

ESTUDOS FOTOFÍSICOS EM SOLUÇÃO DO POLISSACARÍDEO CELULOSE

**Prof.^a Dr.^a Máira R. Rodrigues (PQ), Christiane de Almeida
Lobato(IC), Douglas Gassetta (IC), Gisele Ferreira Freymann (IC)**

Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D. Universidade do Vale do Paraíba - Av.
Shishima Hifumi, 2911 – 12244-000 – Urbanova – São José dos Campos – SP – Brasil –
mrr@univap.br

Key worlds: cellulose, pyrene, fluorescence, drugs delivery.

Palavras chaves: celulose, pireno, fluorescência, carregadores de drogas.

Área de conhecimento: III. Engenharia Biomédica

ABSTRACT

Presently, drug delivery systems have been studied and developed with the purpose of effectively direct the drugs to specific organs of the body, avoiding, that way, the unpleasant side-effects for the patient. This article describes the photophysical study of microenvironment formatted by the cellulose, using the pyrene probe; having like focus the search of an ideal system for the utilization of this polysaccharide like drugs delivery. It observed through fluorescence spectrum that the cellulose concentration increase cause aggregation of the molecular chains in solution leading to the hydrophobic microenvironment formation.

RESUMO

Atualmente, sistemas carregadores de drogas têm sido estudados e desenvolvidos com o propósito de direcionar efetivamente as drogas para órgãos específicos do corpo, evitando, assim, efeitos desagradáveis ao paciente. Este artigo descreve o estudo fotofísico do microambiente formado pela celulose, utilizando a sonda pireno; tendo como foco a busca de um sistema ideal para a utilização de tal polissacarídeo como carregador de drogas. Observou-se através do espectro de fluorescência que o aumento da concentração da celulose causa agregação das cadeias moleculares em solução levando à formação de microambientes hidrofóbicos.

INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, estudos relacionados a drogas inteligentes têm recebido uma atenção especial devido a seu caráter multidisciplinar e altamente especializado. Estes estudos visam a interação da droga somente com as partes doentes do organismo humano sem causar efeitos colaterais desagradáveis ao paciente. Neste sentido, os sistemas carregadores de drogas surgem como alternativa viável por apresentarem algumas vantagens sobre as injeções e comprimidos tradicionais: direcionamento da droga a um sítio de ação particular, bem como a liberação da mesma a uma taxa pré-determinada e constante.^{1,2} Informações sobre os microdomínios formados por polissacarídeos naturais ou quimicamente modificados em solução são de grande importância quando se deseja utilizar os mesmos para o desenvolvimento

de sistemas carregadores de drogas de ação específica.

A celulose^{3,4} (Figura 1) é o recurso natural renovável mais abundante disponível ao homem. Cerca de 40% de toda biomassa (matéria orgânica) está associada à plantas superiores, mais propriamente às paredes celulares, o que significa uma produção anual média de 4×10^{10} toneladas. É um polímero insolúvel composto de subunidades de glicose, unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. O número de moléculas de glicose por molécula de celulose (grau de polimerização) é de 10 a 14.000 unidades, tendo em média 3.000 unidades de glicose e podendo medir, aproximadamente 7,0 mm de comprimento.

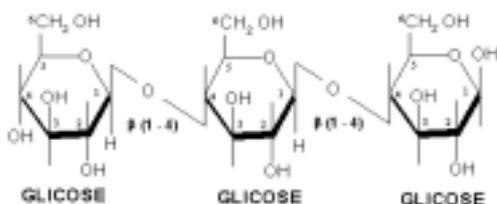


Figura 1. Fórmula molecular da celulose.

As cadeias de celulose estão orientadas paralelamente e são ligadas por pontes de hidrogênio inter e intra-moleculares entre as glicoses sucessivas e adjacentes, respectivamente.

Os mamíferos não são capazes de degradar a celulose. No entanto, em seus tubos digestivos existem bactérias capazes de o fazer. A celulose é a chamada fibra de regularização do tráfego intestinal.

Neste trabalho procurou-se estudar a possibilidade de formação de agregados moleculares de celulose em solução etanólica e, assim verificar a viabilidade de utilização deste polissacarídeo na forma natural como carregador de drogas. O microambiente formado em solução foi estudado utilizando-se a sonda pireno, que apresenta variações espectrais consideráveis dependendo do meio em que está localizada.

Moléculas fluorescentes que sofrem variação em suas propriedades de emissão, dependendo do meio onde se encontram são denominadas sondas fluorescentes.^{5,6} O pireno é uma das sondas fluorescentes mais populares e freqüentemente utilizadas em estudos fotofísicos devido à algumas propriedades: possuir um tempo de vida de fluorescência notavelmente longo (450 ns); não possuir grupos polares (molécula hidrofóbica) e por isso tem sido utilizado para monitorar a formação de microdomínios hidrofóbicos; exibir certa mudança na estrutura vibracional fina de seu espectro de emissão quando a polaridade do meio é alterada. Em água, a razão entre as intensidades dos picos 1 e 3 do pireno é, aproximadamente 1,85 enquanto que em solventes apolares este número pode chegar a 0,57. Esta característica tem sido usada para a determinação características de microambientes em solução⁷ e em estado sólido.⁸

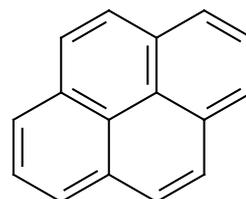


Figura 2. Fórmula molecular do pireno

OBJETIVO

Estudo fotofísico do microambiente formado pelo polissacarídeo celulose, utilizando a sonda fotofísica pireno, na busca de um sistema ideal para ser usado como carregador de drogas.

METODOLOGIA

- Reagentes: Celulose de procedência Analytische Reagenzien; pireno (Py) da Aldrich; etanol espectroscópico Vetec.

- Medidas de absorvância utilizando a sonda pireno

Os experimentos de absorvância utilizando a sonda pireno foram feitos utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0cm, na qual adicionou-se 2,5 mL de etanol. A este volume adicionou-se com o auxílio de uma micro-seringa Hamilton 4,2 μ L de uma solução estoque de pireno de concentração $3,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹ em metanol de forma a obter-se uma solução de concentração $5,0 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹.

Os espectros de absorvância foram registrados em Espectrofotômetro UV-visível Cary 50 Varian.

- Medidas de fluorescência utilizando a sonda pireno

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados em Espectrofluorímetro Fluoromax tendo como parâmetros fendas de excitação e emissão de 1,0 nm e utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0cm.

As soluções foram preparadas conforme descrito para os experimentos de absorvância. Após obter-se o espectro de emissão de fluorescência da solução de pireno $5,0 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ em etanol adicionou-se alíquotas da solução de celulose $2,0$ g.L⁻¹ de forma a obter-se diversas concentrações para as quais mediu-se o espectro de emissão de fluorescência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de absorvância do pireno apresenta máximos de absorção nos comprimentos de onda (λ) 305, 320 e 334 nm (Figura 3).

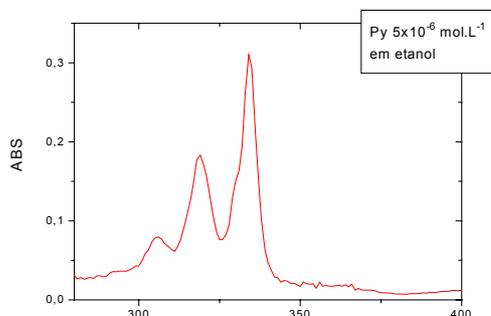


Figura 3. Espectro de absorvância do pireno em solução $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ em etanol.

O aumento da intensidade nos espectros de fluorescência (Figura 4) com adições de quantidades crescentes de celulose demonstra o surgimento de ambientes hidrofóbicos. Estes podem ser comprovados pela variação nas razões de intensidades de fluorescência (I_1/I_3) dos respectivos espectros (Tabela I).

Os resultados mostram a formação de um ambiente mais rígido que passa a ser ocupado pela sonda. Portanto o aumento da concentração do polímero celulose vai criando domínios hidrofóbicos (ou menos polares) gradativamente maiores formados pela agregação das cadeias, onde a sonda pode se dissolver.

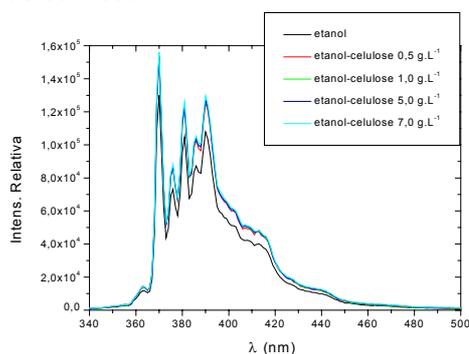


Figura 4 – Espectro de fluorescência da sonda pireno sob o efeito de concentrações crescentes de celulose.

Tabela I. Representa numericamente o espectro de fluorescência da figura 4.

| [celulose] (g.L ⁻¹) em etanol | I ₁ | I ₃ | I ₁ /I ₃ |
|--|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0,0 | 129970 | 104718 | 1,2411 |
| 0,5 | 151012 | 121735 | 1,2405 |
| 1,0 | 153926 | 124164 | 1,2397 |
| 5,0 | 153442 | 123793 | 1,2395 |
| 7,0 | 156202 | 126051 | 1,2392 |

CONCLUSÃO

Pesquisas relacionadas à drogas inteligentes apresentam-se como uma importante ferramenta para a diminuição de efeitos colaterais desagradáveis ao paciente. Neste âmbito se inserem as pesquisas sobre carregadores de drogas.

Neste trabalho fotofísico enfocou-se o microambiente formado pelo polissacarídeo celulose, utilizando como recurso a sonda pireno, visando à busca de um sistema ideal para ser utilizado como carregador de drogas.

O aumento da concentração da celulose leva à formação de ambientes hidrofóbicos e os agregados formados são possivelmente originados de interações intermoleculares entre cadeias de celulose. A diminuição da razão entre os picos 1 e 3 (I_1/I_3) com as respectivas concentrações é discreta, sugerindo que possivelmente a utilização do polissacarídeo hidrofobicamente modificado em sua estrutura molecular seja uma alternativa mais viável para a produção de carregadores de drogas.

Apoio: FAPESP

REFERÊNCIAS

- Whistler, R. L., BeMiller, J. N., "Industrial Gums – Polysaccharides and Their Derivatives". Academic Press, New York, 1973.
- Chandra, R., Rustgi, R., *Prog. Polym. Sci.*, **23**, 1273, (1998).
- Ingram, V. M., "The Biosynthesis of Macromolecules". W. A. Benjamin Inc., New York, 1966.

4. Conn, E. E., Stumpf, P. K., "*Introdução à Bioquímica*". Ed. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 1980.
5. Lakowicz, J.C., "Principles of Fluorescence Spectroscopy". Plenum, New York, 1984.
6. Wayne, R. P., "Principles and Applications of Photochemistry". Oxford University Press, Oxford, 1988.
7. Kalyanasundaram, K., "*Photochemistry in Microheterogeneous Systems*". New York, Academic Press, 1987.¹²Carvel, M., Robb, I. D., Small, P. W., *Polymer*, 39, 393, (1998).
8. Cione, A. P. P., " *Fotoquímica e fotofísica de moléculas orgânicas em argilas*". São Carlos. Tese – IQSC – USP, 2000.