

RESUMO

Muitos polímeros usados como carreadores de drogas em sistemas de liberação controlada são polissacarídeos. O presente trabalho propõe o uso do glicosaminoglicano heparina, como carreador para o antibiótico aminoglicosídico gentamicina. Devido à natureza química, estes compostos possuem uma afinidade iônica intrínseca, entretanto, utilizou-se uma carbodiimida para promover uma ligação covalente (amida) entre estas moléculas. O conjugado heparina-gentamicina após a diálise apresentou atividade antimicrobiana *in vitro*. Este conjugado ainda apresentou menor migração eletroforética, quando comparado à heparina sozinha. Quando submetido a degradação enzimática pelas liases da heparina, mostrou-se estável. O espectro de infravermelho deste conjugado apresentou bandas características de ligação amida, sugerindo que a ligação covalente está presente. Em uma segunda etapa do trabalho, observou-se o efeito de concentrações crescentes de carbodiimida, sobre as atividades físico-químicas e biológicas da heparina. Os resultados demonstram que a ativação afeta a atividade de fixação aos corantes, azul de metileno e azul de toluidina, sendo este efeito dependente da concentração do agente ativante. Estas heparinas ativadas quando submetidas à eletroforese no sistema descontínuo acetato de bário/acetato de diaminopropano, não apresentaram o componente de migração lenta, o qual na heparina nativa, corresponde a fração de maior peso molecular e carga elétrica. Este resultado está em acordo com aqueles obtidos nos ensaios anticoagulantes, onde as heparinas modificadas tiveram suas atividades anticoagulantes reduzidas. Os testes de degradação, feitos com as liases da heparina, mostraram que as heparinas modificadas são menos degradadas à medida que a concentração do agente ativante aumenta. Então pode-se observar que, a heparina ativada pela carbodiimida não possui as mesmas propriedades físico-químicas e biológicas da heparina nativa. Além disso, a atividade de fixação ao corante pode ser uma ferramenta útil para avaliar a atividade biológica das heparinas modificadas. De posse destas informações acredita-se que, aperfeiçoando-se as condições de ativação e imobilização, é possível obter conjugados que podem apresentar a atividade anticoagulante e/ou antitrombótica da heparina e antimicrobiana da gentamicina.

ABSTRACT

Many polymers used as drug carriers in controlled delivery systems are polysaccharides. This work propose the use of glycosaminoglycan heparin as carrier for the aminoglycosidic antibiotic gentamicin. Due to their chemical feature, these compounds possess an intrinsic ionic affinity, nevertheless, a carbodiimide was used to promote covalent binding (amide bond) between these molecules. The heparin-gentamicin conjugate after dialysis presented antimicrobial activity *in vitro*. This conjugate presented electrophoretic migration slower than single heparin. It was stable when submitted to enzymatic degradation by heparin lyases. The infrared spectra of this conjugate showed characteristic amide bands, suggesting the presence of covalent binding. Furthermore, the effect of increasing carbodiimide concentrations upon physicochemical and biological properties of the heparin was observed. The results showed that the activation affect the toluidine blue and methylene blue dyes fixation activity. However, this effect was dependent on the activating agent concentration. These activated heparins did not present the slow moving component, which in native heparin correspond to the highest molecular weight and electric charge fraction, when submitted to electrophoresis in a barium acetate/diaminopropane acetate discontinuous system. This observation was in accordance with the anticoagulant activity assays, where the modified heparins had its anticoagulant activities reduced. The degradation tests performed with heparin lyases showed that modified heparins were less degraded with increasing activating agent concentration. Thus it could be observed that carbodiimide activated heparin does not possess the same physicochemical and biological properties as native heparin. In addition, the dye fixation activity can be a useful tool to evaluate the biological activity of the modified heparins. Based on these information one can assume that, under perfect activation and immobilization conditions, it is possible to obtain heparin conjugates which can present the anticoagulant and/or antithrombotic activities and the antimicrobial activity of gentamicin.