

11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

POLISSACARÍDEOS NA ESTABILIZAÇÃO DE PARTÍCULAS LIPÍDICAS

Maria I. Z. Lionzo¹, Edvani Curti Muniz², Nádyá P. Da Silveira^{1*}

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Campus do Vale, Rio Grande do Sul – RS
Avenida Bento Gonçalves, 9500; 91501-910 Porto Alegre – RS – nadya@iq.ufrgs.br

²Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá,
Av. Colombo, 5790, CEP 87020-970, Maringá – Brazil

Resumo: Neste trabalho será apresentada a avaliação do impacto de diferentes quantidades de polieletrólitos sobre o tamanho, a carga superficial e a rigidez das bicamadas de lipossomas multilamelares. Para esse fim, foram desenvolvidos lipossomas compósitos contendo quitosana e sulfato de condroitina. A utilização de um segundo polieletrólito, a condroitina, no revestimento dos lipossomas foi empregado com o intuito de modular a carga superficial mantendo a estabilidade conferida pela quitosana. O estudo empregou espalhamento de luz e raios-X. Valores de potencial zeta foram utilizados para determinar a densidade de carga e quantidade de polieletrólitos adsorvidos.

Palavras-chave: *lipossomas, quitosana, sulfato de condroitina, potencial zeta*

Polysaccharides for stabilization of lipid particles

Abstract: The main goal of this paper was to investigate the impact of different amounts of polyelectrolytes on the size, surface charge and rigidity of the bilayers of multilamellar liposomes. For this purpose, composite liposomes were developed containing chitosan and chondroitin sulfate. The use of a second polyelectrolyte, chondroitin sulfate, for the coating of the liposomes was applied in order to modulate their surface charge, maintaining the stability given by the presence of chitosan. Light and X-rays small angle scattering were the main techniques applied. Zeta-potential values were used to determine the charge density and the amount of adsorbed polyelectrolytes on the liposomes.

Keywords: *liposomes, chitosan, chondroitin sulfate, zeta-potential*

Introdução

Além dos estudos fundamentais que avaliam a associação entre polieletrólitos e fosfolípidos, o desenvolvimento de nanopartículas a partir desses componentes apresenta implicações científicas e tecnológicas[1]. Na área de alimentos, por exemplo, tais sistemas podem ser empregados como estabilizantes [2], na área farmacêutica como encapsulantes de substâncias ativas visando liberação controlada e produção de vacina[3]. Além disso, podem ser utilizados como reatores em nanoescala[4] e no desenvolvimento de biosensores[5]. Uma maneira de produzir sistemas compósitos é mediante a preparação de um núcleo fosfolipídico revestido por polieletrólitos. Essa metodologia vem sendo utilizada na obtenção de quitossomas, ou seja, lipossomas na presença de quitosana[6]. Foi verificado que, mesmo em quantidades pequenas, a quitosana promove a estabilização da estrutura lamelar por interações eletrostáticas[7]. O revestimento dessas estruturas lipídicas contendo a quitosana interna e externamente com polieletrólitos de carga oposta, como por

exemplo o sulfato de condroitina, tem como objetivo aprimorar a estabilidade, as características físico-químicas e superficiais do lipossoma, podendo este adaptar-se a diferentes ambientes químicos ou direcioná-lo para um sítio específico, quando desenvolvidos para fins terapêuticos.

Logo, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da presença da quitosana (interna e externamente) e do sulfato de condroitina (externamente, ligada à quitosana) em lipossomas preparados a partir da fosfatidilcolina da lecitina de soja.

Experimental

Materials

A fosfatidilcolina (PC) da lecitina de soja foi obtida da empresa Bunge S. A. e a quitosana (CH) de massa molar de $1,5 \times 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$ foi adquirida da Aldrich. O sulfato de condroitina (CS) de massa molar de $2,2 \times 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$ utilizado foi uma doação de Solabia (lote OP0841/08). Todas as amostras preparadas foram diluídas utilizando-se água purificada Milli-Q (condutividade $< 18,4 \mu\text{S}$). Todos os produtos e reagentes foram utilizados como recebidos, sem purificação prévia.

Métodos

Quitossomas (Chit) modificados com condroitina (Chit-CS) foram preparados pela técnica de emulsificação e evaporação em fase reversa[8]. O organogel resultante dessa preparação foi disperso em água purificada sob agitação vigorosa, rendendo duas séries de amostras, Chit-1 e Chit-10, referidas como série de baixa e de alta concentração de polieletrólitos, respectivamente.

A tabela 1 indica a composição quantitativa das amostras finais investigadas.

Tabela 1: Concentração em massa e em número de cargas ($\times 10^{18}$) de fosfatidilcolina, quitosana e condroitina em 100 mL de suspensão.

Amostra	PC (% m/V)	$n^- \text{PC}^a$	CH (% m/V)	$n^+ \text{CH}^b$	CS (% m/V)	$n^- \text{CS}^c$
Chit-1	1,2	950	0,0008	1,7	-	-
Chit-CS-1	1,2	950	0,0008	1,7	0,0004	1
Chit-CS-2	1,2	950	0,0008	1,7	0,0008	2
Chit-CS-3	1,2	950	0,0008	1,7	0,0012	3
Chit-10	1,2	950	0,008	17	-	-
Chit-CS10	1,2	950	0,008	17	0,004	10
Chit-CS-20	1,2	950	0,008	17	0,008	20
Chit-CS-30	1,2	950	0,008	17	0,012	30

^ao número de cargas negativas dos grupamentos fosfato. ^bo número de cargas positivas dos grupos D-glicosamina. ^cnúmero de cargas negativas dos grupos sulfato e ácido carboxílico.

Resultados e Discussão

A amostra de referência apresentou diâmetro de partícula em torno de 190 ± 2 nm. A amostra Chit-1 apresentou tamanhos similares, em torno de 180 ± 13 nm. Observou-se tendência de aumento no tamanho e no desvio padrão dos tamanhos das partículas conforme houve adição de maior quantidade de polieletrólito. As amostras Chit-CS-1 e Chit-CS-3 apresentaram diâmetros entre 216 ± 13 nm e 235 ± 30 nm, respectivamente. Apesar dos desvios padrão elevados para algumas amostras, a maioria dos índices de dispersão esteve abaixo de 0,3. A análise de variância (ANOVA) dos diâmetros demonstrou que $F_{\text{calc}} = 0,050$ e $F_{\text{tab}(2,18); 5\%} = 0,051$, não havendo diferença significativa entre os diâmetros das diferentes amostras. Combinando-se os resultados obtidos pelas análise de potencial ζ com o valor de rendimento do complexo, as quantidades aproximadas de condroitina fixa na superfície das partículas das amostras Chit-CS-10 e Chit-CS-20 puderam ser estimadas. O rendimento em massa do complexo $C\%$ obtido a partir das soluções preparadas com razões condroitina/quitosana $\rho = 0,5, 1,0$ e $2,0$ foram 95%, 93% e 87%, respectivamente. Este estudo mostrou que, aumentando-se a razão de condroitina/quitosana de 0,5 para 2,0, o $C\%$ sofreu redução. Provavelmente, durante a formação do complexo, algumas cargas positivas da quitosana tenham sido escondidas no interior do agregado, tornando-se indisponíveis para a formação do complexo com a condroitina, cujo excesso deve ter permanecido em solução.

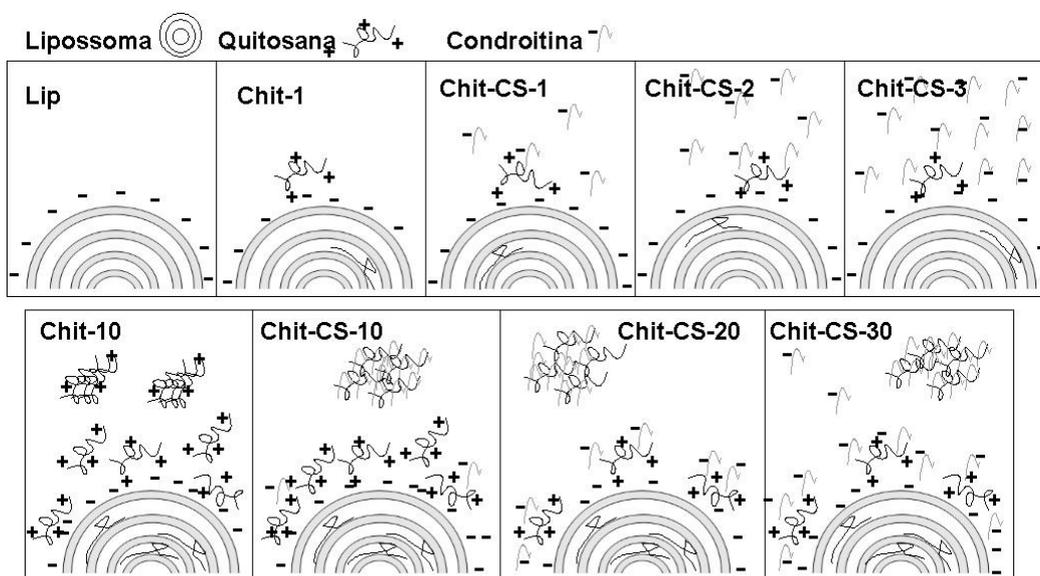


Figura 1: Representação esquemática das amostras de lipossomas compostos.

A razão condroitina/quitosana nas amostras Chit-CS-2, Chit-CS-3, Chit-CS-20 e Chit-CS-30 foi, certamente, maior do que 2,0 indicando a provável existência de cadeias livres de condroitina em

solução, como foi proposto anteriormente. Além disso, parte da quitosana na superfície das partículas não poderia estar disponível para a interação com a condroitina, uma vez que, estaria distribuída nas camadas internas e mesmo as cadeias de quitosana na superfície estariam parcialmente envolvidas em interações com fosfolipídeos. A Figura 1 mostra uma esquematização da composição dos lipossomas preparados na presença de diferentes concentrações de quitosana e condroitina, em função dos dados de potencial-zeta e distribuição de cargas obtidos. A análise dos perfis de espalhamento obtidos com as amostras através de SAXS foi baseada na contribuição do fator estrutura $S(q)$. Parâmetros como espessura da membrana, foram usados para comparar o efeito dos polieletrólitos nas amostras Chit-CS. Os valores estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados de SAXS: distância de repetição d ; média do número de repetição estrutural dado pela largura à meia altura do pico (FWMH), N_{FWMH} e parâmetro de Caillé, η_l .

Amostra	d	N_{FWMH}	η_l
Lip	6,50 ⁹	8 ⁹	<0,200 ²⁴
Chit-1	6,26	23	440
Chit-CS-1	6,26	18	0,286
Chit-CS-2	6,27	21	0,348
Chit-CS-3	6,33	17	0,441
Chit-10	6,27	26	0,317
Chit-CS10	6,32	20	0,284
Chit-CS-20	6,35	20	0,280
Chit-CS-30	6,37	20	0,320

A distância de repetição d demonstrou mudança sutil devido à variação da concentração de quitosana. Comparando-se amostras com diferentes concentrações de quitosana, observou-se que, conforme as concentrações foram aumentadas, houve um discreto aumento em d . Isso pode ser devido à localização da quitosana, associada com as regiões polares das bicamadas fosfolipídicas. A Teoria de Caillé Modificada foi usada para analisar a estrutura multilamelar das amostras Chit e Chit-CS objetivando-se encontrar informações sobre as flutuações causadas pela presença de quitosana nos espaços interlamelares, bem como pelo revestimento com condroitina. O parâmetro de Caillé η_l relaciona-se com constantes elásticas da estrutura lamelar [9-11] Os valores de η_l relatados para bicamadas fosfolipídicas variam entre 0,1 e 1,0 e quanto menor o valor, maior a rigidez da bicamada e, para lipossomas multilamelares compostos por fosfatidilcolina, os valores variam entre 0 e 0,200[11]. A Tabela 2 apresenta os valores de η_l para as amostras neste estudo.

Conclusões

Lipossomas multilamelares compósitos baseados nas interações entre condroitina e quitosana foram desenvolvidos. A associação de condroitina e quitosana levou a interações superficiais entre esses dois polieletrólitos, definindo a carga superficial das partículas. Como visto pelos resultados do potencial ζ , foi possível modular a carga de valores positivos a negativos dependendo da concentração de polieletrólito empregada. Essa interação também levou a variações nos tamanhos de partícula. As amostras apresentaram aumento nos tamanhos médios de 180 nm a 250 nm dependendo da concentração de polieletrólito empregada. Além disso, através das análises por espalhamento de raios-X em baixos ângulos, foi observado que a presença da quitosana induziu a mudanças na rigidez lamelar dos lipossomas compósitos, enquanto que a condroitina mostrou pequena influência sobre esse parâmetro.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e à Rede Nanocosméticos CNPq/MCT pelo suporte financeiro.

Referências Bibliográficas

1. Brandão, M. Self-Assembly and Self-Organization of Surfactants in Agriculture. In: Somasundara, P.; Hubbard, A. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. 2 ed. Taylor & Francis, 2006.
2. Al Attar, H. A.; Monkman, A. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12418.
3. Marón, L. B.; Covas, C. P.; Silveira, N. P.; Pohlmann, A.; Mertins, O.; Tatsuo, L. N.; Santana, O. A. B.; Moro, A. M.; Takata, C. S.; Araujo, P. S.; Costa, M. H. B. *J. Liposome Res.* **2007**, *17* (3-4), 155.
4. Shchukin, D.; Sukhorukov, G. B. M. *Adv. Mater.* **2004**, *8*, 6713.
5. Sant'Anna, V.; Malheiros, P.; Brandelli, A. *J. Food. Res.* **2011**, *44*(1), 326.
6. Mertins, O.; Sebben, M.; Pohlmann, A. R.; Silveira, N. P. *Chem. Phys Lip.* **2005**, *138*, 29.
7. Mertins, O.; Cardoso, M. B.; Pohlmann, A. R.; Silveira, N. P. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2006**, *6*, 2425.
8. Pabst, G.; Koschuch, R.; Pozo-Navas, B.; Rappolt, M.; Lohner, K.; Lagner, P. *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 1378.

9. Zhang, R.; Sun, W.; Tristram-Nagle, S.; Headrick, R. L.; Suter, R. M.; Nagle, J.F. *Phys. Rev. Lett.* **1995**, *74*, 2832.
10. Bates, F. S.; Cohen, R. E.; Berney, C. V. *Macromolecules*, **1982**, *15*, 589.
11. Safinya, C. R.; Roux, D.; Smith, S.S.; Sinha, S. K.; Dimon, P.; Clark, N.A.; Bellocq, A.M. *Rev. Lett.* **1986**, *57*, 2718.