

AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE BIOADESIVA DE MICROPARTÍCULAS DE PLGA REVESTIDAS COM QUITOSANA

Maria Clara Santos de Santana ¹; Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira ²

¹Estudante do Curso de Nutrição-CAV-UFPE; E-mail: mariacla.iza@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Centro Acadêmico de Vitória CAV-UFPE E-mail: marianelira@gmail.com.

Sumário: O uso de biopolímeros naturais, como os polissacarídeos, no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada tem crescido devido a características como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade. A quitosana é um exemplo de polissacarídeo bastante utilizado em decorrência a sua capacidade de proporcionar bioadesão e gastroresistência aos sistemas microparticulados com estrutura núcleo-coroa revestido por este polissacarídeo apresentando características atrativas para o desenvolvimento de sistemas para a administração por via oral. Assim, este trabalho descreve a preparação de micropartículas de PLGA revestidas com quitosana (CS/PLGA), a caracterização e avaliação da bioadesão in vivo. As micropartículas foram preparadas a técnica de emulsificação água-óleo-água seguida por evaporação do solvente com posterior adsorção da quitosana. Micropartículas fluorescentes foram preparadas seguindo-se a mesma metodologia descrita utilizando a Rodamina como marcador fluorescente. Após preparação, as micropartículas foram caracterizadas avaliando-se o tamanho de partícula, a carga da superfície bem como a quantidade de rodamina encapsulada. Finalmente a bioadesão foi avaliada in vivo utilizando ratos Wistar. Microesferas de PLGA revestidas por quitosana foram obtidas apresentando tamanho médio em torno de 2.0 µm com carga positiva. As Microesferas CS/PLGA 1:1 apresentaram maior percentual de bioadesão na porção final do intestino e ceco mesmo 8 h após a administração da dose. Ademais, observou-se um tropismo dessas microesferas para a área do estômago e duodeno. Todos os achados sugerem que as microesferas revestidas por quitosana preparadas apresentam uma potencial utilização como sistemas de liberação controlada por via oral.

Palavras-chave: bioadesão; micropartículas; quitosana

INTRODUÇÃO

O interesse no uso de biopolímeros naturais e em especial, polissacarídeos, para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada tem crescido devido, por exemplo, a características como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (Acharya et al., 2010). Dentre os vários polissacarídeos utilizados, a quitosana é um polissacarídeo linear constituído por resíduos de D-glicosamina e N-acetil-D-glicosamina, obtida a partir da quitina ou presente naturalmente na parede celular de alguns fungos. Por apresentar propriedade mucoadesiva, a quitosana desperta interesse como molécula de revestimento para sistemas microparticulados (Chakravarthi et al., 2011) principalmente aqueles destinados a administração por via oral. Assim, considerando as propriedades relativas à bioadesão da quitosana além da sua gastroresistência, os sistemas microparticulados com estrutura núcleo-coroa revestido por este polissacarídeo apresentam características atrativas para o desenvolvimento de sistemas para a administração por via oral (Semete et al., 2010; Chakravarthi et al., 2011). Dessa forma, a administração oral de fármacos encapsulados em micro ou nanopartículas resistente ao ambiente gastrointestinal e transportado através de

células do epitélio intestinal podem representar uma ferramenta eficaz para melhorar a biodisponibilidade oral de vários compostos bioativos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para preparação das micropartículas de PLGA foi utilizada a técnica de emulsificação água-óleo-água (a/o/a), seguida por evaporação do solvente descrito por Ribeiro-Costa et al., 2004. Em seguida, as microesferas de PLGA revestidas por quitosana (CS) foram preparadas pelo método de adsorção utilizando microesfera pré-formada (Chakravarthi et al., 2011). Micropartículas fluorescentes foram preparadas seguindo-se a mesma metodologia descrita utilizando a Rodamina como marcador fluorescente. Após preparação, as micropartículas foram caracterizadas avaliando-se o tamanho de partícula, a carga da superfície bem como a quantidade de rodamina encapsulada. O tamanho foi avaliado através da técnica de difração a laser utilizando um analisador de tamanho de partícula (Microtrac® S3500, USA). Por outro lado, a carga de superfície determinada através da mobilidade eletroforética (μE) medida utilizando um Nano-ZS90 Zetasizer (Malvern, UK) a 25 °C. Finalmente, a quantidade de rodamina nas microesferas foi determinada por espectrofluorescência com comprimento de excitação de λ_{ex} 540 nm e comprimento de emissão de λ_{em} 580 nm, utilizando uma curva padrão da rodamina em metanol com concentrações variando de 0,2 a 0,9 $\mu\text{g/ml}$. Os experimentos foram realizados em triplicata. O conteúdo da rodamina foi então usado para calcular a eficiência de encapsulação nas microesferas de acordo com $\text{EE (\%)} = [\text{Rodamina}_{\text{quantificada}}]/[\text{Rodamina}_{\text{teórica}}] \times 100$. Os resultados foram apresentados como valor médio e o desvio padrão de dez corridas analisadas. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os estudos de bioadesão *in vivo* foram realizados de acordo com o método descrito por Yoncheva et al., 2007, em conformidade com os regulamentos da Comissão de Ética no uso de animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (n° 23076.03189/2014-44). Ratos Wistar machos (225 g) foram divididos aleatoriamente em 4 grupos que receberam solução salina, micropartículas de PLGA, micropartículas CS:PLGA 0,3:1 e micropartículas CS:PLGA 1:1. Microesferas fluorescente revestidas ou não com quitosana (10 mg), dispersas em água, foram administradas oralmente por gavagem e em tempos pré-determinados (0,5, 1, 3 e 8 h) após administração, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Em seguida, a cavidade abdominal foi aberta e o estômago, intestino e ceco foram removidos. Os tecidos foram digeridos com NaOH (1M), centrifugados e, em seguida, a fluorescência obtida no sobrenadante do material foi avaliada por espectrofluorimetria usando comprimento de excitação de λ_{ex} 540 nm e comprimento de emissão de λ_{em} 580 nm

RESULTADOS

Os resultados referentes a preparação e caracterização das micropartículas preparadas estão contidas na tabela 1.

CS/PLGA-MS (w/w)	Tamanho de Partícula		Potential Zeta (mV)
	dv (μm)	Span	
0:1	6.14	2.38	-9.33 ± 0.10
0.3:1	6.98	2.84	-6.14 ± 0.35
0.6:1	5.35	2.51	10.00 ± 0.70
1:1	6.33	2.00	15.00 ± 1.22

Tabela 1. Composição, tamanho de Partícula e Potencial Zeta das CS/PLGA-MS.

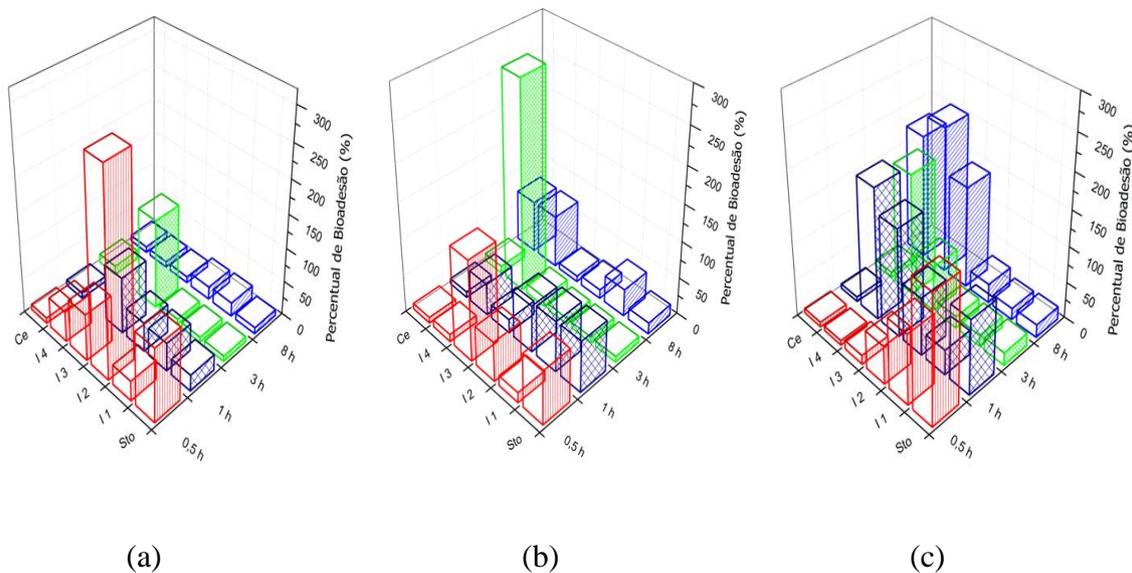


Figura 1. Percentual de bioadesão das microesferas aderidas ao trato gastrointestinal de ratos após a administração oral de dose única de 10 mg de microesferas contendo rodamina. (a) Microesferas de PLGA; (b) Microesferas de CS/PLGA 0,3:1 e (c) Microesferas de CS/PLGA 1:1. O eixo *x* representa os diferentes segmentos do intestino (estômago: Sto; Porções do intestino: I1, I2, I3, I4; Ceco: Ce]; eixo *y* representa o percentual de bioadesão (%); eixo *z* representa o tempo pós-administração.

DISCUSSÃO

Microesferas de PLGA revestidas por quitosana foram obtidas e o tamanho de partícula não aumentaram de modo significativo após adsorção ($1,9 \pm 0,2 \mu\text{m}$) ou conjugação ($2,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$) seguindo relatos descritos na literatura (Lubben et al., 2001). Em relação a carga da superfície, estes resultados indicaram o revestimento de quitosana nas microesferas de PLGA, sugerindo a formação de microesferas núcleo-coroa. A carga positiva das microesferas de PLGA revestidas por quitosana é devido a presença de grupos amino livres das moléculas de quitosana, enquanto a carga de superfície negativa de microesferas de PLGA é associado com os grupos carboxílicos do poliéster na superfície das microesferas (Manca et al., 2008). O perfil de bioadesão das PLGA-MS, 30 min após a administração, mostra um alto percentual de microesferas no trato gastrointestinal, principalmente no estômago e intestino delgado. Após 1 h, observa-se que as microesferas seguem o fluxo do trânsito gastrointestinal, exibindo pouca quantidade naquelas regiões.

Chakravarthi et al, 2010 relatou que micropartículas de PLGA aderem ao muco da membrana das células, podendo ser otimizado quando o sistema apresenta um revestimento de outro polímero mucoadesivo. CS/PLGA-MS 0,3:1 quando avaliadas, exibiram maior bioadesão nas porções iniciais nos tempos de 30min e 1h, 60%, na terceira avaliação às 3h esse percentual se reduz a 8%, contudo houve um aumento da concentração de micropartículas nas porções distais, em torno de 70%, se mantendo até as 8h pós administração. Nesse aspecto, CS/PLGA-MS 1:1 apresentou um perfil de bioadesão semelhante à CS/PLGA-MS 0,3:1 quando avaliada após 30 min e 1 h após a administração, porém apesar dessa concentração diminuir com o passar do tempo ainda permanece uma fração de 17% de micropartículas nas porções iniciais do trato gastrointestinal, e somando a isso passado 8h após a administração da dose observa-se o máximo de microesferas de CS/PLGA-MS 1:1 na porção distal do jejuno e íleo e na região do ceco. Desse modo, sugere-se que o revestimento dos sistemas microparticulados por quitosana acentua o processo de bioadesão à mucosa do trato gastrointestinal. Isso ocorre devido à presença de grupos amino primários na estrutura da quitosana conferindo carga positiva a mesma. Considerando que a mucosa intestinal é caracteristicamente negativa, a interação com a quitosana favorece a propriedade de mucoadesividade e o aumento do tempo de associação com ela (Kumar, 2000; Hejazi et al., 2003; Manca et al., 2008; Chakravarthi et al., 2011).

CONCLUSÕES

Microesferas de quitosana PLGA (CS/PLGA) foram desenvolvidas e caracterizadas. As Microesferas CS/PLGA 1:1 apresentaram maior percentual de bioadesão na porção final do intestino e ceco mesmo 8 h após a administração da dose. Ademais, observou-se um tropismo dessas microesferas para a área do estômago e duodeno. Todos os achados sugerem que as microesferas revestidas por quitosana desenvolvidas apresentam uma potencial utilização como sistemas de liberação controlada por via oral.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Propesq pela bolsa de Iniciação Científica e a Doutoranda Rebecca Torelli pelo apoio científico na realização dos experimentos.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, G.; SHIN, C. S.; MCDERMO, M.; MISHRA, H.; PARK, H.; KWON, I. C.; PARK, K. **Journal of Controlled Release**. P. 213-219, 2010.
- CHAKRAVARTHI, S.S., DE, S., MILLER, D.W., ROBINSON, D.H. **Int.J.Pharm.** p. 37-44, 2010.
- CHAKRAVARTHI, S. S.; ROBINSON, D. H. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 111-120, 2011.
- HEJAZI, R.; AMIJI, M. **Journal of Controlled Release**.p. 151-165, 2003.
- KUMAR, M. N. V. R. **Reactive and Functional Polymers**. p. 1-27, 2000.
- LUBBEN, I. M.; VERHOEF, J. C.; AELST, A. C.; BORCHARD, G.; JUNGINGER, H. E. **Biomaterials**. p. 687-694, 2001.
- MANCA, M.-L.; MOURTAS, S.; DRACOPOULOS, V.; FADDA, A. M.; ANTIMISIARIS, S. G. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, p. 220-231, 2008.
- RIBEIRO-COSTA, R. M.; ALVES, A. J.; SANTOS, N. P.; NASCIMENTO, S. C.; GONÇALVES, E. C. P.; SILVA, N. H.; HONDA, N. K.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. **Journal of Microencapsulation**, p. 371-384, 2004.
- SEMETE, B.; BOOYSEN, L. I. J.; KALOMBO, L.; VENTER, J. D.; KATATA, L.; RAMALAPA, B.; VERSCHOOR, J. A.; SWAI, H. **Toxicology and Applied Pharmacology**, p.158-165, 2010



YONCHEVA, K.; GUEMBE, L.; CAMPANERO, M.A.; IRACHE, J.M. **Inter. J. Pharm.** v. 334, p. 156–165, 2007.