



DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS BIOMIMÉTICAS BASEADAS EM POLIÁCIDO-LÁCTICO E POLICAPROLACTONA: UM ESTUDO COMPARATIVO

AUTOR: MATEUS FRANCO DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LAÍS PELLIZZER GABRIEL

1. INTRODUÇÃO

A Engenharia de Tecidos se apresenta como uma forma alternativa para promover um novo meio de reconstrução de tecidos que sofreram trauma ou dano. Dessa forma, *scaffolds* que atuam como suportes temporários para células durante a formação da matriz extracelular (ECM), são utilizados com uma combinação de materiais integrados com moléculas biológicas ou células para estimular a regeneração.

As células tendem a identificar as estruturas que possuem propriedades similares a ECM, como dimensões, área superficial, tamanho de poros, porosidade e arquitetura, para adesão e proliferação, o que torna as propriedades dos *scaffolds* extremamente críticas em relação a mimetização dos sistemas biológicos (Jordan et al., 2016).

A partir de *scaffolds* processados na forma de membranas, é possível recobrir tecidos danificados, e assim agir como curativos, *stents*, entre outros. As membranas se destacam principalmente em engenharia de tecidos ósseo (Dumont et al., 2016), cardiovascular (Yen et al., 2016) e de pele (Gomes et al., 2017) devido a suas propriedades relevantes em relação à porosidade e resistência mecânica (Suntornnond et al., 2015).

Considerando as limitações dos métodos existentes de produção de membranas poliméricas para fabricação de *scaffolds*, em 2010 foi desenvolvida a técnica de rotofiação, que consiste em induzir a formação de fibras através da ação de força centrífuga, que ejeta a solução através de furos no reservatório que gira em alta velocidade. Essa técnica apresenta muitas vantagens como a alta eficiência do processo e taxa de produção, o baixo custo e a produção de fibras de uma grande variedade de materiais ou soluções ou materiais poliméricos (Rogalski et al., 2017).

Esse trabalho de iniciação científica propõe a produção de membranas poliméricas baseadas em policaprolactona e poliácido-láctico através do processo de rotofiação, e a caracterização das membranas para fazer um estudo comparativo das membranas obtidas e seus efeitos, para futuras aplicações na engenharia de tecidos.

2. OBJETIVOS

Este trabalho objetiva produzir e caracterizar membranas através do equipamento de rotofiação para futuras aplicações na engenharia de tecidos verificando como os parâmetros do processo afetam a morfologia das fibras.



3. METODOLOGIA

3.1 Materiais: As membranas serão fabricadas a partir de policaprolactona (Sigma-Aldrich) e poliácido-láctico (Evonik), ambas foram dispersas em clorofórmio (Sigma-Aldrich).

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo das soluções poliméricas: Foram preparadas duas soluções de polímero/clorofórmio. A primeira de PLLA na concentração de 8% (massa/volume), e a segunda de PCL na concentração de 9% (massa/volume). Estas soluções foram submetidas a agitação por ultrassom (Ultrasonic clear, Unique, São Paulo, Brasil) por 2 horas.

3.2.2 Produção das membranas: As soluções poliméricas foram inseridas no equipamento de rotofiação. Como parâmetros iniciais foram testados taxa de 1,0 mL/s e reservatório com quatro orifícios e distância de 17 cm e velocidade de rotação de 12.000 rpm para a solução de PCL e 18.000 rpm para a solução de PLLA.

3.2.1 Caracterização morfológica: A caracterização das fibras foi realizada utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) modelo Leo 430i, da Zeiss com tensão de 10 kV e corrente de 100 pA. As amostras foram metalizadas com o Metalizador Sputter Coater SC7620 para o recobrimento da amostra com Ouro. A partir das imagens obtidas por MEV, foram tomadas 50 medidas do diâmetro das fibras de cada imagem utilizando o processador de imagem “Image J”, e a partir das medidas foram construídos histogramas representativos. A estrutura química foi caracterizada por um espectrofotômetro Thermo Scientific Nicolet IR100, com o auxílio do uso de discos de KBr. O espectro é resultado de 16 varreduras de 400 a 4000 cm^{-1} e resolução de 1 cm^{-1} .

3.2.3 Caracterização térmica: A análise termogravimétrica (TGA/DTG) foi realizada em um equipamento 2950 TGA HR V5.3C, a partir da temperatura ambiente até 600 °C, em atmosfera inerte de Nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4. RESULTADOS

As imagens das membranas de PCL e de PLLA foram obtidas pelo MEV estão apresentadas nas Figuras 1a e 1b, e nas Figuras 2a e 2b, respectivamente. A mensuração e o tratamento estatístico dos diâmetros das fibras foram realizados a partir das Figuras 1a e 2a e deram origem aos histogramas de diâmetro das fibras apresentados nas Figuras 1c e 2c. As fibras obtidas mostraram-se contínuas, porém apresentaram uma distribuição heterogênea dos diâmetros.

O diâmetro médio obtido para as fibras da membrana de PCL foi de $5,5 \pm 4,2 \mu\text{m}$ e para as da membrana de PLLA foi de $4,2 \pm 3,8 \mu\text{m}$. É possível observar em ambos os histogramas que há uma frequência maior do que a esperada no intervalo entre 14 e 20 μm de diâmetro, divergindo do comportamento esperado de uma curva de distribuição normal. Uma explicação possível para este comportamento seria o regime transiente de operação durante os segundos iniciais da rotofiação, que tendem a gerar fibras mais grossas até que o equilíbrio seja alcançado (Rogalski *et al.*, 2017).

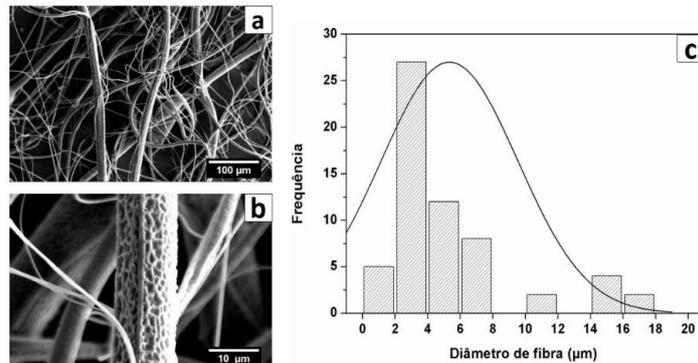


Figura 1 – Imagens de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) das membranas de PCL sob ampliação de 500x (a) e 5.000x (b); e histograma do diâmetro das fibras (c).

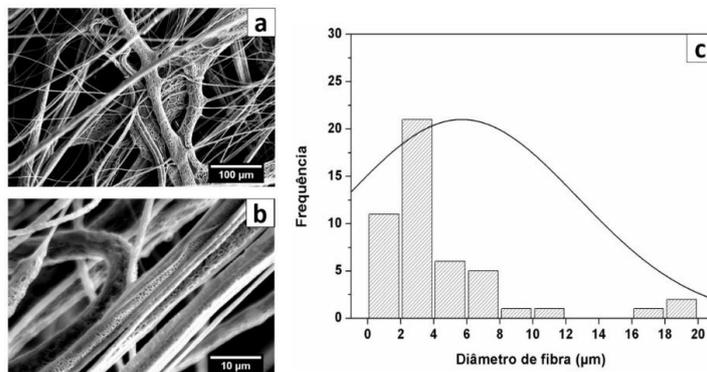


Figura 2 – Imagens de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) das membranas de PLLA sob ampliação de 500x (a) e 5.000x (b); e histograma do diâmetro das fibras (c).

Na Figura 3 é possível observar os resultados do ensaio de FTIR realizados nas amostras da membrana de PCL produzida, nos pellets de PCL utilizados na confecção da membrana e do clorofórmio utilizado na solubilização. Também é possível visualizar os picos característicos do perfil do PCL (Gahee et al., 2019) tanto na amostra de membrana quanto na do pellet. Eles estão localizados em 2944cm^{-1} (estiramento assimétrico de C-H), 2869cm^{-1} (estiramento simétrico de C-H), 1727cm^{-1} (estiramento de C=O), $1310\text{-}1485\text{cm}^{-1}$ (tesoura e deformação simétrica de C-H), 1245cm^{-1} (estiramento assimétrico de C-O-C), 1177cm^{-1} (estiramento de C-O-C) e 1105cm^{-1} (estiramento de C-O).

Na Figura 4, os picos característicos do PLLA (Furukawa et al., 2007) também foram encontrados no resultado apresentado. Eles se encontram em $1755\text{-}1744\text{cm}^{-1}$ (estiramento C=O), 1453cm^{-1} (deformação assimétrica de CH_3), 1384cm^{-1} (deformação simétrica de CH_3), 1356cm^{-1} (deformação de CH e deformação simétrica de CH_3), 1265cm^{-1} (estiramento de C-O-C deformação de CH), 1210cm^{-1} (estiramento de C-O-C), 1179cm^{-1} (estiramento de C-O-C), 1084cm^{-1} (estiramento de C-O-C) e em 1043cm^{-1} (estiramento de C- CH_3).

Além disso, não se observa a presença de nenhum dos picos do clorofórmio no espectro das amostras, tanto na de PCL quanto na de PLLA. Portanto conclui-se que ambos os polímeros não foram degradados durante o processamento e também não retiveram quantidades significativas do solvente utilizado em suas membranas.

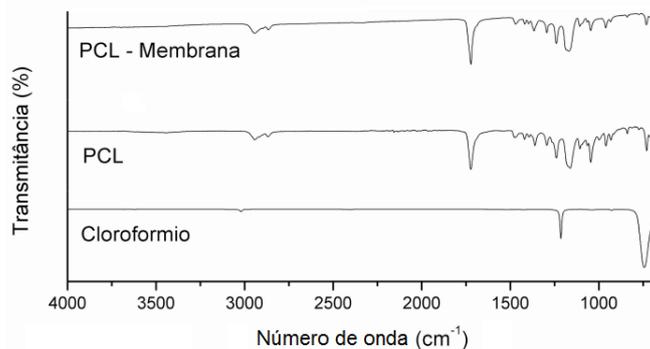


Figura 3 – Resultados do ensaio de FTIR com a amostra de membrana de PCL, pellet de PCL puro e Clorofórmio.

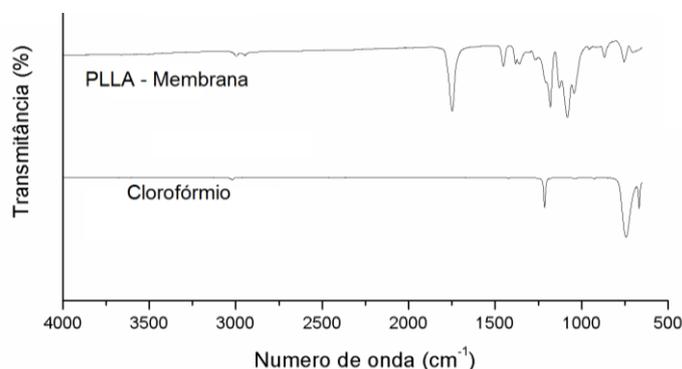


Figura 4 – Resultados do ensaio de FTIR com a amostra de membrana de PLLA e Clorofórmio.

Nas Figuras 5a e 5b podem ser visualizados os gráficos gerados pelos ensaios de TGA das amostras de membrana de PCL e PLLA respectivamente. É possível observar que a amostra de PCL apresentou degradação térmica em um único estágio na faixa de temperatura entre 354°C e 419°C.

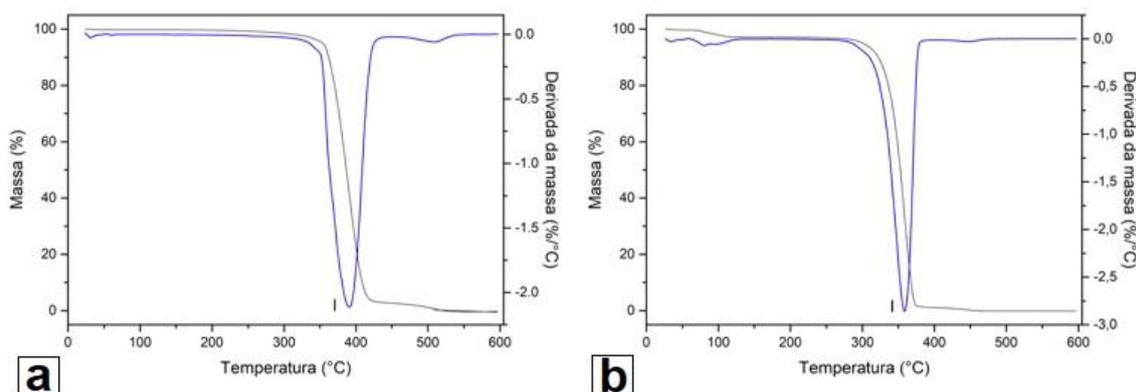


Figura 5 - Resultados do ensaio de TGA com a amostra de membrana de PCL(a) e de PLLA(b).

A amostra de PLLA também apresentou degradação térmica em um único estágio, porém apresentou uma perda suave de massa no início de ensaio ($T < 100^\circ\text{C}$), isto muito provavelmente é resultado da presença de traços de umidade na amostra. A faixa de temperatura da degradação foi entre 297°C e 374°C.



5. CONCLUSÃO

A rotofiação é um processo de fabricação de membranas poliméricas relativamente novo e com poucas publicações a seu respeito. Esse processo apresenta um potencial imenso, uma vez que é um método de alta produtividade, aumentando a viabilidade da produção de membranas em escala industrial. Neste trabalho, foram produzidas membranas de PCL e de PLLA. Imagens das membranas foram geradas com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura. A medição dos diâmetros das fibras nessas imagens foi feita através do *software* ImageJ, resultando em um tamanho médio de diâmetro de $5,5 \pm 4,2 \mu\text{m}$ para a membrana de PCL e de $4,2 \pm 3,8 \mu\text{m}$ para a de PLLA. Os resultados do ensaio de FTIR apresentaram evidências para a estabilidade química de ambos os polímeros durante o processo de rotofiação. Através da análise de TGA obteve-se mais evidências de que ambos os polímeros estudados não sofreram degradação durante o processamento. Portanto este trabalho foi realizado com sucesso, uma vez que as membranas produzidas apresentaram características muito próximas das encontradas na literatura e não apresentaram indícios de contaminação residual do solvente ou de degradação durante o processo de fabricação.

6. REFERÊNCIAS

DUMONT, V. C. et al. Chitosan and carboxymethyl-chitosan capping ligands: Effects on the nucleation and growth of hydroxyapatite nanoparticles for producing biocomposite membranes. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 59, p. 265-277, 2016.

FURUKAWA, T. et al. Comparison of miscibility and structure of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)/poly(L-lactic acid) blends with those of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(L-lactic acid) blends studied by wide angle X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and FTIR microspectroscopy. **Polymer**, v.48, p.1749–55, 2007.

GAHEE, A. et al. Biomimetic nanocomposite scaffolds based on surface modified PCL-nanofibers containing curcumin embedded in chitosan/gelatin for skin regeneration. **Composites Part B**, v.177, 2019

GOMES, S. et al. Evaluation of nanofibrous scaffolds obtained from blends of chitosan, gelatin and polycaprolactone for skin tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1174-1185, 2017.

JORDAN, A. M. et al. Processing and surface modification of polymer nanofibers for biological scaffolds: a review. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 36, p. 5958-5974, 2016.

ROGALSKI, J. J. et al. Rotary jet spinning review - a potential high yield future for polymer nanofibers. **Nanocomposites**, v. 3, n. 4, p. 97-121, 2017.

SUNTORNOND, R. et al. Biodegradable Polymeric Films and Membranes Processing and Forming for Tissue Engineering. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 300, n. 9, p. 858-877, 2015.

YEN, K. C. et al. Fabrication of keratin/fibroin membranes by electrospinning for vascular tissue engineering. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 2, p. 237-244, 2016.