



Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**QUITOSANA QUIMICAMENTE MODIFICADA COM ALDEÍDOS E AMINAS PARA  
CARREAMENTO DE FÁRMACOS**

Joelma Moreira Abreu

Teresina-PI, 2017

Joelma Moreira Abreu

**QUITOSANA QUIMICAMENTE MODIFICADA COM ALDEÍDOS E AMINAS PARA  
CARREAMENTO DE FÁRMACOS**

Tese de doutorado apresentada a Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, ponto focal Piauí, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

**Orientadora:** Prof. Dra. Maria Rita de Moraes Chaves Santos

**Coorientador:** Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

Teresina-PI, 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

A162q Abreu, Joelma Moreira.  
Quitosana quimicamente modificada com aldeídos e  
aminas para carreamento de fármacos / Joelma Moreira Abreu.  
– 2017.  
118 f. : il.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal  
do Piauí, Rede Nordeste de Biotecnologia, Teresina, 2017.  
"Orientadora: Profª. Drª. Maria Rita de Moraes Chaves  
Santos".  
"Coorientador: Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho".

1. Quitosana. 2. Glutaraldeído. 3. Tilenodiamina. 4. Glicol.  
5. Formaldeído. I. Título.

CDD 615.1

**FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE****ALUNA:** Joelma Moreira Abreu Nunes**TÍTULO DO PROJETO:** "QUITOSANA QUIMICAMENTE MODIFICADA COM ALDEÍDOS E AMINAS PARA CARREAMENTO DE FÁRMACOS".**PROFESSORA ORIENTADORA:** Profa. Dra. Maria Rita de Moraes Chaves Santos

<b>BANCA EXAMINADORA:</b>	<b>CONCEITO</b>	<b>ASSINATURA</b>
Profa. Dra. Maria Rita de Moraes Chaves Santos – UFPI (Presidente)	<u>satisfatório</u>	<u>Maria Rita de Moraes Chaves Santos</u>
Profa. Dra. Carla Eiras - UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	<u>Carla Eiras</u>
Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva – UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	<u>Durcilene Alves da Silva</u>
Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes – UFPI (Examinador)	<u>SATISFATÓRIO</u>	<u>Lívio César Cunha Nunes</u>
Prof. Dr. José Milton Elias de Matos - UFPI (Examinador)	<u>Satisfatório</u>	<u>José Milton Elias de Matos</u>

**DATA DA AVALIAÇÃO:** 28 de novembro de 2017.**HORÁRIO:** 14:00h**LOCAL:** Auditório do Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Células-tronco (NUPCelt/UFPI).

## DEDICATÓRIA

A **DEUS** POR TUDO, POR TUDO ... muito OBRIGADA SENHOR!

*Deem graças ao Senhor porque ele bom;  
O seu amor dura para sempre. (salmos 107:1)*

## AGRADECIMENTOS

A Jesus Cristo, simplesmente, meu tudo, por ter cuidado de cada detalhe da minha vida.

A toda minha família e em especial ao meu pai José Francisco Borges Abreu, a minha mãe Maria Martins Oliveira Moreira Abreu, irmão Francisco Carlos Moreira Abreu, cunhada Mariana Nascimento Lima Abreu, meu filho amado Kayo Levi Abreu Nunes, por tudo, por serem instrumentos de Deus em minha vida.

Ao meu irmão *IN MEMORIAN* Franciel Moreira Abreu

À professora Rita por ser uma mãezona, por ter caminhado junto comigo 16 anos, pela sua orientação prestada, pela confiança, pela paciência e por todos os ensinamentos científicos. Meus sinceros agradecimentos, admiração e respeito.

Ao Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho por toda sua orientação prestada, pela confiança, pela paciência e por todos os ensinamentos científicos, profissionais e pessoais passados no doutorado.

A SEDUC /PI pela liberação para a conclusão deste doutorado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do RENORBIO, Ponto Focal Piauí, pelo aprendizado e ensinamentos passados durante o curso.

Aos colegas de doutorado da turma 2012.1 pela amizade e companheirismo durante o desenvolvimento desta tese, em especial: Ruthe, Jessica, Laurimere e Figueiredo.

Aos colegas de laboratório do LIMAV, pelo suporte e apoio durante o desenvolvimento desta tese, em especial: Rejane, Alan Icaro, Maura, Lucinaldo, Wal, Onaira e Diney.

Aos funcionários do LIMAV, por toda ajuda nos mais diversos momentos, em especial: Kelson, Kilson, Luciano, Edgar, Heldeney, Elton e Raimundo.

De um modo geral, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse realizado. Meu muito obrigado.

## RESUMO

Nós últimos anos houve um crescente interesse por estudos abordando a utilização de biopolímeros naturais e seus derivados modificados na liberação controlada de fármacos. Neste estudo, a quitosana foi modificada quimicamente com glutaraldeído (QMG) e etilenodiaminam(QMGE), bem como com o formaldeído (QMF) e o glioxal (QG), todos na ausência de solvente, com o objetivo de avaliar a interação da mesma para o processo de adsorção e liberação do diclofenaco de sódio. Os materiais foram caracterizados por meio da espectroscopia na região do infra vermelho, ressonância magnética nuclear, análises térmicas, difração de raios X e análise elementar. Nos estudos de adsorção considerou-se a variação do pH, tempo de contato, temperatura e concentração, enquanto no estudo da liberação apenas o pH foi variado. Os dados também foram ajustados a diferentes modelos cinéticos e a diferentes isotermas. Os resultados mostraram que a quitosana modificada mostrou-se promissora para o processo de adsorção e liberação do fármaco avaliado.

palavras-chave: adsorção, quitosana, glutaraldeído, etilenodiamina, formaldeído, glicol, diclofenaco de sódio

## ABSTRACT

In recent years there has been a growing interest in studies addressing the use of natural biopolymers and their modified derivatives in the controlled release of drugs. In this study, chitosan was chemically modified with glutaraldehyde (QMG) and ethylenediamine (QMGE), as well as with formaldehyde (QMF) and glyoxal (QG), all in the absence of solvent, in order to evaluate the interaction of the same to the process of adsorption and release of diclofenac sodium. The materials were characterized by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance, thermal analysis, X-ray diffraction and elemental analysis. In the adsorption studies the variation of pH, contact time, temperature and concentration was considered, while in the study of the release only the pH was varied. The data were also fitted to different kinetic models and different isotherms. The results showed that the modified chitosan was promising for the adsorption and release of the evaluated drug.

Key words: adsorption, chitosan, glutaraldehyde, ethylenediamine, formaldehyde, glycol, diclofenac sodium

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

Figura 01	Representação da evolução das publicações científicas por ano..	31
-----------	---	----

### Capítulo II

Figura 01	Estrutura química do diclofenaco de Sódio.....	43
Figura 02	Espectros de difração de raios X para QP(a), QMG(b) e QMGE(c) .....	53
Figura 03	Curvas de DSC para quitosana pura e modificada. a)QP, b)QMG e c) QMGE.....	54
Figura 04	Curvas de TG e DTG para quitosana pura .....	55
Figura 05	Curvas de TG e DTG para quitosana modificada com glutaraldeído .....	55
Figura 06	Curvas de TG e DTG para quitosana pura e modificada com glutaraldeído e etilenodiamina .....	55
Figura 07	Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP (a), QMG(b) e QMGE (c).....	57
Figura 08	Espectros de RMN de <sup>13</sup> C no estado sólido para QMG.....	58
Figura 09	Espectros de RMN de <sup>13</sup> C no estado sólido da (a) QP, (b) QPL, (c) QMG, (d) QMGE.....	59
Figura 10	Reação da quitosana com glutaraldeído e etilenodiamina.....	59
Figura 11	Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QMGE.....	60
Figura 12	Influência do pH na adsorção do DS pelo QMGE.....	62
Figura 13	Isotermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QMGE, a 25 °C (a), 35 °C (b) e 45 °C (c) realizado em pH 5,0.....	63
Figura 14	Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH.....	66

### Capítulo III

Figura 01	Estrutura química do diclofenaco de Sódio.....	75
Figura 02	Espectros de difração de raios-X para QP (a), QMF(b).....	81
Figura 03	Curvas de TG para quitosana pura (a) e modificada (b).....	82
Figura 04	Curvas de DTG para quitosana pura (a) e modificada com formaldeído (b) .....	82
Figura 05	Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP (a), QMF(b).....	83
Figura 06	Reação da quitosana com formaldeído.....	84
Figura 07	Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QMF.....	84
Figura 08	Influência do pH na adsorção do DS pelo QMF.....	85
Figura 09	Isotermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QMF, a 25 °C, 35 °C e 45 °C realizado em pH 5,0.....	86
Figura 10	Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH .....	89

### Capítulo IV

Figura 01	Estrutura química do diclofenaco de Sódio.....	96
Figura 02	Espectros de difração de raios X para QP e QG.....	104
Figura 03	Curvas de DSC para quitosana pura e modificada.....	105
Figura 04	Curvas de TG para quitosana pura e modificada.....	105
Figura 05	Curvas de DTG para quitosana pura e modificada.....	106
Figura 06	Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP e QG.....	107

Figura 07	Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ no estado sólido para QG.....	108
Figura 08	Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QG.....	109
Figura 09	Influência do pH na adsorção do DS pelo QG.....	110
Figura 10	Isotermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QG, a 25 °C, 35 °C e 45 °C realizado em pH 6,0.....	111
Figura 11	Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH.....	113

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

Tabela 01	Combinações de palavras-chave utilizadas para busca nos bancos de dados.....	30
Tabela 02	Resultados encontrados e moléculas biologicamente ativas.....	32

### Capítulo II

Tabela 01	Análise elementar de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), quantidades molares desses elementos e as respectivas razões (C/N) entre esses elementos para quitosana pura e seus derivados .....	52
Tabela 02	Parâmetros cinéticos obtidos com a equação de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e difusão de intrapartícula para adsorção do DS em QMGE .....	61
Tabela 03	Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMGE à 25°C .....	64
Tabela 04	Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, FreundlicheTemkin para adsorção do fármaco DS em QMGE na temperatura de 35°C, pH 5,0.....	65
Tabela 05	Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, FreundlicheTemkin para adsorção do fármaco D Sem QMGE na temperatura de 45°C, pH 5,0.....	65

### Capítulo III

Tabela 01	Análise elementar de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), para quitosana pura e seu derivado .....	80
Tabela 02	Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMF na temperatura de 25°C (298K) 35° (308k) e 45°C(318K) .....	87

## Capítulo IV

Tabela 01	Análise elementar de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), para quitosana pura e seu derivado .....	103
Tabela 02	Parâmetros cinéticos obtidos com a equação de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem para adsorção do DS em QG .....	109
Tabela 03	Parâmetros obtidos com os modelos de isothermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QG à 25°. 35 e 45 C em pH 06 .....	112

## LISTA DE ABREVIATURAS

DS- Diclofenaco sódico

QP- Quitosana pura

QMG- Quitosana modificada com glutaraldeído

QMGE- Quitosana modificada com glutaraldeído e etilenodiamina

DMF – n,n-dimetilformamida

DMA – dimetilacetamida

$\text{pH}_{\text{pzc}}$  – ponto de carga zero

TG – análise termogravimétrica

DTG – derivada termogravimétrica

RMN  $^{13}\text{C}$  – ressonância magnética nuclear de carbono 13

$\text{pH}_i$  – pH inicial

$\text{pH}_f$  – pH final

q – capacidade de adsorção do adsorvente em  $\text{mg g}^{-1}$

v – volume da solução do fármaco

$C_0$  – concentração inicial da solução do fármaco em  $\text{mg L}^{-1}$

$C_f$  – concentração final da solução do fármaco em  $\text{mg L}^{-1}$

m – massa do adsorvente em g

UV/VIS – espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta/visível

$\lambda$  – comprimento de onda em nm

$q_{\text{e}}(\text{exp ou cal})$  – quantidade adsorvida do fármaco no equilíbrio em  $\text{mg g}^{-1}$

$q_t$  – quantidade adsorvida no tempo t em  $\text{mg g}^{-1}$

$K_1$  – constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem em  $\text{min}^{-1}$   $K_2$  – constante de velocidade de adsorção de pseudo-segunda ordem em  $\text{g mg}^{-1}\text{min}^{-1}$

h – taxa inicial de adsorção em  $\text{mg g}^{-1}\text{min}^{-1}$

$C_e$  – concentração de equilíbrio da solução do fármaco em  $\text{mg L}^{-1}$

$b$  – constante de proporcionalidade que engloba a constante de equilíbrio no modelo de langmuir

$q_{\max}$  – quantidade máxima de fármaco que pode ser adsorvida em  $\text{mg g}^{-1}$

$C_e$  – concentração de equilíbrio mais alta em  $\text{mg L}^{-1}$

$K_f$  – constante relacionada com a capacidade de adsorção

$n$  – constante relacionada com a intensidade de adsorção e a espontaneidade da adsorção

$n_t$  – indica, quantitativamente, a reatividade dos sítios energéticos do material

$\%L$  – percentagem de liberação do fármaco

$d$  – quantidade desorvida do fármaco na solução em  $\text{mg L}^{-1}$

QMF- Quitosana modificada com formaldeído

QG- Quitosana modificada com glioxal

## SUMÁRIO

Introdução .....	20
Referências .....	23
Capítulo I: Uso de quitosanas quimicamente modificadas como suporte para moléculas biologicamente ativas: uma prospecção .....	25
Resumo .....	25
Abstract .....	26
1.Introdução.....	27
2.Materiais e Métodos.....	28
3.Resultados e discussão.....	29
3.1 Artigos .....	31
3.1.1 Quitosana quimicamente modificada e as moléculas biologicamente ativas	31
3.1.2. Hidrogel de quitosana modificada .....	32
3..1.3 Filmes de quitosana modificada .....	33
3..1.4. Nanopartículas de quitosana modificada .....	35
4. Conclusões .....	37
Referências .....	38
Capítulo II: Incorporação e liberação de diclofenaco de sódio utilizando quitosana modificada quimicamente com glutaraldeído e etilenodiamina .....	41
Resumo .....	41
Abstract .....	42
1.Introdução.....	43
2.Materiais e Métodos.....	45
2.1 Materiais .....	45
2.2. Desodorização da quitosana .....	46

2.3 Síntese da quitosana modificada.....	46
2.4 Caracterização dos materiais.....	46
2.5 Adsorção do fármaco .....	47
2.5.2 Estudo do tempo .....	47
2.5.3 Influência do pH .....	48
2.5.4 Isotermas de adsorção .....	49
2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio.....	50
3.Resultados e discussão.....	51
3.1 Análise Elementar.....	51
3.2 DRX .....	52
3.3. Análises Térmicas .....	53
3.4 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	56
3.5 RMN <sup>13</sup> C .....	57
3.6 Estudo de adsorção.....	60
3.6.1 Estudo cinético .....	60
3.6.2 Estudo do pH .....	61
3.6.3 Isotermas de adsorção .....	62
3.7 Liberação do diclofenaco de sódio.....	66
4. Conclusões .....	67
Referências .....	68
Capitulo III: Incorporação e liberação de diclofenaco de sódio utilizando quitosana modificada quimicamente com formaldeído .....	72
Resumo .....	72
Abstract .....	73
1.Introdução.....	74

2. Materiais e Métodos.....	76
2.1 Materiais .....	76
2.2. Desodorização da quitosana .....	76
2.3 Síntese da quitosana modificada.....	76
2.4 Caracterização dos materiais.....	76
2.5 Adsorção do fármaco .....	77
2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio.....	79
3. Resultados e discussão.....	80
3.1 DRX.....	80
3.2 Análises térmicas .....	81
3.3 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier .....	82
3.4 Liberação do diclofenaco de sódio.....	89
4. Conclusões .....	90
Referências .....	91
Capítulo IV: Incorporação e liberação de diclofenaco de sódio utilizando quitosana modificada quimicamente com glioxal .....	93
Resumo .....	93
Abstract .....	94
1. Introdução.....	95
2. Materiais e Métodos.....	97
2.1 Materiais .....	97
2.2. Desodorização da quitosana .....	97
2.3 Síntese da quitosana modificada.....	97
2.4 Caracterização dos materiais.....	98
2.5 Adsorção do fármaco .....	98

2.5.1 Estudo do tempo .....	98
2.5.2 Influência do pH .....	100
2.5.3. Isotermas de adsorção .....	100
2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio.....	102
3.Resultados e discussão.....	102
3.1 Análise Elementar.....	103
3.2 DRX .....	103
3.3 Análises térmicas.....	104
3.4 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	106
3.5 RMN <sup>13</sup> C .....	107
3.6 Estudo de adsorção.....	108
3.6.1 Estudo cinético .....	108
3.6.2 Estudo do pH .....	109
3.6.3 Isotermas de adsorção .....	110
3.7 Liberação do diclofenaco de sódio.....	113
4. Conclusões .....	114
Referências .....	115
Anexos .....	118

## INTRODUÇÃO

A quitosana é um biopolímero obtido da desacetilação da quitina, que é o maior constituinte de exoesqueletos de crustáceos e outros animais marinhos. É constituída de um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose de composição variável (ROBERTS, 1992). A quitina e a quitosana são materiais biologicamente interligados por ligações  $\beta$ -glicosídicas. Assim, ambas as formas coexistem na natureza em uma estrutura polimérica, com grau parcial de desacetilação, constituindo um copolímero (MONTEIRO JR. e AIROLDI, 2005).

Recentemente, a quitosana tem recebido grande atenção em diversas áreas da ciência, com vasta aplicação em medicina, indústrias farmacêuticas, agricultura, indústria de cosméticos, produtos alimentícios e, como sorvente na remoção de corantes e espécies metálicas de efluentes industriais (RAVI KUMAR et al, 2004).

A principal razão para este crescente avanço se deve ao fato de que a quitosana apresenta características biológicas importantes, tais como: biocompatibilidade, hidrofiliçidade, biodegradabilidade, propriedades bactericidas e bioatividade; sua utilização não traz toxicidade ao corpo humano, sendo por isso muito utilizada em sistemas de liberação de fármacos. Também mostra propriedades promissoras em membranas para ultrafiltração e osmose reversa (LIU, SU e LAI, 2004).

De acordo com Silva, Santos e Ferreira (2006), algumas aplicações da quitosana ficam limitadas, pelo fato de ser insolúvel em água e em meio neutro, condição em que a maioria das enzimas fisiológicas exerce sua atividade. Entretanto, a quitosana possui grupos funcionais reativos, um grupamento amino e dois grupamentos hidroxil, os quais ampliam as possibilidades de modificações químicas seletivas, como acetilação, alquilação e carboximetilação, dentre outras (SHI et al., 2006). Desse modo, pode-se afirmar que as modificações químicas na estrutura da quitosana viabilizam a síntese de derivados, ampliando as possibilidades para novas aplicações.

No quadro 01 estão resumidas as principais propriedades da quitosana.

Quadro 01: Natureza e propriedades intrínsecas da quitosana

<b>P R O P R I E D A D E S</b>	<b>Físicas</b>	Tamanho de partícula	<30 µm
		Densidade	1,35-1,40 g/cc
		Solubilidade	Insolúvel em água Solúvel em meio ácido
		Alta massa molecular	
	<b>Químicas</b>	pH	<5,5
		Alta densidade de carga	Em pH >5,5
		Adere a superfícies carregadas negativamente	
		Forma gel com poliânions	
		Poliétrólito linear	
		Quela metais de transição	
Favorável a modificações químicas			
Reage com hidróxidos			

Fonte: Adaptado de Bezerra (2011)

A extensa utilidade da quitosana está associada à imobilização das cadeias orgânicas, que podem interagir com outras moléculas ampliando sua aplicação. Com os fármacos, a quitosana é empregada para que a liberação controlada dos mesmos seja realçada (LIU, SU e LAI, 2004; MUZZARELLI, 2009), embora a sua utilização como uma matriz para liberar fármacos seja limitada, como mencionado anteriormente, devido à sua baixa solubilidade em água, sob condições fisiológicas, e falta de anfipaticidade. Por outro lado, vários derivados de quitosana obtidas a partir da exploração de uma série de reações resultaram em melhoria das propriedades e aplicabilidades destes biopolímeros (CHEN, TIAN, DU, 2004; LIN, et al, 2005; SASHIWA, et al 2002). Assim, para contornar a questão da baixa solubilidade deste material, muitos derivados tem sido sintetizados, como por exemplo, a carboximetil quitosana que apresenta uma melhor solubilidade e propriedade de retenção de umidade, e a hidroxipropil quitosana que apresenta atividade antibacteriana (WENMING, et al, 2002).

A entrega de fármacos hidrófilos e hidrófobos é atualmente um grande desafio no campo também da nanobiotecnologia, especialmente para os compostos orgânicos insolúveis em água, que constituem uma grande parte dos fármacos atualmente disponíveis, quer anticâncer ou anti-inflamatório (SMITH, et al, 2009). O desafio é, portanto, melhorar a eficácia terapêutica e reduzir os perfis de toxicidade do fármaco hidrófobo, enviando-o através de um transportador adequado.

Com base no exposto, o objetivo deste estudo foi modificar quimicamente o biopolímero quitosana e aplicar na adsorção e liberação do fármaco diclofenaco de sódio. O trabalho foi dividido em (quatro) 4 capítulos, sendo o capítulo 1 uma prospecção mostrando o uso de quitosanas quimicamente modificadas como suporte para moléculas biologicamente ativas; nos demais capítulos (2, 3 e 4), derivou-se artigos onde a quitosana foi modificada quimicamente na ausência de solvente e os materiais aplicados na adsorção (com variação de tempo, pH, temperatura e concentração) e liberação com variação de pH. Os dados também foram ajustados a diferentes modelos cinéticos e de isoterma.

## Referências

BEZERRA, A.M. **Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular**. Dissertação de Mestrado. 72f. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. São Paulo, 2011.

MONTEIRO JR, O. A. C.; AIROLDI C. The influence of chitosans with defined degrees of acetylation on the thermodynamic data for copper coordination. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 28, p. 232-37, 2005.

MUZZARELLI, R.A.A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydrate Polymers**. v. 76, p. 167–182, 2009.

RAVI KUMAR, M. N. V.; MUZZARELLI, C.; SASHIWAH.; DOMB, A. J. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chemical Reviews*. v.104 (12), p. 6017–6084, 2004.

ROBERTS, G.A.F. **Chitin Chemistry** p. 85-91, 1992.

LIU, Y. L.; SU, Y. H.; LAI, J. Y. In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan/silica hybrid membranes with using  $\gamma$ -glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent. **Polymer**, v. 45, n. 20, p. 6831-6837, Sep. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2004.08.006>.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

SHI, C., et al. Therapeutic potencial of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. **Journal of Surgical Research**, v. 133, p. 185-192, 2006.

CHEN, L.Y.; TIAN, Z.G.; DU, Y.M. Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices. **Biomaterials**. v. 25, p. 3725-3732, 2004.

LIN, Y. H.; LIANG, H. F.; CHUNG, C. K.; CHEN, M.C.; SUNG, H.W. Physically crosslinked alginate/N,O-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs. **Biomaterials**. v. 26, p. 2105-2113, 2005.

SASHIWA,H.; KAWASAKI, N.; NAKAYAMA, A.; MURAKI E.; YAMAMOTO,N.; AIBA, S. Chemical Modification of Chitosan. Synthesis of Water-Soluble Chitosan Derivatives by Simple Acetylation. **Biomacromolecules**. v. 3, p. 1126-1128, 2002.

SMITH, R.C; RIOLLANO, M.; LEUNG, A.; HAMMOND, P.T.; Layer-by-Layer Platform Technology for Small-Molecule Delivery. **Angewandte Chemie International Edition**.v.48, p 8974-8977, 2009.

WENMING, X.; PEIXIN, X.; WEI, W.; QING, L. Preparation and antibacterial activity of a water soluble chitosan derivative. **Carbohydrate. Polymers**. v. 50, p. 35-40, 2002.

# CAPITULO I: USO DE QUITOSANAS QUIMICAMENTE MODIFICADAS COMO SUPORTE PARA MOLÉCULAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS: UMA PROSPECÇÃO

## Resumo

A quitosana é um biopolímero obtido da desacetilação da quitina e é constituída de um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose de composição variável em função do grau de acetilação. Atualmente, a quitosana tem recebido grande atenção em diversas áreas da ciência, com vasta aplicação em medicina, indústria farmacêutica, indústria de cosméticos, produtos alimentícios e sua modificação a torna mais atraente quanto a suas propriedades e utilização. Diante desse exposto o objetivo deste capítulo é fazer um levantamento científico e tecnológico de artigos e patentes referentes às pesquisas sobre a quitosana modificada para suporte de moléculas biologicamente ativas. Para a realização da busca de patentes utilizou-se o banco de dados de patentes European Patent Office (Espacenet), United States Patent and Trademark Office (USPTO) e o Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil, para pesquisa de artigos as base de periódicos SCIELO, WEB OF SCIENCE e SCOPUS, foram exploradas. Dos 110 artigos encontrados na base de dados SCOPUS com a categoria de termos “*chitosan and chemically modified and drug*” 89 foram analisados, e destes 13 foram analisados na íntegra por tratar de quitosana modificada quimicamente como suporte para moléculas biologicamente ativas. Pode-se observar através dos resultados que dentre as biomoléculas mais estudadas e testadas encontra-se a insulina, o paxclitaxel, os pepitídeos e as proteínas. Não foi encontrado nenhuma patente utilizando os termos “*chitosan and chemically modified and controlled drug*”.

palavras-chave: prospecção, quitosana, biomoléculas

## **Abstract**

Chitosan is a biopolymer obtained from the deacetylation of chitin and consists of a copolymer of 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose and 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose of variable composition as a function of the degree of acetylation. Currently, chitosan has received great attention in several areas of science, with wide application in medicine, pharmaceutical industry, cosmetics industry, food products and its modification makes it more attractive as to its properties and use. In view of this, the objective of this research is to make a scientific and technological survey of articles and patents that used in their research modified chitosan as a support for biologically active molecules. For the accomplishment of the search of patents was used the database of patents European (USPTO) and the National Institute of Industrial Property (INPI) of Brazil, for the research of articles based on periodical SCIELO, WEB OF SCIENCE and SCOPUS, were explored. Of the 110 articles found in the SCOPUS database with the category of terms "chitosan and chemically modified and drug" 89 were analyzed, and of these 13 were analyzed in their entirety because they were chitosan chemically modified as a support for biologically active molecules. It can be observed from the results that among the most studied and tested biomolecules are insulin and proteins. No patent was found using the terms "chitosan and chemically modified and controlled drug.

keywords: prospecting, chitosan, biomolecules

## 1. Introdução

De acordo com Ge et al, (2018), o desenvolvimento de novos materiais baseados na quitosana é um campo de pesquisa muito atraente, o que tem sido corroborado pelo grande número de publicações científicas e patentes. A quitosana, obtida por desacetilação parcial da quitina, é o segundo polissacarídeo natural mais comum na Terra e o principal componente do exoesqueleto de crustáceos (NEUFELD e BIANCO-PELED, 2017). Não tóxico e não poluente, apresenta boas propriedades de biodegradabilidade, antibacterianas e filmogênicas (WANG e JING, 2017), e, em função dessas propriedades, pode ser aplicado em uma variedade de campos, incluindo medicina, agricultura e biotecnologia (MA et al, 2018).

Sabe-se que um grande número de modificações químicas através de rotas homogêneas e heterogêneas podem ser realizadas no anel glicopiranosídeo da quitosana, conferindo aplicabilidades aos novos biopolímeros (LIMA, AIROLDI, 2003; LIMA, AIROLDI, 2004). Na rota homogênea é imprescindível solubilizar a quitosana com solução de ácido acético  $1,70 \text{ mol dm}^{-3}$ , o que a rota heterogênea não requer. A modificação química da quitosana com anidridos orgânicos conduz à acetilação do grupo amino, ligado ao carbono 2 do anel glicopiranosídeo, em um processo denominado de N-acetilação. Porém, quando ocorre uma reação de regioseletividade, com ataque ao substituinte ligado ao carbono 6, a reação é chamada de Oxiacilação, podendo ser empregado, neste caso, como material de partida na quitosana, esse tipo de ligação é denominada de N-acetilação (LIMA e AIROLDI, 2004).

O biopolímero quitosana é muito versátil podendo formar redes tridimensionais de polímeros hidrofóbicos, que são insolúveis em água, os hidrogéis, os quais constituem um sistema monofásico e são preparados pela reticulação, utilizando um reagente bifuncional capaz de unir cadeias poliméricas, através de ligações cruzadas, formando uma rede de cadeias capazes de absorver água e permanecer insolúvel. Como tal, hidrogéis de quitosana têm sido amplamente usados em aplicações biomédicas, tais como engenharia de tecidos e liberação de fármacos (KANG, SHEN e CHEN, 2008), o que se deve ao fato de ser considerado um biomaterial de atividades imunoestimulantes, propriedades anticoagulantes, ação

antimicrobiana e antifúngica, além de possuir ação como promotor da cicatrização de feridas no campo da cirurgia (PEPPAS e LANGER, 1994).

Além de transportadores à base de lipídios bem conhecidos, tais como lipossomas, diferentes tipos de portadores em nanopartículas ou micropartículas foram investigados (HALEY e FRENKEL, 2008), como o desenvolvimento de micelas (OERLEMANS, et al, 2010), de nanopartículas (HUYNH, et al, 2009), nanocápsulas baseados em emulsão (MORA-HUERTAS, FESSI e ELAISSARI, 2010; UPADHYAY, et al, 2009) e mais recentemente transportadores poliméricos (SANSON et al, 2010). No entanto, os transportadores de fármacos micelares exibem ainda a capacidade de carga limitada, bem como, um controle limitado da sua taxa de liberação, enquanto que os sistemas baseados em emulsão têm limitações associadas com a necessidade de uma fase de óleo (SANSON et al, 2010).

Já a liberação de fármacos através de sistema de entrega transdérmica de fármacos é limitada devido à absorção limitada pela pele. Filmes de quitosana podem ser produzidos e quando aplicados à pele, muitas vezes causam irritação devido à presença de vestígios de ácido, exceto os filmes que removem primeiro traços de ácido; conseqüentemente, existe uma necessidade de desenvolver uma forma de dosagem que forneça o medicamento numa forma sustentada. Desse modo, os polímeros sintéticos e naturais, como a quitosana, são candidatos especialmente interessantes, devido à sua versatilidade de propriedades biodegradáveis e físico-químicas (HOARE e KOHANE, 2008; SIVAKUMAR et al, 2009).

Portanto, o objetivo deste artigo é mostrar uma revisão bibliográfica e tecnológica sobre o uso de quitosanas quimicamente modificadas como suporte para moléculas biologicamente ativas.

## **2. Materiais e Métodos**

Para a realização desta pesquisa fez-se uma busca de patentes utilizando o banco de dados de patentes European Patent Office (Espacenet), United States Patent and Trademark Office (USPTO) e o Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil; para pesquisa de artigos as bases de periódicos SCIELO, WEB OF SCIENCE e SCOPUS foram exploradas. As buscas foram realizadas no período de fevereiro/2016 à outubro/2017.

A pesquisa foi iniciada fazendo o refinamento da busca utilizando as combinações: *chitosan and modified*; *chitosan and modified and chemically*; *chitosan and modified and chemically and drug*; *chitosan and chemically modified and controlled drug release*; *chitosan and chemically modified and aldehyde and controlled drug release*; *chitosan and chemically modified and aldehyde glutaraldehyde and controlled drug release*; *chitosan and chemically modified and glioxal controlled drug release*; *chitosan and chemically modified and formaldehyde controlled drug release*. Para fazer a busca no INPI, utilizou-se os termos em português.

Essas combinações foram delimitadas aos campos de “título” e/ou “resumo”. Os artigos e patentes foram publicados entre os anos de 2006 a 2017. Para análise dos artigos, adotou-se como critérios de exclusão artigos em duplicata e artigos de revisão, e como critério de inclusão os mesmos apresentarem no título, resumo ou palavras-chave os termos citados.

### **3. Resultados e discussão**

Os estudos relacionados à quitosana vem crescendo ao longo do tempo, devido as suas propriedades e pelo seu potencial tecnológico. Observa-se ao analisar a base de dados *Scopus* que dos 53.144 artigos publicados com o termo *chitosan*, cerca de 507 artigos estão relacionados a *quitosana modificada quimicamente* e 164 artigos estão relacionados com *drugs* (Tabela 1). Quanto ao número de patentes observa-se um número significativo de patentes depositadas na base USPTO e Espacenet para quitosana, porém um número ainda muito baixo foi encontrado para quitosana modificada e para quitosana modificada aplicada a fármacos não foi encontrado registro, mostrando ser uma área muito promissora e que ainda é pouco explorado a nível de patentes.

A base SCOPUS foi escolhida para leitura e análise dos artigos porque a mesma apresenta um número elevado de artigos publicados no mundo.

Tabela 01 – Combinações de palavras-chave utilizadas para busca nos bancos de dados

Palavras- chave	Artigos			Patentes		
	Scopus	Web of Science	Scielo	USPTO	Espacenet	INPI
Chitosan	53.144	54.157	452	1044	> 10000	185
chitosan and modified	7.011	8.610	64	68	2.402	7
chitosan and modified and chemically	507	648	12	5	83	3
chitosan and modified and chemically and drug	164	115	1	0	0	0
chitosan and chemically modified and controlled drug release	35	31	0	0	0	0
Chitosan and chemically modified and aldehyde and controlled drug release;	0	0	0	0	0	0
Chitosan and chemically modified and glutaraldehyde and controlled drug release;	0	0	0	0	0	0
Chitosan and chemically modified and glioxal controlled drug release;	0	0	0	0	0	0
Chitosan and chemically modified and formaldehyde controlled drug release.	0	0	0	0	0	0

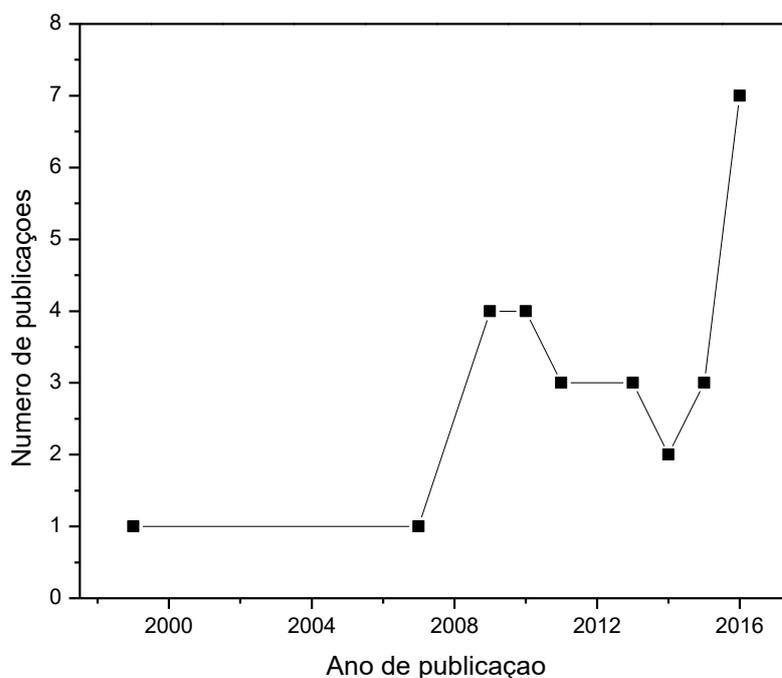
Fonte: Autoria própria, 2017

Dentre os 164 artigos encontrados na base de dados SCOPUS com a categoria de termos “chitosan and modified and chemically and drug” 128 foram analisados, pois o restante eram artigos de revisão e capítulo de livro. Destes, 35 foram encontrados com os termos “*chitosan and chemically modified and controlled drug release*” dos quais apenas 28 encaixavam-se na categoria artigo, sendo 12 deles analisados na íntegra, pois tratavam de quitosana modificada como suporte para moléculas biologicamente ativas.

A Figura 1 representa os resultados das publicações na *Scopus* com o termo “*chitosan and chemically modified and controlled drug release*”. Observa-se que o ano em que houve um maior número de publicações foi 2016. Pode-se perceber que nesse ano o número de publicações é superior em relação a anos

anteriores; este aumento no número de estudos mostra que essa tecnologia é recente e emergente e que a quitosana modificada possui um elevado potencial tecnológico devido às suas propriedades melhoradas.

Figura 1. Representação da evolução das publicações científicas por ano.



Uma abordagem mais detalhada dos 12 artigos encontrados nesta prospecção, onde os autores trabalharam com quitosana modificada para liberação de fármacos, estão descritos a seguir.

### 3.1 Artigos

#### 3.1.1 Quitosana quimicamente modificada e as moléculas biologicamente ativas

As interações entre as quitosanas quimicamente modificadas e os fármacos pode ser benéfico biofarmaceuticamente, pois melhoram a solubilidade e/ou modificam o perfil de liberação do fármaco. Neste estudo, verificou-se o uso de diversas outras moléculas que não são especificamente fármacos, mas que são utilizadas com a quitosana modificada. A Tabela 02 mostra alguns dos resultados encontrados e as moléculas biologicamente ativas usadas pelos autores em suas pesquisas usando quitosana modificadas.

Tabela 02: Alguns artigos encontrados e moléculas biologicamente ativas

Quitosana Modificada	Moléculas biologicamente ativas	Referência
Hidrogel de alginato e quitosana quimicamente modificada com carboximetil e acrilato de sódio	Proteínas	Ibrahim e EL-Sherbin, (2010)
N- [(2-Hidroxi-3-trimetilamônio) propil] de cloreto de quitosana modificada quimicamente com cloreto de glycidyltrimethylammonium	Insulina	Shi, et al, (2011)
Quitosana modificada quimicamente com N-acetil-L-cisteína	Insulina	Wu, et al, (2009)
Quitosana quaternizada como policátion	Paclitaxel	Boudou et al, (2012)
Acetato de quitosana	Cloridrato de propranolol	Hemant e Shivakumar, (2010)
Quitosana modificada com acetaldeído e propionaldeído	Etoricoxib	Wahid; Sridhar e Shivakumar, (2008)
Oligossacarídeo de quitosana quimicamente modificada com ácido biliar (ácido desoxicólico e ácido litocólico)	Paclitaxel	Park et al, (2014)
Quitosana modificada quimicamente com ácido desoxicólico	Itraconazol	Choi et al, (2009)
Nano-agregado de quitosana	Proteína	Park et al, (2007)
Glicol de quitosana quimicamente modificado com N-acetil-histidina	Peptídeos	Lee et al, (2010)
Quitosana quimicamente modificados com poli(etilenoglicol)(0,5% e 1% de grau pegilação)	Calcitonina de salmão	Prego et al., (2006)
O biopolímero quitosana foi quimicamente modificado por meio de duas sequências de reações: (i) a imobilização de acrilato de metilo seguido por cisteamina e (ii) a sequência de reações que envolvem imobilização de sulfureto de etileno, acrilato de metilo e, finalmente, a cisteamina.	Ibuprofeno	Vieira, Badshah e Airoidi (2013)

Pode-se observar que há uma variedade de biomoléculas estudadas e testadas. Algumas informações mais detalhadas destes artigos encontram-se a seguir:

### 3.1.2 Hidrogel de quitosana modificada

Um estudo de preparação e avaliação *in vitro* da administração oral de fármacos de proteínas utilizando hidrogel de alginato e quitosana quimicamente modificada com carboximetil e acrilato de sódio foi realizado por Ibrahim e El-Sherbiny (2010). Para este estudo primeiramente foi realizada a modificação da quitosana e, posteriormente, preparou-se o hidrogel, onde foram feitas diferentes

composições para o desenvolvimento das microesferas, através do estudo o autor concluiu que as microesferas de hidrogel são sensíveis a natureza do pH e que a degradação destes materiais ocorre lentamente, mostrando uma alta eficiência de retenção e um perfil de liberação sustentada promissor da proteína modelo.

Hidrogéis de quitosana vem sendo muito utilizado e testado nos últimos anos. Shi, et al, (2011) prepararam um hidrogel de quitosana utilizando cloreto de *N*- [(2-Hidroxi-3-trimetilamônio) propil] de quitosana (HTCC) modificada quimicamente com cloreto de glicidiltrimetilamônio (GTMAC). Assim, um novo hidrogel composto foi preparado utilizando a mistura de HTCC e  $\alpha$ - $\beta$ -glicerofosfato ( $\alpha$ - $\beta$ -GP). A gelificação de HTCC/GP dependia principalmente da concentração e da proporção de HTCC e GP. Os autores testaram a liberação da insulina *in vitro*, e constataram que o hidrogel dissolvido libera rapidamente o fármaco sob condições ácidas, enquanto que a água absorvida, libera mais lentamente o fármaco sob condições neutras ou básicas e que os hidrogéis são biocompatíveis.

Outro hidrogel sintético similar ao da matriz extracelular (MEC) foi preparado por ligação cruzada de quitosana modificada com tiol. CS foi modificada quimicamente com N-acetil-L-cisteína (NAC) (WU, et al, 2009). Para minimizar a interferência com a função biológica, o grau de substituição dos grupos tiol foi mantida abaixo de 50%. Os autores puderam observar a liberação *in vitro* da insulina e que os resultados demonstram que os hidrogéis obtidos constituem um novo tipo de polímeros macroporosos, biocompatíveis, sintéticos, que são promissores em aplicações de engenharia de tecidos, liberação de droga e cultura de células.

### **3.1.3 Filmes de quitosana modificada**

Um dos grandes desafios na área de liberação de fármacos, diz respeito a solubilidade dos fármacos em água, pois uma grande parte dos fármacos disponíveis comercialmente são hidrofóbicos ou exibem fraca solubilidade aquosa e devem ser administrados utilizando um veículo apropriado.

Boudou e colaboradores (2012), carregaram com sucesso o fármaco anticancerígeno hidrofóbico paclitaxel (PTX) em filmes com multicamada de polieletrólito feitos de um derivado alquilado como poliânion e outro poli(L-lisina) ou quitosana quaternizada como polication. Estes filmes exibem uma alta capacidade de incorporar o agente anticancerígeno seletivamente nos nanodomínios

hidrofóbicos. Com esta vantagem, a quantidade carregada PTX poderia ser variada, dependendo do número de camadas depositadas, concentração inicial de paclitaxel e do tipo de policação. Sob condições fisiológicas, o fármaco incorporado foi liberado lentamente sem explosão inicial e os filmes permaneceram estáveis.

Curiosamente, a hidrólise enzimática utilizando a hialuronidase, a 37° C, acelera a liberação de PTX dos filmes por degradar a integridade do filme. Como os tumores são conhecidos para segregar níveis elevados de hialuronidase, esta capacidade deste sistema para libertar a PTX na presença de hialuronidase pode representar mais uma valia para o direcionamento de liberação de PTX. Além disso, uma funcionalidade adicional pode ser fornecida para a parte hidrofílica interior das microcápsulas para alcançar uma distribuição em bi-compartimento para ambos os fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos (BOUDOU et al, 2012).

Hemant e Shivakumar (2010) formularam e avaliaram os filmes de acetato de quitosana para a distribuição transdérmica de cloridrato de propranolol. Os filmes foram preparados utilizando o acetato de quitosana sintetizados sendo que os mesmos exibiram propriedades físico-químicas e características de liberação de fármaco superiores aos de quitosana. Os resultados também indicam que os filmes de acetato de quitosana podem ser adequados para a entrega de cloridrato de propranolol por via transdérmica, e que oferece algumas vantagens sobre outras vias.

Filmes também podem ser preparados utilizando aldeídos para formar bases de Schiff. Wahid, Sridhar e Shivakumar (2008) modificaram quitosana quimicamente por tratamento com dois aldeídos diferentes como acetaldeído e propionaldeído, para formar bases de Schiff, as quais foram nomeados como polímero A e polímero B, respectivamente; filmes poliméricos de quitosanas livres e quitosana modificada quimicamente/mistura de hidroxipropilmetil celulose foram preparadas e avaliadas por várias características físico-químicas; além disso, os filmes foram incorporados com a droga anti-inflamatória etoricoxib, utilizando glicerol como plastificante. As películas carregadas com a droga foram reticulados com citrato de sódio e estudaram-se as características de penetração através da membrana de diálise na pele do rato. Todas as películas foram avaliadas quanto à ruptura, índice de inchamento, a absorção de umidade, uniformidade da espessura, uniformidade do conteúdo da droga, a resistência à tração, percentual de

alongamento à ruptura, taxa de transmissão de vapor de água e, estudo *in vitro* de permeação da droga. Os autores concluíram que os sistemas transdérmicos de etoricoxib podem ser preparados com sucesso usando a quitosana modificada.

#### **3.1.4. Nanopartículas de quitosana modificada**

Outro estudo desenvolvido utilizando o paclitaxel, agora utilizando o sistema de nanopartículas, foi realizado por Park et al, (2014); neste estudo os autores desenvolveram um transportador de paclitaxel com base em quitosana. Para isso, um oligossacarídeo de quitosana (COS) foi quimicamente modificado com ácido biliar como um grupo hidrofóbico. Paclitaxel foi carregado com ácido biliar conjuntamente com nanopartículas de oligossacarídeos de quitosana por um processo de diálise. Os autores puderam constatar que as nanopartículas de COS carregadas com paclitaxel podem ser preparadas com sucesso com um rendimento de 80% - 90% de paclitaxel e encapsulação de 54% à 70%. As nanopartículas carregadas com paclitaxel mostraram alta atividade anticancerígena, sendo que a eficácia anti-tumor *in vivo* foi demonstrada com inibição significativa do crescimento do tumor em ambos os grupos tratados com paclitaxel. A diminuição na citotoxicidade e o aumento da atividade anti-tumoral pode conduzir a uma melhoria no Índice terapêutico em uso clínico em comparação como paclitaxel comercial.

Choi et al. (2009), para desenvolver o transportador de agentes antifúngicos hidrofóbicos baseados em quitosana de baixo peso molecular solúveis em água (LMWSC), modificaram quimicamente LMWSC com ácido desoxicólico, que é um dos ácidos biliares que atuam como um grupo hidrófobo. Nanopartículas de itraconazol carregado como um agente antifúngico foram preparadas pelo método de evaporação do solvente. O teor de fármaco e a eficiência de carga investigados por espectrofotometria de UV foram de aproximadamente 9~10% e 61~68%, respectivamente. A liberação da droga a partir das nanopartículas foi lento e mostrou características de liberação controlada. Com base nos resultados do estudo de liberação e devido a taxa de liberação lenta, o material modificado poderia ser usados como um excelente agente anti-fúngico.

Nano-agregados de quitosana usando quitosana-pluronic termo-sensível foram preparadas por Park et al, (2007), por meio do enxerto monocarboxil Pluronic F127 sobre a quitosana utilizando 1-etil-3 (3- dimetilaminopropil) carbodiimida e N-

hidroxissuccinimida. Nano-agregados de albumina de soro bovino foram preparadas pelo método de dissolução direta baseada na propriedade termossensível do copolímero. Os resultados sugerem que nano-agregados deste material pode ser potencialmente nanocarreados para a entrega de proteínas.

Com o objetivo de preparar e caracterizar um magneto fluorescente de nanopartículas poliméricas para imagens de câncer de próstata *in vivo*, Lee et al, (2010) realizaram um trabalho onde glicol de quitosana foi quimicamente modificada com N-acetil-histidina como uma porção hidrofóbica, onde a mesma foi usada no direcionamento de receptores peptídicos de liberação gástrica super expressos em células de cancro da próstata.

Em outro estudo utilizando nanopartículas (Prego et al, 2006), a quitosana foi modificada quimicamente com polietilenoglicol (PEG) (0,5% e 1% de grau peguilação). Para isso, nanocápsulas quitosana-PEG e nano emulsões controle PEG-revestidos foram obtidos pela técnica de deslocação do solvente. Os autores observaram que a presença de PEG, quer isoladamente, quer enxertados com quitosana, melhorou a estabilidade de nanocápsulas nos fluidos gastrointestinais; além disso, estas nanocápsulas não provocam uma alteração significativa na resistência transepitelial da monocamada. Portanto, os resultados dos estudos *in vivo* mostrou a capacidade de nanocápsulas de quitosana-PEG para aumentar e prolongar a absorção intestinal de calcitonina. Além disso, o grau de peguilação afetou o desempenho *in vivo* das nanocápsulas. Por conseguinte, através da modulação do grau de peguilação quitosana, era possível obter nanocápsulas com uma boa estabilidade, uma citotoxicidade baixa e com propriedades de aumento de absorção.

Em outro trabalho o biopolímero de quitosana foi quimicamente modificado por meio de duas sequências de reações: (i) pela imobilização de acrilato de metilo seguido por cisteamina e (ii) sequência de reações que envolvem imobilização sulfato de etileno, acrilato de metilo e, finalmente, a cisteamina (Vieira, Badshah e Airoidi, 2013); os biopolímeros recém-sintetizados têm habilidades para imobilizar e liberar de forma controlável o fármaco não esteróide ibuprofeno e os biomateriais carregados com ibuprofeno revelaram que a libertação do fármaco é sensível ao pH.

Não foi observado nenhuma patente com os termos “*chitosan and chemically modified and controlled drug*,

#### **4. Conclusões**

A quitosana modificada vem sendo bastante estudada e aplicada na liberação controlada de fármacos, moléculas biologicamente ativas. Neste trabalho pode-se observar que, dentre as biomoléculas mais estudadas e testadas, encontram-se a insulina, os peptídeos e as proteínas, sendo, portanto, muito promissor os estudos que envolvam quitosana modificada para liberar moléculas biologicamente ativas; observa-se ainda que a modificação da quitosana em filmes é a que vem sendo mais estudada.

Foi possível verificar também, neste trabalho, que no período avaliado não foi encontrado registros de patentes que utilizam quitosanas modificadas para liberação de fármacos; o seu uso tecnológico não foi ainda explorado.

## Referências

BOUDOU, T., KHARKAR, P.; JING, J.; GUILLOT, R., PIGNOT-PAINTRAN, I.; AUZELY-VELTY, R.; PICART C. Polyelectrolyte multilayer nanoshells with hydrophobic nanodomains for delivery of Paclitaxel. **Journal of Controlled Release**.v.159, p. 403-412, 2012

CHOI,C.; JUNG,H.; NAM, J. P.;PARK, Y.;JANG, .M. K.; NAM,,J.W. Preparation and Characterization of Deoxycholic Acid-Conjugated Low Molecular Weight Water-Soluble Chitosan Nanoparticles for Hydrophobic Antifungal Agent Carrier. **Polymer**. v. 33, p. 389-395, 2009

Ge, J.; Yue, P.; Chi, J.; Liang, J.; Gao, X.. Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chit. **Food Hydrocolloids**. v. 74, p. 23-31, 2018

HALEY, B.; FRENKEL, E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigation**. v. 26, p.57-64, 2008

HEMANT, K.S.Y.; SHIVAKUMAR, H.G. Development of Chitosan Acetate Films for Transdermal Delivery of Propranolol Hydrochloride Tropical **Journal of Pharmaceutical Research**. v. 2, p. 197-203, 2010.

HOARE,T. R.; KOHANE, D.S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**. v. 49, p. 1993–2007,2008.

HUYNH, N.T.; PASSIRANI, C.; SAULNIER, P.; BENOIT, J.P. Lipid nanocapsules: A new platform for nanomedicine. **International Journal of Pharmaceutics**. v.379, p.201-209, 2009.

IBRAHIM, M.; EL-SHERBINY, Enhanced pH-responsive carrier system based on alginate and chemically modified carboxymethyl chitosan for oral delivery of protein drugs: Preparation and in-vitro assessment. **Carbohydrate Polymers**. V. 80, (2010)p. 1125–1136, 2010.

KANG,B.; DAI,Y.; SHEN,X.; CHEN,D. Dynamical modeling and experimental evidence on the swelling/deswelling behaviors of pH sensitive hydrogels **Materials Letters** v. 62,n.19, p. 3444-3446, 2008.

LEE, C. M.; JEONG, H. J.; CHEONG, S. J. ; KIM, E. M.; KIM, D. W.; LIM, S. T.; SOHN M. H. Prostate Cancer-Targeted Imaging Using Magnetofluorescent Polymeric

Nanoparticles Functionalized with Bombesin First. **Pharmaceutical Research**. v. 27, p. 712-721, 2010.

LIMA, I. S.; AIROLDI, C. interaction of copper with chitosan and succinic anhydride derivative—a factorial design evaluation of the chemisorption process. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 229, p.129-136, 2003.

LIMA, I. S.; AIROLDI, C.A thermodynamic investigation on chitosan–divalent cation interactions. **Thermochimica Acta**. v. 421.p.133-139, 2004.

MA, Z.; ;ALEJANDRO GARRIDO-MAESTU, A.; LEE, C.; CHON, J.; JEONG, D.; YUE, Y.; SUNG, K.; PARK, Y.; JEONG, K.C. Comprehensive in vitro and in vivo risk assessments of chitosan microparticles using human epithelial cells and *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Hazardous Materials** 341 (2018) 248–256

MORA-HUERTAS, C.E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. v.385, p.113-142, 2010.

NEUFELD, L. E BIANCO-PELED, H. Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. **International Journal of Biological Macromolecules** 101 (2017) 852–861

OERLEMANS, C.; BULT, W.; BOS, M.; TEMPESTADE, G.; NIJSEN, J.F.W.; HENNINK, W.E. Polymeric Micelles in Anticancer Therapy: Targeting, Imaging and Triggered Release. **Pharmaceutical Research**. v.27, p. 2569-2589, 2010.

PARK, K. M.; CHOI, J.H.; BAE, J.W.; JOUNG, Y.K.; PARK, K.D. Nano-aggregates using thermosensitive chitosan copolymers as a nanocarrier for protein delivery. **Journal of Experimental Nanoscience**. v. 4, p. 15–17, 2007.

PARK, J.K.; KIM, T.H.; NAM, J.P S.; ..PARK, C.; PARK, Y.; JANG, M..K.; NAH, J. W. Bile acid conjugated chitosan oligosaccharide nanoparticles for paclitaxel carrier. **Macromolecular Research**. v. 22, p. 310–317, 2014.

PEPPAS, N.A.; LANGER, R. New challenges in biomaterials. **Science** v. 263, p.1715-1720, 1994.

PREGO, C.; TORRES, D.; FERNANDEZ-MEGIA, E.; NOVOA-CARBALLAL, R.; QUIÑOÁ, E.; ALONSO, M.J. Chitosan–PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery Effect of chitosan pegylation degree. **Journal of Controlled Release** v.111, 299–308, 2006.

SANSON,C.; SCHATZ, C.; MEINS, J. F.; A. SOUM, L.,E.; THEVENOT, J.;GARANGER, E.;LECOMMANDOUX,S. A simple method to achieve high doxorubicin loading in biodegradable polymer somes. **Journal of Controlled Release**. v. 147, p. 428–435, 2010.

SHI, W.; YANWEN, J.I.;XINGE, Z.; SHUJUN, S.;ZHONGMING, W.U. Characterization of ph- and thermosensitive hydrogel as a vehicle for controlled protein delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**.v.100 , p. 886-895, 2011.

SIVAKUMAR,S.; BANSAL,V.; CORTEZ, C.; CHONG, SF.; ZELIKIN, AN. Caruso, F. Degradable, surfactant-free, monodisperse polymer-encapsulated. Emulsions as Anticancer Drug Carriers. **Advanced Materials**. v. 21, p. 1820–1824, 2009.

SOPPIMATH,K.S.; AMINABHAVI,T.M.; KULKARNI, A.R.; RUDZINSKI,W.E.; Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**.v.70, p.1-20,2001.

UPADHYAY, K.K.;LE MEINS, MISRA, J.F. R.;VOISIN, P.;BOUCHAUD, V.; IBARBOURE, E.;SCHATZ,C.;LECOMMANDOUX, S.Biomimetic Doxorubicin Loaded Polymer somes from Hyaluronan-block-Poly( $\gamma$ -benzylglutamate) Copolymers. **Biomacromolecules**. v.10, p. 2802–2808, 2009.

VIEIRA, A. P.; BADSHAH, S.; AIROLDI,C. Ibuprofen-loaded chitosan and chemically modified chitosans- Release features from tablet and film forms **International Journal of Biological Macromolecules** v. 52, p. 107–115, 2013.

WAHID, A.; SRIDHAR, B.K.; SHIVAKUMAR, S. Preparation and evaluation of transdermal drug delivery system of etoricoxib using modified chitosan **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences** v.70, p.455-460, 2008.

WANG, S. e JING, Y. Study on the barrier properties of glycerol to chitosan coating layer. **Materials Letters** 209 (2017) 345–348

WU, ZM; ZHANG, XG; ZHENG C.; LI, CX; ZHANG, SM; DONG, RN; YU, DM. Disulfide-crosslinked chitosan hydrogel for cell viability and controlled protein release. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**.v. 37, p. 198-206, 2009.

## CAPITULO II- INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO UTILIZANDO QUITOSANA MODIFICADA QUIMICAMENTE COM GLUTARALDEÍDO E ETILENODIAMINA

### RESUMO

*O diclofenaco de sódio é um fármaco de consumo mundial que pertence à classe dos anti-inflamatórios. Este estudo teve como objetivo avaliar a interação do mesmo por meio de adsorção e liberação com a quitosana modificada quimicamente na ausência de solvente. A quitosana pura foi modificada quimicamente com glutaraldeído e etilenodiamina na ausência de solventes, onde a caracterização do material, bem como a eficácia da reação, foi realizada por várias análises. A espectroscopia na região do infravermelho e a ressonância magnética nuclear no estado sólido no núcleo do carbono-13 para o material modificado, comprovou, através da comparação com a quitosana pura, a incorporação do glutaraldeído e da etilenodiamina na quitosana. A termogravimetria mostrou o mesmo perfil de outros biopolímeros modificados e a difração de raios X mostrou a perda da cristalinidade. Através da análise elementar pode-se observar pelas proporções de C, N, e H que o material foi modificado; no caso do glutaraldeído, houve aumento na porcentagem de carbonos, e na segunda modificação, o aumento na porcentagem de N evidencia a reação com a etilenodiamina. Para o teste de adsorção foi utilizado o material modificado com etilenodiamina (pH=5), onde através dos resultados constatou-se que no tempo de 90 minutos houve melhor adsorção, cuja capacidade máxima de adsorção foi de 122,69 (mg g<sup>-1</sup>). O material quitosana modificado com glutaraldeído e etilenodiamina foi investigado quanto ao seu potencial de liberação do Diclofenaco Sódico em sistemas de liberação controlada, onde pode-se observar que o material tem melhor liberação no pH 7,4.*

palavras-chave: adsorção, quitosana, glutaraldeído, etilenodiamina, diclofenaco de sódio

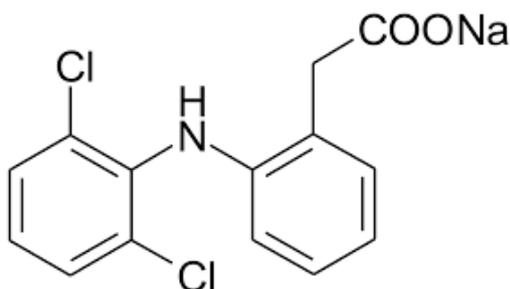
## ***ABSTRACT***

Diclofenac sodium (DS) is a world-class drug that belongs to the class of anti-inflammatories. This study aimed to study the interaction of the same by adsorption and release with chemically modified chitosan in the absence of solvent. Pure chitosan was chemically modified with glutaraldehyde (QMG) and ethylenediamine in the absence of solvents (QMGE), where the characterization of the material as well as the efficacy of the reaction was performed by several analyzes. Infrared spectroscopy and solid state nuclear magnetic resonance at the carbon-13 nucleus for the modified material demonstrated by comparing with pure chitosan the incorporation of glutaraldehyde and ethylenediamine into chitosan. Thermogravimetry showed the same profile of other modified biopolymers and X-ray diffraction showed the loss of crystallinity. By the elemental analysis it can be observed by the proportions of C, N, and H that the material was modified, in the case of the QMG material due to the increase in the carbon percentage, and in the second modification the increase in the percentage of N evidences the reaction with To ethylenediamine (QMGE). For the adsorption test, the material QMGE (pH = 5) was used, where through the results it was found that in the 90-minute time period there was higher adsorption, with a maximum adsorption capacity of 122.69 (mg g<sup>-1</sup>). The QMGE-DS material was investigated for its potential release of DS in controlled release systems, where it can be observed that the material releases better at pH 7.4.

keywords: adsorption, chitosan, glutaraldehyde, ethylenediamine, diclofenac sodium

## 1.INTRODUÇÃO

O diclofenaco [2(2,6-diclorofenilamino)-benzeno acético monossódico faz parte de um grupo de fármacos antiinflamatórios não esteroidais (AINE's), os quais são comumente utilizados para reduzir processos inflamatórios associados com lesões de tecidos moles, sendo sua principal aplicação clínica como agente anti-inflamatório (HEYNEMAN; LIDAY e WALL, 2000). A estrutura do diclofenaco de sódio está mostrada na Figura 1.



**Figura 1:** Estrutura química do diclofenaco de sódio

O uso prolongado e abusivo dos AINE'S pode gerar graves danos ao trato gastrointestinal causando desde dores estomacais a severas úlceras e hemorragias (Batlouni, 2010). O tempo de meia vida destes fármacos bem como seus efeitos colaterais requer um sistema de liberação controlada como sistema alternativo de formulação. A concepção de um sistema de liberação de fármacos é geralmente baseada em propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do fármaco. Formas de liberação convencionais de fármacos são conhecidas por proporcionar uma liberação imediata do fármaco, com pouco ou nenhum controle sobre a taxa de liberação. Para atingir e manter as concentrações plasmáticas terapeuticamente eficazes é necessário o controle da dosagem, no sentido de evitar flutuações significativas nos níveis plasmáticos (VILARINHO, 2015).

O uso de fármacos convencionais de liberação imediata pode levar a flutuações, que no organismo pode atingir níveis abaixo da concentração mínima eficaz ou exceder a concentração tóxica, resultando em efeitos colaterais indesejáveis, ou ainda a falta de benefício terapêutico pretendido para o paciente. Assim, é desejável minimizar as variações temporais da concentração do fármaco, usando um sistema de liberação modificada para evitar períodos de superdosagem e subdosagem, existindo, assim, uma relação direta entre a liberação de fármacos a

partir deste tipo de sistema e a concentração do fármaco no plasma (VISERAS et al., 2010). Para estes autores, o uso de materiais que modificam a liberação dos fármacos auxilia na redução dos níveis indesejáveis de flutuações, diminuindo os efeitos colaterais e/ou melhorando o efeito terapêutico do fármaco, aumentando a adesão do paciente ao tratamento, além de agregar valor comercial aos medicamentos comercializados pela extensão da proteção de patente.

Os materiais inorgânicos porosos, incluindo derivados de silicone, podem mostrar várias vantagens na aplicação para a liberação de fármacos. As combinações entre polímeros orgânicos e silicatos são candidatos atrativos para esse sistema, pois eles podem exibir características físicas e químicas vantajosas, não exibidas pelos constituintes isolados (AGUZZI, et al, 2013; AGNIHOTRI, MALLIKARJUNA e AMINABHAVI, 2004). A quitosana apresenta propriedades favoráveis de biocompatibilidade (atóxica, biodegradável e de origem natural) e bioatividade que a tornam muito interessante para aplicações na área de biomateriais, em sistemas de liberação controlada, processos biotecnológicos e como adsorventes (CHATTERJEE et al., 2005).

Características como biocompatibilidade, biodegradabilidade e perfil atóxico fazem da quitosana excelente material a ser explorado como veículo de formulações farmacêuticas. Os sistemas poliméricos estão sendo amplamente estudados e utilizados, e não só permitem uma liberação lenta e gradual do fármaco, como também podem possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo, como sítios de inflamação ou tumor (CHATTERJEE et al., 2005).

Dentre os biomateriais poliméricos, a quitosana, vem sendo muito utilizada como matriz em liberação de fármacos. A quitosana é um polímero linear, biodegradável, obtido geralmente pela desacetilação alcalina da quitina, que é um polissacarídeo constituído de unidades 2-acetamido-2-desoxi-D glicopirranose, ligadas através de ligação  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). A quitina é um polissacarídeo de ocorrência natural; o segundo polissacarídeo mais abundante do planeta, sendo somente superado pela celulose. Da extração da quitina, de vários crustáceos, deriva a quitosana que, devido ao grupo amina disposta na cadeia polimérica, possibilita uma série de reações, com conseqüente modificação covalente da superfície (CHATTERJEE et al., 2005).

De acordo com Nunes et al, 2013, a possibilidade de se modificar quimicamente a quitosana permite que ela se torne ainda mais atraente do ponto de vista da aplicação. A presença de um elevado percentual de grupos amino reativos distribuídos nessa matriz polimérica possibilita inúmeras alterações das características químicas. A modificação pode ser plenamente justificada com o intuito de melhorar suas propriedades, como tamanho de poros, resistência mecânica, estabilidade química, como para prevenir a dissolução do biopolímero, quando o mesmo se encontra em soluções ácidas ou para aumentar a reatividade ou a sua seletividade e capacidade de sorção de vários íons metálicos.

Desse modo, diante dessas novas propriedades, aplicações mais específicas podem ser vinculadas à quitosana: fabricação de resinas para extração em fase sólida de íons metálicos, corantes e poluentes orgânicos (SCHATZ et al, 2003; SABARUDIN, et al, 2005), desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos e construção de biossensores baseados na imobilização de enzimas ou de células vivas em filmes de quitosana reticulada (CHIOU e LI, 2003; NETO et al, 2005)

Ao se empregar aldeídos bifuncionais (glioxal, glutaraldeído) como agentes de entrecruzamento, a reticulação ocorre via adição nucleofílica da amina da quitosana à carbonila dos agentes. A reticulação da quitosana pode ser realizada em condições homogêneas, ou seja, quando o polímero é dissolvido em ácido acético e reage com o aldeído na forma de gel, ou heterogêneas, que normalmente envolve microesferas de quitosana (KAMARI; NGAH; LIEW, 2009).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo modificar a quitosana pura com glutaraldeído e etilenodiamina na ausência de solvente e verificar a capacidade de adsorção e liberação de diclofenaco de sódio e ajustar os dados experimentais a diferentes modelos lineares físico-químicos de isotermas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais**

A Quitosana (QP) foi adquirida da empresa Polymar, na forma de pó e com grau de desacetilação de 87% (laudo do fornecedor) e foi usada como matriz polimérica na preparação dos biomateriais. Foi utilizado também: Glutaraldeído

(Aldrich), Etilenodiamina (Aldrich) hidróxido de sódio (Synth), ácido clorídrico (Synth), diclofenaco de sódio (Pharma Nostra Comercial Ltda) e água deionizada. Todos os reagentes utilizados foram em grau analítico e sem purificação prévia.

## **2.2. Desodorização da quitosana**

Foi adicionado Hipoclorito de sódio a 3,6% (v/v) à suspensão de quitosana, agitando por 1h a 30 °C. Logo em seguida realizou-se a centrifugação, a 3000 rpm por 5 minutos, e a lavagem, com água destilada até a neutralização da suspensão, logo após o material foi submetido a secagem em estufa a 80 °C por 4 h e obteve o biomaterial QP (ANDRADE, 2010).

## **2.3 Síntese da quitosana modificada**

A quitosana pura (QP) foi modificada com glutaraldeído adicionando-se 25 mL deste reagente à 6,0 g de quitosana, a suspensão formada foi transferida para um reator. Em seguida o reator foi fechado e aquecido à 187 °C durante 4h. O produto obtido foi centrifugado, lavado com água e acetona, posteriormente seco em estufa à 60 °C por 24 horas, obtendo-se assim o material QMG (Quitosana Modificada com Glutaraldeído). Posteriormente o material obtido, QMG, passou por uma segunda modificação em procedimento semelhante ao anterior, utilizando-se desta vez como reagente etilenodiamina à 116 °C, obtendo-se assim o material QMGE (Quitosana Modificada com Glutaraldeído e Etilenodiamina). As temperaturas de aquecimento utilizadas correspondem às temperaturas de ebulição dos respectivos reagentes.

## **2.4 Caracterização dos materiais**

Os materiais foram caracterizados por meio de técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TG,) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando um instrumento Q600 V20.9 Build TA, sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup> e com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>; realizou-se também as difrações de Raios-X (DRX) utilizando um aparelho Shimadzu, modelo D600-XR A, com 2θ no intervalo de 5-75°. A velocidade de varredura foi de 8,33 x 10<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, utilizando a fonte de radiação CuKα com comprimento de onda de 154 ppm.

Realizou-se também a espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise da área superficial e análise elementar CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio). Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando pastilhas de KBr com 1 % de amostra, na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , com 32 acumulações, em um espectrômetro Bomem Hartmann & Braun MB, com transformada de Fourier. As análises elementares de carbono e nitrogênio foram efetuadas em aparelho Perkin-Elmer, modelo PE 2400. Os espectros de ressonância magnética de carbono 13 no estado sólido foram obtidos em um espectrômetro AC400/P Bruker com rotação do ângulo mágico, em 75,47 MHz, com tempo de relaxação de 5 s e tempo de contato de 1 ms. As curvas termogravimétricas foram obtidas através do aparelho DuPont, modelo 9900, com fluxo de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , em atmosfera de argônio, a temperatura de 100  $^{\circ}\text{C}$ .

## **2.5 Adsorção do fármaco**

### **2.5.1 Estudo do tempo**

Para estudo de adsorção do DS, inicialmente realizou-se a análise da influência do tempo, com o intuito de encontrar os tempos necessários para atingir a máxima adsorção deste fármaco, para isso transferiu-se 20,0 mL da solução de concentração 200  $\text{mgL}^{-1}$  do fármaco para uma série de erlenmeyers contendo aproximadamente 35 mg do adsorvente. As amostras foram colocadas em banho termostatizado com agitação orbital da marca Nova Ética à 130 rpm na temperatura de  $298 \pm 1\text{K}$ , por um tempo de 15 a 290 min. Retirou-se a amostra no intervalo de 15 em 15 min, para os dois primeiros tempos e a cada 30 min para os demais. O sobrenadante foi separado e a concentração remanescente do fármaco na solução para cada intervalo de tempo, foi determinada por Espectroscopia do UV-Vis modelo CARY 300 da varian, no comprimento de onda de 276 nm, que corresponde a faixa de absorção máxima do fármaco (sendo que todas as leituras realizadas, após todos os experimentos, foram em triplicata) a capacidade de adsorção do adsorvente,  $q$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ), foi calculado pela Eq.2 (ALENCAR et al, 2014; BEZERRA et al, 2014; SILVA et al 2015):

$$q = \frac{V(C_0 - C_f)}{m} \quad (2)$$

onde  $V$  (L) é o volume da solução do fármaco,

$C_0$  (mg L<sup>-1</sup>) é a concentração inicial da solução do fármaco,  
 $C_f$  (mg L<sup>-1</sup>) é a concentração da solução do fármaco após a adsorção em cada tempo,  $t$ , e  
 $m$  (g) a massa do adsorvente.

Para verificar se a reação era pseudo primeira ordem ou pseudo segunda ordem os dados experimentais obtidos foram estudados com as equações matemáticas de pseudo primeira ordem (3) e pseudo segunda ordem (4), para verificar o mecanismo que controla o processo de adsorção. O ajuste de pseudo-primeira ordem é obtido a partir da Eq.3 (LAGERGREN, 1998):

$$\log(q_{e,exp} - q_t) = \log q_{e,cal} - \frac{K_1}{2,303} t \quad (3)$$

Sendo  $q_{e(exp\ ou\ cal)}$  (mg g<sup>-1</sup>) é a quantidade adsorvida do fármaco no equilíbrio,  $q_t$  (mg g<sup>-1</sup>) é a quantidade adsorvida do fármaco no tempo  $t$  (min) e  $K_1$  (min<sup>-1</sup>) é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem. Plotando-se o gráfico  $\log(q_{e,exp}-q_t)$  em função do tempo  $t$ , obtiveram-se os parâmetros da equação de pseudo-primeira ordem, em que  $q_{e,cal}$  e  $K_1$  são os coeficientes linear e angular, respectivamente.

Para o modelo de pseudo-segunda ordem, a equação matemática é representada pela Eq.4 e Eq.5 (HO e MCKAY, 1998):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_{e,cal}^2} + \frac{1}{q_{e,cal}} \quad (4)$$

sendo  $K_2$  a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (g mg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). Plotando-se o gráfico de  $t/q_t$  em função de  $t$  encontram-se os valores dos coeficientes lineares e angulares, que são usados para calcular os valores de  $K_2$  e  $q_{e,cal}$ , respectivamente.

A taxa inicial de adsorção,  $h$  (mg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>), quando  $t \rightarrow 0$  pode ser definido como:

$$h = K_2 q \quad (5)$$

### 2.5.3 Influência do pH

Encontrado o tempo ótimo de máxima adsorção fez-se o estudo da influencia do pH das soluções de diclofenaco de sódio, onde preparou-se soluções (200 mg L<sup>-1</sup>) com pH variando de 5 a 12. Em seguida, pipetou-se alíquotas de 20,0 mL de cada solução e colocou-se em erlenmeyers contendo aproximadamente 35 mg da matriz. As amostras foram agitadas utilizando banho termostatizado, em agitação de 130

rpm no tempo preestabelecido de 110 min a temperatura de  $298 \pm 1K$ , em seguida efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorvância.

#### 2.5.4 Isotermas de adsorção

Uma vez que o tempo e o pH ótimo foram determinados analisou-se as isotermas de adsorção. Para isso preparou-se uma solução de DS na concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  e ajustou o pH. Logo após diluiu-se esta solução em diferentes concentrações na faixa de  $100-900 \text{ mg L}^{-1}$ , em seguida  $20,0 \text{ mL}$  de cada solução foi adicionada a uma massa de aproximadamente  $35,0 \text{ mg}$  da matriz. Este sistema foi mantido em agitação na temperatura de  $298 \pm 1K$  até atingir o tempo ótimo, em seguida efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorvância. Aplicaram-se os modelos lineares de isotermas de Langmuir (LANGMUIR, 1916), Freundlich (FREUNDLICH, 1906) e Temkin (TEMKIN e PYZHEV, 1940).

Para o ajuste da isoterma experimental com a isoterma do modelo de Langmuir utiliza-se a Eq.6 na forma linearizada (LANGMUIR, 1916):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{m\acute{a}x}b} + \frac{C_e}{q_{m\acute{a}x}} \quad (6)$$

sendo que  $q_e(\text{mg g}^{-1})$  corresponde à quantidade de fármaco adsorvida pelo adsorvente,  $C_e(\text{mg L}^{-1})$  a concentração de equilíbrio da solução do fármaco,  $b$  é uma constante de proporcionalidade que engloba a constante de equilíbrio e está relacionada com a energia livre de adsorção, que corresponde à afinidade entre a superfície do adsorvente e o soluto, e  $q_{m\acute{a}x}(\text{mg g}^{-1})$  é quantidade máxima de fármaco que pode ser adsorvida. Plotando-se o gráfico de  $C_e/q_e$  em função de  $C_e$  encontra-se o coeficiente angular, que corresponde a  $1/q_{m\acute{a}x}$ , e o coeficiente linear, que corresponde a  $1/(bq_{m\acute{a}x})$ .

Os parâmetros de Langmuir podem e foram expressos em termos de um fator de separação adimensional,  $R_L$ , definido pela Eq.7, que pode assim, avaliar a forma da isoterma.

$$R_L = \frac{1}{1+bC_e} \quad (7)$$

onde  $C_e(\text{mg L}^{-1})$  é a concentração de equilíbrio mais alta e  $b$  é a constante de Langmuir. Para uma adsorção favorável os valores de  $R_L$  devem estar entre 0 e 1

( $0 < R_L < 1$  representa uma adsorção desfavorável.  $R_L = 1$  representa uma adsorção linear e para  $R_L = 0$ , o processo de adsorção é irreversível (BEZERRA et al, 2014).

Para ajustar a isoterma experimental em relação a isoterma de Freundlich utiliza-se a Eq.8 na sua forma linearizada (FREUNDLICH, 1906):

$$\log_{q_e} = \frac{1}{n} \log C_e + \log K_f \quad (8)$$

sendo que  $q_e$  e  $C_e$  têm o mesmo significado da equação de Langmuir,  $K_f$  é uma constante relacionada com a capacidade de adsorção e  $n$  é uma constante relacionada com a intensidade de adsorção e a espontaneidade da adsorção, valores de  $n$  entre  $1 < n > 10$  indicam adsorção favorável. Os valores de  $K_f$  e  $n$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $\log q_e$  em função do  $\log C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n$  e o coeficiente linear é igual ao  $\log K_f$ .

Para ajustar a isoterma experimental também ao modelo de Temkin utilizou-se a Eq.9 na forma linearizada (TEMKIN, M. J.; PYZHEV, 1940):

$$q_e = \frac{1}{n_T} \ln K_T + \frac{1}{n_T} \ln C_e \quad (9)$$

sendo que  $n_T$  indica, quantitativamente, a reatividade dos sítios energéticos do material e  $K_T$  é a constante que engloba a constante de equilíbrio. Os valores de  $K_T$  e  $n_T$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $q_e$  em função do  $\ln C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n_T$  e o coeficiente linear é igual ao  $\ln K_T/n_T$ . Esse modelo considera o sistema próximo ao modelo de Langmuir.

## **2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio**

Para liberar o diclofenaco de sódio utilizou-se as condições ideais de adsorção dos adsorventes (QP e QMGE) (pH ideal, tempo de saturação e temperatura de 298 K), variando o tempo. Logo após os ensaios de adsorção o material adsorvente foi separado do sobrenadante por centrifugação (a 3500 rpm por 5 min) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239$  nm. A quantidade de fármaco adsorvido foi calculada pela Eq.2.

Em seguida, os biomateriais adsorventes foram colocados para secar em estufa a 353 K por 12 h. Posteriormente, os biomateriais foram pesados e colocados em contato com 20,0 mL de água deionizada em diferentes pHs (1,2, 6,8 e 7,4), a 298 K e sob agitação no tempo de saturação da adsorção. Após a agitação, os biomateriais adsorvente foram separados do sobrenadante por centrifugação (a 3500 rpm por 5 min) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239$  nm. A

avaliação quantitativa da liberação foi realizada usando porcentagem de liberação, calculado a partir da diferença entre a quantidade adsorvida no adsorvente e pela quantidade liberada em solução, conforme a Eq 10 (KYZAS et al, 2015).

$$\%L = \frac{V.D}{m.q} \times 100 \quad (10)$$

onde %L é a porcentagem de liberação do fármaco, D (mg L<sup>-1</sup>) é a quantidade desorvida do fármaco na solução, q (mg g<sup>-1</sup>) é a quantidade adsorvida do fármaco no adsorvente, V (L) é o volume de água deionizada utilizado na liberação e m (g) é a massa de adsorvente utilizada na liberação.

Foi preparado também para analisar os perfis de liberação três tampões pH 1,2, 6,8 e 7,4 segundo a Farmacopéia Americana 31<sup>a</sup> Edição (2008).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos últimos anos vem crescendo os estudos utilizando a quitosana como matriz para liberação controlada de fármacos. Neste estudo a quitosana foi modificada com aldeídos bifuncionais no intuito de melhorar suas propriedades físicas e químicas. Foram feitas análises para ver se a modificação foi eficiente e estão descritas abaixo.

#### 3.1 Análise Elementar

As quantidades dos elementos, calculados com base nos dados da análise elementar estão descritos na Tabela 1. A quitosana pura possuía 5,0 mmol.g<sup>-1</sup> de nitrogênio e, após reação com glutaraldeído, o valor foi reduzido para 1,9 mmol.g<sup>-1</sup> ocasionando assim um aumento na razão C/N de 6,7 para 25,3; comprovando a eficácia da primeira reação. Esta redução ocorreu devido à incorporação do glutaraldeído na estrutura da quitosana, com incorporação de Carbono, Hidrogênio e Oxigênio, e uma redução de Nitrogênio, já que nesta molécula não há disponibilidade de grupos amino. A segunda modificação foi confirmada pelo aumento da concentração de nitrogênio, após a reação com etilenodiamina, que contém dois grupos amina; o valor da concentração de N aumentou de 1,9 para 5,8 mmol g<sup>-1</sup>, ocasionando assim uma diminuição na razão de C/N de 25,3 para 5,5. Esses resultados são semelhantes ao encontrados por Pereira et al, (2014), onde os

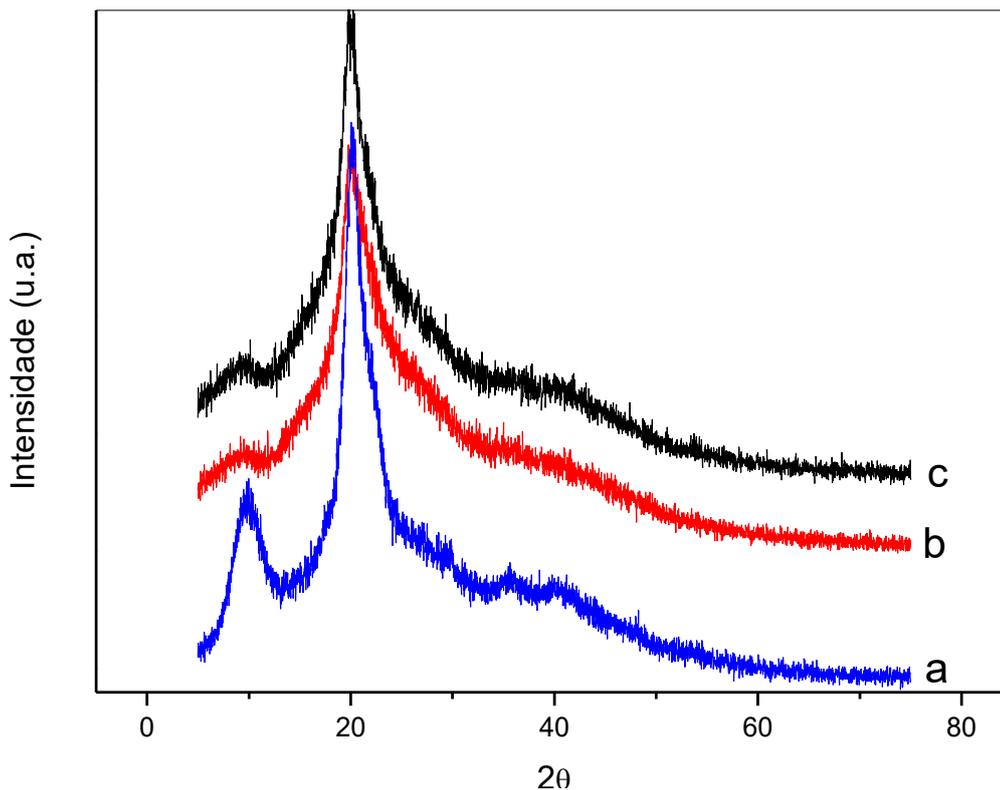
autores modificaram a quitosana com acetilacetona e etilenodiamina na ausência de solvente.

**Tabela 1.** Análise elementar de Carbono(C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N); quantidades molares desses elementos e as respectivas razões (C/N) entre esses elementos para quitosana pura e seus derivados.

Amostras	C %	H %	N %	C (mmol.g <sup>-1</sup> )	H (mmol.g <sup>-1</sup> )	N (mmol.g <sup>-1</sup> )	C/N
QP	40,5	7,4	7,0	33,7	73,6	5,0	6,7
QMG	58,9	7,5	2,7	49,1	74,7	1,9	25,3
QMGE	38,8	6,5	8,2	32,4	64,7	5,8	5,6

### 3.2 DRX

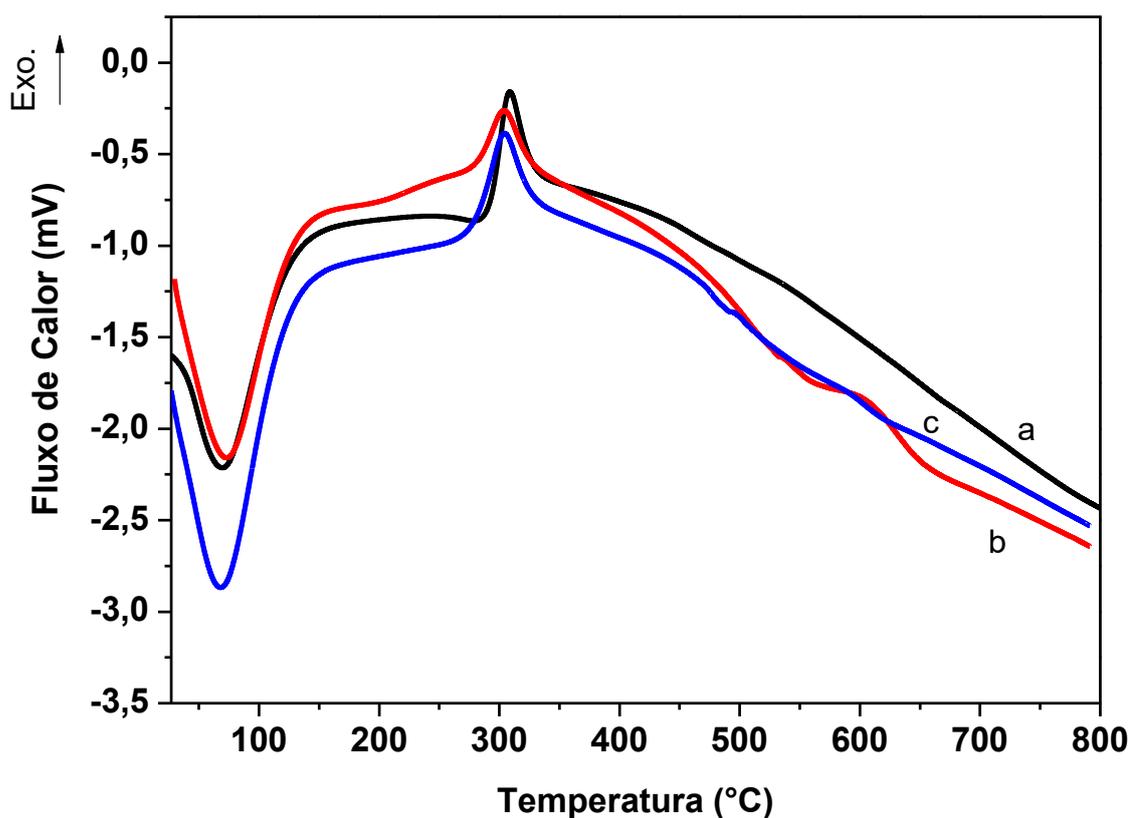
A Figura 02 apresenta os difratogramas dos materiais QP, QMG, QMGE. O padrão de raios X da quitosana pura apresenta uma difração próxima a  $2\theta$  menos intensa em torno de  $10,0^\circ$  e uma difração de alta intensidade em torno de  $21,0^\circ$ , correspondentes aos planos de difração (020) e (110), respectivamente. Segundo Uragami (2006), as fortes interações intra e intermolecular devido às ligações de hidrogênio entre os grupos amina, álcool e amida presentes na molécula de quitosana, faz com que esse material apresente certa cristalinidade. Observa-se que com as modificações com glutaraldeído (b) e etilenodiamina(c), o pico de menor intensidade praticamente desaparece, bem como houve também uma diminuição significativa na cristalinidade do material após a ativação com glutaraldeído.



**Figura 02:** Espectros de difração de raios -X para QP (a), QMG (b) e QMGE (c)

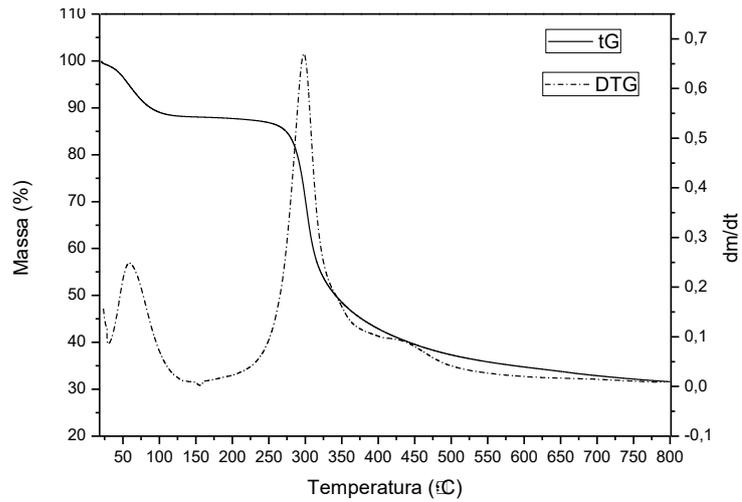
### **3.3 Análises térmicas**

O objetivo de realizar as análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos biopolímeros foram de verificar as transições físicas e/ou químicas ocorridas durante o processo de decomposição. A Figura 03 mostra as curvas DSC de amostras de quitosanas pura e modificada. Observa-se em todos os materiais (QP, QMG e QMGE) apresentam dois picos, o primeiro, endotérmico, o qual de acordo com Santos, Soares e Dockal (2003), é correspondente ao processo de desidratação, cuja área depende do histórico de secagem da amostra e o segundo, exotérmico, que corresponde ao processo de decomposição, que continua além do limite de temperatura do experimento. Os dois processos estão coerentes com os eventos observados nas curvas TG e concordam com o que foi observado por Sreenivasan (1996) que descreveu dois eventos térmicos para amostras de quitosana.

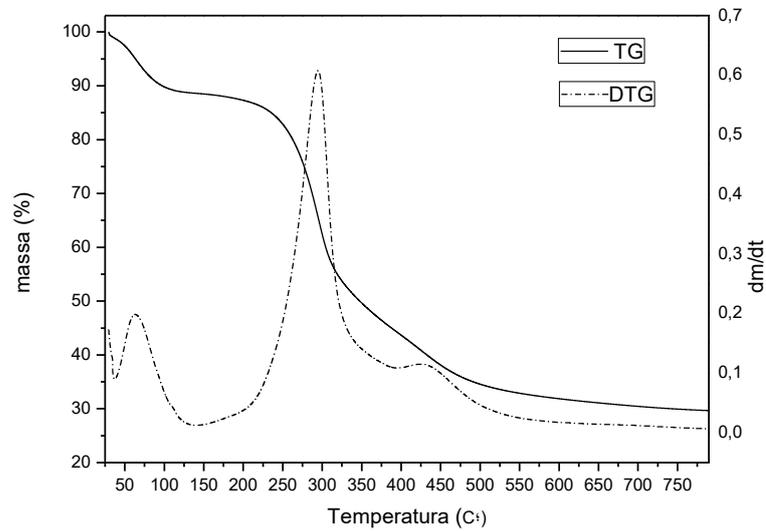


**Figura 03:** Curvas de DSC para quitosana pura e modificada. a) QP, b) QMG e c) QMGE

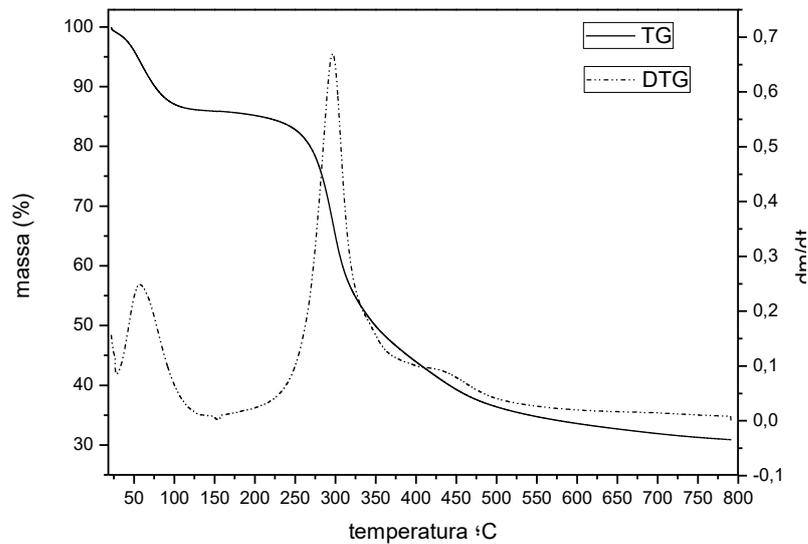
De acordo com os resultados das curvas de TG e DTG (Figura 04, 05 e 06) pode-se observar que todos os biomateriais (QP, QMG e QMGE) apresentaram um processo de desidratação, seguido da decomposição do biopolímero, com geração de material carbonizado. Observa-se que as reações de modificações aumentam a estabilidade da quitosana, pois com o aumento da temperatura, após a desidratação, ocorre primeiramente a decomposição dos grupos mais externos (grupo modificador), para posteriormente ocorrer à decomposição da quitosana, observa-se estes estágios de perda e a proteção da quitosana com mais eficácia através do resultado da segunda modificação (QMGE), justificando assim que a segunda modificação permite a obtenção de material com maior estabilidade.



**Figura 04:** Curvas de TG e DTG para quitosana pura



**Figura 05:** Curvas de TG e DTG para quitosana modificada com glutaraldeído

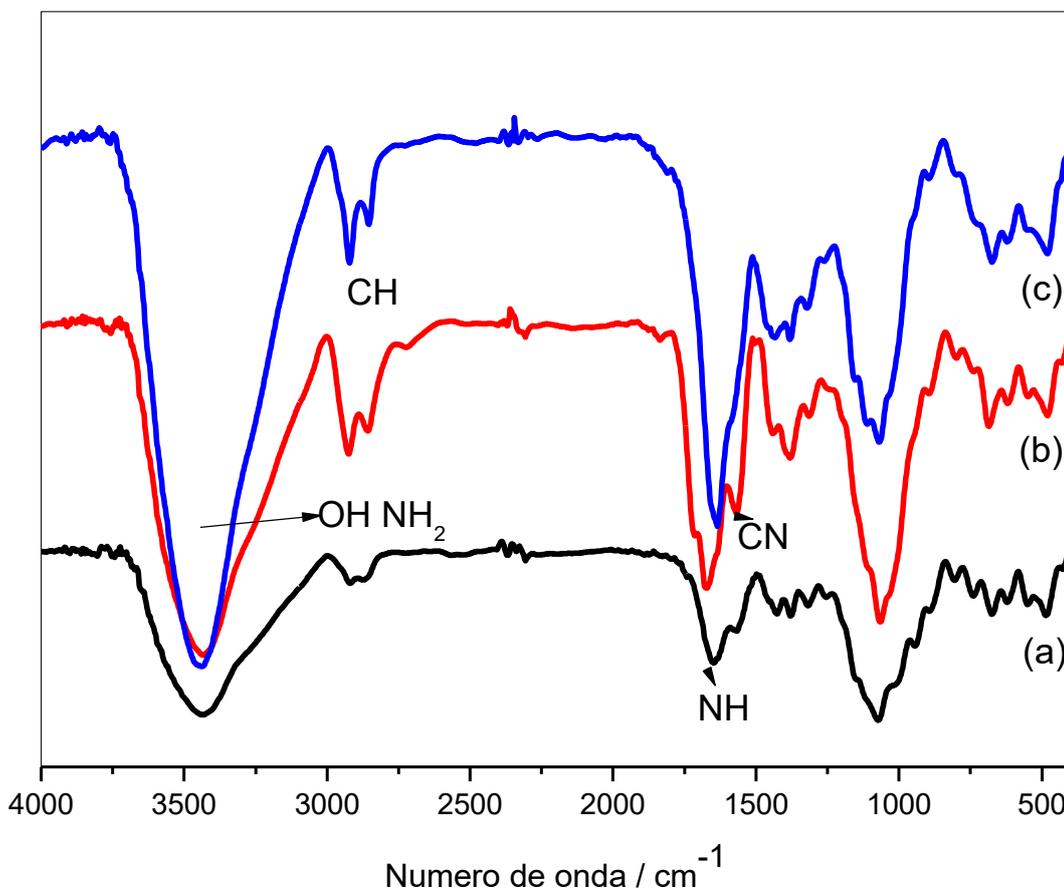


**Figura 06:** Curvas de TG e DTG para quitosana pura e modificada com glutaraldeído e etilenodiamina

### **3.4 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier**

A espectroscopia na região do infravermelho é uma rica fonte de informação para avaliar qualitativamente a presença de grupos incorporados à quitosana, comprovando a modificação da superfície. O espectro de IR da quitosana pura e de seus derivados foram apresentados na Figura 07. Observou-se para a quitosana pura uma banda de estiramento axial de OH entre 3440 a 3480  $\text{cm}^{-1}$ , que aparece sobreposta à banda de estiramento N-H; observou-se também uma deformação axial de C = O de amida I (entre 1661 a 1671  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação angular de N-H (entre 1583 a 1594  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$  (entre 1380 a 1383  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação axial de -CN de amida (por volta de 1425  $\text{cm}^{-1}$ ) e deformação axial de -CN de grupos amino (entre 1308 a 1380  $\text{cm}^{-1}$ ), além de bandas de estruturas polissacarídicas na região de 890 – 1156  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas características são muito semelhantes aquelas descritas por Brugnerotto *et al* (2001) e estão presentes em todas as amostras comerciais investigadas, mostrando que todas apresentam basicamente os mesmos grupos funcionais.

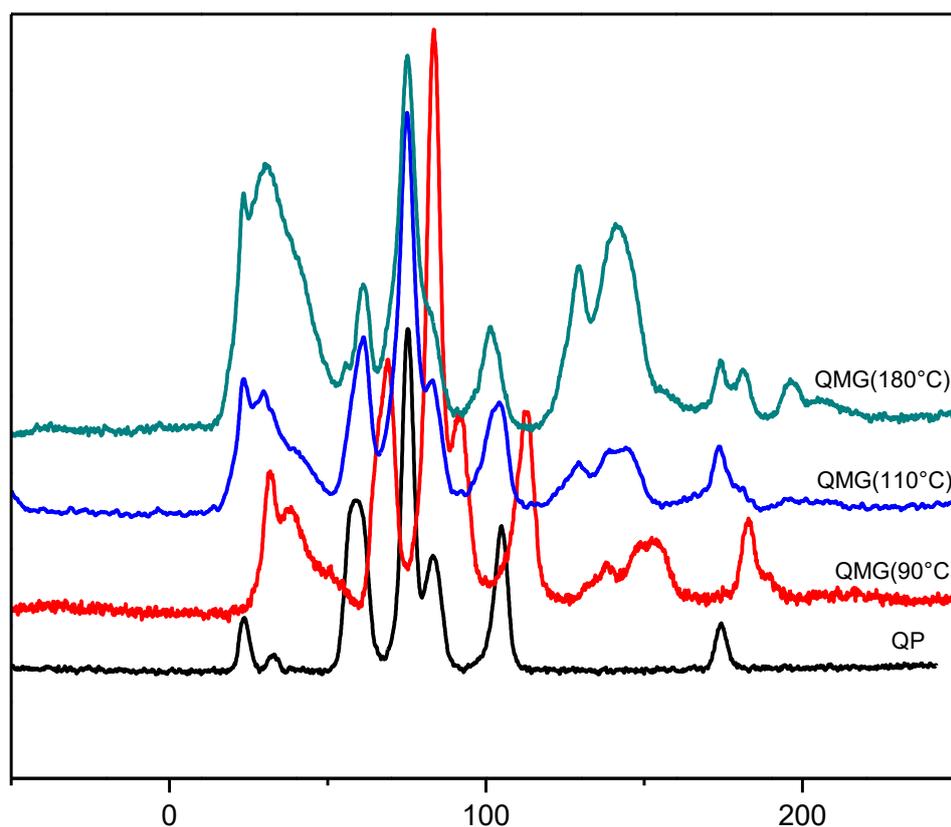
A modificação foi confirmada pelo deslocamento e alargamento da banda em torno de 1590  $\text{cm}^{-1}$  (deformação N-H) característica da quitosana, indicando o envolvimento dos grupos amina nas reações de modificação. Na modificação com glutaraldeído observa-se o surgimento da banda em torno de 1655  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuída à ligação imina C=N e na segunda modificação com etilenodiamina ocorre uma sobreposição dessa banda devido à reação com o grupo amino proveniente da etilenodiamina com o grupo C=O originando outra ligação imina C=N.



**Figura 07-** Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP (a), QMG(b) e QMGE (c)

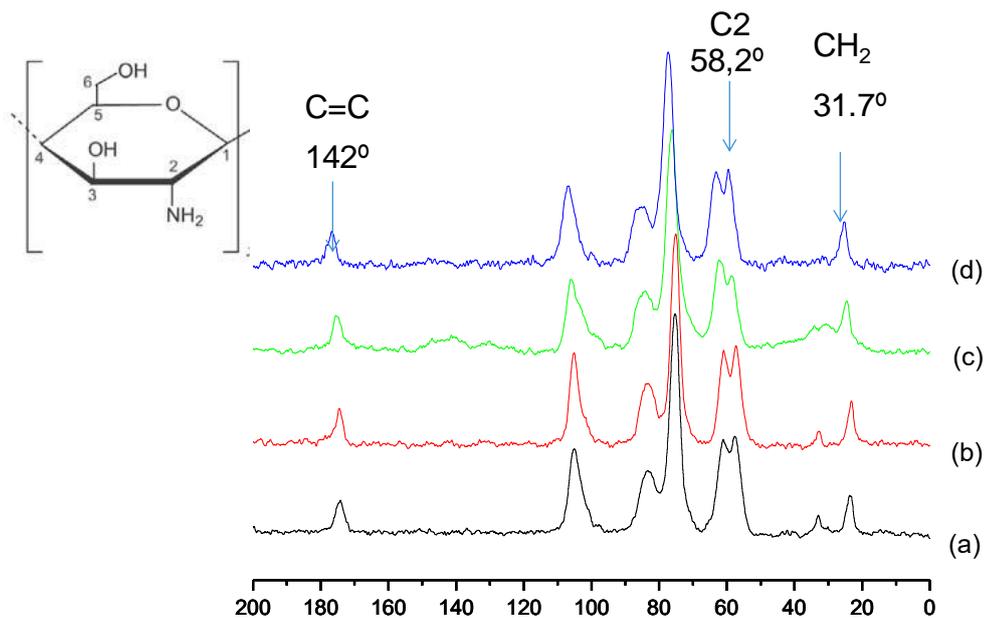
### 3.5 RMN $^{13}\text{C}$

A Figura 08 mostra o espectro de RMN no estado sólido de  $^{13}\text{C}$  para quitosana modificada com glutaraldeído em três temperaturas. Observa-se que quanto maior a temperatura os picos se definem mais, ficando mais intensos caracterizando que a altas temperaturas o material perde mais água e que a modificação fica mais acentuada, justificando a temperatura utilizada na síntese que foi de 180 °C.



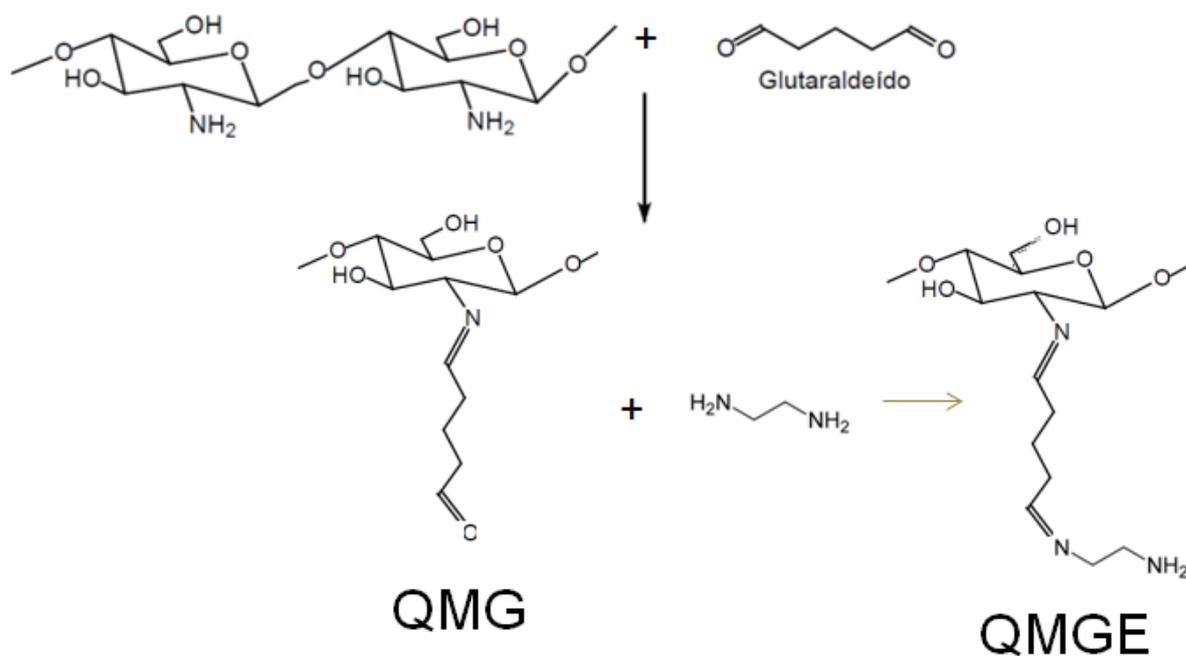
**Figura 08:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido para QMG

A Figura 09 mostra o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  das quitosanas modificadas e a associação dos picos aos átomos de carbono, que se encontram em concordância com os dados da literatura (PUTTIPIPATKHACHORN et al, 2001; CAPITANI et al., 2011). Observa-se a partir do espectro de RMN no estado sólido de  $^{13}\text{C}$  exposto, que houve um aumento dos sinais em 31,7, 58,2 e 142 ppm, que corresponde a  $\text{CH}_2$ , C2 e C=C respectivamente, indicando a entrada da etilenodiamina na modificação da quitosana modificada com glutaraldeído, formando o material QMGE.



**Figura 09:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido da (a) Quitosana Pura, (b) Quitosana Pura Lavada, (c) Quitosana modificada com Glutaraldeído, (d) Quitosana Modificada com Glutaraldeído e Etilenodiamina.

Através dos resultados das caracterizações foi possível desenvolver uma proposta de reação, mostrada na Figura 6.



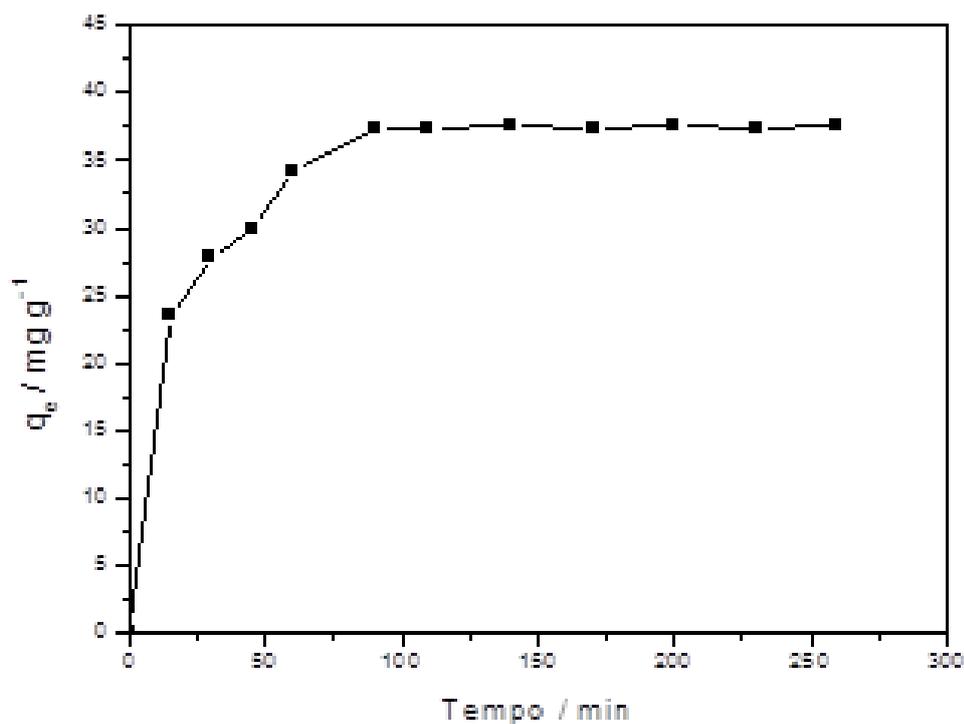
**Figura 10:** Reação da quitosana com gluraldeído e etilenodiamina.

Logo após a confirmação com sucesso da modificação das quitosanas, comprovada através das caracterizações discutidas anteriormente, verificou-se a aplicação do QMGE na adsorção do DS.

### 3.6 Estudo de adsorção

#### 3.6.1 Estudo cinético

Através do estudo do tempo, observou-se que após um tempo de 15 min, o material começa a adsorver uma quantidade de fármaco bem próxima ao valor encontrado no equilíbrio. O tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio de saturação foi de 90 min (Figura 11) e os dados experimentais se ajustaram ao modelo pseudo segunda ordem, devido a sua melhor linearidade e pelo valor de  $q_{e(cal)}$  se apresentar bem próximo ao valor do  $q_{e(exp)}$  (Tab. 2).



**Figura 11:** Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QMGE.

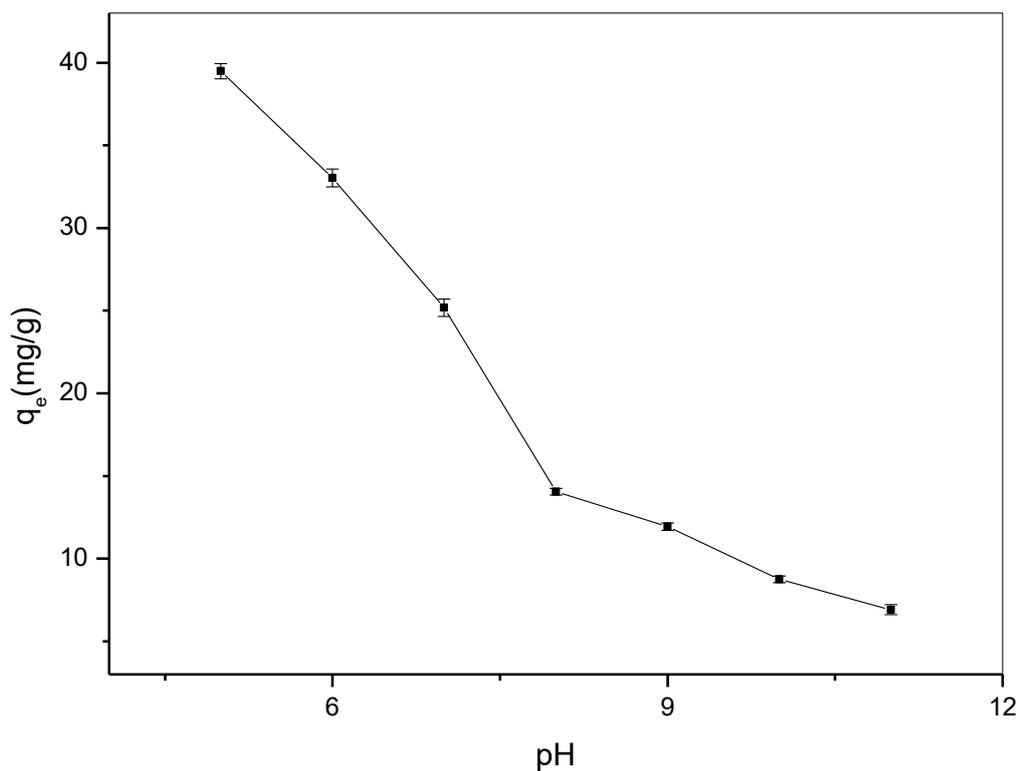
**Tabela 2**– Parâmetros cinéticos obtidos com a equação de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e difusão de intrapartícula para adsorção do DS em QMGE.

Modelo	Parâmetros	Adsorvato
		DS
Pseudo primeira ordem	$q_{e(\text{exp})}$	37,25 (mg g <sup>-1</sup> )
	$K_1$	0,32 (min <sup>-1</sup> )
	$q_{e(\text{cal})}$	29240,18 (mg g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,6909
Pseudo segunda ordem	$q_{e(\text{exp})}$	37,25 (mg g <sup>-1</sup> )
	$K_2$	0,00 (min <sup>-1</sup> )
	$q_{e(\text{cal})}$	39,34 (mg g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,9987
	$H$	4,06 (mg g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )

De acordo com Ho, 2006, o modelo de pseudo segunda ordem é utilizada para descrever os processos de quimiossorção, os quais envolve doação ou troca de elétrons entre adsorvato e adsorvente.

### 3.6.2 Estudo do pH

A adsorção na maioria das vezes é dependente do parâmetro pH. No estudo da influência do pH para o diclofenaco de sódio (DS), conseguiu-se verificar que a quantidade adsorvida pelo QMGE sofreu uma influência do pH, onde observou-se uma maior quantidade adsorvida de fármaco na faixa de pH igual a 5, como mostrado na Figura 12.

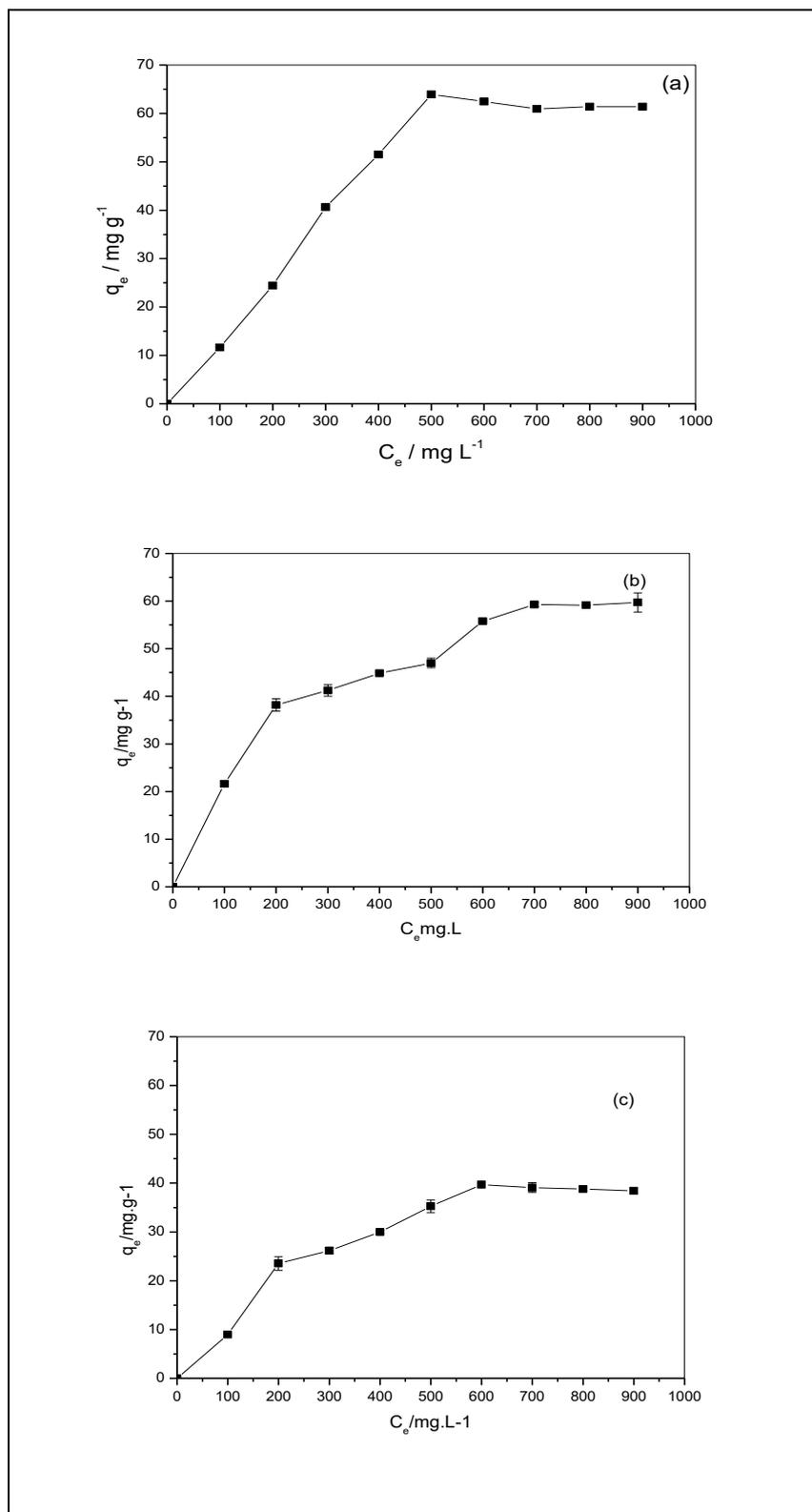


**Figura 12:** Influência do pH na adsorção do DS pelo QMGE.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Pereira et al, (2014), onde os autores observaram que a quantidade de droga adsorvida (diclofenaco sódico) diminuía à medida que o pH aumentava.

### **3.6.3 Isotermas de adsorção**

As isotermas experimentais de adsorção de DS pelo QMGE à 25 °C, 35 °C e 45 °C são mostradas na Figura 13. Pode-se observar que nas temperaturas de 25 e 35 °C o material adsorveu melhor o fármaco em torno de 60 mg.



**Figura 13:** Isothermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QMGE, a 25 °C (a), 35 °C (b) e 45 °C (c) realizado em pH 5,0

Em seguida fez-se os ajustes lineares utilizando os modelos de Freundlich, Temkin e Langmuir. Os parâmetros dos modelos de Freundlich, Temkin e Langmuir para o DS frente ao adsorvente QMGE são apresentados nas Tab. 3,4 e 5.

**Tabela 3** – Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMGE à 25°C.

<b>Modelo</b>	<b>Parâmetros</b>	<b>Adsorvato Fármaco</b>
<b>Langmuir</b>	<b>q<sub>máx</sub></b>	122,69 (mg g <sup>-1</sup> )
	<b>b</b>	0,00 (L mg <sup>-1</sup> )
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,6870
	<b>R<sub>L</sub></b>	0,58
<b>Freundlich</b>	<b>n<sub>F</sub></b>	1,29
	<b>K<sub>F</sub></b>	0,41 (mg g <sup>-1</sup> )
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,8870
<b>Temkin</b>	<b>n<sub>T</sub></b>	0,04
	<b>K<sub>T</sub></b>	0,02 (L g <sup>-1</sup> )
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,9053

**Tabela 4** – Parâmetros obtidos com os modelos de isothermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMGE na temperatura de 35 °C, pH 5,0.

Modelo	Parâmetros	Adsorvato
		Fármaco
Langmuir	$q_{\text{máx}}$	77,34 (mg g <sup>-1</sup> )
	$b$	0,00 (L mg <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,9797
	$R_L$	0,27
Freundlich	$n_F$	2,27
	$K_F$	3,21 (mg g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,9354
Temkin	$n_T$	0,06
	$K_T$	0,04 (L g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,9617

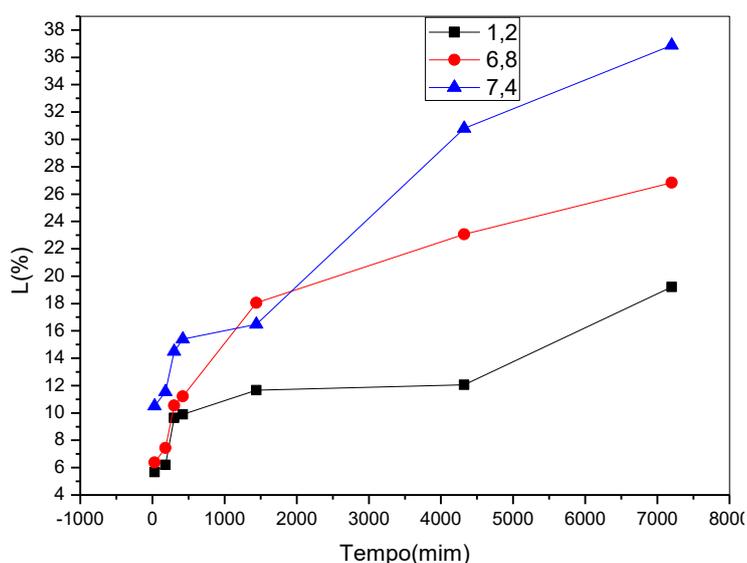
**Tabela 5** – Parâmetros obtidos com os modelos de isothermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMGE na temperatura de 45 °C, pH 5,0.

Modelo	Parâmetros	Adsorvato
		Fármaco
Langmuir	$q_{\text{máx}}$	59,95 (mg g <sup>-1</sup> )
	$b$	0,00 (L mg <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,8950
	$R_L$	0,40
Freundlich	$n_F$	1,61
	$K_F$	0,68 (mg g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,8597
Temkin	$n_T$	0,07
	$K_T$	0,02 (L g <sup>-1</sup> )
	$R^2$	0,9435

De acordo com os resultados pode-se observar que o valor do coeficiente de correlação linear é maior para o modelo de Temkin nas temperaturas de 25° e 45 °C; vale ressaltar que este modelo considera o sistema próximo ao proposto por Langmuir. Já para a temperatura de 35 °C o melhor coeficiente foi o de Langmuir. Os modelos de Freundlich e Langmuir não tiveram um bom ajuste a isoterma experimental de 25 °C e 35 °C, porém pode-se afirmar que a adsorção é favorável e espontânea, pois o valor de  $R_L$  está dentro da faixa ( $0 < R_L < 1$ ), e o valor de  $n_F$  é maior do que 1. Observa-se a partir do sistema estudado, que a capacidade máxima de adsorção do DS foi de 122,69 ( $\text{mg g}^{-1}$ ) frente ao adsorvente QMGE.

### 3.7 Liberação do diclofenaco de sódio

Pode-se observar pela Figura 14 que houve uma melhor liberação em pH 7,4. Este resultado indica que o mecanismo de troca iônica não é o mecanismo predominante na liberação do fármaco do biomaterial QMGE. Isto ocorre por que a presença do grupo amina, na superfície do biomaterial, aumenta a densidade eletrônica do mesmo, o que provoca interações mais firmes com as moléculas do fármaco (BEZERRA et al, 2014). Sendo assim, a liberação do DS da superfície do biomaterial QMGE ocorre através de um mecanismo de dissociação iônica, onde ocorre a separação do íon negativo (quitosana modificada com glutaraldeído e etilenodiamina) e o íon positivo (fármaco) em solução aquosa.



**Figura 14:** Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH.

Observa-se que este mecanismo é favorecido por um meio com menor influencia de íons, ou seja, em pHs mais baixos há excessos de íons H<sup>+</sup> que vão dificultar a liberação das moléculas do fármaco (moléculas de massa molecular grande), a medida que esse pH aumenta diminui essa interferência dos íons H<sup>+</sup>, aumentando, assim, a liberação do fármaco.. Estudos realizados por Sheu et al. (1992) e Ho et al. (1997) demonstraram a influência do pH ácido do meio, na diminuição da velocidade de dissolução do Voltaren\* SR (liberação controlada). Os autores formularam a hipótese de que o contato prévio do meio ácido com o diclofenaco sódico, levaria a ocorrência de deposição de uma camada da forma ácida do fármaco na superfície do núcleo que, apresentando menor solubilidade em tampão pH 6,8 e menor ainda no pH 1,2, prejudicaria a sua liberação final. Este comportamento foi confirmado por Castro (2000) a partir da realização de espectros no infravermelho do diclofenaco sódico após contato com o meio ácido e, posteriormente, tampão pH 6,8.

#### **4. CONCLUSÕES**

A reação entre a etilenodiamina e a quitosana previamente modificada com glutaraldeído foi realizada com sucesso, sendo comprovada principalmente a partir de análise elementar de carbono e nitrogênio. Além disso, os materiais obtidos (QMG e QMGE) foram caracterizados também por espectroscopia no IV e RMN no estado sólido de <sup>13</sup>C, comprovando tais modificações, bem como também foram realizadas análises de DRX, mostrando uma diminuição significativa na cristalinidade do material após a ativação com glutaraldeído e DSC, TG/DTG, onde observou-se que as reações de modificação aumentam a estabilidade da quitosana.

A quitosana modificada com glutaraldeído e etilenodiamina na ausência de solvente mostrou-se eficiente na adsorção e liberação de DS, sendo que os dados obtidos experimentalmente tiveram um melhor ajuste ao modelo de Temkin. Desta forma, o material QMGE-DS foi investigado quanto ao seu potencial de liberação do DS em sistemas de liberação controlada, visto que a quitosana é um material abundante, biodegradável e facilmente modificada, onde pode-se observar que o material libera melhor no pH 7,4.

## REFERÊNCIAS

AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA,N.N.; AMINABHAVI, T.M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**. v. 100, p. 5–28, 2004.

AGUZZI, C.; VISERAS, C.; CERESO, P.; SALCEDO, I. ; SANCHEZ ESPEJO, R.; VALENZUELA, C. Release kinetics of 5-aminosalicylic acid from halloysite. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 105, p. 75–80, 2013.

ALENCAR, J.M.; OLIVEIRA, F.J.V.E.; AIROLDI, C.; SILVA FILHO, E.C. Organophilic nickel phyllosilicate for reactive blue dye removal. **Chemical Engineering Journal**.v. 236,p. 332–340, 2014.

ANDRADE, S. M. B. (Dissertação de mestrado) Extração e caracterização de quitina e quitosana e a sua utilização na fabricação de nanofibras. vi congresso nacional de engenharia mecânica. Campina Grande. 2010.

Batlouni, M. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: Cardiovascular, Cerebrovascular and Renal Effects. *Arquivos Brasileiro de Cardiologia*. v. 94, n.4, p. 522-529, 2010

BEZERRA, R. D. S.; SILVA M.M.F.; MORAIS, A.I.S.; OSAJIMA, J.A.; SANTOS, M. R. M. C.; AIROLDI, C.; SILVA FILHO E. D. Phosphated Cellulose as an Efficient Biomaterial for Aqueous Drug Ranitidine Removal. **Materials**. v. 7, p. 7907-7924, 2014.

BRASIL, Farmacopeia Brasileira. **Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa**, v. 2, p. 546 (2008)

BRUGNEROTTO, J., LIZARDI, J., GOYCOOLEA, F. M., ARGÜELLES-MONAL, W., DESBRIÈRES, J., & RINAUDO, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, **42**(8), 3569-3580. [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8).

CAPITANI, D.; DE ANGELIS, A. A.; CRESCENZI, V.; MASCI, G.; SEGRE, A. L. NMR study of a novel chitosan-based hydrogel. **Carbohydrate Polymers**. v. 45, yp. 245–252, 2011.

CASTRO, W. V. (Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

CHATTERJEE, S.; ADYA, M.; GUHA, A.K.; CHATERJEE, B.P. Chitosan from *Mucorrouxii*: production and physico-chemical characterization. **Process. Biochemistry.** v. 40, p. 395–400, 2005.

CHIOU, M. S.; LI, H. Y. Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. **Chemosphere.** v. 50, p.1095–1105, 2003.

FREUNDLICH, H. M. F. Uber die adsorption in lösungen. **Zeitschrift Fur Physikalische Chemie (Leipzig)**,v. 57A, p. 385- 470, 1906.

HEYNEMAN, C. A.; LIDAY, C. L.; WALL. G. C. Oral versus topical NSAIDs in rheumatic diseases: a comparison **Drugs.** v. 60, p.555-574, 2000.

HO, H.; LIU, C.; LIN, H.; SHEU, M. The development of matrix tablets for diclofenac sodium based on an empirical in vitro and in vivo correlation. **Journal of Controlled Release.** v.49, p.149-156, 1997.

HO, Y.S.; MCKAY, G.; Kinetic Models for the Sorption of Dye from Aqueous Solution by Wood. **Process Safety and Environmental Protection** v. 76, 1998, p. 183-191, 1998.

HO, Y. S. Review of second-order models for adsorption systems. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, 136, 3, 689-689, 2006. KAMARI, A.; NGAH, W. S.

W.; LIEW, L. K. Chitosan and chemically modified chitosan beads for acid dyes sorption. **Journal of Environmental Sciences.**v. 21, p. 296-302, 2009.

KYZAS G. Z.; SIAFAKA, P. I.; PAVLIDOU, E. G.; CHISSAFIS, K. J.; BIKIARIS, D. N. Synthesis and adsorption application of succinyl-grafted chitosan for the simultaneous removal of zinc and cationic dye from binary hazardous mixtures. **Chemical Engineering Journal.** v. 259, p.438-448, 2015.

LAGERGREN, S. (1898), Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24 , p. 1-39, 1898.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, p. 2221-2295, 1916.

NETO, C. G. T; DANTAS, T. N. C; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research.** v. 340, p.2630–2636, 2005.

NUNES, J.M.A.; MARQUES, L.G.A.; SILVA FILHO, E.C.; SANTOS, M.R.M.C.; Pessoa, C. Ó. Aplicações da quitosana modificada: uma prospecção tecnológica. **Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica, SIMTEC**. v.1 n.1, p. 150-158, 2013.

PEREIRA, K.A.A.; OSÓRIO, L.R.; SILVA, M.P.; SOUSA, K.S.; SILVA FILHO, E.C.. Chemical Modification of Chitosan in the Absence of Solvent for Diclofenac Sodium Removal: pH and Kinetics Studies. **Materials Research**. 17(Suppl. 1): 141-145, 2014.

PUTTIPIPATKHACHORN,S.;NUNTHANID, J.;YAMAMOTO, K.;PECK, G. E. Drug physical state and drug–polymer interaction on drug release from chitosan matrix films. **Journal of Controlled Release**. v. 75, p. 143–153, 2001.

SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R. Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 13, nº 4, p. 242-249, 2003.

SABARUDIN, A.; OSHITA, K.; OSHIMA,M.; MOTOMIZU,S. Synthesis of chitosan resin possessing 3,4-diamino benzoic acid moiety for the collection/concentration of arsenic and selenium in water samples and their measurement by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**.v. 542,p. 207–215, 2005.

SCHATZ, C.; VITON, C.; DELAIR, T.; PICHOT, C.; DOMARD, A. Typical Physicochemical Behaviors of Chitosan in Aqueous Solution. **Biomacromolecules**.v.4, p. 641–648, 2003.

SHEU, M.; CHOU, H.; KAO, C.; LIU, C.; SOKOLOSKI, T. D. Dissolution of diclofenac sodium from matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**. v.85, p 57-63, 1992.

SILVA,L.S.; LIMA,L.C.B.; FERREIRA, F.J.L.; SILVA,M.S.; OSAJIMA,J.A.; BEZERRA, R.D.S.; SILVA FILHO, E.C. Sorption of the anion icreactivered RB dyethermodynamic, and equilibrium, **Open Chemistry**. v. 13,p.801-812, 2015.

SREENIVASAN. K. Thermal stability studies of some chitosanmetal ion complexes using differential scanning calorimetry. **Polymer Degradation Stability**. 52. 1996. 52-57

TEMKIN, M. J.; PYZHEV, V. Kinetics of Ammonia Synthesis on Promoted Iron Catalysts. **Acta Physicochim**.v 12, p.217-222, 1940.

URAGAMI T.; TOKURA S., (eds.) Material Science of Chitin and Chitosan, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.VILARINHO, A. C. G. (Dissertação de Mestrado). 2015. 77f. Obtenção de compósitos paligorsquita/quitosana para a liberação modificada da mesalazina – UFPI

VISERAS, C.; CEREZO,P.; SANCHEZ,R.; SALCEDO, I.; AGUZZI, C. Current challenges in clay minerals for drug delivery. **Applied Clay Science**. v. 48, p.291–295,2010.

## CAPITULO III: INCORPORAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO UTILIZANDO QUITOSANA MODIFICADA QUIMICAMENTE COM FORMALDEÍDO

### RESUMO

O biopolímero natural quitosna foi modificada com formaldeído, e este biopolímero foi caracterizado difração de raios X, *espectroscopia na região do infravermelho*, *análises térmicas e a ressonância magnética nuclear no estado sólido no núcleo do carbono-13*. O biomaterial modificado foi aplicado na liberação do fármaco diclofenaco de sódio, onde o equilíbrio de saturação ocorreu em 90 min, e a cinética do sistema se ajustou ao modelo de pseudo-primeira ordem. O estudo do pH revelou que a adsorção máxima ocorreu no pH 5. As isotermas de adsorção se ajustaram melhor com o modelo proposto por Freundlich nas temperaturas 298 e 308K e na temperatura de 318 K o modelo que melhor se ajustou foi o de Temkin de acordo com o coeficiente de correlação linear. O estudo da liberação mostrou que este processo é influenciado pelo pH, onde teve-se uma liberação máxima em pH 6,8. Assim, a quitosana modificada se mostrou um eficiente biomaterial tanto para a adsorção do fármaco diclofenaco de sódio como para a sua liberação

Palavras-chave: adsorção, liberação, formaldeído, diclofenaco de sódio

## ABSTRACT

The natural chitosan biopolymer was modified with formaldehyde, and this biopolymer was characterized X-ray diffraction, infrared spectroscopy, thermal analysis and solid state nuclear magnetic resonance at the carbon-13 nucleus. The modified biomaterial was applied in the release of the diclofenac sodium drug, where the saturation equilibrium occurred in 90 min, and the system kinetics conformed to the pseudo first order model. The study of pH revealed that the maximum adsorption occurred at pH 5. The adsorption isotherms were better adjusted with the model proposed by Freundlich at temperatures 298 and 308K of temperature at 318 K, the model that adjusted best was Temkin according with the linear correlation coefficient. The release study showed that this process is influenced by the pH, where a maximum release was obtained at pH 6.8. Thus, the modified chitosan proved to be an efficient biomaterial for both the adsorption of the diclofenac sodium drug and its release.

Key words: adsorption, release, chitosan, formaldehyde, diclofenac sodium

## 1.INTRODUÇÃO

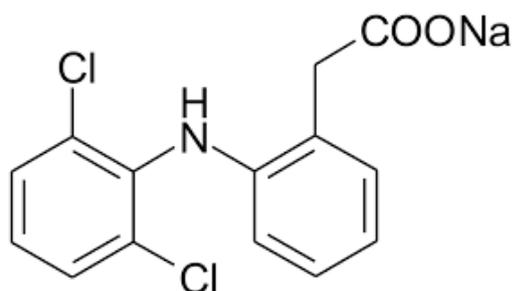
Polissacarídeos naturais constituem um grupo de grande importância tecnológica muito empregados em aplicações industriais e médicas. (MUZZARELLI, 2009). O polissacarídeo mais abundante produzido pela fotossíntese das plantas é a celulose. A quitina é o segundo polissacarídeo mais comum na natureza, é produzido por uma variedade de animais marinhos, insetos e fungos. Pode-se considerar o mar como a fonte principal de quitina, sendo assim os animais marinhos têm grande vantagem em relação aos vegetais, pois a produção natural de quitina não requer grandes espaços físicos como a celulose. A quitosana, usualmente preparada pela desacetilação da quitina, através de uma reação de hidrólise básica, apresenta em maior proporção em sua cadeia polimérica unidades de b-(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose.

A quitosana também apresenta uma estrutura química similar à celulose, mas é considerada quimicamente mais versátil do que a celulose (MATHUR, 1990). Uma ampla revisão das inúmeras possibilidades de aplicações da quitina e da quitosana foi apresentada (KUMAR, 1982). Foi destacada a versatilidade física que pode ser obtida a partir desses polímeros como a obtenção de fibras, filmes, géis, microesferas e membranas.

Propriedades favoráveis de biocompatibilidade (atóxica, biodegradável e de origem natural) e bioatividade da quitosana a tornam muito interessante para aplicações na área de biomateriais, em sistemas de liberação controlada, processos biotecnológicos e como adsorventes (2).

A modificação quimicamente da quitosana permite que ela se torne ainda mais atraente do ponto de vista da aplicação. A presença de um elevado percentual de grupos amino reativos distribuídos nessa matriz polimérica possibilita inúmeras alterações das características químicas. Com a modificação deste biopolímero, espera-se obter materiais com propriedades adsorventes superiores à superfície inicial (3). Também podem ser empregados em formulações farmacêuticas como hidrogéis, utilizados em sistemas de liberação controlada de fármacos, e no transporte e separação de proteínas (NUNES et al, 2013).

O fármaco que vai ser liberado pela quitosana modificada neste trabalho é o diclofenaco [2(2,6-diclorofenilamino)-benzeno acético monossódico faz parte de um grupo de fármacos Antiinflamatórios Não Esteroidais (AINE's), estes medicamentos são comumente utilizados para reduzir processos inflamatórios associados com lesões de tecidos moles, sendo sua principal aplicação clínica como agente anti-inflamatório (1). A Figura 1 mostra a estrutura desse fármaco.



**Figura 1:** Estrutura química do diclofenaco de sódio

Os AINE'S podem gerar graves danos ao trato gastrointestinal causando desde dores estomacais a severas úlceras e hemorragias se forem utilizados de forma prolongada e abusiva. O tempo de meia vida destes fármacos bem como seus efeitos colaterais requer um sistema de liberação controlada como sistema alternativo de formulação.

Sintetizado em 1966 (KOROLKOVAS, BURCKHALTER, 1988) o diclofenaco de sódio (DS) está no mercado mundial desde 1974. É o primeiro AINE`S derivado do ácido fenilacético a ser aprovado para uso. Projetado com base nas propriedades físico- químicas da fenilbutazona, indometacina e ácido mefenâmico (SALLMANN, 1986). Acredita-se que seus efeitos farmacológicos decorram da sua capacidade de inibir a cicloxigenase, impedindo a transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas. As prostaglandinas (GIOVANNETTI, et al 1993) desempenham um importante papel na cauda da inflamação, dor e febre (KOROLKOVAS, BURCKHALTER, 1988).

A insolubilidade em condições ácidas é, talvez, o fator mais importante a considerar, com isso, não é possível realizar a dissolução em valores baixos de pH, porque somente uma pequeníssima porcentagem será dissolvida. Este fato pode levar a conclusões erradas e a pequena liberação em condições ácidas poderia ser interpretado como o resultado das características favoráveis da resistência gástrica da matriz que o veicula ou características favoráveis das microcápsulas que impedem a liberação da substância ativa, ao invés de ser interpretado como o resultado da baixíssima solubilidade do diclofenaco de sódio em valores de pH baixos (PALOMO, BALLESTEROS, FRUTOS, 1997).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo verificar a capacidade de adsorção da quitosana modificada com formaldeído e etilenodiamina na ausência de

solvente na adsorção de diclofenaco de sódio e ajustar os dados experimentais a diferentes modelos lineares físico-químicos de isotermas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 *Materials***

A Quitosana (QP) foi adquirida da empresa Polymar, na forma de pó e com grau de desacetilação de 87% (laudo do fornecedor) e foi usada como matriz polimérica na preparação dos biomateriais. Foi utilizado também Formaldeído (Aldrich), hidróxido de sódio (Synth), ácido clorídrico (Synth), diclofenaco de sódio (Pharma nostra Comercial Ltda) e água deionizada. Todos os reagentes utilizados foram em grau analítico e sem purificação prévia.

### **2.2. *Desodorização da quitosana***

Hipoclorito de sódio a 3,6 % (v/v) foi adicionado à suspensão de quitosana, agitando por 1 h a 30 °C. Logo em seguida realizou-se a centrifugação, a 3000 rpm por 5 minutos, e a lavagem, com água destilada até a neutralização da suspensão, logo após o material foi submetido a secagem em estufa a 80 °C por 4 h e obteve o biomaterial QPL (SÂNIA, 2010).

### **2.3 *Síntese da quitosana modificada***

Primeiramente a quitosana pura (QP) foi modificada com formaldeído adicionando-se 25 mL deste reagente à 6,0g de quitosana, a suspensão formada foi transferida para um reator. Em seguida o reator foi fechado e aquecido à 96°C durante 4h. O produto obtido foi centrifugado, lavado com água e acetona, posteriormente seco em estufa à 60°C por 24 horas, obtendo-se assim o material QMF (Quitosana Modificada com Formaldeído). As temperaturas de aquecimento utilizadas correspondem às temperaturas de ebulição do reagente.

### **2.4 *Caracterização dos materiais***

Os materiais foram caracterizados por meio de técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TG,) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando um instrumento Q600 V20.9 Build TA, sob atmosfera de nitrogênio

a uma taxa de fluxo de  $100 \text{ mL min}^{-1}$  e com uma taxa de aquecimento de  $10^\circ \text{ min}^{-1}$ , realizou-se também as difrações de Raios-X (DRX) utilizando um aparelho Shimadzu, modelo D600-XR A, com  $2\theta$  no intervalo de  $5-75^\circ$ . A velocidade de varredura foi de  $8,33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , utilizando a fonte de radiação  $\text{CuK}\alpha$  com comprimento de onda de  $154 \text{ pm}$ . Realizou-se também a espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise da área superficial e análise elementar CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio). Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando pastilhas de KBr com 1 % de amostra, na faixa de  $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$  com resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , com 32 acumulações, em um espectrômetro Bomem Hartmann & Braun MB, com transformada de Fourier. As análises elementares de carbono e nitrogênio foram efetuadas em aparelho Perkin-Elmer, modelo PE 2400. Os espectros de ressonância magnética de carbono  $^{13}\text{C}$  no estado sólido foram obtidos em um espectrômetro AC400/P Bruker com rotação do ângulo mágico, em  $75,47 \text{ MHz}$ , com tempo de relaxação de  $5 \text{ s}$  e tempo de contato de  $1 \text{ ms}$ . As curvas termogravimétricas foram obtidas através do aparelho DuPont, modelo 9900, com fluxo de aquecimento de  $10^\circ \text{ C min}^{-1}$ , em atmosfera de argônio, a temperatura de  $100^\circ \text{ C}$ .

Após a caracterização dos materiais foi realizado o estudo de adsorção utilizando como matriz adsorvente o QMF como adsorbato e o fármaco diclofenaco de sódio (DS).

## **2.5 Estudo de adsorção**

Para estudo de adsorção do DS, inicialmente realizou-se a análise da influência do tempo, com o intuito de encontrar os tempos necessários para atingir a máxima adsorção deste fármaco, para isso transferiu-se  $20,0 \text{ mL}$  da solução de concentração  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  do fármaco para uma série de erlenmeyers contendo aproximadamente  $35 \text{ mg}$  do adsorvente. As amostras foram colocadas em banho termostatizado com agitação orbital da marca Nova Ética à  $130 \text{ rpm}$  na temperatura de  $298 \pm 1 \text{ K}$ , por um tempo de  $15 \text{ a } 290 \text{ min}$ . Retirou-se a amostra no intervalo de  $15 \text{ em } 15 \text{ min}$ , para os dois primeiros tempos e de  $30 \text{ em } 30 \text{ min}$  para os demais. O sobrenadante foi separado e a concentração remanescente do fármaco na solução para cada intervalo de tempo, foi determinada por Espectroscopia do UV-Vis modelo CARY 300 da varian, no comprimento de onda de  $276 \text{ nm}$ , que corresponde a faixa de

absorção máxima do fármaco. Os dados experimentais obtidos foram estudados com as equações matemáticas de pseudo primeira ordem (1) e pseudo segunda ordem (2), para verificar o mecanismo que controla o processo de adsorção.

Para verificar se a reação era pseudo primeira ordem ou pseudo segunda ordem os dados experimentais obtidos foram estudados com as equações matemáticas de pseudo primeira ordem (1) e pseudo segunda ordem (2), para verificar o mecanismo que controla o processo de adsorção. O ajuste de pseudo-primeira ordem é obtido a partir da Eq.3 (LAGERGREN, 1998):

$$\log(q_{e,exp} - q_t) = \log q_{e,cal} - \frac{K_1}{2,303} t \quad (1)$$

Sendo  $q_{e(exp\ ou\ cal)}$  (mg g<sup>-1</sup>) é a quantidade adsorvida do fármaco no equilíbrio,  $q_t$  (mg g<sup>-1</sup>) é a quantidade adsorvida do fármaco no tempo  $t$  (min) e  $K_1$  (min<sup>-1</sup>) é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem. Plotando-se o gráfico  $\log(q_{e,exp} - q_t)$  em função do tempo  $t$ , obtiveram-se os parâmetros da equação de pseudo-primeira ordem, em que  $q_{e,cal}$  e  $K_1$  são os coeficientes linear e angular, respectivamente.

Para o modelo de pseudo-segunda ordem, a equação matemática é representada pela Eq.4 e Eq.5 (HO e MCKAY, 1998):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_{e,cal}^2} + \frac{1}{q_{e,cal}} \quad (2)$$

sendo  $K_2$  a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (g mg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). Plotando-se o gráfico de  $t/q_t$  em função de  $t$  encontram-se os valores dos coeficientes lineares e angulares, que são usados para calcular os valores de  $K_2$  e  $q_{e,cal}$ , respectivamente.

A taxa inicial de adsorção,  $h$  (mg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>), quando  $t \rightarrow 0$  pode ser definido como:

$$h = K_2 q \quad (3)$$

Encontrado o tempo ótimo de máxima adsorção fez-se o estudo da influencia do pH das soluções de diclofenaco de sódio, onde preparou-se soluções (200 mg L<sup>-1</sup>) com pH variando de 5 a 12. Em seguida, pipetou-se alíquotas de 20,0 mL de cada solução e colocou-se em erlenmeyers contendo aproximadamente 35 mg da matriz. As amostras foram agitadas utilizando banho termostaticado, em agitação de 130 rpm no tempo pré-estabelecido de 110 min a temperatura de 298±1K, em seguida

efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorvância.

Uma vez que o tempo e o pH ótimo foram determinados analisou-se as isotermas de adsorção. Para isso preparou-se uma solução de DS na concentração  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  e ajustou o pH. Logo após diluiu-se esta solução em diferentes concentrações na faixa de  $100\text{-}900 \text{ mg L}^{-1}$ , em seguida  $20,0 \text{ mL}$  de cada solução foi adicionada a uma massa de aproximadamente  $35,0 \text{ mg}$  da matriz. Este sistema foi mantido em agitação na temperatura de  $298 \pm 1 \text{ K}$  até atingir o tempo ótimo, em seguida efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorvância. Aplicaram-se os modelos lineares de isotermas de Langmuir (6), Freundlich (7) e Temkin (8).

## **2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio**

Para liberar o diclofenaco de sódio utilizou-se as condições ideais de adsorção dos adsorventes (QP e QMFE) (pH ideal, tempo de saturação e temperatura de  $298 \text{ K}$ ), variando o tempo. Logo após os ensaios de adsorção o material adsorvente foi separado do sobrenadante por centrifugação (a  $3500 \text{ rpm}$  por  $5 \text{ min}$ ) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239 \text{ nm}$ .

Em seguida, os biomateriais adsorventes foram colocados para secar em estufa a  $353 \text{ K}$  por  $12 \text{ h}$ . Posteriormente, os biomateriais foram pesados e colocados em contato com  $20,0 \text{ mL}$  de água deionizada em diferentes pHs ( $1,2$ ,  $6,8$  e  $7,4$ ), a  $298 \text{ K}$  e sob agitação no tempo de saturação da adsorção. Após a agitação, os biomateriais adsorvente foram separados do sobrenadante por centrifugação (a  $3500 \text{ rpm}$  por  $5 \text{ min}$ ) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239 \text{ nm}$ . A avaliação quantitativa da liberação foi realizada usando porcentagem de liberação, calculado a partir da diferença entre a quantidade adsorvida no adsorvente e pela quantidade liberada em solução, conforme a Eq 6 (KYZAS, 2015).

$$\%L = \frac{V.D}{m.q} \times 100 \quad (6)$$

onde %L é a porcentagem de liberação do fármaco, D ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é a quantidade desorvida do fármaco na solução, q ( $\text{mg g}^{-1}$ ) é a quantidade adsorvida do fármaco no adsorvente, V (L) é o volume de água deionizada utilizado na liberação e m (g) é a massa de adsorvente utilizada na liberação.

Foi preparado também para analisar os perfis de liberação três tampões pH 1,2, 6,8 e 7,4 segundo a Farmacopéia Americana 31ª Edição (2008).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos estudos têm sido realizados utilizando a quitosana pra liberação de farmacos. (LIU, SU e LAI, 2004; MUZZARELLI, 2009). Neste estudo foi utilizado o formaldeído como agente modificador da quitosana. A tabela 1 mostra as quantidades dos elementos, calculados com base nos dados da análise elementar. A quitosana pura possuía 7,0 % de nitrogênio e, após reação com formaldeído, o valor foi reduzido para 6,4%; comprovando a eficácia da primeira reação. Esta redução ocorreu devido à incorporação do formaldeído na estrutura da quitosana, com incorporação de Carbono, Hidrogênio e Oxigênio, e uma redução de Nitrogênio, já que nesta molécula não há disponibilidade de grupos amino.

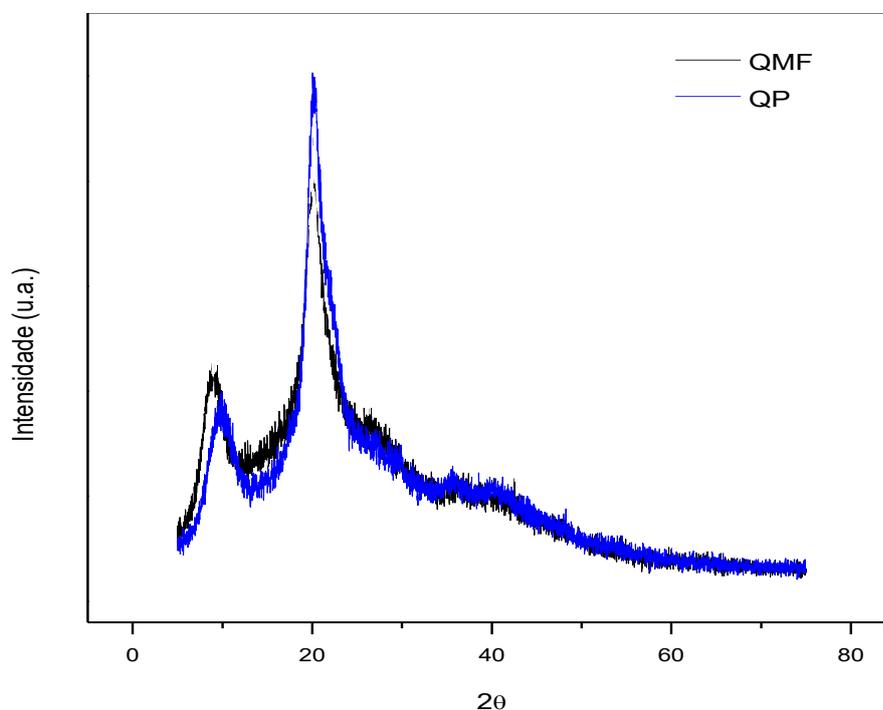
**Tabela 1.** Análise elementar de Carbono(C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), da quitosana pura e seu derivado

Amostras	C	H	N
	%	%	%
QP	40,5	7,4	7,0
QMF	41,6	7,2	6,4

#### 3.1 DRX

Os difratogramas de raios-X demonstraram que houve mudanças na cristalinidade da quitosana após a reação de formaldeído, devido a mudança na estrutura do biomaterial, como mostrado na Figura 2. O padrão de raios X da quitosana pura apresenta uma difração próxima a  $2\theta$  menos intensa em torno de  $10,0^\circ$  e uma difração de alta intensidade em torno de  $21,0^\circ$ , correspondentes as planos de difração (020) e (110), respectivamente, como mostra a figura 2 que apresenta os difratogramas dos materiais QP, QMF. De acordo com Uragami (2006), as fortes interações intra e intermolecular devido as ligações de hidrogênio entre os grupos amina, álcool e amida presentes na molécula de quitosana, faz com que esse material apresente certa cristalinidade. Observa-se que com a modificação o

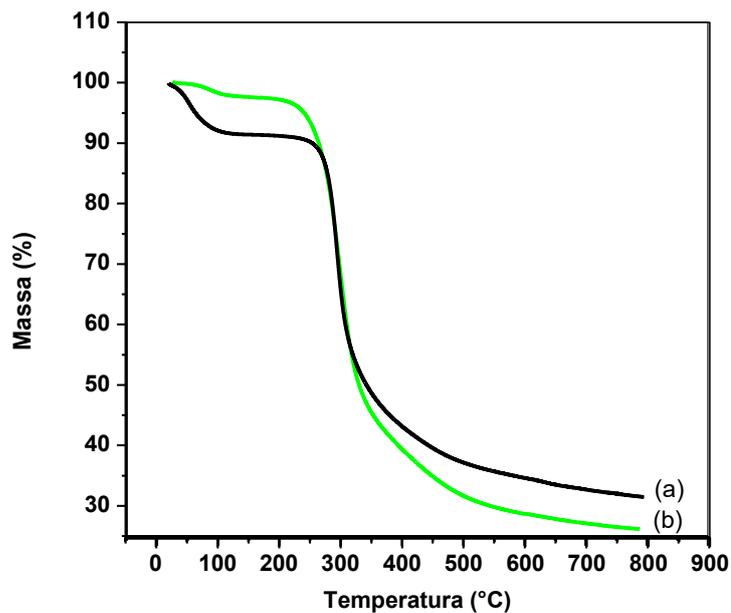
pico em torno de  $10,0^\circ$  de menor intensidade aumenta sua intensidade bem como um pequeno aumento na cristalinidade do material.



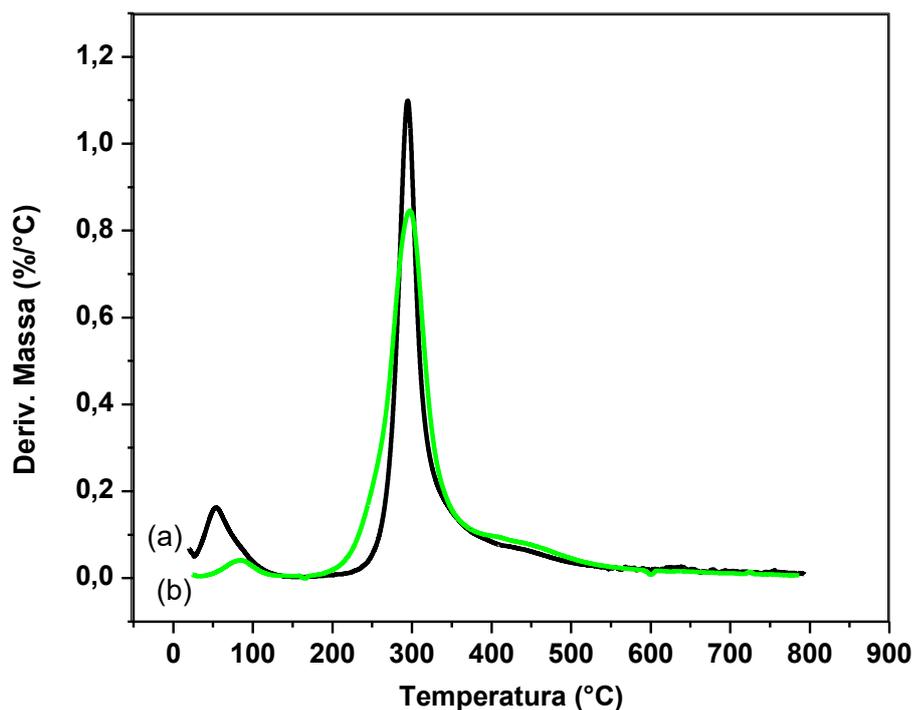
**Figura 2:** Espectros de difração de raios -X para quitosana pura (QP) e modificada com formaldeído (QMF)

### **3.2 Análises térmicas**

Os resultados das curvas de TG e DTG (Figura 3 e 4) pode-se observar que os biomateriais (QP, QMF) apresentaram um processo de desidratação, seguido da decomposição do biopolímero, com geração de material carbonizado. Observa-se que a reação de modificação aumenta a estabilidade da quitosana, pois com o aumento da temperatura o material perde menos massa, após a desidratação, ocorre primeiramente a decomposição dos grupos mais externos (grupo modificador), para posteriormente ocorrer à decomposição da quitosana.



**Figura 3:** Curvas de TG a quitosana pura (a) e modificada (b)

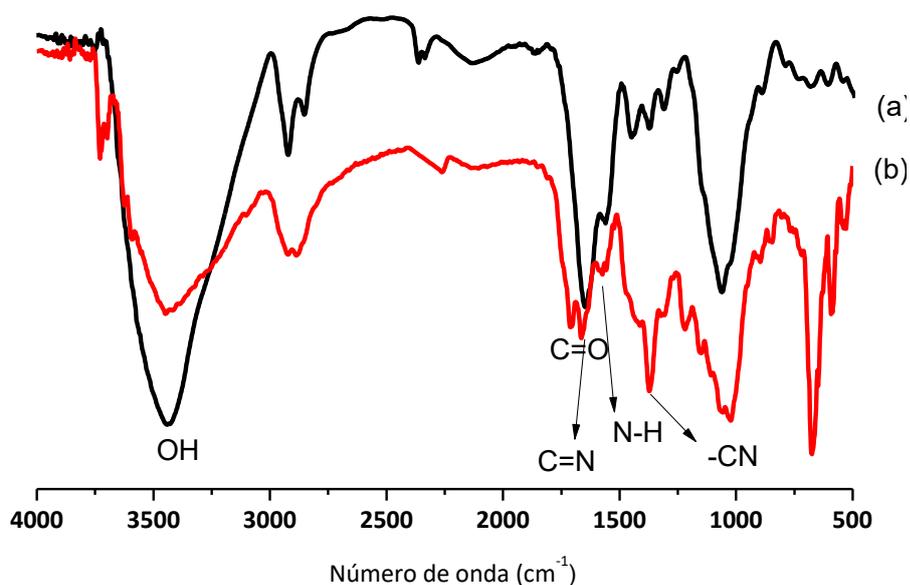


**Figura 4:** Curvas DTG para quitosana pura (a) e modificada com formaldeído(b)

### **3.3 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier**

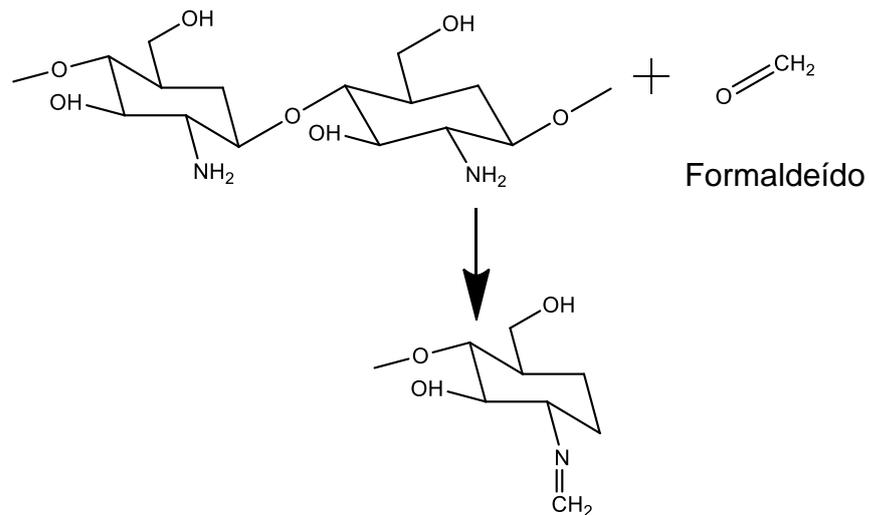
O espectro de absorção no infravermelho (IV) da amostra QP e QMF é apresentado na Figura 5. As principais bandas observadas nos espectros IV da amostra de quitosana pura foram: banda de estiramento axial de OH entre 3440 a

3480  $\text{cm}^{-1}$ , a qual aparece sobreposta à banda de estiramento N-H; deformação axial de C = O de amida I (entre 1661 a 1671  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação angular de N-H (entre 1583 a 1594  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação angular simétrica de CH<sub>3</sub> (entre 1380 a 1383  $\text{cm}^{-1}$ ); deformação axial de -CN de amida (por volta de 1425  $\text{cm}^{-1}$ ) e deformação axial de -CN de grupos amina (entre 1308 a 1380  $\text{cm}^{-1}$ ), além de bandas de estruturas polissacarídicas na região de 890 – 1156  $\text{cm}^{-1}$ . Todas as bandas características são muito semelhantes aquelas descritas por Brugnerotto et al, 2001, mostrando que todas apresentam basicamente os mesmos grupos funcionais.. A modificação foi confirmada pelo deslocamento e alargamento da banda em torno de 1590  $\text{cm}^{-1}$  (deformação N-H) característica da quitosana, indicando o envolvimento dos grupos amina nas reações de modificação. Na modificação com formaldeído observa-se o surgimento da banda em torno de 1655  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuída à ligação imina C=N.



**Figura 5** - Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP (a), QMF(b)

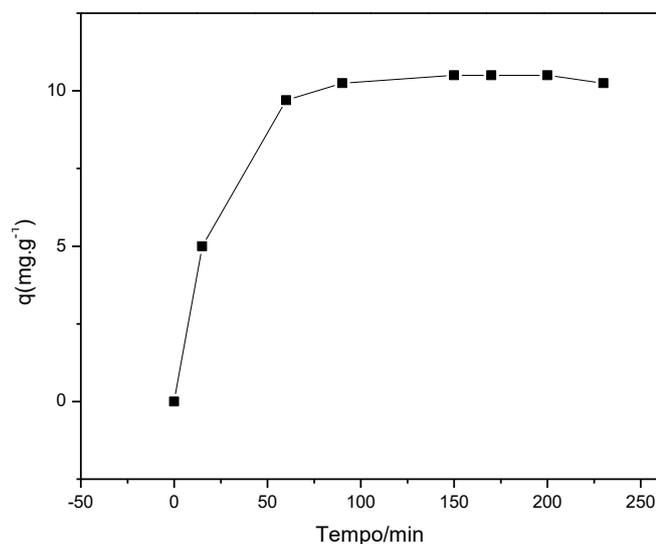
Através dos resultados das caracterizações foi possível desenvolver uma proposta de reação, mostrada na Figura 6.



**Figura 6.** Reação da quitosana com formaldeído.

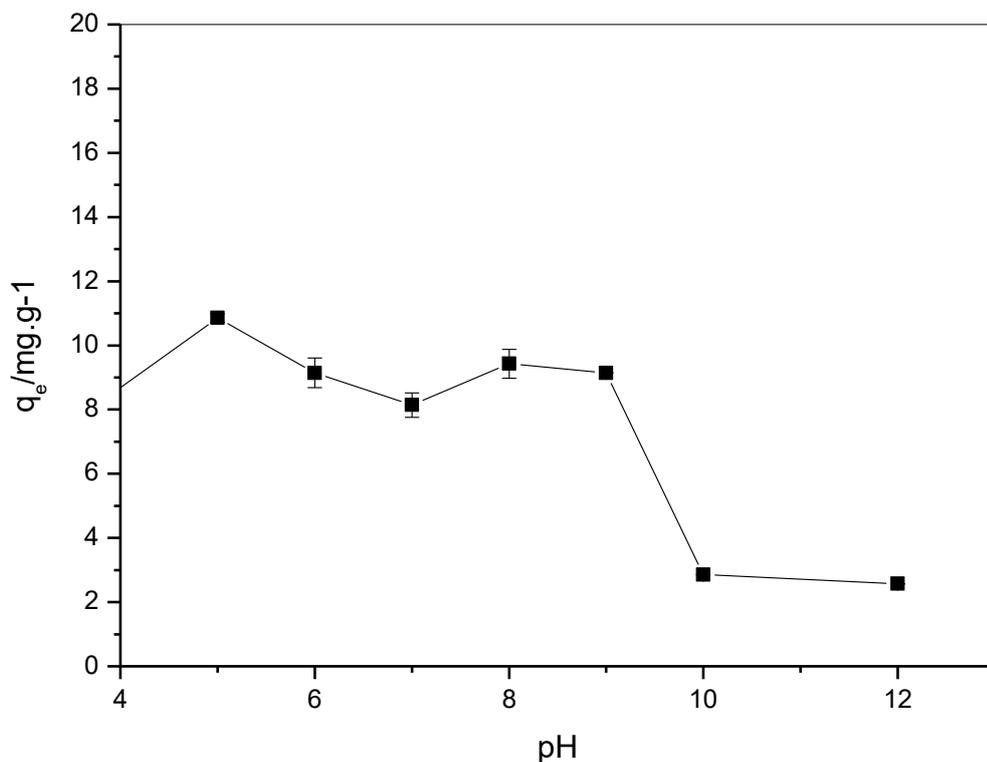
Logo após a confirmação com sucesso da modificação das quitosanas, comprovada através das caracterizações discutidas anteriormente, verificou-se a aplicação do QMF na adsorção do DS.

O tempo de adsorção é uma das características mais importantes que regem a taxa de adsorção do soluto. Ele representa a eficiência do adsorvente na adsorção e, portanto, determina seu potencial para esta aplicação (FATHI, 2015). Através do estudo do tempo, observou-se que após um tempo de 15 min, o material QMF começa a adsorver uma quantidade de fármaco bem próxima ao valor encontrado no equilíbrio (Fig.7). O tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio de saturação foi de 90 min e os dados experimentais se ajustaram ao modelo pseudo primeira ordem com  $R^2=0,9989$ , devido a sua melhor linearidade.



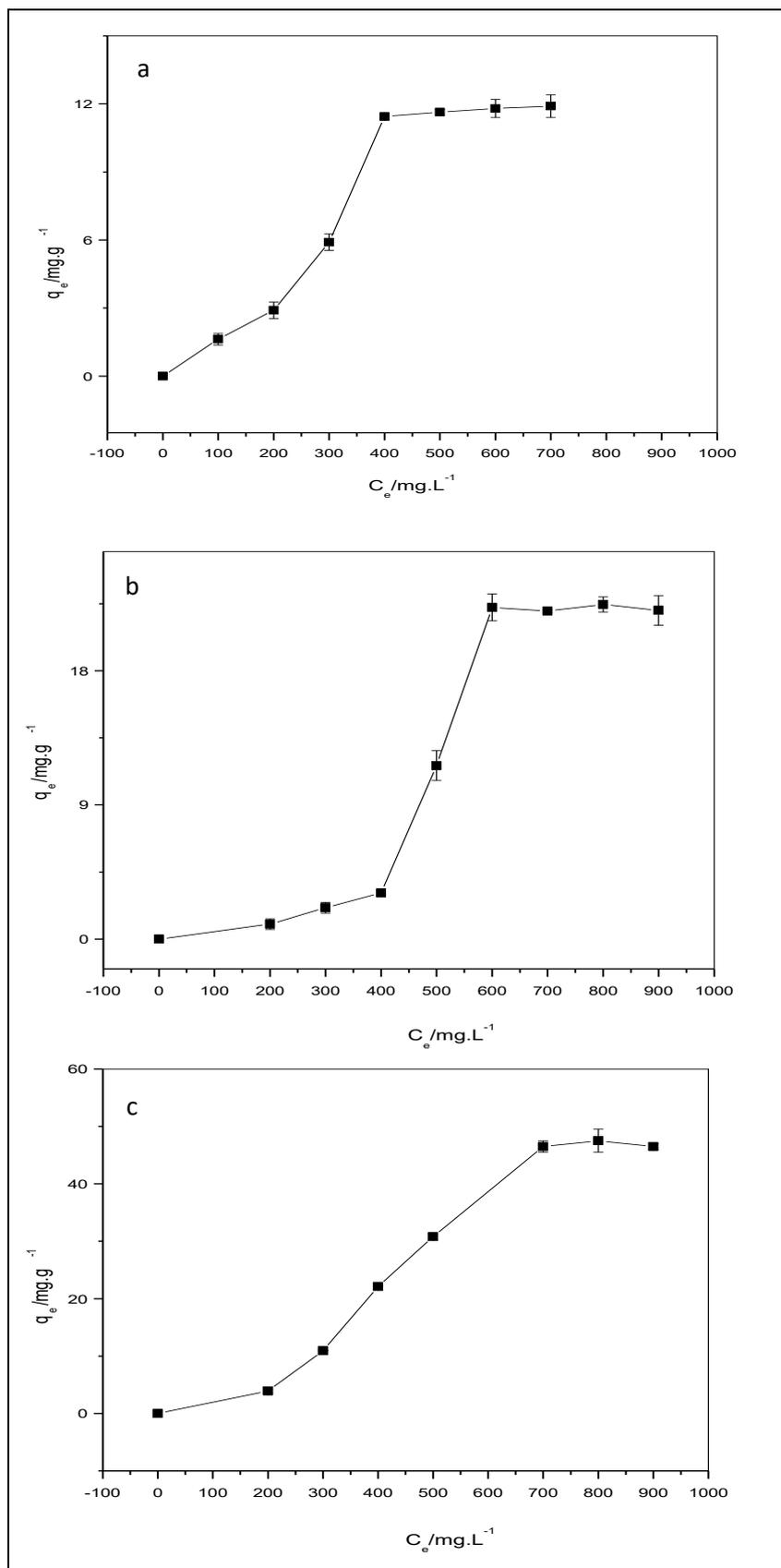
**Figura 7:** Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QMF

A adsorção na maioria das vezes é dependente do parâmetro pH, no estudo da influência do pH para o diclofenaco de sódio (DS), conseguiu-se verificar que a quantidade adsorvida pelo QMF sofreu uma influência do pH, onde observou-se uma maior quantidade adsorvida de fármaco na faixa de pH igual a 5, como mostrado na Fig.8.



**Figura 8:** Influência do pH na adsorção do DS pelo QMF.

As isotermas experimentais de adsorção de DS pelo QMF à 25°C, 35°C e 45°C são mostradas na Figura 9. Pode-se observar que houve adsorção pelo material QMF de 11,39; 22,7; 46,5 mg nas temperaturas de 25, 35 e 45°C respectivamente.



**Figura 9** - Isotermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QMF, a) 25 °C , b) 35 °C e c) 45 °C realizado em pH 5,0

A análise dos dados experimentais das isotermas de adsorção ajustados a diferentes modelos de adsorção é uma etapa importante para se determinar qual modelo é adequado para aquela determinada isoterma. Três modelos clássicos foram utilizados neste trabalho: Langmuir, Freundlich e Temkin. Os dados calculados a partir das equações linearizadas destes modelos estão na Tabela 2.

**Tabela 2** – Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QMF à 25° (298 K), 35°C (308 K) e 45°C (318 K).

Adsorvente	Isoterma	Parâmetros	Temperatura		
			25°C 298 K	35°C 308 K	45°C 318 K
QMF	Langmuir	$q_m$ (mg g <sup>-1</sup> )	-53,59	-4,29	-30,09
		$b_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	-0,31	-1,11x10 <sup>-3</sup>	-0,80
		$R^2$	-0,0530	0,6991	0,3555
	Freundlich	$K_F$ (L g)	8,21x10 <sup>-3</sup>	3,37x10 <sup>-6</sup>	8,61x10 <sup>-4</sup>
		$N_F$	0,87	0,42	0,61
		$R^2$	0,9223	0,9095	0,9196
	Temkin	$A_T$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,01	4,25x10 <sup>-3</sup>	5,21x10 <sup>-3</sup>
		$b_T$ (J mol <sup>-1</sup> )	393,56	143,34	81,85
		$R^2$	0,8657	0,8245	0,9650

De acordo com os resultados para o material QMF pode-se observar que o valor do coeficiente de correlação linear é maior para o modelo Freundlich nas temperaturas 298 e 308K de na temperatura de 318 K o modelo que melhor se ajustou foi o de Temkin.

Para o ajuste da isoterma experimental com a isoterma do modelo de Langmuir utilizou-se a equação (A) na forma linearizada:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{máx}b} + \frac{C_e}{q_{máx}} \quad (A)$$

sendo que  $q_e$  corresponde à quantidade de soluto adsorvida por massa de adsorvente,  $C_e$  a concentração de equilíbrio do soluto,  $b$  é uma constante de proporcionalidade que engloba a constante de equilíbrio e está relacionada com a energia livre de adsorção, que corresponde à afinidade entre a superfície do

adsorvente e o soluto, e  $q_{m\acute{a}x}$  é uma constante que representa a cobertura do adsorvato em uma monocamada, ou seja, a máxima adsorção possível, quantidade máxima de soluto que pode ser observada. Caso o sistema obedeça ao modelo da isoterma de Langmuir, o gráfico  $C_e/q_e$  em função de  $C_e$  deve conduzir uma reta, sendo que o coeficiente angular corresponde a  $1/q_{m\acute{a}x}$  e o coeficiente linear  $1/(bq_{m\acute{a}x})$ . Assim, o gráfico linear  $C_e/q_e$  em função de  $C_e$  confirma a validade do modelo de Langmuir para o processo (LANGMUIR, 1916).

Os parâmetros de Langmuir podem ser expressos em termos de um fator de separação adimensional,  $R_L$ , definido pela equação (B), podendo assim, avaliar a forma da isoterma.

$$R_L = \frac{1}{1 + bC_e} \quad (B)$$

Onde  $C_e$  é a concentração de equilíbrio mais alta ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e  $b$  é a constante de Langmuir. Para uma adsorção favorável os valores de  $R_L$  devem estar entre 0 e 1 ( $0 < R_L < 1$ ), enquanto,  $R_L > 1$  representa uma adsorção desfavorável.  $R_L = 1$  representa uma adsorção linear e para  $R_L = 0$  o processo de adsorção é irreversível (LANGMUIR, 1916).

Para o ajuste da isoterma experimental com a isoterma do modelo de Freundlich, utilizou-se a equação (C) na forma linearizada:

$$\log q_e = \frac{1}{n} \log C_e + \log K_f \quad (C)$$

sendo que  $q_e$  e  $C_e$  têm o mesmo significado da equação de Langmuir,  $K_f$  é uma constante relacionada com a capacidade de adsorção e  $n$  é uma constante relacionada com a intensidade de adsorção e a espontaneidade da adsorção, quando este valor é maior que um. Os valores de  $K_f$  e  $n$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $\log q_e$  em função do  $\log C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n$  e o coeficiente linear é igual ao  $\log K_f$  (FREUNDLICH, 1906).

A isoterma experimental também foi ajustada ao modelo de Temkin utilizando a equação (D) na forma linearizada:

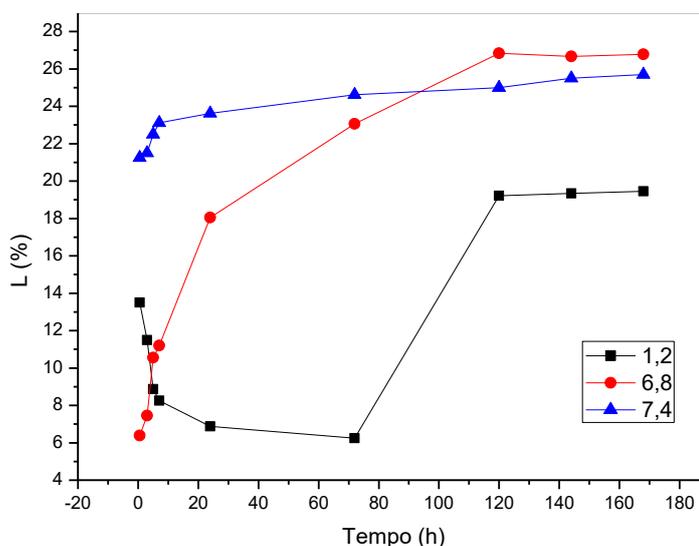
$$q_e = \frac{1}{n_T} \ln K_T + \frac{1}{n_T} \ln C_e \quad (D)$$

sendo que  $n_T$  indica, quantitativamente, a reatividade dos sítios energéticos do material e  $K_T$  é a constante que engloba a constante de equilíbrio. Os valores de  $K_T$  e

$n_T$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $q_e$  em função do  $\ln C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n_T$  e o coeficiente linear é igual ao  $\ln K_T/n_T$  (TEMKIN, 1940). Este modelo considera o sistema próximo ao proposto por Langmuir (LANGMUIR, 1916).

### 3.4 Liberação do diclofenaco de sódio

O estudo do pH foi realizado afim de se observar em qual pH ocorria a maior quantidade de liberação do fármaco (Figura 10). A Figura 10 apresenta o gráfico de liberação do DS variando o pH, onde se pode observar que houve uma melhor liberação em pH 6,8 do fármaco DS, uma menor liberação em pH ácido também foi observado no estudo da liberação da teofilina a partir de microesferas de caseína em fluídos gástrico e intestinal simulados, a pH 1,5. Estudos realizados por Sheu et al. (1992) e Ho et al. (1997) demonstraram a influência do pH ácido do meio, na diminuição da velocidade de dissolução de comprimidos de Voltaren\* SR (liberação controlada). Os autores formularam a hipótese de que o contato prévio do meio -ácido com o diclofenaco sódico, levaria ocorrência de deposição de uma camada da forma -ácida do fármaco na superfície do núcleo que, apresentando menor solubilidade em tampão pH 6,8 e menor ainda no pH 1,2, prejudicaria a sua cedência final. Este comportamento foi confirmado por Castro (2000 ). [32] a partir da realização de espectros no infravermelho do diclofenaco sódico após contato com o meio -ácido e, posteriormente, tampão pH 6,8.



**Figura 10:** Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH.

#### 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho a quitosana foi modificada com formaldeído. A análise de DRX mostrou que ocorreu um aumento da cristalinidade da quitosana após a reação de modificação. Pelos gráficos de análises térmicas, verificou-se que ocorreram alterações na estabilidade térmica da quitosana após a reação. A quitosana modificada apresentou um bom desempenho na adsorção do fármaco diclofenaco de sódio. O estudo cinético mostrou que o tempo de saturação foi de 90 min, e o modelo cinético que apresentou o melhor ajuste foi o de pseudo-primeira ordem. O estudo do pH mostrou que o processo de adsorção do fármaco é influenciado pelo pH da solução. O estudo da concentração mostrou que o aumento da concentração da solução do fármaco provocou o aumento da adsorção do fármaco pelo biomaterial. As isotermas de adsorção se ajustaram melhor com o modelo proposto por Freundlich nas temperaturas 298 e 308K e na temperatura de 318 K o modelo que melhor se ajustou foi o de Temkin de acordo com o coeficiente de correlação linear. O estudo da liberação mostrou que este processo é influenciado pelo pH, onde teve-se uma liberação máxima em pH 6,8. Portanto, a quitosana modificada se mostrou um eficiente biomaterial tanto para a adsorção do fármaco diclofenaco de sódio como para a sua liberação.

## REFERÊNCIAS

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, W.; ARGÜELLES-MONAL; DESBRIÈRES, J. & RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization **Polymer**, v. 42, p.3569, 2001.

CASTRO, W. V. (Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

FATHI M.R., ASFARAM A., FARHANGI A. Removal of Direct Red 23 from aqueous solution using corn stalks: Isotherms, kinetics and thermodynamic studies, **Spectrochim Acta A-M**,v. 135, p.364-372,2015.

FREUNDLICH, H. M. F. Uber die adsorption in lösungen. **Zeitschrift Fur Physikalische Chemie (Leipzig)**, v. 57A, p. 385- 470, 1906.

GIOVANNETTI, M., MACHADO, M., BORRELLI, M. et al. Necrose tecidual; Efeito colateral do diclofenaco de sódio, relato de casos e discussão da fisiopatologia. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Uni. S. Paulo**, v. 48, n. 1 p. 39-42, 1993.

HO, H.; LIU, C.; LIN, H.; SHEU, M. The development of matrix tablets for diclofenac sodium based on an empirical in vitro and in vivo correlation. **Journal of Controlled Release**. v.49, p.149-156, 1997.

HO, Y.S.; MCKAY, G.; Kinetic Models for the Sorption of Dye from Aqueous Solution by Wood. **Process Safety and Environmental Protection** v. 76, 1998, p. 183-191, 1998.

KOROLKOVAS, A. R. J., BURCKHALTER, J. H., **Química farmacêutica**. 3º ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, p. 732- 33. 1988

KUMAR, S. Recent trends in use of nitrites in cured meats: a review. **Indian Food Packer**, v. 5, p. 84, 1982.

KYZAS G. Z.; SIAFAKA,P. I.; PAVLIDOU, E. G.;CHISSAFIS, K. J.; BIKIARIS, D. N. Synthesis and adsorption application of succinyl-grafted chitosan for the simultaneous removal of zinc and cationic dye from binary hazardous mixtures. **Chemical Engineering Journal**. v. 259, p.438-448, 2015.

LAGERGREN, S. (1898), Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24 , p. 1-39, 1898.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, p. 2221-2295, 1916.

LIU, Y. L.; SU, Y. H.; LAI, J. Y. In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan/silica hybrid membranes with using  $\gamma$ -glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent. **Polymer**, v. 45, n. 20, p. 6831-6837, 2004.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Education**, v. 67, p. 938- 942, 1990.

MUZZARELLI, R.A.A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydrate Polymers**. v. 76, p. 167–182, 2009.

NUNES, J.M.A.; MARQUES, L.G.A.; SILVA FILHO, E.C.; SANTOS, M.R.M.C.; PESSOA, C. Ó. Aplicações da quitosana modificada: uma prospecção tecnológica. **Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica, SIMTEC**. v.1 n.1, p. 150-158, 2013.

PALOMO, M. E., BALLESTEROS, M. P., FRUTOS, P. Diclofenac sodium Microcapsules; In vitro Testing Considerations. Drug Development and **Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 3, p. 273-283, 1997.

SALLMANN, A. R. The history of Diclofenac. **The American Journal of Medicine**, v. 80 (4B), p. 29-33, 1986.

SÂNIA MARIA BELÍSIO DE ANDRADE (Dissertação de mestrado) Extração e caracterização de quitina e quitosana e a sua utilização na fabricação de nanofibras. **VI Congresso Nacional de Engenharia Mecânica**. Campina Grande. 2010.

SHEU, M.; CHOU, H.; KAO, C.; LIU, C.; SOKOLOSKI, T. D. Dissolution of diclofenac sodium from matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**. v.85, p 57-63, 1992.

TEMKIN, M. J.; PYZHEV, V. Recent modifications to Langmuir isotherms. **Acta Physicochimica URSS**, v. 12, p. 217–222, 1940.

URAGAMI T.; TOKURA S., (eds.) Material Science of Chitin and Chitosan, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

## CAPÍTULO IV: INCORPORAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO UTILIZANDO QUITOSANA MODIFICADA QUIMICAMENTE COM GLIOXAL

### Resumo

Nós últimos anos tem aumentado o estudo sobre a utilização de biopolímeros naturais e seus derivados modificados na liberação controlada de fármacos. Contudo, não há na literatura estudos sobre a utilização da quitosana modificada com glioxal na liberação do fármaco diclofenaco de sódio. Portanto, neste estudo foi realizado a síntese da quitosana modificada com glioxal através da reação da quitosana pura com glioxal. A eficácia da reação foi observada por difração de raios X, *espectroscopia na região do infravermelho*, *análises térmicas e a ressonância magnética nuclear no estado sólido no núcleo do carbono-13*. O estudo de adsorção do fármaco diclofenaco de sódio em meio aquoso foi realizado variando o tempo, pH e concentração. Os resultados mostraram que o biomaterial melhor adsorveu em *pH=6*, onde através dos resultados constatou-se que no tempo de 40 minutos começou a saturação da adsorção. O biomaterial foi investigado quanto ao seu potencial de liberação do Diclofenaco Sódico em sistemas de liberação controlada, onde pode-se observar que o material tem melhor liberação no pH 7,4.

Palavras-chave: adsorção, liberação, quitosana, glioxal, diclofenaco de sódio

## **ABSTRACT**

In recent years we have increased the study on the use of natural biopolymers and their modified derivatives in the controlled release of drugs. However, there is no literature on the use of glyoxal-modified chitosan in the release of the diclofenac sodium drug. Therefore, in this study the synthesis of chitosan modified with glyoxal was carried out through the reaction of pure chitosan with glyoxal. The efficacy of the reaction was observed by X-ray diffraction, infrared spectroscopy, thermal analysis and solid state nuclear magnetic resonance at the carbon-13 nucleus. The adsorption study of the diclofenac sodium drug in aqueous medium was carried out varying the time, pH and concentration. The results showed that the biomaterial adsorbed at pH = 6, where through the results it was observed that in the time of 40 minutes the adsorption saturation began. The biomaterial was investigated for its potential release of Diclofenac Sodium in controlled release systems, where it can be observed that the material has a better release at pH 7.4.

Key words: adsorption, release, chitosan, glyoxal, diclofenac sodium

## 1.INTRODUÇÃO

A quitosana é derivada da quitina, subproduto da casca de crustáceos, é uma substância cuja estrutura é semelhante à da celulose, sendo considerada, depois dela, o polímero mais abundante do planeta. A quitosana é obtida por um processo de desacetilação alcalina, retira-se o grupo acetil, obtendo-se uma substância facilmente solúvel em água acidificada e que tem a capacidade de formar interações químicas com materiais hidrofóbicos e aniônicos, pois possui grupos catiônicos, além de formar compostos biodegradáveis. A quitosana é um material biodegradável e atóxico, é uma substância que vem sendo utilizada na biomedicina, na indústria de cosméticos, na agricultura, como fibra têxtil e no tratamento de água. Aplicada na biomedicina ela é um biomaterial que favorece a reconstituição fisiológica da pele (BIAGINI et al, 1992). Estuda-se também sua ação antitumoral e imunossupressora (SUGANO et al, 1992; SUZUKI et al, 1986).

O uso da quitosana tem se dado particularmente pelo fato de que a mesma possui grande capacidade adsorptiva, baixo custo e não se caracteriza como um material poluente. Outra qualidade desse biopolímero é a sua facilidade em ser modificada com outras substâncias, no sentido de melhorar as suas características sequestrantes.

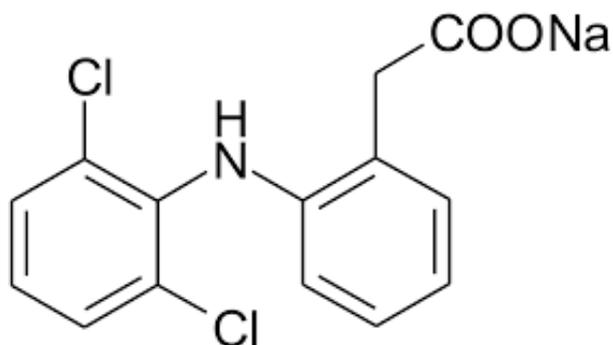
A estrutura da quitosana é constituída de unidades  $\beta$ -(1→4)-2-amino-2-deoxi-Dglucopiranosose e  $\beta$ -(1→4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucopiranosose em proporções variáveis. Esta estrutura possui fortes interações intermoleculares e regularidade estrutural, e devido a isso a quitosana apresenta insolubilidade em água, mas dissolve em soluções ácidas diluídas, comportando-se como um polieletrólito. Essa solubilidade está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ( $\text{NH}_3^+$ ) na cadeia polimérica. A repulsão eletrostática entre as cadeias é maior quanto maior for a quantidade destes grupos, causando um aumento no volume hidrodinâmico do polímero e na viscosidade da solução. Suas propriedades em solução são estudadas através da variação de diferentes parâmetros, como concentração da solução, pH, força iônica, temperatura e concentração de sal (SANTOS et al, 2003).

Os grupos reativos  $\text{NH}_2$  e  $\text{OH}$  presentes em sua estrutura, possibilita diversas modificações químicas, responsáveis por mudanças nas propriedades físico-químicas do polímero e expansão dos seus campos de aplicação. A alquilação

redutiva tem despertado interesse pelo potencial de aplicação em várias áreas dentre as reações químicas realizadas com a quitosana (KURITA, 2001) Os grupos amino livres da quitosana podem reagir com aldeídos e cetonas gerando iminas (base de Schiff), que podem ser convertidas a derivados N-alkil pela redução com borohidreto de sódio ou cianoborohidreto de sódio (YANG, 2002 e *DESBRIERES 2004*). O caráter catiônico da quitosana em soluções aquosas ácidas, e a inserção de grupos hidrofóbicos na cadeia polimérica através de reações de alquilação, possibilitam a formação de polímeros anfifílicos com características de grande interesse. Em meio aquoso, os grupos hidrofóbicos se associam para minimizar o seu contato com a água, gerando agregados intra ou intermoleculares.

A viscosidade da solução polimérica tem um aumento significativo devido a formação de agregados juntamente com as repulsões eletrostáticas nos polieletrólitos. O potencial desses polieletrólitos modificados hidrofobicamente tem sido explorado em numerosos processos tecnológicos, como modificadores reológicos em indústrias de tintas, cosméticos e alimentos; em processos de floculação na separação de emulsões óleo/água e floculação de suspensões celulares; no tratamento de efluentes, pois esses compostos têm alta capacidade de retenção de metais. Também podem ser empregados em formulações farmacêuticas como hidrogéis, utilizados em sistemas de liberação controlada de fármacos, e no transporte e separação de proteínas (*DESBRIERES , 2004 e BARANY 2004*).

O diclofenaco de sódio (DS), 2-[(2,6- diclorofenil)amino]benzoacetato de sódio (Figura 1), está entre os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) mais utilizados no mundo. É um fármaco instável em meio ácido, tendo seu uso limitado pela alta incidência de efeitos indesejáveis sobre o trato gastrointestinal (SANTOS et al., 2007).



**Figura 1:** Estrutura química do diclofenaco de sódio

O tempo de meia vida deste fármaco bem como seus efeitos colaterais requer um sistema de liberação controlada como sistema alternativo de formulação.

Portanto, este trabalho tem como objetivo modificar a quitosana por alquilação redutiva, utilizando glioxal. visando a liberação controlada do fármaco diclofenaco de sódio.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 *Materiais***

A Quitosana (QP) foi adquirida da empresa Polymar, na forma de pó e com grau de desacetilação de 87% (laudo do fornecedor) e foi usada como matriz polimérica na preparação do biomaterial. Foi utilizado também Glioxal (Aldrich), hidróxido de sódio (Synth), ácido clorídrico (Synth), diclofenaco de sódio (Pharma nostra Comercial Ltda) e água deionizada. Todos os reagentes utilizados foram em grau analítico e sem purificação prévia.

### **2.2. *Desodorização da quitosana***

Adicionou-se Hipoclorito de sódio a 3,6 % (v/v) à suspensão de quitosana, agitando por 1 h a 30 °C. Logo em seguida realizou-se a centrifugação, a 3000 rpm por 5 minutos, e a lavagem, com água destilada até a neutralização da suspensão, logo após o material foi submetido a secagem em estufa a 80 °C por 4 h e obteve o biomaterial QPL (SÂNIA, 2010).

### **2.3 *Síntese da quitosana modificada***

Primeiramente a quitosana pura (QP) foi modificada com glioxal adicionando-se 25 mL deste reagente à 6,0g de quitosana, a suspensão formada foi transferida para um reator. Em seguida o reator foi fechado e aquecido à 51 °C durante 4h. O produto obtido foi centrifugado, lavado com água e acetona, posteriormente seco em estufa à 60°C por 24 horas, obtendo-se assim o material QG (Quitosana Modificada com Glioxal). As temperaturas de aquecimento utilizadas correspondem às temperaturas de ebulição dos respectivos reagentes.

## **2.4 Caracterização dos materiais**

A caracterização se deu por meio de técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TG,) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando um instrumento Q600 V20.9 Build TA, sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de  $100 \text{ mL min}^{-1}$  e com uma taxa de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ \text{ min}^{-1}$ , realizou-se também as difrações de Raios-X (DRX) utilizando um aparelho Shimadzu, modelo D600-XR A, com  $2\theta$  no intervalo de  $5\text{-}75^\circ$ . A velocidade de varredura foi de  $8,33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , utilizando a fonte de radiação  $\text{CuK}\alpha$  com comprimento de onda de  $154 \text{ pm}$ . Realizou-se também a espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise da área superficial e análise elementar CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio). Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando pastilhas de KBr com 1 % de amostra, na faixa de  $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$  com resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , com 32 acumulações, em um espectrômetro BomemHartmann & Braun MB, com transformada de Fourier. As análises elementares de carbono e nitrogênio foram efetuadas em aparelho Perkin-Elmer, modelo PE 2400. Os espectros de ressonância magnética de carbono  $^{13}\text{C}$  no estado sólido foram obtidos em um espectrômetro AC400/P Bruker com rotação do ângulo mágico, em  $75,47 \text{ MHz}$ , com tempo de relaxação de  $5 \text{ s}$  e tempo de contato de  $1 \text{ ms}$ . As curvas termogravimétricas foram obtidas através do aparelho DuPont, modelo 9900, com fluxo de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ \text{C min}^{-1}$ , em atmosfera de argônio, a temperatura de  $100 \text{ }^\circ \text{C}$ .

## **2.5 Adsorção do fármaco**

### **2.5.1 Estudo do tempo**

Para estudo de adsorção do DS, inicialmente realizou-se a análise da influência do tempo, com o intuito de encontrar os tempos necessários para atingir a máxima adsorção deste fármaco, para isso transferiu-se  $20,0 \text{ mL}$  da solução de concentração  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  do fármaco para uma série de erlenmeyers contendo aproximadamente  $35 \text{ mg}$  do adsorvente. As amostras foram colocadas em banho termostaticado com agitação orbital da marca Nova Ética à  $130 \text{ rpm}$  na temperatura de  $298 \pm 1 \text{ K}$ , por um tempo de  $15 \text{ a } 290 \text{ min}$ . Retirou-se a amostra no intervalo de  $15 \text{ em } 15 \text{ min}$ , para os dois primeiros tempos e de  $30 \text{ em } 30 \text{ min}$  para os demais. O sobrenadante foi

separado e a concentração remanescente do fármaco na solução para cada intervalo de tempo, foi determinada por Espectroscopia do UV-Vis modelo CARY 300 da varian, no comprimento de onda de 276 nm, que corresponde a faixa de absorção máxima do fármaco (sendo que todas as leituras realizadas, após todos os experimentos, foram em triplicata) a capacidade de adsorção do adsorvente,  $q$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ), foi calculado pela Eq.2 (ALENCAR, 2014; BEZERRA et al 2014 e SILVA 2015):

$$q = \frac{V(C_0 - C_f)}{m} \quad (2)$$

onde  $V$  (L) é o volume da solução do fármaco,  $C_0$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é a concentração inicial da solução do fármaco,  $C_f$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é a concentração da solução do fármaco após a adsorção em cada tempo,  $t$ , e  $m$  (g) a massa do adsorvente.

Para verificar se a reação era pseudo primeira ordem ou pseudo segunda ordem os dados experimentais obtidos foram estudados com as equações matemáticas de pseudo primeira ordem (3) e pseudo segunda ordem (4), para verificar o mecanismo que controla o processo de adsorção. O ajuste de pseudo-primeira ordem é obtido a partir da Eq.3 (LAGERGREN, 1998):

$$\log(q_{e,exp} - q_t) = \log q_{e,cal} - \frac{K_1}{2,303} t \quad (3)$$

Sendo  $q_{e(exp \text{ ou } cal)}$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) é a quantidade adsorvida do fármaco no equilíbrio,  $q_t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) é a quantidade adsorvida do fármaco no tempo  $t$  (min) e  $K_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem. Plotando-se o gráfico  $\log(q_{e,exp} - q_t)$  em função do tempo  $t$ , obtiveram-se os parâmetros da equação de pseudo-primeira ordem, em que  $q_{e,cal}$  e  $K_1$  são os coeficientes linear e angular, respectivamente.

Para o modelo de pseudo-segunda ordem, a equação matemática é representada pela Eq.4 e Eq.5 (HO e MICKAY, 1998):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_{e,cal}^2} + \frac{1}{q_{e,cal}} \quad (4)$$

sendo  $K_2$  a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem ( $\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ). Plotando-se o gráfico de  $t/q_t$  em função de  $t$  encontram-se os valores dos coeficientes lineares e angulares, que são usados para calcular os valores de  $K_2$  e  $q_{e,cal}$ , respectivamente.

A taxa inicial de adsorção,  $h$  ( $\text{mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ), quando  $t \rightarrow 0$  pode ser definido como:

$$h = K_2 q \quad (5)$$

### 2.5.2 Influência do pH

Encontrado o tempo ótimo de máxima adsorção fez-se o estudo da influencia do pH das soluções de diclofenaco de sódio, onde preparou-se soluções ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) com pH variando de 5 a 12. Em seguida, pipetou-se alíquotas de 20,0 mL de cada solução e colocou-se em erlenmeyers contendo aproximadamente 35 mg da matriz. As amostras foram agitadas utilizando banho termostaticado, em agitação de 130 rpm no tempo preestabelecido de 110 min a temperatura de  $298 \pm 1\text{K}$ , em seguida efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorbância.

### 2.5.3 Isotermas de adsorção

Uma vez que o tempo e o pH ótimo foram determinados analisou-se as isotermas de adsorção. Para isso preparou-se uma solução de DS na concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  e ajustou o pH. Logo após diluiu-se esta solução em diferentes concentrações na faixa de  $100\text{-}900 \text{ mg L}^{-1}$ , em seguida 20,0 mL de cada solução foi adicionada a uma massa de aproximadamente 35,0 mg da matriz. Este sistema foi mantido em agitação na temperatura de  $298 \pm 1\text{K}$  até atingir o tempo ótimo, em seguida efetuou-se centrifugação e retirou-se alíquotas da solução sobrenadante e fez-se leitura de absorbância. Aplicaram-se os modelos lineares de isotermas de Langmuir (LANGMUIR, 1916), Freundlich (FREUNDLICH, 1906) e Temkin (TEMKIN e PYZHEV, 1940).

Para o ajuste da isoterma experimental com a isoterma do modelo de Langmuir utiliza-se a Eq.6 na forma linearizada (LANGMUIR, 1916):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{\text{máx}} b} + \frac{C_e}{q_{\text{máx}}} \quad (6)$$

sendo que  $q_e$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) corresponde à quantidade de fármaco adsorvida pelo adsorvente,  $C_e$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) a concentração de equilíbrio da solução do fármaco,  $b$  é uma constante de proporcionalidade que engloba a constante de equilíbrio e está relacionada com a energia livre de adsorção, que corresponde à afinidade entre a

superfície do adsorvente e o soluto, e  $q_{m\acute{a}x}$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) é quantidade máxima de fármaco que pode ser adsorvida. Plotando-se o gráfico de  $C_e/q_e$  em função de  $C_e$  encontra-se o coeficiente angular, que corresponde a  $1/q_{m\acute{a}x}$ , e o coeficiente linear, que corresponde a  $1/(bq_{m\acute{a}x})$ .

Os parâmetros de Langmuir podem e foram expressos em termos de um fator de separação adimensional,  $R_L$ , definido pela Eq.7, que pode assim, avaliar a forma da isoterma.

$$R_L = \frac{1}{1 + bC_e} \quad (7)$$

onde  $C_e$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é a concentração de equilíbrio mais alta e  $b$  é a constante de Langmuir. Para uma adsorção favorável os valores de  $R_L$  devem estar entre 0 e 1 ( $0 < R_L < 1$  representa uma adsorção desfavorável.  $R_L = 1$  representa uma adsorção linear e para  $R_L = 0$ , o processo de adsorção é irreversível (BEZERRA et al, 2014).

Para ajustar a isoterma experimental em relação a isoterma de Freundlich utiliza-se a Eq.8 na sua forma linearizada (FREUNDLICH, 1906):

$$\log q_e = \frac{1}{n} \log C_e + \log K_f \quad (8)$$

sendo que  $q_e$  e  $C_e$  têm o mesmo significado da equação de Langmuir,  $K_f$  é uma constante relacionada com a capacidade de adsorção e  $n$  é uma constante relacionada com a intensidade de adsorção e a espontaneidade da adsorção, valores de  $n$  entre  $1 < n > 10$  indicam adsorção favorável. Os valores de  $K_f$  e  $n$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $\log q_e$  em função do  $\log C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n$  e o coeficiente linear é igual ao  $\log K_f$ .

Para ajustar a isoterma experimental também ao modelo de Temkin utilizou-se a Eq.9 na forma linearizada (TEMKIN, M. J.):

$$q_e = \frac{1}{n_T} \ln K_T + \frac{1}{n_T} \ln C_e \quad (9)$$

sendo que  $n_T$  indica, quantitativamente, a reatividade dos sítios energéticos do material e  $K_T$  é a constante que engloba a constante de equilíbrio. Os valores de  $K_T$  e  $n_T$  podem ser obtidos através do gráfico linear de  $q_e$  em função do  $\ln C_e$ , sendo que o coeficiente angular é igual a  $1/n_T$  e o coeficiente linear é igual ao  $\ln K_T/n_T$ . Esse modelo considera o sistema próximo ao modelo de Langmuir.

## 2.6 Liberação do Diclofenaco de Sódio

Para liberar o diclofenaco de sódio utilizou-se as condições ideais de adsorção dos adsorventes (QP e QMGE) (pH ideal, tempo de saturação e temperatura de 298 K), variando o tempo. Logo após os ensaios de adsorção o material adsorvente foi separado do sobrenadante por centrifugação (a 3500 rpm por 5 min) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239$  nm. A quantidade de fármaco adsorvido foi calculada pela Eq.2.

Em seguida, os biomateriais adsorventes foram colocados para secar em estufa a 353 K por 12 h. Posteriormente, os biomateriais foram pesados e colocados em contato com 20,0 mL de água deionizada em diferentes pHs (1,2, 6,8 e 7,4), a 298 K e sob agitação no tempo de saturação da adsorção. Após a agitação, os biomateriais adsorvente foram separados do sobrenadante por centrifugação (a 3500 rpm por 5 min) e a concentração foi determinada por UV/Vis a  $\lambda = 239$  nm. A avaliação quantitativa da liberação foi realizada usando porcentagem de liberação, calculado a partir da diferença entre a quantidade adsorvida no adsorvente e pela quantidade liberada em solução, conforme a Eq 10 (KYZAS et al, 2015).

$$\%L = \frac{V \cdot D}{m \cdot q} \times 100 \quad (10)$$

onde %L é a porcentagem de liberação do fármaco, D ( $\text{mg L}^{-1}$ ) é a quantidade desorvida do fármaco na solução, q ( $\text{mg g}^{-1}$ ) é a quantidade adsorvida do fármaco no adsorvente, V (L) é o volume de água deionizada utilizado na liberação e m (g) é a massa de adsorvente utilizada na liberação.

Foi preparado também para analisar os perfis de liberação três tampões pH 1,2, 6,8 e 7,4 segundo a Farmacopéia Americana 31ª Edição 2008.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos utilizando a quitosana tem recebido grande atenção em diversas áreas da ciência, com vasta aplicação em medicina, indústrias farmacêuticas como matriz para liberação controlada de fármacos. (KUMAR et al, 2004).

Neste estudo a quitosana foi modificada com aldeído bifuncional no intuito de melhorar suas propriedades. Foram feitas análises para ver se a modificação foi eficiente e estão descritas abaixo.

### 3.1 Análise Elementar

As quantidades dos elementos, calculados com base nos dados da análise elementar estão descritos na Tabela 1. A quitosana pura possuía 7,00% de nitrogênio e, após reação com glicoxal, o valor foi reduzido para 4,88; comprovando a eficácia da reação. Esta redução ocorreu devido à incorporação do glicoxal na estrutura da quitosana, com incorporação de Carbono, Hidrogênio e Oxigênio, e uma redução de Nitrogênio, já que nesta molécula não há disponibilidade de grupos amino.

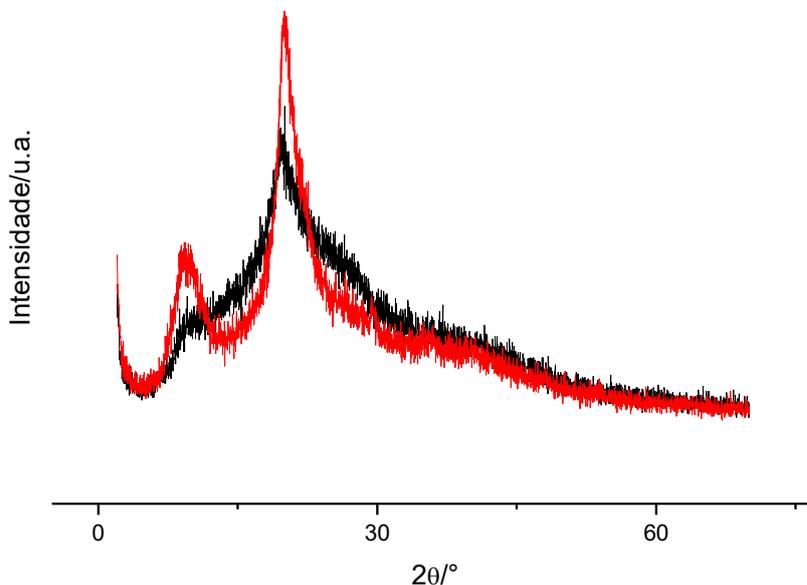
**Tabela 1.** Análise elementar de Carbono(C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N) para a quitosana pura e seus derivados

Amostras	C %	H %	N %
QP	40,48	7,36	7,00
QMGLi	41,62	6,20	4,88

### 3.2 DRX

Esta caracterização foi realizada com o intuito de se determinar as orientações dos planos cristalográficos e a estrutura cristalina dos materiais, bem como para avaliar se houve variação da cristalinidade nos material sintetizado. As mudanças estruturais que ocorrem na quitosana, após a modificação, foram avaliadas como mostra a Figura 2. O padrão de raios X da quitosana pura apresenta uma difração próxima a  $2\theta$  menos intensa em torno de  $10,0^\circ$  e uma difração de alta intensidade em torno de  $21,0^\circ$ , correspondentes as planos de difração (020) e (110), respectivamente. Uragami (2006), mostra que as fortes interações intra e intermolecular devido as ligações de hidrogênio entre os grupos amina, álcool e amida presentes na molécula de quitosana, faz com que esse material apresente certa cristalinidade. Observa-se que com a modificação com glicoxal o pico em torno de  $10,0^\circ$  de menor intensidade praticamente desaparece, ocorrendo uma diminuição da cristalinidade do material, isto sugere que a quitosana após a modificação,

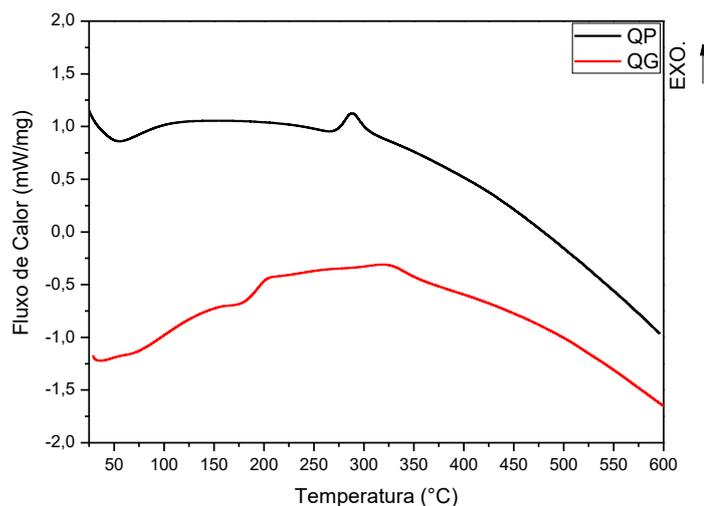
diminui o número de ligações intermoleculares e intramoleculares gerando uma desorganização e decréscimo de cristalinidade (PEREIRA, et al 2012).



**Figura 2:** Espectros de difração de raios -X para QP e QG

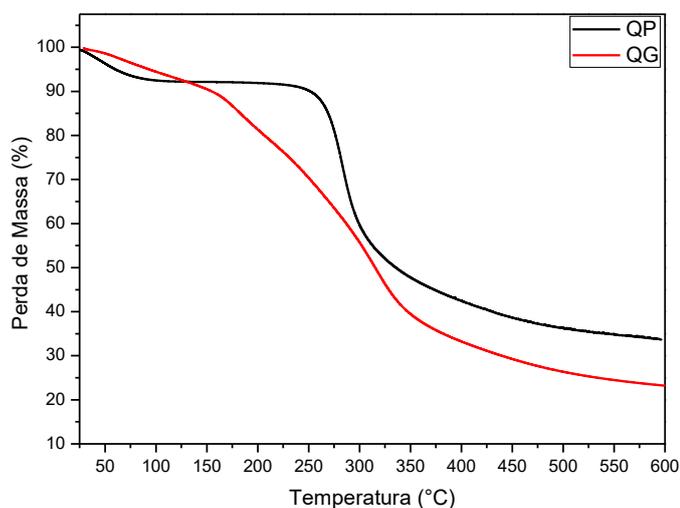
### **3.3 Análises térmicas**

Outra caracterização realizada foi a termogravimetria, que possibilita avaliar a estabilidade térmica do material, compreendendo o processo de decomposição e suas etapas (Ionashiro & Giolito 1980). As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos biopolímeros foram realizadas com o objetivo de verificar as transições físicas e/ou químicas ocorridas durante o processo de decomposição. A Figura 3, mostra as curvas DSC de amostras de quitosanas pura e modificada. Pode-se observar que a quitosana pura apresenta dois picos, o primeiro, endotérmico, correspondente ao processo de desidratação, cuja área depende do histórico de secagem da amostra e o segundo, exotérmico, que corresponde ao processo de decomposição, que continua além do limite de temperatura do experimento os dois eventos concordam com o que foi observado por Sreenivasan, 1996 que descreveu dois eventos térmicos para amostras de quitosana. Já na quitosana modificada o pico endotérmico sofre um deslocamento para 200° e o exotérmico praticamente desaparece.

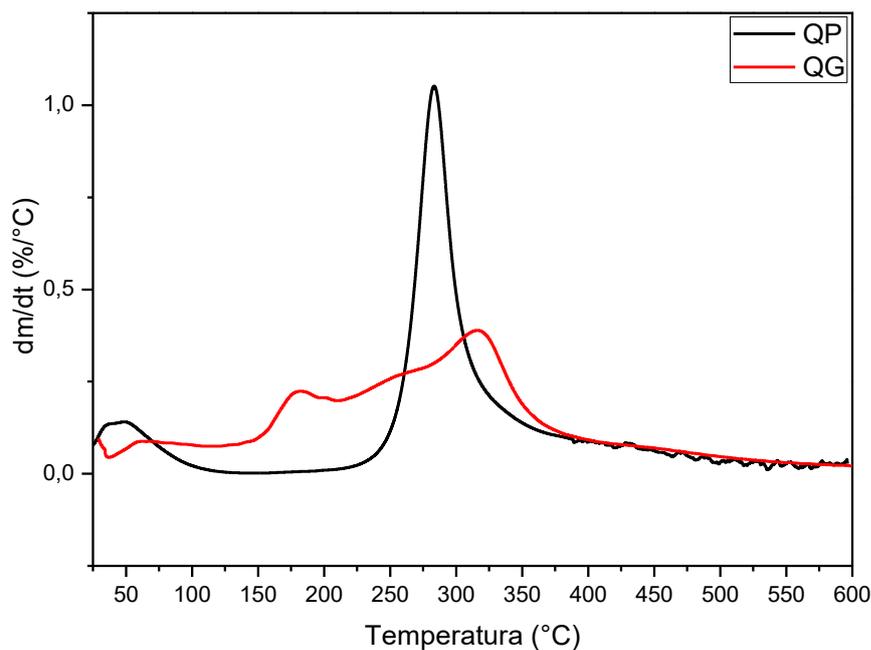


**Figura 3:** Curvas de DSC para quitosana pura e modificada.

De acordo com os resultados das curvas de TG e DTG (Figura 4 e 5) pode-se observar que a quitosana pura apresenta um processo de desidratação, esta perda não é válida para avaliação de estabilidade térmica, pois é atribuída simplesmente à liberação da água fisicamente adsorvida na superfície do material, seguido da decomposição do biopolímero, com geração de material carbonizado. Observa-se que a reação de modificação aumenta a estabilidade da quitosana, pois com o aumento da temperatura, após a desidratação, ocorre primeiramente a decomposição dos grupos mais externos (grupo modificador), para posteriormente ocorrer à decomposição da quitosana, observa-se estes estágios de perda e a proteção da quitosana com maior estabilidade.



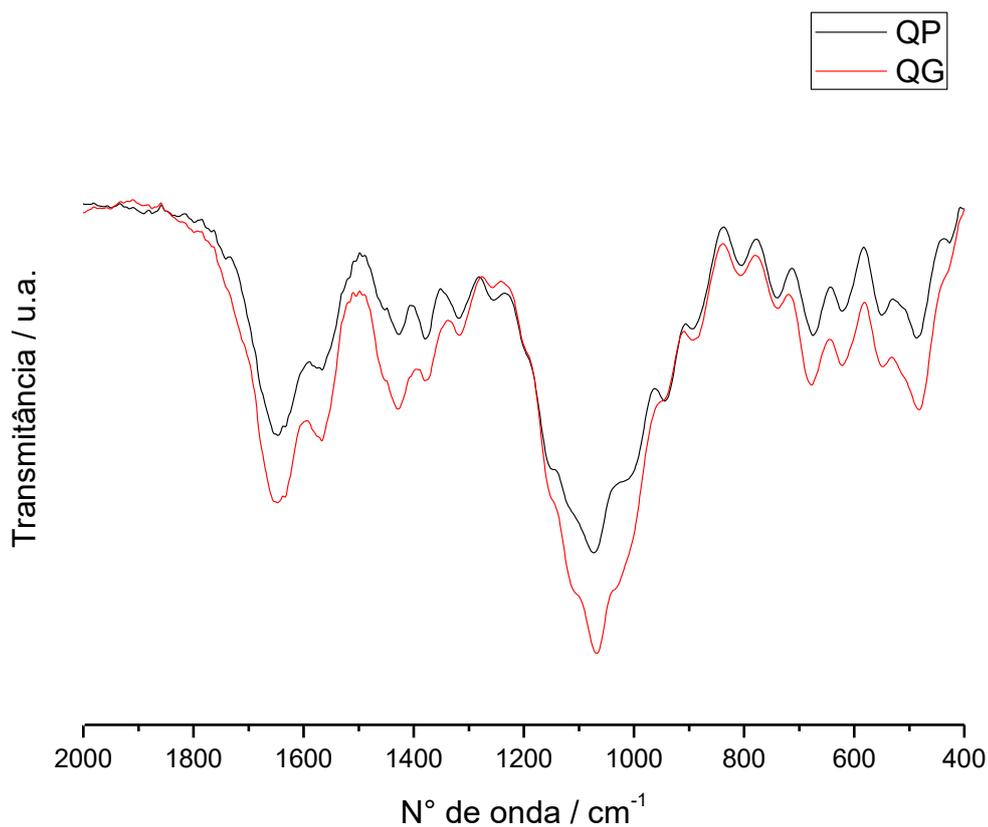
**Figura 4:** Curvas de TG para quitosana pura e modificada.



**Figura 5:** Curvas de DTG para quitosana pura e modificada

### **3.4 Espectrofotometria de Infravermelho por Transformada de Fourier**

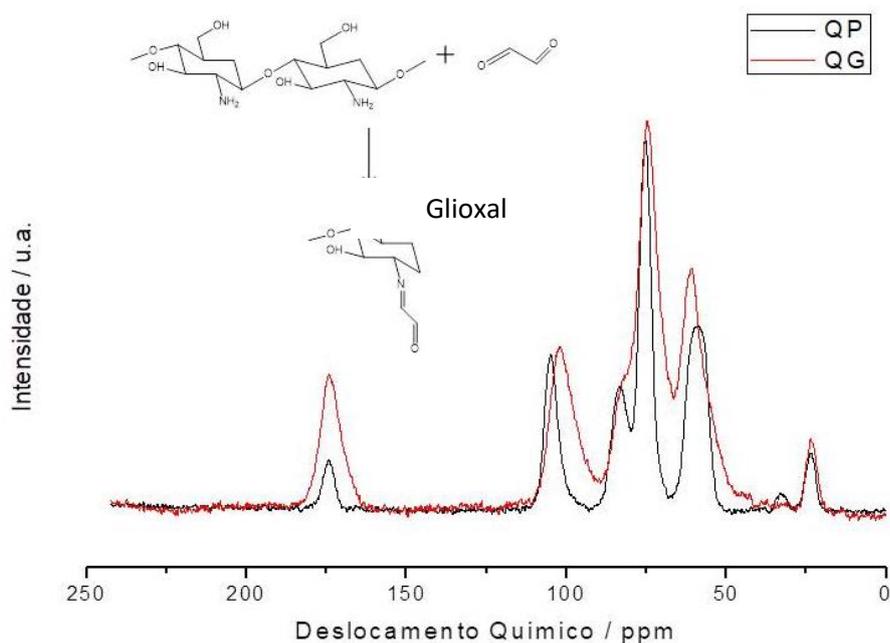
Os espectros de infravermelho da quitosana pura modificada com glicol são mostrados na Fig.6. Bandas características da quitosana são observadas em  $1652\text{ cm}^{-1}$  para deformação axial C=O de amida I,  $1379\text{ cm}^{-1}$  para a deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$ ,  $1047\text{ cm}^{-1}$  para C-O-C, sendo alguns valores semelhantes descritos por Santos et al., (2003). A modificação foi confirmada pelo deslocamento e alargamento da banda em torno de  $1590\text{ cm}^{-1}$  (deformação N-H) característica da quitosana, indicando o envolvimento dos grupos amina nas reações de modificação. Na modificação com glicol observa-se o aumento e definição da banda em torno de  $1655\text{ cm}^{-1}$  que pode ser atribuída à ligação imina C=N.



**Figura 6-** Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier para QP e QG

### 3.5 RMN $^{13}\text{C}$

A Figura 7 mostra o espectro de RMN no estado sólido de  $^{13}\text{C}$  para quitosana modificada com glioxal. E a associação dos picos aos átomos de carbono, que se encontram em concordância com os dados da literatura (CAPITANI et al, 2011). Observa-se a partir do espectro de RMN no estado sólido de  $^{13}\text{C}$  exposto, que houve um aumento dos sinais em 31,7 ,58,2 e 142 ppm, que corresponde a  $\text{CH}_2$ , C2 e  $\text{C}=\text{C}$  respectivamente, indicando a entrada do glioxal na modificação da quitosana.

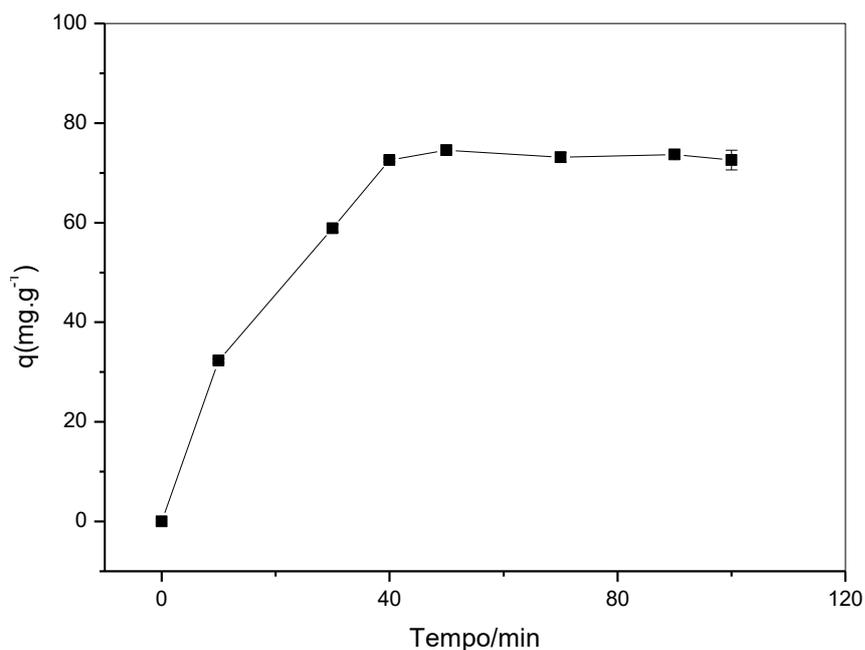


**Figura 7:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido para QG

### 3.6 Estudo de adsorção

#### 3.6.1 Estudo cinético

O estudo do tempo para atingir o equilíbrio de adsorção é de grande importância para se observar a afinidade do adsorvente com o adsorbato (ALSHEHRI et al, 2014), sendo assim, inicialmente, investigou-se o comportamento cinético da adsorção do fármaco DS (solução de 1000 mg L<sup>-1</sup>) no biomaterial QG, como mostra a Figura 8. Observou-se que após um tempo de 15 min, o material começa a adsorver. O tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio de saturação foi de 40 min (Figura 8) e os dados experimentais se ajustaram ao modelo pseudo primeira ordem, devido a sua melhor linearidade (Tab. 2).



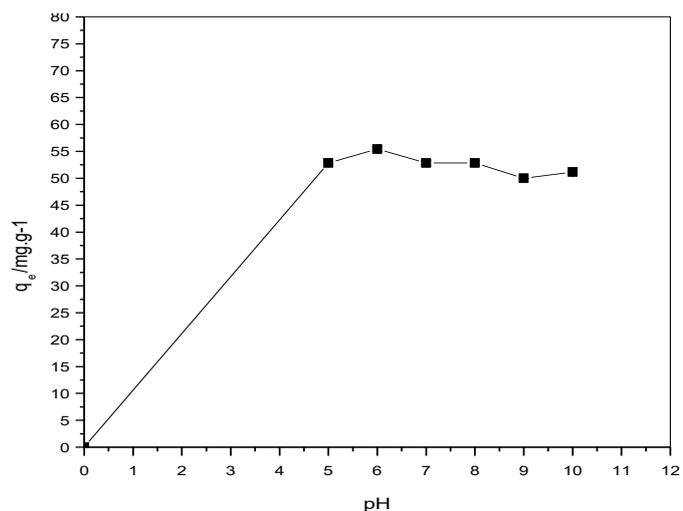
**Figura 8:** Tempo de equilíbrio de adsorção do DS no QG.

**Tabela 2–** Parâmetros cinéticos obtidos com a equação de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem para adsorção do DS em QG.

Adsorvente	Modelo cinético	q <sub>e</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	K1(g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	K2 (g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	R2
QG	Pseudo-primeira ordem	71,54	-0,0553	-	0,9990
	Pseudo-segunda ordem	82,99	-	1,13x10 <sup>-3</sup>	0,9827

### 3.6.2 Estudo do pH

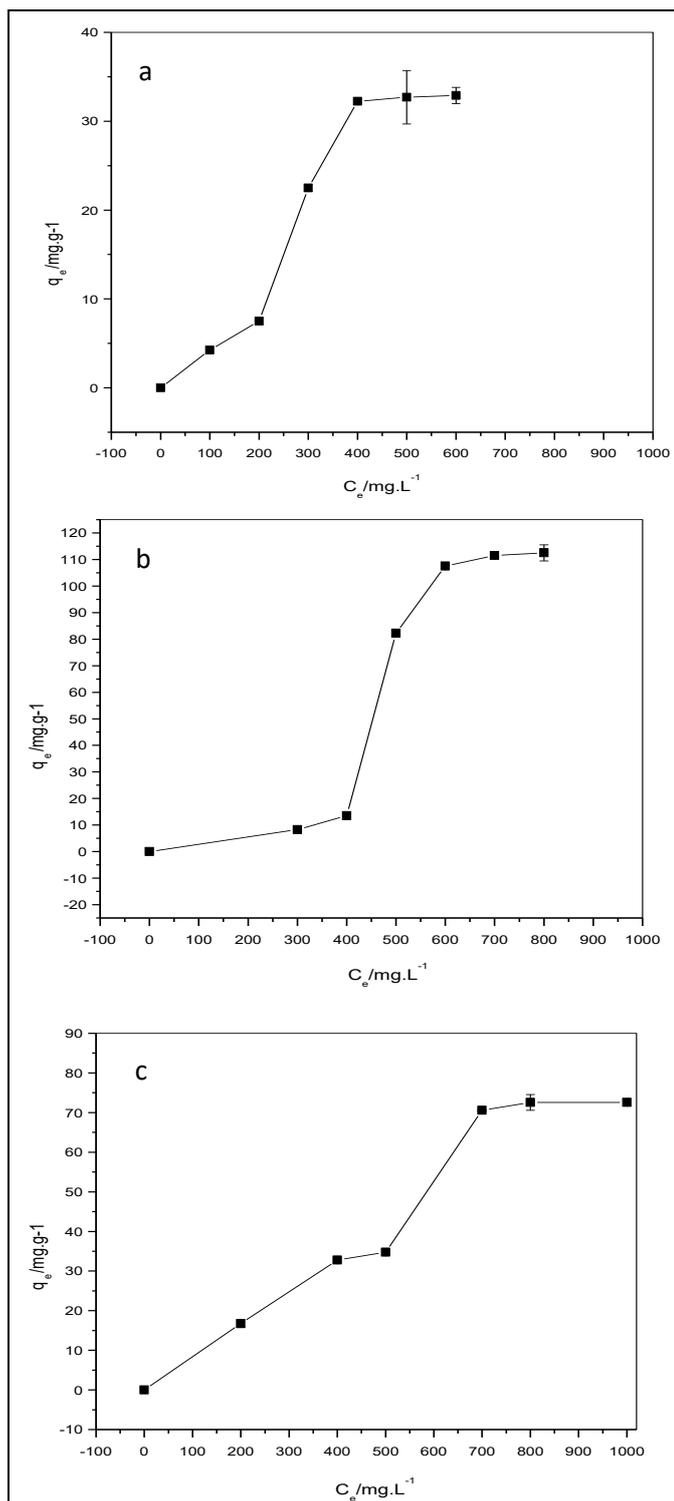
No estudo da influência do pH para o diclofenaco de sódio (DS), conseguiu-se verificar que a quantidade adsorvida pelo QG sofreu uma influência do pH, onde observou-se uma maior quantidade adsorvida de fármaco na faixa de pH igual a 6, como mostrado na Figura 9.



**Figura 9:** Influência do pH na adsorção do DS pelo QG.

### **3.6.3 Isotermas de adsorção**

Análise das isotermas de adsorção foi feita com o objetivo de revelar como as moléculas de adsorção se distribuem entre a fase líquida e fase sólida quando o processo de adsorção atinge o estado de equilíbrio (SALEH 2015). As isotermas experimentais de adsorção de DS pelo QG à 25°C, 35°C e 45°C são mostradas na Figura 10. Pode-se observar que nas temperaturas de 35°C o material adsorveu melhor o fármaco em torno de 110 mg.



**Figura 10** : Isotermas de adsorção Experimental (- ■ -) para a adsorção do fármaco DS em solução aquosa para QG, a 25 °C (a), 35 °C (b) e 45 °C (c) realizado em pH 6,0

Foi realizado também a análise dos dados experimentais das isotermas de adsorção ajustados a diferentes modelos de adsorção que é uma etapa importante para se determinar qual modelo é adequado para aquela determinada isoterma (SALEH 2015). Para isso, fez-se os ajustes lineares utilizando os modelos de Freundlich, Temkin e Langmuir. Os parâmetros dos modelos de Freundlich, Temkin e Langmuir para o DS frente ao adsorvente QG são apresentados nas Tab. 3.

**Tabela 3** – Parâmetros obtidos com os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção do fármaco DS em QG à 25, 35 e 45°C realizado em pH 6,0.

Adsorvente	Isoterma	Parâmetros	Temperatura		
			298 K	308 K	318 K
QG	Langmuir	$q_m$ (mg g <sup>-1</sup> )	-56,88	-16,14	-
		$b_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	-0,72	-1,26x10 <sup>-3</sup>	-
		R <sup>2</sup>	0,1575	0,6093	-0,2494
	Freundlich	$K_F$ (L g)	0,01	3,05x10 <sup>-7</sup>	0,79
		$N_F$	0,77	0,33	0,99
		R <sup>2</sup>	0,9069	0,8213	0,9331
	Temkin	$A_T$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,01	3,40 x 10 <sup>-3</sup>	6,55x10 <sup>-3</sup>
		$b_T$ (J mol <sup>-1</sup> )	131,54	20,28	65,91
		R <sup>2</sup>	0,8768	0,8539	0,8498

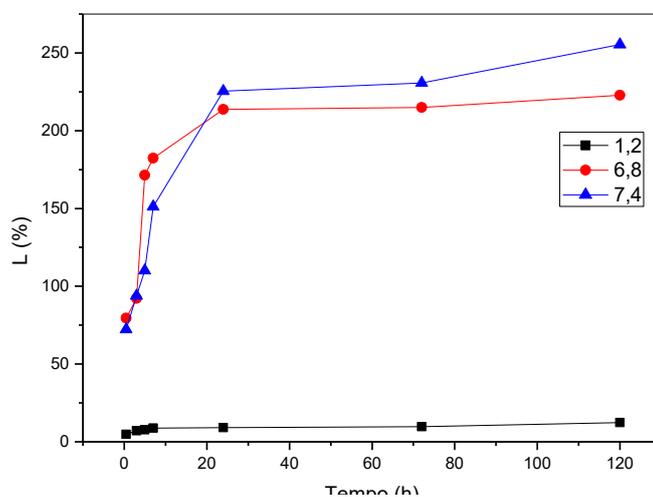
De acordo com os resultados pode-se observar que o valor do coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>) é maior para o modelo de Freundlich na temperaturas de 298K e 318K, com R<sup>2</sup> igual a 0,9069 para a temperatura de 298K e R<sup>2</sup> igual a 0,9331 para a temperatura de 308K, e Temkin nas temperaturas de 308K, com R<sup>2</sup> igual a 0,8539.

O modelo de Temkin tem um fator que leva em conta a interação entre adsorvente adsorvato. Ao ignorar valores de concentrações extremamente baixos e altos, o modelo assume que o calor de adsorção (função da temperatura) de todas as moléculas na camada diminui linearmente com a cobertura da superfície. Já o modelo Freundlich descreve uma adsorção não-ideal em superfícies heterogêneas e com múltiplas camadas de adsorção. Este modelo assume que os sítios de ligações mais fortes são ocupados primeiro e que a força de ligação diminui com o aumento

do grau de ocupação do local. Todos os dados experimentais ajustados ao modelo de Freundlich apresentaram valores próximos de  $n > 1$ , o que indica que o processo de adsorção foi favorável, e valor de  $1/n < 1$ , indicando uma adsorção normal (YILMAZ et al, 2015).

### 3.7 Liberação do diclofenaco de sódio

O estudo do pH foi realizado afim de se observar em qual pH ocorria a maior quantidade de liberação do fármaco (Figura 11). Na Figura 11, tem-se o gráfico de liberação variando o pH do biomaterial QG, onde se pode observar que a medida que o pH aumenta, se aumenta a liberação de DS, com liberação máxima no pH 7,4. Este resultado indica que o mecanismo de troca iônica não é o mecanismo predominante na liberação do fármaco do biomaterial QG. Isto ocorre por que a presença do grupo cetônico, na superfície do biomaterial, aumenta a densidade eletrônica do mesmo, o que provoca interações mais firmes com as moléculas do fármaco (BEZERRA et al 2014). Sendo assim, a liberação do DS da superfície do biomaterial QG ocorre através de um mecanismo de dissociação iônica, onde ocorre a separação do íon negativo (quitosana modificada com glicoxal) e o íon positivo (fármaco) em solução aquosa. Observa-se que este mecanismo é favorecido por um meio com menor influencia de íons, ou seja, em pHs mais baixos há excessos de íons  $H^+$  que vão dificultar a liberação das moléculas do fármaco (moléculas de massa molecular grande), a medida que esse pH aumenta diminui essas interferência dos íons  $H^+$ , aumentando, assim, a liberação do fármaco.



**Figura 11:** Estudo da liberação do DS variando o tempo e o pH.

#### 4. CONCLUSÕES

Com o objetivo de encontrar novos biomateriais que possam ser utilizados para liberação controlada de fármacos a modificação química da quitosana com glioxal, se mostrou eficaz, sendo confirmado pelas caracterizações (DRX, TG/DTG, IR, RMN  $^{13}\text{C}$ ). A aplicação do biomaterial QG nos ensaios de adsorção com o fármaco DS, de meio aquoso, se mostraram eficientes. O estudo cinético mostrou que o tempo de foi de 40 min, e o modelo cinético que mais se ajustou os dados experimentais foi o de pseudo-primeira ordem. O estudo do pH mostrou que o processo de adsorção, é influenciado pela variação do mesmo, e que em pH 6 o biomaterial adsorve melhor. Pelo estudo da adsorção variando a temperatura observou-se que para QG, o modelo que mais se ajustou os ensaios de adsorção, nas temperaturas de 298K e 308K, foi o de Freundlich, enquanto que na temperatura de 318K foi o modelo de Temkin Freundlich. O estudo de liberação do fármaco mostrou que a liberação do mesmo, da superfície do biomaterial, é influenciada pela variação do pH. Por conseguinte, a quitosana modificada com glioxal é um biomaterial eficiente para a aplicação na liberação controlada de fármacos.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.M.; OLIVEIRA, F.J.V.E.; AIROLDI, C.; SILVA FILHO, E.C. Organophilic nickel phyllosilicate for reactive blue dye removal. **Chemical Engineering Journal**. v. 236,p. 332–340, 2014.

ALSHEHRI S.M.; NAUSHAD M.; AHAMAD T.; ALOTHMAN Z.A.; ALDALBAHI A. Synthesis characterization of curcumin based ecofriendly antimicrobial Bio-adsorbent for the removal of phenol from aqueous medium. **Chemical Engineering** v. 254, p. 181-189, 2014

BARANY S, SZEPESSZENTGYÖRGYI A. Flocculation of cellular suspensions by polyelectrolytes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 29,p.111-117,2004

BEZERRA, R. D. S.; SILVA M.M.F.; MORAIS, A.I.S.; OSAJIMA, J.A.; SANTOS, M. R. M. C.; AIROLD, C.; SILVA FILHO E. D. Phosphated Cellulose as an Efficient Biomaterial for Aqueous Drug Ranitidine Removal. **Materials**. v. 7, p. 7907-7924, 2014.

BIAGINI, G.; MUZZERELLI, R. A. A.; GIARDINO, R. E.; CASTALDINI, C. Biological Material for wound healing. In: BRINE, I.; CHARLES, J. **Advanced in chitin and chitosan**. p. 16-24,1992.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa**, v. 2, p. 546 (2008)

CAPITANI, D.; DE ANGELIS, A. A.; CRESCENZI, V.; MASCI, G.; SEGRE, A. L. NMR study of a novel chitosan-based hydrogel. **Carbohydrate Polymers**. v. 45, p. 245–252, 2011.

DESBRIERES, J. Autoassociative natural **polymer** derivatives: The alkylchitosans. rheological behaviour and temperature stability, **Polymer**, v. 45, p. 3285-3295, 2004.

FREUNDLICH, H. M. F. Über die adsorption in lösungen. **Zeitschrift Fur Physikalische Chemie (Leipzig)**,v. 57A, p. 385- 470, 1906.

HO, Y.S.; MCKAY, G.; Kinetic Models for the Sorption of Dye from Aqueous Solution by Wood. **Process Safety and Environmental Protection** v. 76, 1998, p. 183-191, 1998.

IONASHIRO, M.A, & GIOLITO, I. Nomeclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmicas**,v. 26, p. 17-24, 1980.

KUMAR M. N; MUZZARELLI R. A, MUZZARELLI C, SASHIWA H, DOMB AJ. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 6017-84. 2004.

KURITA K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin **Progress in Polymer Science**, v.26, p.1921, 2001.

KYZAS G. Z.; SIAFAKA,P. I.; PAVLIDOU, E. G.;CHISSAFIS, K. J.; BIKIARIS, D. N. Synthesis and adsorption application of succinyl-grafted chitosan for the simultaneous removal of zinc and cationic dye from binary hazardous mixtures. **Chemical Engineering Journal**. v. 259, p.438-448, 2015.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption gel\*ster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24 , p. 1-39, 1898.

LANGMUIR, I.The constitution and fundamental properties of solids and liquids.**Journal of the American Chemical Society**, v. 38, p. 2221-2295, 1916.

PEREIRA, K.A.A.; OSÓRIO, L.R.; SILVA, M.P.; SOUSA, K.S.; SILVA FILHO, E.C.. Chemical Modification of Chitosan in the Absence of Solvent for Diclofenac Sodium Removal: pH and Kinetics Studies. **Materials Research**. 17(Suppl. 1): 141-145, 2014.

SALEH T.A.; HALADU S.A.; ALI S.A. A novel cross-linked pH-responsive tetrapolymer: synthesis, characterization and sorption evaluation towards Cr (III) **Chemical Engineering** v. 269, p. 9–19, 2015.

SÂNIA MARIA BELÍSIO DE ANDRADE (Dissertação de mestrado) **Extração e caracterização de quitina e quitosana e a sua utilização na fabricação de nanofibras**. vi congresso nacional de engenharia mecânica. Campina Grande. 2010.

SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; CAMPANA FILHO, S.P.; CAVALHEIRO, E.T.G. “Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens”, **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13,p. 242-249, 2003.

SANTOS, L.; GUTERRES, S. S.; BERGOLD, A. M. Preparação e avaliação de cápsulas gastro-resistentes de diclofenaco de sódio. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 355-361, 2007.

SILVA, L.S.; LIMA, L.C.B.; FERREIRA, F.J.L.; SILVA, M.S.; OSAJIMA, J.A.; BEZERRA, R.D.S.; SILVA FILHO, E.C. Sorption of the anion icreactivered RB dyethermodynamic, and equilibrium, **Open Chemistry**. v. 13,p.801-812, 2015.

SREENIVASAN. K. Thermal stability studies of some chitosanmetal ion complexes using differential scanning calorimetry. *Polymer Degradation Stability*. v. 52.p. 52-57,1996.

SUGANO, M.; YOSHIDA, K.; HASHIMOTO, M.; ENOMOTO, K.; HIRANO, S. Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosan in rats. In: BRINE, C. J.; SANDFORD, P. A.; ZIKAKIS, J. P. (Eds). **Advances in Chitin and Chitosan**, p. 472-478, 1992

SUZUKI, K.; MIKAMI, T.; OKAWA, Y.; TOKORO, A.; SUZUKI, S.; SUZUKI, M. Antitumor effect of hexa-*N*-acetychtohexaose and chitohexaose. **Carbohydr. Res.**, v. 151, p. 403-408, 1986.

TEMKIN, M. J.; PYZHEV, V. Kinetics of Ammonia Synthesis on Promoted Iron Catalysts. **Acta Physicochim.**v 12, p.217-222, 1940.

URAGAMI T.; TOKURA S., (eds.) **Material Science of Chitin and Chitosan**, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

YANG, T. C.; CHOU, C. C.; LI, C. F. "Preparation, water solubility and rheological property of the N-alkylated mono or disaccharide chitosan derivatives," **Food Research International** v. 35, p. 707– 713, 2002.

YILMAZ M.S.; OZDEMIR O.D.; KASAP S.; PISKIN S. The kinetics and thermodynamics of nickel adsorption from galvanic sludge leachate on nanometer titania powders, **Research on Chemical Intermediates**