

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA NATUREZA DE RETICULANTES E ADITIVOS ORGÂNICOS SOBRE O COMPORTAMENTO DE GÉIS DE QUITOSANA.

Marconi F. Ginani*, Marco V. Navarro, Ednaldo G. do Nascimento, e Uazir O. B. de Oliveira

Departamento de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - CP 1662 - 59078-970 - Natal - RN

Recebido em 1/9/98; aceito em 28/4/99

THE STUDY OF INFLUENCE OF CROSSLINKING AND ORGANIC ADDITIVES ON THE BEHAVIOR OF CHITOSAN GELS. The physical-chemical process of swelling in water-based gel of natural polymers is investigated with the purpose of applying these systems to biomedical materials for controlled release of drugs. In this work we develop a study about the sol-gel transition of solutions of chitosan in the presence of formaldehyde and glutaraldehyde like crosslinking agents and we have determined the effect of many additives in the time of gelification from the elaborated systems. The physical-chemistry process of swelling of the formed gels was evaluated in function of the degree of crosslinking of the incorporated additives and the pH. Gelling times of chitosan solutions were obtained using viscosimetric measurement, in the pre-gel state, as well as conductivity ones. The results obtained suggest that component concentration modifies the kinetic profile of the transition and the swelling behavior. Regarding H⁺ content, the gels were highly susceptible to swelling in acidic conditions, which characterize this system as pH - sensitive.

Keywords: chitosan; gel; polysaccharide.

INTRODUÇÃO

A utilização de sistemas gelificados como veiculadores de princípios ativos em produtos alimentícios¹, farmacêuticos² e cosméticos³ requer o conhecimento prévio da compatibilidade do substrato a ser incorporado com a estrutura polimérica, assim como o seu efeito na transição sol-gel e no comportamento estrutural do gel quando submetido a condições específicas.

O processo físico-químico de intumescimento em meio aquoso de géis de polímeros sintéticos⁴ e naturais⁵ e os seus respectivos graus de hidratação no equilíbrio vêm sendo investigados com o propósito de aplicar estes sistemas em materiais biomédicos de liberação controlada de drogas⁶. Através do intumescimento, a estrutura do gel é expandida, promovendo a liberação do princípio ativo. Neste sentido, géis de quitosana (poli-β-(1→4)-D-glucosamina) vêm recebendo bastante atenção. No entanto, não se encontra na literatura especializada nenhuma referência quanto ao comportamento da transição sol-gel e à estrutura do gel que se forma na presença da droga incorporada.

Neste trabalho é apresentado um estudo cinético da transição sol-gel de soluções de quitosana induzida pela adição de dois diferentes agentes de ligação cruzada, os aldeídos fórmico e glutárico em concentrações variadas. A determinação do ponto crítico de gelificação, parâmetro essencial para análise da transição foi obtido a partir de medidas viscosimétricas e condutimétricas. A partir da propriedade de intumescimento, o comportamento estrutural dos géis formulados, foi avaliado em função de vários aditivos incorporados, do conteúdo hidrogeniônico do meio e das concentrações dos componentes do sistema.

EXPERIMENTAL

A quitosana utilizada nos experimentos foi obtida por desacetilação da quitina, extraída de carapaças de caranguejos, de acordo com o método descrito por Bough, W.A.⁷. O polímero obtido foi purificado por solubilização em ácido acético 0,5

mol / l, precipitação em NaOH 0,5 mol / L e diálise através de membranas de celofane por 72 horas.

Para os estudos de gelificação, foram utilizadas duas soluções de quitosana (7,14 g/L e 14,28 g/L) em ácido acético 3% (v/v). Os sistemas gelificantes foram preparados em tubos de ensaio (40x100mm) pela adição do agente de reticulação em concentrações variando entre 0,1 a 10% (v/v) a cada uma das soluções do polímero (100 ml) em ausência e previamente aditivada com uréia, fenol, lactose, colesterol, cloreto de cetil-trimetil-amônio (CTACl), dodecil-sulfato de sódio (SDS), todos em igual concentração (1,4 x 10⁻³ mol). Para obtenção do tempo de gelificação das soluções por viscosimetria, as variações de viscosidade, dos sistemas compostos, com o tempo, foram monitorados em um viscosímetro Brookfield (Mod. DV III) operando a uma velocidade de cisalhamento de 0,5 S⁻¹, sendo registrado o tempo na qual a viscosidade tende para o infinito (overload) como o ponto crítico de gelificação (Tgel). Para a obtenção do tempo de gelificação por medidas de condutividade, a transição foi monitorada em um condutímetro Alphalab (Mod.C.A.150) e o tempo de gelificação é assumido quando a variação da condutividade tende a estabilização. Para obtenção do grau de intumescimento (Dsw) foi utilizado um escalímetro composto de tubos de ensaio de 10x300mm, com escala milimetrada, onde foram acondicionados uma massa fixa de gel seco (0,5gr) correspondendo a 1,0 cm de altura (Vo) imersa em 10ml de solução tampão (pH: 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 e 10,0) em ambiente termostaticado a 30 °C, por 48 horas. Após este tempo foi medida a altura da coluna de massa intumescida (Vf) e calculado o grau de intumescimento pela relação $Dsw = Vf/Vo$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sobre o comportamento cinético da transição sol-gel, pôde-se observar uma dependência com a concentração de polímero. No caso das soluções de quitosana de concentrações inferiores a 7g/L, não houve formação de gel, ou seja, o tempo de gelificação tende para o infinito, independente do tipo e da concentração do reticulante. Como a transição sol-gel é um fenômeno no qual uma solução transforma-se em um gel a partir do estabelecimento de ligações cruzadas entre as cadeias

e-mail:ginani@linus.quimica.ufrn.br.

de polímero pelo agente de reticulação de tal modo a culminar na formação de uma rede contínua por todo o sistema, em situação de baixa densidade polimérica o número de ligações cruzadas que se estabelece não é suficiente para ocorrer a transformação. Para soluções com concentração acima deste valor o fenômeno da transição surge em razão do estabelecimento de um número efetivo de ligações cruzadas.

Os resultados apresentados na Figura 1 mostram a variação do tempo de gelificação com a natureza e a concentração do reticulante, para duas concentrações de quitosana. O fenômeno da gelificação não reversível, que se verifica quando a quitosana reage com o formaldeído ou glutaraldeído, ocorre pela formação de ligações cruzadas entre o reticulante e os grupos amina do polímero. Na reação com o formaldeído, forma-se inicialmente o N-metileno-quitosana que, em seguida, reage com outra cadeia polimérica, formando a ligação cruzada⁸. Na reação com glutaraldeído, há possibilidade de vários modos de reticulação^{9,10}. Na Figura 1, podemos observar que o processo de gelificação induzido pelo glutaraldeído ocorre a um tempo menor que o induzido por formaldeído. Este resultado indica que o ponto de gelificação do sistema responde à eficiência do agente reticulante. A maior eficiência do glutaraldeído, provavelmente, está relacionada à sua cadeia mais longa e às diversas formas de reticulação. Para concentrações em polímero da ordem de 14,28g/L a eficiência de reticulação se assemelha em razão da maior densidade em polímero.

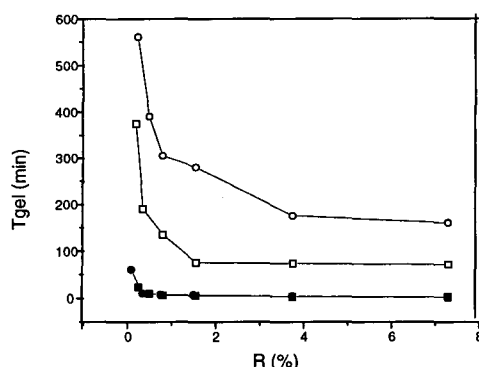


Figura 1. Tempo de gelificação em função da concentração (R) para os sistemas Quitosana/Reticulante. (○, ● Formaldeído/Quitosana 7,14g/l e 14,24g/l respectivamente; □, ■ Glutaraldeído/Quitosana 7,14 g/l e 14,24 g/l respectivamente.)

A Figura 2 mostra a variação observada no grau de intumescimento dos géis de quitosana submersos em água (tampão, pH =4), quando a natureza e a concentração do agente reticulante são modificados. Pode-se considerar que o intumescimento dos géis formulados estejam diretamente ligado à concentração de grupos amina ainda não reticulados. Assim, o maior grau de intumescimento observado para os géis reticulados com formaldeído está de acordo com os resultados da Figura 1, onde foi verificada a menor eficiência desse agente de reticulação. A diminuição do intumescimento, com o aumento da concentração do agente reticulante, ocorre devido à formação de uma estrutura tridimensional mais fechada e rígida, conforme o número de ligações cruzadas aumenta.

Os resultados apresentados na Figura 3 mostram que o volume dos géis de quitosana aumenta com a diminuição do pH do meio, e pode variar com o tipo do reticulante. Em meio ácido, esses géis são expandidos, enquanto que em meio básico eles são colapsados. Em meio ácido ocorre protonação dos grupos amina ainda não reticulados, criando sítios de hidratação, que forçam o intumescimento da rede intercrossada. Esta transição de volume ocorre nas proximidades do pKa do

polímero (pK= 6,8), atingindo um máximo de expansão em pH acima de 3,0 .

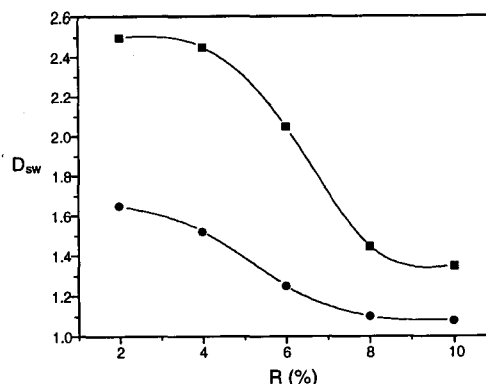


Figura 2. Variação do grau de intumescimento de géis de quitosana em função da concentração (R) do reticulante a pH 4,0, após 48 horas. (■ - Formaldeído ● - Glutaraldeído)

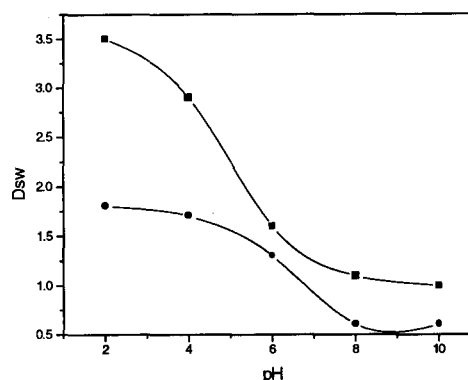


Figura 3. Variação do grau de intumescimento dos géis de quitosana em função do pH após 48 horas. (■ - Formaldeído ● - Glutaraldeído).

Com relação aos reticulantes, em condições idênticas de concentração e em toda a faixa de pH estudada, o grau de intumescimento dos géis formulados com formaldeído são mais acentuados do que com glutaraldeído, em razão da maior eficiência de reticulação do glutaraldeído. Com o aumento da concentração do reticulante, o grau de intumescimento tende a diminuir (como observado na Figura 2), devido à menor disponibilidade dos grupos amina livres. Estes resultados indicam que a transição de volume é induzida pela ionização do gel, via protonação dos grupos amina não reticulados.

O efeito provocado por diferentes aditivos sobre o tempo de gelificação das soluções de quitosana, é mostrado na Tabela 1. Os resultados indicam que, na ausência de aditivos, quando a concentração do agente reticulante (formaldeído) é mantida constante e a concentração de polímero é dobrada (passa de 7,14g/L para 14,28g/L), o tempo de gelificação cai a cerca de 3/40 do valor inicial. Como já era esperado, o aumento da concentração de polímero provoca a formação de novas ligações cruzadas entre o formaldeído e os grupos amina dos anéis glicosídicos da quitosana.

Dentre os aditivos utilizados, foi observado que a uréia provocou um aumento no tempo de gelificação nas duas concentrações estudadas de polímero. Esse resultado pode ser explicado pela interação entre os grupo amina da uréia e o formaldeído, retardando a reticulação da quitosana.

A lactose e o CTACI (um detergente catiônico) apresentaram efeitos compatibilizantes, não alterando significativamente o tempo de gelificação do polímero.

Tabela 1. Tempo de gelificação(Tgel) de soluções de quitosana.

SISTEMA		T _{gel} Aditivo(1,4x10 ⁻³ mol)							
Quitosana	Formaldeído	Uréia	Lactose	Colesterol	CTACI	SDS	THD	S/Aditivo	
c (g/L)	c (%)								
7,14	6	-	-	-	-	-	-	40	
7,14	3	-	80	120	80	130	18	80	
14,28	6	-	-	-	-	-	-	3	
14,28	3	65	8	22	6	15	1,5	5	

A adição de colesterol e de SDS (um detergente aniônico) às soluções de quitosana provocaram um aumento em tgel. No primeiro caso, o aumento no tempo de gelificação poderia ser explicado pelo grande volume da molécula de colesterol e o seu caráter hidrofóbico, que promoveria a formação de agregados capazes de impedir em alguns pontos a reação da quitosana com o formaldeído. Por sua vez, a natureza aniônica do SDS provocaria a associação de suas micelas com o polissacarídeo quitosana, dificultando a gelificação do polímero. Nos dois casos, os géis formados apresentaram uma elevada turbidez.

O 1,3,5-trihidroxibenzeno apresentou os menores valores de tempo de gelificação. Por se tratar de um composto trifuncional que apresenta reatividade frente ao formaldeído, o THB participaria na gelificação da quitosana como um agente co-reticulante.

A Figura 4 mostra a variação de condutividade iônica das soluções de quitosana durante a reticulação com glutaraldeído. Em razão da natureza iônica do polímero em solução, e a reação de reticulação se processar mediante destruição destes centros iônicos, medidas de condutividade se apresenta como um método eficiente para monitorar a transição. O tempo de gelificação, foi determinado através do ponto de mudança de inclinação da reta. Pode-se observar que quando os géis são formulados com o aditivo fenol, a condutividade iônica residual é maior do que na ausência de aditivos. A maior condutividade iônica, nesse caso, concorda com a idéia de um número maior de grupos amina disponíveis na quitosana, que teria ocorrido em consequência do consumo de moléculas de glutaraldeído nas reações laterais com o fenol. Essa também seria a justificativa para o aumento o aumento no tempo de gelificação.

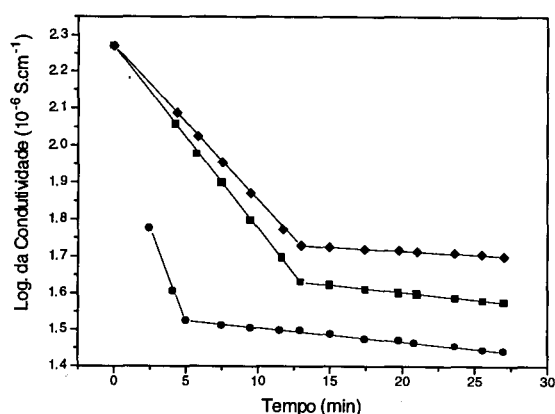


Figura 4. Variação da condutividade com o tempo nos sistemas gelificantes quitosana/glutaraldeído/aditivo.(n-glutaraldeído sem aditivo,u-glutaraldeído/fenol e l- glutaraldeído/trihidroxibenzeno).

Com relação ao gel aditivado com 1,3,5-trihidroxibenzeno, ocorreu uma diminuição no tempo de gelificação, comportamento semelhante ao observado para os géis reticulados com formaldeído (Tabela 1). Este abaixamento no tempo de gelificação pode ser atribuída à participação do THB como co-reticulante no processo de gelificação.

Além do efeito cinético sobre a transição, observou-se que a presença de aditivos modifica também o comportamento do intumescimento dos géis de quitosana.

A Figura 5 apresenta o perfil global do intumescimento dos géis de quitosana estudados, em função do reticulante, do pH e dos aditivos fenol e 1,3,5 trihidroxibenzeno. Essa figura evidencia a grande sensibilidade dos géis de quitosana à concentração hidrogeniônica do meio e a participação do fenol e do THB no processo de gelificação desse polissacarídeo.

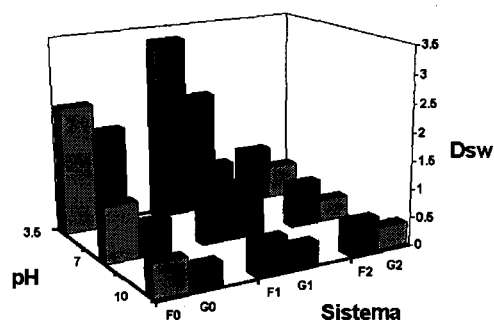


Figura 5. Perfil de intumescimento dos géis nos sistemas, F0 (formaldeído), G0 (glutaraldeído), sem aditivos e aditivados com fenol (F1 e G1) e trihidroxibenzeno (F2 e G2) em sistemas tamponados após 24 horas.

CONCLUSÕES

O fenômeno da gelificação de soluções de quitosana é dependente da concentração do polímero, em soluções diluídas não ocorre um número efetivo de intercruzamento de ligações para provocar a transição sol-gel. Com relação aos reticulantes utilizados o glutaraldeído foi de maior eficiência, no entanto para concentrações maiores em polímeros, devido a maior proximidade das cadeias poliméricas, os reticulantes apresentam eficiência semelhante.

O estudo do comportamento dos géis de quitosana aditivados mostrou que a natureza do aditivo pode causar modificações na transição sol-gel, acelerando ou inibindo o processo.

Quanto ao comportamento do intumescimento, observou-se que em todos os casos estudados houve uma variação brusca de volume dos géis em função do pH. Em meio ácido, o gel apresenta elevado intumescimento, enquanto que em meio básico, o gel é colapsado. Podemos concluir, então, que o gel de quitosana é um sistema pH-sensível, podendo ser utilizado como carreador de drogas que apresentem obstáculo para sua aplicação como acentuada toxicidade, elevada proteólise, baixa estabilidade como os antineoplásicos, as drogas peptídicas, ou mesmo aquelas que pelo uso continuado provoquem efeitos secundários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Knorr, D.; *Food Technology* **1991**, 44, 114.
2. Shantha, K. L.; Udaya, B. and Panduranga, K. R.; *Eur. Polymer. J.* **1995**, 31, 377.

3. Seo, H. and Kinemura, Y.: "*Proceeding from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan*", Trondheim, Norway. Edited by Skaejk-Braek, Elsevier Applied Science, 1989; p 365
4. Batich, C. D.; Yan, J.; Bucaria, C. and Elsabee, M.; *Macromolecules* **1993**, 26, 4675
5. Moe, S. T.; Skaejk-Braek, G.; Elgasater, A. and Smidsrod, O.; *Macromolecules* **1983**, 26, 3589.
6. Hou, W. M.; Miyazaki, S.; Takada, M. and Komai, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 3986.
7. Bough, W.; Salter, W.L.; Wu, AC. M. and Perkinns, B. E.; *Biotechnology and Bioengineering*, Vol XX, 1978, p 1931.
8. Labama, S. S.; *Encyclopaedia of Polymer Science and Engineering*, Ed. Willey Intersci. 1983, Vol 4, p 356
9. Neves, A; *Cosmetic and Toiletries*, Ed. Port, **1990**, 2, 48
10. Yoshioka, S. A.; Braile, D. M.; Ramirez, V. e Goissis, G.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. **1995**, 4, 39.