

Preparação e Caracterização de Fosfolídeos Derivatizados com Ácido Hialurônico.

Isabela C. S. Brissac*, Andréa A. M. Shimojo, Maria Helena A. Santana.

Resumo

A derivatização do fosfolípido com ácido hialurônico (AH) permite a modificação da superfície dos lipossomas tornando-os mais estáveis na corrente sanguínea, além de permitir o seu direcionamento específico para células de tumores que expressam os receptores CD44. Este projeto tem como objetivo as reações de modificação química do AH com carbodiimidias para a preparação de fosfolídeos derivatizados. Preparou-se e caracterizou-se o conjugado AH-DPPE e os lipossomas de Lipoid E-80/DPPE com diferentes porcentagens do conjugado (0, 5, 10 e 15%). Observou-se que as características dos lipossomas produzidos são influenciadas pela concentração de conjugado AH-DPPE adicionada.

Palavras-chave: Ácido Hialurônico, Lipossomas, Derivatização.

Introdução

A derivatização de fosfatidiletanolaminas com gangliosídeos ou polietilenoglicol surgiu no final dos anos 80, devido à necessidade de preparação de lipossomas do tipo *stealth*, capazes de evadir o sistema imunológico, permanecer por tempo prolongado na corrente sanguínea e serem direcionados para sítios específicos e tumores sólidos. Entretanto, trabalhos da literatura reportam efeitos adversos de lipossomas com polietilenoglicol (PEG), tais como estomatite e síndrome de pé e mão. Além disso, o PEG não é biodegradável e apresenta limitadas possibilidades de funcionalização química.

O AH é um biopolímero viscoelástico linear composto de repetidas unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico e N-acetilglicosamina, apresentando quatro grupos funcionais que podem ser modificados quimicamente: carboxílico, hidroxílico, acetamida e o terminal reduzido do polímero.¹ Uma promissora aplicação do AH é a sua derivatização com fosfolídeos para gerar lipossomas furtivos.² Para isso, diversos autores têm utilizado a ativação do AH com carbodiimidias e posterior conjugação a diferentes fosfolídeos.

O presente trabalho tem por objetivo estudar as reações de modificação química do AH com carbodiimidias para a preparação de fosfolídeos derivatizados.

Resultados e Discussão

Neste trabalho produziu-se e caracterizou-se o conjugado AH-DPPE (razão mássica de 4,5 µg DPPE/mg AH), o qual apresentou: rendimento mássico de aproximadamente 70% na etapa de preparação e alta eficiência na etapa de separação e purificação, comprovada por CCD. A caracterização estrutural foi feita por RMN¹H e FT-IR.

Utilizando o conjugado produzido previamente foi possível a obtenção de lipossomas de Lipoid E-80/DPPE e de Lipoid E-80/DPPE/AH-DPPE, pelo método de Bangham, com diferentes proporções do conjugado (5, 10 e 15%) (Figura 1).

Os lipossomas apresentaram as características apresentadas na Tabela 1. Observou-se que estes possuem índice de polidispersidade (PDI) em torno de 0,1 e a partir da adição de 10% de conjugado AH-DPPE

observou-se uma diminuição estatisticamente significativa (*p < 0,05) no diâmetro médio das partículas, atribuída às diferenças no empacotamento do fosfolípido com o conjugado. A adição do conjugado AH-DPPE aos lipossomas provocou um aumento da carga negativa proveniente do AH. Porém, era esperado que quanto maior a porcentagem de conjugado AH-DPPE no lipossoma, mais negativo o potencial zeta, o que não ocorreu provavelmente por conta de uma saturação de cargas na superfície do lipossoma a partir da concentração de 10% de conjugado AH-DPPE.

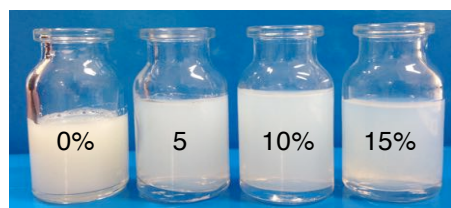


Figura 1. Lipossomas Lipoid E-80/DPPE/AH-DPPE (0, 5, 10 e 15%).

Tabela 1. Características dos lipossomas preparados com Lipoid E-80/DPPE e Lipoid E-80/DPPE/AH-DPPE.

Lipossoma	Diâmetro médio (nm)	Potencial Zeta (mV)
Lipoid E-80/DPPE	95 ± 3	-15,2 ± 1,6
Lipoid E-80/DPPE/AH-DPPE	5%	-16,8 ± 4,5
	10%	-16,0 ± 1,0
	15%	-14,2 ± 2,4

Conclusões

Os lipossomas modificados com conjugado AH-DPPE foram preparados e caracterizados. Estes apresentaram características promissoras para a aplicação desejada.

Agradecimentos

Agradecimento especial a Dra. Andréa A. M. Shimojo por todos os ensinamentos, Gilson Jr. Maia por todo suporte e ao programa PIBIC/CNPq.

¹ KUO, J. W.; SWANN, D. A. e PRESTWICH, G. D. Water-insoluble derivatives of hyaluronic acid and their methods of preparation and use. *United States Patent*: 6,013,679, 2000.

² YASUGI, K.; NAKAMURA, T.; SHIMOBOJI, T. e SATO, M. Process for producing water-soluble hyaluronic acid modification. *European Patent*: EP 1,790,665 A1, 2007.