

ESTUDOS FOTOFÍSICOS EM SOLUÇÃO DO POLISSACARÍDEO QUITOSANA

Prof.^a Dr.^a Máira R. Rodrigues (PQ), Douglas Gassetta (IC), Gisele Ferreira Freymann (IC), Christiane de Almeida Lobato (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 words: *chitosan, pyrene, fluorescence, drugs delivery.*

Palavras chaves: *quitosana, pireno, fluorescência, carregadores de drogas.*

Área de conhecimento: *III. Engenharia Biomédica*

ABSTRACT

In this work it was looked to study the possibility of formation of added of chitosan in pyrene solution, this way verifying the viability of using this polysaccharide as drugs delivery. The microenvironment formed in solution was studied using the pyrene probe that presents considerable spectral variations depending on the medium where it is located. The absorbance of the pyrene was studied in solution of chitosan and measures of fluorescence had been carried through with the gradual addition of amounts of chitosan. The results showed variations that indicate the hydrophobic environment formation.

RESUMO

Neste trabalho procurou-se estudar a possibilidade de formação de agregados de quitosana em solução de pireno, desta forma verificando a viabilidade de utilização deste polissacarídeo 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. A absorvância do pireno foi estudada em solução de quitosana e medidas de fluorescência foram realizadas com a adição gradual de quantidades de quitosana. Os resultados mostraram variações que indicam a formação de microambientes hidrofóbicos.

INTRODUÇÃO

Uma variedade de polissacarídeos vêm sendo utilizada como sistemas carregadores de drogas a partir de formulações que forneçam compartimentos de estruturas com diâmetros bem definidos, permitindo o transporte sustentado da droga. Desta forma esforços têm sido dirigidos ao desenvolvimento de sistemas anfífilicos naturais e sintéticos capazes de conduzir drogas liberando-as em sítios específicos de forma a aumentar a eficiência e minimizar os efeitos tóxicos.^{1,2}

Entretanto, os sistemas carregadores de drogas ainda apresentam alguns problemas,

como, por exemplo, distribuição e solubilidade inadequadas da droga e rápida liberação; curto tempo de circulação no sangue, instabilidade térmica, fragilidade estrutural e pouca eficiência quanto ao carregador.²

A utilização do polissacarídeo quitosana (Figura 1) como sistema carregador de drogas apresenta certas vantagens por ser um produto abundante na natureza (proveniente de conchas de crustáceos), não tóxico, biocompatível, biodegradável e de fácil solubilização. Além disso, tem sido demonstrada uma eficiência maior de esponjas de quitosana sobre outros

carregadores devido suas propriedades de mucoadesão e sua habilidade para flutuar, o que permite sua utilização tanto por via nasal, como por via oral.³

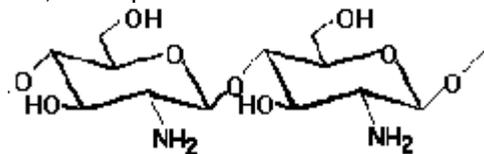


Figura 1. Fórmula estrutural da quitosana.

Neste trabalho procurou-se estudar a possibilidade de formação de agregados de quitosana em solução 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. O pireno (figura 2) é uma molécula fluorescente que sofre variação em suas propriedades de emissão, dependendo do meio onde se encontra, por isso é denominado sonda fluorescente.

Estas propriedades podem ser usadas para explorar e examinar características estruturais e dinâmicas de um sistema.

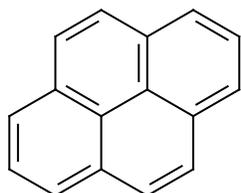


Figura 2 - Estrutura molecular da sonda fluorescente pireno.

Outros exemplos destes compostos são a nabumetona bem como corantes em geral.^{4,5}

Devido à ausência de grupos polares o pireno é uma molécula hidrofóbica e, por isso, tem sido utilizado para monitorar a formação de microdomínios hidrofóbicos. Além de possuir um tempo de vida de fluorescência notavelmente longo (450 ns), o pireno exhibe uma mudança clara na estrutura vibracional fina de seu espectro de emissão quando a polaridade do meio é alterada e, por isso, é uma das sondas fluorescentes mais populares e freqüentemente utilizadas em estudos fotofísicos.⁶

Em água, a razão entre as intensidades dos picos I e III do pireno é aproximadamente

1,85 enquanto que em solventes apolares este número pode chegar a 0,57 como no caso do ciclohexano. Esta característica tem sido usada para determinação da concentração de agregação crítica (cac) e da concentração micelar crítica (cmc) em agregados moleculares e micelares, respectivamente.

OBJETIVO

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

METODOLOGIA

Os reagentes utilizados neste estudo foram água purificada em sistema Milli-Q, quitosana de procedência Aldrich, pireno (Py) da Aldrich, ácido acético espectroscópico Vetec.

- Medidas de absorvância utilizando a sonda pireno:

O experimento de absorvância utilizando a sonda pireno foi feito utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0cm, na qual adicionaram-se 2,5 ml de solução ácido acético: água purificada (3:2) em volume. A este volume adicionou-se com o auxílio de uma micro-seringa Hamilton 4,2 L de uma solução estoque de pireno de concentração $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em metanol de forma a obter-se uma solução de concentração $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$.

O espectro de absorvância foi registrado 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 $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ em solução ácido acético: água purificada (3:2) em volume, adicionou-se alíquotas da solução de

quitosana $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ de forma a obter-se diversas concentrações para as quais mediu-se o espectro de emissão de fluorescência.

RESULTADOS E DISCUÇÃO

Na figura 3 pode-se observar o espectro de absorvância do pireno, o qual apresenta máximos de absorção nos comprimentos de onda () 305, 320 e 335 nm.

O aumento da intensidade nos espectros de fluorescência (Figura 4) mostra o efeito das adições de alíquotas de quitosana, atestando o surgimento de ambientes hidrofóbicos. Estes podem ser comprovados pela variação nas razões de intensidades de fluorescência (I_1/I_3) dos respectivos espectros (Figura 5). Estes resultados mostram a formação de um ambiente mais rígido que passa a ser ocupado pela sonda. Portanto o aumento da concentração de quitosana vai criando domínios hidrofóbicos gradativamente maiores formados pela agregação das cadeias.

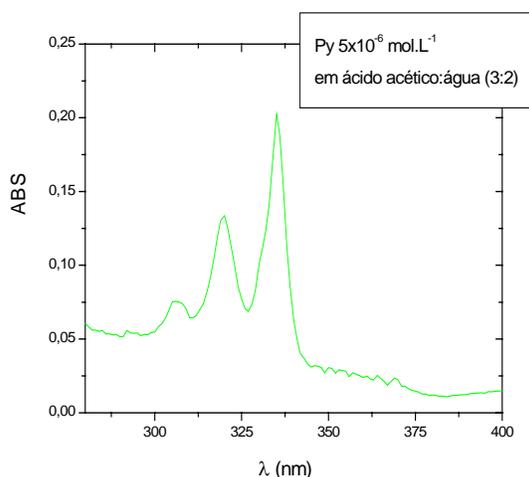


Figura 3 – Espectro de absorvância da sonda fluorescente pireno

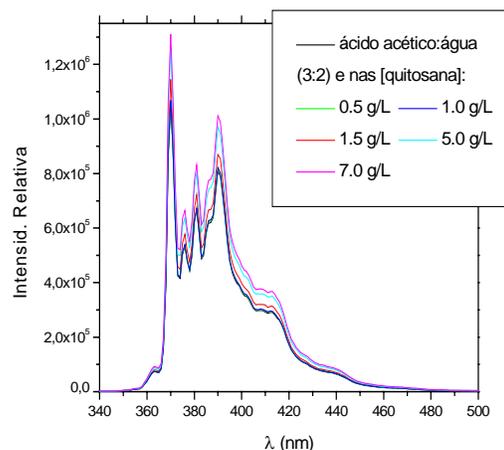


Figura 4 – Espectro de fluorescência da sonda pireno sob o efeito de concentrações crescentes de quitosana.

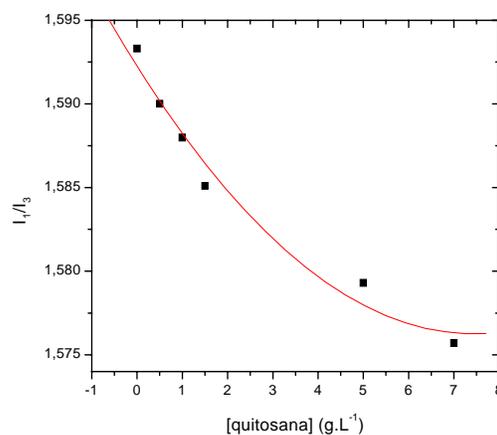


Figura 5 – Variações da razão I_1/I_3 por adições de quitosana.

CONCLUSÃO

O aumento da concentração da quitosana leva à formação de ambientes hidrofóbicos e os agregados formados são originados da interações entre cadeias de quitosana.

As variações nas razões I_1/I_3 com o aumento gradativo da concentração de quitosana demonstraram a existência de domínios hidrofóbicos.

Entretanto as variações são discretas. Para variações maiores e, portanto, maior agregação molecular uma alternativa viável para produção de carregadores de drogas seria a utilização de quitosana hidrofobicamente modificada.

Apoio: FAPESP

REFERÊNCIAS

1. Whistler, R. L., BeMiller, J. N., "*Industrial Gums – Polysaccharides and Their Derivatives*". Academic Press, New York, 1973.
2. Chandra, R., Rustgi, R., *Prog. Polym. Sci.*, 23, 1273, (1998).
3. Oungbho, K., Müller, B. W., *Int. J. Pharm.*, 156, 229, (1997).
4. Lakowicz, J. C., "*Principles of Fluorescence Spectroscopy*". Plenum, New York, 1984.
5. Wayne, R. P., "*Principles and Applications of Photochemistry*". Oxford University Press, Oxford, 1988.
6. Kalyanasunadaram, K., "*Photochemistry in Microheterogeneous Systems*". New York, Academic Press, 1987.