

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE MEMBRANAS LIOFILIZADAS DE QUITOSANA PARA INCORPORAÇÃO DE FÁRMACOS NO TRATAMENTO DE LESÕES TEGUMENTARES

Wesley Castro da Silva (1); Demis Ferreira de Melo (2); Danielle Gomes de Oliveira (3); Davidson Marrony Santos Wanderley (4); Rosemary Sousa Cunha Lima (5)

Universidade Estadual da Paraíba- UEPB; wesleycastros@hotmail.com (1); demisz@gmail.com (2); danigomesoliveira@gmail.com (3); davidsonwanderley14@gmail.com (4); rosysousa1@hotmail.com (5)

RESUMO: A quitosana é um biopolímero que apresenta várias atividades biológicas importantes, tais como coagulante, antimicrobiana e analgésica, além de ser mucoadesiva e muito pouco tóxica. Essas propriedades são importantes para o tratamento de lesões elementares dermatológicas, como ulcerações e exulcerações, sugerindo seu uso na forma de emplastro transdérmico. Para o uso nessa forma, a quitosana passou por um processo de liofilização, resultando na formação de uma membrana porosa. Além do uso isolado, a quitosana pode ser usada como carreadora de fármacos e desse modo ser aplicada para liberação não só tópica, mas também sistêmica de substâncias, aumentando as finalidades para as quais pode ser utilizada. Para verificar o potencial da quitosana de desenvolver essas atividades biológicas e de ligar-se a fármacos agindo como carreador desses para uma liberação controlada foram realizadas análises macroscópicas do material obtido e a medida do grau de desacetilação (GD) da quitosana a partir de um esquema de titulação potenciométrica. Foram obtidos resultados favoráveis às aplicações já citadas, como a permanência de um alto grau de desacetilação na membrana e características morfológicas que colaboram para as aplicações já citadas para o material.

Palavras-chaves: Quitosana, Liofilização, Fármacos, Lesões.

INTRODUÇÃO

A quitosana é um polissacarídeo linear, produzido pela desacetilação da quitina, um elemento estrutural no exoesqueleto de crustáceos e insetos. (SANTOS et. al., 2003). Segundo Mesquita e colaboradores (2013), ela possui características especiais que a tornam importante excipiente farmacêutico e permitem boa adesão a tecidos epiteliais e no muco. Várias dessas características

estão associadas à presença dos grupos amino livres presentes nos monômeros que forma a quitosana. Entre elas pode-se citar as atividades antimicrobiana, cicatrizante, coagulante e analgésica. Segundo Jung e colaboradores (1999), a atividade antimicrobiana da quitosana pode ser resumida nas propriedades bactericidas e bacteriostáticas, ambas relacionadas a interação dos grupos amino livres com a célula bacteriana. Portanto, essas

atividades sugerem que esse polímero pode prevenir e tratar infecções, se aplicados diretamente no local da lesão. Zheng e Zhu (2003), pesquisando a atividade antimicrobiana observaram que seu efeito é maior quando a quitosana possui baixa massa molar. Levando em consideração esse parâmetro importante, foi também usada a quitosana de baixa massa molar no desenvolvimento das membranas liofilizadas.

A atividade cicatrizante da quitosana é também uma propriedade que está associada à baixa massa molar e aos grupamentos amino livres. Além de sua eficácia, a quitosana adere melhor que o ácido hialurônico, e é economicamente mais viável (SILVA, 2006).

A atividade coagulante, de acordo com Okamoto e colaboradores (2003) foi mostrada pela redução do tempo de coagulação sanguínea de forma dose-dependente. Isso é atribuído à sua capacidade em agregar não só plaquetas, mas também eritrócitos devido à interação das cargas positivas dos grupos amínicos livres da quitosana com as cargas negativas de receptores dos eritrócitos.

O efeito analgésico também foi evidenciado por estudos realizados por Okamoto (2003), os quais sugerem que essa atividade é decorrente da captura de

prótons H^+ livres no local da inflamação pelos grupamentos amino livres. A bradicinina, mediador químico da produção de dor no local inflamado, é também absorvida pela quitosana.

Os grupamentos amino livres da quitosana reagem com os fármacos produzindo ligações e permitindo o carregamento dessas moléculas, de modo que se promova uma liberação controlada das mesmas. Essa veiculação controlada é um fator importante e bastante estudado, pois a quitosana é biodegradável, apresentando produtos de degradação não tóxicos e, portanto, é biocompatível (SILVA, 2006).

A quitosana provou ser um excipiente seguro em formulações medicamentosas nas últimas décadas, atraindo a atenção como um excelente polímero mucoadesivo e que permite boa adesão em tecidos epiteliais e nos tecidos de revestimento nas superfícies das mucosas (DASH et al., 2011). Entre esses fármacos, alguns antibióticos, anti-inflamatórios e analgésicos, inclusive opióides, são incorporados a essa matriz para que se promova uma liberação (LARANJEIRA, 2009; OZANSKI, 2012; SOUZA, 2014).

Somando cada uma das propriedades já citadas com relação à quitosana, têm-se como perceptível a compatibilidade do uso desse biomaterial

com o tratamento de lesões elementares dermatológicas, como ulcerações e exulcerações, sendo efetivo seu uso na forma de emplastro transdérmico. Inclusive, de acordo com Chandy (1993), a quitosana tem sido tradicionalmente usada nos países orientais para o tratamento de queimaduras e cicatrização de feridas, confirmando pelo uso popular a eficiência do uso tópico da quitosana.

Para uma adaptação da forma farmacêutica ao uso transdérmico foram produzidas membranas de quitosana por liofilização, que é um processo de secagem que retira água através da sublimação e mantém os produtos com estrutura inalterada, fáceis de transformar em pó e dissolver. Além disso, os produtos liofilizados têm melhor qualidade que os mesmos produtos desidratados por outros métodos e o processo ocorre na ausência de oxigênio, prevenindo contra as reações oxidativas. A decomposição térmica e perda de voláteis são reduzidas significativamente, assim as características essenciais do fármaco que foi incorporado à matriz são preservadas (TERRONI et. al., 2013).

Além de desenvolvidas as membranas liofilizadas, foi realizado um esquema de titulações potenciométricas para a verificação do grau de desacetilação

(GD) da quitosana, pois esse é um parâmetro que influencia nas propriedades dessa, já que são os grupamentos amino livres, ou seja, os grupamentos desacetilados que permitem a eficácia da maioria das atividades biológicas do polímero já citadas e que concordam com o seu uso tópico. Portanto, podem ser associados a um fármaco antibiótico, anti-inflamatório ou analgésico, promovendo uma atuação sinérgica no tratamento de lesões elementares na pele de modo mais eficiente (LARANJEIRA, 2009; OZANSKI, 2012; SOUZA, 2014)..

METODOLOGIA

A quitosana, de baixa massa molar (Sigma Aldrich®), foi dissolvida em ácido acético 1% (meio levemente ácido). A solução obtida passou pelo processo de secagem por liofilização (Liofilizador L108 - LIOTOP® - Brasil, localizado no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais no Nordeste – Certbio da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG).

A determinação da quantidade de grupos amino protonáveis (grau de desacetilação) da amostra de quitosana liofilizada foi realizada a partir de uma titulação potenciométrica. Utilizou-se uma solução de NaOH a 0,02 M como titulante e uma de HCl a 0,1 M como titulado, em

que estava dissolvida a quitosana a 1% (m/v) na solução. Foram elaborados gráficos de titulação e a partir dos pontos de inflexão das curvas, foi possível determinar o percentual de grupos amino livres, conforme a equação 1 (TORRES et al, 2005; SOUZA, ZAMORA, ZAWADSKI, 2010).

Equação 1: Equação para determinação da porcentagem de grupamentos desacetilados.

$$\%NH_2 = \frac{M_{NaOH} \times (V_2 - V_1) \times 161}{m} \times 100$$

Sendo M a concentração da solução de NaOH, “V1” e “V2” os volumes utilizados para neutralizar o excesso de HCl e a amostra de quitosana protonada, respectivamente; 161 a massa molar da unidade monomérica da quitosana e “m” a massa da amostra de quitosana, em gramas. Foram realizadas titulações para determinação do grau de desacetilação, uma com o pó da quitosana sem nenhuma modificação, e outra com a amostra de quitosana liofilizada a fim de promover uma comparação entre as duas formas do polímero e verificar se houve perda das suas propriedades a partir da diminuição de grupos amino. Foi realizada também uma análise macroscópica das amostras liofilizadas, a qual levou em consideração

a coloração, aparência e a extensão do material. Avaliou-se também o rendimento do processo de liofilização, a partir da equação 2.

Equação 2: Equação para determinação da porcentagem do rendimento do processo.

$$R = \frac{\text{massa da amostra liofilizada}}{\text{massa da quitosana}} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise macroscópica do material liofilizado, o mesmo apresentou uma coloração branco-amarelada e uma aparência esponjosa, fibrosa, bem flexível e macio, corroborando com resultados obtidos por Mello (2009). Além disso, foi mensurado o diâmetro de, em média, 7 cm e espessura de 0,7 mm. A figura 1 mostra a aparência de uma das membranas desenvolvidas.

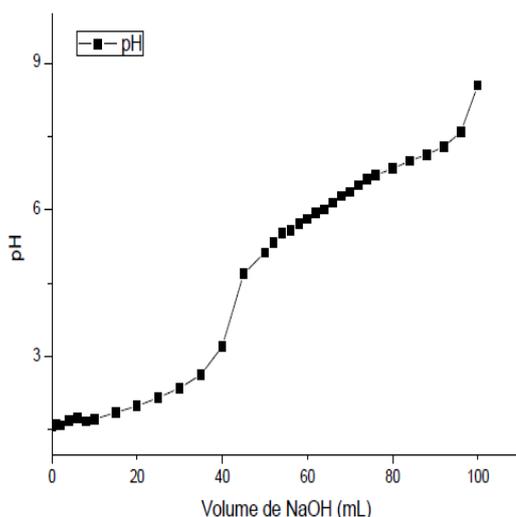
Figura 1: Membrana liofilizada de quitosana.



Fonte: Arquivo da pesquisa

A titulação teve como objetivo determinar o grau de desacetilação do pó de quitosana e da amostra liofilizada do polímero. Através dos dados obtidos na titulação, foram elaborados os gráficos. Pelo perfil da curva, obtida através da titulação potenciométrica da solução de quitosana pura, foi possível observar dois pontos de inflexão: o primeiro relacionado à neutralização do excesso de HCl na solução e o segundo ponto referente à neutralização dos grupos amino protonados (TORRES, 2005; SOUZA, 2010). A figura 2 mostra a curva de titulação do pó da quitosana.

Figura 2: Gráfico de titulação do pó de quitosana.



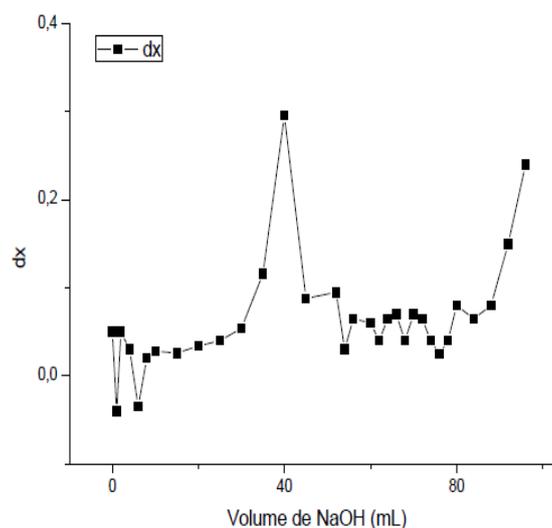
Fonte: dados da pesquisa

A partir da figura 2, foi elaborado

um gráfico da derivada dos dados da titulação do pó de quitosana. A figura 3 representa a primeira derivada da função sigmoide da figura 2.

De acordo com o segundo gráfico, foi possível determinar os pontos de inflexão e calcular o grau de desacetilação pela equação 1. O resultado obtido foi de 90,16 %, um valor elevado, o qual era esperado pela descrição do produto.

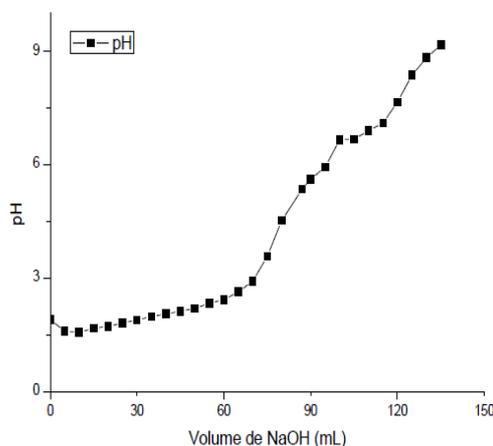
Figura 3: Gráfico de primeira derivada da titulação do pó de quitosana.



Fonte: dados da pesquisa

O resultado da titulação da amostra de quitosana liofilizada está representada na figura 4.

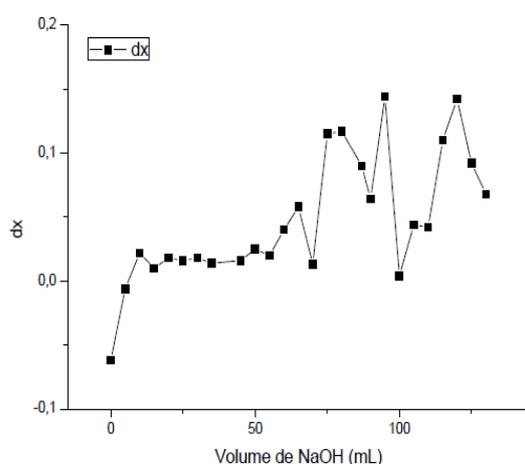
Figura 4: Gráfico de titulação da amostra liofilizada de quitosana.



Fonte: dados da pesquisa.

Através desse gráfico, como feito para a titulação do pó, foi elaborado um segundo gráfico contendo a primeira derivada da função sigmoide da titulação da amostra liofilizada, como demonstra a figura 5.

Figura 5: Gráfico da primeira derivada da titulação da amostra liofilizada de quitosana.



Fonte: dados da pesquisa

Com esse gráfico foi possível determinar os pontos de inflexão da curva. Pelo cálculo do grau de desacetilação, a porcentagem encontrada foi de 80,5 %, o que demonstra a permanência do alto grau de desacetilação encontrado no pó e provavelmente permite a manutenção das atividades biológicas, dando à membrana um potencial da membrana para a incorporação de fármacos, assim como para acelerar e tornar mais eficaz o tratamento de lesões cutâneas.

Em relação ao rendimento, a amostra liofilizada apresentou uma porcentagem de 70,43 %, demonstrando ser bastante rentável para o uso farmacêutico. Isso demonstra valores superiores aos de várias outras técnicas de secagem, como a secagem por nebulização que para algumas amostras chega a render apenas 20% como dito por Júnior e colaboradores (2006). Dessa forma, a metodologia é muito eficiente na produção de membranas porosas.

CONCLUSÃO

Foi observado, segundo os resultados que o desenvolvimento de membranas liofilizadas teve, um rendimento alto se comparado a muitos outros métodos de secagem, como a secagem por nebulização que como já citado pode chegar a apresentar rendimentos de apenas 20% (JÚNIOR,

2006), mostrando-se bastante eficiente ao produzir membranas porosas. As membranas desenvolvidas podem ser modificadas quanto à forma durante o desenvolvimento e isso mostra uma capacidade de manipulação muito útil na aplicação na pele.

A análise macroscópica demonstrou um tamanho suficiente para cobrir lesões de grande extensão e possivelmente pode distribuir bem o fármaco associado, sendo produzido a partir de quantidades em massa bem pequenas de quitosana. Ainda macroscopicamente, foi constatada uma textura esponjosa, flexível e macia, diminuindo o desconforto do uso de emplastos que possam agredir ainda mais o tecido lesionado.

Outra observação importante foi a do grau de desacetilação, o qual foi conservado ainda como alto, em uma porcentagem superior a 80%. Sendo assim, pode-se afirmar que essa metodologia se apresentou como promissora para a produção de emplastos transdérmicos, uma vez a atividade antimicrobiana, hemostática, analgésica e cicatrizante é atribuída a presença de grupamentos amino livres, além de ser a porção que se liga aos fármacos e que os mesmos foram preservados. A perspectiva é que essas membranas possam ser utilizadas como

emplastos transdérmicos havendo ou não incorporação de fármacos para tratamento de vários tipos de lesões elementares no tegumento comum já que se adaptam por sua morfologia e propriedades conforme cita a literatura, afinal ocorre a permanência dos grupamentos que dão a maior parte das propriedades importantes para o uso sugerido.

REFERÊNCIAS

CHANDY, T.; SHARMA, C. P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicilin. **Biomaterial**, v. 12, n. 12, p. 65-70, 1993.

DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr**, v. 16, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2005.

DASH, M., et al. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in polymer science**, v.36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

DE SOUZA, K.V.; ZAMORA, P.G.P.; ZAWADSKI, S.F. Esferas de Quitosana/Fe na Degradação do Corante Azul QR-19 por Processos Foto-Fenton Utilizando Luz Artificial ou Solar. **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 210-214, 2010.

DE SOUZA, R.F.B; DE SOUZA, F.C.B; MORAES, A.M. Incorporação de

eritromicina a membranas de quitosana complexada com alginato ou xantana para a aplicação no tratamento de lesões de pele. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 13970-13977, 2015.

DOS SANTOS, J. E., et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

JUNG, B. O. et al. Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 72, n. 13, p. 1713-1719, 1999.

KOIDE, S.S. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1091-1101, jun. 1998.

JÚNIOR, J. O. C. S., et al. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 16, p.671-677, Dez. 2006.

LARANJEIRA, M.C.M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

MELLO, K.G.P.C. **Imobilização de pepsina em membranas liofilizadas de quitosana e O-carboximetil quitosana.**

2002. 99 f. Tese - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MESQUITA, A.K.F. et al. Quitosana na composição de formas mucoadesivas de liberação de fármacos: uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**, v. 3, n. 3, p. 146-154, 2013.

MUZZARELLI, R.A.A. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 53, n. 2, p. 131-140, fev. 1997.

OKAMOTO, Y. et al. Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 3, p. 337-342, 15 ago. 2003.

OZANSKI, G.D.; ANDRADE, R.D.A. Utilização de quitosana como suporte para liberação controlada de fármacos antiinflamatórios não-esteroidais. **I Congresso de Pesquisa e Pós-graduação do Câmpus Rio Verde do IFGoiano**, 6 a 7 nov. 2012.

RAO, S.B.; SHARMA, C.P. Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and homeostatic potencial. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 34, p. 21-28, 1997.

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

SINGLA, A.K.; CHAWLA, M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 8, p. 1047-1067, ago. 2001.

TERRONI, H.C. et al. Liofilização. **Revista Científica UNILAGO**, 2013.

TORRES, M.A. et al. Produção e Caracterização de Microesferas de Quitosana Modificadas Quimicamente. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 306-312, 2005.

ZHENG, L.Y; ZHU, J.F. Study on antimicrobial activity of chitosan with diferente molecular weights. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, n. 4, p. 527-530, 2003.