



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

Nome do(a) Bolsista: **Marcio Henrique Zaim**

Código do Projeto vinculado: **28868**

#### DESCRIÇÃO DO PROJETO

Título do Projeto

RADIAÇÃO GAMA NO PROCESSO DE SÍNTESE DA SÍLICA SBA-15. INOVAÇÃO NA OBTENÇÃO DE NANOESTRUTURA COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO COMO SUPORTE PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DA ALBUMINA

**Prazo Execução (meses): 36**

#### Objetivo Geral

Sintetizar a matriz de sílica mesoporosa ordenada, tipo SBA-15, substituindo o tratamento hidrotérmico e submetendo a mistura de síntese (solução ou gel formado pelo copolímero P123 e fonte de sílica em meio ácido) ao tratamento com radiação gama. Avaliar a capacidade de adsorção do material pela ovoalbumina, e a estabilidade da ovoalbumina livre e encapsulada e sua liberação controlada no sistema in vitro e in vivo.

#### Objetivos Específicos

- (1) Obter a sílica mesoporosa ordenada pura, substituindo o tratamento hidrotérmico (convencional) pela radiação gama (Gammacell).
- (2) Comparar as características das amostras obtidas por ambos os métodos de tratamento da mistura de síntese, tratamento hidrotérmico e tratamento com radiação gama.
- (3) Estudar os métodos de encapsulação da ovoalbumina nas amostras de SBA-15 obtidas por ambos tratamentos (hidrotérmico convencional e radiação Gamma).
- (4) Caracterizar os materiais sintetizados, utilizando as técnicas físicoquímicas e analíticas [Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Elementar (AE), Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Adsorção/Desorção de Nitrogênio.
- (5) Estudar a liberação controlada da ovoalbumina encapsulada na sílica in vitro. Para isto, será utilizada a técnica de espectrofotometria UVVIS.

#### Palavras-chave

1 - Sílica mesoporosa ordenada

2 - Radiação Gama

3 - Encapsulação

4 -Albumina

5 - Liberação controlada de fármacos



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

#### **Metas Físicas**

1 - Síntese das sílicas mesoporosas pela técnica tradicional e pela substituição do tratamento hidrotérmico pela irradiação gama.

2 - Encapsulação da Albumina nas sílicas mesoporosas

3 - Caracterização dos materiais produzidos por difratometria de raios X, microscopia eletrônica (MEV, TEM e FEG), análise térmica (TG e DSC), determinação das propriedades texturais, como área de superfície específica, tamanho, volume e distribuição de tamanho de poros (adsorção gasosa)

4 - Testes in vitro da liberação controlada da albumina

5 - Análise dos resultados e elaboração de relatório

**Justificativa Resumida:**

Entre os materiais mesoporosos, pode-se destacar uma classe denominada sílicas mesoporosas ordenadas (SMOS), que tem despertado grande interesse dos pesquisadores, desde a década de 1990, quando os cientistas da Mobil Corporation descobriram as peneiras moleculares da família M41S (KRESGE et al., 1992). A descoberta desses materiais empregando surfatantes iônicos foi um marco na síntese dos materiais porosos, promovendo uma ampliação das estruturas microporosas ordenadas das zeólitas para a faixa de mesoporos. Entre os materiais mesoporosos ordenados (MMOs), destaca-se a família da sílica mesoporosa amorfa de Santa Barbara (SBA), sintetizada por meio do uso de surfatantes oligoméricos de poli(óxidos de etileno) (PEO), alquilenos não iônicos e copolímeros bloco em meio ácido, podendo apresentar estrutura cúbica (SBA-11), hexagonal 3D (SBA-12), hexagonal 2D (SBA-15) e cúbica em forma de gaiola (SBA-16)(ZHAO et. al, 1998; SAKAMOTO et. al, 2000). Estas mesoestruturas apresentam um arranjo altamente ordenado de poros com diâmetros ajustados na faixa de 5-30 nm, com paredes mais espessas, e por consequência maior estabilidade hidrotérmica quando comparados a outras SMOs. A SBA-15 apresenta um arranjo ordenado hexagonal e é obtida com superfície específica que varia de 690 a 1040 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> e espessura de parede de 3,1 a 6,4 nm (BOYANO-MARTINEZ et al., 2002). Durante a síntese, o surfatante interage com a superfície do material, permanecendo adsorvido, enquanto, outra parte das moléculas desse composto orgânico preenche os poros ordenados da estrutura da sílica. O tratamento hidrotérmico é uma etapa importante na ordenação, uniformidade e estruturação do material, podendo influenciar, também, no tamanho dos poros da estrutura mesoporosa. Por isto, a temperatura e o tempo do tratamento hidrotérmico são decisivos nas características do material e a busca por alternativas para esta etapa, ainda é um desafio dos pesquisadores. Algumas modificações já foram implementadas, como a substituição do tratamento hidrotérmico, sob pressão autógena, pelo aquecimento simples em sistema soxhlet, ou aquecimentos por microondas, porém, ainda não há relatos de trabalhos empregando radiação gama em substituição ao tratamento hidrotérmico. Outro aspecto a considerar é a presença do surfatante no material que afeta as propriedades da sílica e, então, é preciso executar remoção total desta espécie. A primeira etapa de remoção envolve a lavagem com água destilada após a síntese. Este procedimento garante a remoção de grande parte do surfatante que permanece na superfície. A remoção completa do material orgânico, só ocorre numa segunda etapa que envolve a calcinação da SBA-15. Tal procedimento deve ser executado de forma controlada, para minimizar o encolhimento e/ou colapso da estrutura do material ou danos estruturais que, consequentemente, poderão comprometer as propriedades físicas e químicas da SBA-15. A etapa de lavagem com água destilada ou deionizada também é necessária para remoção de íons cloretos, uma vez que para determinadas aplicações do material a presença desta espécie pode ser um interferente, como é o caso do uso como catalisadores (BÉRUBÉ; KALIAGUINE, 2008). Em relação à segurança destes materiais, diversos estudos in vitro indicam que a SBA-15 apresenta baixa toxicidade em baixas concentrações. Estudos in vivo mostraram que a toxicidade da SBA-15 está associada ao tamanho de partícula. Materiais com tamanho de partícula entre 1 a 2 µm não apresentaram toxicidade (AL SHAMSI et al., 2010; HUDSON et al., 2008). Estudos realizados por Hudson e colaboradores (2008) mostraram que após a injeção subcutânea de materiais mesoporosos (SBA-15 e MCM-41) em ratos, observou-se a partir de cortes histológicos, uma diminuição progressiva de material residual ao longo de 3 meses, o que significou que estes materiais apresentaram biocompatibilidade no tecido cutâneo. Outro estudo in vivo conduzido por López e colaboradores (2006) avaliou a segurança de materiais mesoporosos, por meio da implantação de SBA-15 próximo ao tecido cerebral (amígdala basolateral) em ratos. Após seis meses, os animais foram sacrificados e um estudo histopatológico foi realizado em torno do tecido cerebral próximo ao reservatório contendo o material mesoporoso. O resultado mostrou que o implante não causou necrose, injúria tecidual e inflamação na



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

região, o que permitiu constatar que a SBA-15 apresentou biocompatibilidade com o tecido cerebral. Alguns estudos desenvolvidos evidenciaram que esses materiais podem ser utilizados para a encapsulação de moléculas orgânicas biologicamente ativas e empregadas para serem administradas em organismos vivos. No campo da imunologia, a SBA-15 mostrou maior eficiência como adjuvante imunológico do que os adjuvantes tradicionais. Foi mostrado que a SBA-15 age como adjuvante ao constatar que camundongos de linhagens BALB/c e de linhagens geneticamente selecionadas que possuem resposta imunológica alta e baixa, imunizados com a proteína recombinante Int 1b de 16,5kDa e proteínas de veneno de cobra *Micrucurus Ibiboboca* (20 proteínas com massas moleculares que variam de 7 a 87 kDa) apresentaram respostas similares ou superiores ao adjuvante incompleto de Freund (IFA) e hidróxido de alumínio (AlOH)<sub>3</sub>. Para tal aplicação, o conhecimento sobre o processo de encapsulação de proteínas é fundamental. Em outro trabalho foi mostrado que a SBA-15 protegeu os antígenos de ambientes hostis do organismo, como o estomacal, e permitiu que os linfócitos e células dendríticas conduzissem uma imunogenicidade mais eficiente (MERCURI et al., 2006). Outra vantagem da SBA-15 foi que esta não ocasionou nenhum tipo de lesão tecidual e não provocou necrose na área de aplicação da injeção, que são efeitos indesejados provocados por outros adjuvantes (MERCURI et al., 2006). A busca pela obtenção de amostras de sílica com uma estruturação hexagonal empregando um tratamento diferente do hidrotérmico será o primeiro desafio deste projeto e os posteriores correspondem aos testes de aplicação. Por isto a primeira etapa corresponde a síntese e caracterização da SBA-15, devido a disponibilidade na Instituição da fonte de <sup>60</sup>Co, geradora de radiação gama, este tipo de radiação, com diferentes doses, poderá ser empregado para a formação da estrutura mesoporosa hexagonal. Buscar-seá otimizar as condições, com o objetivo de obter materiais de forma mais rápida e com melhor formação estrutural, característica promissora para a aplicação deste material como transportador de moléculas orgânicas em processo de encapsulação. Para o teste de aplicação será empregada a albumina como molécula orgânica para ser encapsulada, em baixas concentrações, na SBA-15 e avaliar a sua liberação de maneira controlada in vitro para que posteriormente seja possível iniciar um estudo in vivo, com o propósito de desenvolver uma vacina antialérgica. A escolha da albumina, se deve ao fato pelo qual, esta proteína presente no ovo chamada de ovoalbumina ocasiona a prevalência de doenças alérgicas em crianças, jovens e adultos que vem aumentando bastante nas últimas décadas.



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

#### CRONOGRAMA FÍSICO

META FÍSICA 1 - Síntese das sílicas mesoporosas pela técnica tradicional e pela substituição do tratamento hidrotérmico pela irradiação gama.

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Execução de protocolos para síntese de sílicas mesoporosas ordenadas empregando dois procedimentos diferentes na etapa final: tratamento hidrotérmico e irradiação gama. Pretende-se identificar os parâmetros críticos dos processo e avalia-los	Obtenção de gramas de amostras de sílica mesoporosa pelos dois métodos mencionados	mês 01	mês 15

META FÍSICA: 2 - Encapsulação da Albumina nas sílicas mesoporosas

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Serão efetuados estudos para incorporação de albumina de ovo nas sílicas mesoporosas obtidas na etapa anterior	Obtenção de gramas de albumina de ovo encapsuladas por sílica mesoporosa	mês 04	mês 15



## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

**META FÍSICA: 3 -** Caracterização dos materiais produzidos por difratometria de raios X, microscopia eletrônica (MEV, TEM e FEG), análise térmica (TG e DSC), determinação das propriedades texturais, como área de superfície específica, tamanho, volume e distribuição de tamanho de poros (adsorção gasosa)

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Serão efetuadas análises empregando as técnicas citadas para caracterização das sílicas mesoporosas obtidas na primeira etapa e das amostras de albumina de ovo encapsuladas na segunda etapa Será desenvolvido procedimento analítico para determinar o teor de albumina nos compostos encapsulados	Obtenção de dados analíticos das técnicas analíticas empregadas para as amostras citadas Obtenção de protocolo escrito para determinação de albumina	mês 04	mês 21
		mês 13	mês 18

**META FÍSICA: 4 -**

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Serão elaborados protocolos para estudar a liberação da albumina de ovo em determinadas condições a partir da espécie albmina encapsulada por sílica mesoporosa Serão executados os ensaios de liberação de albumina seguindo os protocolos	Obtenção de procedimentos escritos para executar os ensaios de liberação de albumina Elaboração de relatório descrevendo liberação de albumina nos vários testes executados	mês 16	mês 20
		mês 16	mês 34

**META FÍSICA: 5 -** Análise dos resultados e elaboração de relatório

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Avaliação dos resultados obtidos nos ensaios executados e elaboração de relatórios de cada etapa executada	Obtenção de relatórios de cada etapa executada	mês 02	mês 36
Elaboração de artigos científicos	Publicação de artigos científicos	mês 13	mês 36



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6




## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

#### Resultados Esperados

1 - Obtenção e caracterização de sílicas mesoporosas ordenadas pelo método tradicional de tratamento hidrotérmico

2 - Obtenção e caracterização de sílicas mesoporosas ordenadas pelo método de tratamento por irradiação gama

3 - Racionalização dos resultados obtidos pelos dois métodos (tratamento hidrotérmico/irradiação gama)

4 - Obtenção e caracterização de albumina de ovo encapsulada por sílicas mesoporosas ordenadas pelo método tradicional de tratamento hidrotérmico

5 - Obtenção e caracterização de albumina de ovo encapsulada por sílicas mesoporosas ordenadas pelo método por irradiação gama

6 - Obtenção de albumina de ovo encapsulada por sílicas mesoporosas ordenadas com perfil adequado para emprego em vacinas

7 - Publicação de artigos científicos e submissão de patentes para proteção da propriedade intelectual gerada

8 -

9 -

10 -

**Grau de Inovação (se houver):**





## PLANO DE TRABALHO

### PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

Os métodos tradicionais para obter sílicas mesoporosas altamente ordenadas envolvem normalmente uma etapa conhecida como hidrotérmica na qual a mistura reacional é deixada parada por um longo tempo (24 horas por exemplo) em temperaturas relativamente altas (100°C por exemplo). No presente projeto pretende-se estudar a substituição da etapa hidrotérmica por uma etapa envolvendo irradiação gama. A possibilidade desta substituição trará grandes benefícios para a execução do processo sendo que não foram identificadas publicações (artigos ou patentes) empregando irradiação e desta forma mostra-se um grau de inovação muito grande com possibilidade de submissão de patentes.

Outro aspecto inovador do projeto diz respeito a um sistema de liberação controlada da albumina baseado em sílicas mesoporosas. Os sistemas de drug delivery são tecnologias projetadas para a liberação direcionada e/ou controlada de agentes terapêuticos. Os fármacos têm sido usados há muito tempo para melhorar a saúde e prolongar a vida sendo que os métodos de liberação mudou drasticamente nas últimas décadas e mudanças ainda maiores são antecipadas no futuro próximo. Engenheiros biomédicos têm contribuído substancialmente para nossa compreensão das barreiras fisiológicas para a liberação eficiente de fármacos, como transporte no sistema circulatório e movimento de drogas através de células e tecidos. No presente projeto será desenvolvido um sistema de liberação controlada de albumina baseada em sílicas mesoporosas com objetivo de diminuir/minimizar o efeito alergênico da albumina permitindo um uso otimizado em vacinas. Novamente não foram identificadas publicações (artigos ou patentes) empregando Sistemas de liberação de albumina empregando sílica mesoporosa e desta forma o projeto mostra-se um grau de inovação muito grande com possibilidade de submissão de patentes.

**Bibliografia:**

- AL SHAMSI, M., AL SAMRI, M.T., AL-SALAM, SUHAIL, CONCA, W, SHABAN, S., BENEDICT, S., TARIQ, S., BIRADAR, A.V., PENEFSKY, H.S., ASEFA, T., SOUID, A.K., Biocompatibility of calcined mesoporous silica particles with cellular bioenergetics in murine tissues. *Chemical Research in Toxicology*, 23, 11, 1796–1805, 2010
- BÉRUBÉ, F.; KALIAGUINE, S. Calcination and thermal degradation mechanisms of triblock copolymer template in SBA-15 materials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 115, 3, 469– 479, 2008
- BOYANO-MARTINEZ, T., GARCIA-ARA, C., DIAZ-PENA, J.M., MARTINESTEBAN, M., Prediction of tolerance on the basis of qualification of egg Whitespecific IgE antibodies in children with egg allergy, *J Allergy Clin Immunol*, 110(2002)304-9
- KRESGE, C. T, LEONOWICZ, M.E., ROTH, W.J., VARTULI, J.C., BECK, J.S., Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquidcrystal template mechanism. *Nature*, 359(6397), 710–712, 1992
- MERCURI, et al., 2006. Ordered mesoporous sílica SBA-15: A new effective adjuvante to induce antibody response, *Small*, 2, 254 – 256, 2006.
- SAKAMOTO, Y. et al.; Direct imaging of the 3D pores and cages of mesoporous materials. *Nature*, 408, 449-453, 2000.
- ZHAO, D. et al. Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. *Science (New York, N.Y.)*, 279(5350), 548–552, 1998.