

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAS PARA ENGENHARIA**

**Preparação e caracterização de micropartículas baseadas em polissacarídeos com potencial de aplicação como sistema de dosagem de drogas terapêuticas.**

**Alexandre Flauzino Júnior**

**Itajubá, 03 de fevereiro de 2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAS PARA ENGENHARIA**

**Alexandre Flauzino Júnior**

**Preparação e caracterização de micropartículas baseadas em polissacarídeos com potencial de aplicação como sistema de dosagem de drogas terapêuticas.**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Materiais para Engenharia.**

**Área de Concentração: Não Metais**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Elena Leyva Gonzalez**

**Coorientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Liliam Becheran**

**Fevereiro de 2016**

**Itajubá – MG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MATERIAS PARA ENGENHARIA**

**Alexandre Flauzino Júnior**

**Preparação e caracterização de micropartículas baseadas em polissacarídeos com potencial de aplicação como sistema de dosagem de drogas terapêuticas.**

**Dissertação aprovada por banca examinadora em 03 de fevereiro de 2016, conferindo ao autor o título de Mestre em Ciência em Materiais para Engenharia.**

**Banca Examinadora:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Elena Leyva Gonzalez, Unifei (Orientadora)**

**Prof. Dr Álvaro Antônio Alencar de Queiroz, Unifei**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marcia Gomes de Oliveira, INT**

**Fevereiro de 2016**

**Itajubá – MG**

## **Agradecimentos**

A Deus, Grande Arquiteto do Universo, por me iluminar nas horas difíceis e por me conceder pessoas incríveis nessa caminhada.

Aos meus pais, pelo magnífico apoio e ajuda em todos os momentos, decisões e necessidades, fazendo tudo isso com carinho.

À minha namorada Livia por me ajudar em todos os momentos de indecisão e pela compreensão e apoio.

A minha orientadora, Professora Maria Elena, sem a qual nada seria possível. Um anjo que Deus colocou na minha vida, sendo sempre essa pessoa ímpar, sempre amável, positiva e perseverante. Agradeço por todos os momentos e por sempre acreditar em mim, e no meu potencial.

A todos os professores, em especial a Professora Lilliam, pela compreensão, preocupação e por todos os ensinamentos, sem os quais esse trabalho não seria possível. Aos técnicos da Unifei, por terem dedicados um tempo de suas vidas, ao fazerem possível a maioria das caracterizações presentes neste trabalho.

Aos amigos e futuros companheiros de trabalho por todos os momentos de descontração e estudo.

A CAPES pelo auxílio financeiro durante toda a realização desse trabalho.

A todos que, de uma forma ou outra, torceram por mim.

**“O mundo é um lugar perigoso de se viver, não por causa daqueles que fazem o mal, mas sim por causa daqueles que observam e deixam o mal acontecer”**

**Albert Einstein**

**SUMARIO**

<b>ÍNDICE DE TABELAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE ABREVIações E SIMBOLOS.....</b>	<b>XI</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XIII</b>
<b>PRODUÇÃO CIENTÍFICA .....</b>	<b>XIV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
2.1 POLIMEROS.....	3
2.2 BIOMATERIAIS.....	5
2.3 COMPLEXOS INTERPOLIMÉRICOS .....	6
2.4 COMPLEXOS POLIELETRÓLITOS.....	7
2.5 FATORES PRINCIPAIS QUE INFLUENCIAM AS CARACTERÍSTICAS DOS CPEs.....	9
2.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS POLIELETRÓLITOS .....	10
2.7 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FARMACOS.....	10
2.8 MODELOS MATEMÁTICOS PARA A ANÁLISE DO MECANISMO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FARMACOS.....	12
2.8.1 EQUAÇÃO DE HIGUCHI .....	12
2.8.2 MODELO DE KORSMEYER- PEPPAS .....	13
2.9 QUITOSANA .....	14
2.10 CARBOXIMETILCELULOSE .....	15
2.11 METRONIDAZOL.....	16
2.12 AGENTES DE ENTRECruzAMENTO.....	17
2.12.1 GLUTARALDEÍDO .....	18
2.12.2 TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO .....	20

2.12 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	22
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4. MATERIAIS E METODOS.....</b>	<b>24</b>
4.1 MATERIAIS.....	24
4.1.1 MATERIAIS UTILIZADOS NA MEDIDA DA MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA .....	24
4.1.2 MATERIAIS UTILIZADOS PARA MEDIR O GRAU DE DESACETILAÇÃO .....	24
4.1.3 MATERIAIS PARA PRODUZIR AS MICROPARTÍCULAS.....	24
4.1.4 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	25
4.1.5 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	25
4.1.6 CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA.....	25
4.1.7 ESTUDO DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO.....	26
4.2 MÉTODOS.....	26
4.2.1 MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA.....	26
4.2.2 GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA .....	27
4.2.3 PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS .....	27
4.2.3.1 PRODUÇÃO DA MICROPARTÍCULA DE CPE (QUI-CMC) .....	28
4.2.3.2 PRODUÇÃO DA MICROPARTÍCULA CPE (QUI-CMC) COM STPP.....	28
4.2.3.3 PRODUÇÃO DA MICROPARTÍCULA CPE (QUI-CMC) COM GLA.....	29
4.2.4 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	29
4.2.5 CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	30

4.2.6	CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA.....	30
4.2.7	ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO METRONIDAZOL.....	31
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>32</b>
5.1	MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA .....	32
5.2	GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA.....	35
5.3	PREPARAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS DE CPE (QUI-CMC) .....	36
5.4	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS POR FTIR.....	37
5.5	CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA .....	39
5.5.1	ANÁLISE POR TERMOGRAVIMETRIA .....	39
5.5.2	ANÁLISE POR CALORIMETRIA EXPLORATORIA DIFERENCIAL.....	41
5.3	CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	43
5.3.1	MORFOLOGIA DA MICROPARTÍCULA DE CPE (QUI-CMC).....	44
5.3.2	MORFOLOGIA DA MICROPARTÍCULA DE CPE (QUI-CMC) COM STPP ..	44
5.3.3	MORFOLOGIA DA MICROPARTÍCULA DE CPE (QUI-CMC) COM GLA ...	45
5.4	ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO METRONIDAZOL .....	46
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
<b>7</b>	<b>PERPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>59</b>

**ÍNDICE DE TABELAS**

Tabela 1 - Valores do coeficiente difusional $n$ (RITGER, 1987). .....	14
Tabela 2 - Concentração e média dos tempos para as soluções de QUI em tampão acetato .....	33
Tabela 3 – Viscosidade relativa, específica e reduzida para as amostras de QUI em tampão acetato.....	33
Tabela 4 - Valor da Massa Molar Média para a QUI em tampão acetato a 25°C.....	34
Tabela 5 – Valor da área dos picos da QUI. ....	35
Tabela 6 - Rendimento médio obtido nos procedimentos seguidos para a preparação das micropartículas. ....	36
Tabela 7 – Constante de Higuchi ( $K_h$ ) para todas as MPs.....	49
Tabela 8 – Valores das Constantes $n$ e $K$ , pelo modelo de liberação de Korsmeyer-Peppas, para todas as MPs. ....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - (a) Representação da cadeia polimérica linear, (b) Representação da cadeia polimérica ramificada, (c) Representação da cadeia polimérica reticulada.....	4
Figura 2 - (a) Representação de um homopolímero, (b) Representação de um copolímero aleatório, (c) Representação de um copolímero alternado, (d) Representação de um copolímero em bloco.....	5
Figura 3 - Formação de um CPE.....	7
Figura 4 - Representação da formação da ligação entre os polímeros de um CPE....	9
Figura 5 – Liberação de um fármaco modelo com o tempo; a) sistema convencional e b) sistema de liberação controlada. (MOURA, 2005). ....	11
Figura 6 - Estrutura química do copolímero de quitina-QUI. ....	14
Figura 7 – Estrutura do $\beta(1,4)$ -D-glucopiranosose da celulose (CMC).....	16
Figura 8 - Estrutura química do Metronidazol.....	17
Figura 9 – Estrutura do 1-5 pentanodial (GLA).....	18
Figura 10 – Reticulação por Base de Schiff entre o GLA e a QUI. (URAGAMI, 1994). .....	19
Figura 11 – Estrutura química do STPP.....	20
Figura 12 – Reticulação iônica entre o STPP e a QUI. ....	21
Figura 13 - Viscosidade reduzida em função da concentração para a QUI em tampão acetato. ....	34
Figura 14 - Espectro comparativo da QUI com a micropartícula de QUI-CMC. ....	38
Figura 15 - Espectro comparativo da CMC com a MP de QUI-CMC.....	39
Figura 16 - Curva da perda de massa em função da temperatura da (a) QUI, (b) CMC, (c) Micropartícula de QUI e CMC na faixa de temperatura de 25°C até 600°C. ....	40
Figura 17 - Curva da perda de massa em função da temperatura do (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA na faixa de temperatura de 25°C até 600°C. ....	41
Figura 18 – Perfil Térmico dos polímeros QUI e CMC, e do CPE (QUI-CMC).....	42
Figura 19 – Perfil Térmico da MP (a) CPE (QUI-CMC), (b) CPE (QUI-CMC) com STPP, (c) CPE (QUI-CMC) com GLA.....	43
Figura 20 – Micrografia das MPs de CPE (QUI-CMC). ....	44
Figura 21 – Micrografia das MP de CPE (QUI-CMC) com STPP.....	45

Figura 22 – Micrografia das MP de CPE (QUI-CMC) com STPP.....	46
Figura 23 – Curva Padrão de Liberação de MDZ em tampão pH 1,2. ....	47
Figura 24 – Curva Padrão de Liberação de MDZ em tampão pH 6,8. ....	47
Figura 25 – Massa de MDZ liberada em horas no tampão pH 1,2. (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA. ....	48
Figura 26 – Massa de MDZ liberada em horas no tampão pH 6,8 (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA. ....	49
Figura 27 – $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 1,2. ...	50
Figura 28 - $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 1,2.....	50
Figura 29 - $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 1,2. ....	51
Figura 30 - $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 6,8. ....	51
Figura 31 - $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 6,8.....	52
Figura 32 - $M_t/M_0$ em função do tempo $^{1/2}$ da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 6,8. ....	52
Figura 33 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 1,2. ....	53
Figura 34 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 1,2.....	54
Figura 35 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 1,2. ....	54
Figura 36 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 6,8. ....	55
Figura 37 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 6,8.....	55
Figura 38 – $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 6,8. ....	56

## ÍNDICE DE ABREVIações E SIMBOLOS

A – Absorvância.

CMC – Carboximetilcelulose.

CPE – Complexo polieletrólítico.

DDS – Sistema de Liberação de Drogas (Drug Delivery System).

DNA – Ácido Desoxirribonucléico.

DSC – Calorimetria exploratória diferencial (Differential scanning calorimetry).

FTIR – Infravermelho com transformada de Fourier.

GLA – Glutaraldeído.

GS – Grau de Substituição.

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada.

kV – Quilovolts.

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura.

MP – Micropartículas.

$M_t/M_\infty$  – Razão do fármaco no tempo e no infinito.

$\eta_{\text{esp}}$  – viscosidade específica.

$\eta_{\text{red}}$  – viscosidade reduzida.

$\eta_{\text{rel}}$  – viscosidade relativa.

°C – Graus Celsius.

pH – Potencial Hidrogeniônico.

PVC – Policloreto de Vinila.

QUI – Quitosana.

RMN – Ressonância Magnética Nuclear.

STPP – Tripolifosfato de Sódio.

TGA – Termogravimetria.

UV-Vis – Ultravioleta e visível.

ZnSe – Seleneto de Zinco.

## RESUMO

A quitosana (QUI) é um biopolímero biocompatível e biodegradável, apresentando em sua estrutura grupos amina (-NH<sub>2</sub>) protonáveis (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), os quais lhe conferem caráter catiônico e por isso na presença dos grupos carboximetil (-CH<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>) da carboximetilcelulose (CMC) estabelecem interações iônicas. Pelo fato destes polímeros apresentarem cargas em sua estrutura macromolecular são chamados de polieletrólitos. O presente trabalho tem como objetivo principal produzir um complexo polimérico polieletrólítico (CPE) em forma de micropartículas, a partir da interação iônica entre estes polímeros (QUI-CMC). Primeiramente, foi caracterizada a QUI, determinando sua massa molar viscosimétrica média que foi de  $1,47 \cdot 10^5$  Da e o grau de desacetilação de 92,53%. A formação das micropartículas do CPE (QUI-CMC) foi realizada através de técnica de emulsão água/óleo, usando também dois agentes de entrecruzamento, um iônico o tripolifosfato de sódio (STPP) e outro covalente o glutaraldeído (GLA). Após a formação das micropartículas de CPE (QUI-CMC), (QUI-CMC) com STPP e (QUI-CMC) com GLA estas foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial exploratória (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). O espectro de FTIR confirmou a formação da micropartícula de CPE (QUI-CMC), através do deslocamento de bandas características dos polímeros puros como consequência da interação iônica no CPE (QUI-CMC). A formação da micropartícula de CPE (QUI-CMC) mostrou um comportamento térmico diferente dos polímeros puros, mostrando maior estabilidade térmica. Também se observou que o uso de agente de entrecruzamento aumenta a estabilidade térmica das micropartículas. O MEV confirmou a formação da micropartícula, mostrando que a morfologia é aproximadamente esférica e que o caráter esférico desaparece quando se usam os agentes de entrecruzamento, ainda mais se estes se entrecruzam através de ligação covalente, como foi o caso do GLA. A micropartícula foi carregada com um fármaco modelo, o metronidazol, e estudado o perfil de sua liberação em meios de diferentes pH à temperatura de 37°C. A liberação foi influenciada pelo pH sendo maior a pH=6,8 e no sistema CPE (QUI-CMC) sem agente de entrecruzamento.

## ABSTRACT

Chitosan (CHI) is a biocompatible and biodegradable polymer, presenting amine groups (-NH<sub>2</sub>), potentially protonated (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) in its structure, which confer cationic character. Therefore in the presence of carboxymethyl groups (-CH<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>) of carboxymethylcellulose (CMC), can be established ionic interactions between these polymers. These polymers are called polyelectrolyte due to present charges on their macromolecular structure. This study aims to produce a polyelectrolyte complex (PEC) in the form of microparticles due to the ionic interaction between these polymers (CHI-CMC). Firstly, the CHI was characterized by determining its viscosimetric average molar mass, which was  $1.47 \times 10^5$  Da, and its deacetylation degree of 92.53%. The formation of PEC (CHI-CMC) microparticles was performed by means of emulsion water/oil technique, using also two crosslinking agents, sodium tripolyphosphate (STPP) (ionic crosslink) and glutaraldehyde (GLA) (covalent crosslink). After the formation of the PEC (CHI-CMC), (CHI-CMC) with STPP and (CHI-CMC) GLA microparticles these were characterized by infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC) and scanning electron microscopy (SEM). FTIR spectrum confirmed the formation of PEC (CHI-CMC) microparticle through displacement of characteristics band of the pure polymers as a result of ionic interaction in the PEC (CHI-CMC). The formation of CPE (CHI-CMC) microparticles showed a different thermal behavior of pure polymers, showing greater thermal stability. It was also observed that the use of crosslinking agent increases the thermal stability of the microparticles. SEM confirmed the formation of the microparticle, showing that the morphology is roughly spherical and that the spherical character disappears when using the crosslinking agents. The spherical character disappears further if they are interwoven by covalent bonding, as in the case of GLA. The microparticle was charged with a model drug, metronidazole, and studied the profile of its release in different pH media at temperature of 37 ° C. The release was influenced by pH. The release is more effective to higher pH = 6.8 and PEC (CHI-CMC) system without crosslinking agent.

## **PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

### **Apresentados**

XIV ENCONTRO DA SBPMAT – Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, setembro de 2015, Rio de Janeiro, RJ. “MICROPARTICLES OF CHITOSAN-BASED POLYELECTROLYTE AS POTENTIAL DRUG DELIVERY SYSTEMS”; Alexandre Flauzino Junior, Liliam Becheran, Maria E. Leyva, Raphael F. Glória.

13º CBPol – Congresso Brasileiro de Polímeros, outubro de 2015, Natal, RN. “SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS BASEADAS EM POLISSACARÍDEOS COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO COMO SISTEMA DE DOSAGEM DE DROGAS TERAPÊUTICAS.”, Alexandre Flauzino Junior, Liliam Becheran, Maria E. Leyva.

## 1. INTRODUÇÃO

Os estudos das interações entre os polímeros são um campo da química que se desenvolvem intensamente na atualidade, devido a sua grande importância, tanto do ponto de vista científico, como prático. A formação de complexos interpoliméricos atrai muita atenção, pois esses compostos possuem propriedades únicas que permitem a sua aplicação em tecnologia, medicina e outros campos. As investigações das reações intermoleculares são de interesse para a modelagem de processos complicados, como os sistemas biológicos. Por essa razão se tem estudado e caracterizado um grande número de complexos interpoliméricos (BEKTUROV,1997). Em particular, os complexos polieletrólíticos CPEs são obtidos por mistura de soluções aquosas de dois polímeros de cargas opostas (polieletrólitos). No complexo resultante, as macromoléculas se ligam por ligações iônicas, embora as interações por ligações de hidrogênio e forças de van der Waals podem, em certos casos, desempenhar um papel importante na estrutura final do CPE (SCHATZ,2004).

Entre os polieletrólitos, a QUI tem sido estudada para aplicações biomédicas e farmacêuticas, devido às suas excelentes propriedades em termos de biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade, e também pelos complexos que esta forma com outros polímeros, e suas diferentes características, que dependem do poliânion. Nos últimos anos, a maioria das investigações sobre CPEs de QUI tem sido preferencialmente orientada para a preparação e caracterização de dispositivos que podem ser úteis nestas aplicações, tanto sob a forma de hidrogéis, filmes ou partículas (KUMAR,2004) (GEORGE, 2006) (RINAUDO, 2008). Assim, têm sido estudados hidrogéis e filmes de CPEs de QUI com DNA, proteínas e polímeros aniônicos sintéticos e de origem natural (AHN,2002) (LEE,2009) (BHATTARAI,2010). Estes compostos podem ser utilizados em particular no encapsulamento de drogas terapêuticas.

A vantagem dos CPEs em aplicações farmacêuticas, como sistemas de liberação de fármacos, reside no fato de não precisar do uso de agentes de reticulação para a formação do complexo polimérico, reduzindo assim a toxicidade e outros efeitos indesejáveis destas substâncias. Quando existe interação iônica entre o polieletrólito e a droga, a liberação desta pode ser comprometida, porém estes

sistemas têm sido muito estudados nos últimos anos como sistemas de liberação controlada de fármacos.

Dentro os sistemas baseados em CPE, as micropartículas oferecem características vantajosas, uma vez que facilitam o transporte eficiente do fármaco para as áreas de absorção dentro do corpo. No entanto, o CPE da QUI com CMC foi pouco estudado para este fim, e tem um grande potencial devido às características dos dois polissacarídeos que constituem o complexo (BIGUCCI,2008) (OYARZUN-AMPUERO,2009) (BRIONES,2010). Portanto, o objetivo da presente Dissertação de Mestrado é preparar e caracterizar micropartículas do CPE da QUI com CMC e, avaliar de maneira preliminar seu potencial de aplicação como sistema de dosagem de drogas terapêuticas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 POLÍMEROS

Os materiais poliméricos podem ser tanto de origem natural ou sintética, estes são formados pela repetição de meros, que são pequenas unidades estruturais e se ligam entre si por ligações covalentes. Utilizando a definição da IUPAC, os polímeros são definidos como: “Substância composta de átomos ou grupo de átomos (unidades de repetição ou monômeros) interligados entre si em quantidades suficientes para desenvolver um conjunto de propriedades que não varie significativamente com a adição de uma ou mais unidades de repetição” (SILVA, 2006).

Os polímeros naturais, que podem ser tanto de origem vegetal ou animal, são produzidos por reações biológicas. Dentro da classe de polímeros naturais, alguns de seus exemplares são: DNA, as proteínas, o amido, a celulose e a borracha natural.

Os polímeros sintéticos, nascem da necessidade de se aumentar o desempenho dos polímeros naturais. O grande aumento na síntese e produção dos polímeros sintéticos surge na época da terceira fase da revolução industrial, mais especificamente após a segunda guerra mundial. Dentro da classe de polímeros sintéticos, alguns de seus exemplares são: náilon, PVC, siliconas. (LOPES,2012).

A partir de então, o interesse no uso destes materiais tornou-se crescente, sendo aplicados nas mais diversas áreas.

As propriedades dos polímeros dependem em grande parte da forma como os meros se repetem ao longo da cadeia. Os meros podem ser distribuídos ao longo da cadeia polimérica de maneira:

- Linear: Os polímeros mais simples são os lineares, que são simplesmente cadeias nas quais todos os monômeros ficam em uma única linha. Quando formados, esses polímeros lineares podem criar fitas, fibras ou formar uma malha que pode ser muito forte e resistente.

- Ramificada: As unidades se ramificam ao longo da cadeia. Essas ramificações são conhecidas como cadeias laterais e também podem ser longos grupos de estruturas repetidas. Esses polímeros ainda podem ser classificados pela forma como eles se ramificam a partir da cadeia principal. Polímeros com muitas

ramificações são conhecidos como dendrímeros, moléculas que podem formar redes quando resfriadas.

- Reticulada: Os meros formam longas cadeias, ramificadas ou lineares, que podem formar ligações covalentes entre suas moléculas. Devido as suas ligações covalentes formadas entre as cadeias, as quais são muito mais fortes que as interações intermoleculares, os polímeros reticulados são mais resistentes e estáveis. Um exemplo disso é quando a borracha natural é vulcanizada, o que significa que foi aquecida para que as moléculas de enxofre formem ligações umas com as outras entre as cadeias do polímero. Essa diferença em força é notável quando se compara rigidez e durabilidade de um pneu de carro e fitas elásticas (AKCELRUD, 2007).

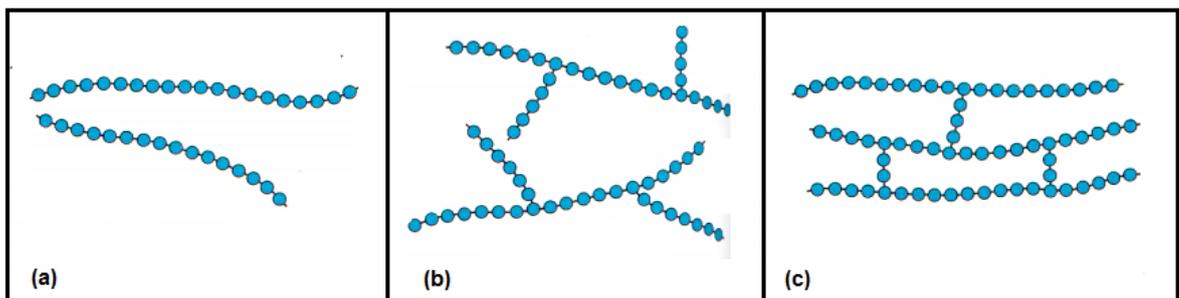


Figura 1 - (a) Representação da cadeia polimérica linear, (b) Representação da cadeia polimérica ramificada, (c) Representação da cadeia polimérica reticulada.

Quando apenas uma espécie de monômero está presente na estrutura do polímero, temos um homopolímero. A polimerização simultânea de dois ou mais monômeros denomina-se copolimerização, podendo formar diversas estruturas pela variação de monômeros e da quantidade destes. Os copolímeros podem ser aleatórios, alternados ou em blocos, como mostra a Figura 2 (AKCELRUD, 2007).

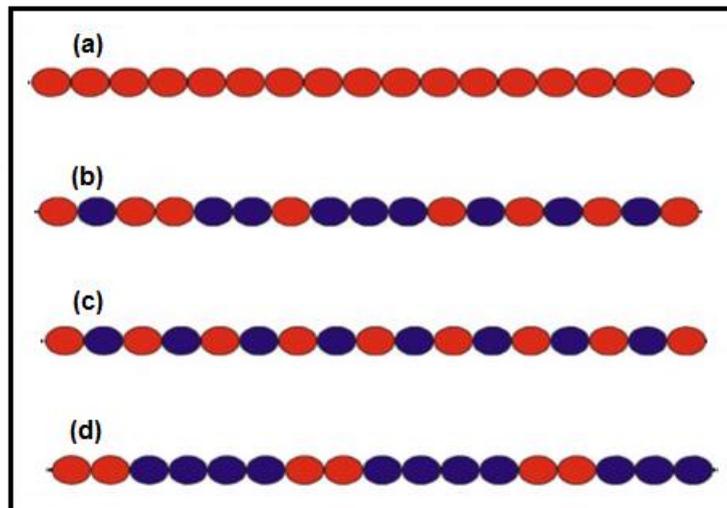


Figura 2 - (a) Representação de um homopolímero, (b) Representação de um copolímero aleatório, (c) Representação de um copolímero alternado, (d) Representação de um copolímero em bloco.

## 2.2 BIOMATERIAIS

Os biomateriais surgem pelo anseio da melhoria da qualidade de vida. Hoje em dia, temos uma grande parte dos pesquisadores se dedicando a pesquisa e desenvolvimento dos biomateriais.

Um biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação delas, sintéticos ou naturais, que pode ser usada como um todo ou parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo. O biomaterial ideal, em termos de resposta biológica, deve ser biocompatível, ou seja, aquele que não causa a destruição de elementos celulares, proteínas e enzimas, nem cause alteração plasmática, danos aos tecidos, câncer ou quaisquer reações alérgicas ou tóxicas. (SANCHES, 2010).

Os biomateriais podem ser polímeros, cerâmicas, metais ou compósitos. Entre os polímeros biocompatíveis temos os biodegradáveis que são mais vantajosos em aplicações temporárias, por não precisarem de remoção posterior, não requerendo processos cirúrgicos adicionais. De forma geral, biodegradável é um termo utilizado para polímeros e dispositivos sólidos que sofrem degradação macromolecular *in vivo*, mas sem a eliminação de produtos ou subprodutos pelo organismo. Pode se dizer, polímeros biodegradáveis podem ser atacados por elementos biológicos afetando a

integridade da cadeia polimérica, formando-se fragmentos e subprodutos de degradação, estes podem ser removidos do local de ação, mas não necessariamente do organismo (FIALHO, 2007).

Os polímeros biocompatíveis são excelentes biomateriais uma vez que têm a capacidade de simular um tecido do próprio corpo, assim não geram qualquer substância estranha a este, não gerando resposta do sistema imunológico, sendo rapidamente integrados ao organismo sem reações inflamatórias. Um polímero natural biodegradável e biocompatível é a QUI, polímero este que será usado no presente trabalho.

A utilização dos biomateriais é vasta, principalmente na indústria farmacêutica. Os complexos interpoliméricos estão sendo amplamente estudados para serem utilizados em sistemas de liberação controlada de fármacos (BARBANTI, 2005).

### 2.3 COMPLEXOS INTERPOLIMÉRICOS

Os complexos interpoliméricos são agregados resultantes das associações que existem entre os polímeros, inclusive em soluções diluídas. A estabilidade destes é dada em grande parte pela natureza das interações que predominam entre as cadeias macromoleculares. Os complexos interpoliméricos podem ser chamados de compostos, pois apresentam composição e propriedades que permitem considerá-los como substâncias individuais. Ou seja, as propriedades do complexo formado pela mistura das macromoléculas que interagem entre si, tais como: condutividade, pH, temperatura de fusão, viscosidade intrínseca, etc, não cumprem a regra de aditividade e se diferem de seus componentes iniciais (BEKTUROV, 1997).

Podemos classificar os complexos interpoliméricos de acordo com as suas forças de interação da seguinte maneira (SCHATZ, 2004) (RINAUDO, 2008):

- Complexos polieletrólitos: Se obtêm a partir da interação entre ácidos e bases macromoleculares ou seus sais e são estabilizados por ligações iônicas. São mais abundantes e são estudados em detalhes.
- Complexos estabilizados por ligação de Hidrogênio: Se formam por combinação de polímeros covalentes que possuem unidadesceptoras de prótons com aqueles que possuem unidades doadoras de prótons.

- Complexos de coordenação: Se formam entre polímeros e íons metálicos, e se estabilizam por ligação de coordenação. Esses complexos são escassos e estão poucos caracterizados.
- Complexos de transferência de carga: Se formam entre polímeros aceptores e doadores de elétron e se estabilizam por interação de transferência de carga.
- Estereocomplexos: Complexos entre estereoisômeros, os quais se estabilizam por interação de Van der Waals, dando lugar a uma estrutura altamente ordenada.

Deve-se levar em conta que as classificações citadas acima estão simplificadas, pois existem complexos estabilizados por dois ou mais tipos de força de interação. Nota-se também que além do tipo fundamental de ligação, os complexos poliméricos podem ser estabilizados por interações secundárias, como é o caso das hidrofóbicas (BEKTUROV,1997).

## 2.4 COMPLEXOS POLIELETRÓLITOS

Os polieletrólitos são macromoléculas que contêm um número relativamente grande de grupos funcionais. Quando as forças atrativas principais que condicionam a agregação dos polímeros são do tipo eletrostáticas, a interação entre os grupos ionizáveis das macromoléculas em solução aquosa leva a obtenção de um CPE (KUMAR, 2004) (GEORGE,2006). Assim, a reação de um ácido polimérico com uma base polimérica resulta em seus sais respectivos, de maneira geral, como se mostra na Figura 3.

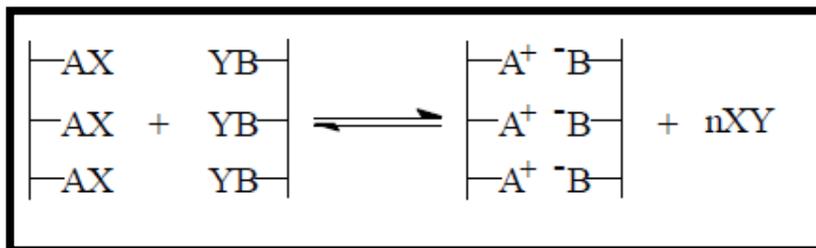


Figura 3 - Formação de um CPE.

Como resultado da formação do complexo se liberam íons, cuja quantidade é diretamente proporcional ao número de grupos ligados no complexo.

De acordo com sua composição, os complexos polieletrólíticos podem ser classificados em estequiométricos (CPE-E) e não estequiométricos (CPE-N).

No trabalho realizado por PHILLIP et al,1989, os autores assumiram como polissais os CPE-E que logo após sua purificação, mantiveram uma relação molar 1:1, sendo essa a relação entre os grupos aniônicos e catiônicos, mesmo que seja adicionado uma quantidade em excesso de um dos polieletrólitos. Dentro desse intervalo, as variações encontradas podem ser tanto na composição do complexo, como nas limitações de sua reprodutibilidade e precisão ao se preparar e caracterizar as amostras.

Os estudos sistemáticos sobre a formação dos CPE foram iniciados por MICHAELS,1961, que a partir do cloreto de poli(4-vinilbenzotrimetilamonio) e poli(4-etenilbenzenosulfonato) de sódio, obtiveram poli sais com estequiometria 1:1 e propuseram um modelo de “ovos mexidos”.

Este modelo descreve o complexo como uma estrutura reticular formada pelas cadeias poliméricas de cargas opostas, na qual as neutralizações das ditas cargas se produzem aleatoriamente. Desde então, se tem estudado extensamente diferentes tipos de complexos intermacromoleculares e suas aplicações (BIGUCCI,2008) (LEE,2009) (BHATTARAI,2010).

A diferença principal entre os complexos de pequena massa molecular e aqueles que se formam entre macromoléculas é que nos complexos poliméricos se tem interações cooperativas entre as cadeias que se complementam quimicamente e estruturalmente, existindo uma distância suficiente para que as cadeias possam interagir entre si (RINAUDO,2008).

Todos os resultados experimentais em reações de intercâmbio entre poliácidos ou polibases, ou polissais, indicam o caráter cooperativo das reações entre as macromoléculas. Isso significa que a formação de um CPE se deve a um entrecruzamento aleatório que conduz a grandes agregados, sendo que o contato inicial entre as macromoléculas complementares, se produzem acidentalmente em algum ponto das cadeias poliméricas e assim com o pareamento iônico há a formação de uma ligação entre os grupos complementares (BIGUCCI,2008) (BHATTARAI,2010).

Quando as reações terminam há uma alta concentração de sais, e o forte entrelaçamento das cadeias impede a formação de CPE-E. Nestes sistemas se formam grandes agregados com composições semelhantes a segmentos em forma de laços, os quais são formados por grupos iônicos dos polímeros, que não se ligaram entre si como resultado do pareamento aleatório dos segmentos (TSUCHIDA, 1982).

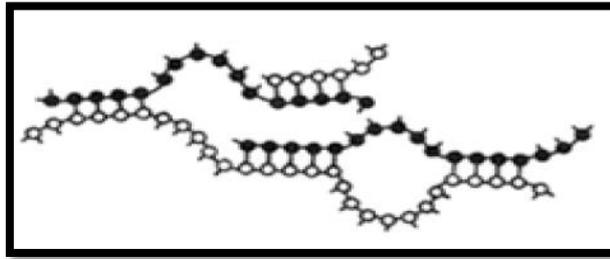


Figura 4 - Representação da formação da ligação entre os polímeros de um CPE.

De acordo com os estudos realizados com os CPEs, o que leva o surgimento das ligações iônicas entre os polieletrólitos macromoleculares é o fator termodinâmico ( $\Delta G_{mistura} = \Delta H_{mistura} - T\Delta S_{mistura}$ ). Sendo que o aumento da entalpia ocorre devido a liberação de ions no processo e com isso deve exceder a diminuição da entropia ocorrido pela formação de novas ligações. É por isso que a reação entre as cadeias macromoleculares avança muito rapidamente. Com isso, a variação total da energia livre ( $\Delta G_{mistura}$ ) da formação do complexo diminui gradualmente com o aumento da distância das cadeias dos componentes poliméricos (GEORGE,2006).

## 2.5 FATORES PRINCIPAIS QUE INFLUENCIAM AS CARACTERÍSTICAS DOS CPEs

As particularidades dos CPEs assim como sua aparência, sua estabilidade e composição do produto resultante, dependem das características dos polímeros de partida [estrutura química, densidade de carga, força (natureza do grupo funcional), e sua concentração], do solvente, da força iônica, do pH e da temperatura. Em algumas ocasiões a ordem de adição dos polímeros pode afetar o produto formado.

Quando a natureza dos polieletrólitos misturados difere, a força das ligações interpoliméricas depende da combinação de polímeros polieletrólitos fortes e fracos.

A composição dos complexos obtidos a partir da combinação entre polieletrólitos fortes e fracos geralmente depende do grau de dissociação do polieletrólito fraco. A formação do CPE se dá em um intervalo estreito de pH e uma pequena variação deste pH mudará o grau de conversão da formação do complexo, o qual é uma característica essencial deste tipo de reação (KSHITIJ,2008)

## 2.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS POLIELETRÓLITOS

Para se determinar a conformação das novas cadeias formadas, utiliza-se viscosimetria ou dispersão de luz (LEE,2009). Também se podem utilizar outros métodos baseados em determinação estequiométrica, como o caso da condutimetria, eletroforese e da potenciometria. A estrutura e propriedades do complexo formado podem ser estudadas mediante análise elementar, determinação de solubilidade, técnicas espectroscópicas (FTIR, UV-vis, RMN), análise térmica (TGA,DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (AHN,2002).

## 2.7 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FARMACOS

Existem diferentes maneiras de administração de fármacos, porem os métodos tradicionais são por via oral ou injeções intravenosas. Devido à necessidade do desenvolvimento de maneiras alternativas para a liberação de fármacos, são buscados novos sistemas de carregamento, tais como as micropartículas onde o fármaco é incorporado em seu interior podendo ser futuramente liberado, de forma controlada, tornando-se mais eficaz o tratamento de enfermidade, pois sendo de forma controlada temos uma maior ação terapêutica.

Por definição, o termo “sistema de liberação de fármacos”, também conhecido como *Drug Delivery Systems* (DDS), refere-se à tecnologia utilizada para aperfeiçoar a liberação de um fármaco, onde o princípio ativo deve ser liberado, melhorando a resposta terapêutica (SOUSA, 2009). O controle envolve prolongar o tempo de liberação do fármaco no organismo e assim sustentar a sua concentração plasmática,

sendo que a dose do medicamento deve sempre estar dentro do limite da ação terapêutica. (VILLANOVA,2010).

Ao utilizar as formas convencionais de administração, há um problema muito recorrente, o fármaco ao ser colocado em contato com o organismo, inicia sua ação terapêutica, chegando rapidamente a um pico máximo de ação, e algumas vezes pode ultrapassar o limite máximo, chegando ao nível tóxico e decaindo a partir de então até atingir a faixa subterapêutica. Com isso, além de gerar certa toxicidade ao organismo, doses repetitivas do fármaco são necessárias para manutenção do efeito terapêutico e consequente realização eficaz do tratamento a que se destina (NAIR, 2006).

Utilizando a liberação controlada de fármaco, pode se manter o seu nível terapêutico e com isso reduzir a toxicidade ao organismo, além de permitir o direcionamento da ação do fármaco em um ponto específico do organismo. Assim facilitando a absorção do mesmo, e gerando uma economia significativa, pois se reduz a quantidade de fármaco ingerido pelo paciente e também o tempo do tratamento clínico (LANGER, 2011).

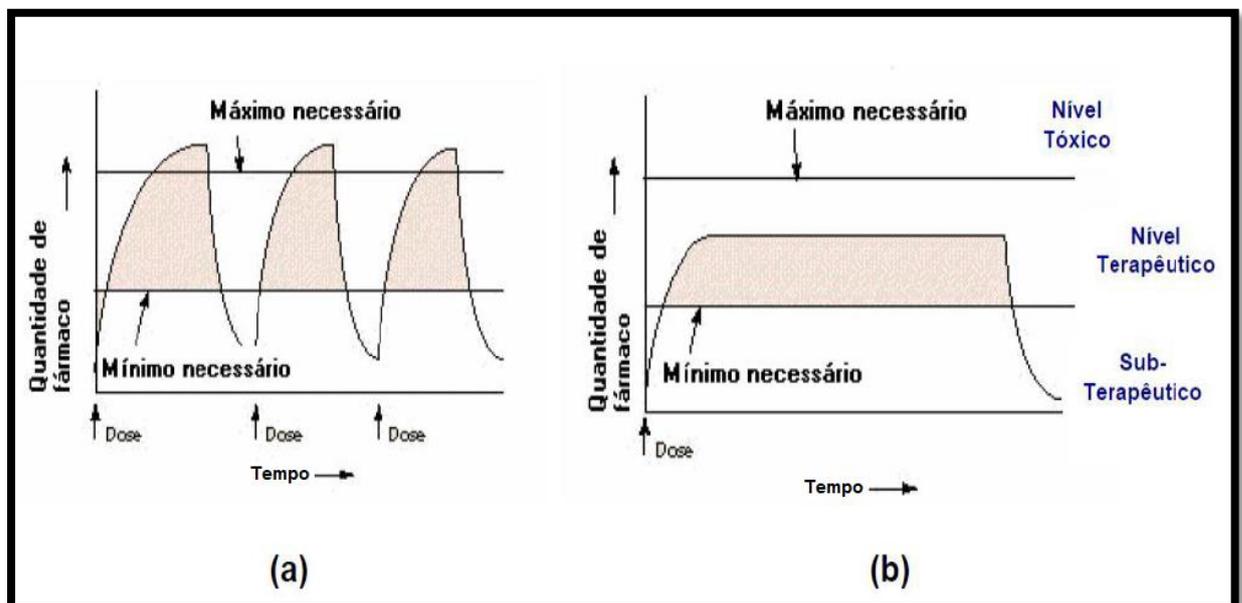


Figura 5 – Liberação de um fármaco modelo com o tempo; a) sistema convencional e b) sistema de liberação controlada. (MOURA, 2005).

O sistema de carregamento de fármacos baseado no uso de micropartículas envolve mecanismos de liberação controlados por: difusão, reações químicas ou ativação do solvente (LANGER,2011).

Sistemas controlados por difusão envolvem um processo simultâneo de absorção de água e desorção do fármaco através do intumescimento das micropartículas, assim temos uma grande influência do pH, no qual estas micropartículas estarão atuando, uma vez que dependendo do pH do meio, o complexo interpolimérico pode se desfazer. Portanto, ao invés de se ter uma liberação controlada do fármaco por difusão, haverá uma liberação por reação química, liberando todo o fármaco de uma única vez. A difusão, a nível macroscópico, obedece a equação semi empírica dada pela Lei de Fick da difusão. (PEPPAS e LANGER, 2003).

## 2.8 MODELOS MATEMATICOS PARA A ANALISE DO MECANISMO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FARMACOS

O transporte de um fármaco a partir de uma matriz, seja ela polimérica, cerâmica ou outra, é um fenômeno muito complexo que depende de inúmeros fatores. Os experimentos de liberação *in vitro* têm a finalidade de simular de maneira aproximada as condições fisiológicas do corpo humano (pH, temperatura, fluido biológico, etc.), para estudar o mecanismo e cinética de liberação do fármaco no organismo, uma vez que os modelos matemáticos tornam o entendimento da cinética do fármaco mais simples (PEPPAS, 2003).

A interpretação dos resultados experimentais se torna mais simples uma vez que utilizamos os diversos modelos matemáticos existentes. Entre os inúmeros modelos existentes na literatura, foram utilizados no presente trabalho o modelo de Higuchi e o modelo de Korsmeyer- Peppas.

### 2.8.1 EQUAÇÃO DE HIGUCHI

O modelo proposto por Higuchi em 1963 é baseado na segunda lei de Fick e deriva dos seus estudos de liberação de fármaco a partir de matrizes solidas e semi-sólidas. Foi inicialmente usado para o estudo da liberação de fármacos homogeneamente distribuídos em uma matriz. Posteriormente, foi usado para sistemas esféricos homogêneos, sistemas granulados planos e sistemas granulados esféricos. A equação geral do modelo de Higuchi é: (HIGUCHI,1963).

$$f_t = K_H t^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 1}$$

Sendo  $f_t = M_t/M_0$  a fração do fármaco liberada no tempo  $t$  e  $K_H$  a constante de difusão de Higuchi. Os sistemas são descritos como um processo de difusão baseado na lei de Fick.

### 2.8.2 MODELO DE KORSMEYER- PEPPAS

O modelo proposto por Korsmeyer- Peppas, tem sua validade comprovada para diferentes sistemas de liberação, com diferentes geometrias, até um limite máximo de absorção da matriz de 25 % de seu volume original.

A equação pode ser representada por: (ABRAHAM, 2001):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Equação 2}$$

Onde  $\frac{M_t}{M_\infty}$  é a razão do fármaco liberada no tempo  $t$  e no infinito  $\infty$ ,  $k$  é a constante que depende das características do sistema formada pelo polímero e pelo meio de dissolução,  $n$  é o coeficiente de difusão.

Fazendo a linearização da Equação 3, obtemos:

$$\ln \frac{M_t}{M_\infty} = \ln k + n \ln t \quad \text{Equação 3}$$

Assim, a representação de  $\ln \frac{M_t}{M_\infty}$  em função de  $\ln t$  fornece uma reta, a partir da qual calcula-se os valores de  $k$  e  $n$ .

Como mostra a Tabela 1, a partir do valor do coeficiente difusional  $n$  e da geometria da amostra, pode ser estimado o tipo de mecanismo de liberação para o sistema sob as condições experimentais estudadas.

Tabela 1 - Valores do coeficiente difusional  $n$  (RITGER, 1987).

Valores do Coeficiente Difusional $n$			Mecanismo de Liberação
Filmes ou blocos finos	Cilindros	Esferas	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anômalo
1,0	0,89		Difusão do tipo II (Relaxamento macromolecular)

## 2.9 QUITOSANA

A QUI é um biopolímero de origem natural obtido através da desacetilação alcalina da quitina, a QUI e a quitina são diferenciados apenas pelos números de grupos aminos presente na sua estrutura. A quitina é o segundo biopolímero mais abundante da natureza, perdendo apenas para a celulose. A fonte natural mais utilizada para sua obtenção industrial são os rejeitos dos crustáceos. A QUI é um polieletrólito fraco e em sua estrutura, figura 6, existem unidades de 2-acetoamido-2-desoxi-D-glucose (A) e 2-amino-2-desoxi-D-glucose (D) unidas mediante ligações glicosídicas  $\beta$ , com um predomínio da unidade desacetilada (RINAUDO,2006).

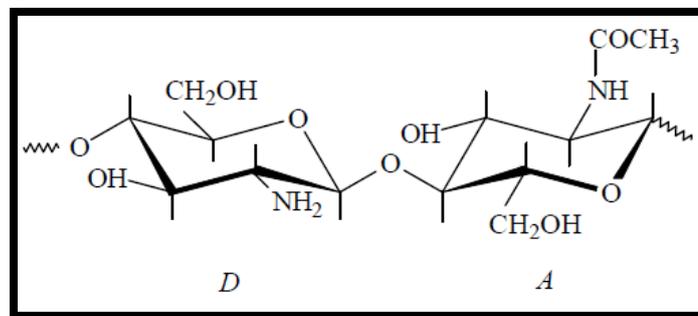


Figura 6 - Estrutura química do copolímero de quitina-QUI.

As propriedades físicas e químicas da QUI são determinadas pelo seu grau de polimerização e estrutura química da cadeia. O grau de polimerização se relaciona com a distribuição de massa molar, o valor comercial para a QUI está entre 50.000 e 2.000.000 Daltons (MEYERS,2000).

A composição química, assim como a sequência das unidades monoméricas, define a estrutura química da QUI. Esta pode ser descrita pela fração molar de unidades acetiladas (ou desacetiladas), definida pelo grau de acetilação (ou

desacetilação), que é a porcentagem de unidades monoméricas que estão acetiladas. O grau de acetilação é um parâmetro estrutural que influencia as propriedades físico-químicas da QUI como solubilidade, viscosidade, comportamento polieletrólítico e outros (PENICHE,2001).

O grau de acetilação, pode ser determinado por vários métodos, como a espectroscopia de absorção no infravermelho, espectroscopia de ultravioleta, espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , cromatografia de permeação em gel, titulação condutimétrica, análise elementar e cromatografia gasosa (SHIGEMASA, 1996).

A QUI é insolúvel em soluções neutras e alcalinas, porem em soluções ácidas diluídas de ácido clorídrico, acético e perclórico, se torna solúvel, devido à protonação dos grupos aminos, tendo como resultado uma carga positiva, assim a solubilidade da QUI depende da quantidade de grupos N-acetil presentes na cadeia do polissacarídeo (KEAN,2010).

A utilização da QUI como biomaterial é baseada em suas inúmeras propriedades, dentre elas destacam-se: biocompatibilidade e baixa toxicidade; biodegradabilidade; potencial formador de complexos poliméricos com polieletrólitos aniônicos tais como proteínas, e outros polímeros; é passível de modificações químicas e é também um material que pode ser trabalhado em diversas formas, como: gel, membranas, esponjas e solução. Além disso possui boas propriedades cicatrizantes e efeito bacteriostático (KUMAR,2000).

## 2.10 CARBOXIMETILCELULOSE

A CMC é um dos polímeros que mais se destaca em função da sua importância econômica como agente espessante e pela variedade de aplicações (CARASCHI,1999). CMC é um derivado hidrossolúvel obtido industrialmente a partir da reação em suspensão ("slurry process") de celulose, hidróxido de sódio e ácido monocloroacético. A estrutura da CMC é baseada no polímero  $\beta(1,4)$ -D-glucopiranosose da celulose (Figura 7) em função de diferentes metodologias de preparação a CMC pode apresentar diferentes graus de substituição, o grau médio de substituição ( $\overline{GS}$ ) dos grupamentos hidroxila (OH) apresenta valor acima de 0,5, podendo chegar até 0,9 OH/glicose, uma vez que quanto maior o grau de substituição, mais hidrofílico é o

poliânion e quanto mais uniforme é essa substituição mais compatível o polissacarídeo se torna na presença de sais dissolvidos e adquire uma menor tendência à tixotropia em comparação com uma distribuição desigual (FEDDERSEN, 1993). (FUJIMOTO, 2002).

Este derivado é, em geral, preparado e utilizado na forma sódica (CMCNa) que, uma vez dissolvido em água, apresenta as características típicas de polieletrólitos. Suas propriedades e aplicações dependem, essencialmente, da viscosidade de suas soluções aquosas e, do grau médio de substituição ( $\overline{GS}$ ). (CANCELA, 2005).

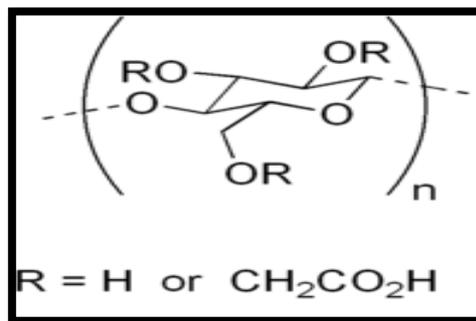


Figura 7 – Estrutura do  $\beta(1,4)$ -D-glucopiranoose da celulose (CMC).

## 2.11 METRONIDAZOL

O metronidazol é um fármaco antiprotozoário amplamente conhecido pela sua ação amebicida e que conta com um importante espectro antibacteriano sob os microorganismos anaeróbicos responsáveis pelas infecções graves do tipo septicêmica. É um nitroimidazol e sua estrutura química está representada na figura 8. (LLOYD,2008).

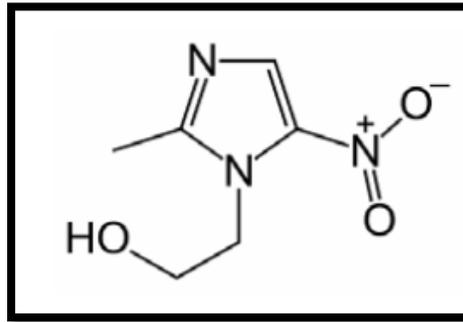


Figura 8 - Estrutura química do Metronidazol.

A ação desse medicamento se exerce fundamentalmente em nível celular, produzindo metabólitos que inibem a síntese de DNA, o qual lhe confere um efeito bactericida para organismos anaeróbicos. Metaboliza-se no fígado com uma vida média de 8 horas. Sua eliminação se produz por via renal e ocorre aproximadamente em 60-80%, o resto é eliminado pelas fezes (ROSENSTEIN,2002). A administração oral deste fármaco possui uma série de efeitos adversos entre os quais os mais comuns são: náuseas, diarreias e outros transtornos gastrointestinais. Além disso, se produz um sabor metálico na boca durante o tratamento.

Neste trabalho usaremos esse princípio ativo como modelo para estudar sua liberação a partir de matrizes poliméricas em formas de micropartículas, pois sua detecção e quantificação pode ser realizada de maneira simples por espectroscopia ultravioleta.

## 2.12 AGENTES DE ENTRECruzAMENTO

As moléculas que promovem as ligações cruzadas são chamadas de agentes de entrecruzamento, elas atuam ligando dois ou mais grupos funcionais de substâncias diferentes, sendo conhecidos como agentes bifuncionais ou multifuncionais, respectivamente.

Os agentes de entrecruzamento bifuncionais são divididos em três classes: Homobifuncionais, heterobifuncionais e os de comprimento zero.

- Homobifuncionais possuem dois grupos funcionais idênticos que reagem com os mesmos grupos funcionais dos polímeros.
- Heterofuncionais possuem dois grupos funcionais diferentes que reagem com diferentes grupos funcionais dos polímeros.

- Comprimento Zero acontece quando os polímeros se ligam sem a necessidade de componentes externos, são muitos utilizados na condensação de polímeros com muitos grupos funcionais.(PARK,1993)

Em geral os agentes de entrecruzamento possuem grupos reativos em ambas extremidades, com isso cada grupo reativo se ligará a um grupo específico da substância alvo. Essas ligações podem ser tanto covalentes como ligações iônicas, dependendo do agente a ser utilizado. Neste trabalho, para maior estabilidade dimensional da micropartícula, foram utilizados dois agentes de entrecruzamento: o Glutaraldeído (GLA) e o tripolifosfato de sódio (STPP). O GLA, promove o entrecruzamento covalente entre os grupos da QUI não ligados com a CMC. O STPP promove o entrecruzamento iônico entre os grupos de QUI não ligados com a CMC.

### 2.12.1 GLUTARALDEÍDO

O GLA, também conhecido como 1-5 pentanodial, é uma substância química amplamente utilizada na indústria química.

Suas principais aplicações são:

- Como biocida no tratamento de água; fabricação de papel e celulose, produção de óleo, etc.;
- Como agente de ligação cruzada na fabricação de couro, no desenvolvimento de filmes de raios-X; e na imobilização de enzimas. (LEUNG, 2001)

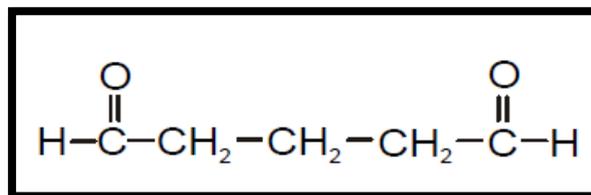


Figura 9 – Estrutura do 1-5 pentanodial (GLA).

Em seu estado puro se apresenta sob a forma de um líquido oleoso, possuindo um cheiro bem característico de aldeído. O GLA é comercialmente vendido em forma de soluções aquosas, contendo geralmente 25% ou 50% em peso de glutaraldeído.

Essas soluções são líquidos incolores, pouco voláteis, de pH ligeiramente ácido (BEPPU, 1999).

As soluções aquosas de glutaraldeído são estáveis à temperatura ambiente, em condições ácidas ou neutras e à luz do sol. Entretanto, são instáveis em temperaturas elevadas e em condições alcalinas. (LEUNG, 2001).

A grande desvantagem de usar o glutaraldeído é devido a sua alta toxicidade em mamíferos, porém neste trabalho o mesmo foi utilizado devido a sua forte ligação covalente por base de Schiff, formada com os polímeros utilizados para compor o CPE.

Base de Schiff, também chamada de azometina, segundo a definição da IUPAC, é um grupo funcional que contém uma ligação dupla carbono-nitrogênio, onde o átomo de nitrogênio está conectado a um grupo arila ou alquila, mas não a hidrogênio ( $RR'C=NR''$ ,  $R'' \neq H$ ). Esses compostos são iminas estáveis, formadas através da reação de condensação entre uma amina aromática e um aldeído ou cetona.

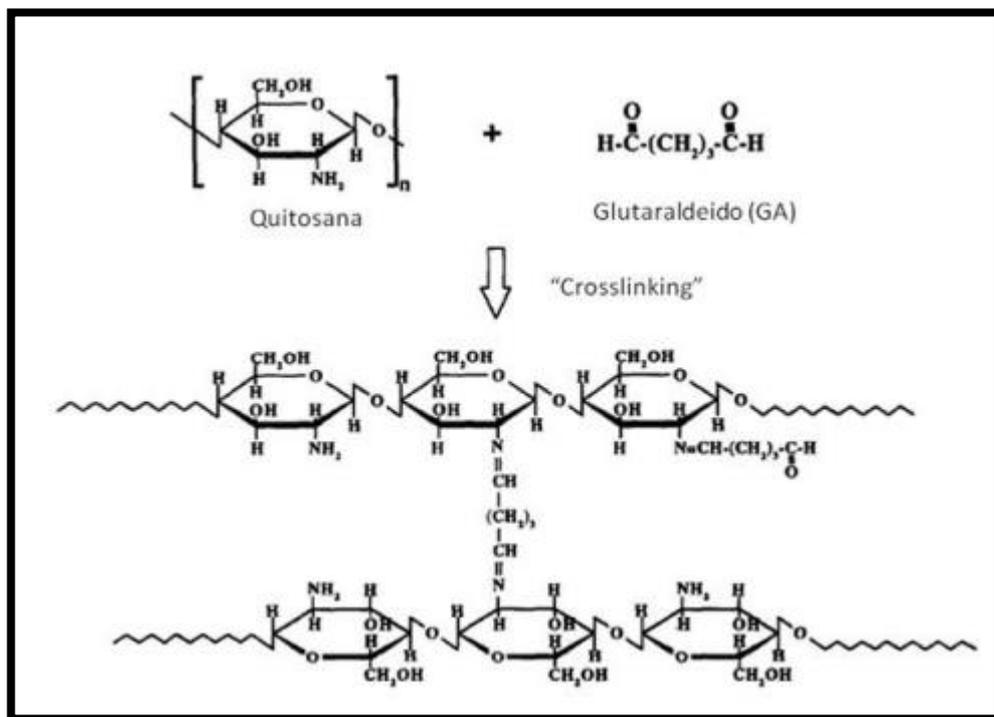


Figura 10 – Reticulação por Base de Schiff entre o GLA e a QUI. (URAGAMI, 1994).

Há alguns relatos na literatura em que a Base de Schiff ( $C=N$ ) formada na reação de reticulação, é reduzida no fígado e no baço, se transformando em  $C-N$ , ligação estável *in vivo* que dificilmente retorna ao grupo aldeído, assim a

biodegradação reduz os efeitos colaterais e confirma o uso potencial do glutaraldeído como agente de ligação cruzada em aplicações clínicas, promovendo a maior estabilidade do CPE. (JAMEELA,1995) (YAMAMOTO, 1997) (VIKHOREVA,2002).

A ligação covalente entre o grupo amino e o grupo aldeído terminal do glutaraldeído é irreversível e resiste a extremos de pH e temperatura (BEPPU et al.,1999). Nos poucos trabalhos onde é comentada a estrutura da interação com o grupo amino, três estruturas são sugeridas: (COSTA JUNÍOR, 2008)) 1) há formação apenas de uma base de Schiff (C=N) com grupos aldeídos do glutaraldeído, o outro grupamento permanece livre e é utilizado para uma reação subsequente; 2) os dois grupos aldeído de uma única molécula de glutaraldeído reagem com duas aminas, formando uma ligação cruzada; 3) a ligação cruzada é formada por mais de uma molécula de glutaraldeído. (TUAL, 2000). (MELLO, 2006).

### 2.12.2 TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO

O STPP é um agente de entrecruzamento, que vem sendo estudado como substância alternativa ao GLA, devido a sua baixa toxicidade, ele porém ao se ligar aos polímeros em estudo, ao invés de o fazer por ligação covalente o faz por ligação iônica, assim a estabilidade do CPE é um pouco prejudicada em relação ao GLA.

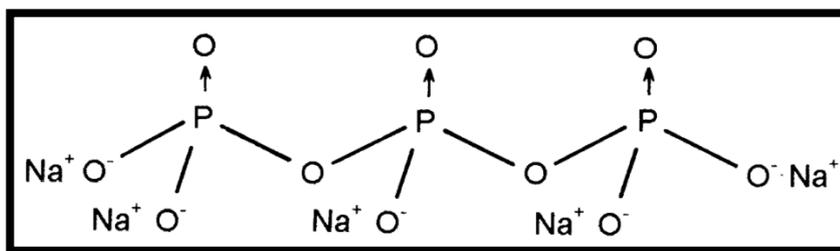


Figura 11 – Estrutura química do STPP.

O STPP se apresenta na forma de um pó branco, solúvel em água e pouco higroscópico, em soluções aquosas apresenta um caráter básico. (O'NEIL, 2001).

Entre as suas principais aplicações estão:

- Agente sequestrante e emulsificante em indústrias de pastas e papéis;
- Tratamento de água (removedor de íons cálcio e magnésio);
- Produção de produtos de limpeza;

- Dispersão de pigmentos e argilas;
- Fabricação de vidros e tintas;
- Dispersante de óleos em perfurações petrolíferas;
- Agente de floculação e estabilizante do solo.

Sendo o STPP um poliânion de baixo peso molecular, vem sendo utilizado, como agente reticulante físico, na formulação e na preparação de sistemas de liberação de fármacos (SHU, 2002).

Devido ao seu caráter de poliânion, possui uma grande eficácia como agente de entrecruzamento iônico da QUI.

O tratamento de QUI com STPP resulta numa diminuição da susceptibilidade de degradação da QUI pela enzima quitinase, além de alterar o comportamento de solubilidade do polímero, o que pode ser usado como ferramenta para mudanças desejáveis nas propriedades da QUI para aplicações específicas (SHARMA, 2002).

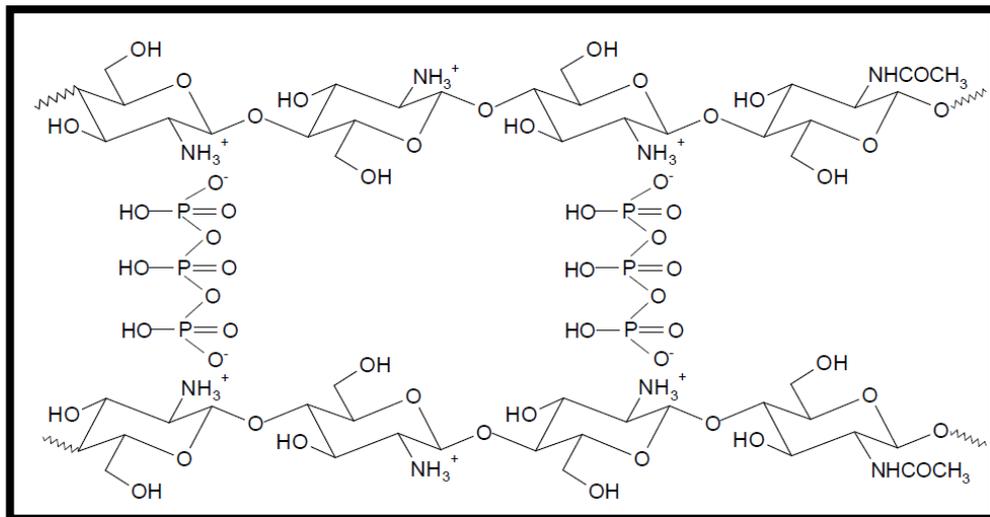


Figura 12 – Reticulação iônica entre o STPP e a QUI.

Há alguns relatos na literatura que o aumento da concentração de STPP na formação do CPE diminui a esfericidade das micropartículas, fazendo com que as micropartículas se tornem mais côncavas, aumentando a aglomeração e também a rugosidade das mesmas. (DESAI, 2005) (LIU, 2006).

## 2.12 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo principal desta dissertação é a produção de micropartículas de QUI e CMC para a liberação controlada de fármaco, no caso do presente trabalho, o metronidazol. Na revisão bibliográfica apresentamos de maneira sucinta a estrutura e principais características dos compostos que serão utilizados e/ou desenvolvidos nesta dissertação, assim como a ferramenta matemática que será utilizada no estudo da liberação do fármaco.

A seguir apresentamos os objetivos específicos, e os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento da dissertação. A originalidade do presente trabalho está dada na preparação das micropartículas, baseadas no complexo polieletrólítico de QUI e CMC, pela técnica tradicional de emulsão água em óleo, uma forma simples e diferenciada de obtenção de micropartículas uma vez que o método mais comumente utilizado é o spray dryer (Secagem por nebulização). Também são preparados e estudados os complexos polieletrólíticos QUI e CMC utilizando agentes de entrecruzamento, STPP e GLA, visando o aumento da estabilidade dimensional e térmica da micropartícula, assim como o controle do tamanho, alcançando dimensões menores uma vez que as cadeias poliméricas ficarão mais próximas.

Finalmente ressaltamos que os polímeros QUI e CMC, foram escolhidos para a formação da micropartícula, baseada no CPE, devido à suas propriedades, descritas nos tópicos anteriores.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Preparar e caracterizar micropartículas do CPE da QUI com CMC e avaliar preliminarmente o seu potencial de aplicação como sistema de dosagem de drogas terapêuticas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os polissacarídeos.
- Preparar as partículas do CPE de QUI com CMC sob diferentes condições.
- Caracterizar as partículas do CPE de QUI com CMC por FTIR, Análise Térmica e MEV.
- Caracterizar das partículas do CPE de QUI com CMC com adição do agente de entrecruzamento GLA por FTIR, Análise Térmica e MEV.
- Caracterizar as partículas do CPE de QUI com CMC com adição do agente de entrecruzamento STPP por FTIR, Análise Térmica e MEV.
- Estudar do perfil de liberação *in vitro* a diferentes valores de pH das micropartículas que serão carregadas com um fármaco modelo.

## 4. MATERIAIS E METODOS

### 4.1 MATERIAIS

#### 4.1.1 MATERIAIS UTILIZADOS NA MEDIDA DA MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA

- QUI: polímero de baixa toxicidade, biodegradável e biocompatível, obtido pela desacetilação heterogênea da quitina, cuja estrutura química é mostrada na Figura 6.
- Cuba de vidro, acoplada a um aquecedor da marca Schott Gerate, CT54HT, 115V, 50-60Hz.
- Haste Universal.
- Viscosímetro capilar do tipo Ubbelohde

#### 4.1.2 MATERIAIS UTILIZADOS PARA MEDIR O GRAU DE DESACETILAÇÃO

- Espectrômetro da Perkin Elmer, modelo Spectrum 100 Series, na faixa de operação de 650 – 4000 cm<sup>-1</sup>, usando um acessório de refletância total atenuada (ATR).
- Almofariz de ágata.
- QUI.

#### 4.1.3 MATERIAIS PARA PRODUZIR AS MICROPARTÍCULAS

- Quitosana, QUI. Comercial, procedência: obtida a partir de “krill” Antártico.
- Carboximetilcelulose, CMC: Sigma-Aldrich, este polímero é um derivado hidrossolúvel obtido a partir da reação em suspensão de celulose, hidróxido de sódio e ácido monocloroacético.
- Spam 80, Sigma- Aldrich, usado como emulsificante.
- Óleo de Girassol, Comercial, Marca: Mazola.

- Agitador Mecânico, Gehaka Rw-20, 110 volts e viscosidade máxima 10.000 rpm.
- Tripolifosfato de sódio, STPP, Sigma Aldrich, usado como agente de entrecruzamento.
- Glutaraldeído, GLA, Sigma Aldrich, usado como agente de entrecruzamento. Foi purificado antes de usar, por filtração com carvão ativado.
- Acetona P.A. Sigma Aldrich.

#### 4.1.4 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

- QUI.
- CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC com STPP.
- Micropartícula de QUI e CMC com GLA.
- Espectrômetro da Perkin Elmer, modelo Spectrum 100 Series, na faixa de operação de  $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ , usando um acessório de refletância total atenuada (ATR).

#### 4.1.5 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

- Micropartícula de QUI e CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC com STPP.
- Micropartícula de QUI e CMC com GLA.
- Microscópio Eletrônico da Zeiss, modelo Evo MA15, usando um acessório de detector de Raios X de energia dispersiva (EDS), marca Bruker.

#### 4.1.6 CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA

- QUI.

- CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC com STPP.
- Micropartícula de QUI e CMC com GLA.
- Calorímetro da Shimadzu, modelo DSC 60 Plus.
- Analisador Termogravimétrico da Shimadzu, modelo TGA 50.
- 

#### 4.1.7 ESTUDO DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO

- Micropartícula de QUI e CMC.
- Micropartícula de QUI e CMC com STPP.
- Micropartícula de QUI e CMC com GLA.
- Metronidazol. Comercial, uso farmacêutico.
- Tampão pH 6,8.
- Tampão pH 1,2.
- Agitador Magnético com aquecimento da marca Nova Instruments, modelo NI 1108, 220 volts e 60 Hz.
- Espectrômetro na Região do Ultravioleta da marca Varian, modelo Cary 50 Bio, com comprimento de onda na faixa de 190 a 1100nm.
- Béquer.
- Erlenmeyer
- Haste Universal.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA

A massa molar viscosimétrica média da QUI foi determinada utilizando um viscosímetro capilar do tipo Ubbelohde em banho com temperatura controlada de  $25 \pm 0,1$  °C. Uma solução do polímero em tampão acetato foi preparada com 0,250g do polímero em 10 mL do tampão acetato e após a primeira medida se adicionou respectivamente 1mL, 1,5 mL, 2,0 mL e 2,0 mL e foi refeita a medida obtendo soluções

com concentrações de 1,00; 0,909; 0,800; 0,690 e 0,606 g/L. Também foi realizada a calibração do viscosímetro com o solvente, tampão acetato, a temperatura ambiente (25°C) e assim, determinado o tempo de escoamento  $t_0$  do solvente. O tempo de escoamento das soluções, nas diferentes concentrações, foi observado, tendo sido realizadas 10 medições de tempo para cada concentração e obtida, assim, a média dos tempos.

#### 4.2.2 GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA

O grau de N – acetilação é determinado para conhecer a porcentagem de quitina presente na QUI, sendo que a quitina possui o mesmo anel celulósico porém ao invés de ter um grupamento amino livre como na QUI este tem um grupamento amida (carboxila ligada ao grupamento amino). Sendo assim ao subtrair 100 menos o grau de N-acetilação da QUI, determina-se o grau de desacetilação.

O método usado para essa determinação é do Baxter, método amplamente descrito na literatura de polímeros, para essa determinação a partir do espectro de FTIR-ATR, utiliza-se a razão entre a área da banda característica do grupamento amida e a área de uma banda de referência (banda de grupamento hidroxila), usa-se a equação de Baxter, que é dada pela seguinte expressão.

$$\text{Grau de N-acetilação} = (A_{1655}/A_{3450}) \times 115 \quad \text{Equação 4}$$

Onde  $A_{1655}$  e  $A_{3450}$  são respectivamente, as áreas das bandas relativas às absorções de vibração: da banda da ligação C=O (carbonila, ligada a amina) e da banda da ligação –O-H, tomada como referência.

#### 4.2.3 PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

Para se produzir micropartículas foi utilizado um sistema de emulsão água – óleo, o qual era necessário para que se tivesse micro gotas dos reagentes no meio de reação, primeiramente em um meio de reação era colocado o óleo de girassol, o Span 80 (emulsificante) e a QUI, esse sistema era posto em agitação mecânica, 800 rpm,

por 30 minutos, após a completa formação da emulsão, a CMC foi adicionada no meio de reação, e então esperou que se completasse 2 horas de reação. A agitação mecânica somente foi desligada ao fim da reação, não houve controle da temperatura, a qual era a ambiente. Após o término, as micropartículas formadas foram lavadas com acetona até que todo o óleo fosse removido, então essas micropartículas foram levadas para secar, também a temperatura ambiente.

#### 4.2.3.1 PRODUÇÃO DA MICROPARTICULA DE CPE (QUI-CMC)

Em um meio de reação foi adicionado 25 mL de óleo de girassol, 0,125g de Span 80, e 4,5 g de QUI 2%, esse meio foi posto em agitação constante de 800 rpm por 30 minutos, após a completa formação da emulsão, sem parar a agitação foi colocada gota a gota 7,5 mL de CMC 2%, e a reação continuou por mais 90 minutos.

Ao final da reação foi possível ver pequenas partículas precipitadas ao fundo, o óleo sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta de Pasteur, e então as micropartículas que estavam no fundo do meio de reação foram lavadas com acetona, até que todo o óleo fosse removido delas.

Assim, as partículas foram postas para secar a temperatura ambiente (25°C) e após secas, determino se a massa e cálculo se o rendimento, as partículas apresentaram coloração branca.

O procedimento foi refeito até obter a massa necessária para realizar todos os experimentos.

#### 4.2.3.2 PRODUÇÃO DA MICROPARTICULA CPE (QUI-CMC) COM STPP

Em um meio de reação foi adicionado 25 mL de óleo de girassol, 0,125g de Span 80, e 4,5 g de QUI 2%, esse meio foi posto em agitação constante de 800 rpm por 30 minutos, após a completa formação da emulsão, sem para a agitação foi colocada gota a gota 7,5 mL de CMC 2%, e a reação continuou por mais 30 minutos, então foi adicionado o STPP, que primeiramente foi dissolvido 0,025 gramas de STPP em 1 mL de água, após a adição do STPP a reação continuou por mais 60 minutos.

Ao final da reação foi possível ver pequenas partículas no fundo do meio de reação, o óleo sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta de Pasteur, e então as micropartículas que estavam no fundo do meio de reação foram lavadas com acetona, até que todo o óleo fosse removido delas.

Assim, as partículas foram postas para secar a temperatura ambiente (25°C) e após secas, se determinou a massa e obteve se o rendimento.

O procedimento foi refeito até obter a massa necessária para realizar todos os experimentos propostos.

#### 4.2.3.3 PRODUÇÃO DA MICROPARTÍCULA CPE (QUI-CMC) COM GLA

Em um meio de reação foi adicionado 25 mL de óleo de girassol, 0,125g de Span 80, e 4,5 g de QUI 2%, esse meio foi posto em agitação constante de 800 rpm por 30 minutos, após a completa formação da emulsão, sem para a agitação foi colocada gota a gota 7,5 mL de CMC 2%, e a reação continuou por mais 30 minutos, então foi adicionado 0,5 mL do GLA, após a adição do GLA a reação continuou por mais 60 minutos.

Ao final da reação foi possível ver pequenas partículas no fundo do meio de reação, o óleo sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta de Pasteur, e então as micropartículas que estavam no fundo do meio de reação foram lavadas com acetona, até que todo o óleo fosse removido delas.

Assim, as partículas foram postas para secar a temperatura ambiente (25°C) e após secas, determinou se a massa e obteve se o rendimento, as partículas apresentaram coloração amareladas.

O procedimento foi refeito até obter toda a massa necessária para realizar todos os experimentos propostos.

#### 4.2.4 CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A análise espectroscópica na região do infravermelho com Transformada de Fourier –FTIR, foi feita em Espectrômetro da Perkin Elmer, modelo Spectrum 100

Series, na faixa de operação de 650 – 4000  $\text{cm}^{-1}$ , usando um acessório de refletância total atenuada (ATR). Este acessório é constituído por um cristal misto de Diamante/ZnSe. As amostras foram maceradas em almofariz de ágata para obtenção de pós para análise, exceto para as micropartículas.

#### 4.2.5 CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A estrutura/morfologia das micropartículas foi visualizada usando Microscópio Eletrônico de Varredura, da marca Zeiss, modelo Evo MA15, foram realizadas ampliações de 100, 200 e 300 vezes, em uma escala de 200 micrometros e 10 micrometros, foi usada uma energia de 10kV, recoberto com ouro e as micrografias foram obtidas por elétrons retroespalhados (BSE).

#### 4.2.6 CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA

A análise térmica das Micropartículas, foi realizada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e por Análise Termogravimétrica (TGA). Foram utilizados aproximadamente 2 mg de cada micropartícula nas análises de DSC, usando cadinho de alumínio hermeticamente fechado. As amostras foram inicialmente aquecidas de 25°C até a 400°C a uma taxa de 10°C/min. Todas as varreduras foram feitas sob atmosfera de Nitrogênio a uma taxa de 20 ml/min.

Para o estudo do TGA foram utilizados aproximadamente 2 mg de cada micropartícula, usando cadinho de platina. As amostras foram inicialmente aquecidas de 25°C até a 600°C a uma taxa de 10°C/min. Todas as varreduras foram feitas sob atmosfera de Nitrogênio a uma taxa de 25 ml/min.

#### 4.2.7 ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO METRONIDAZOL

O estudo de liberação do fármaco metronidazol, foi realizado em triplicata e em duas soluções aquosa com pH de 1,2 e 6,8 à temperatura relativa à do corpo humano (37°C). O pH de 1,2 serve para fazer uma simulação do pH encontrado no estomago e o pH de 6,8 serve para fazer uma simulação do pH encontrado no intestino. Analisou-se a quantidade de Metronidazol liberada em função do tempo por espectroscopia UV-vis (Varian, modelo Cary 50) utilizando-se para o metronidazol  $\lambda_{max}$  de 275nm para o pH 1,2 e  $\lambda_{max}$  de 320nm para o pH 6,8. A curva de calibração para o Metronidazol foi preparada através de soluções aquosas de metronidazol com concentrações de 2 $\mu$ g/mL, 4 $\mu$ g/mL, 6 $\mu$ g/mL, 8 $\mu$ g/mL e 10 $\mu$ g/mL.

O experimento foi montado da seguinte maneira, no meio de liberação foram adicionadas as micropartículas carregadas com o fármaco e mais o tampão pH 1,2 e em outro meio de liberação foram adicionadas as partículas sem o fármaco e mais o tampão pH 1,2, este último funcionou como branco, o mesmo foi realizado para o tampão pH 6,8.

Os dados foram registrados da seguinte maneira, na primeira hora do experimento, foram registrados pontos de 15 em 15 minutos, da primeira hora até a quarta hora, foram registrados os pontos de 30 em 30 minutos, e da quarta até a oitava hora, os pontos foram registrados de 60 em 60 minutos e por último foi registrado o ponto final em 24 horas.

Para cada ponto registrado acima, era retirada uma alíquota da solução do elermeyer que continha a amostra, e uma alíquota da solução que continha o branco, e logo em seguida era novamente adicionada no meio a mesma alíquota retirada de seu respectivo tampão. Assim ao final do experimento obtivemos 16 amostras para cada experimento, que foram posteriormente analisadas em UV-Vis.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA

A viscosimetria é um método muito simples e fornece dados precisos e reprodutíveis. A viscosimetria de uma solução depende do polímero, solvente, temperatura, e da concentração da solução do polímero (MARK,2006). A viscosimetria capilar é um dos métodos mais simples e mais utilizados para determinar a massa molar viscosimétrica,  $M_v$ , de um polímero.

A partir das equações:

$$\eta_{rel} = t/t_0 \quad [\text{adimensional}] \quad \text{Equação 5}$$

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 \quad [\text{adimensional}] \quad \text{Equação 6}$$

$$\eta_{red} = \eta_{esp}/C \quad [L/g] \quad \text{Equação 7}$$

Podemos determinar a viscosidade intrínseca através de regressão linear da viscosidade reduzida versus concentração. Nas equações temos que  $\eta_{rel}$  é a viscosidade relativa,  $\eta_{esp}$  é a viscosidade específica e  $\eta_{red}$  é a viscosidade reduzida (LUCAS,2001) (KREVELER,2009).

A viscosidade intrínseca de um polímero é relacionada à massa molar média pela equação de Mark–Kuhn- Houwink–Sakurada (RIMMER,2007).

$$\eta = K.M^a \quad \text{Equação 8}$$

onde  $K$  e  $a$  são constantes para um dado sistema soluto-solvente a uma determinada temperatura e  $M$  a massa molar média do polímero.

Para cada concentração foram realizadas 10 tomadas de tempo, a média calculada é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentração e média dos tempos para as soluções de QUI em tampão acetato

Solução	Concentração (g/mL)	Tempo (s)	Desvio Padrão
Tampão Acetato	0	96,44	0,63
1	1,00E-03	169,44	1,82
2	9,09E-04	161,45	1,45
3	8,00E-04	153,21	0,67
4	6,90E-04	143,17	1,07
5	6,06E-04	137,48	0,47

Calculando as viscosidades relativa, específica e reduzida (Equações 6, 7 e 8), obtemos:

Tabela 3 – Viscosidade relativa, específica e reduzida para as amostras de QUI em tampão acetato.

Solução	$\eta_{rel} = t/t_0$	$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1$	$\eta_{red} = \eta_{esp}/C$
1	1,76	0,76	753,93
2	1,67	0,67	741,58
3	1,59	0,59	735,82
4	1,48	0,48	702,25
5	1,43	0,43	702,23

Traçando-se o gráfico  $\eta_{red}$  versus C (Gráfico 1), obtemos a viscosidade intrínseca  $\eta$ , na interseção da curva com o eixo y da viscosidade reduzida, sendo igual a 624,8096 mL/g.

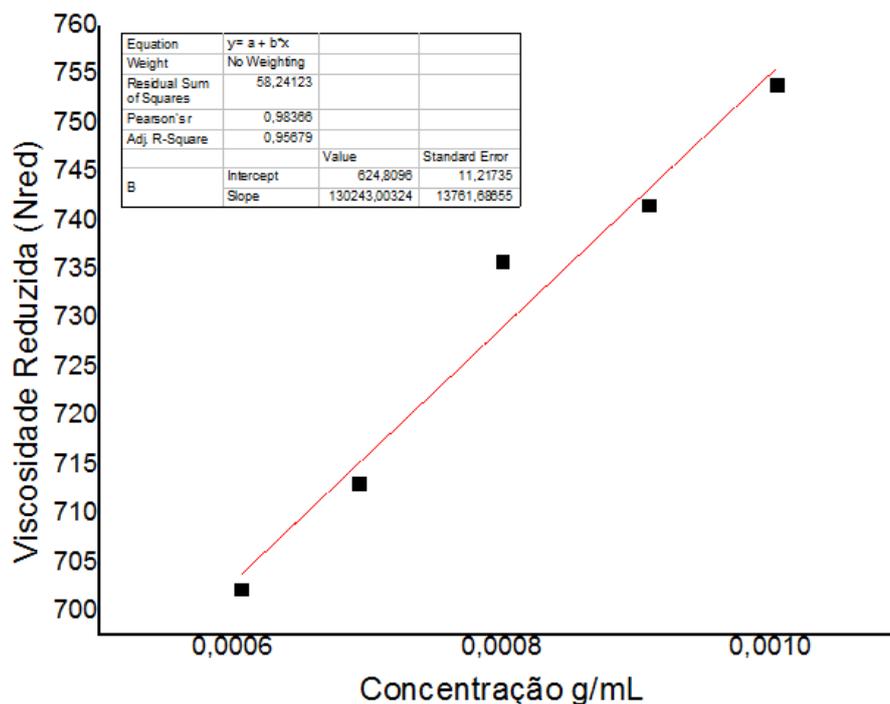


Figura 13 - Viscosidade reduzida em função da concentração para a QUI em tampão acetato.

Os valores das constantes  $K$  e  $a$  da equação de Mark–Kuhn- Houwink– Sakurada para a QUI em tampão acetato, a  $25 \pm 0,1$  °C, bem como a massa molar viscosimétrica média obtida experimentalmente, segundo a mesma equação, encontram-se na Tabela 3.

Tabela 4 - Valor da Massa Molar Média para a QUI em tampão acetato a 25°C

Polímero	Solvente	Constante		Mv (Da)
		$K \cdot 10^2$ (mL/g)	$a$	
QUI	NaAc (0,2 mol/L),	7,4	0,76	$1,47 \times 10^5$
	Ac. Acético (0,3 mol/L)			

A massa molar influencia consideravelmente as propriedades físico-química dos polímeros. A massa molar da QUI depende de sua origem (fonte natural: camarão, caranguejo, etc), mas também pode mudar durante o processo químico de desacetilação. A massa molar pode diminuir quando aumenta o grau de desacetilação.

Na QUI a massa molar influencia, entre outras, as seguintes propriedades, degradação, resistência mecânica e o teor de umidade. Quanto maior a massa molar, melhor a propriedade mecânica e maior a capacidade de adsorção de umidade. QUI com alta massa molar (entre  $1 \cdot 10^4 - 1,2 \cdot 10^5$ ) como a encontrada na QUI comercial estudada neste trabalho, mostraram ser mais eficientes no encapsulamento de proteínas, reduzindo a cinética de liberação.

## 5.2 GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA

A medida do grau de desacetilação da QUI se torna muito importante, pois determina sua solubilidade em ácidos diluídos e tem influência na sua reatividade.

Esse parâmetro foi determinado utilizando a técnica espectroscópica de FTIR-ATR, pelo método de Baxter, que calcula o grau de N-acetilação, pela equação 5.

Com a ajuda do Origin. Pro 9, podemos calcular as áreas dos picos no espectro de FTIR da QUI, os valores encontrados para as áreas no espectro da QUI estão na tabela 5.

Tabela 5 – Valor da área dos picos da QUI.

QUI	Valores
A <sub>3540</sub>	6505,7
A <sub>1655</sub>	422,55

Pela Equação 5, obtemos que o Grau de N-acetilação (%) = 7,47 ou seja o Grau de desacetilação da QUI é de 92,53 %.

O grau de desacetilação é um parâmetro de grande importância na caracterização da QUI. Este parâmetro determina várias propriedades físicas químicas e biológicas da QUI tais como, hidrofobicidade cristalinidade, degradação e resposta celular. Segundo a literatura, QUI com graus de desacetilação maiores que 0% ou 100% apresentam prolongados tempos de degradação e elevada adesão celular. De maneira diferente, QUI com graus de desacetilação intermediários mostram altas velocidades de degradação, mas apresentam limitada adesão celular.

### 5.3 PREPARAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS DE CPE (QUI-CMC)

As micropartículas de CPE (QUI-CMC) foram preparadas com êxito. A Tabela 6 mostra resumidamente o rendimento obtido em cada procedimento, assim como o aspecto físico das micropartículas. O rendimento foi calculado considerando a massa inicial dos polímeros e agente de entrecruzamento, quando usado, e a massa final obtida de micropartículas, qualquer outra massa formada no meio reacional, não foi considerada no cálculo do rendimento.

Tabela 6 - Rendimento médio obtido nos procedimentos seguidos para a preparação das micropartículas.

Procedimento de preparação	Rendimento médio (%)	Aspecto físico das Micropartículas
CPE (QUI-CMC)	75,0 ± 7,1	Esféricas e brancas
<i>CPE (QUI-CMC) com STPP</i>	70,0 ± 7,1	Esféricas e brancas
<i>CPE (QUI-CMC) com GLA</i>	65,0 ± 7,1	Esféricas e amareladas

Os resultados obtidos nos diferentes procedimentos mostraram que a técnica de emulsão óleo – água, permitiu preparar micropartículas de CPE (QUI-CMC) de maneira simples e reprodutível. Os rendimentos obtidos nos três procedimentos são próximos, considerando a margem de erro do desvio padrão. A perda no rendimento foi devido à adesão e aglomeração de certa quantidade de massa dos polímeros na superfície do agitador mecânico, ou massa de CPE que não formou micropartícula. Portanto, um estudo das condições experimentais tais como agitador mecânico a usar, velocidade de agitação, otimização da razão óleo/água e concentração de agente emulsificante, podem ser realizados visando o aumento do rendimento.

#### 5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS POR FTIR

Utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho é possível comparar um espectro da QUI pura com um espectro das micropartículas e com isso, notar a presença de banda de absorção antes inexistente na QUI pura.

A Figura 14 mostra as bandas características da QUI comparativamente ao CPE (QUI-CMC). As bandas características da QUI são observadas a  $3343\text{ cm}^{-1}$  e  $3237\text{ cm}^{-1}$  bandas de vibração de estiramento das ligações O-H e N-H, respectivamente. Estas bandas são largas devido às interações intermoleculares entre as cadeias do polissacarídeo. Dentre as principais bandas encontramos a banda da Amida I, banda de estiramento C=O aparece em  $1626\text{ cm}^{-1}$  e Amida II em  $1589\text{ cm}^{-1}$ , banda de deformação N-H. Na região próxima a  $1000\text{ cm}^{-1}$  são observadas as bandas características da estrutura sacarídea da QUI. No espectro do CPE (QUI-CMC) podemos conferir que a banda Amida I e Amida II aparecem sobrepostas com a vibração da banda carbonila (C=O) do CMC, que foi deslocada a  $1583\text{ cm}^{-1}$ , a qual era originalmente em  $1739\text{ cm}^{-1}$  como consequência da interação iônica entre os polímeros QUI e CMC no complexo.

Não foi realizada a comparação do FTIR da micropartícula do CPE (QUI-CMC) com a micropartícula estabilizada com STPP e com GLA, pois a quantidade dos agentes de entrecruzamento é muito pequena devido à contração do polímero, portanto, não foi possível a sua identificação no infravermelho.

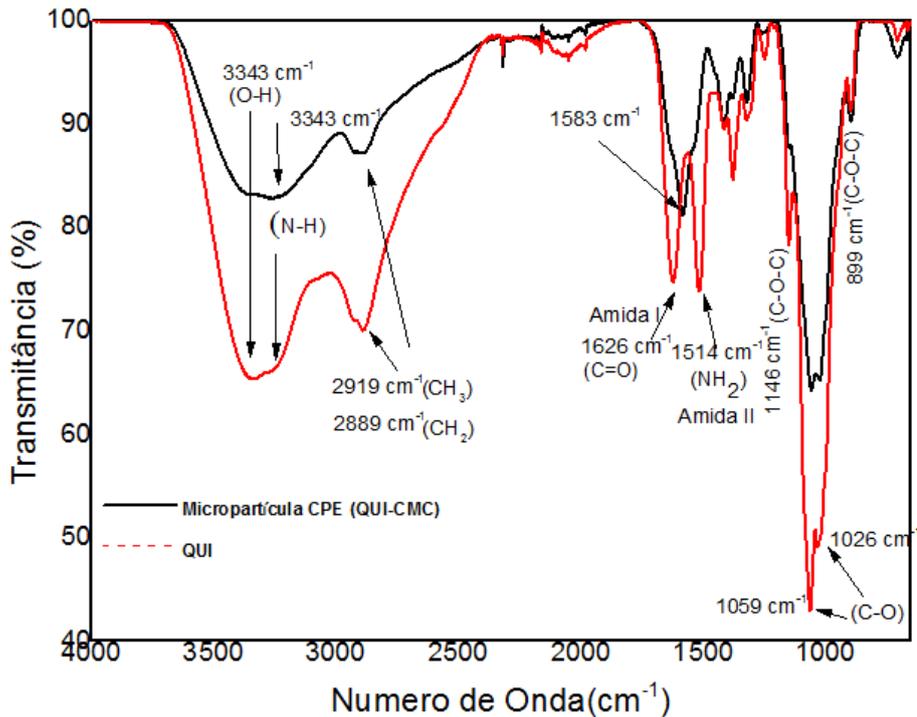


Figura 14 - Espectro comparativo da QUI com a micropartícula de QUI-CMC.

A Figura 15 mostra as bandas características da CMC comparativamente ao CPE (QUI-CMC). A banda característica do CMC é a banda de estiramento C=O, do ânion carboxilato, localizada em  $1739\text{ cm}^{-1}$ . Podemos observar que esta banda se desloca a  $1589\text{ cm}^{-1}$ , devido à interação iônica entre o ânion carboxilato ( $\text{COO}^-$ ) do CMC e o grupo amina protonado ( $-\text{NH}_3^+$ ) da QUI.

A espectroscopia na região do infravermelho não é uma técnica concluinte na afirmação da formação do CPE (QUI-CMC), sendo assim necessário o uso de outras técnicas para que se possa confirmar a formação de um novo composto, no caso a formação do CPE de QUI e CMC, é necessário o uso de técnicas de análise complementares, como as técnicas de análise térmica.

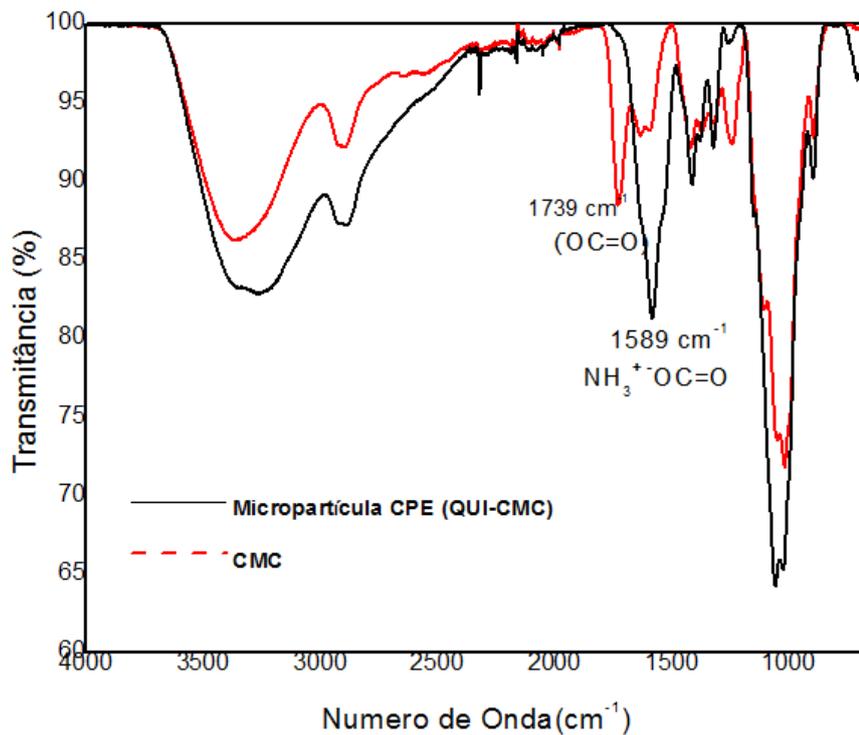


Figura 15 - Espectro comparativo da CMC com a MP de QUI-CMC.

## 5.5 CARACTERIZAÇÃO POR ANÁLISE TÉRMICA

### 5.5.1 ANÁLISE POR TERMOGRAVIMETRIA

A Figura 16, mostra os resultados obtidos das análises termogravimétricas para as micropartículas (MP) de CPE (QUI-CMC) comparativamente aos polímeros puros QUI e CMC. Observa-se que a degradação de todas as amostras acontece em dois estágios diferentes. O primeiro é referente à perda de água residual das amostras, e a segunda perda de massa está relacionada à decomposição dos polímeros. No primeiro estágio, é possível verificar que a MP de CPE (QUI-CMC) têm maior conteúdo de água do que a QUI e semelhante ao da CMC. Além disso, a temperatura de início da degradação da MP de CPE (QUI-CMC) é maior que a temperatura de decomposição dos polímeros puros.

O aumento da estabilidade térmica confirma a formação do CPE, onde os polímeros estão constituindo um novo composto a partir das interações iônicas estabelecidas entre suas cadeias macromoleculares. Este novo composto que chamamos de CPE (QUI-CMC) apresenta propriedades diferenciadas em relação aos polímeros que lhe deram origem. Também podemos observar que tanto a

micropartícula quanto os polímeros QUI e CMC não degradam completamente permanecendo um resíduo a 600°C.

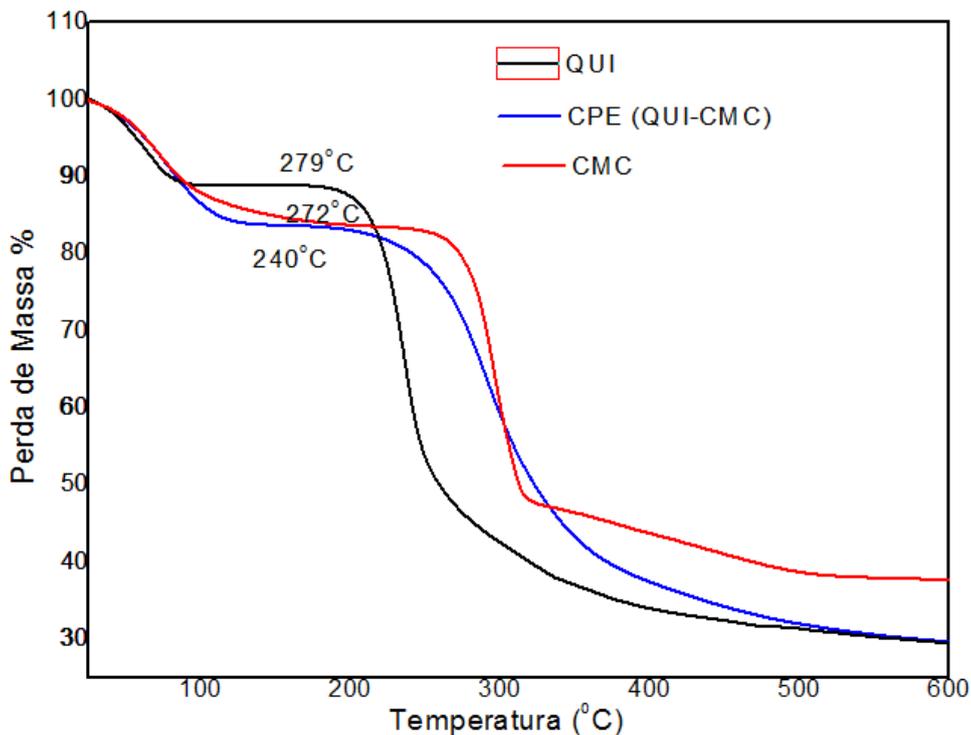


Figura 16 - Curva da perda de massa em função da temperatura da (a) QUI, (b) CMC, (c) Micropartícula de QUI e CMC na faixa de temperatura de 25°C até 600°C.

A Figura 17, mostra os resultados obtidos das análises termogravimétricas para as micropartículas (QUI-CMC), comparativamente às MP de CPE (QUI-CMC) com STPP e CEP (QUI-CMC) com GLA. Observa-se que a degradação da MP de CPE sem agente de entrecruzamento ocorre a uma temperatura menor, porém a inclinação da curva de degradação é semelhante para todas as MPs. A micropartícula com menor perda de água é a MP de CPE (QUI-CMC) com GLA, uma vez que devido às ligações covalentes formadas entre o GLA e a QUI diminui os grupos hidrofílicos na macromolécula de QUI, fazendo assim com que a quantidade de água absorvida naturalmente na molécula diminua. A MP de CPE (QUI-CMC) com GLA, ao final da degradação deixa um menor resíduo que os demais MPs.

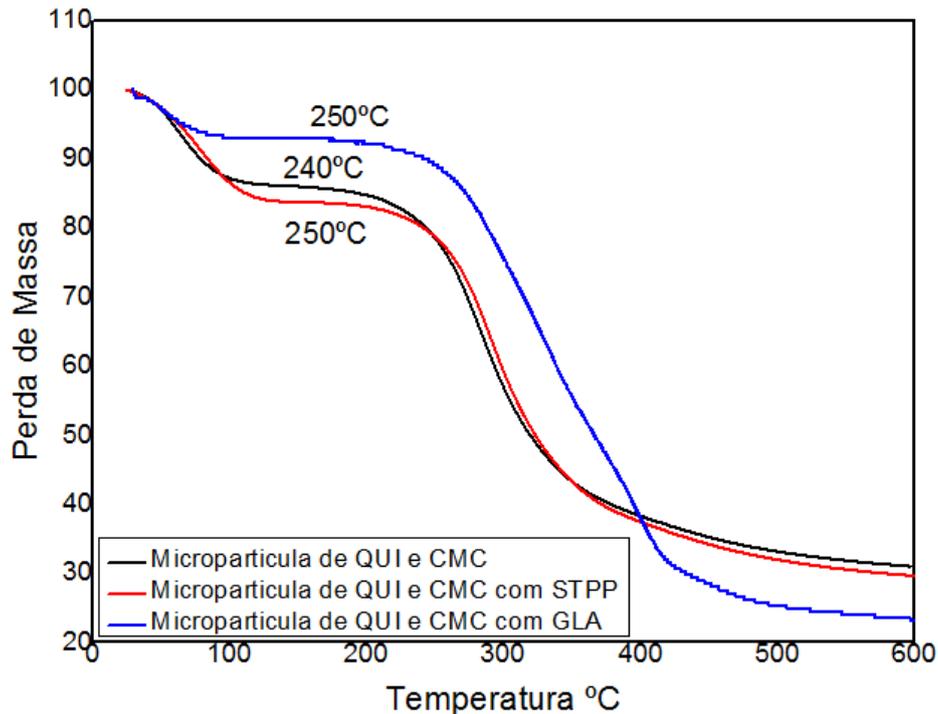


Figura 17 - Curva da perda de massa em função da temperatura do (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA na faixa de temperatura de 25°C até 600°C.

### 5.5.2 ANÁLISE POR CALORIMETRIA EXPLORATORIA DIFERENCIAL

A Figura 18, mostra comparativamente os resultados obtidos pela análise de DSC para as micropartículas de CPE (QUI-CMC) e os polímeros puros. Observa-se em todas as amostras um pico endotérmico relacionado à evaporação de água e um pico exotérmico relacionado com a decomposição dos polímeros. Atribuímos o pico exotérmico ao processo de degradação baseando-nos na Figura 16, nesta faixa de temperatura começa a degradação dos polímeros puros e do CPE (QUI-CMC). Como mostram os termogramas da Figura 16 existe até 600°C uma massa considerável de resíduo, que não degrada, evidencia de que reações exotérmicas aconteceram formando espécies estáveis termicamente até 600°C. Se observa que a queda da curva no pico de evaporação da água é maior na MP de CPE (QUI-CMC), o que sugere que a micropartícula perde a água com maior rapidez que os polímeros puros, é dizer a água na MP se volatiliza mais facilmente.

Esse comportamento pode ser atribuído à interação entre os grupos hidrofílicos amina protonado e carboxilato na MP, que diminui a intensidade da interação do material com a água, permitindo uma volatilização mais rápida. Além disso, a degradação das amostras evidencia que as reações exotérmicas iniciam a menor temperatura na MP de CPE (QUI-CMC) devido às interações iônicas, já estabelecidas entre as cadeias de ambos os polímeros. Podemos ver que esse calor é liberado mais lentamente e representa uma área maior, porém, o calor exotérmico de reação durante a degradação dos polímeros puros ocupa uma área menor.

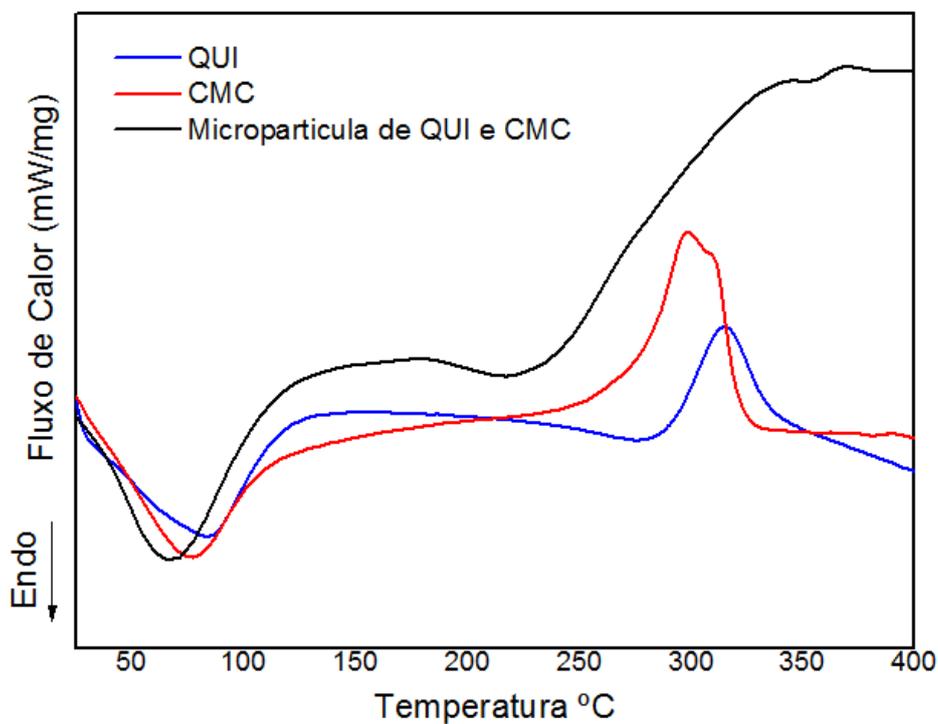


Figura 18 – Perfil Térmico dos polímeros QUI e CMC, e do CPE (QUI-CMC).

A Figura 19 mostra o perfil térmico das MPs de CPE contendo o agente de entrecruzamento. Observa-se que o pico endotérmico referente à perda de água é mais significativo na MP com GLA, devido a que a ligação covalente entre o GLA e a QUI (na formação do CPE) diminui a hidrofilicidade, afinidade pela água, consequentemente maior a velocidade no processo endotérmico de perda de água.

Observa-se na Figura 19 que o pico exotérmico de reação, referente à degradação das MPs é iniciado muito antes na MP de CPE (QUI-CMC) com GLA, demonstrando que o GLA não reagiu completamente, nas condições experimentais, durante o processo de preparação da MP de CPE.

Já os picos exotérmicos de reação referentes ao processo de degradação da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP e sem agente de entrecruzamento tem temperatura inicial de degradação próxima, e perfil de degradação semelhante. Isto é atribuído a que ambos complexos se formam através de interações iônicas entre as cadeias macromoleculares dos polímeros QUI e CMC, e QUI-CMC quando STPP está presente.

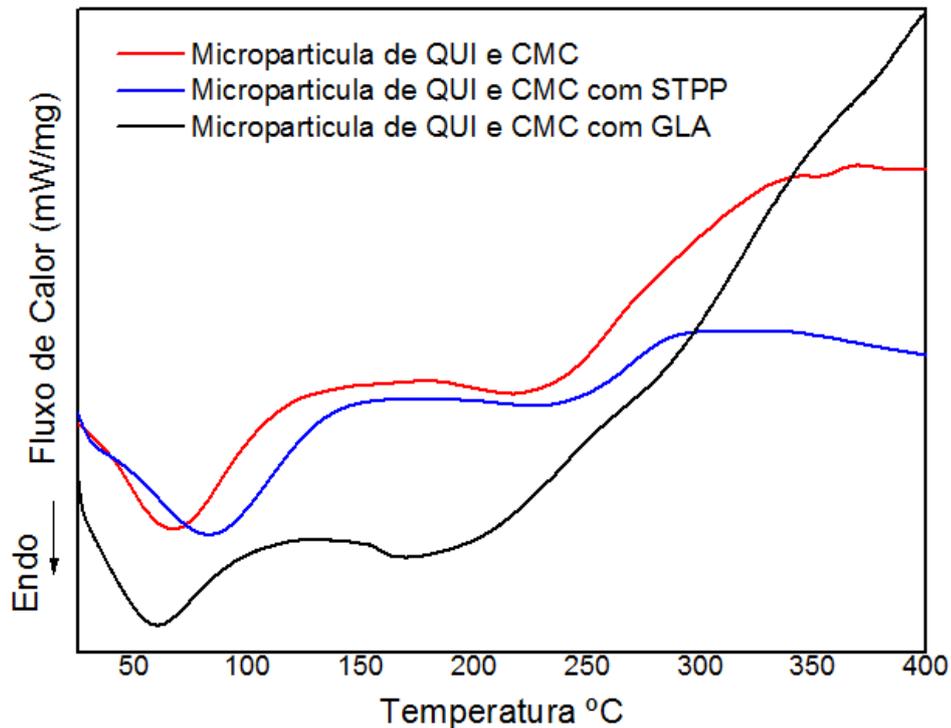


Figura 19 – Perfil Térmico da MP (a) CPE (QUI-CMC), (b) CPE (QUI-CMC) com STPP, (c) CPE (QUI-CMC) com GLA.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Com a ajuda do microscópio eletrônico de varredura é possível ver claramente a morfologia das micropartículas e com isso notar a mudança na esfericidade das micropartículas com e sem agentes de entrecruzamento e também aproximar o tamanho da micropartícula. Ao analisarmos as micrografias obtidas pelo MEV, nota-se que as imagens foram feitas por elétrons retroespalhados, uma vez que devido ao

caráter não condutor das micropartículas ao tentar usar a imagem por elétrons secundária está se carregou muito e dificultou a sua visualização.

### 5.3.1 MORFOLOGIA DA MICROPARTICULA DE CPE (QUI-CMC)

Observando a Figura 20, pode se notar que as MPs não são totalmente esféricas, porem possuem inúmeros poros. A presença destes poros favorecerá a absorção e posterior liberação do metronidazol. As micropartículas possuem rugosidade e tamanho em torno de 400  $\mu\text{m}$ .

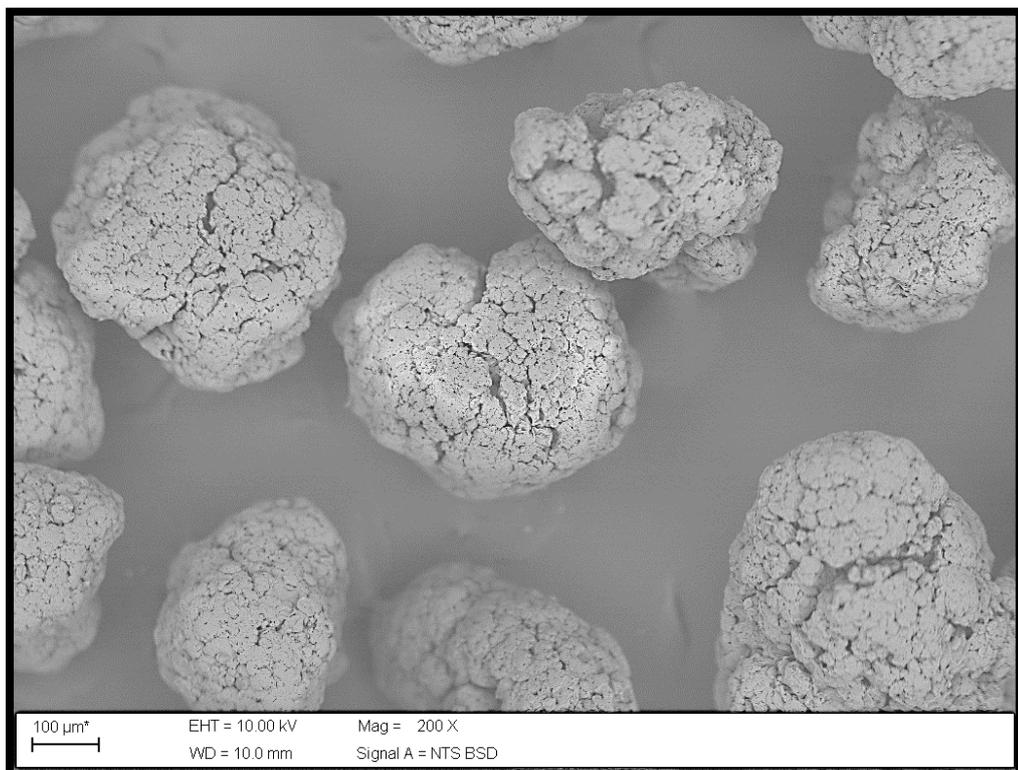


Figura 20 – Micrografia das MPs de CPE (QUI-CMC).

### 5.3.2 MORFOLOGIA DA MICROPARTICULA DE CPE (QUI-CMC) COM STPP

Observando a Figura 21, pode se notar que as micropartículas não são totalmente esféricas, ocorrendo o que se era esperado, uma vez que na literatura

existem trabalhos que relacionam a diminuição da esfericidade com o aumento da concentração de STPP, usado como agente de entrecruzamento, porém as micropartículas ainda possuem inúmeros poros, por estes que são desejados, como já dito anteriormente, para armazenar o fármaco modelo metronidazol.

As MPs possuem rugosidade e tamanho bem variável, algumas medindo mais que 400  $\mu\text{m}$  e outras menos, devido à perda da esfericidade se torna difícil medir o tamanho médio das partículas somente pelo MEV.

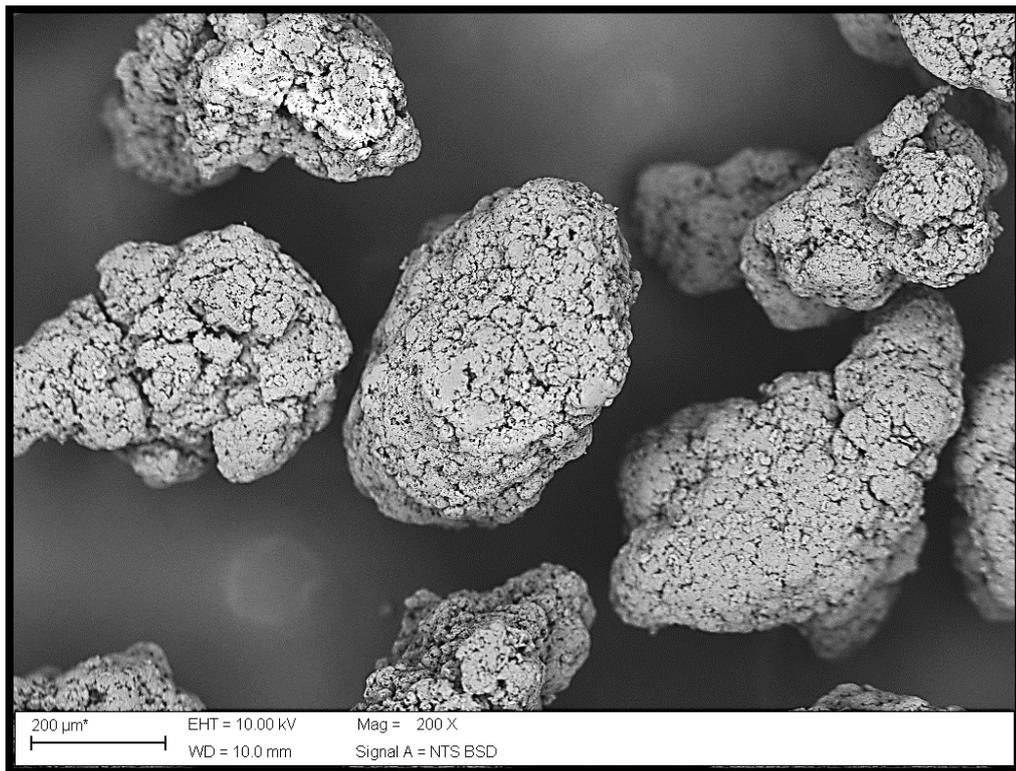


Figura 21 – Micrografia das MP de CPE (QUI-CMC) com STPP.

### 5.3.3 MORFOLOGIA DA MICROPARTICULA DE CPE (QUI-CMC) COM GLA

Analisando a Figura 22, percebemos a formação de uma micropartícula impar quando usamos o agente de entrecruzamento GLA. A micropartícula perde totalmente sua esfericidade, algo também comprovado por diversos estudos. Porém, se observa uma ligeira diminuição no tamanho, se calculamos o tamanho médio encontramos um valor em torno de 350  $\mu\text{m}$ .

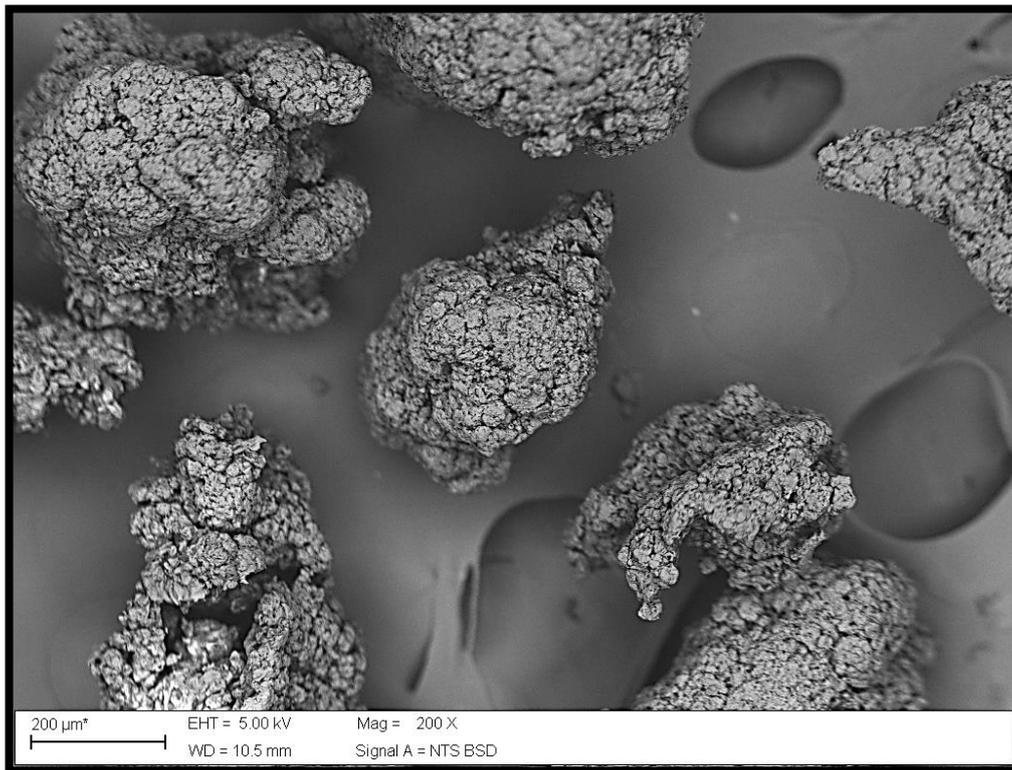


Figura 22 – Micrografia das MP de CPE (QUI-CMC) com STPP.

Nota-se que todas as micropartículas produzidas possuem o seu requisito principal que é a grande quantidade de poros, a partir dos quais pode ser introduzido um fármaco modelo, no caso do presente trabalho o metronidazol e estudar o seu perfil de liberação em diferentes pH, tornando assim, a micropartícula produzida um método de dosagem terapêutica.

#### 5.4 ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO METRONIDAZOL

O estudo da cinética de liberação de fármaco envolve processos simultâneos de absorção de água pelas MPs, seu intumescimento e por fim o relaxamento das cadeias poliméricas, liberando o fármaco incorporado. Assim, a liberação do fármaco será controlada pela interação dos tampões, a micropartícula e o fármaco.

Conseqüentemente, o tratamento matemático, abrangendo todos esses mecanismos torna-se muito complexo. Para o sistema de liberação utilizado neste estudo, foram utilizadas as seguintes equações empíricas: Modelo de Higuchi e Modelo de Korsmeyer-Peppas, que são equações derivadas da Lei de Fick.

Inicialmente, elaborou-se a curva de calibração do Metronidazol diluído em dois tipos diferentes de tampões: tampão pH 1,2 e tampão pH 6,8.

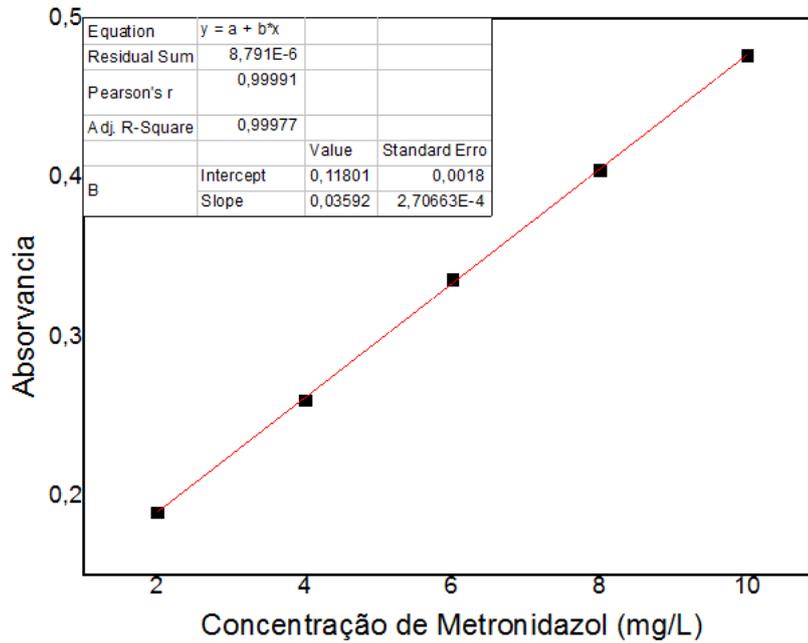


Figura 23 – Curva Padrão de Liberação de MDZ em tampão pH 1,2.

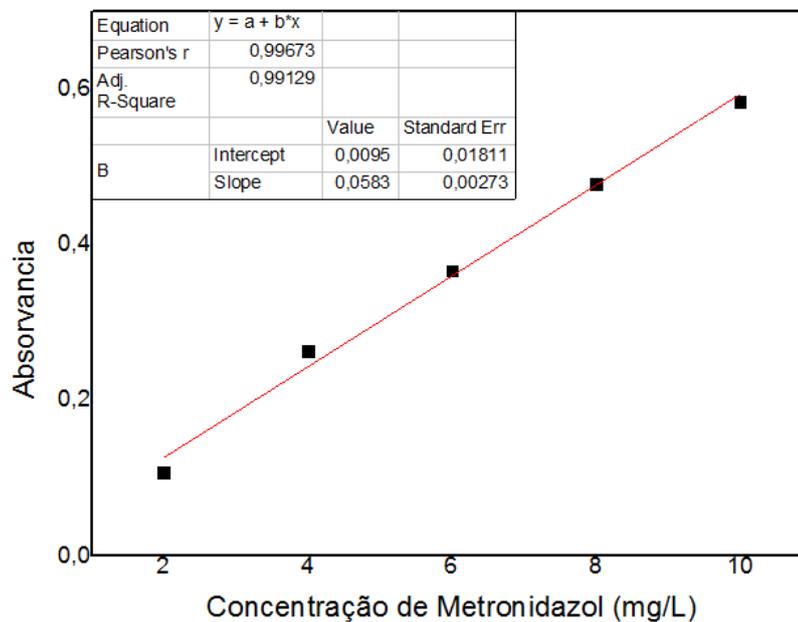


Figura 24 – Curva Padrão de Liberação de MDZ em tampão pH 6,8.

Assim, pelas Figuras 23 e 24, temos as equações 9 e 10 de calibração do MDZ em tampão pH 1,2 e pH 6,8, respectivamente.

$$A = 0,03592C - 2,7066 \times 10^{-4} \quad \text{Equação 9}$$

$$A = 0,0583C - 2,73 \times 10^{-3} \quad \text{Equação 10}$$

Onde A é a absorvância e C a concentração de MDZ.

Os testes de liberação de MDZ foram realizados em tampão por 24 horas. As amostras, foram separadas em dois grupos, um grupo com tampão pH 1,2 e outro grupo com tampão pH 6,8, as amostras ficaram submersas à temperatura de 37°C simulando a temperatura do corpo humano, sob agitação constante. A Figura 25 representa a massa liberada de MDZ no tempo com o tampão pH 1,2.

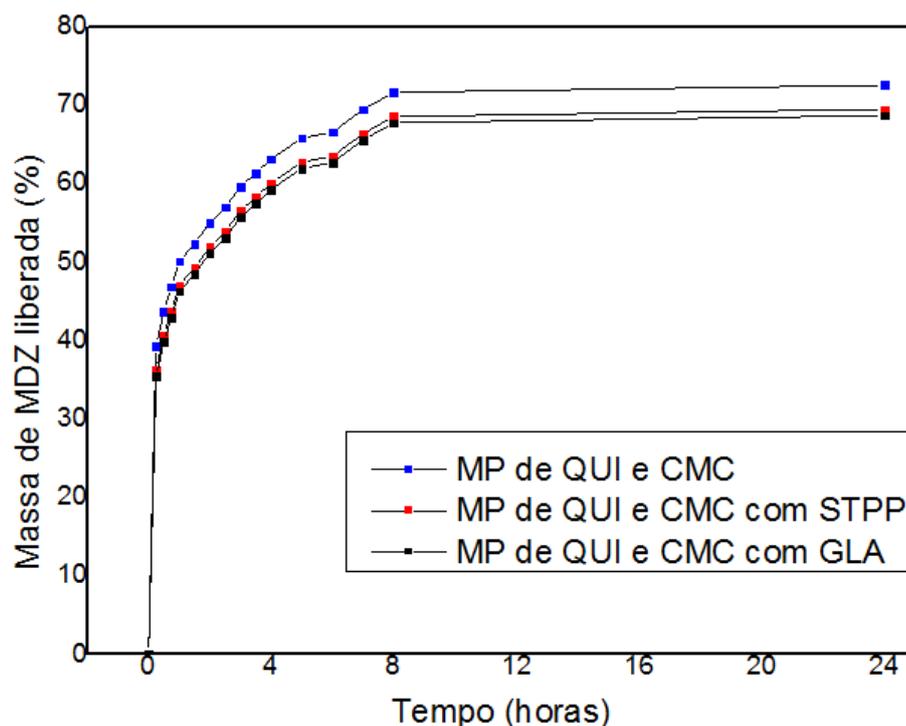


Figura 25 – Massa de MDZ liberada em horas no tampão pH 1,2. (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA.

Analisando a Figura 25, pode se perceber que a liberação da MP de CPE sem nenhum agente de entrecruzamento é mais efetiva, liberando fármaco de forma continua até o final do tempo, sendo a sua liberação algo em torno de 70% da massa de MDZ carregada. As MPs de CPE com agente de entrecruzamento apresentam quase a mesma liberação, o fato da sua liberação ter sido menor que a MP sem agente

de entrecruzamento se deve às macromoléculas estarem mais próximas no CPE, e que dificulta a difusão do tampão.

O mesmo perfil de liberação pode ser observado para a liberação em pH 6,8, da Figura 26, onde a MP de CPE sem agente de entrecruzamento libera mais que 80% de MDZ, enquanto as MPs com agente de entrecruzamento liberam em torno de 80 %. Observa-se também que o pH influencia na liberação sendo o processo favorecido a pH menos ácido.

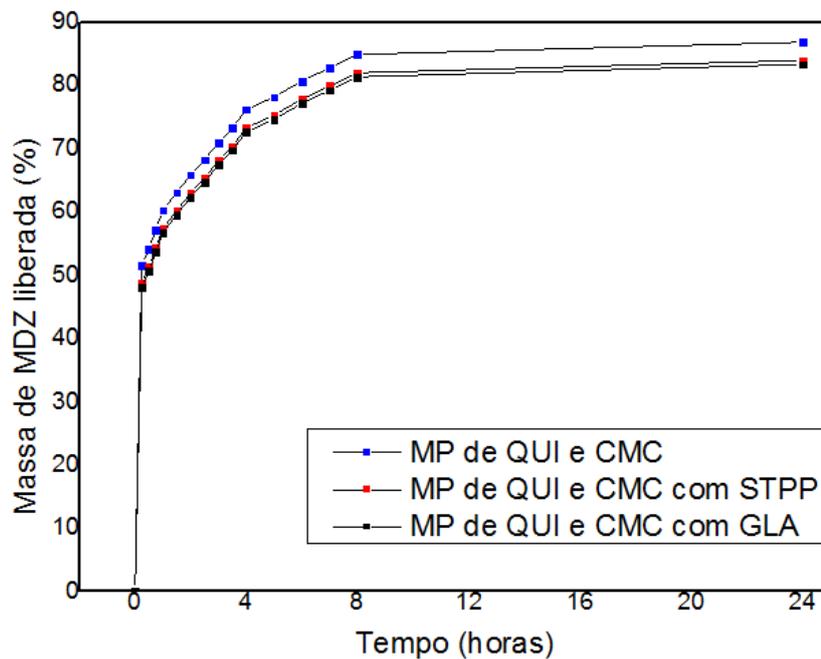


Figura 26 – Massa de MDZ liberada em horas no tampão pH 6,8 (a) MP de QUI e CMC, (b) MP de QUI e CMC com STPP, (c) MP de QUI e CMC com GLA.

Utilizando o modelo de liberação de Higuchi, temos as seguintes informações, obtidas a partir do ajuste da equação 2 nos dados representados nas Figuras 27, 28, 29, 30, 31, 32.

Tabela 7 – Constante de Higuchi (Kh) para todas as MPs.

Micropartículas de CPE	Constante de Higuchi (Kh)
(QUI-CMC) em pH 1,2	0,1834
(QUI-CMC) com STPP em pH 1,2	0,1915
(QUI-CMC) com GLA em pH 1,2	0,1937
(QUI-CMC) em pH 6,8	0,1687

---

 (QUI-CMC) com STPP em pH 6,8
 

---

0,1745

---

 (QUI-CMC) com GLA em pH 6,8
 

---

0,1758

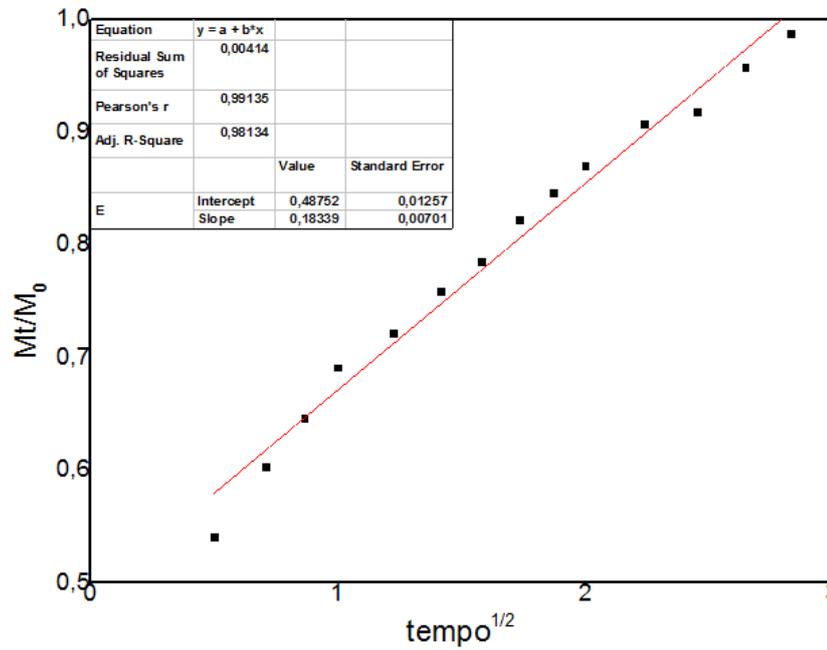


Figura 27 –  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 1,2.

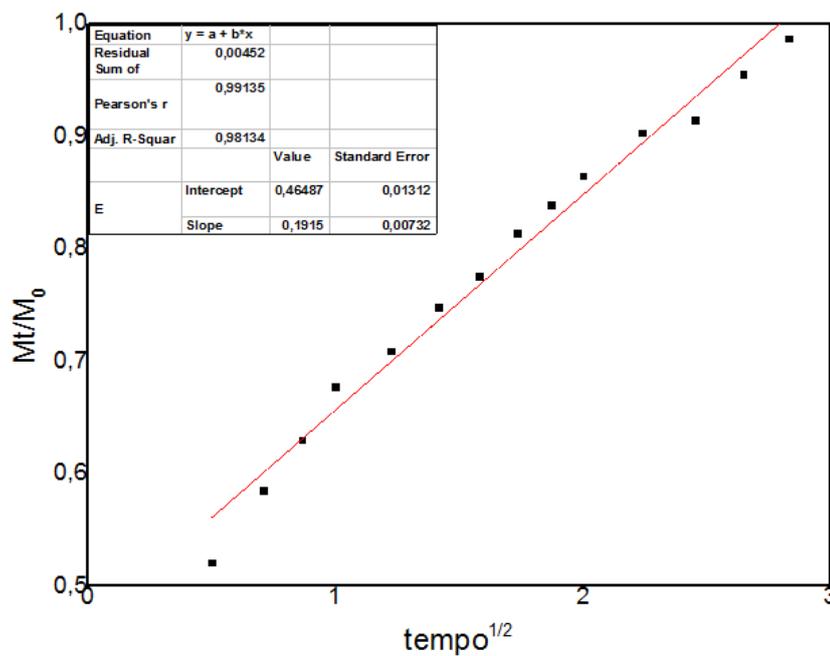


Figura 28 -  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 1,2.

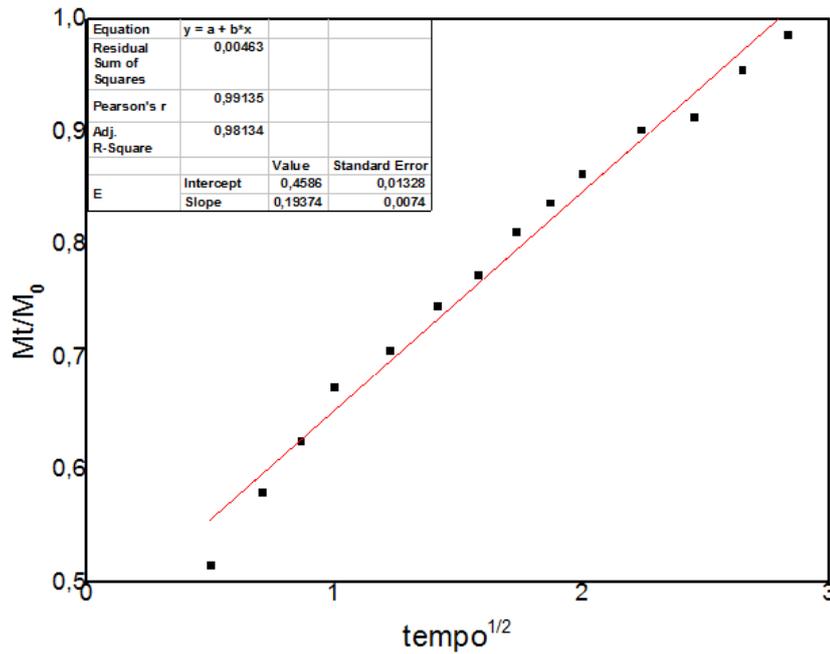


Figura 29 -  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 1,2.

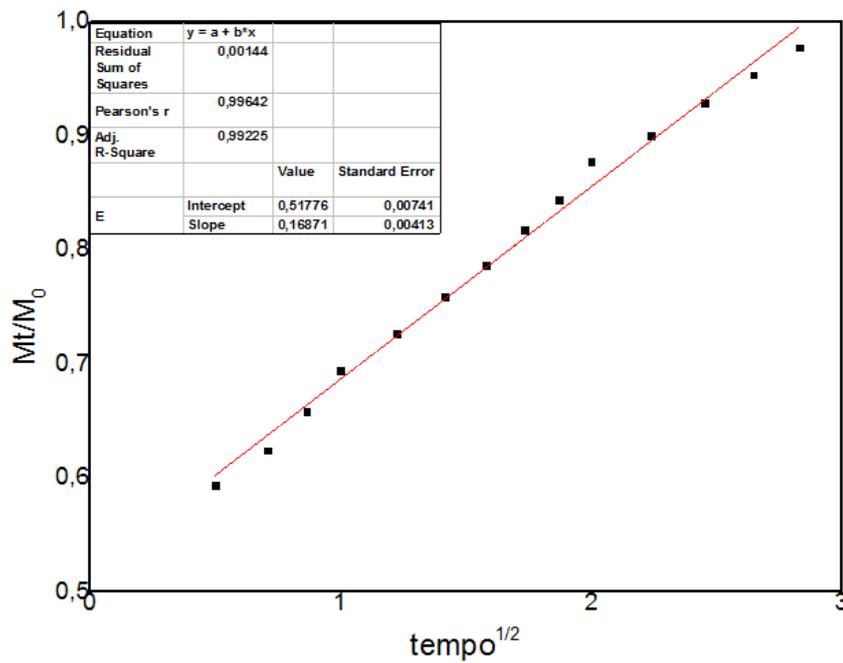


Figura 30 -  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 6,8.

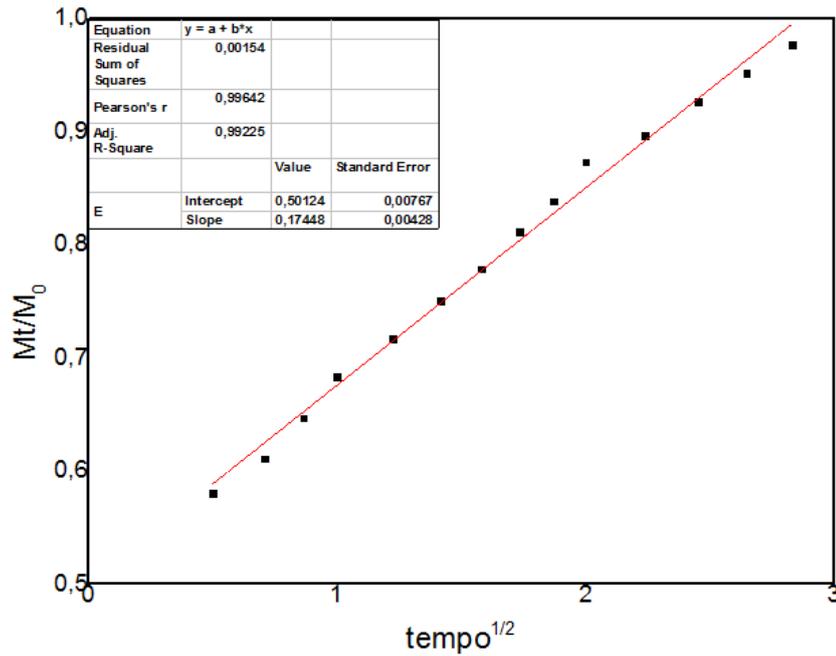


Figura 31 -  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 6,8.

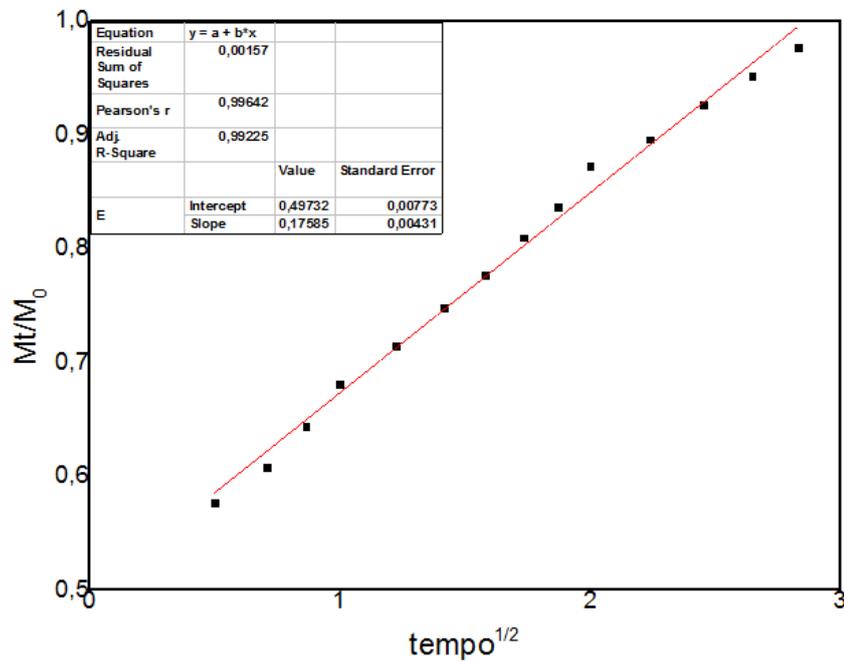


Figura 32 -  $M_t/M_0$  em função do tempo  $^{1/2}$  da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 6,8.

Se observamos todos os gráficos do ajuste da equação 2 podemos concluir que o Modelo de Higuchi ajusta melhor a pH 6,8, onde o  $R^2= 0,99$ . A partir da tabela 7 podemos concluir que a constante cinética  $K_h$ , Constante de Higuchi, não varia

significativamente nos diferentes sistemas, mostrando assim que é a porosidade e não a forma da partícula o parâmetro que influencia na cinética de liberação.

Utilizando o modelo de liberação de Korsmeyer- Peppas (Equação 3), e partir dos ajustes dos dados apresentados nas Figuras 33, 34, 35, 36, 37, 38, temos os valores de n e K.

Tabela 8 – Valores das Constantes n e K, pelo modelo de liberação de Korsmeyer-Peppas, para todas as MPs.

Micropartículas de CPE	n	K
(QUI-CMC) em pH 1,2	0,1725	0,3842
(QUI-CMC) com STPP em pH 1,2	0,1831	0,4061
(QUI-CMC) com GLA em pH 1,2	0,1861	0,4122
(QUI-CMC) em pH 6,8	0,1524	0,3581
(QUI-CMC) com STPP em pH 6,8	0,1593	0,3734
(QUI-CMC) com GLA em pH 6,8	0,1610	0,3771

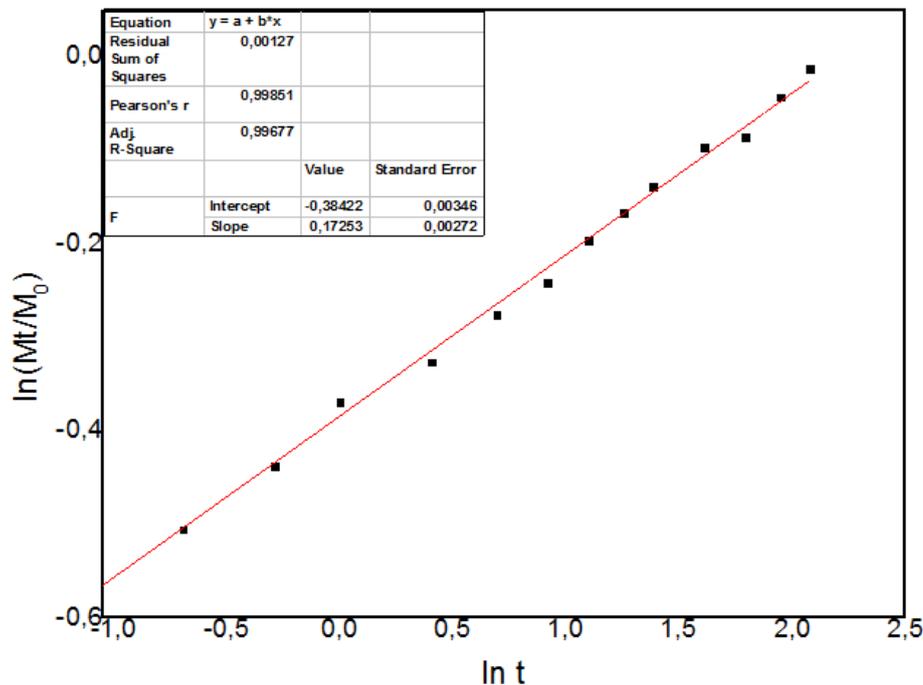


Figura 33 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 1,2.

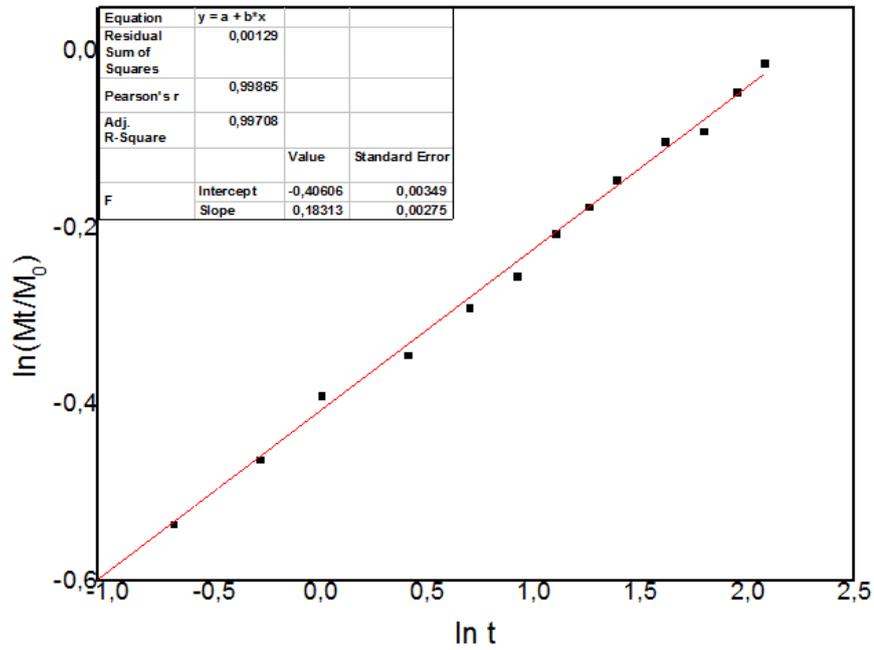


Figura 34 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 1,2.

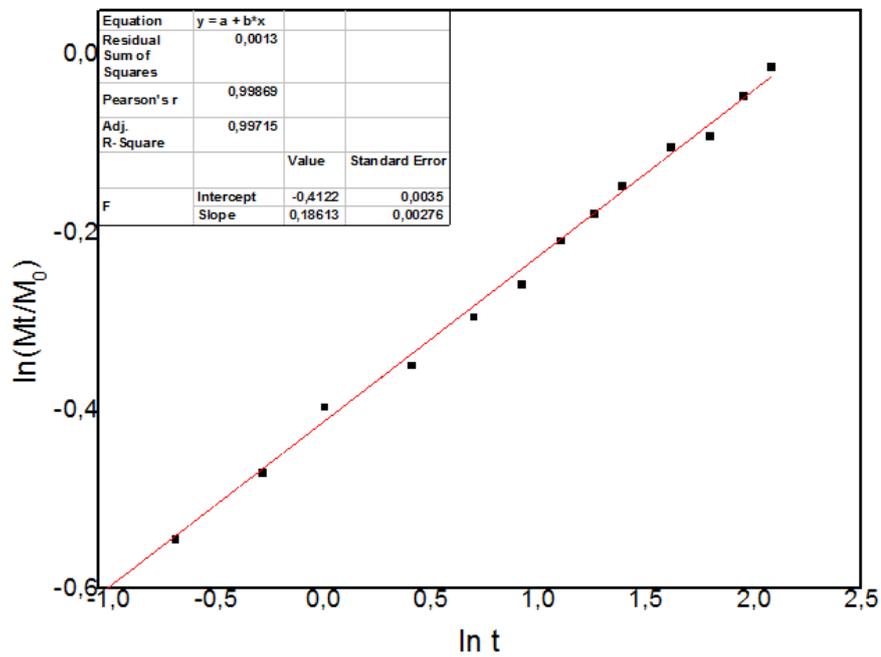


Figura 35 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 1,2.

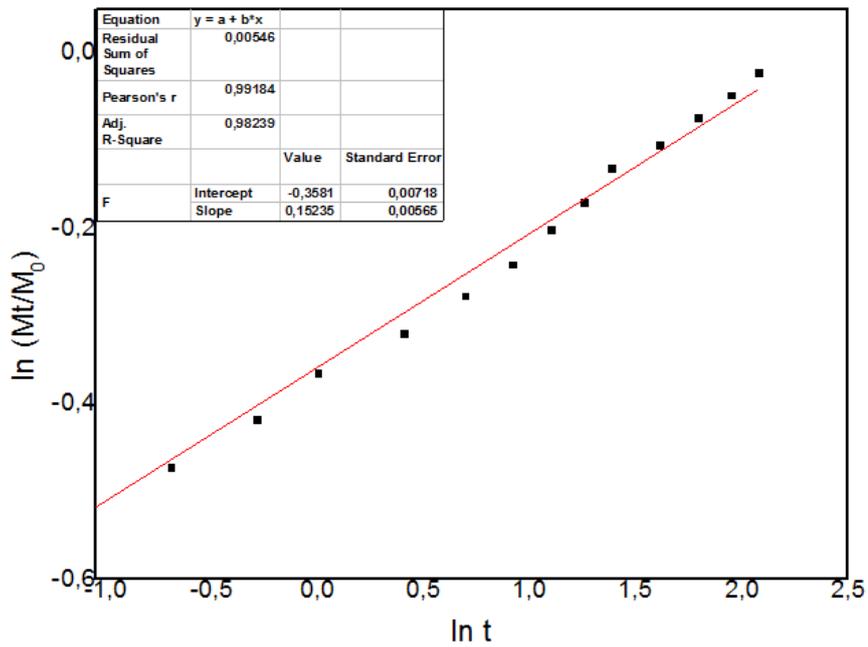


Figura 36 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) em pH 6.8.

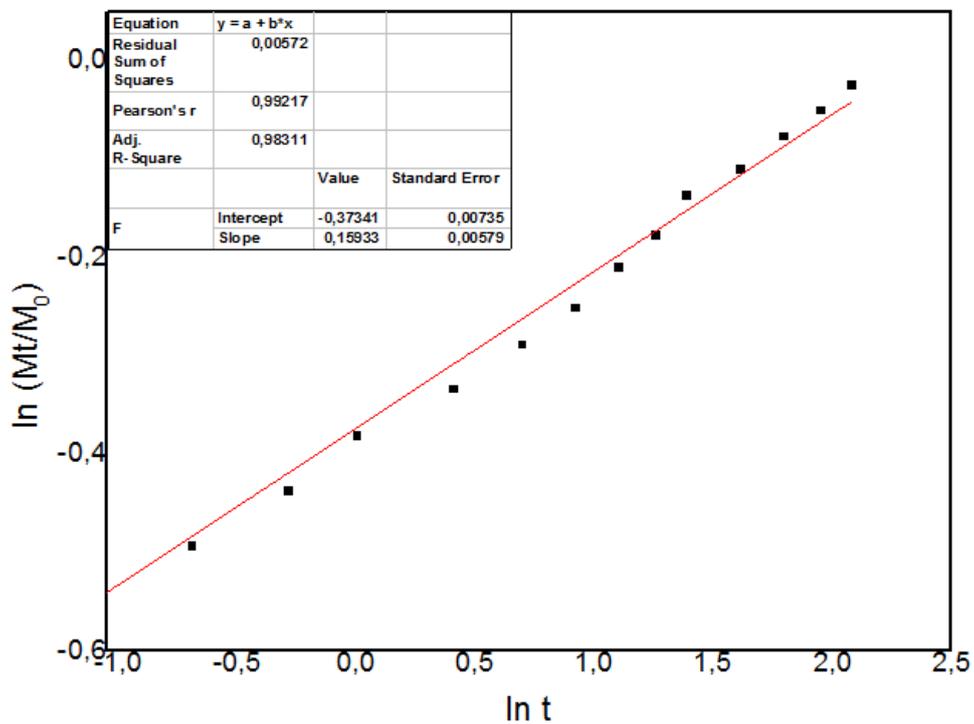


Figura 37 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) com STPP em pH 6.8.

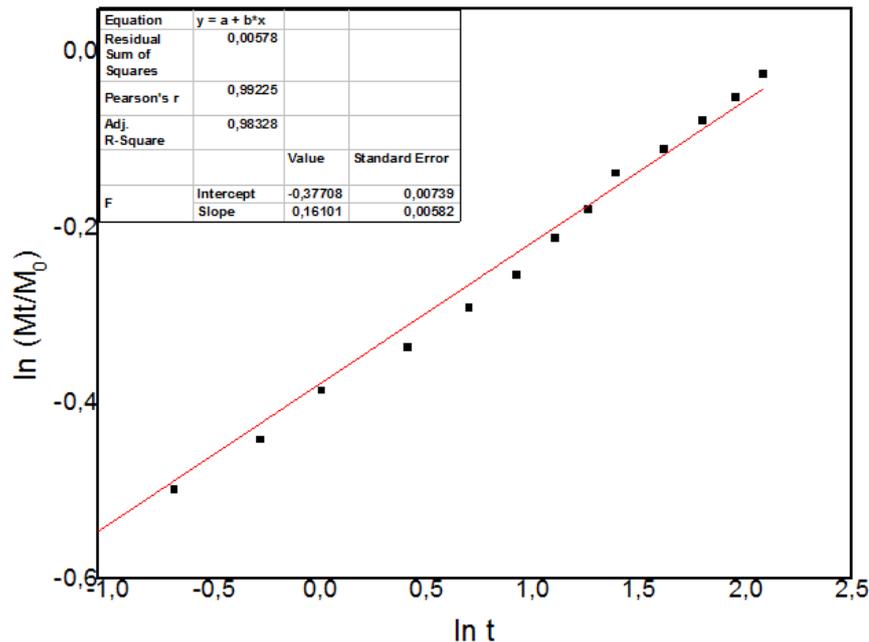


Figura 38 –  $\ln (M_t/M_\infty)$  em função de  $\ln t$  da MP de CPE (QUI-CMC) com GLA em pH 6.8.

Se observamos todos os gráficos do ajuste da equação 3 podemos concluir que o modelo de liberação de Korsmeyer- Peppas ajusta melhor o processo de liberação a pH 1,2, onde o  $R^2 = 0,997$ . A partir da Tabela 7 podemos concluir que a constante cinética  $K$ , também não varia significativamente entre os diferentes sistemas, confirmando que é a porosidade e não a forma da partícula, é o parâmetro que influencia na cinética de liberação. O expoente “n” que no Modelo de Higuchi é considerado igual 0,5, a partir do Modelo de Kormeyer-Peppas, ele pode ser obtido experimentalmente. O parâmetro n é conhecido como coeficiente difusional, quando  $n \leq 0,5$  se diz que o sistema é Fickiano e que o tempo de difusão é muito menor que o tempo de relaxação das cadeias, pela análise da Tabela 7 onde n é em torno de 0,2 para todos os sistemas, pode-se concluir que todos seguem a difusão do tipo Fickiana.

Os resultados obtidos no estudo de liberação demonstram que o processo de liberação é controlado, mantendo-se porcentagem de massa liberada do metronidazol constante ao longo do tempo. Observa se também que o pH dos tampões influencia na liberação como já mostrado também anteriormente na Figura 25 e 26.

## 6 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados experimentais, podemos concluir que:

- A massa molar viscosimétrica média encontrada para a QUI foi de  $1,47 \times 10^5$  Da. Esta massa molar tem um valor intermediário, o que representa a possibilidade de ter boas propriedades físico químicas, permitindo também a solubilidade da QUI até 2 %, o que facilitou o procedimento para a formação do CPE.

- O grau de desacetilação ficou por volta de 92, 53%, o que é muito desejável, visto que quanto menor o grau de desacetilação, maior a quantidade de quitina ligada a QUI, e com isso, mais difícil a solubilidade da QUI em ácidos fracos, e também menor a quantidade de grupos aminos que estarão livres para se ligarem aos grupos carboximetil, da CMC.

- A produção das micropartículas por meio de emulsão teve um alto rendimento, entre  $65 \pm 7,1$  e  $75 \pm 7,1$  %, e após a análise por FTIR e análise térmica, pode se confirmar que houve mesmo a formação do complexo polieletrólito com os diferentes agentes de entrecruzamento, ao se analisar a morfologia do complexo por MEV, notamos duas coisas, o complexo possui forma quase esférica e essa esfericidade diminui ao se introduzir o agente de entrecruzamento, porem todas as micropartículas possuem em sua superfície muitos poros, e foi essa elevada porosidade o que permitiu a absorção e liberação controlada do metronidazol.

- A liberação do metronidazol ocorreu de maneira controlada e foi semelhante em todas as micropartículas, mostrando-se ligeiramente mais efetiva na micropartícula CPE (QUI-CMC), sem agente de entrecruzamento. O estudo mostrou que a liberação do metronidazol depende do pH em todos os sistemas estudados, sendo mais eficiente a liberação em pH 6,8. A quantidade de metronidazol liberada foi significativa em torno de 70% em pH 1,2 e 80% em pH 6,8, tornando o método usado significativo e uma ótima maneira de administração do fármaco.

## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho serviu como base para o desenvolvimento de micropartículas de QUI e CMC com futuras aplicações biomédicas como sistemas de liberação de fármacos. As perspectivas futuras quanto a este trabalho referem-se ao aprimoramento e ampliação dos conhecimentos já obtidos, continua o estudo de degradação das MPs de acordo com as futuras aplicações desses sistemas.

Estudar a eficácia dessas MPs para a liberação de outros fármacos, principalmente aqueles que causam diversos efeitos colaterais, pois há estudos na área em que o polímero QUI ajuda a diminuir o nível de toxicidade de fármacos no organismo.

Fazer um estudo da toxicidade das MPs no organismo, uma vez que um dos seus componentes é o GLA, que possui alta toxicidade.

Por último, fazer estudo com outros polieletrólitos em forma de MP, uma vez que o método é simples e como mostrado no trabalho é eficiente.

## 8 BIBLIOGRAFIA

- ABRAHAM, G. A.; DE QUEIROZ, A. A. A.; ROMÁN, J. S. Hydrophilic hybrid IPNs of segmented polyurethanes and copolymers of vinylpyrrolidone for applications in medicine. *Biomaterials*, v. 22, p. 1971-1985, 2001.
- AHN, J.-S., CHOI, H.-K., CHUN, M.-K., RYU, J.-M., JUNG, J.-H., KIM, Y.-U., CHO, C.-S. Release of triamcinolone acetonide from mucoadhesive polymer composed of chitosan and poly(acrylic acid) in vitro. *Biomaterials*, 23 (6), 1411-1416, 2002.
- AKCELRUD, L. Fundamentos da Ciência dos Polímeros. 1ª Edição. ed. Barueri-SP: Manole, 2007.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.
- BEKTUROV, E. A., BIMENDINA, L. A. Complexes of water-soluble polymers. *Journal of Macromolecular Sciences-Reviews in Macromolecular Chemistry and Physics (C)*, 37 (3), 501-518, 1997.
- BEPPU, M.M.; ARRUDA, E.J.; SANTANA, C.C. Síntese e caracterização de estruturas densas e porosas de quitosana. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. Out/Dez, p. 163-169, 1999.
- BHATTARAI, N., GUNN, J., ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 83-99, 2010.
- BIGUCCI, F., LUPPI, B., CERCHIARA, T., SORRENTI, M., BETTINETTI, G., RODRIQUEZ, L. Chitosan/pectin polyelectrolyte complexes: Selection of suitable preparative conditions for colon-specific delivery of vancomycin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35, 435-441, 2008.
- BRIONES, A. V., SATO, T. Encapsulation of glucose oxidase (GOD) in polyelectrolyte complexes of chitosan-carrageenan. *Reactive & Functional Polymers*, 70, 19-27, 2010.
- CANCELA, M.A.; ALVAREZ, E.; MACEIRAS, R., Effects of temperature and concentration on carboxymethylcellulose with sucrose rheology. *Journal of Food Engineering* 71, p.419-424, 2005.
- CARASCHI, J., C., CAMPANA FILHO, SÉRGIO P. Influência do grau de substituição e da distribuição de substituintes sobre as propriedades de equilíbrio de

carboximetilcelulose em solução aquosa. *Polímeros[online].*, vol.9, n.2, pp. 70-77. ISSN 0104-1428, 1999.

COSTA JÚNIOR., E.,S. Desenvolvimento da Matriz de Quitosana/PVA quimicamente reticulado para a aplicação potencial para a engenharia de tecido epitelial. Tese de Doutorado UFMG, 2008.

DASH, S., MURTHY, P, N., NATH, L., CHOWDHURRY, P . Kinetic Modeling on Drug release from controlled drug delivery systems . *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Reserch*, v.67, n 3,p. 217 – 233, 2010.

DESAI,K.G.H.,PARK,H.J.,Preparation of cross-linked chitosan microspheres by spray drying: Effect of cross-linking agente on the properties of spray dried microspheres, *Journal of Microencapsulation*, 22 (4), 377-395, 2005.

FEDDERSEN, R. L.; THORP, S. N. Sodium carboxymethylcellulose. In: *Industrial Gums*. Whistler, R. L., BeMiller, J. N. (Eds.), Academic Press, San Diego, p. 537-578, 1993.

FIALHO, S. L.; CUNHA JUNIOR, A. D. S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. *Arq Brasileira de Oftalmologia*, v. 70, n. 1, p. 173-179, 2007.

FUJIMOTO, J.; REIS, E.A.O.; PETRI, D.F.S; FILHO, S.P.C., Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína, *Química Nova*, V.25, n.5, p. 757-761,2002.

GEORGE, M., EMILIA ABRAHAM, T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. *Journal of Controlled Release*, 114, 1-14, 2006.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained action medication theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52 (12), 1145-1149, 1963.

JAMEELA, S.R.; JAYAKRISHNAN, A. Glutaraldehyde cross-linked chitosan microspheres as a long acting biodegradable drug delivery vehicle: Studies on the in vitro release of mitoxantrone and in vivo degradation of microspheres in rat muscle. *Biomaterials*. Vol. 16, p. 769-775, 1995.

KEAN, T., THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 3-11, 2010.

- KREVELER, D. W. V.; NIJENHUIS, K. T. Properties of Polymers. 4ª Edição. ed. [S.I.]: Elsevier, 2009.
- KSHITIJ GUPTA , VIJAY P. SINGH, RAJ K. KURUPATI, ET AL; Nanoparticles of cationic chimeric peptide and sodium polyacrylate exhibit striking antinociception activity at lower dose, Elsevier, India, 2008.
- KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. Reactive & Functional Polymers, 46 (1), 1-27, 2000.
- KUMAR, M. N. V. R., MUZZARELLI, R. A. A., MUZZARELLI, C., SASHIWA, H., DOMB, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. Chemical Reviews, 104, 6017-6084, 2004.
- LANGER, R.; ANDERSON, D.; TIMKO, B.P.; GAO, W; WHITEHEAD, K. Advances in Drug Delivery. Annual Review of Materials Research, v. 41, p. 1-3, 2011.
- LEE, J. S., KIM, J. S., LEE, H. G. Gamma-oryzanol-loaded calcium pectinate microparticles reinforced with chitosan: optimization and release characteristics. Colloids Surf B Biointerfaces, 70 (2), 213-217, 2009.
- LEUNG, H.W. Ecotoxicology of glutaraldehyde: review of environmental fate and effects studies. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 49, p. 26-39, 2001.
- LIU C., DESAI, K.G.H., TANG, X., CHEN, X., Drug Release Kinetics of spray-dried chitosan microspheres, Drying Technology, 24, 769-776,2006.
- LLOYD H. Management of bleeding and malodour in fungating wounds. J Comm Nurs ; 22(8-9):28-32, 2008.
- LOPES, L. Evolução dos Materiais poliméricos - Centenário dos polímeros sintéticos: da bakelite aos nanocompósitos. Acessado em 28/12/2015.
- LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de Polímeros - Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica. 1ª Edição. ed. Rio de Janeiro: e-papers, 2001.
- MARK, J. E. Physical Properties of Polymer Handbook. 2ª Edição. ed. [S.I.]: Springer, 2006.
- MELLO, R.S., BEDENDO, G.C.; NOME, F.; FIEDLER, H.; LARANJEIRA, M.C.M. Preparation of chitosan membranes for filtration and concentration of compounds under high pressure process. Polymer Bulletin. Vol. 56, p. 447-454, 2006.
- MEYERS, H. K., S. P. Application of chitosan for treatment of waste-waters. Reviews on Environmental Contamination and Toxicology, 163, 1-28, 2000.

- MICHAELS, A. S., MIEKKA, R. G. Polycation-polyanion complexes: Preparation and properties of poly-(vinylbenzyltrimethylammonium) poly-(styrenesulfonate). *Journal of Physical Chemistry*, 65 (10), 1765-1773, 1961.
- MOURA, M. R. D. Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato-Ca<sup>2+</sup> e poli(Nisopropil acrilamida), do tipo IPN e semi-IPN. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p. 120. 2005.
- NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery. *Adv Biochem Engin/Biotechnol* , v. 102, p. 47-90, 2006.
- O'NEIL, M.J.; et.al. *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological*. Ed. Whitehouse Station, N.J: Merck. 13 ed, 2001.
- OYARZUN-AMPUERO, F. A., BREA, J., LOZA, M. I., TORRES, D., ALONSO, M. J. Chitosan-hyaluronic acid nanoparticles loaded with heparin for the treatment of asthma. *International Journal of Pharmaceutics*, 381, 122-129, 2009.
- PARK, K.; SHALABY, W.S.W.; PARK, H. *Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery*. Ed. Technomic, Lancaster, Pensilvania. USA. Pg 77-82, 1993.
- PENICHE, C., ARGÜELLES-MONAL, W. Chitosan based polyelectrolyte complexes. *Macromolecular Symposia*, 168, 103-116, 2001.
- PEPPAS, N. A.; LANGER, R. *Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology*. *Bioengineering, Food, and natural products*, v. 49, n. 12, p. 2990-3006, Dezembro, 2003.
- PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, A32 (4), 629-640, 1995.
- PHILIPP, B., DAUTZENBERG, H., LINOW, K.-L., KÖTZ, J., DAWYDOFF, W. Polyelectrolyte complexes: recent development and open problems. *Progress in Polymer Science*, 14, 91-172, 1989.
- RIMMER, S; CARTER, S.; RUTKAITE, R.; HAYCOCK, J.W. Highly branched poly-(N-isopropylacrylamide)s with arginine-glycine-aspartic acid (RGD)- or COOH-chain ends that form sub-micron stimulus-responsive particles above the critical solution temperature. *The Royal Society of Chemistry*, v. 3, p. 971-973, 2007.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632, 2006.

- RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57, 397-430, 2008.
- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, v. 5, p. 37-42, 1987.
- RODRIGUES, P.O., SEGATTO, M, A. Avaliação in vitro de medicamentos de liberação prolongada: aplicação de métodos estatísticos, modelos dependentes e independentes de análise. *Revista Colombiana de Ciências Químico – Farmaceuticas*, v.34, n.1, p 13-23, 2005.
- ROSENSTEIN, E. Dicionario de especialidades farmacéuticas. Hochstein, L., (ed.),Ediciones PLM S.A. de C.V., México D.F, 2002.
- SANCHES, J. F. Biomateriais substitutos ósseos na implantodontia. Funorte/Soebras. Manaus, p. 56. 2010.
- SCHATZ, C., DOMARD, A., VITON, C., PICHOT, C., DELAIR, T. Versatile and efficient formation of colloids of biopolymer based polyelectrolyte complexes. *Biomacromolecules*, 5, 1882–1892, 2004.
- SHARMA, A.; MONDAL, K.; GUPTA, M.N. Some studies on characterization of three phase pationed chitosan. *Carbohyd. Pol*, v.52, p.433-438, 2002.
- SHARMA, R. A., GESCHER, A. J., STEWARD, W. P., Curcumin: The story so far, *European Journal of Cancer* 41(13), 1955-1968, 2005.
- SHIGEMASA, Y.; MATSUURA, H.; SASHIWA, H.; SAIMOTO, H. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of desacetylation in chitin. *Biological Macromolecules*, v.18, p. 237-242, 1996.
- SHU.,X.,Z.; ZHU.,K.,J. The Influence of Multivalent phosphate structure on the properties of ionically cross-linked chitosan films for controlled drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.54,p 235-243, 2002.
- SILVA, F. P. Síntese e Caracterização de Hidrogéis de Poli[(N-isopropilacrilamida)-co-(Ácido Metacrílico)] e sua aplicação como sistemas de liberação controlada de medicamentos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 174. 2006.
- SOUSA, A. D. Híbridos de Gel Polimérico em Sílica Mesoporosa Estruturalmente Ordenada para Liberação Controlada de Fármacos”. Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG. Belo Horizonte, p. 175. 2009.

- TSUCHIDA, E.; ABE, K.; Interactions between macromolecules in solution and intermacromolecular complexes. *Advances in Polymer Science*, 45, 1-119 (1982).
- TUAL, C.; ESPUCHE, E.; ESCOUBES, A.; DOMARD, A., Transport properties of chitosan membranes: Influence of crosslinking. *Journal of Polymer Science*. Vol. 38, p. 1521-1529, 2000.
- URAGAMI, T.; MATSUDA, T.; OKUNO, H.; MIYATA, T. Structure of chemically modified chitosan membranes and their characteristics of permeation and separation of aqueous ethanol solutions. *Journal of Membrane Science*, no 88, p. 243-251, 1994.
- VIKHOREVA, G.A.; KIL'DEEVA, N.R.; USTINOV, M.Y.; NOCHEVKINA, Y.N. Fabrication and study of the degradability of chitosan films. *Fibre Chemistry*. Vol. 34, p. 407-411, 2002.
- VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.
- YAMAMOTO, H.; AMAIKE, M., Biodegradation of cross-linked chitosan gels by microorganism. *Macromolecules*. Vol. 30, p. 3936 – 3937, 1997.