



Nanopartículas poliméricas para encapsulação de compostos hidrofílicos/hidrofóbicos e sua liberação controlada

Nanoencapsulação do Óleo de Melaleuca, agente inibidor do *Quorum Sensing*

Autores: Lucas Joshua Pires | pires11d@hotmail.com
Mateus Carlesso | mateus@tnsolution.com.br
César Vitorio Franco | cesarvitoriofranco@gmail.com

Orientadora: Claudia Sayer | claudia.sayer@ufsc.br

1) Introdução

Este projeto foi feito em parceria com a empresa TechNano Solution (TNS), especializada em produção de nanopartículas funcionais, com propriedades antimicrobianas.

O *quorum sensing*, mecanismo de comunicação bacteriano, envolve a liberação de feromônios no meio, para que então passem a viver como colônia, e iniciem o processo de expressão genética.

As nanocápsulas, ao serem liberadas no meio em questão, preveniriam, por exemplo, a formação de biofilmes bacterianos, desorganizando a comunicação das bactérias, porém não danificando-as como agentes bactericidas o fazem.

Os chamados "*quorum sensing inhibitors*" (QSIs) podem ser obtidos de várias formas: através das próprias bactérias, de seres vivos eucarióticos (plantas, fungos, animais), ou sintetizados em laboratório. O objetivo deste trabalho foi a nanoencapsulação de um potencial QSI, o óleo de melaleuca.

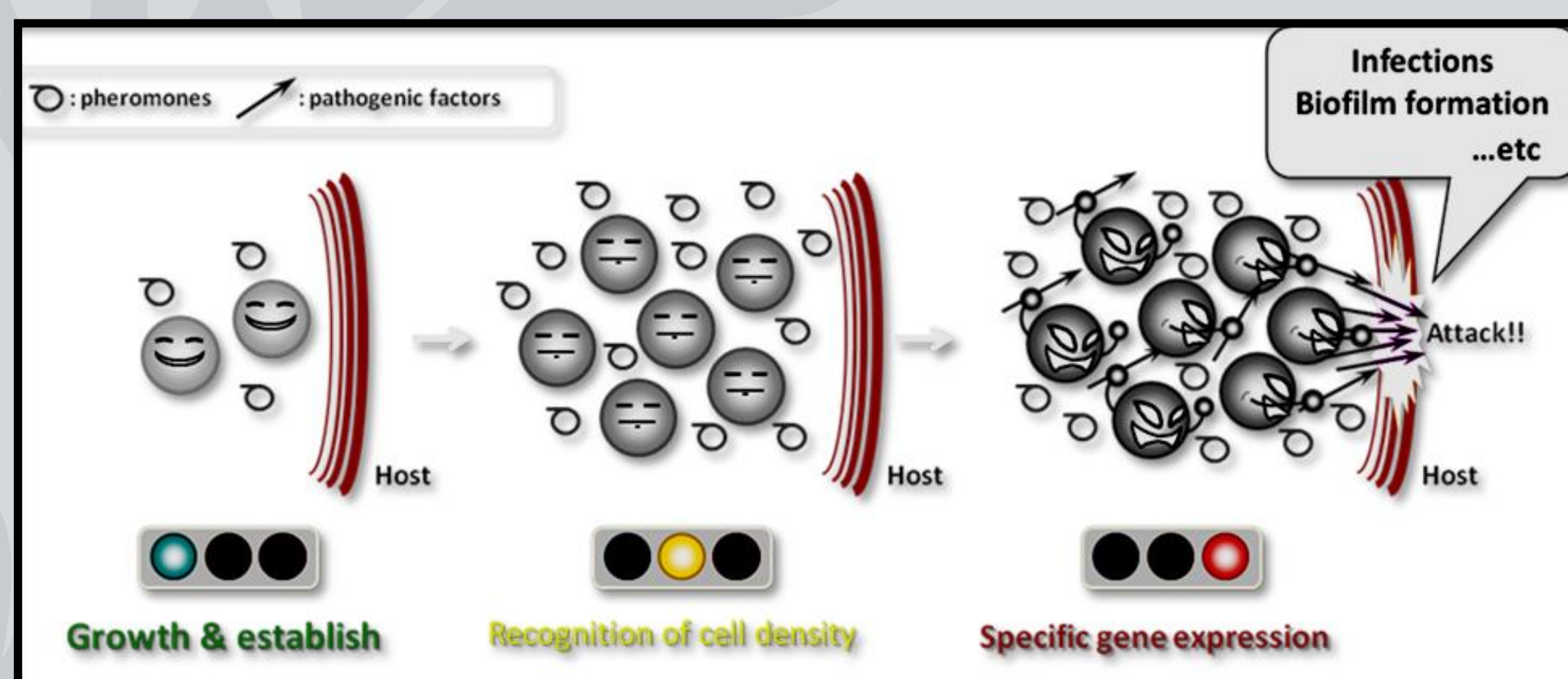


Figura 1: Representação ilustrativa da expressão genética por *quorum sensing*¹. Ocorre em três fases: Crescimento, Reconhecimento da densidade celular e expressão genética (i.e. formação de biofilme)

2) Materiais e Métodos

2.1. Materiais: Óleo de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia* sp.), diclorometano, clorofórmio, poli-(hidróxi-butarato-co-valerato) "PHBV", lauril sulfato de sódio (SDS), água destilada. Todos os materiais foram usados como recebidos, sem nenhum pré-tratamento, exceto o polímero PHBV, que encontrava-se vencido.

2.2. Purificação do polímero²: Para purificar o PHBV, uma solução em clorofórmio (5 % em massa) foi preparada, coberta e aquecida a 50°C durante 2 h, sob agitação magnética. Em seguida, foi deixada sob agitação por 18 h, à temperatura ambiente. A solução foi filtrada a vácuo, concentrada por aquecimento (evaporação) até um volume de 50mL e precipitada com um volume maior (~200mL) de hexano. O PHBV foi recolhido por filtração a vácuo, desta vez descartando a solução filtrada. Finalmente o PHBV purificado foi seco em estufa de convecção a 60°C por 24 h, visando completa evaporação do hexano.

2.3. Análise de massa molar viscosimétrica: Um viscosímetro Ubbelohde foi utilizado para estimar a massa molar viscosimétrica (Mv) do PHBV. Em um balão volumétrico, cinco soluções de PHBV em clorofórmio foram preparadas com concentrações variando entre 0,001 a 0,005 g/mL, além da que apenas continha clorofórmio puro. A viscosidade intrínseca foi obtida com a extrapolação gráfica para diluição infinita e aplicada na equação de Mark-Howink. As constantes para o PHBV em clorofórmio usadas foram $\alpha = 0,82$ e $k = 7,7 \times 10^{-3} \text{ mL/g}^2$.

2.4. Nanoencapsulação do Óleo de Melaleuca:

Em béqueres diferentes, as soluções orgânica e aquosa eram preparadas, e deixadas em agitação magnética por 15min à 500 rpm. As soluções eram então misturadas, e agitadas pelo mesmo tempo e velocidade. Após agitar, a emulsão formada era ultrasonificada, conforme em artigo³.

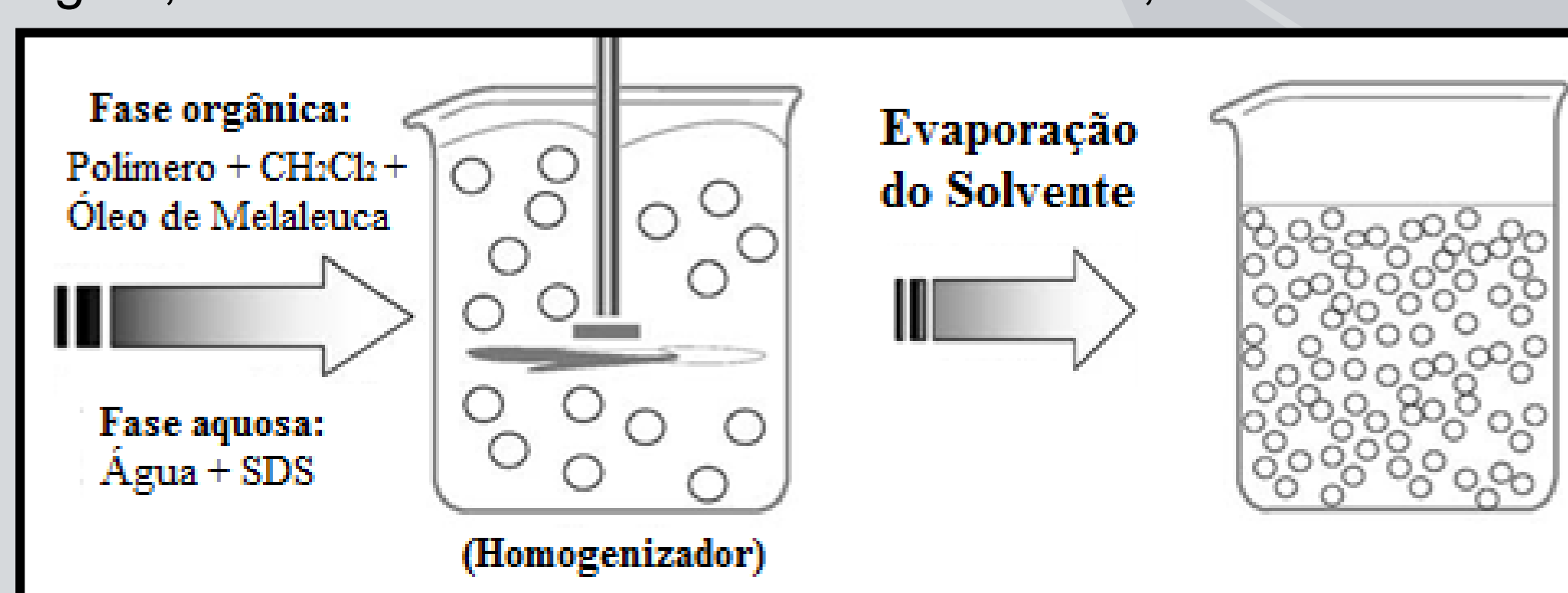


Figura 2: Esquema do preparo das nanopartículas. (Caso a ordem variasse, a dissolução ocorreria de maneira lenta)

2.5. Evaporação do solvente: foi testada de duas formas: com aquecimento e agitação magnética; e por rota-evaporação. Na primeira, fixou-se uma velocidade de agitação de 500rpm, temperatura de 35°C, deixadas em aquecimento por 16h. Para o rota-evaporador, as miniemulsões foram deixadas à 45°C, 558mmHg por 1h 40min.

3) Resultados e Discussão

Foram purificados, no total, aproximadamente 9.2g de PHBV, com um rendimento mássico em torno de 82%.

A massa molar viscosimétrica do PHBV encontrada foi em torno de 500kDa (500000 g/mol).

As amostras que sofreram a rota-evaporação se tornaram inviáveis para a análise de tamanho de partícula (DLS), pois houve grande coalescência e formação de aglomerados poliméricos visíveis.

O diâmetro médio das partículas formadas ficou entre 50-120nm.

	SDS (g)	Evap.	Dp (nm)	PDI
M2	0.0500	Antes	55.27	0.195
M2'	0.0500	Depois	82.09	0.279

Ao adicionar hexadecano (8%wt da fase orgânica), notou-se um aumento do Dp e PDI. O sistema tornou-se mais instável.

4) Conclusão

- Após evaporar, de ambas as formas, notou-se um grande aumento no PDI, provando a coalescência das nanogotas.
- A turbulência causada pelo rotaevaporador, somada com a massa molar elevada do polímero utilizado contribuíram para que houvesse maior coalescência ao evaporar o solvente.
- O tamanho de partícula não variou significativamente com a mudança na concentração de surfactante.



Figura 3: Miniemulsões M2, M3, M4 e M5 (após evaporação); nota-se a deposição do polímero nas paredes do *vial* M5.

1. <http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/microbt/Research/QuorumSensing.html>

2. LEIMANN, Fernanda V. - **Nanopartículas Híbridas de Polímero Natural (PHBV)-Polímero Sintético**, Tese, UFSC

3. CARDOSO, Priscilla B. et al – **ADMET Reactions in Miniemulsion**, Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry, 2014