

**OBTENCIÓN, Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE MICROESFERAS DE QUITOSANA
PARA LA LIBERACIÓN SOSTENIDA DE UN ANÁLOGO SINTÉTICO DE
BRASINOESTEROIDE, MEDIANTE EL MÉTODO DE SECADO POR ATOMIZACIÓN**

Giselle Hernández Campoalegre, Vladimir Niebla Morejón , Yamilet Coll García ,
Francisco Coll Manchado , Elian Cruz Peñalver y Carlos Peniche Covas

*Laboratorio de Bioproductos, Centro de Estudio de Productos Naturales, Facultad de
Química, Universidad de la Habana, Cuba. giselle_hernandez@fq.uh.cu*

1. INTRODUCCIÓN

Los brasinoesteroides (BRs) constituyen las únicas fitohormonas de naturaleza esteroidal presentes en las plantas. Es una familia de compuestos que actúan como reguladores de crecimiento y desarrollo vegetal¹, lo que convierte a los BRs en atractivas herramientas para incrementar los rendimientos de los cultivos y la calidad de las cosechas. A pesar de sus múltiples ventajas para ser utilizados como parte de formulaciones en la agricultura, la obtención de unos pocos miligramos a partir de su fuente natural es de gran complejidad técnica e implica elevados costos económicos. Por estos inconvenientes se hace necesaria la obtención de análogos estructurales y funcionales de BRs, que manteniendo un efecto fisiológico similar a sus análogos naturales, sea más económica su obtención desde el punto de vista semi sintético, tengan un efecto más prologado dentro de las plantas y permitan realizar estudios más profundos de la relación estructura- función. En el Centro de Estudios de Productos Naturales(CEPN) de la Facultad de Química de La Universidad de La Habana, desde el año 1992 Coll y col². han obtenido una gran variedad de análogos estructurales que presentan actividad reguladora del crecimiento vegetal. Dentro de éstos se destaca el DI-31, que ha demostrado que acelera el crecimiento de las plantas y les brinda una mayor resistencia bajo condiciones de estrés³, además de estimular la maduración de cultivos como el arroz, el ajo, la cebolla, el pimiento, el tomate, etc. *in vitro* y a nivel de campo⁴. Este compuesto es el principio activo (p.a) del BIOBRAS 16, un producto comercial. A pesar de estas bondades, el DI-31 es poco soluble en agua y rápidamente metabolizado por la planta, lo cual limita su aplicación y la expresión de sus beneficios en la agricultura. Una de las alternativas para eliminar estas limitaciones constituye la microencapsulación de este principio activo en una matriz polimérica.

Dentro de la diversidad de polímeros existentes, la quitosana constituye sin lugar a dudas un excelente candidato para tal propósito. Este biopolímero natural obtenido por hidrólisis y desacetilación de la quitina, está presente en la mayoría de las especies de hongos, algas y constituye el componente fundamental del exoesqueleto de los insectos y crustáceos⁵. En Cuba, la principal fuente de obtención es a partir de los desechos de los caparazones de las langostas⁶. Las propiedades químico-físicas y las aplicaciones de este biopolímero, dependen del grado de acetilación y de la masa molecular promedio⁷.

Se ha demostrado mediante varios estudios que la quitosana incrementa la resistencia de las plantas ante el ataque de diferentes plagas⁸ y promueve el rendimiento de las cosechas⁹. Posee excelentes propiedades de biocompatibilidad¹⁰, biodegradabilidad¹¹, y mucoadhesividad, baja toxicidad¹², buena solubilidad y se emplea como matriz para la liberación controlada de agroquímicos¹³.

2. RESULTADOS

Material polimérico: Quitosana obtenida a partir del cefalotórax de langosta (*Panulirusargus*), según metodología establecida en el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana.

El DI 31 (p.a) fue suministrado por el CEPN de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana.

Este trabajo constituye el primer reporte de microencapsulación de DI-31 mediante el método de secado por atomización.

La metodología empleada permitió producir microesferas cargadas con un 48 % de rendimiento, una eficiencia de encapsulación de 52 % y un contenido de p.a del 38%, valores que se encuentran en el rango de los reportados en la literatura mediante otras metodologías.

La MEB de las microesferas de quitosana con principio activo obtenidas bajo las condiciones de trabajo establecidas, mostró que se obtuvieron macropartículas de morfología esférica y con un tamaño de partículas que oscila entre 2 y 4 μm . Además se observan agregados de partículas.

La determinación del contenido de solvente residual se realizó mediante cromatografía gaseosa. La superposición de los cronogramas de las microesferas disueltas en agua y en metanol arrojaron que no contienen THF, por lo que las temperaturas de trabajo establecidas nos permiten obtener microesferas sin solvente residual.

El perfil de liberación *in vitro* del p.a demostró que la liberación del principio activo fue sostenida en el tiempo y que exhibe un incremento inicial (burst) en los primeros 300 min. Además, el estudio del efecto de germinación en plantas mono y dicotiledóneas, arrojó que las macropartículas presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al control para un 95% de nivel de confianza. Estos resultados indican la efectividad de las microesferas cargadas en la estimulación de la germinación, lo cual demuestra la validez e importancia de este procedimiento para lograr los objetivos planteados.

4. CONCLUSIONES

- La metodología empleada para la microencapsulación del DI-31 en quitosana permitió obtener micropartículas de morfología esférica con un 48% de rendimiento.
- Mediante la microscopía electrónica de Barrido se determinó el tamaño de partícula y su morfología.
- El estudio de liberación *in vitro* demostró una liberación sostenida en el tiempo del p.a., lo que pudiera conllevar a una disminución en el número de aplicaciones.
- Se comprobó que las microesferas cargadas estimulan la germinación en plantas mono y dicotiledóneas lo cual sugiere que esta formulación es biológicamente activa.

REFERENCIAS

-
- ¹ Choudhary, S.P., Yu, J.Q, Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. & Lam-Son, P.T. Benefits of brassinosteroid crosstalk. *Trends Plant Sci.*, Vol.17, 2012, pp 594-605.
- ² Coll, F., Alonso, E., Iglesias, M., Marquardt, V. & Adam, G. Síntesis de análogos epirostánicos de brasinoesteroides. *Revista Cubana de Química*, Vol. 6, 1992, pp 1-7.
- ³ Mazorra, L. M.; Núñez, M. Influencia de análogos de brasinoesteroides en la respuesta de plantas de tomate a diferente estrés ambientales. *CultivosTropicales*, 24(1), 2003,pp 35-40.
- ⁴ Serna, M.; Hernández, F.; Coll, F.; Coll, Y. & Amorós, A. Brassinosteroid analogues effects on the yield and quality parameters of greenhouse-grown pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Growth Regul.*, 68, 2012, pp333–342.
- ⁵ Urrea, D.M.; Gutiérrez, C.A. & Zapata, P.A. Producción de matrices de quitosano extraído de crustáceos. *Ingeniería Biomédica*, 5(9), 2011, pp 20-25.
- ⁶ Ramírez, M.A.; Cabrera, G.; Gutiérrez, A. & Rodríguez, T. Metodología de obtención de quitosana a partir de quitina de langosta. *Cultivos tropicales*, 21, 2000, pp 81-84.
- ⁷ García, I., Oviedo, D., Nieto, J. M., Peniche, C., Henriques, R. Método para el aprovechamiento del desecho de la langosta común. Patente Cubana N° 35,844, Cuba (1983).
- ⁸ Rodríguez, A.T.; Ramírez, M.A.; Cárdenas, R.M.; Falcón, A. & Bautistas. Efecto de la Quitosana en la inducción de la actividad de enzimas relacionadas con la defensa y protección de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24.(1), 2006, pp1-7.
- ⁹ Nge, K.L.; New, N.; Chandkrachang, S. & Stevens, W.F. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue cultura. *Journal of Plant Science*, 170, 2006, pp 1185-1190.

¹⁰ Chen, X.-G. , Liu, C.-S. , Meng, X.-H. , Lee, C.-M. & Park, H.-J. Preparation and biocompatibility of chitosan microcarriers as biomaterial. *Biochemical Engineering Journal*, Vol.27, No.3, 2006, pp 269-274.

¹¹ Nair, L. S.; Laurencin, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32, 2007, pp762-798.

¹² Expósito-Harris, R. Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos. (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España.2009.

¹³ Yeoam, C.K.; Kim, Y.H. & Lee, J.M. Microencapsulation of water-soluble herbicide by interfacial reaction. II. Release properties of microcapsules. *Journal of Applied Polymer Science*, 84, 2002, pp 1025-1034.