

MEMBRANAS DE NANOFIBRAS MUCOADESIVAS DE QUITOSANO/PEO

Silvia Vaz Guerra Nista*, Thuany de Brito Melo, Lucía Helena Innocentini Mei

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Engenharia de Materiais e Bioprocessos (DEMBio). Campinas, Brasil. Correo electrónico: silnista@yahoo.com.br

Recibido: Enero 2015; Aceptado: Agosto 2015

RESUMO

Os revestimentos mucosos (nasal, retal, ocular, vaginal e a cavidade bucal) são considerados sítios potenciais para a administração de drogas, com várias vantagens em relação a administração oral; porém, sistemas adesivos eficientes para administração de fármaco, *in situ*, tem se apresentado como um grande desafio, devido a sua baixa eficiência. A comunidade científica tem realizado grandes esforços e muitos sistemas poliméricos mucoadesivos foram testados com o objetivo de aumentar a interação e a duração do contato entre o polímero, contendo o fármaco, e a superfície da mucosa, entretanto, muitos desafios ainda devem ser superados. Neste trabalho realizou-se o desenvolvimento de membranas nanoestruturadas eletrofiadas de polímeros mucoadesivos, com alta adesão para liberação de fármacos. As membranas nanoestruturadas de quitosano (CHI)/poli(óxido de etileno)(PEO) obtidas em várias concentrações e diferentes proporções de CHI/PEO, foram testadas. As soluções foram caracterizadas quanto a viscosidade, condutividade e tensão superficial. A caracterização morfológica das membranas foi feita por MEV.

Palavra chaves: Polímeros Mucoadesivos, Nanofibras, Eletrofiação.

ABSTRACT

Mucosal are considered potential sites for administration of drugs with several advantages over oral administration¹. The mucosa (nasal, rectal, ocular, vaginal and oral cavity) are considered as potential sites for administration of drugs. The use of mucoadhesive systems for drug delivery still requires great efforts from the scientific community, due to the low efficiency of the adhesive systems existing, in order to increase the interaction and the duration of contact between the polymer containing the drug, and the mucosal surface, however, many challenges remain to be overcome. In this work the development of nanostructured membranes eletrofiadas mucoadhesive polymers with high adherence to drug delivery. The nanostructured membranes of chitosan (CHI)/poly(ethylene oxide) (PEO) obtained in various concentrations and different ratios of CHI/PEO were tested. The solutions were characterized as viscosity, conductivity and surface tension. The morphological characterization of the membranes was made by SEM.

Key words: Polímeros Mucoadesivos, Nanofibras, Eletrofiação.

INTRODUÇÃO

A administração de fármacos aos pacientes, de maneira mais fisiologicamente aceitável, tem sido sempre uma preocupação da área médica. Entre as várias vias de administração de fármacos, a via oral é a preferida de ambos, paciente e médico. No entanto administração oral de fármacos tem desvantagens observadas como: metabolismo de primeira passagem hepático e degradação enzimática dentro do trato gastro intestinal, sendo que a administração oral também proíbe certas classes de drogas, especialmente peptídeos e proteínas [1]. As mucosas de absorção (ou seja, o revestimento mucoso nasal, retal, ocular, vaginal e a cavidade oral) são consideradas sítios

potenciais para a administração de drogas, oferecendo vantagens distintas sobre a administração por via oral [2].

Várias empresas estão atualmente envolvidas no desenvolvimento e comercialização de tecnologias de liberação de drogas com base no sistema via transmucosa oral, devido as vantagens já descritas anteriormente. Uma das maiores limitações associadas com estes sistemas, é a dificuldade de fixação desta forma de dosagem no local de absorção. Assim, é nesta área onde o foco de pesquisa é mais necessário e motivador deste trabalho.

O uso de membranas de nanofibras eletrofiadas, como agentes carreadores para fármacos, tem mostrado um futuro amplo em aplicações biomédicas, segundo a literatura científica. Comparado com outras formas farmacêuticas, existem várias vantagens em usar nanofibras eletrofiadas. Fármacos podem ser convenientemente incorporados aos polímeros antes ou durante a eletrofiação; enquanto que o perfil de liberação da droga pode ser projetado por uma modulação da morfologia, da porosidade e da composição da membrana de nanofibras [3]. Assim, a eletrofiação de biopolímeros mucoadesivos tem sido um grande desafio devido a limitada solubilidade destes, na maioria dos solventes orgânicos; a pouca flexibilidade molecular; e a facilidade para formar ligações de hidrogênio, na estrutura tridimensional.

Uma boa mucoadesão é desejada porque aumenta a interação e duração do contato entre o polímero, contendo o fármaco, e uma superfície mucosa. Com isso utiliza-se, concentrações mais baixas e menor frequência de administração do fármaco para alcançar o resultado terapêutico desejado. Os atributos poliméricos necessários para elevada mucoadesão incluem hidrofilicidade, carga potencial negativa e presença de grupos que formem ligações de hidrogênio. O polímero também deve possuir uma flexibilidade suficiente para penetrar na rede que forma a mucosa, ser biocompatível, não tóxico e economicamente viável [4]. Dentre estes, podemos citar como exemplo a agarose, a quitosana, a gelatina, o ácido hialurônico, o alginato de sódio, a goma xantana, a pectina, a goma guar, a carboximetil celulose, dentre outros [5].

Podemos encontrar alguns trabalhos mostrando a utilização de sistemas desenvolvidos a partir de polímeros mucoadesivos, para liberação de fármacos via transmucosa; dentre eles temos o trabalho de *Han et al.* [6] sobre discos mucoadesivos bucais de Carbopol 934 e hidroxipropilcelulose (CP: HPC), para liberação controlada de nalbufina. Em outro trabalho, de *Shanker et al.* [7] desenvolveram uma formulação e avaliaram a entrega da droga cloridrato de tizanidina em um comprimido bioadesivo bucal.

A utilização de membranas nanoestruturadas de polímeros mucoadesivos nestes sistemas apresenta-se como inovadora do ponto de vista científico, e desafiadora do ponto de vista técnico. Neste trabalho foram desenvolvidas membranas de nanofibras mucoadesivas, utilizando-se como polímeros a quitosana (CHI) e o poli(óxido etílico) (PEO) para futura incorporação de fármacos e liberação *in situ* via transmucosa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais. Os materiais utilizados neste trabalho foram: Quitosano (CHI; baixa massa molar 20–300 cP, 1% em 1% ácido acético (25°C), Poli(óxido de etílico) (PEO; $M_v \sim 900.000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$), todos *Sigma-Aldrich*; ácido acético glacial PA (*Merck*); Água deionizada.

Solução de Quitosano/PEO. Preparou-se soluções de 5% de CHI (m/m) em ácido acético 1 M. A solução PEO foi preparada adicionando-se 4% de PEO (m/m) em água deionizada. Neste caso, estas soluções foram mantidas em agitação por aproximadamente 4 horas para a completa homogeneização.

A solução de CHI/PEO foi preparada adicionando-se proporções variáveis das duas soluções anteriores, como pode ser verificado na Tabela 1. Estas soluções foram mantidas sob agitação por aproximadamente 2 horas para a completa homogeneização.

Tabela 1. Condições experimentais utilizadas na preparação das soluções de CHI/PEO.

Solução	%CHI (m/m)	%PEO (m/m)	Proporção (CHI/PEO) (m/m)
(CHI/PEO) 50:50	5	4	50:50
(CHI/PEO) 60:40	5	4	60:40
(CHI/PEO) 70:30	5	4	70:30
(CHI/PEO) 80:20	5	4	80:20
(CHI/PEO) 90:10	5	4	90:10
(CHI/PEO) 100:0	5	4	100:0
(CHI/PEO) 70:30	6	4,8	70:30
(CHI/PEO) 70:30	7	5,6	70:30

Caracterização das soluções poliméricas. Todas as soluções poliméricas foram caracterizadas através das análises de viscosidade, tensão superficial e condutividade. Utilizou-se um reômetro programável (*Programmable Rheometer*) da marca *Brookfield*, Modelo LVDV3T, acopladas a um banho *Brookfield* modelo TC-550MX para análise de viscosidade. Para análise de

tensão superficial foi utilizado um tensiômetro da *Kruss*, modelo K6, e para análise de condutividade um multiparâmetro da *Micronal*, modelo AJX-522. Todas medidas foram realizadas em triplicata a 25°C.

Eletrofição das soluções CHI/PEO. As soluções preparadas foram eletrofiadas em temperaturas de 25 a 31°C e umidade relativa(UR) variando de 31 a 58%, utilizando-se uma seringa de vidro de 20 mL, com uma agulha metálica de 4 cm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro interno. O polo positivo de uma fonte de alta tensão, projetada para trabalhar na faixa de 2 a 32 kV, foi conectado a agulha metálica da seringa, enquanto que o eletrodo terra foi utilizado para aterrar a placa coletora de cobre, com as dimensões de 30·40 cm. A vazão foi controlada por uma bomba marca *KdScientific*, modelo 100, conectada a seringa. A distância da agulha ao coletor variou entre 10 e 20 cm, a tensão aplicada entre 10 e 25 kV e a vazão entre 0,5 e 1 mL/h, dependendo da solução eletrofiada. As amostras foram coletadas em folhas de papel alumínio, as quais revestiam a placa de cobre durante os experimentos.

Caracterização das membranas eletrofiadas de CHI/PEO. As amostras das membranas nanoestruturadas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), com o objetivo de conhecer a morfologia e a distribuição das fibras obtidas; além do diâmetro das mesmas, sua variação e a presença de contas, dentre outros aspectos. Para isso, utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura *Leica LEO 440i*.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As membranas de CHI/PEO foram produzidas inicialmente na proporção de 50:50 de uma solução 5% CHI e 4% PEO. Foram utilizados como parâmetros de processo: V = 20 kV, D = 15 cm e R = 1 mL/h. Na Figura 1a pode-se verificar a imagem de MEV, para a membrana obtida, nestas condições de processamento. Observa-se que a membrana exibiu uma boa formação e diâmetro uniforme das nanofibras, na faixa de 159 ± 42 nm, as quais não apresentaram defeitos, como a formação de contas.

Devido ao bom resultado obtido, resolveu-se aumentar as proporções de CHI na solução e eletrofiar nas mesmas condições de processo, observando-se o efeito sobre o aspecto da membrana. Foram testadas proporções de 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, e 100:0 5% CHI/4% PEO. Nas Figuras 1(a – e) verifica-se a imagem de MEV para as membranas obtidas, em cada uma destas proporções. Quando foi utilizada a proporção 100:0 da solução 5% CHI/4% PEO, não foi possível a obtenção de

fibras depositadas no coletor. Para todas as outras proporções foi possível a obtenção de fibras. Apenas na proporção de 90:10 ocorreu o aparecimento de defeitos na membrana, com a presença de contas.

A tabela 2 resume os resultados da caracterização das soluções poliméricas testadas. Nota-se que ocorreu uma diminuição da viscosidade da solução e um aumento da condutividade, com o aumento da proporção de quitosano na solução polimérica. As membranas para testes de proporção CHI/PEO foram eletrofiadas por aproximadamente 1:30 h. Quando iniciou-se os testes com aumento do tempo de eletrofiação, no caso para 7 horas, alguns problemas foram observados. As membranas não apresentavam um acumulo abundante de fibras no coletor, mesmo após 5 horas de fiação; ao contrário, elas apresentavam-se finas e frágeis, não sendo possível a sua retirada do papel alumínio para testes posteriores. Mesmo para um tempo maior de eletrofiação, as membranas não apresentaram um aumento da espessura. Também se observou o aparecimento de gotas macroscópicas.

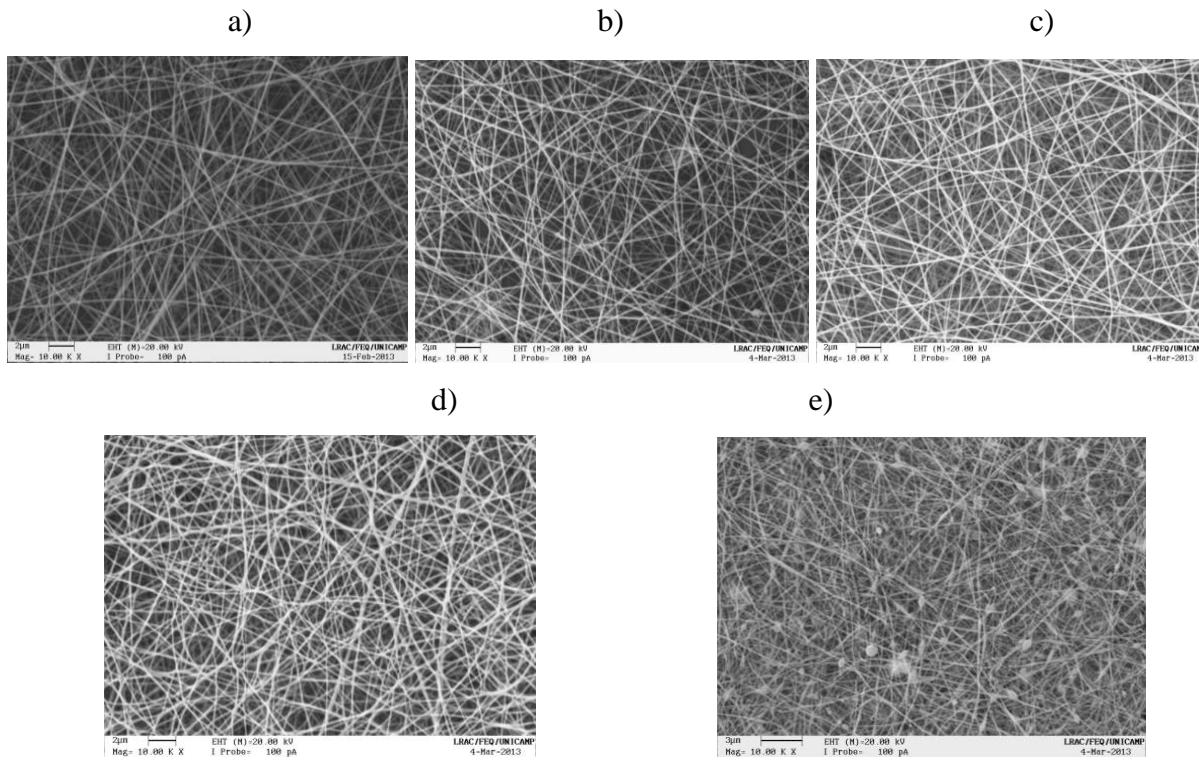


Figura 1. Imagens MEV de membranas eletrofiadas de CHI/PEO, com aumento de 10.000 vezes, nas condições de processamento de $D = 15$ cm, $V = 20$ kV e $R = 1$ mL/h e (a), (b) e (c) e $D = 15$ cm, $V = 25$ kV e $R = 1$ mL/h em (d) e (e) nas seguintes proporções de CHI/PEO m/m: (a)50:50; (b) 60:40; (c) 70:30; (d) 80:20 (e)90:10.

Tabela 2. Resultados experimentais para análise da solução de QUIT/PEO.

% CHI	% PEO	Proporção (CHI:PEO)	Viscosidade (cP)	Condutividade (mS/cm)	Tensão Superficial (mN/m)
5	4	50:50	1265±13	3,317±0,001	52,3±0,6
5	4	60:40	1281±15	4,323±0,001	53,3±0,2
5	4	70:30	1223±15	4,377±0,001	52,7±0,2
5	4	80:20	1164±15	4,893±0,001	53,0±0,1
5	4	90:10	806±9	5,357±0,002	51,7±0,4
5	4	100:0	612±8	5,767±0,002	53,7±0,2
6	4,8	70:30	2406±30	5,033±0,003	51,8±0,1
7	5,6	70:30	5173±60	5,277±0,001	53,3±0,1

Como a viscosidade da solução estava muito baixa, na faixa de 1.223 cP, decidiu-se aumentar a quantidade de polímero na solução, com intuito de aumentar a quantidade de cadeias poliméricas e facilitar o seu maior contato e entrelaçamento para se obter uma membrana com melhor formação.

Mantendo-se a proporção de CHI/PEO na solução polimérica, aumentou-se a quantidade de quitosana para 6 e 7%. Na Tabela 2 verifica-se que quando a quantidade de quitosana na solução aumentou, de 5 para 6%, houve aumento na viscosidade, porém a condutividade diminuiu. Quando a concentração de quitosana aumentou para 7%, observou-se um grande aumento na viscosidade e um aumento significativo na condutividade da mistura CHI/PEO. Com o aumento da concentração de polímero, o número de cadeias poliméricas aumentou e facilitou o processo de formação de fibras, pelo entrelaçamento das macromoléculas durante a eletrofiação, quando a solução é tracionada em direção ao coletor.

As Figuras 2(a – c) mostram imagens das membranas obtidas com o aumento da quantidade de quitosana na solução.

A membrana obtida com a solução de 6% CHI/4,8% PEO apresentou-se mais espessa e com melhor aspecto que as demais, Figura 2b. Quando se aumentou a concentração de quitosana para 7% (Figura 2c), houve a formação de uma estrutura 3D, cuja membrana resultante apresentou-se frágil e com depósito de muitas gotas macroscópicas.

Com a utilização da solução de 6% CHI/4,8% PEO foi necessário um aumento da voltagem aplicada de 20 para 25 kV, mantendo-se D = 15 cm e R = 1 mL/h. Para a solução de 7% CHI/5,6% PEO, as condições de processo utilizadas foram de V = 25 kV, D = 15 cm e R = 0,5 mL/h



Figura 2. Imagens de membranas eletrofiadas de CHI/PEO, nas seguintes proporções: (a) 5% CHI/4% PEO; (b) 6% CHI/4,8% PEO; (c) 7% CHI/5,6% PEO.

Com base nestes resultados, escolheu-se a membrana obtida com 6%CHI/4,8%PEO (70:30) e eletrofiada com $V = 25$ kV, $D = 15$ cm e $R = 1$ mL/h, para continuidade dos testes com adição de fármacos.

CONCLUSÕES

As membranas de nanofibras de Quitosano (CHI)/PEO que serão utilizadas como dispositivo mucoadesivo, para liberação de fármaco, foram desenvolvidas. De todas as condições de processamento testadas, as produzidas com a solução de 6% CHI/4,8% PEO 70:30 m/m, eletrofiada na condição de $V = 25$ kV, $D = 15$ cm e $R = 1$ mL/h, foi a que apresentou nanofibras com melhor homogeneidade de diâmetro e aspecto livre de defeitos. Este trabalho está em continuidade em nosso laboratorio, com a incorporação do fármaco e testes de subsequentes.

Agradecimentos. Os autores agradecem ao apoio da *FAPESP* (Projeto 2012/11905–5 e 2013/04877–4) e *CNPQ* *Processo Universal* 483635/2011–1.

REFERÊNCIAS

- [1] Verma S, Kaul M, Rawat A, Saini H, *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, **2**(6), 1303 (2011)
- [2] Singh S G, Singh R P, Gupta S K, Kalyanwat R, Yadad S, *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, **2**(3), 358 (2011)
- [3] Huang Z, He C, Yang A, Zhang Y, Han X, Yin J, Wu Q, *J. Biomed Mater. Res A*, **77**(1), 169 (2006)
- [4] Patel V F, Liu F, Brown M B, *J. of Control. Release*, **153**, 106 (2011)
- [5] Nagaiv T, *J. Controlled Release*, **2**, 121 (1985)
- [6] Han R, Fang J, Sung K C, Hu O Y P, *Int. J. Pharmac.*, **177**, 201 (1999)
- [7] Shanker G, Kumar CK, Sekhara C, Gonugunta R, Kumar B V, Veerareddy PR, *Pharm. Sci. Tech.*, **10**(2), 530 (2009)