

USO TÓPICO DE QUITOSANA EM OFTALMOLOGIA

PATRÍCIA SEVERINO¹
FERNANDO DA CRUZ VASCONCELLOS¹
EUGÊNIO SANTANA DE FIGUEIREDO².

1. Departamento de Processos Biotecnológicos, Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, 13083-970, Campinas, São Paulo, Brasil.
2. Departamento de Otorrino-oftalmologia, Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp, 13083-970, Campinas, São Paulo, Brasil.

Autor responsável: P. Severino.
E-mail: patseverino@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A quitosana é um polímero obtido da desacetilação da quitina, um abundante polissacarídeo extraído do exoesqueleto de crustáceos, como o sirí (KUMAR, 2000). Esse biopolímero vem recebendo considerável atenção no uso em formas farmacêuticas de liberação controlada (JANES *et al.*, 2001).

A quitosana tem sido empregada na produção de cosméticos e medicamentos, além de ser usada na elaboração de aditivos alimentícios e no desenvolvimento de diversos tipos de biomateriais (REMUNAN-LOPEZ *et al.*, 1998).

Desde 1980, a quitosana passou a ser utilizada como excipiente de fármacos solúveis em água no intuito de obter uma liberação controlada e sustentada. Além disso, esse biomaterial pode ser utilizado como componente de formulações de fármacos pouco solúveis em água a fim de melhorar a biodisponibilidade (REMUNAN-LOPEZ *et al.*, 1998).

O uso de polímeros naturais em formas farmacêuticas com liberação modificada tem sido destaque, especialmente no ponto de vista de segurança. Entre os polímeros, a quitosana tem aumentado sua importância farmacêutica devido a sua boa compatibilidade, ausência de toxicidade e por ser biodegradável (REMUÑAN-LOPEZ *et al.*, 1998).

Estrutura e Propriedades Físico-químicas da Quitosana

A quitosana é um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-acetomido-2-deoxi-D-glicopiranosose unidos alternadamente por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ de composição variável em função do grau médio de acetilação (GA), que representa a fração de unidades 2-aceto-

mido-2-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose. O grau de desacetilação e a massa molar são os principais parâmetros para a sua caracterização. A proporção relativa dessas unidades nas cadeias macromoleculares de quitosana tem efeito marcante na sua solubilidade (SANTOS *et al.*, 2003).

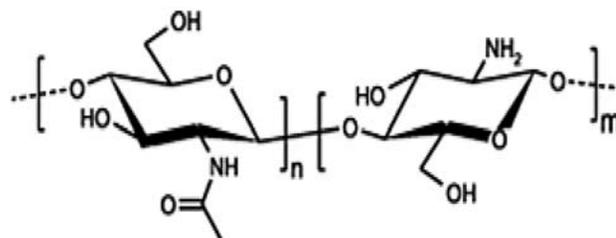


Figura 1. Estrutura química da Quitosana (Adaptado de KUMAR, 2000).

Em pH ácido, a quitosana comporta-se como um polieletrólito catiônico. É insolúvel em água, porém torna-se solúvel em soluções aquosas de ácidos orgânicos, como acético, fórmico, cítrico, além de ácido clorídrico diluído (SANTOS *et al.*, 2003).

A quitosana possui três tipos de grupos funcionais reativos, um grupo amina, um grupo hidroxila primário e um grupo hidroxila secundário nas posições C-2, C-3 e C-6, respectivamente. A modificação destes grupos possibilita a obtenção de diferentes materiais úteis em vários campos de aplicações (SHAHIDI *et al.*, 1999).

A massa molar média da quitina varia de $1,03 \times 10^6$ a $2,5 \times 10^6$ Da, porém a quitosana obtida, após a desacetilação, apresenta massa molar média de $1,0 \times 10^5$ a $5,0 \times 10^5$ Da (HON, 1996).

Embora a quitina, a quitosana e seus derivados apresentem atividade antimicrobiana, o mecanismo exato desta ação é ainda desconhecido, porém diversos mecanismos foram propostos. Acredita-se que a interação entre as cargas positivas da quitosana e a carga negativa da membrana celular dos microrganismos provocam o desprendimento de proteínas e outros constituintes intracelulares.

A quitosana também é um agente quelante, que se liga seletivamente a traços de metais e inibe a produção de toxinas e o crescimento microbiano. A quitosana que penetra no núcleo das células dos microrganismos se liga ao DNA e inibe a síntese de RNA e proteínas (SHAHIDI *et al.*, 1999).

A adição de grupos sulfatados em quitosana mostrou que estes novos compostos promovem a inibição da replicação *in vitro* do HIV e a diminuição da sua atividade anticoagulante (NISHIMURA *et al.*, 1998).

Fisiologia Ocular Aplicada

A dificuldade de retenção de líquidos na superfície ocular, o lacrimejamento reflexo após as instilações, a drenagem do fármaco pela via lacrimal e a absorção conjuntival são mecanismos que dificultam a absorção e a ação prolongada dos fármacos no olho. Isso faz com que a maior parte da dose administrada dos fármacos pela via ocular tópica seja perdida, dificultando sua ação tanto na superfície quanto no interior do olho (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

A córnea responde por aproximadamente um sexto da superfície do globo ocular, sendo a maior via de penetração dos fármacos para os tecidos intra-oculares. Entretanto, o epitélio e o estroma são camadas da córnea que funcionam como barreira ao transporte de diversas substâncias. O epitélio é mais eficiente contra substâncias hidrofílicas e ionizadas. Já o estroma atua com maior eficácia contra compostos lipofílicos (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

A via conjuntivo-escleral de penetração dos fármacos é uma alternativa mais rápida que a tópica, principalmente para fármacos hidrofílicos. Porém, a absorção conjuntival promove a chegada do fármaco à corrente sanguínea, levando à possibilidade de ocorrência de efeitos adversos (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

Dessa forma, surge a necessidade do desenvolvimento de fármacos cujo veículo permita uma maior tempo de permanência em contato com a superfície ocular e, por conseqüência, uma maior penetração nos tecidos oculares. Isso ocasionaria maior eficácia na ação dos medicamentos, diminuindo o número de instilações e aumen-

tando a adesão aos tratamentos instituídos (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

Uso da quitosana em oftalmologia

A quitosana possui características reológicas favoráveis, tais como a pseudoplasticidade e a viscoelasticidade. Essas propriedades facilitam a retenção da formulação nos olhos, enquanto permitem a fácil difusão do fármaco pela córnea (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

A quitosana é utilizada como veículo em formulações oftálmicas devido às suas propriedades biológicas favoráveis como biocompatibilidade, atoxicidade (AGNIHOTRI *et al.*, 2004), habilidade de atravessar mucosas (ALONSO & SANCHEZ, 2003) e mucoadesividade (CAMPOS, *et al.*, 2004).

A vantagem das microesferas é prolongar o tempo de residência, diminuindo a frequência de administração. GENTA *et al.*, 1997 produziu microesferas de quitosana incorporando aciclovir e os resultados mostraram aumento da biodisponibilidade do fármaco no olho, em relação ao fármaco administrado sozinho.

A cavidade ocular apresenta características limitantes ao tempo de residência das devido às suas características fisiológicas, tais como pH e estado de hidratação das. O processo de eliminação ocular dessas partículas é bifásico, apresentando uma fase inicial rápida, seguida de uma fase basal lenta. A fase inicial de eliminação independe do pH e do estado de hidratação, enquanto a fase basal sofre influência desses fatores (SALAMANCA *et al.*, 2006).

CALVO *et al.* (1997) exploraram o potencial dos diferentes sistemas coloidais para liberação controlada de fármacos em suspensões aquosas de quitosana e destaca importantes vantagens que incluem as condições amenas de preparação e também o fácil manuseio para a incorporação de fármacos.

A condição de formação de partículas nanométricas varia de com a pureza, massa molar e pH da dispersão aquosa da quitosana empregada. Estudos mostram que a massa molar é um parâmetro primordial, afetando a mucoadesão, a biocompatibilidade, a permeabilidade e o tamanho (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

Administração da quitosana por via ocular tópica

Aplicações tópicas de fármacos por via ocular são limitadas pelas condições fisiológicas de proteção, como a produção de lágrimas, proporcionadas pela área pré-corneal, resultando em considerável perda de fármaco na

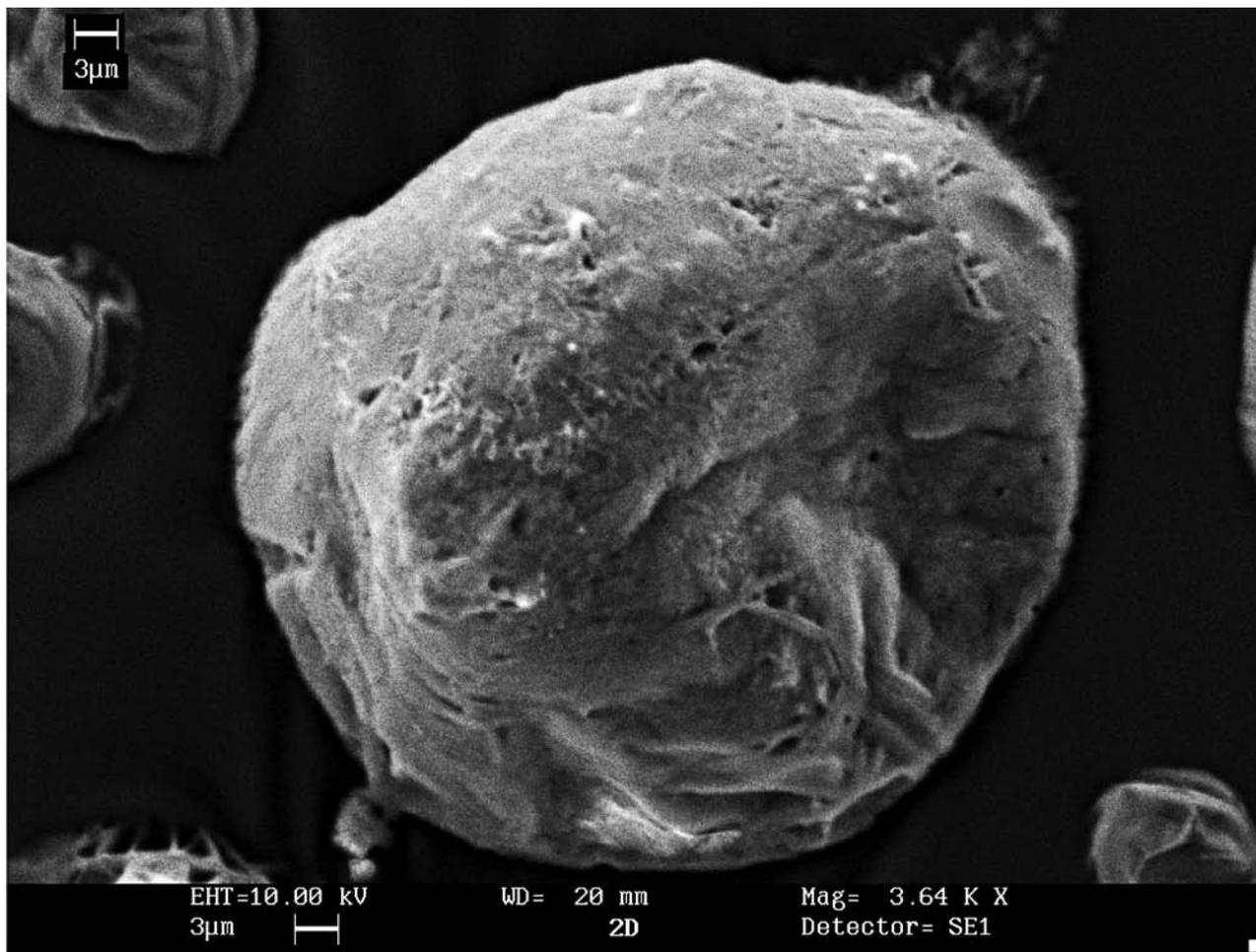


Figura 2. Fotomicrografia obtida, através de microscopia eletrônica de varredura de micropartícula de quitosana reticulada com tripolifosfato (SILVA, 2006).

administração tópica de medicamentos. Devido a essas características fisiológicas, o uso de formas farmacêuticas como solução e suspensão, geralmente, não proporcionam a eficácia desejada devido à inabilidade de manter a concentração de fármaco no sítio ativo. Tendo consciência dessas limitações, estudo sobre o uso tópico de liberação prolongada vem se destacando no intuito de melhorar a biodisponibilidade e prolongar o tempo de residência dos fármacos instilados topicamente (CAMPOS *et al.*, 2004).

Formulações oftálmicas tradicionais são compostas por soluções aquosas e por pomadas que apresentam biodisponibilidade em torno de 2 a 10%, devido à pequena área superficial para a penetração do fármaco, à presença de barreira de absorção e a fatores pré-corneais de eliminação (ACOLO *et al.*, 2004).

A eficácia dos medicamentos aplicados por via tópica ocular é influenciada principalmente pelo tempo de contato do fármaco com a córnea. Um método muito co-

mo para promover melhor biodisponibilidade é aumentar o tempo de residência, com a utilização de hidrogéis a base de polímeros naturais, sintéticos ou semi-sintéticos. (LUDWING *et al.*, 1992; FELT *et al.*, 1992).

Os fatores de eliminação incluem a drenagem da solução instilada pela lágrima, o metabolismo do fármaco, a evaporação e a possível ligação de proteínas com a lágrima. Para melhorar o tempo de residência dos fármacos na área pré-ocular, tem-se usado formulações semi-sólidas, líquidos viscosos, suspensões e partículas, incluindo microesferas, lipossomas e polímeros mucoadesivos (VASIR *et al.*, 2003).

O uso de formas farmacêuticas preparadas a partir de microesferas tem sido bem aceito. No entanto, o tamanho da partícula é um parâmetro crítico para tolerância. Desse modo, partículas acima de $1\mu\text{m}$ causariam desconforto quando aplicadas na superfície ocular. Por essa razão, é convencional utilizar sistemas coloidais, incluindo lipossomas, emulsões, nanocápsulas e nanopartículas.

Tabela 1. Apresentação dos trabalhos mais relevantes que utilizaram quitosana como veículo dos fármacos a fim de proporcionar melhor biodisponibilidade e conforto aos pacientes

Finalidade Terapêutica	Fármaco	Método de Preparação	Referência
antibiótico	Tobramicina e ofloxacino	solução	FELT <i>et al.</i> , 2001
antibiótico	Tobramicina	solução	FELT <i>et al.</i> , 1992
antibiótico	Ciclosporina A	nanopartícula	CAMPOS <i>et al.</i> , 2001
antibiótico	Ofloxacino	solução	^B COLO <i>et al.</i> , 2004
antiinflamatório	Diclofenaco de sódio	solução	REMUNAN-LOPEZ <i>et al.</i> , 1997
antiglaucomasos	pilocarpina	nanopartícula	KAO <i>et al.</i> , 2006
antibiótico	aciclovir	emulsificação	GENTA, <i>et al.</i> , 1997

(ALONSO & SANCHEZ, 2003). Os lipossomas possuem a desvantagem em relação à sua baixa capacidade de carregamento de fármaco e pouca estabilidade. Uma alternativa é o uso de nanocápsulas e nanopartículas (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

FELT *et al.* (2001) realizaram um estudo de dispersões de quitosana hidrocloreídica e quitosana glutamato em tampão a pH 7,4 e verificaram que a mesma oferece vantagens como carreador do ofloxacino pela promoção da solubilização deste antibiótico, evitando assim a necessidade de excipientes como tensoativos que não são bem toleradas pela mucosa ocular.

As formulações oftálmicas baseadas em quitosana são relativamente fáceis de produzir, exibindo uma excelente tolerância quando administradas topicamente na córnea. O tempo de residência e de viscosidade das soluções de quitosana está diretamente relacionado com a tolerabilidade da quitosana (FELT *et al.*, 1992).

O aumento do tempo de residência dos fármacos na área pré-corneal pelo uso da quitosana baseia-se nas propriedades mucoadesivas desse biomaterial. Essa característica pode ajudar a prolongar a penetração de fármacos nas estruturas intraoculares (CAMPOS *et al.*, 2004). A propriedade mucoadesiva da quitosana ocorre através de ligações eletrostáticas entre as cargas positivas dos grupos aminas protonados da quitosana, com as cargas negativas do ácido siálico (Figura 1) presente na mucosa dos olhos (FELT *et al.*, 1992).

A propriedade de penetração ocular da quitosana é atribuída à sua passagem através da barreira de células do

epitélio corneal. Recentemente, tem-se relatado rotas intracelulares por células Caco-2, através de permeabilidade paracelular e intracelular, sem afetar a viabilidade celular. Isso pode aumentar o transporte de fármacos pela córnea (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

A quitosana é biodegradada pela ação da lisozima e de outras enzimas da lágrima, que promovem a ruptura do polímero em estruturas monoméricas (ALONSO & SANCHEZ, 2003).

A biocompatibilidade da quitosana com os fluidos corpóreos é importante, por favorecer o aumento do tempo de contato do fármaco com a córnea, melhorando a absorção por via tópica e evitando o uso de tratamentos invasivos em infecções oftálmicas. A quitosana também apresenta vantagens biofarmacêuticas em relação aos colírios comuns, pois é bem tolerada e muito conveniente para os pacientes (^BCOLO *et al.*, 2004).

Vários trabalhos propõem o uso da quitosana (Tabela 1) para melhorar a penetração de fármacos, como antibióticos (FELT *et al.*, 1992; FELT *et al.*, 2001) por via ocular com excelente tolerância, tais como ofloxacino (^ACOLO *et al.*, 2002; ^B COLO *et al.*, 2004), tobramicina (FELT *et al.*, 1992; FELT *et al.*, 2001) e aciclovir (GENTA *et al.*, 1997). Isso permite uma ação mais duradoura do fármaco com diminuição da frequência de instalações e maior adesão do paciente ao tratamento, possibilitando melhores resultados na prevenção e no tratamento das infecções oculares.

A quitosana também vem sendo utilizada como veículo para agentes anticolinérgicos de uso ocular, como

a pilocarpina, em algumas formas de glaucoma. Isso diminui a frequência de instilações da medicação e seus efeitos adversos sistêmicos, já que há menor perda do fármaco pela via lacrimal, proporcionando maior adesão ao tratamento (KAO *et al.*, 2006).

É relatado o uso de quitosana como veículo para fármacos imunossupressores tais como ciclosporina A (CAMPOS *et al.*, 2001) para tratamento de olho seco, proporcionando duração maior de exposição ocular da droga e redução dos seus efeitos sistêmicos.

Outro uso proposto para quitosana é como lubrificante (FELT *et al.*, 2001), já que essa substância apresenta alta viscosidade e ação bacteriostática, ajudando a reduzir o desconforto e as complicações infecciosas induzidos pelo olho seco.

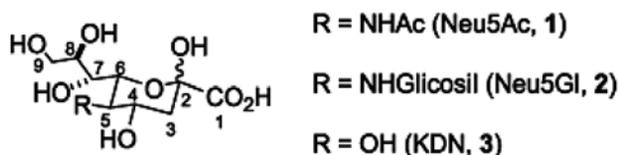


Figura 3. Estrutura química do ácido siálico.

Outro motivo para o uso desse biopolímero são os vários métodos que podem ser aplicados para a esterilização da quitosana em uso oftálmico como: radiação ionizante, calor, vapor, e métodos químicos podem ser adaptados para esterilização da quitosana em aplicações clínicas (AGNIHOTRI *et al.*, 2004).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a quitosana é um biopolímero promissor para o uso em administração tópica, pois favorece a liberação prolongada e sustentada, favorecendo a biodisponibilidade dos fármacos e diminuindo a frequência de administração e com isso proporcionando maior conforto ao paciente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNIHOTRI, S. A., NADAGOUDA, N. M., & AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery. *Journal Controlled Release*. v.100, p.5-28, 2004.
- ALONSO, M.J. & SÁNCHEZ, A. The potencial of chitosan in ocular drug delivery. *Pharmacy and Pharmacology*. v.55, p.1461-1463, 2003.
- CALVO, P., REMUÑÁN-LOPEZ, C., VILA-JATO, J.L. & ALONSO, M.J. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *International Applied Polymers Science*. v.63, p.125-132, 1997.
- CAMPOS, A.M.; DIEBOLD, Y.; CARVALHO, E.L.S.; SÁNCHEZ, A.; ALONSO, M.J. Chitosan nanoparticles as new ocular drug delivery systems: *in Vitro* stability, *in vivo* fate, and cellular toxicity. *Pharmaceutical Research*. v.21, n.5, p.803-810, 2004.
- CAMPOS, A.M.; SANCHEZ, A.; ALONSO, M.J. Chitosan nanoparticles: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to cyclosporine A. *Internatinal Journal of Pharmaceutics*. v.224, p.159-168, 2001.
- ACOLO, G.D.; ZAMBITO, Y.; BURGALASSI, S.; NARDINI, I. & SAETONE, M.F. Effect of chitosan and of N-carboxymethylchitosan on intraocular penetration of topically applied ofloxacin. *International Journal of Pharmaceutics*. V.273, p.37-44, 2004.
- BCOLO, D.G., BURGALASSI, S., ZAMBITO, Y., MONTI, D., CHETONI, P. Effects of different N-trimethyl chitosans on *in vitro/in vivo* ofloxacin transcorneal permeation. *Journal of Pharmaceutical Science*, v.93, p.2851-2862. 2004.
- FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J.M.; PLAZONNET, B. & GURNY, R. Topical use chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of pre-corneal retention. *International Journal of Pharmaceutics*. V.180, p.185-193, 1992.
- FELT, O.; GURNY, R.; BURI, P. & BAEYENS, V. Delivery of antibiotics to the eye using a positively polysaccharide as vehicle. *AAPS PharmaSci*. v.34, p.1-7, 2001.
- GENTA, I.; CONTI, B.; PERUGINI, P.; PAVANETTO, F.; SPADARO, A.; PUGLISI, G. Bioadhesive microspheres for ophthalmic administration of acyclovir. *Journal Pharmaceutical Pharmacology*. v.49(8), p.737-742, 1997
- HON, D.N.S. Chitin and chitosan: Medical Applications. In: DUMTRIU, S. Polysaccharides in Medical Application, New York: Marcel Dekker Inc., p. 631-649, 1996.
- JANES, K. A., CALVO, P. & ALONSO, M. J. Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.47, p.83-97, 2001.
- KAO, H.J.; LIN, H.R.; LO, Y.L.; YU, S.P. Characterization of pilocarpine-loaded chitosan/carbopol nanoparticles. *Journal Pharmaceutical Pharmacology*. v.58(2), p.179-186, 2006.
- KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, v.46, p.1-27, 2000.
- LUDWING, A.; VAN HAERING, N.J.; BODELIER, V.M.W.; VAN OOTEGHEM, M. Relationship between precorneal retention of viscous eye drops and tear fluid composition. *International Ophthalmology*. V.16, p.23-26, 1992.
- NISHIMURA, S.I., KAI, H., SHINADA, K., YOSHIDA, T., TOKURA, S., KURITA, K., NAKASHIMA, H., YAMAMOTO, N., URYU, T. Regio-selective syntheses of sulfated polysaccharides: specific anti-HIV activity of novel chitin sulfates. *Carbohydrate Research*, v.306, p.427-433, 1998.

17. REMUNAN-LOPEZ, C., LORENZO-LAMOSA, M. L., VILA-JATO, J. L. & ALONSO, M. J. Development of new chitosan-cellulose multicore microparticle for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. V.45, p.49-56, 1998.
18. SALAMANCA A. E., DIEBOLD Y., CALONGE M., GARCÍA-VAZQUEZ C., Callejo S., VILA A. & ALONSO M. J. Chitosan Nanoparticles as a Potential Drug Delivery System for the Ocular Surface: Toxicity, Uptake Mechanism and In Vivo Tolerance. *Investigate Ophthalmology and Visual Science*. V.47, p.1416-1425, 2006.
19. SANTOS, J. E., SOARES, J. P., DOCKAL, E. R., FILHO, S. P. C. & CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.13, n.4, p.242-249. 2003.
20. SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J.K.V.; JEON, Y. Food applications of chitin and chitosans. *Food Science E Technology*. v. 10, p.37-51, 1999.
21. SILVA, C. F. *Micropartículas de quitosana com didanosina e sua formulação em grânulos mucoadesivos*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2006, Tese (Doutorado).
22. VASIR, J.K.; TAMBWEKAR, K. & GARG, S. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*. V.255, p.13-32, 2003.