 3221-3227, 2012.
10. TOLEDO, L.; RIVAS, B. L.; URBANO, B. F.; SÁNCHEZ, J. Novel N-methyl-D-glucamine-based water-soluble polymer and its potential application in the removal of arsenic, *Separation and Purification Technology*, Volume 103, 2013

**DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF SCAFFOLDING OF
POLYCAPROLACTONE/CHITOSAN BLENDS WITH N-METHYL-D-GLUCAMINE
BY THE SOLUTION BLOW SPINNING METHOD FOR APPLICATION IN
PATIENTS AFFECTED BY CUTANEOUS LEISHMANIASIS**

ABSTRACT

The concern with rapid healing of chronic wounds, such as those observed in skin lesions caused by parasites of the Leishmania genus, has become the reason several study groups develop high-performance dressings. This study aimed to develop nanofiber blends by the solution blow spinning technique (Solution Blow Spinning - SBS) from the combination of polycaprolactone (PCL) and chitosan biopolymers. Also, N-methyl-D-glucamine, a drug for treating cutaneous leishmaniasis, was incorporated into the biopolymers mixture. Initially, a solution was prepared to contain a concentration of 25% (m/v) and 75% (m/v) of chitosan and PCL, respectively, diluted in 99.8% glacial acetic acid, being added to this solution, the drug N-methyl- D-glucamine at a concentration of 6.7% (w/v). The solution was transferred to a syringe coupled to an ejection pump to obtain the nanofiber. Scanning electron microscopy (SEM) and infrared spectroscopy (FTIR) were used to characterize the nanofibers. The release of NMDG from this new system was analyzed using visible light spectroscopy (UV-VIS). From the SEM analysis, it was possible to observe significant differences in the average diameter of the nanofibers, and the drug incorporation increased the diameter of the nanofibers. FTIR analysis showed the presence of the drug after obtaining the nanofibers. Blending two polymers proved to be an effective technique to obtain a new material with desirable properties, which may be relevant to optimize drug incorporation, drug delivery, and targeting properties.

Keywords: *scaffolding; Nanofibers; Polycaprolactone (PCL); chitosan; Solution Blow Spinning; leishmaniasis.*