

ESTUDOS FOTOFÍSICOS EM SOLUÇÃO DE DEXTRANAS DE DIFERENTES MASSAS MOLARES

**Christiane de Almeida Lobato, Gisele Ferreira Freymann),
Douglas Gassetta e Máira R. Rodrigues**

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: dextran, pyrene, fluorescence, drugs delivery.

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

Área de conhecimento: III. Engenharia Biomédica

ABSTRACT

Studies on the microdomains formed in solution by natural or quimically modified polymers, as polysaccharide, are of great importance when desired to produce delivery systems for action-specific drugs. The dextran polysaccharide presents good biocompatibility and, therefore viability as drugs delivery. The advantage of the dextran is that it is biodegraded in human, tolerated good and not toxic. The microenvironment formed for dextrans in solution was studied using the pyrene probe, which presents considerable spectral variations, depending on the medium where it is located. This study it aims at the search of an ideal system to be used as drug delivery.

RESUMO

Estudos sobre os microdomínios formados em solução de polímeros naturais ou quimicamente modificados, como polissacarídeos, são de grande importância quando deseja-se produzir sistemas carregadores de drogas de ações específicas. O polissacarídeo dextrana apresenta boa biocompatibilidade e, portanto, viabilidade como carregador de drogas. A vantagem da dextrana é que ela é biodegradável em seres humanos, bem tolerada e não tóxica. O microambiente formado por dextranas em solução foi estudado usando o pireno, que apresenta variações espectrais consideráveis dependendo do ambiente onde está localizado. Este estudo visa a busca de um sistema ideal a ser usado como carregar da droga.

INTRODUÇÃO

O termo biomaterial se refere a um material com características tais que permitam sua interação com sistemas biológicos, podendo ser utilizado em vários campos da medicina.

Estudos sobre os microdomínios formados em solução por polímeros naturais ou quimicamente modificados, como polissacarídeos, são de grande importância quando se deseja utilizar os mesmos para o desenvolvimento de sistemas carregadores biopoliméricos de drogas de ações específicas.

O polissacarídeo dextrana (Figura 1) exhibe capacidade anticoagulante semelhante a heparina¹, ação de inibição sobre células

tumorais^{2,3} e sobre a infecção do vírus da AIDS quando em concentrações próximas a 10µg/mL⁴, também apresenta boa biocompatibilidade e por isso tem sido usado na preparação de hidrogéis carregadores de drogas. Em particular, o hidrogel de metacrilato glicidil dextrana / poli (etileno glicol) dimetacrilato tem mostrado propriedades físico-químicas úteis e viabilidade como carregador de drogas hidrofóbicas⁵. A grande vantagem na utilização da dextrana é que este polissacarídeo é biodegradável em humanos e não provoca reações no organismo.

Neste trabalho procurou-se estudar a possibilidade de formação de agregados por dextranas de diferentes massas molares e, assim

verificar a viabilidade na utilização deste polissacarídeo na forma natural como carregador de droga. O microambiente formado em solução foi estudado utilizando-se a sonda fotofísica pireno, que apresenta variações espectrais consideráveis, dependendo do meio em que está localizado.

Pireno é uma molécula fluorescente que muda sua emissividade dependendo do meio em que se encontra sendo então denominada de sonda fluorescente. As propriedades das sondas fluorescentes são utilizadas para explorar e examinar características estruturais e dinâmicas de um sistema.⁶

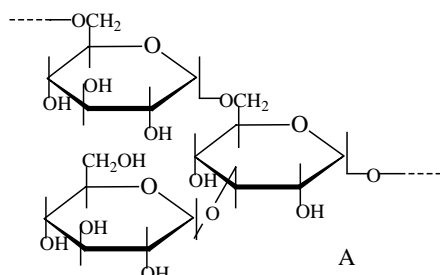


Figura 1. Fórmula molecular da dextrana.

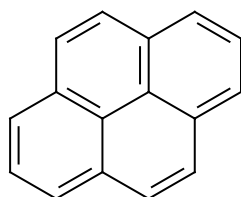


Figura 2. Fórmula molecular do pireno

Por não ter grupos polares, pireno é uma molécula hidrofóbica, utilizada para monitorar a formação de microdomínios hidrofóbicos. Possui um tempo de vida de fluorescência longo (450 ns), exibe também uma mudança clara na estrutura vibracional quando a polaridade do meio é alterada, sendo muito utilizado em estudos fotofísicos.

Em água, a razão entre as intensidades dos picos 1 e 3 do pireno é de aproximadamente 1,85 enquanto que em solventes apolares este número pode chegar a 0,57 como o caso do ciclohexano. Está características tem sido utilizada para determinação da concentração de agregação crítica (cac) e concentração micelar crítica (cmc) em agregados moleculares e micelares, respectivamente.⁷

OBJETIVO

Estudo fotofísico do microambiente formado pelo polissacarídeo dextrana, de diferentes massas molares, utilizando a sonda fluorescente pireno para produção de modelos de carregadores de drogas.

MATERIAIS

Reagentes

- Água purificada no sistema Milli-Q;
- Polissacarídeo dextrana (DX) de procedência Pharmacia-Uppsala de massas molares 40.000, 110.00, 250.000;
- Pireno (Py) da Aldrich;
- Metanol espectroscópio Vetec;

Equipamentos

- Espectrofotômetro UV – visível Cary50 Varian;
- Espectrofluorímetro - Fluoromax;

METODOLOGIA

O espectro de absorbância utilizando a sonda pireno foi realizado com uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm, na qual adicionou-se 2,5mL de água purificada. A este volume adicionou-se com o auxílio de uma microseringa Hamilton 8.4 μL de uma solução estoque de pireno de concentração de $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em metanol de forma a se obter uma solução de concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de pireno em água. O espectro de absorbância foi registrado no espectrofotômetro.

Os espectros de fluorescência foram registrados no espectrofluorímetro tendo como parâmetro fendas de excitação e emissão de 1nm e uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm.

As soluções foram preparadas conforme descrito para o experimento de absorbância. Após obter-se o espectro de emissão de fluorescência da solução de pireno $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em água adicionou-se uma alíquota da solução de dextrana de forma a se obter uma concentração de $0,2 \text{ g.L}^{-1}$. Este processo foi realizado para os três tipos de dextrana com massas molares diferentes.

RESULTADOS

Na figura 3 pode-se observar o espectro de absorbância do pireno, o qual apresenta máximos de absorção nos comprimentos de onda (λ) 305, 320 e 334 nm.

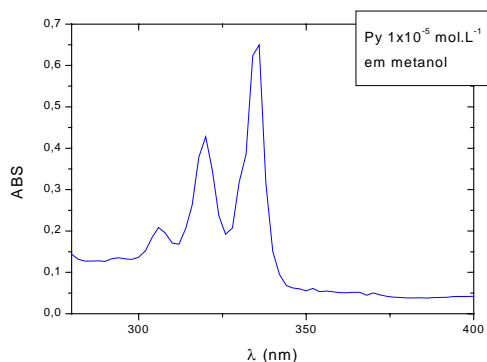


Figura 3. Espectro de absorvância do pireno em solução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em metanol.

O aumento da intensidade nos espectros de fluorescência (Figura 4) com adições de dextranas de massas molares crescentes mostra 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 quanto maior a massa molar da dextrana, devido a agregação das cadeias.

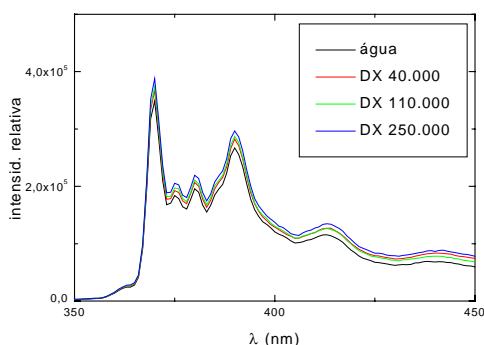


Figura 4. Espectros de fluorescência das dextranas e do pireno em água.

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

meio	I_1	I_3	I_1/I_3
Água	348708	195842	1,78056
DX40.000 em água	367230	206636	1,77718
DX110.00 0 em água	373716	210940	1,77167
DX250.00	387810	219254	1,76877

0 em
água

DISCUSSÃO

Na dextrana com massa molar 40.000 a razão entre o pico 1 e 3 é menor em relação a razão em água em 0,19%, comprovando a formação de microambientes hidrofóbicos.

Na dextrana com massa molar 110.000 a razão entre os picos é ainda menor quando comparada à água em 0,50%.

Na dextrana com massa molar 250.000 a razão entre os picos é o menor de todos (0,66% menor), sendo então a dextrana que forma mais microambientes hidrofóbico.

Todas as dextranas, possuem cadeias longas, agregam suas cadeias nas soluções formando microambientes hidrofóbicos. A dextrana de massa molar de 250.000 foi a que mais formou microambientes hidrofóbicos, devido o tamanho de suas moléculas, podendo agregar mais moléculas de pireno.

CONCLUSÃO

Observou-se que com aumento da massa molar de dextrana ocorreu a formação de ambientes mais hidrofóbicos.

A diferença das razões entre os picos 1 e 3 com as diferentes massas molares é discreta, sugerindo talvez a possibilidade de utilização de dextranas modificadas estruturalmente.

Apoio: FAPESP

REFERÊNCIAS

- 1- Krentsel, L., Chaubet, F., Rebrov, A., Champion, J., Ermakov, I., Bittoun, P., Femandjian, S., Litmanovich, A., Platé, N., Jozefonvicz, J., *Carbohydrate Polymers*, **33**, 63, (1997).
- 2- Bittoun, P., Bagheri-Yarmand, R., Chauber, F., Crépin, M., Jozefonvicz, J., Femandjian, S., *Biochem. Pharm*, **57**, 1399, (1999).
- 3- Bagheri-Yarmand, R., Liu, J.-F., Ledoux, D., Morere, J. F., Crépin, M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **239**, 424, (1997).

- 4- Yoshida, T., Hatanaka, K., Uryu, T., Kanero, Y., Suzuki, E., Miyano, H., mimura, T., Yoshida, O., Yamamoto, N., *Macromolecules*, 23, 3717, (1990).
- 5- Kim, I.-S., Jeong, Y.-L., Kim, S.-H., *Int. J. Pharm.*, 205, 109, (2000).
- 6- Lakowicz, J. C., "*Principles of Fluorescence Spectroscopy*". Plenum, New York, 1984.
- 7- Kalyanasundaram, K., "*Photochemistry in Microheterogeneous Systems*". New York, Academic Press, 1987.