



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CURSO DE PÓS – GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INORGÂNICA**

**Géis de Goma do Cajueiro e Derivados Com Quitosana:  
Síntese, Caracterização e Ensaio Preliminares em  
Sistemas de Liberação de Fármacos**

**Jeanny da Silva Maciel**

*Tese de Doutorado*

Fortaleza – Ceará

Junho - 2005



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CURSO DE PÓS – GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INORGÂNICA**

**Géis de Goma do Cajueiro e Derivados Com Quitosana:  
Síntese, Caracterização e Ensaio Preliminares em  
Sistemas de Liberação de Fármacos**

**Jeanny da Silva Maciel**

Tese submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Química Inorgânica, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor.

**FORTALEZA – CEARÁ**

**Junho - 2005**

O presente trabalho se desenvolveu sob orientação da professora **Dra. Regina Célia Monteiro de Paula**, no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

*Boa parte da história humana pode ser descrita como uma libertação gradual e por vezes dolorosa da tacanhice, a percepção nascente de que há mais no mundo do que geralmente acreditavam nossos ancestrais.*

Carl Sagan

*Broca's brain (1974)*

*Que estranha é a sina que cabe a cada um de nós mortais! Cada um de nós está aqui para uma temporada; com que propósito não se sabe [...]. Os ideais que têm iluminado meu caminho, e repetidamente me têm renovado a coragem para enfrentar a vida com ânimo, são a Bondade, Beleza e Verdade.*

Albert Einstein

*The world as I see it (1931)*

**À minha mãe, grande amiga e grande  
mulher, pelo seu cuidado e carinho  
durante todos os momentos de  
minha vida.**

**Ao Daniel, meu amor e grande amigo, por toda atenção e otimismo.**

À professora Regina Célia Monteiro de Paula por sua amizade e dedicação durante todo o curso e essencialmente nos últimos cinco meses.

## ***Agradecimentos***

À minha família, minha avó (Marfisa), tias (Aldeíde, Jesus e Alzenir) e irmãos (Jean e Djenane), por tudo, amor, cuidado, carinho e apoio incondicional.

À minha grande amiga Durcilene, que além de minha colega de trabalho se tornou minha colega de apartamento, que é muito mais que uma colega, é minha irmã, amiga, consultora, assistente para referências e muito mais, por todos os momentos de "aperreio" que me ajudou e me incentivou.

À Pablyana por nossas conversas filosóficas e científicas, pelos momentos felizes falando de nossas famílias e por seu carinho de amiga.

À Conceição por sua sinceridade, amizade, confiança e cuidado de mãe.

À Leônia, por seu carinho, por suas consultas médicas, seu apoio, sua paciência e atenção.

À Aline por me acolher em sua casa, naqueles momentos bem difíceis, e me deixar à vontade como se fosse minha própria casa, sendo sempre amiga, boa ouvinte, companheira e muito animada para fazer tudo.

Ao Guilherme, meu primeiro aluno de verdade, por toda sua força, física e moral, sem a qual teria sido difícil desenvolver tudo que conseguimos reunir neste trabalho.

As minhas duas grandes amigas Daniele e Renata por manter nossa amizade sempre viva, mesmo à distância e com meus abandonos.

À Cristina, pelo incentivo desde o começo do curso de mestrado, e agora pela força e amizade.

Aos meus dois queridos e inestimáveis amigos Neima e Felipe pelo carinho e atenção, durante o mestrado e amizade desde então.



Ao Neto, que apesar das brigas no passado, hoje é meu amigão, companheiro de grandes aventuras e meu exemplo de pessoa que sabe viver a vida numa boa.

Ao Junior pelas edições gráficas de alguns trabalhos e disposição em ajudar sempre que precisei.

As meninas Marília, Dona Blandina, Sara e Mariana pelos passeios, festinhas, cinemas, conversas e muita diversão a cada tempinho que tínhamos livre.

Aos colegas do Laboratório de Polímeros que participaram indiretamente do desenvolvimento deste trabalho: Sávio, Roberto, Ellen, Draúlio, Benjamim, Elenir, Hanna, Janaina, Carlos, Célio, Avelardo, Thiago e Cleidiane.

Ao Dr. Ícaro Moreira por disponibilizar o espectrofotômetro. Aos colegas do laboratório de Bioinorgânica, Elisane, Jean, Daniel e Clayston, que mesmo muito ocupados se dispuseram a fazer medidas espectrofotométricas.

Ao Dr. Renato Moreira e o grupo de Lectinas e Glicoconjugados-Bioquímica por sempre me receberem em seu laboratório com toda a atenção possível, e por disponibilizar o espectrofotômetro.

À Márcia Rúbia pela amizade e por toda a força transmitida desde que nos conhecemos no laboratório de Polímeros.

Ao Daniel Pontes por estar sempre presente e pronto a ajudar, mesmo quando parecia fora do seu alcance, e claro por sua amizade e paciência.

À Tereza, nossa amiga e técnica da termoanálise, por sua ajuda e manobras para encaixar todas as análises.

Ao Orlando por suas brincadeiras na sala da pós-graduação sempre que estava ansiosa para fazer alguma apresentação ou concurso.

À professora Denise Siqueira Petri (IQ-USP) por me receber em seu laboratório e por toda sua atenção durante o período que estive em São Paulo.

A professora Judith Feitosa pelo aprendizado diário com suas experiências e seu incentivo durante o curso.

Ao professor Luiz Lopes (Luizinho) por sua disposição em fazer as coisas funcionarem.

À professora Sandra pelo incentivo e à professora Nágila pelas discussões científicas.

Aos professores do curso de pós-graduação em Química Inorgânica que realmente tiveram vontade de transmitir suas experiências.

Ao professor Edilberto Silveira por me aceitar como operadora do equipamento de Ressonância Magnética Nuclear do CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear).

Ao professor Haroldo de Paula pelas dicas e idéias no trabalho, como também pelas amostras de quitosana e de Pilocarpina.

Ao professor Lindomar pelas dicas sinceras a respeito do trabalho, as quais serão de grande ajuda para trabalhos futuros.

A Far-manguinhos e à professora Cristina Tristão de Andrade por nos ceder gentilmente amostra de diclofenaco de potássio.

À Ethical cosméticos por ceder amostra de diclofenaco de sódio.

À CAPES pelo apoio financeiro.

## Sumario

<b>Índice de figura</b> .....	<b>i</b>
<b>Índice de tabela</b> .....	<b>v</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>vi</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>viii</b>
<b>I. Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>I.1. Polissacarídeos</b> .....	<b>2</b>
I.1.1. Polissacarídeos de exsudatos .....	3
I.1.1.1. Goma do cajueiro .....	4
I.1.2. Quitina e Quitosana .....	7
<b>I.2 - Modificação química de polissacarídeos</b> .....	<b>11</b>
I.2.1. Reação de carboximetilação .....	11
I.2.2. Reação de oxidação .....	14
I.2.3. Reação de reticulação .....	17
<b>I.3. Complexos polieletrólíticos</b> .....	<b>22</b>
<b>I.4. Sistemas de liberação controlada de fármacos</b> .....	<b>28</b>
<b>II. Objetivos</b> .....	<b>37</b>
<b>II.1. Objetivo geral</b> .....	<b>38</b>
<b>II.2. Objetivos específicos</b> .....	<b>38</b>
<b>III. Metodologia</b> .....	<b>39</b>
<b>III.1. Materiais</b> .....	<b>40</b>
<b>III.2. Caracterização da quitosana e goma do cajueiro</b> .....	<b>40</b>
<b>III.3. Reação de carboximetilação da goma do cajueiro</b> .....	<b>40</b>
<b>III.4. Reação de oxidação da goma do cajueiro (preparação de dialdeídos da goma do cajueiro)</b> .....	<b>41</b>
III.4.1. Determinação da percentagem de oxidação .....	42
III.4.2. Redução com NaBH <sub>4</sub> .....	43
<b>III.5. Preparação de complexos polieletrólíticos (CPE's) de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada</b> .....	<b>43</b>
III.5.1. Acompanhamento da formação do complexo polieletrólítico em soluções diluídas por titulação potenciométrica e condutimétrica .....	43
III.5.2. Síntese de Complexos Polieletrólíticos no estado sólido (CPE) .....	44
<b>III.6. Síntese das matrizes CPE de QT/GCM para liberação controlada</b> .....	<b>45</b>
III.6.1. Matriz CPE1 .....	45

III.6.2. Matriz CPE 2 .....	46
III.6.3. Matriz CPE 3 reticulado .....	46
<b>III.7. Preparação de géis de quitosana reacetilada e quitosana reacetilada/goma do cajueiro .....</b>	<b>47</b>
<b>III.8. Preparação de géis de quitosana/goma do cajueiro oxidada (aldeído funcionalizada).....</b>	<b>48</b>
III.8.1. Preparação do gel <i>QT/GCOX</i> para liberação controlada.....	49
<b>III.9. Métodos físicos de caracterização .....</b>	<b>49</b>
III.9.1. Titulação potenciométrica e condutimétrica .....	49
III.9.2. Espectroscopia na região do infravermelho .....	50
III.9.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	50
III.9.4. Difração de Raios-X.....	50
III.9.5. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	50
III.9.6. Análise Termogravimétrica .....	51
III.9.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	51
III.9.8. Cromatografia de permeação em gel (GPC) .....	51
A curva de calibração foi construída utilizando padrões de pullulana (Shodex P-82 da Showa Denko). .....	51
III.9.9. Ensaio de intumescimento .....	52
<b>III.10. Ensaio de liberação de fármacos .....</b>	<b>52</b>
III.10.1 Géis de quitosana reacetilada/goma do cajueiro.....	52
III.10.2 Complexos polieletrólitos de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada.....	53
III.10.3. Complexos quitosana/goma do cajueiro oxidada .....	53
<b>IV. Resultados e discussão .....</b>	<b>54</b>
<b>IV.1 Complexos polieletrólitos (CPE) de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada (QT:GCM).....</b>	<b>55</b>
IV.1.1 Reação de carboximetilação.....	55
IV.1.2 Acompanhamento da formação do complexo em soluções diluídas por titulação potenciométrica e condutimétrica .....	55
IV.1.2.1 Adição de solução de quitosana à solução de GCM .....	56
IV.1.2.2 Adição de solução de GCM à solução de quitosana .....	59
IV.1.3 Acompanhamento da formação do complexo de quitosana-goma do cajueiro carboximetilada em solução concentrada.....	61
IV.1.4 Caracterização dos complexos polieletrólitos (CPE) no estado sólido .....	63
IV.1.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho.....	63
IV.1.4.2 Análise Termogravimétrica .....	65
IV.1.4.3 Estudo cinético da degradação dos complexos polieletrólitos.....	67
IV.1.4.4 Estudo isotérmico por termogravimétrie.....	69
IV.1.4.5. Espectroscopia na região do infravermelho para resíduos de <i>QT</i> , <i>GCM1</i> e <i>CPE 25:75</i> aquecidos a 280 °C (atmosfera de $N_2$ ) .....	72
IV.1.4.6 Morfologia dos complexos polieletrólitos utilizados em ensaios de liberação .....	75
IV.1.4.7 Capacidade de absorção de água dos complexos .....	77

<i>IV.1.5. Aplicação do complexo polieletrólítico como matriz em sistemas de liberação controlada</i> .....	78
<i>IV.1.5.1 CEP1 ( QT:GCM1 25:75)</i> .....	78
<i>IV.1.5.2 CEP 2 (40:60 QT:GCM2)</i> .....	80
<i>IV.1.5.3 CEP 3 (QT:GCM1 40:60 reticulado)</i> .....	81
<b>IV.2 Géis de quitosana reacetilada/goma do cajueiro</b> .....	<b>84</b>
<i>IV.2.1 Caracterização dos géis</i> .....	84
<i>IV.2.1.1 Grau de acetilação dos géis</i> .....	84
<i>IV.2.1.2 Difração de Raio-X</i> .....	85
<i>IV.2.1.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i> .....	87
<i>IV.2.1.4 Análise Termogravimétrica (TGA)</i> .....	88
<i>IV.2.1.5 Intumescimento</i> .....	89
<i>IV.2.1.6 Liberação controlada de cloridrato de pilocarpina (in vitro)</i> .....	90
<b>IV.3- Géis de Goma do cajueiro oxidada/Quitosana</b> .....	<b>93</b>
<i>IV.3.1. Oxidação da Goma do Cajueiro com periodato e caracterização dos derivados</i> .....	93
<i>IV.3.2 Formação do complexo quitosana-cajueiro aldeído funcionalizado</i> .....	103
<b>V. Conclusão</b> .....	<b>107</b>
<b>VI. Referências</b> .....	<b>110</b>
<b>Anexo I</b> .....	<b>121</b>
<b>Artigos aceitos para publicação em periódicos</b> .....	<b>122</b>

## ***Índice de figura***

Figura 1. Representação esquemática de estruturas lineares e ramificadas de polissacarídeos [Danishefky, Whistler e Bettelheim, 1970].	2
Figura 2. Representação esquemática da estrutura da goma do cajueiro.	6
Figura 3. Representação esquemática das unidades repetitivas de e (A) quitosana e (B) quitina.	9
Figura 4. Esquema da reação de carboximetilação de unidades de galactose ligadas (1→3) [Silva e col., 2004].	12
Figura 5. Seletividade da reação de periodato de sódio com unidades de açúcar substituídos em diferentes posições. [Aspinall, 1982].	15
Figura 6. Esquema da reação seletiva de oxidação de uma unidade de glucose da cadeia lateral [Maeda e col., 2001].	16
Figura 7. Reação de oxidação de unidades de glucose ligadas (1→3) na cadeia principal e ramificação (1→6) do polissacarídeo da escleroglucana. [Maeda e col., 2001].	17
Figura 8. Modelos de estruturas de géis formados por reticulação: (A) reticulação entre as próprias cadeias (B) HPN; (C) IPN; (D) reticulação iônica entre as cadeias do polímero. carga positiva da quitosana: carga negativa do reticulante iônico; interação iônica; quitosana; polieletrólito adicional; reticulante covalente: (Berger e col., 2004b)	19
Figura 9. Reação de unidades de glucosaminas da quitosana com epiclorigrina em meio básico [Gonçalves, Laranjeira e Fávere 2005].	20
Figura 10. Mecanismo de formação da base de Schiff [McMurry, 1988].	21
Figura 11. Reação de quitosana com glutaraldeído formando a base de Schiff entre as cadeias da quitosana.	21
Figura 12. Esquema da interação entre as cadeias de quitosana (polieletrólito catiônico) e um polieletrólito aniônico.	23
Figura 13. Estrutura e intumescimento sensível ao pH do meio de um complexo contendo quitosana; carga negativa do outro polieletrólito; carga positiva da quitosana; interação iônica; quitosana; polieletrólito adicional. Fonte: Berger e col., 2004a.	25
Figura 14. Fórmula estrutural do diclofenaco de sódio.	32

Figura 15. Fórmula estrutural da pilocarpina. ....	33
Figura 16. Estruturas de polissacarídeos aniônicos que são usados na preparação de complexos polieletrólitos de quitosana: (A) Alginato; (B) Ácido Hialurônico; (C) Carboximetilcelulose; (D) Carragenana. ....	34
Figura 17. Titulação potenciométrica GCM1 com quitosana ( $6,2 \times 10^{-4}$ mol/L).....	57
Figura 18. Representação esquemática da formação dos complexos polieletrólitos da goma carboximetilada pela adição de quitosana. ....	58
Figura 19. Titulação potenciométrica e condutimétrica de GCM2 com quitosana ( $6,2 \times 10^{-4}$ mol/L; pH=3,9; condutividade 488 $\mu$ S/cm). ....	58
Figura 20. Titulação potenciométrica e condutimétrica de quitosana com GCM1 (GS = 0,84).....	60
Figura 21. Titulação potenciométrica e condutimétrica de quitosana com GCM2 (GS = 0,62).....	60
Figura 22. Espectros na região do infravermelho (A) GCM1; (B) QT; (C) CPE 25:75 Série 1; (D) CPE 25:75 Série 2.....	64
Figura 23. Curvas TGA e DTG em atmosfera de N <sub>2</sub> para quitosana (QT), goma do cajueiro carboximetilada (GCM) e complexos polieletrólitos série 1 (CPE).....	65
Figura 24. Curvas termogravimétricas em atmosfera de nitrogênio, taxa de aquecimento 10 °C/min. (A) curvas TGA; (B) curvas DTG. ....	67
Figura 25. Curvas de $\ln[\ln[1/(1-\alpha)]]$ em função do inverso de 1/T para QT, GCM e CPE. 68	
Figura 26. Relação da <i>E<sub>a</sub></i> de ativação (método Broido) com a razão QT:GCM para os CPE's série 1. ....	69
Figura 27. Curvas isotérmicas de grau de conversão em função do tempo em atmosfera de N <sub>2</sub> . ....	70
Figura 28. Curvas de $\ln t$ em função de 1/T para quitosana (QT); goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE 25:75. ....	71
Figura 29. Espectros na região do infravermelho para QT e GCM1 após aquecimento a 280°C.....	73
Figura 30. Espectros na região do infravermelho para CPE 25:75 (série 1) após aquecimento à 280°C.....	74

Figura 31. Imagens MEV para CPE 2 (40:60 QT:GCM2). (A) e (B) CPE 2 + diclofenaco de sódio (Aumento de 200x e 2000x).....	76
Figura 32. Imagens MEV para os CPE 3 (40:60 QT:GCM1): (A) e (B) CPE reticulado (Aumento de 100x e 2000x); (C) e (D) CPE reticulado e incorporado com diclofenaco de sódio (Aumento 50x e 2000x). ....	76
Figura 33. Relação entre teor de água no equilíbrio e a razão QT:GCM para os complexos da série 1 e 2. ....	77
Figura 34. Curva de liberação de DCK <i>in vitro</i> em tampão pH 7,4 e 9,8 (Matriz CPE 1)...	78
Figura 35. Curva de liberação de DCS <i>in vitro</i> a partir de matriz de CPE 2 (40:60 QT:GCM2) em diferentes pH.....	80
Figura 36. Liberação seqüenciada de DCS a partir da matriz CPE 3 (QT:GCM1 40:60 reticulado).....	81
Figura 37. Intumescimento seqüenciado da matriz CPE 3 (40:60 QT:GCM1).....	82
Figura 38. Cinética de intumescimento para esfera de CPE 3 (QT:GCM1 40:60) reticulado com epiclorigidrina.....	83
Figura 39. Espectros na região do infravermelho de (a) GC; (b) QT; (c) QT gel; (d) QT/GC 2:1; (e) QT/GC 1:2. ....	84
Figura 40. Difração de raio-X de: (a) QT; (b) QT gel; (c) QT/GC 2:1; (d) QT/GC 1:2; (e) GC.....	86
Figura 41. Curvas de DSC: (a) GC; (b) QT; (c) QT gel; (d) QT/GC 2:1; (e) QT/GC 1:2. ...	87
Figura 42. Curvas termogravimétricas e DTG em atmosfera de N <sub>2</sub> para géis de quitosana e quitosana:GC. ....	89
Figura 43. Grau de intumescimento de QT e QT/GC géis em água e soluções diferentes em diferentes pH. (□) QT; (●) QT:GC 2:1; (▲) QT:GC 1:2.....	89
Figura 44. Liberação de pilocarpina em diferentes meios a 37°C. Os símbolos representam: QT gel (□); QT/GC 2:1 (●); QT:GC 1:2 (▲). ....	91
Figura 45. Percentagem de fármaco liberado em 180 min a partir de matrizes QT e QT:GC em diferentes meios. Os géis QT gel (□); QT:GC 2:1 (●); QT:GC 1:2 (▲). ....	91
Figura 46. Variação da massa molar ponderal média (M <sub>w</sub> ) com o aumento da percentagem de oxidação.....	94
Figura 47. RMN <sup>13</sup> C BB em D <sub>2</sub> O da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B).....	96



Figura 48. DEPT 135 em D <sub>2</sub> O da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B). .....	97
Figura 49. Formação do Hemiacetal intra residual [Brunell e Schacht, 1993]. .....	98
Figura 50. HMQC em D <sub>2</sub> O da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B) (Região de anomericos). .....	99
Figura 51. Curvas termogravimétricas de cajueiro e cajueiro oxidado: a) reações de 1-3 ; b) reações de 4-6. ....	100
Figura 52. Relação entre a temperatura inicial (atmosfera de ar sintético, 10°C/min) de decomposição e a percentagem de oxidação dos derivados da goma do cajueiro. ....	101
Figura 53. Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) para derivados oxidados de 5-7 em atmosfera de N <sub>2</sub> a 10°C/min. ....	102
Figura 54. Espectros de quitosana e quitosana precipitada em meio básico e dos complexos QT:GCOX. ....	104
Figura 55. Curvas termogravimétricas para a quitosana e complexos QT:GCOX4. ....	105
Figura 56. Liberação seqüenciada de DCS utilizando matriz QT/GCOX4.....	106

## ***Índice de tabela***

Tabela 1. Composição da goma do cajueiro de diferentes regiões geográficas. ....	5
Tabela 2. Polieletrólitos que formam complexos com quitosana. ....	24
Tabela 3. Complexos polieletrólíticos de quitosana e polissacarídeos aniônicos aplicados na Liberação controlada de fármacos. ....	35
Tabela 4. Condições reacionais de oxidação da goma do cajueiro com metaperiodato de sódio. ....	42
Tabela 5. Condições utilizadas na preparação dos complexos polieletrólitos CPE séries 1 e 2. ....	44
Tabela 6. Condições reacionais da formação da base de Schiff quitosana/GCOX. ....	49
Tabela 7. Razões utilizadas na preparação dos complexos polieletrólitos CPE séries 1 e 2. ....	62
Tabela 8. Temperatura máxima na TGA durante a degradação térmica de quitosana (QT), Goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE (série 1).....	66
Tabela 9. Energia de ativação e perda de massa (%) para os experimentos dinâmicos de TGA para a decomposição térmica de quitosana (QT), goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE [Broido, 1960]. Atmosfera N <sub>2</sub> e taxa de aquecimento 10°C/min.....	68
Tabela 10. Energia de ativação da degradação térmica de QT, GCM1 e CPE 25:75 em experimentos isotérmicos (atmosfera de N <sub>2</sub> ) [MacCallum, 1989]. ....	72
Tabela 11 . Grau de cristalinidade obtido por deconvolução dos picos de difração. ....	86
Tabela 12 . Dados cinéticos da liberação de pilocarpina de matrizes QT gel e QT:GC géis. ....	92
Tabela 13. Resultados da reação de oxidação da goma do cajueiro com NaIO <sub>4</sub> .....	93
Tabela 14. Massa molar ponderal média (M <sub>w</sub> ) para os produtos oxidados. ....	94
Tabela 15 . Dados das curvas de TGA para a goma do cajueiro oxidado em atmosfera de ar sintético 10°C/ min. ....	101
Tabela 16. Dados TGA em atmosfera de N <sub>2</sub> a 10°C/min para a goma do cajueiro e derivados oxidados. ....	103

## **Resumo**

Géis de goma do cajueiro e/ou derivados com quitosana foram sintetizados por três diferentes rotas: complexação polieletrólítica, re-acetilação de quitosana e pelo mecanismo de formação de base de Schiff. Géis de goma do cajueiro carboximetilada com quitosana obtido por complexação polieletrólítica (CPE) foram caracterizados por titulação condutimétrica, potenciométrica, espectroscopia na região do IV, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura e quanto à capacidade de intumescimento. Os complexos foram obtidos em razões não estequiométricas de cargas. A razão  $[\text{NH}_3^+]/[\text{COO}^-]$  nos géis dependendo grau de substituição da goma carboximetilada e da ordem de adição dos políons durante a complexação. Os géis obtidos são solúveis em meio ácido. Em  $\text{pH} > 7$  a liberação *in vitro* de diclofenaco de sódio e potássio, utilizando estas matrizes, ocorre rapidamente via mecanismo de liberação não-Fickiano. A reticulação do gel permite a sua utilização em meio ácido. A liberação de DCS em  $\text{pH} 1,2$  também segue um mecanismo de liberação não-Fickiano. Géis de quitosana reacetilada (QT)/goma do cajueiro (GC) foram preparados e testados na liberação controlada de pilocarpina. Os géis foram caracterizados por espectroscopia na região do IV, análise termogravimétrica, raio-X e quanto à capacidade de intumescimento em água e em tampão. A liberação de pilocarpina nos três géis é similar nos primeiros 100 min, quando 60 % do fármaco são liberados. Acima desse tempo a maior concentração de goma do cajueiro no gel provoca uma diminuição da percentagem de pilocarpina liberada. Um mecanismo não-Fickiano foi observado para o gel de quitosana em  $\text{pH} 2,0$  e  $7,4$ , enquanto que em  $\text{pH} 9,8$  o mecanismo é Fickiano. Géis de QT/GC mostraram mecanismo Fickiano de liberação de pilocarpina, independente do  $\text{pH}$ .

Derivados da goma do cajueiro oxidado (GCOX) com periodato foram sintetizados com percentagem de 2 a 62% de grupamentos aldeídicos. Os derivados foram caracterizados por espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  1D e 2D. Os derivados foram utilizados para preparação de géis reticulados com quitosana via reação base de Schiff. Os géis formados são insolúveis em meio ácido e básico (7,4) apresentam capacidade de absorção de água de até oito vezes sua massa seca em meio ácido (pH 1,2). A liberação seqüenciada de diclofenaco utilizando como matriz o gel QT:GCOX 2:1 foi estudada em pH 1,2 e 7,4. Em pH 1,2 praticamente não é liberado fármaco e liberação controlada foi observada em meio pH 7,4.

## ***Abstract***

Gels of cashew gum (CG) and/or derivatives with chitosan (CH) were synthesized by three different routes: polyelectrolyte complexation, re-acetylation of chitosan and by Schiff-base reaction mechanism. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complexes were synthesized using different chitosan (CH) and carboxymethyl cashew gum (CMCG) proportions. Polyelectrolyte (PEC) samples were characterized by potentiometric and conductimetric titrations, FT-IR spectroscopy, thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy and swelling behaviour. PEC samples were obtained in non stoichiometric charge ratio. The  $[\text{NH}_3^+]:[\text{COO}^-]$  ratio depends on the CMCG degree of substitution of and addition order of polyion during complexation. PEC samples were soluble in acidic medium. In  $\text{pH} > 7.0$  the *in vitro* release of sodium and potassium diclofenac (SDC and KDC respectively) occurred very quickly by a non Fickian mechanism. Crosslinking of PEC sample allowed it to be used in acidic medium. The controlled release of SDC in  $\text{pH} 1.2$  was observed following also a non Fickian mechanism. Gels prepared by re-acetylation of chitosan and CH/cashew gum with acetic anhydride were characterized by infrared spectroscopy, thermal analysis, X-ray diffraction and swelling behaviour in water and in phosphate buffers. The release of pilocarpine for all re-acetylated gels was shown to be similar in the first 100 min, where about 60 % of the pilocarpine was released. After this time, addition of CG to the gels decreases pilocarpine release rate in the medium. The release of pilocarpine from CH gel was found to be dependent on pH, a non-Fickian mechanism being observed for the release at  $\text{pH} 2$  and  $7.4$  while at  $\text{pH} 9.8$  a Fickian diffusion mechanism took place. On the other hand the release of pilocarpine in CH/CG matrix occurred by Fickian mechanism, independent of the pH value.

Periodate oxidized cashew gum derivatives (CGOX) with degree of oxidation between 2 to 62 % were synthesized. Oxidized samples were characterized by 1D and 2D  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy, thermogravimetric analysis, gel permeation chromatography and swelling behaviour. Gels with chitosan and oxidized CG were obtained by Schiff-base reaction mechanism. The gels were insoluble in acidic and basic medium. Release of SDC by CH/CGOX gel was investigated. At pH = 1.2 no drug is released in the medium and a controlled released is observed at pH = 7.4.

# ***I. Introdução***

## I.1. Polissacarídeos

Quimicamente, os polissacarídeos podem ser definidos como polímeros de alta massa molar formados de unidades repetitivas denominadas monossacarídeos ligados por ligações glicosídicas. Podem ser obtidos de exsudatos de árvores, algas, sementes, fungos e por fermentação microbiológica [Aspinal,1982; Kennedy e White, 1988; Whistler e Bemiller,1993].

O grau de polimerização de polissacarídeos varia de 200 a 3.000, podendo em alguns polissacarídeos chegar a valores de 15.000. Polissacarídeos podem ser lineares (Figura 1A) ou ramificados (Figura 1B). Os ramificados podem ser subdivididos em dois tipos, um que possui ramificação curta (Figura 1B) ou com um só substituinte na cadeia principal (Figura 1B) e outro altamente ramificado (Figura 1C). As estruturas altamente ramificadas são características de polissacarídeos de exsudatos [Danishefky, Whistler e Bettelheim, 1970].

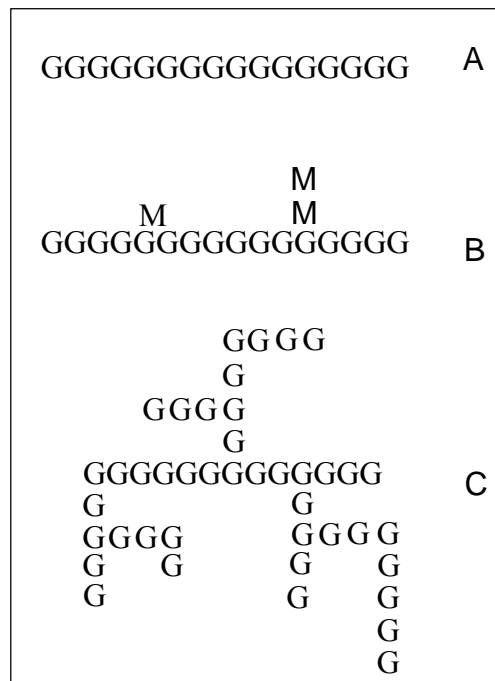


Figura 1. Representação esquemática de estruturas lineares e ramificadas de polissacarídeos [Danishefky, Whistler e Bettelheim, 1970].



Quanto ao tipo de monossacarídeos eles podem ser classificados em homopolissacarídeos ou homoglicanas, quando são constituídos de um único tipo de monossacarídeo. Quando dois ou mais tipos de monossacarídeos estão presentes na estrutura do polissacarídeo são denominados heteropolissacarídeos ou heteroglicanas.

Polissacarídeos extraídos de exsudatos são chamados também de gomas de exsudatos, nome bastante comum em aplicações alimentícias.

### ***1.1.1. Polissacarídeos de exsudatos***

As gomas são polissacarídeos solúveis em água que formam soluções viscosas a baixas concentrações. A palavra goma teve origem no Egito, onde o exsudato de árvores (goma arábica) era designado de *Kami* [Whistler, 1993] o qual era utilizado para estabilizar pigmentos [Aspinal,1982; Whistler, 1993]. As gomas são empregadas nas indústrias de alimentos e farmacêutica como espessantes e estabilizantes, entre outras aplicações.

As gomas extraídas de exsudatos foram as primeiras gomas conhecidas [Whistler, 1993]. As principais famílias que incluem espécies que produzem gomas na forma de exsudatos são: *Leguminosae*, *Combretaceae* e *Anacardiaceae*. Estas espécies exsudam goma, principalmente no caule e galhos, como mecanismo de defesa contra predadores e como consequência de ferimentos. Condições climáticas desfavoráveis e solos pobres também estimulam a produção de goma [Rosenthal 1955; Anderson e McDougall, 1987].

Goma arábica (*Acácia senegal*), goma ghatti (*Anogeissus latifolia*), goma caraia (*Sterculia urens*) e goma tragacanto (*Astragalus* sp) são exemplos de gomas de exsudatos cujas propriedades e estruturas foram investigadas e são utilizadas industrialmente.

Os polissacarídeos de exsudatos podem apresentar em sua estrutura grupos aniônicos ácidos (carboxílicos) provenientes de unidades como ácido glucurônico, galacturônico, e manurônico [Aspinal,1982], o que lhes confere características físico-químicas de polieletrólitos.

#### 1.1.1.1. Goma do cajueiro

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é extensivamente cultivado no Brasil além de países como Quênia e Índia. O principal produto é sua castanha, que representa 39,5% (em volume) de toda a exportação do Estado do Ceará [Lima e col., 2001] superando lagostas e cera de carnaúba. A cultura do cajueiro gera divisas não só pela comercialização da castanha, como também pelo líquido da casca da castanha (LCC), e por outros produtos que podem ser mais bem explorados, como a goma do cajueiro e o pedúnculo onde somente cerca de 5% da produção é aproveitada pela indústria [Soares, 1986]. Pessoa e Bandeira [1993] mostraram que o cajueiro pode produzir em média 120 kg de goma por hectare/ano. Levando em consideração uma área de 30.000 hectares de cajueiro no estado do Ceará podemos fazer uma estimativa que, se metade desta área fosse utilizada para exploração de goma, cerca de 25.000 toneladas/ano de goma poderiam ser produzidas. Isto indica um potencial para o uso desta goma, o que diminuiria a necessidade de importação de gomas com características físico-químicas semelhantes às da goma arábica.

Com objetivo de aumentar a produção de goma do cajueiro, Pessoa e Bandeira [1993] propuseram a extração da goma por uso de estimulantes químicos e observaram melhores resultados no período de floração e frutificação. Lima e col., [2001] continuando a pesquisa observaram que é possível a redução dos custos de produção da goma do cajueiro, adotando-se a substituição parcial de produtos estimulantes adquiridos no mercado (ethrel), por óleos vegetais de baixo custo e fácil aquisição.

Os primeiros estudos voltados para a caracterização da goma do cajueiro datam de 1946, nos quais mostraram que a goma do cajueiro possuía em sua composição galactose, arabinose e resíduos ácidos [Tiomno, 1946]. Sais de ferro, alumínio, cálcio e magnésio foram também detectados. Em 1955, utilizando cromatografia em camada fina, foi detectada, além destes açúcares, a ramnose [Rosenthal, 1955]. Machado e Leite [1953] também detectaram traços de xilose na goma.

A goma do cajueiro apresenta atividade contra o crescimento de fungos e bactérias fitopatogênicas, além de inibir a ovoposição de fêmeas do *Callosbruchus maculatus* [Marques, 1990]. Os primeiros estudos de caracterização estrutural da goma do cajueiro da Índia foram realizados por Bose e Biswas [1970]. Eles demonstraram que a goma possuía

galactose, arabinose, ramnose e ácido galacturônico. Anderson e Bell [1974] mostraram que tanto a goma da Índia como a de Papua apresentavam ácido glucurônico e não galacturônico como proposto por Bose e Biswas [1970]. Os autores [Anderson e Bell, 1974] caracterizaram estruturalmente o polissacarídeo e mostraram que a goma do cajueiro era constituída de unidades de  $\beta$ -D-galactose ligada 1 $\rightarrow$ 3 com ramificações de galactose ligada 1 $\rightarrow$  6 e unidades de glucose, arabinose, ramnose, manose e ácido glucurônico, além do ácido 4-O-metil ácido glucurônico.

Rodrigues, de Paula e Costa [1993] e Costa, Rodrigues e de Paula [1996] propuseram um método de purificação da goma do cajueiro utilizando várias etapas. A composição da goma do cajueiro do Nordeste do Brasil foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência [de Paula e Rodrigues, 1995] e por cromatografia gás-líquido [de Paula, Heatley e Budd,1998]. Os resultados comparativos de composição da goma do cajueiro de diferentes origens são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição da goma do cajueiro de diferentes regiões geográficas.

Monossacarídeo	Composição (%) da goma do cajueiro de diferentes países			
	Brasil <sup>1</sup>	India <sup>2</sup>	Papua <sup>2</sup>	Venezuela <sup>3</sup>
Galactose	72	61	63	49
Arabinose	4,6	14	16	31
Manose	-	2	1	4
Xilose	-	2	-	1
Ramnose	3,2	7	7	7
Glucose	14,0	8	9	-
Ácido urônico	4,5	6,2	5,7	8

<sup>1</sup> (de Paula, Heatley e Budd, 1998)

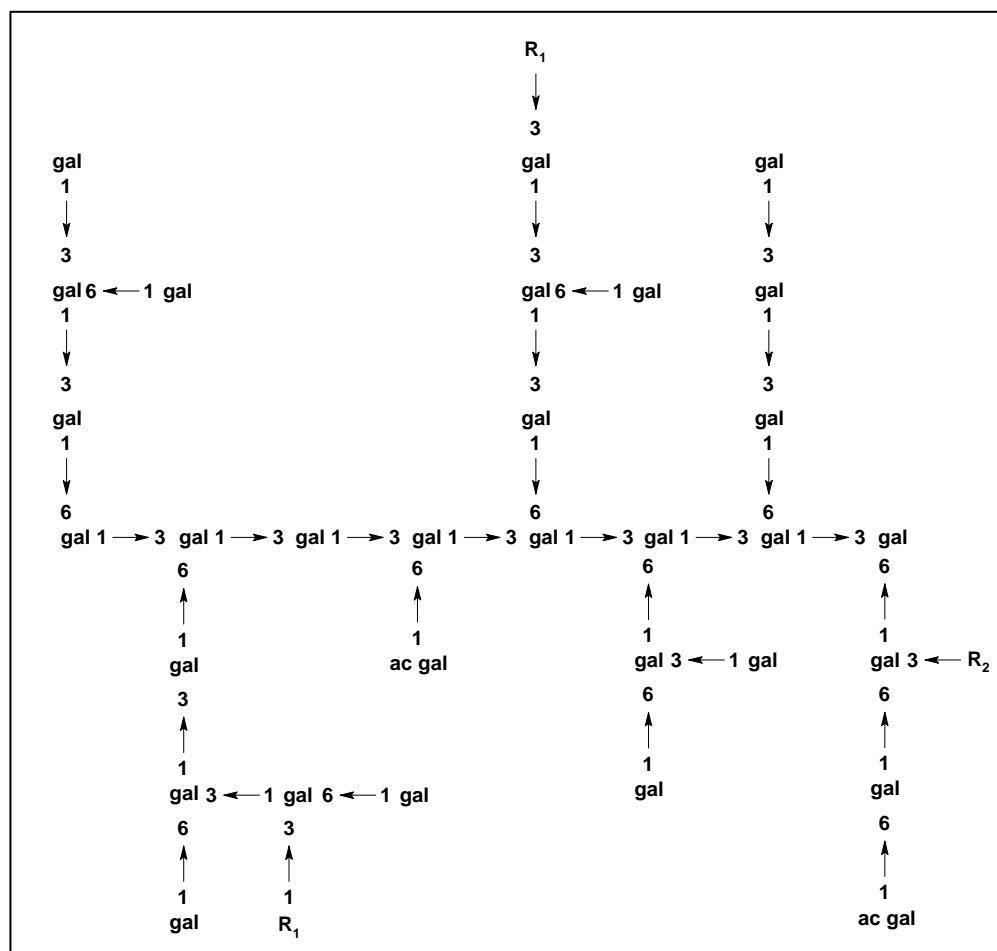
<sup>2</sup> (Anderson e Hendrie, 1970)

<sup>3</sup> (Pinto e col., 1995)

A razão galactose/arabinose varia bastante com a fonte do polissacarídeo, sendo que a amostra da Venezuela possui um valor muito elevado de arabinose e não apresenta glucose na sua composição. A goma do Nordeste do Brasil apresenta a menor proporção de ácido urônico e maior de galactose.

A goma do cajueiro do Nordeste do Brasil foi caracterizada estruturalmente, indicando ser constituída de uma cadeia principal de galactose (1→3), com ramificação de galactose (1→6). Ramnose, ácido glucurônico e arabinose estão presentes como grupos terminais, mas a glucose pode formar cadeias laterais [de Paula, Heatley e Budd,1998]. A ausência do ácido 4-O-metil ácido glucurônico é a principal diferença encontrada entre a amostra do Brasil e da Índia [de Paula, Heatley e Budd,1998].

A Figura 2 apresenta uma representação esquemática da estrutura da goma do cajueiro. A estrutura química é bastante similar à goma arábica, que apresenta também galactose ligada (1→3) na cadeia principal com ramificações de galactose ligadas (1→6).



(Onde R1 pode ser glucose, arabinose, ramnose ou ácido glucurônico e R2 cadeias de glucose com até 6 unidades.)

Figura 2. Representação esquemática da estrutura da goma do cajueiro.

A goma do cajueiro é polidispersa com uma distribuição multimodal caracterizada por cromatografia de permeação em gel (GPC) [de Paula e Rodrigues 1995]. A existência de um pico de alta massa molar (MM) foi atribuída a um complexo proteína-polissacarídeo, representando 6% do material. O segundo pico que representa 42% do total corresponde a uma massa molar no pico de  $3,2 \times 10^4$  g/mol e 52% do polissacarídeo apresenta uma massa molar de  $1,6 \times 10^4$  g/mol. Estes valores foram determinados com a utilização de dextrana como padrão de massa molar no GPC [de Paula e Rodrigues 1995]. A goma foi fracionada em polissacarídeos com diferentes massas molares através de uma precipitação seletiva com etanol, caracterizados por espalhamento de luz, viscosimetria e GPC [de Paula, Heatley e Budd,1998]. A relação entre viscosidade intrínseca e a massa molar foi proposta como  $[\eta] = 0,052 M^{0,42}$  [de Paula, Heatley e Budd,1998].

A goma do cajueiro possui viscosidade intrínseca de 8,8 mL/g em NaCl 1 M. O efeito de sais na viscosidade intrínseca de solução de goma do cajueiro indica a seguinte ordem de afinidade da goma por cátions:  $Al^{3+} > Ca^{2+} > Na^+$ . Solução 2 % de goma possui baixa energia de ativação comparada a sistemas com pouca interação inter e intramolecular [de Paula e Rodrigues, 1995].

Segundo Silva (2002), o comportamento de fluxo de soluções diluídas de goma do cajueiro em NaCl apresenta comportamento Newtoniano até concentrações de 20 % (m/v) [Silva, 2002].

Análise termogravimétrica da goma do cajueiro mostra que a decomposição do polissacarídeo ocorre em uma única etapa com uma temperatura máxima de decomposição em 162,9 °C em atmosfera de nitrogênio, estando esta temperatura de decomposição na mesma faixa daquela observada para a goma arábica [Mothé e Rao, 2000].

### ***1.1.2. Quitina e Quitosana***

Quitina foi descoberta em 1811 na França pelo cientista Henri Braconnot que isolou-a de cogumelos. Em 1823, Odier encontrou o mesmo polissacarídeo em insetos e o nomeou de quitina, palavra em grego para envelope ou cobertor. Já em 1859, Rouget publicou um trabalho no qual mostrou que um novo material poderia ser obtido por tratamento da quitina com soluções de hidróxido de sódio sob fervura, “quitina modificada”. Observou que o

modificado de quitina dissolvia-se em soluções aquosas de ácidos orgânicos, característica bastante distinta da quitina que é insolúvel em tais soluções. Em 1894 a “quitina modificada” foi nomeada como quitosana por Hoppe-Seiler [Winterowd e Sandford,1995].

A pesquisa com quitina e quitosana avançou a partir da metade do século XIX. Desde então, diversos trabalhos vêm sendo publicados com ambos os polissacarídeos, nos quais aspectos físicos e químicos são bastante discutidos indicando que estas moléculas podem ser utilizadas em diversos tipos de aplicações.

Quitosana é um copolímero de  $\beta$ -[1 $\rightarrow$ 4]-2-acetoamido-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose. Atualmente, a quitosana é obtida principalmente da desacetilação alcalina da quitina de exoesqueleto de crustáceos, como o camarão [Muzzareli, 1973].

A quitina é altamente insolúvel e apresenta baixa reatividade química, característica atribuída a sua estrutura semelhante à da celulose, com ligação glucose  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4), no entanto com a posição C-2 substituída por um grupamento acetamida.

A estrutura química de quitina e quitosana são bastante semelhantes sendo, que o fator que faz a distinção entre as duas é o número de unidades acetiladas ( Figura 3).

Quitosana apresenta reações típicas de aminas, nas quais a N-acilação e reação tipo base de Schiff são muito importantes.

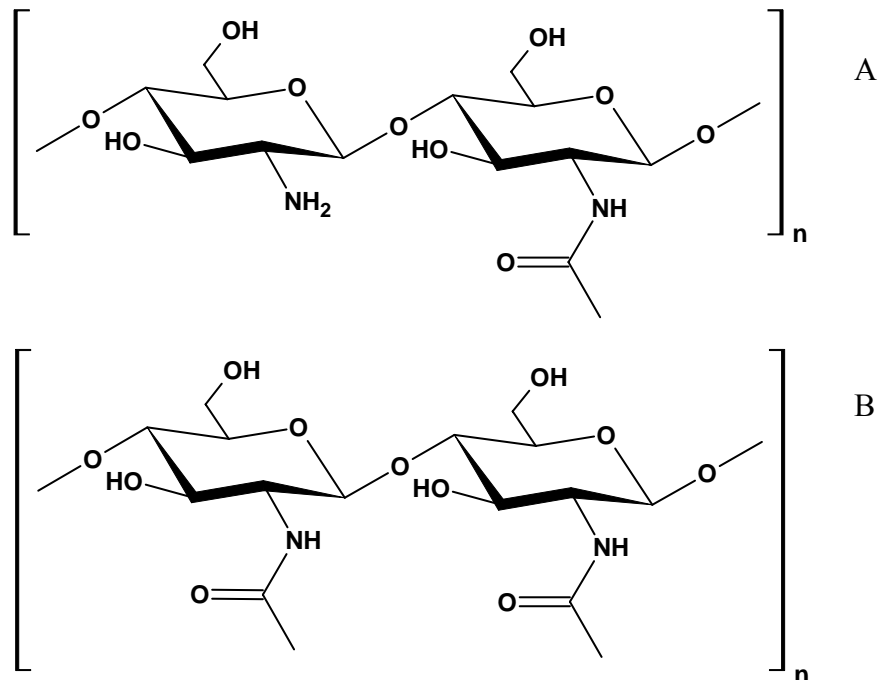


Figura 3. Representação esquemática das unidades repetitivas de e (A) quitosana e (B) quitina.

A conformação em solução, propriedades físico-químicas e biológicas da quitosana dependem de parâmetros como a massa molar ( $M_w$ ), grau de desacetilação (GD) e a distribuição dos tipos de unidades (acetilglucosamina e glucosamina) constituintes da cadeia. A massa molar e GD podem ser determinados por condições escolhidas durante a etapa de obtenção da quitosana, no entanto pode também ser modificada em outros estágios. Por exemplo, o grau de desacetilação pode ser diminuído por reacetilação [Sorlier e col. 2001] e a massa molecular pode ser reduzida por depolimerização ácida [Dong e col., 2001]. Os derivados obtidos por desacetilação da quitina são solúveis em meio ácido, quando o grau de acetilação está abaixo de 60%, sendo considerados então como quitosana [Sorlier e col., 2001].

Domard e colaboradores [1987] observaram que em amostras de quitosana com grau de acetilação (GA) entre 0 e 25% o  $pK_a$  é próximo de 6,5. Em meio ácido os grupamentos amino da quitosana (grupamentos não-acetilados) são protonados ( $-NH_3^+$ ), o que a torna solúvel. À medida que o pH se aproxima de 6,5 a tendência é a precipitação devido ao aumento de grupamentos  $-NH_2$  na estrutura. O comportamento da quitosana em resposta a

diferentes meios deve-se aos estados de ionização e, portanto, a fatores incluindo o pH e a força iônica. Algumas dessas mudanças ocorrem durante o processo de reacetilação da quitosana, durante a complexação com metais, no mecanismo de interação com meio biológico, etc. Por isso, a importância do conhecimento dessas propriedades intrínsecas é fundamental para a interpretação do comportamento em solução de quitosana e derivados.

O grau de acetilação da quitosana pode ser determinado por condutimetria e potenciometria [Rusu-Balaita, Desbrières e Rinaudo 2003] ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) [Le Dung e col., 1994] e por espectroscopia na região do infravermelho (IV) [Brugnerotto e col., 2001; Moore e Roberts 1980]. Métodos como IV ou RMN  $^{13}\text{C}$  no estado sólido são importantes no estudo de derivados insolúveis da quitosana.

A reacetilação da quitosana é responsável por um processo de geleificação [Moore e Roberts 1980; Vachoud, Zydowicz e Domard, 1997]. A alta hidratação e propriedades físico-químicas, como também o comportamento de polieletrólito deste tipo de gel, permite aplicações em sistemas de tratamento de água residuais ou ainda em sistemas de liberação, o que já vem sendo considerado desde a publicação do artigo de Hirano e colaboradores, [1980].

O mecanismo de geleificação da quitosana por reações de acetilação com anidrido acético e anidridos de cadeia longa, como o lauril acético, foi proposto por Moore e Roberts [1980], no entanto ainda não está completamente resolvido. Para os autores, o processo de geleificação pode ser atribuído ao gradual decréscimo na solubilidade do polímero com o aumento da extensão de acetilação. Como resultado tem-se o aumento de interações de hidrogênio e de Van de Waals inter-e intramolecular formando cadeias agregadas, e então, o gel. A sinerese é uma das propriedades físicas mais importantes dos géis de quitosana reacetilada [Tonchava Hadjikimov e Panchev, 1994; Vachoud Zydowicz e Domard, 2000; Park, Shalaby e Park, 1993; Yook, Sosulski e Saskatoon, 1994]. É um processo cinético e termodinâmico que permite uma estrutura mais estável que a estrutura inicial. Esse processo depende do balanço entre interações segmento/segmento no processo de relaxação e compressão da cadeia, e é caracterizado por uma reorganização molecular da rede polimérica, envolvendo tanto a quebra como a formação de interações [Vachoud, Zydowicz e Domard, 2000].



## I.2 - Modificação química de polissacarídeos

A modificação química de polímeros naturais pode adicionar características físico-químicas semelhante a materiais sintéticos e, no entanto, manter suas características de serem biodegradáveis e biocompatíveis. A modificação é realizada com diversos objetivos, desde a obtenção de polímeros insolúveis a partir de polímeros solúveis e vice-versa. Modificações para formação de polieletrólitos, géis químicos obtidos por reticulação e modificação anfífilica são geralmente realizadas com polissacarídeos.

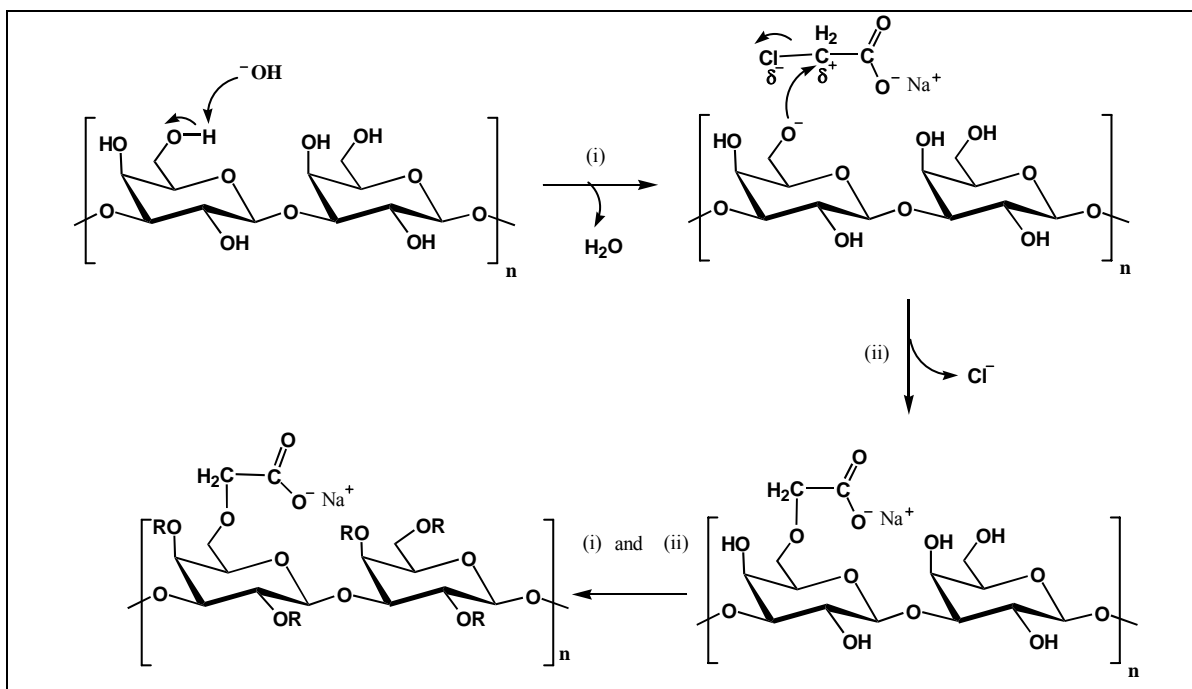
### I.2.1. Reação de carboximetilação

Muitos derivados de polissacarídeos têm sido preparados por reações de carboximetilação usando materiais partida tais como: a celulose [Torul e Arslan, 2003], amido [Kooijman e col., 2003], quitina [Kurita e col., 2001], gelana [Miyamoto e col., 1996], escleroglucana [de Nooy e col., 2000], pululana [Picton e col., 1995] e inulina [Verraest e col., 1995]. Os derivados obtidos são polieletrólitos que podem ser aplicados nas áreas, tais como, química, alimentícia e biomédicas, entre outras. Uma grande vantagem das reações de carboximetilação é o baixo custo dos reagentes e não-toxicidade dos produtos [Verraest e col., 1995].

A reação é baseada na síntese de Williamson, na qual um alcóxido reage com um halogeneto, via  $S_N2$  formando um éter:



Os grupos hidroxilas dos monossacarídeos são mais ácidos que os dos álcoois comuns, pois os monossacarídeos contêm muitos átomos de oxigênio que exercem efeito indutivo nos grupos vizinhos. Bases fortes como NaOH podem ser usadas para transformar álcoois em alcóxidos [Figura 4].



**Figura 4. Esquema da reação de carboximetilação de unidades de galactose ligadas (1→3) [Silva e col., 2004].**

Na primeira etapa da reação existe um equilíbrio entre o hidróxido de sódio e os grupos hidroxila do polissacarídeo com a formação de íons alcóxido que reagem com o ácido monocloroacético numa reação  $S_N2$  com a formação de um éter.

O ácido monocloroacético pode reagir com o NaOH formando glicolato de sódio. O glicolato de sódio pode ainda reagir com outra molécula de glicolato ou com uma molécula de ácido monocloroacético formando diglicolato de sódio.

A quantidade de grupos carboximetila formados é indicado pelo grau de substituição (GS) (número de grupos carboximetila inseridos na cadeia do polímero por unidade monomérica) e a eficiência do processo definida como a percentagem de reagente (ácido monocloroacético) que efetivamente reagiu com o polissacarídeo. O reagente remanescente é consumido nas reações laterais [Bhattacharyya, Singhal e Kulkarni, 1995]. O grau de substituição (GS) para derivados carboximetilados pode ser determinado por um número de técnicas analíticas, as mais comuns utilizam potenciometria e condutimetria, entretanto o resultado não fornece informações sobre a distribuição de substituintes  $-CH_2COONa$  entre os grupos hidroxílicos dos polissacarídeos [Glinel e col., 2000].

A síntese da CMC com diferentes GS tem sido reportada na literatura desde 1924, entretanto o grau de substituição é baixo [Ywata e col.1985]. Watanabe e Nakamura [1965] propuseram um método de preparação da CMC com GS =1 usando isopropanol como solvente. CMC's com altos graus de substituição (1,24 - 2,36) foram sintetizados por Ywata e col. [1985], usando tetrametiluréia e dimetilsulfóxido como solventes.

A diferença observada na eficiência da reação de carboximetilação da celulose utilizando-se diferentes solventes foi justificada por Barai, Singhal e Kulkarni [1997] em função das características de polaridade e estereoquímica apresentada. Os autores observaram que com a diminuição da polaridade, a eficiência da reação aumenta. O efeito da temperatura também foi verificado e um pequeno e gradual aumento no grau de substituição ocorre com o aumento da temperatura (30 a 75°C).

A carboximetilação de quitina e quitosana têm sido proposta na produção de novos materiais que possam substituir o ácido hialurônico. Vários derivados de quitina foram comparados, quanto às propriedades físico-químicas, ao ácido hialurônico (AH) por Shuichi, Ching e Masahiro [1989]. Quitosana carboximetilada apresenta propriedades mais diversificadas que outros derivados de quitina preparados para substituir o ácido hialurônico. Quitosana e quitina carboximetiladas são usadas em cosméticos devido à elevada capacidade de absorver umidade [Chen e col., 2002]. Graus de substituição de quitosana e quitina carboximetilada de 0,6-0,86 foram obtidos em estudo comparativo quanto à capacidade de retenção de água entre os dois derivados por Chen e col. [2002].

A goma do cajueiro foi carboximetilada em solução alcalina utilizando ácido monocloroacético (AMC) como agente eterificante [Silva e col., 2004]. O efeito dos parâmetros reacionais como concentração de base, razão AMC/goma e temperatura foram investigados em relação ao grau de substituição e rendimento. Os produtos obtidos foram caracterizados por ressonância magnética nuclear, cromatografia de permeação em gel e viscosimetria. Amostras de goma carboximetilada com grau de substituição entre 0,1 e 2,21 foram preparadas. A melhor condição de carboximetilação foi obtida utilizando concentração de base de 5,5 M, razão AMC/goma de 1:1 e tempo de reação de 3 h [Silva e col., 2004].

### ***1.2.2. Reação de oxidação***

A oxidação com periodato de sódio é uma reação simples e bastante usada como ferramenta na elucidação estrutural de carboidratos complexos [Perlin e Casu, 1982]. A oxidação de amido com periodato, até pouco tempo, era um dos poucos exemplos no qual a reação era empregada para obter novas propriedades com aplicações industriais [Veelaert e col., 1997a,b]. No entanto, a modificação por oxidação com periodato tem sido proposta para outros polissacarídeos pullulana [Brunneel e Schacht, 1993], escleroglucana [Crescenzi, Gamini e Paradossi, 1983; Stokke e col., 1995; Guo e col., 1998; Christensen, Aasprong e Stokke, 2001] e goma guar [Varma e col., 1997] como materiais funcionalizados capazes de reagir com quitosana ou ainda serem utilizados para interação com metais pesados [Stokke e col., 1995].

Periodato oxida seletivamente as cadeias laterais do polissacarídeo. Essa seletividade é possível se a cadeia principal não possui nenhuma hidroxila vicinal. A Figura 5 mostra diferentes unidades de açúcares reagindo com periodato de sódio. Observa-se que a única unidade não-oxidada é a B devido as ligações glicosídicas na posição 1 e 3 não permitirem duas hidroxilas vicinais. Assim, quando na cadeia principal as unidades são ligadas (1→3) a oxidação com periodato leva à introdução de grupamentos aldeído nas cadeias laterais, sem degradação da cadeia principal.

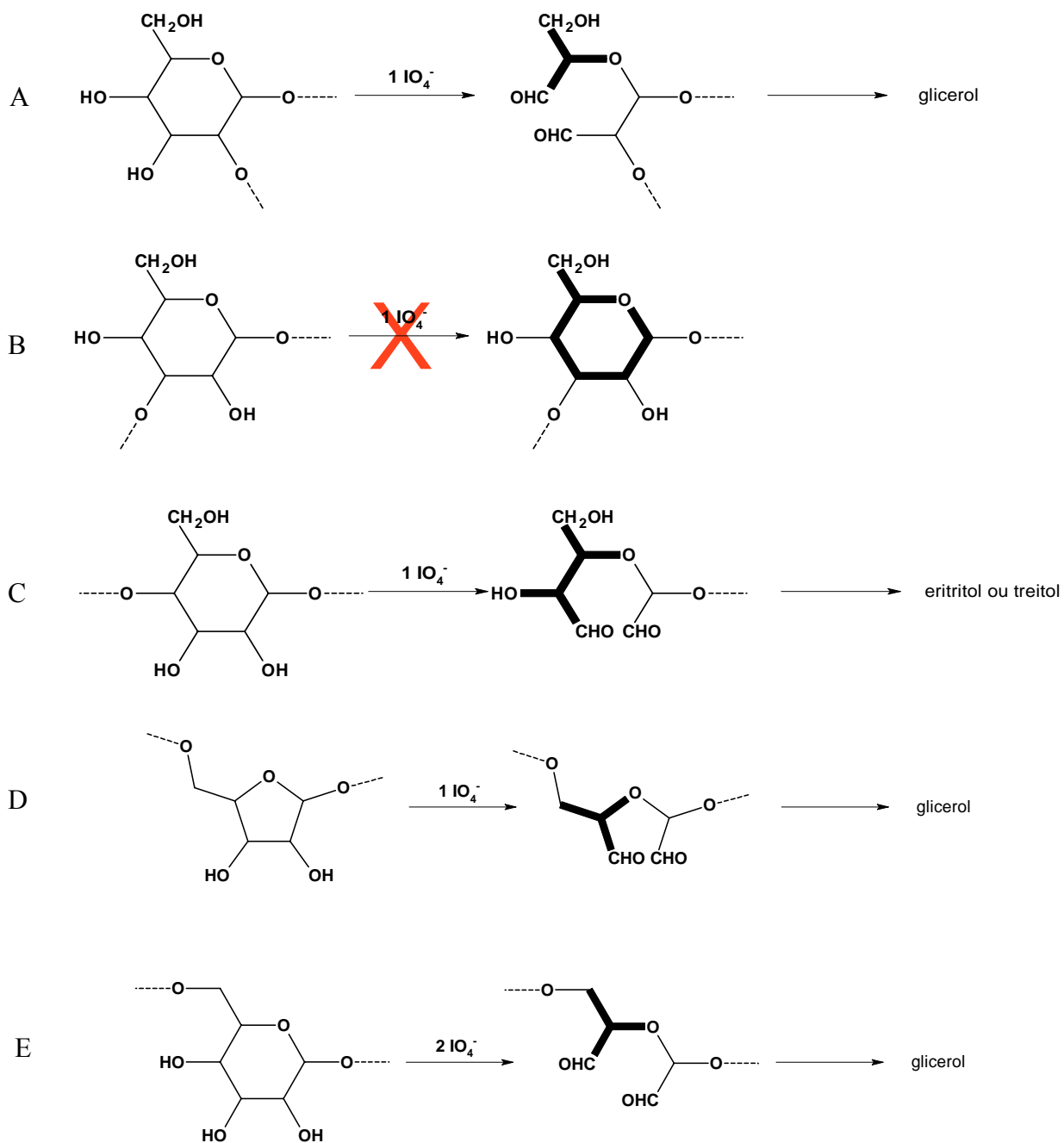


Figura 5. Seletividade da reação de periodato de sódio com unidades de açúcar substituídos em diferentes posições. [Aspinall, 1982].

A Figura 6 mostra o mecanismo básico da reação de oxidação de uma D-glucose de cadeia lateral [Jackson e Hudson, 1938]. O mecanismo descrito assume que a ligação dos carbonos C(2) – C(3) e C(3) – C(4) do anel de glucose pode ser acessada por oxidação com

periodato [Almo e Painter, 1981]. A reação ocorre quando a ligação C(3) – C(4) (constante de velocidade ( $k_1$ ) ou C(2) – C(3) (constante de velocidade  $k_1'$ ) é quebrada na primeira oxidação, originando grupamentos aldeídos nos respectivos carbonos (unidades S e S'). Esses intermediários podem existir em solução nas formas cíclicas e de hemiacetal [Almo e Painter, 1981]. Uma segunda oxidação complementar ( $k_2$  e  $k_2'$ ) origina novos grupamentos aldeído, formando a unidade D (duplamente oxidada) com conseqüente liberação de ácido fórmico de C(3).

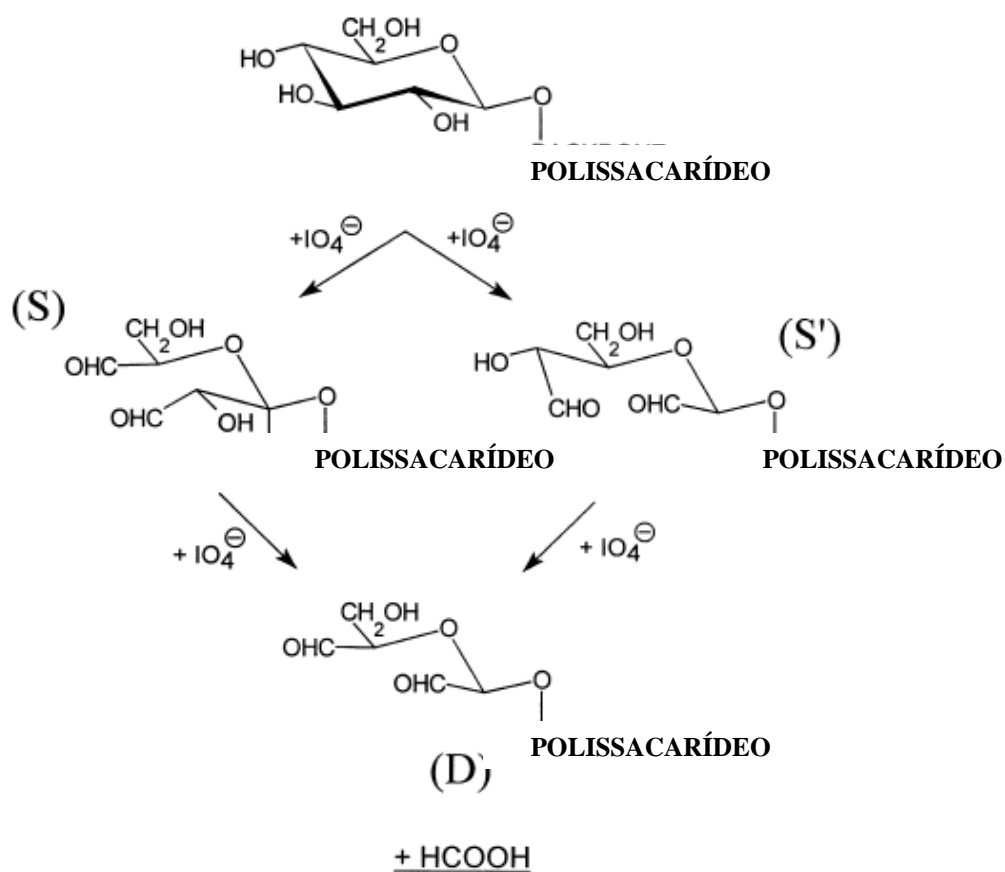


Figura 6. Esquema da reação seletiva de oxidação de uma unidade de glicose da cadeia lateral [Maeda e col., 2001].

A análise do consumo de periodato possibilita a determinação da proporção de unidades duplamente oxidadas. O controle da estequiometria periodato/polissacarídeo pode produzir materiais com diferentes graus de oxidação.

Os grupos aldeído das unidades oxidadas podem reagir com  $\text{NaBH}_4$  para formar o correspondente poliálcool [Schulz e Rapp, 1991] ou com  $\text{NaClO}_2$  para formar correspondentes policarboxilatos [Crescenzi, Gamini e Paradossi, 1983]. O estudo de derivados aldeídos funcionalizados é interessante devido a sua reatividade com grupamentos amina de quitosana ou até mesmo de proteínas.

A Figura 7 ilustra a reação de oxidação de unidades de glucose ligadas (1→3) na cadeia principal e ramificação (1→6) do polissacarídeo da escleroglucana.

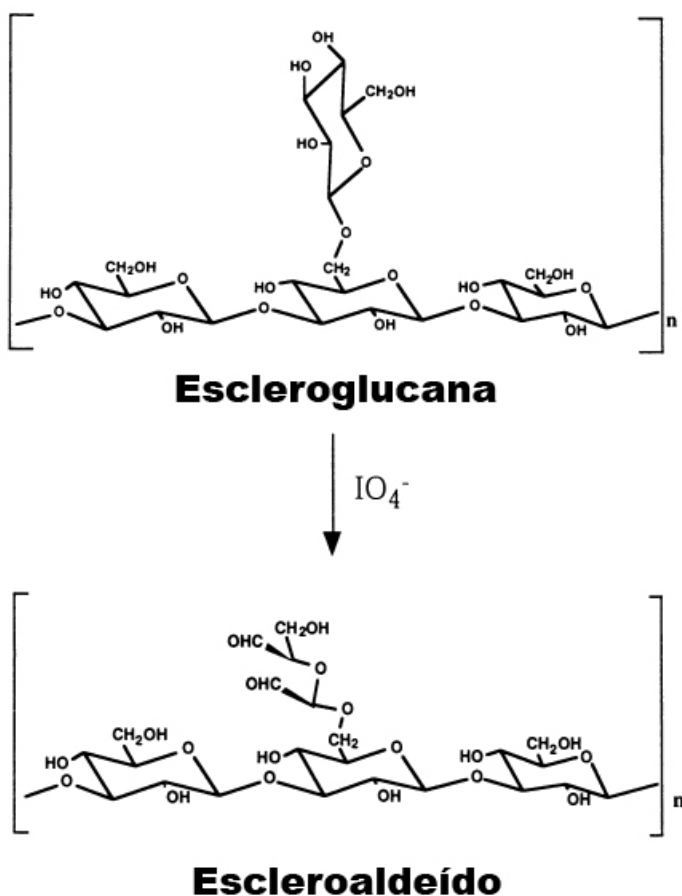


Figura 7. Reação de oxidação de unidades de glucose ligadas (1→3) na cadeia principal e ramificação (1→6) do polissacarídeo da escleroglucana. [Maeda e col., 2001].

### ***1.2.3. Reação de reticulação***

Os polissacarídeos em geral são solúveis em água ou formam géis físicos que, na presença de excesso de água, formam soluções viscosas. Hidrogéis foram definidos por

Peppas [1986] como sistemas macromoleculares que intumescem em água ou fluidos biológicos. Este tipo de sistema polimérico tem sido amplamente investigado e explorado nos campos biomédicos e industriais [Mitsumata e col., 2003].

Recentemente, Berger e col. [2004 a e b] produziram duas revisões sobre a preparação e aplicações de géis de quitosana. Os autores sugeriram uma classificação para os hidrogéis de quitosana em químicos e físicos [Berger e col., 2004 a e b].

Os géis químicos são formados por ligações covalentes irreversíveis formando regiões de reticulação. Os agentes reticulantes tais como: glutaraldeído e formaldeído, são tóxicos e requerem uma excessiva purificação durante a preparação dos hidrogéis para eliminar resíduos de agente reticulante que não formou ligações cruzadas [Berger e col., 2004 b].

Os géis físicos são formados por ligações reversíveis, que ocorrem por interação com cátions, tais como íons cálcio e alumínio ou pela formação de complexos polieletrólíticos (CPEs) [Berger e col., 2004 a].

A estabilidade mecânica ou resistência em diferentes pH's nem sempre são conseguidas para géis físicos. Por isso, algumas vezes é necessária a introdução de ligações covalentes para fortalecer o gel formado, inicialmente mantido apenas por interações eletrostáticas. Por exemplo, o uso de agentes reticulante pode proporcionar a formação de produtos insolúveis e com variadas capacidades de absorção de água.

A reticulação consiste na introdução de moléculas de baixa massa molecular, chamadas de agentes de reticulação. A presença de grupos funcionais -OH, -COOH e -NH<sub>2</sub> na estrutura do polissacarídeo pode ser utilizada para a formação de ligações cruzadas através de reações com aldeídos, com moléculas bifuncionais ou íons, os quais permitem a formação de pontes entre duas cadeias do polissacarídeo. Dependendo da natureza do agente de reticulação, as principais interações na formação da cadeia são covalentes ou iônicas.

Os agentes reticulantes normalmente utilizados para reticulação do polissacarídeo são a epiclorigrina, glutaraldeído e o formaldeído. As propriedades de polímeros reticulados dependem principalmente da densidade de reticulação e da razão molar de agente reticulante para o número de unidades repetitivas. A dissolução devido ao alto grau de intumescimento pode ser evitada por aumento da densidade de reticulação e/ou por mudança da natureza do reticulante [Mitsumata e col., 2003].



As reticulações por inserção de agentes reticulantes covalentes podem ocorrer de três formas diferentes. Reagentes bifuncionais de baixa massa molar formam ligações covalentes entre as cadeias de um mesmo polímero (Fig. 8A). A Figura 8B mostra a reticulação de cadeias de um tipo de polímero com cadeias de outro polímero formando uma rede polimérica híbrida (HPN, hybrid polymer networks). Quando um polímero não reagente é adicionado ao polímero reagente antes da reação de reticulação, existe a formação de redes interpenetrantes (IPN, interpenetrating polymer networks, Fig. 8C). A reticulação iônica ocorre entre as cadeias de polímeros carregados (positivamente ou negativamente) pela presença de íons (Fig. 8D)[Berger e col., 2004 b]

Em cada um dos três tipos de redes formadas por ligações covalentes outros tipos de interações não podem ser excluídos. De fato, as pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas podem ocorrer com o conseqüente aumento da densidade de reticulação.

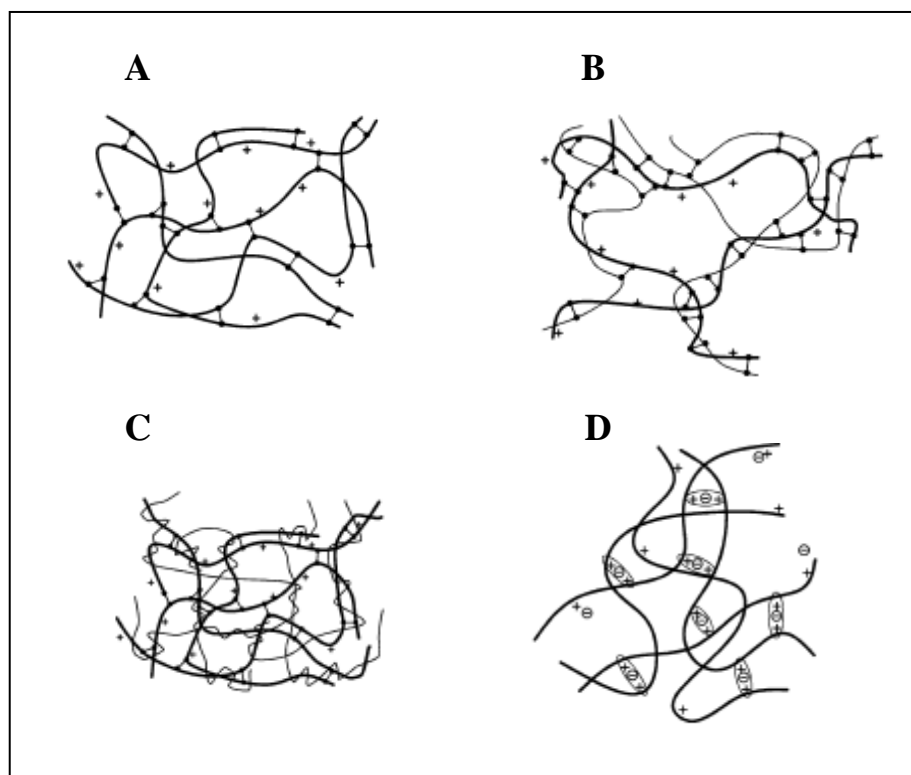


Figura 8. Modelos de estruturas de géis formados por reticulação: (A) reticulação entre as próprias cadeias (B) HPN; (C) IPN; (D) reticulação iônica entre as cadeias do polímero. carga positiva da quitosana: +; carga negativa do reticulante iônico: - ; interação iônica: ○ ; quitosana: — ; polieletrólito adicional: — ; reticulante covalente: ●—●. (Berger e col., 2004b)

Reticulação da goma do cajueiro com epícloridrina foi realizada para viabilizar sua utilização como matriz cromatográfica na separação de lectinas. O gel reticulado é capaz de ligar-se a proteínas galactose específica como frutalina, jacalina e lectinas da semente de *Artocarpus* [Lima e col., 2002]. Géis de polissacarídeos reticulados também tem sido utilizados como matrizes para remoção de metais pesados [Volesky 1990; Dronnet e col., 1996]. Outros polissacarídeos como dextrana, goma arábica, goma guar foram também reticulados com epícloridrina e testados com matrizes para separação de lectinas [Fugita e col., 1975; Apukuttan, Surolia e Bachawat, 1977].

Reticulação de quitosana com epícloridrina tem sido proposta na preparação de microesferas tanto para aplicação em sistemas de liberação de fármacos [Gonçalves, Laranjeira e Fávere, 2005], como em sistemas de remoção de metais pesados [Nghah, Ghani e Kamari, 2005]. A Figura 9 mostra a reação de unidades de quitosana com epícloridrina.

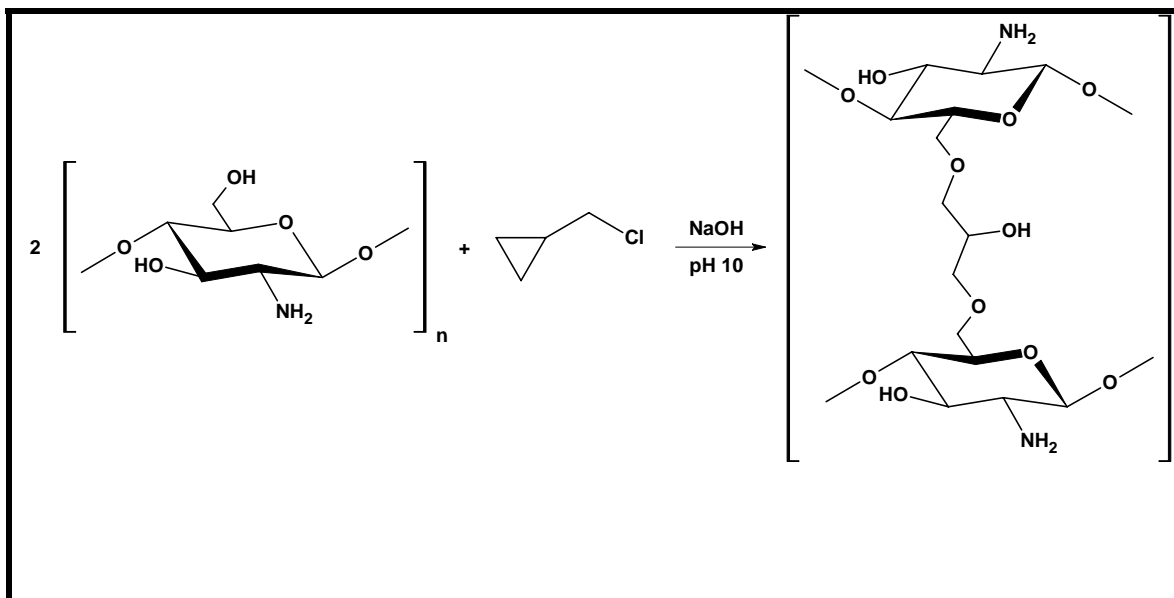


Figura 9. Reação de unidades de glucosaminas da quitosana com epícloridrina em meio básico [Gonçalves, Laranjeira e Fávere 2005].

Quitosana foi reticulada com tripolifosfato resultando em partículas com tamanho de que variavam de 200 nm a 1 $\mu$ m, dependendo das condições reacionais [Shu e Zhu 2002]. As condições reacionais na formação de dispersões de quitosana reticulada com  $K_2SO_4$  foi investigada por Trindade Neto e colaboradores [2005].

Quitosana também é reticulada via reação de Schiff. A reação de formação da base de Schiff ocorre a partir dos grupamentos amina da quitosana e grupamentos aldeídos de outra molécula. O mecanismo básico da reação de Schiff é mostrado na Figura 10.

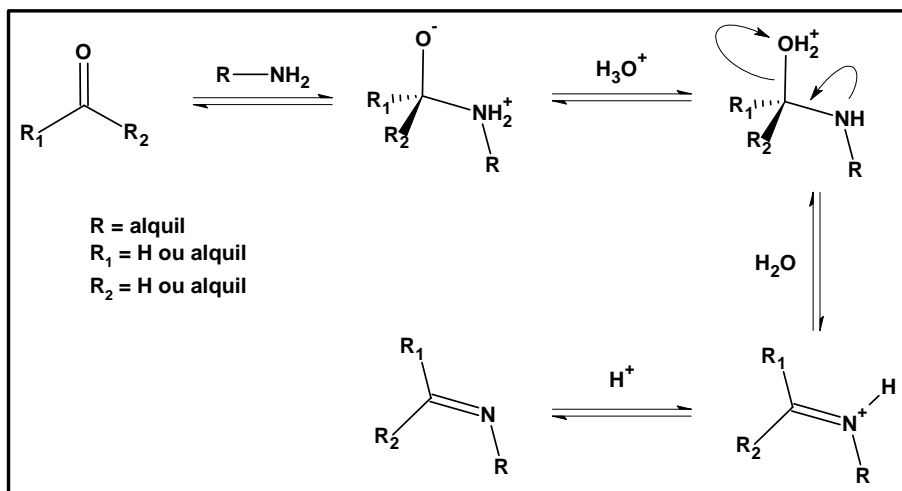


Figura 10. Mecanismo de formação da base de Schiff [McMurry, 1988]

Quitosana reage com glutaraldeído via mecanismo de reação de Schiff (Figura 11). A presença de dois grupamentos aldeídicos permite a formação de ligações C=N reticulando as duas cadeias de quitosana (Fig. 11).

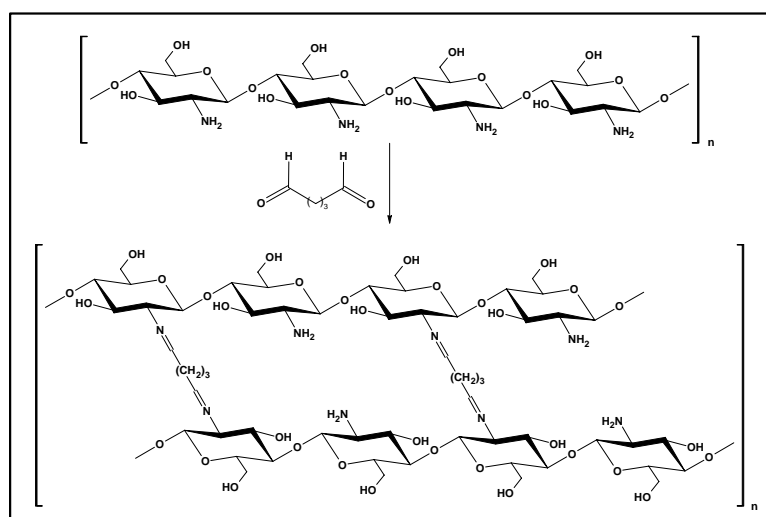


Figura 11. Reação de quitosana com glutaraldeído formando a base de Schiff entre as cadeias da quitosana.

Uma alternativa proposta para substituição de dialdeídos tóxicos, como o glutaraldeído, é a reticulação de quitosana com outros polímeros funcionalizados, solúveis em água e biocompatíveis. Devido a alta massa molar, esses grupos não correspondem à definição exata de reticulantes. Entretanto, como são modificados especialmente para reação com quitosana se enquadram na classificação de géis de quitosana a partir da formação de novas ligações covalentes. Alguns biopolímeros funcionalizados que já foram testados quanto a reatividade com quitosana são: diacrilato de polietilenoglicol [Kim, Lee e Cho, 1995],  $\beta$ -ciclodextrina [Crescenzi, Gamini e Paradossi, 1983] e escleroglucana [Crescenzi e col., 1995].

### **I.3. Complexos polieletrólíticos**

A formação do complexo requer apenas um polissacarídeo (ou polímero) aniônico e outro catiônico, sem a necessidade de moléculas catalisadoras ou inibidoras. Geralmente as reações ocorrem facilmente em soluções aquosas, o que é uma grande vantagem sobre as reações de reticulação covalente [Berger e col., 2004a].

Quitosana é um dos polissacarídeos mais utilizados na formação de CPEs pois, sendo um polímero catiônico pode interagir com outros polímeros que possuam cargas negativas (poliânions). Os polissacarídeos mais utilizados como polímeros aniônicos na formação de CPE de quitosana são aqueles que contêm grupos carboxílico, tais como: carboximetilcelulose [Argüelles-Monal, Garciga e Peniche-Covas, 1990] alginato [Lee e Ha, 1997], pectina [Macleod, Collet e Fell, 1999], xantana [Dumitriu e Chornet, 2000] e goma arábica [Meshali e Gabr, 1993]. No entanto, polímeros contendo grupos sulfato [Tapia e col., 2004] ou fosfato [Mi e col., 1999] também têm sido investigados. Os complexos polieletrólíticos também podem ser formados por derivados aniônicos de quitosana, tais como, quitosana sulfatada ou carboximetilada [Hamano e col., 1998].

Na complexação polieletrólítica, as moléculas que interagem com quitosana são polímeros de larga distribuição de massa molar [Berger e col., 2004a]. Essa interação, baseada predominantemente em interações coulombianas, ocorre quando dois polieletrólitos de carga oposta são misturados em solução aquosa. A atração eletrostática entre os grupos catiônicos de um polímero, como a quitosana e os grupos aniônicos de um

poliânion é a principal interação que leva à formação do complexo (Fig. 12). Os géis formados por reticulação iônica não são classificados como complexos polieletrólíticos. Neste caso a interação entre as cadeias é formada por moléculas iônicas ou íons de baixa de massa molar bem definida, ao contrário da complexação entre polieletrólitos, nos quais as partes reagentes são moléculas de alta massa molar.

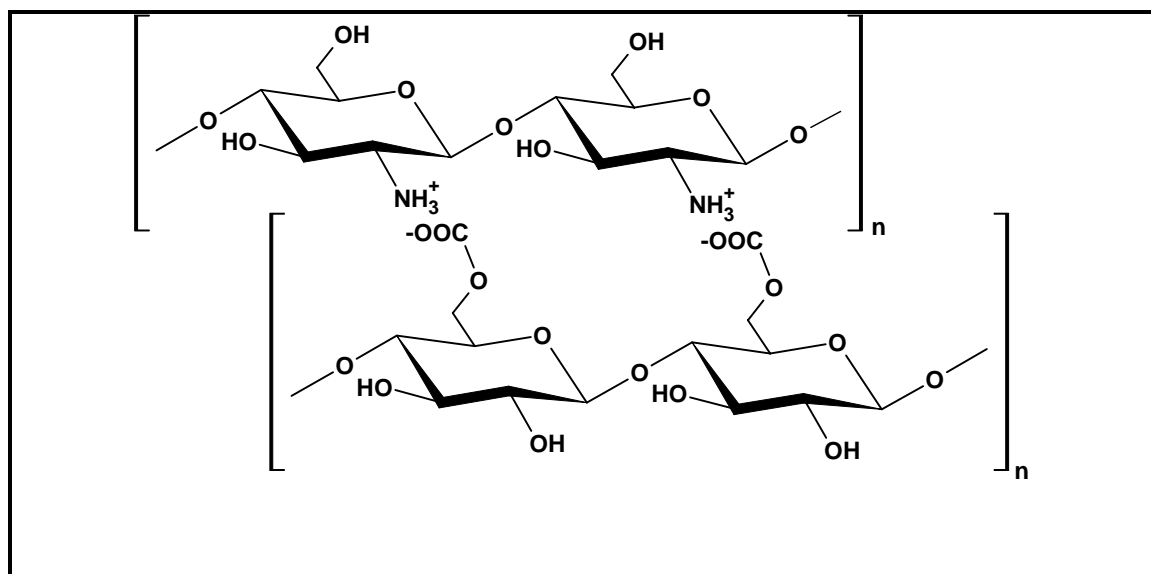


Figura 12. Esquema da interação entre as cadeias de quitosana (polieletrólito catiônico) e um polieletrólito aniônico.

Como observado em hidrogéis reticulados, as propriedades dos complexos polieletrólíticos são principalmente determinadas pelo grau de complexação entre polímeros. Esta última depende essencialmente da densidade de carga global e determina a proporção relativa dos polieletrólitos no CPE. Os complexos podem ser obtidos em razões estequiométricas de cargas ou não.

O acompanhamento da formação dos complexos tem mostrado que complexos não-estequiométricos podem existir em solução nos casos onde os polieletrólitos diferem largamente em massa molar [Kabanov e Zeszin, 1984; Dragan e Cristea, 2001; Mende, Petzold e Buchhamme, 2002]. Outros fatores que tendem a produzir interações não estequiométricas incluem uma pequena diferença na densidade de carga [Kotz e col., 1986] e estruturas ramificadas [Kotz e col., 1992; Moller e Nordmeier 2002].

CPE são caracterizados por regiões hidrofílicas com alto teor de água e densidade de carga. As interações entre as cadeias são afetadas pelo pH (Fig. 12), sais dissolvidos e força iônica do meio, com diferentes intensidades dependendo das propriedades do poliânion.

Para formar um complexo polieletrólítico, os dois polímeros devem estar ionizados e possuírem cargas opostas. Conseqüentemente, para que a ionização ocorra em grande extensão o pH do meio deve estar próximo do intervalo de  $pK_a$  dos dois polímeros. Durante a complexação pode ocorrer coacervação ou a formação de um hidrogel menos compacto. Quando a interação iônica é muito forte, a precipitação pode ocorrer, o que é bastante comum. A Tabela 2 mostra alguns complexos formados de quitosana com polissacarídeos, onde o processo de precipitação ocorre.

Tabela 2. Polieletrólitos que formam complexos com quitosana.

Classe	Polieletrólitos	Grupo ácido	Referência
Polissacarídeos	Goma Arábica	-COO <sup>-</sup>	Meshali e Gabr, 1993
	κ-Carragenana	-OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Sakiyama e col., 1999
	Carboximetilcelulose	-COO <sup>-</sup>	Long e VanLuyen 1996
	Sulfato de dextrana	-OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Sakiyama e col., 1999
	Ácido hialurônico	-COO <sup>-</sup>	Denuziere, Ferier e Domard, 1996; Lee e col., 2003a e b
Proteínas	Colágeno	-COO <sup>-</sup>	Taravel e Domard, 1996
	α-keratose	-COO <sup>-</sup>	Park, 1996
Polímero sintético	Ácido Poliacrílico	-COO <sup>-</sup>	Wang e col., 1997

A Figura 13 mostra uma representação esquemática da variação da quantidade de cargas com o pH para a quitosana em presença de um polieletrólito aniônico. Observa-se que com o aumento do pH, um maior número de cargas é observado devido à desprotonação de grupamentos iônicos do polieletrólito aniônico. Um menor número de sítios de interação entre grupamentos aniônicos e catiônicos é observado, tanto em meio muito básico como em meio bastante ácido. Assim, dependendo da estabilidade do polímero aniônico em meio ácido pode ocorrer dissolução do complexo devido à alta solubilidade de quitosana em meio ácido.

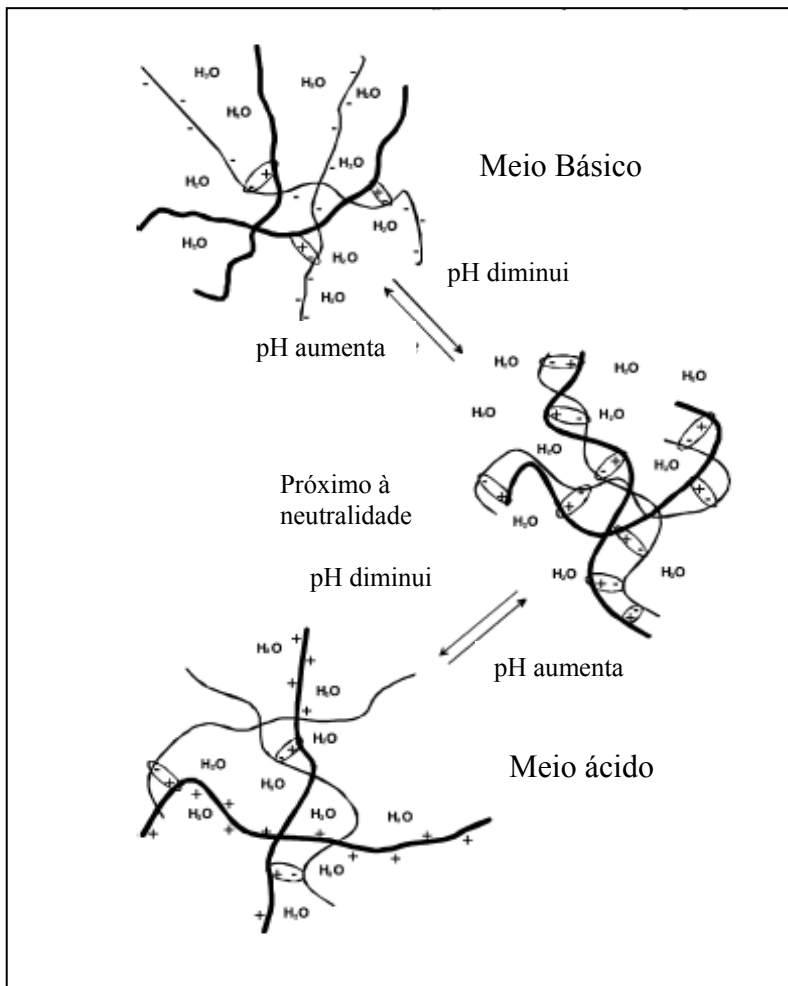


Figura 13. Estrutura e intumescimento sensível ao pH do meio de um complexo contendo quitosana; carga negativa do outro polieletrólito, -; carga positiva da quitosana, +, interação iônica, ○; quitosana; —; polieletrólito adicional, —. Fonte: Berger e col., 2004a.

Complexos polieletrólíticos podem ser reforçados pela adição de agentes reticulantes de quitosana. Esta metodologia leva a formação de uma rede semi-interpenetrada (semi-IPN, Fig 8) [Berger e col., 2004b] como foi observado para complexos de quitosana/sulfato de condroidina [Shahabeddin e col., 1991], colágeno [Zhang e col., 1997] e ácido poliacrílico [Wang e col., 1997]. No entanto, esse procedimento pode diminuir a biocompatibilidade [Berger e col., 2004b]. CPE's também podem ser reforçados pela

adição de íons induzindo a formação de reticulação iônica.  $\text{Ca}^{2+}$  pode ser adicionado ao alginato [Daly e Knorr 1988] ou pectina [Munjeri, Collet e Fell 1997] e  $\text{Al}^{3+}$  à carboximetilcelulose (CMC) [Long e VanLuyen 1996].

É possível modular as propriedades de CPE controlando a reação de complexação [Takahashi e col., 1990]. Um dos fatores que pode ser controlado é a ordem da mistura [Fukuda e Kikuchi, 1978]. Além disso, outros fatores secundários têm sido considerados, como a massa molar, grau de acetilação da quitosana [Becherán-Marón, Peniche e Arguelles-Monal, 2004; Rusu-Balaita, Desbrières e Rinaudo 2003], grau de substituição do outro polieletrólito [Becherán-Marón, Peniche e Arguelles-Monal, 2004], força iônica do meio de síntese do complexo [Torre e Torrado, 2003]. Devido à influência de muitos fatores na formação do complexo é necessário que a preparação seja realizada em condições reprodutíveis. Por isso, é interessante acompanhar o processo de complexação, durante o qual a solubilidade e viscosidade do polímero podem ser afetadas, além da condutividade, turbidez da solução do polímero e pH do sobrenadante. Esses fatores possibilitam acompanhar a formação do CPE por turbidimetria [Lee e Ha, 1997]; reologia [Meshali e Gabr, 1993; Tapia e col., 2004]; potenciometria [Becherán -Marón e Peniche e Arguelles-Monal, 2004]; condutimetria [Argüelles-Monal e col., 2000; Rusu-Balaita, Desbrières e Rinaudo, 2003] e gravimetria [Acar e Tulun, 2001; Chavasit e Torres, 1990; Huglin, Webster e Robb, 1996].

Complexos polieletrólíticos entre carboximetilcelulose e quitosana mostram que a razão estequiométrica depende do pH do meio [Argüelles-Monal, Garciga e Peniche-Covas, 1990]. Valores de pH menores que 3,6 formam complexos ricos em poliácidos, enquanto em pH = 4,8 complexos com excesso de quitosana são obtidos. Membranas formadas por estes complexos absorvem água intumescendo até um valor máximo e depois ocorre uma dessorção até o equilíbrio ser atingido [Becherán-Máron, Peniche e Arguelles-Monal 2004]. O valor máximo de absorção de água depende do pH do meio no qual o complexo foi formado. Maiores valores de intumescimento são observados para complexos formados em pH = 5,8 do que em pH = 4,0 [Becherán-Máron, Peniche e Arguelles-Monal, 2004]

Denuziere, Ferier e Domard [1996] mostram que CPEs com forte interação eletrostática podem ser formados entre quitosana totalmente desacetilada e polissacarídeos



como ácido hialurônico e sulfato de condroitina. Estes complexos são formados com uma razão entre número de grupos glucosaminas e grupos iônicos igual a 1, utilizando a titulação condutométrica e potenciométrica em presença de NaCl. CPEs formados entre quitosana e sulfato de condroitina na forma ácida mostram razão de cargas igual a 0,75, o que corresponde a uma situação em que todos os grupos  $\text{NH}_3^+$  foram utilizados na formação do CEP, enquanto os grupos iônicos do sulfato de condroitina ( $-\text{OSO}_3^-$  e  $\text{COO}^-$ ) participaram parcialmente da formação do complexo [ Arguelles-Monal e col., 2000].

Lee e Ha (1997) estudaram a influência de quitosana com diferentes características (grau de desacetilação, pH da solução) na estequiometria dos complexos com alginato, em presença de NaCl 0,01 M. Complexos com menor teor de alginato foram obtidos à medida que o grau de acetilação da quitosana aumentava. O teor de alginato no complexo era menor quanto maior era o pH da solução.

Becheran-Marón, Peniche e Arguelles-Monal [2004] estudaram o efeito da composição de amostras de alginatos na formação dos complexos de quitosana/alginato. Razão não estequiométrica de cargas obtida, independente da composição do alginato, bem como da massa molar da quitosana [Becherán-Máron, Peniche e Arguelles-Monal., 2004].

Rusu-Balaita, Desbrières e Rinaudo [2003] utilizaram a condutimetria como método para controle da formação dos complexos de quitosana e ácido hialurônico. Análises das curvas condutométricas permitiram determinar o grau de complexação, o qual é independente da razão estequiométrica dos polieletrólitos presentes, quando quitosana na forma de hidrocloreto é adicionada à solução de ácido hialurônico. Valores menores de grau de complexação foram observados quando o ácido era adicionado à quitosana independentemente da razão entre [ácido]/[quitosana]. Os autores sugerem que isto se deve ao excesso de HCl presente no meio, o que diminui a precisão da análise condutométrica. Estes complexos também foram investigados em relação à estabilidade. Verificou-se que em meio básico o complexo é bastante estável, mas em meio ácido existe dissociação, devido aos grupos iônicos do ácido hialurônico não estarem mais ionizados e por sua vez a quitosana estar completamente ionizada. A desestabilização do complexo também é observada em excesso de NaCl [Rusu-Balaita, Desbrières e Rinaudo, 2003].

Complexos polieletrólitos de quitosana com polissacarídeos são biodegradáveis e biocompatíveis e também exibem interessante capacidade de intumescimento [Berger e col., 2004a]. Esses complexos têm numerosas aplicações, tais como: em membranas, em sistemas para imobilização de enzimas, em sensores ambientais, e também na preparação de matrizes utilizadas em sistemas de liberação controlada de fármacos. Como CPEs são formados por interações iônicas, suas propriedades físico-químicas são sensíveis à variação de pH, temperatura e campo elétrico.

CPE formado por quitosana/ácido hialurônico respondem a estímulos elétricos. Quando filmes intumescidos do complexo foram colocados entre um par de eletrodos, foi observado que a membrana sofria deflexão quando um campo elétrico era aplicado, o que possibilitaria sua utilização em sensores [Kim e col., 2003a]

CPE's de quitosana com carragenana, carboximetilcelulose mostram diferentes graus de intumescimento dependendo do pH [Mitsumata e col., 2003; Sakiyama e col.,1993].

#### **I.4. Sistemas de liberação controlada de fármacos**

Novas formulações de medicamentos incluindo sistemas de liberação controlada de fármacos têm despertado grande interesse devido ao baixo custo requerido para introdução de novos sistemas de liberação controlada (LC) (20 a 30 milhões de dólares e 3-4 anos) comparado à introdução de uma nova formulação química (aproximadamente 500 milhões de dólares e 10-12 anos, respectivamente) [Verma, Krishna e Garg, 2002]. Na forma de LC, um fármaco já existente pode ter uma “nova vida”, conseqüentemente aumentando o seu valor de mercado, competitividade e com produção de novas patentes.

Os sistemas de liberação controlada oferecem diversas vantagens sobre as formulações convencionais que liberam todo o agente ativo num curto período de tempo. Uma das vantagens é a manutenção de concentração desejável do medicamento no sítio de absorção, permitindo níveis constantes de concentração no plasma. A manutenção de níveis aproximadamente constantes de liberação implica em uma maior eficiência na utilização do agente, ou seja, este método usualmente requer teor do fármaco consideravelmente menor para produzir o mesmo efeito que sistemas convencionais. Outro benefício é que essa tecnologia possibilita a aplicação do agente ativo diretamente no sítio de ação. E,

finalmente, a outra vantagem é que esses produtos diminuem a frequência de administração do medicamento, o que é muito conveniente no tratamento de condições crônicas [Verma, Krishna e Garg 2002; Jacobs e Manson 1993].

Vários modelos teóricos e cinéticos descrevem o mecanismo de liberação imediata ou de liberação modificada. Vários desses modelos descrevem o mecanismo de liberação de fármacos em função do tempo em relação à quantidade de fármaco dissolvido.

Um grande número de opções é avaliado para controlar ou modular a liberação de uma forma de dosagem. A maioria da liberação controlada por via oral está dentro de três categorias: matriz, reservatório ou sistema osmótico. No sistema matriz, o fármaco é embebido em uma matriz polimérica e a liberação ocorre por partição do fármaco dentro da matriz e no meio. Em contraste, o sistema de reservatório tem um centro recoberto por uma fina membrana controladora de liberação. Sistemas osmóticos utilizam os princípios de pressão osmótica para liberação do fármaco. A liberação do fármaco a partir desses sistemas é independente do pH e de outros parâmetros fisiológicos e é possível modular as características de liberação por otimização das propriedades do fármaco e do sistema [Verma, Krishna e Garg e col., 2002].

O mecanismo pelo qual um medicamento pode ser liberado no organismo pode ser classificado como: difusão, erosão e expansão [Verma, Krishna e Garg 2002; Jacobs e Manson, 1993]. Sistema de liberação por difusão é o mais comum e permite o medicamento difundir através de uma membrana ou matriz para o organismo.

Dois tipos de sistemas controlados por difusão têm sido desenvolvidos. O primeiro é um reservatório no qual o agente ativo forma um núcleo cercado por uma barreira difusional inerte. A taxa de liberação nesses sistemas é constante. A velocidade de liberação é dependente da espessura, da área superficial e da permeabilidade da membrana. O segundo tipo de sistema controlado por difusão é o sistema monolítico, no qual o agente é disperso uniformemente na matriz polimérica. O perfil de liberação é controlado pela carga do agente, pela natureza dos componentes e pela geometria do sistema.

Em um sistema controlado por um mecanismo de erosão o fármaco é geralmente imobilizada em um polímero e liberada à medida que este é consumido no organismo [Jacobs e Manson, 1993]. No controle por expansão, o fármaco é inicialmente incapaz de

difundir através de um material polimérico no qual se encontra armazenada. Porém, à medida que o polímero, sob condições específicas, se expande em contato com o meio biológico, o fármaco permeia por este e é liberada.

O mecanismo de liberação do fármaco em função do tempo e a quantidade de fármaco dissolvida são representados por vários modelos. Alguns desses modelos são: Modelo de Higuchi [1961, 1963], cinética de ordem zero [Varelas, Dixon e Steiner, 1995], cinética de primeira ordem [Gibaldi e Feldman, 1967; Wagner, 1969] e Korsmeyer-Peppas [Korsmeyer e col. 1983] e Ritgers e Peppas [Ritgers e Peppas 1987].

A cinética de liberação de ordem zero é comum em sistemas osmóticos. Para a dosagem farmacêutica que segue este perfil de liberação, a mesma quantidade de fármaco por unidade de tempo é liberada, este é um método ideal para uma prolongada ação farmacológica.

A aplicação de cinética de primeira ordem para explicar a liberação foi realizada primeiramente por Gibaldi e Feldman (1967) e depois por Wagner (1969).

A seguinte equação descreve esse modelo:

$$\ln M_t = \ln M_0 - k_1.t \quad (2)$$

onde  $k_1$  = constante de velocidade de liberação,  $M_0$  = quantidade de fármaco total na matriz,  $M_t$  = quantidade de fármaco no tempo  $t$ .

O gráfico de  $\ln$  (quantidade de fármaco liberada) em função do tempo é uma reta. Dosagens farmacêuticas contendo fármacos solúveis em matrizes porosas seguem esse perfil de dissolução.

No modelo de Korsmeyer e Peppas [1983] a difusão é o principal mecanismo. A equação mais geral das considerações desses autores envolve também o comportamento anômalo de difusão do fármaco através da matriz:

$$M_t/M_\infty = k.t^n \quad (3)$$

Nesta equação  $M_t/M_\infty$  denota a fração de fármaco liberada,  $t$  é o tempo de liberação e  $k$  representa uma constante característica do sistema. O coeficiente difusional ( $n$ ) é um indicativo do mecanismo de liberação. Peppas (1985) usou o valor de  $n$  para caracterizar os diferentes mecanismos de liberação, concluindo que  $n$  depende da geometria do sistema de

liberação. A equação é válida até 60% de fármaco liberada. Esse é um modelo usado para analisar a liberação de dosagens farmacêuticas quando mais de um tipo de fenômeno de liberação estão envolvidos. Peppas (1985) concluiu que para determinados valores de  $n$  a transferência de massa em sistemas de liberação pode seguir a difusão de Fickiano (Transporte tipo I), transporte tipo II e não-Fickiana ou anômala.

A primeira lei de Fick estabelece que o fluxo de partículas é diretamente proporcional ao gradiente de concentração. Aplicando a lei de Fick para os sistemas de liberação controlada podemos descrevê-la como:

$$dQ/dt = DC_s/h \quad (4)$$

Onde  $Q$  é a quantidade de fármaco liberada no tempo  $t$ ,  $D$  é o coeficiente de difusão e  $C_s$  é a solubilidade do fármaco na matriz,  $h$  é a distância percorrida.

Um mecanismo Fickiano (Transporte tipo I) ocorre quando a velocidade de difusão é muito menor que o de relaxação das cadeias. Sistemas de Transporte tipo II (transporte controlado por relaxação) ocorre quando a difusão é mais rápida que o processo de relaxação. Sistemas não Fickianos são descritos como aqueles em que ocorre tanto o caso I como o II, ou seja, a velocidade de difusão e relaxação é comparável.

Sistemas de liberação controlada têm sido desenvolvidos para várias classes de fármacos [Sinha e col., 2004]. Alguns fármacos são utilizados apenas como modelo para avaliar a capacidade de liberação de determinadas matrizes, outras são testadas com objetivo de aplicá-las em regiões específicas do corpo. Fármacos tipo antiinflamatórios e antibióticos têm sido bastante testados devido a problemas de irritação gastrointestinal durante a administração via oral. Algumas desses fármacos são: indometacina [Shiraishi, Imai e Otagiri 1993], diclofenaco de sódio [Gonzalez-Rodriguez e col., 2002; Açıkoğuz e col., 1995], ketoprofeno [Genta, Perugini e Pavanetto, 1998], ibuprofeno [Bodmeir, Chen e Paeratakul, 1989] dexametasona [Genta e col., 1995], amoxicilina [Portero e col., 2002], tetraciclina [Hejazi e Amiji 2003].

Diclofenaco de potássio (DCK) e diclofenaco de sódio (DCS) são anti-inflamatórios não-esteróides com atividade analgésica e antipirética. Diclofenaco de sódio é usado no tratamento de doenças degenerativas como artrite e osteoporose. DCS é rapidamente

absorvido pelo fluido intestinal, a concentração máxima no sangue é alcançada dentro de 30 min, sendo metabolizada principalmente por hidroxilação hepática e subsequente conjugação. Para diminuir a irritação gastrointestinal, o que é um problema comum decorrente do uso de antiinflamatórios e não-esteróides, é necessário a preparação de formulações que impeçam a liberação destas substâncias no estômago. Os benefícios da administração de dosagem controlada de diclofenaco foram demonstrados por Fowler (1983).

DCS e DCK são derivados do ácido fenilacético e apresentam pKa igual a 4,0. Conseqüentemente, sua solubilidade depende do pH do meio. Ambos são pouco solúveis em meio ácido, no entanto são dissolvidos em condições gastrointestinais onde o pH é maior que 6,5 [Palomo, Ballesteros e Frutos, 1997]. A estrutura do diclofenaco de sódio, (2,6-dicloroanilina fenilacético) ácido monossódico (Fig. 14), apresenta um grupamento amino secundário, dois átomos de cloro na posição orto no anel fenílico. A dose letal em ratos é 150 mg/kg [Mi, Sung e Shyu, 2000]. Devido à sua curta meia-vida e seus efeitos colaterais, esse fármaco é uma boa candidata à aplicação em sistemas de liberação controlada.

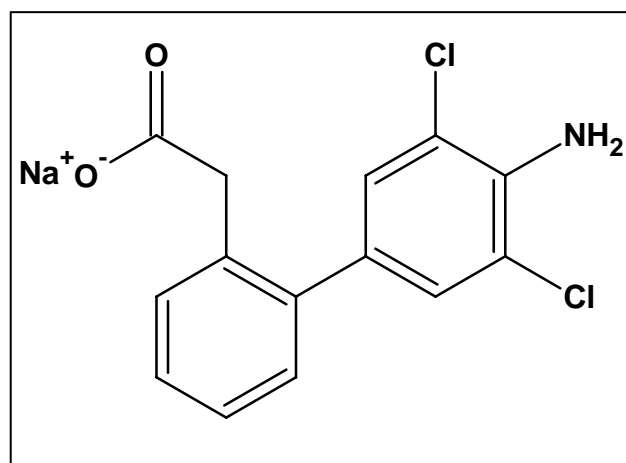


Figura 14. Fórmula estrutural do diclofenaco de sódio.

A *pilocarpina* é um alcalóide extraído das folhas da planta Jaborandi (*P. mycrophyllus*). Pertence a um pequeno grupo de alcalóides, contendo amidazol em sua estrutura (Figura 15). Diferentes sais são produzidos com pilocarpina, tais como: sulfato, cloridrato e nitrato. A pilocarpina é usada na formulação de gotas oculares para o

tratamento do glaucoma e também em exames clínicos. Existe também indicação em uso veterinário. Cloridrato de pilocarpina é um cristal branco, higroscópico, solúvel em água e álcool, insolúvel em clorofórmio e éter. O cloridrato de pilocarpina é um agente anti-glaucoma, colinérgico (oftálmico).

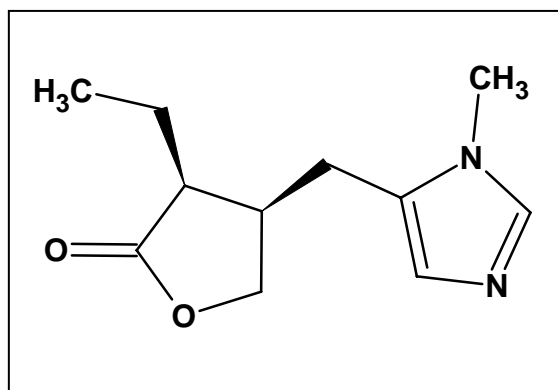


Figura 15. Fórmula estrutural da pilocarpina.

Polímeros naturais são bons candidatos à aplicação biomédica em virtude da menor possibilidade de rejeição pelo organismo. Os polissacarídeos e seus derivados são compostos que têm sido largamente investigados nos últimos anos na liberação controlada de medicamentos devido a biocompatibilidade e biodegradabilidade destes materiais. Dentre as matrizes para este tipo de aplicação, a que tem demonstrado maior número de pesquisas são as formadas por complexos polieletrólíticos de quitosana e polissacarídeos como alginato, goma arábica, ácido hialurônico, carragenana, entre outros [Berger e col., 2004a]. Estes complexos são sensíveis à variação de pH e por isto têm encontrado aplicações como sensores e na liberação controlada de medicamentos em determinados órgãos do corpo humano devido à variação de pH existente no organismo.

A liberação controlada de fármaco tem sido testada *in vitro* com alguns CPE e apresentam grande potencial para implantação de novos sistemas de liberação [Berger e col., 2004]. Alguns desses complexos são alginato-quitosana [Lee e Ha, 1997], quitosana-carragenana [Tapia e col., 2004], quitosana-pectina [Macleod, Collet e Fell, 1999]; quitosana-goma arábica [Meshali e Gabr, 1993] e quitosana-ácido hialurônico [Lim 2002] os quais apresentaram melhores resultados na liberação controlada que géis somente a base de quitosana. A Figura 16 mostra as estruturas dos polissacarídeos lineares que têm sido utilizados na preparação de complexos polieletrólíticos de quitosana.

Matrizes de alginato e quitosana têm sido bastante estudadas em sistemas de liberação controlada, e uma grande vantagem destes sistemas é que o alginato forma gel facilmente em presença de  $\text{Ca}^{2+}$ , produzindo materiais estáveis. Esses sistemas estão sendo propostos na liberação de cloridrato de tramadol [Acosta e col., 2003], através das quais a liberação mostrou-se dependente do pH do meio, diltiazem [Tapia e col., 2002] e Metoclopramida [Hasan e col., 2003]. O mecanismo de liberação observado nesses sistemas foi de transporte anômalo de fármaco e uma cinética de liberação, em geral, de primeira ordem.

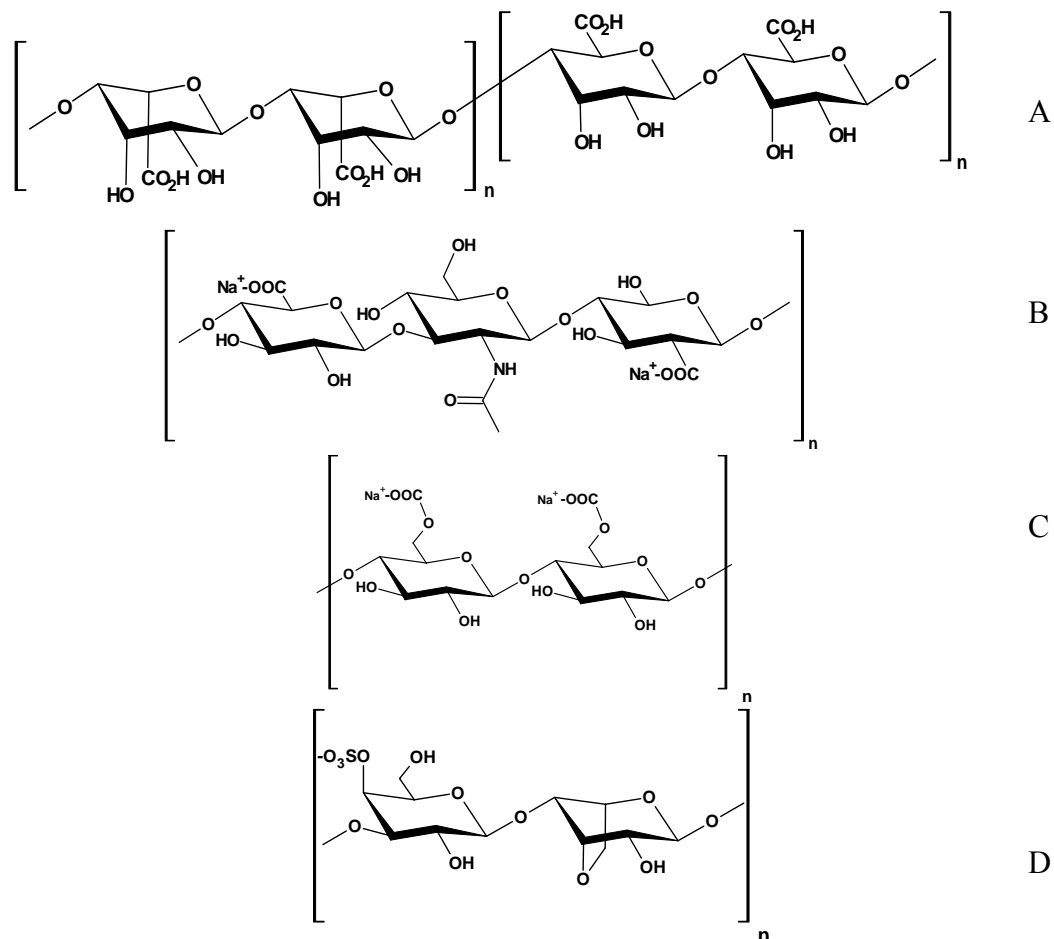


Figura 16. Estruturas de polissacarídeos aniônicos que são usados na preparação de complexos polieletrólitos de quitosana: (A) Alginato; (B) Ácido Hialurônico; (C) Carboximetilcelulose; (D) Carragenana.

A Tabela 3 relaciona alguns CPE de quitosana com polissacarídeos aniônicos utilizados em sistemas de liberação controlada.



Tabela 3. Complexos polieletrólitos de quitosana e polissacarídeos aniônicos aplicados na Liberação controlada de fármacos

Polissacarídeo	Substância utilizada na liberação controlada	Referência
Goma arábica	Cloropramazina	Meshali e Gabr (1993)
	Ácido	
Hialurônico	Gentamicina	Lim e col.(2000 e 2002)
	Paracetamol	Chatchawaslsaisin, Podezeck e Newton (2004).
	Proteínas	Chen e col.(2004)
	Fármacos para a tuberculose	Pandley e Khuller (2004)
	Diltiazem	Tapia e col. (2002)
Alginato	Albumina Bovina	Zhang e col. (2004)
	Óleo de fígado de bacalhau	Diaz-Rojas e col. (2004).
	Metoclopramida	Hasan e col. (2003)
	Ketoprofen	Tan e col. (2003)
	Micarpidina	Takka e Acartuk (1999)
	Diclofenaco de sódio	Gonzales-Rodrigues e col. (2002)
	Idometacin	Mi F-L , Sung e Shye(2002)
Carragenana	Diltiazem	Tapia e col (2002)
	Teofilina	Tomida, Nakamura e Kiryu (1994)
Gelana	Proteínas	Ohkawa, Kitagawa e Yamanoto (2004)
	Cloropramazina	Meshali e Gabr (1993)
Pectina	Óleo de fígado de bacalhau	Diaz-Rojas e col. (2004).
	Paracetamol	Hiorth, Tho e Sande (2003)
	Albumina	Kim e col. (2003a)
Sulfato de condroidina	Insulina	Kofuji e col.(2003)
	Prednisolone	Kofuji e col.(2002)
	Paracetamol	Kofuji e col. (2000)

Microesferas de quitosana reacetilada contendo 5-fluorouracila (5-FU), “tegafur” (FT), doxifluridina (DFUR) foram testadas em sistema de liberação controlada, sendo observado que a incorporação do fármaco fica em torno de 4-22% m/m. O estudo *in vivo* de liberação de DFUR mostrou liberação inicial rápida, a qual parece ser suprimida pela reacetilação da quitosana. No entanto o sistema não pareceu viável para liberação controlada [Sinha e col., 2004].

Portero e col. (2002) também descreveram o procedimento de preparação de esferas de quitosana reacetiladas para liberação controlada de *amoxicilina e metaimidazol*. As esferas mostraram capacidade de intumescer e geleificar em meio ácido, resultando em prolongada liberação de antibióticos.

## ***II. Objetivos***

## **II.1. Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho foi a síntese e caracterização de géis de goma do cajueiro/quitosana e goma do cajueiro modificada/quitosana com interesse no estudo desses sistemas na liberação controlada de fármacos.

## **II.2. Objetivos específicos**

Síntetizar hidrogéis de goma do cajueiro/quitosana via reacetilação da quitosana com anidrido acético.

Síntetizar hidrogéis de goma do cajueiro carboximetilada com quitosana por formação de complexo polieletrólítico.

Síntetizar e caracterizar derivados aldeído funcionalizado da goma do cajueiro e utilizar este derivado na formação de hidrogéis via reação de Schiff com a quitosana.

Realizar um estudo preliminar da potencialidade destes hidrogéis na liberação controlada de fármacos.

### ***III. Metodologia***

### **III.1. Materiais**

A quitosana utilizada no desenvolvimento do trabalho foi cedida pela Polymar, a amostra foi obtida pela desacetilação da quitina extraída de cascas de camarão. A goma exsudada do cajueiro foi doada pela cooperativa COOPAN (Cooperativa de Produção Agropecuária Nova Santa Rita), Beberibe, Ceará em 2000.

Cloridrato de pilocarpina (da Merck), diclofenaco de potássio foi cedido pela Farmaguinhos (Fundação Oswaldo Cruz), diclofenaco de sódio, cedido pela Ethical cosméticos, e outros reagentes de pureza analítica foram usados sem purificação prévia.

### **III.2. Caracterização da quitosana e goma do cajueiro**

A massa molar viscosimétrica ( $M_v$ ) da quitosana foi obtida segundo o método descrito por Maghami e Roberts (1988). A viscosidade intrínseca foi determinada em viscosímetro de Cannon-Fensk, utilizando como solvente o tampão  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,1M-NaCl 0,2M [Trived e col. 1986]. O grau de acetilação da quitosana foi determinado por potenciometria e ressonância magnética nuclear (RMN  $^1\text{H}$ ).

A goma do cajueiro foi purificada seguindo método descrito por Rodrigues, Paula e Costa [1993]. A massa molar ponderal média ( $M_w$ ) do polissacarídeo de exsudato da goma do cajueiro foi obtida a partir das curvas de cromatografia de permeação em gel (GPC) utilizando  $\text{NaNO}_3$  0,1 M como solvente.

### **III.3. Reação de carboximetilação da goma do cajueiro**

A reação de carboximetilação foi realizada baseando-se no método de Silva e col. (2004). A reação da goma do cajueiro com ácido monocloracético (AMC) foi realizada em meio alcalino utilizando NaOH 5 M como base. A mistura foi mantida sob agitação por 3h a 55 ° C. Ao final a solução foi neutralizada com HCl, dialisada contra água destilada até observação de condutividade igual a da água (aproximadamente 5 dias) e então liofilizada. As razões molares de goma/AMC/NaOH utilizadas foram de 1:2:4 e 1:3:1. Os produtos

obtidos da reação de carboximetilação serão citados durante o texto como GCM1 e GCM2 respectivamente para os produtos obtidos nas condições descritas anteriormente. Os produtos foram caracterizados quanto à massa molar ( $M_w$ ) e grau de substituição (GS).

O grau de substituição (GS) foi determinado por titulação potenciométrica. Para titulação os produtos carboximetilados foram eluídos em coluna de troca iônica Amberlit IR-120H<sup>+</sup> para deixá-los na forma ácida. As soluções de GCM (50 mg/mL) na forma ácida foram tituladas com NaOH 0,0091M. O grau de substituição foi calculado como a razão molar dos grupos ácidos por unidade monossacarídica, como segue:

$$GS_{abs} = \text{mol de grupos } -CH_2COOH / \text{mol unidades monossacarídicas} \quad (5)$$

A massa molar da galactose (180 g/mol), como maior componente da goma do cajueiro (GC) foi usada para calcular o número de moles de unidades glicosídicas. O primeiro valor do GS foi calculado. O  $GS_{abs}$  foi então recalculado considerando a massa molar das unidades monossacarídicas, acrescidas de 58 g/mol (massa molar de  $CH_2COOH$ ) para cada GS acrescido de 1 unidade.

#### **III.4. Reação de oxidação da goma do cajueiro (preparação de dialdeídos da goma do cajueiro)**

A reação de oxidação parcial da goma do cajueiro foi realizada por modificação do método descrito por Stokke e col. [1995] e Guo, Elsaeter e Stokke [1998] para escleroglucana.

A Tabela 4 mostra as condições reacionais utilizadas na oxidação da goma do cajueiro (GC). Goma do cajueiro (1g) foi suspensa em água e deixada sob agitação por 2 h, após completa dissolução, álcool n-propílico foi adicionado e  $NaIO_4$  0,5M foi adicionado para obtenção de diferentes razões molares polissacarídeo/periodato de sódio. A mistura reacional foi deixada por 26 h à temperatura ambiente e em seguida dialisada contra água destilada até ausência de álcool n-propílico e então liofilizada.

Tabela 4. Condições reacionais de oxidação da goma do cajueiro com metaperiodato de sódio.

Produto*	Massa de goma (g)	V de água adicionado (mL)	Moles de NaIO <sub>4</sub> adicionado	Tempo de reação (h)	V de álcool n-propílico (mL)	Referência
GCOX1	1,0	250	0,05 x 10 <sup>-2</sup>	26	28,0	Stokke e col. 1995
GCOX2	1,0	250	0,09 x 10 <sup>-2</sup>	26	28,0	Guo, Elsaetere Stokke, 1998
GCOX3	1,0	250	0,15 x 10 <sup>-2</sup>	26	28,0	Guo, Elsaetere Stokke, 1998
GCOX4	2,0	50	0,5 x 10 <sup>-2</sup>	24	6,0	Guo, Elsaetere Stokke, 1998
GCOX5	2,0	50	1,0 x 10 <sup>-2</sup>	24	6,0	Guo, Elsaetere Stokke, 1998
GCOX6	2,0	50	1,5 x 10 <sup>-2</sup>	24	6,0	Guo, Elsaetere Stokke, 1998

\* Os produtos da oxidação são designados durante o texto como GCOX –goma do cajueiro oxidada.

#### ***III.4.1. Determinação da percentagem de oxidação***

A concentração de ácido fórmico formado durante a reação de oxidação foi determinada por titulação ácido-base com NaOH- 0,0091 moles/L e 0,094 moles/L, para as reações de 1-4 e de 5-6, respectivamente. A percentagem de unidades oxidadas foi calculada considerando que cada mol de ácido fórmico formado corresponde a uma unidade duplamente oxidada, e o número de moles de NaOH gastos corresponde ao número de moles de ácido fórmico.



### ***III.4.2. Redução com NaBH<sub>4</sub>***

O produto da reação de oxidação 6 (GCOX6) foi reduzido com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) para posterior análise por RMN. À uma solução 5% de GCOX6 foi adicionado NaBH<sub>4</sub> na razão molar de 1:2,4 e deixado sob agitação durante a noite, em seguida, a solução foi neutralizada com ácido acético até pH 6 e então dialisado contra água destilada por 3 dias trocando a água de diálise a cada 3 h. O produto dissolvido em D<sub>2</sub>O em solução 1% foi analisado por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C Broad Band.

### **III.5. Preparação de complexos polieletrólíticos (CPE's) de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada**

#### ***III.5.1. Acompanhamento da formação do complexo polieletrólítico em soluções diluídas por titulação potenciométrica e condutimétrica***

A formação do complexo goma do cajueiro carboximetilada e quitosana (QT/(GCM)) foi acompanhada pela variação de pH ou condutividade quando a quitosana era adicionada a solução de goma do cajueiro carboximetilada (GCM) e vice-versa.

Nas titulações de GCM com quitosana a concentração das soluções de ambos foi  $6,2 \times 10^{-4}$  mol/L (1,12 g/L). No caso das titulações de quitosana com GCM as concentrações foram  $1 \times 10^{-4}$  mol/L ( $1,3 \times 10^{-1}$  g/L) e  $1 \times 10^{-3}$  mol/L (1,3 g/L) respectivamente. O número de moles para ambos foi calculado considerando a unidade glicosídica como 180 g/mol.

A quitosana foi utilizada na forma de cloridrato, preparado por dissolução de quitosana em uma quantidade estequiométrica de HCl 0,1M, ou seja, o número de moles de HCl necessários para a formação do sal NH<sub>3</sub><sup>+</sup> Cl<sup>-</sup> sem excesso de HCl. A concentração de grupos NH<sub>2</sub> foi previamente calculada (grau de desacetilação) por titulação potenciométrica com NaOH 0,094 M. Foram utilizados produtos carboximetilados com diferentes graus de substituição para verificar o efeito do grau de substituição na formação do complexo.

### III.5.2 Síntese de Complexos Polieletrólitos no estado sólido (CPE)

#### Série 1

Soluções de quitosana (QT) de concentração variando de 0,4 a 2,4% em ácido acético 1% foram misturadas a soluções de goma do cajueiro carboximetilada (GCM1), dissolvidas em água com concentrações variando de 0,8 a 3,6%, na razão de 50:50% v/v, sob agitação. A Tabela 5 mostra as razões utilizadas para cada mistura. Os números X e Y nas amostras CPE X:Y referem-se à relação de massa entre QT e GCM.

As misturas foram deixadas em repouso por 12 h, a temperatura ambiente, e depois centrifugadas a 6000 rpm por 35 min.

Os precipitados (complexos polieletrólitos) separados por centrifugação foram lavados com água destilada e secos com acetona e ar quente.

#### Série 2

A síntese de complexos com GCM2 foi realizada seguindo o mesmo procedimento de preparação do CPE (série 1), mas com soluções de quitosana com concentração entre 0,4 a 3,2% e soluções de goma do cajueiro carboximetilado de 0,8 a 3,6% (Tabela 5) e utilizando-se secagem por liofilização.

Tabela 5. Condições utilizadas na preparação dos complexos polieletrólitos CPE séries 1 e 2.

Amostras	*Massa de QT (g)	*Massa de GCM (g)	[QT]:[GCM1] Série 1	[QT]:[GCM2] Série 2
CPE10:90	0,02	0,18	0,11	0,11
CPE 20:80	0,04	0,16	-	0,25
CPE 25:75	0,05	0,15	0,33	0,33
CPE 30:70	0,06	0,14	0,43	0,43
CPE 40:60	0,08	0,12	0,70	0,70
CPE 50:50	0,10	0,10	1,0	1,0
CPE 60:40	0,12	0,08	1,51	1,51
CPE 70:30	0,14	0,06	-	2,33
CPE 80:20	0,16	0,04	-	4,00

\*Dissolvidas em 5 mL de solvente, água e ácido acético 1% para GCM e QT, respectivamente.

O acompanhamento da formação do complexo insolúvel em soluções concentradas foi realizado utilizando o método gravimétrico.

Após centrifugação, os complexos foram secos por liofilização e então pesados para determinação do rendimento. O rendimento foi calculado considerando como 100% a massa inicial dos dois polissacarídeos em solução (GCM1 e quitosana) (0,4 g) [Chavist e Torres, 1990].

### **III.6. Síntese das matrizes CPE de QT/GCM para liberação controlada**

#### ***III.6.1. Matriz CPE1***

Utilizando-se a condição de maior rendimento obtido na síntese dos CPE's da Série 1 foi preparada a matriz intitulada de CPE 1.

O fármaco foi incorporado segundo método descrito por González-Rodriguez e colaboradores [2002]. Diclofenaco de potássio (DCK) (0,25% m/v) foi dissolvido em solução de GCM (2,8% m/v), a temperatura ambiente e sob agitação. A adição da solução de GCM e DCK à solução de quitosana (1,2% em ácido acético 1%) foi feita por gotejamento com uma seringa. A solução foi gotejada lentamente sem auxílio de compressor.

Ao final do gotejamento a solução foi deixada em repouso por 24 h, logo em seguida centrifugada por 60 min, e o precipitado foi lavado exaustivamente com água destilada até retirar o excesso de ácido acético. O precipitado foi seco por liofilização.

A quantificação do fármaco incorporado no complexo foi feita seguindo duas metodologias. A primeira a quantificação foi feita a partir de diluições do sobrenadante obtido após a centrifugação. O segundo foi realizado seguindo método descrito por Gonçalves, Laranjeira e Fávere [2005], no qual a quantificação é feita a partir da extração do fármaco efetivamente incorporada na matriz.

Na primeira, alíquotas do sobrenadante foram analisadas com a diluição apropriada a 276 nm em espectrofotômetro Ultrospec 2000 Pharmacia Biotec, utilizando célula de quartzo retangular de caminho ótico de 1 cm. A concentração de DCK em solução foi determinada por meio de uma curva padrão em água. A quantidade de fármaco incorporado

foi calculada a partir da diferença entre a quantidade de fármaco adicionado e a quantidade de fármaco determinado na solução filtrada [Gonzalez-Rodriguez e col. 2002].

Na segunda, 0,10 gramas do complexo sólido foram maceradas e deixadas sob agitação em metanol por 2 h, em seguida, o metanol foi separado do complexo por filtração e diluído para análise espectrofotométrica. A absorção foi medida a 276 nm e a concentração determinada a partir de uma curva padrão em metanol.

### ***III.6.2. Matriz CPE 2***

O complexo polieletrólítico obtido com maior rendimento na série 2 foi utilizado como matriz no estudo de incorporação e liberação de diclofenaco de sódio (DCS).

Diclofenaco de sódio (0,25% m/v) foi adicionado à solução de CCM (2,4 % m/v) e o pH ajustado para 7 com a adição de NaOH pulverizado. Após completa dissolução do fármaco, essa solução foi adicionada à solução de quitosana (1,6 %) por gotejamento seguindo a mesma metodologia descrita no item III.6.1.

A quantidade de fármaco incorporado foi obtida pela determinação da concentração do fármaco no sobrenadante utilizando um espectrofotômetro da Hitachi U-2000. A concentração foi determinada a partir de uma curva padrão de DCS em água. A concentração de DCS incorporada foi obtida pela diferença de concentração no sobrenadante pela concentração de DCS adicionada.

### ***III.6.3. Matriz CPE 3 reticulado***

O complexo foi obtido por mistura da solução de quitosana 1,6% (m/v) em ácido acético 1% à solução de GCM1 (2,4% m/v) para obtenção da razão em massa de 40:60 QT:GCM1.

Para aumentar a estabilidade do complexo em meio ácido o complexo sólido (CPE) foi reticulado com epicloridrina [Nghah e col. 2005]. 40 mL de solução de epicloridrina 0,01 M contendo NaOH 0,067 M foi preparada e o complexo sólido adicionado a solução sob agitação. Após duas horas de reação a 40 °C o complexo foi lavado exhaustivamente com

água destilada até pH próximo ao da água, para retirar o excesso de base e epícloridrina, e em seguida seco sob vácuo por 24 h.

O produto obtido da reticulação com epícloridrina (CPE 3) foi adicionado a uma solução hidroalcoólica (1:1 etanol:água) de diclofenaco de sódio 0,5 % e deixado por 4 h sob agitação constante. Em seguida foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com água para retirar excesso de DCS da superfície.

A determinação do teor de fármaco incorporado foi feita por análise da solução de diclofenaco de sódio na região do UV em 276 nm, aplicando-se a diluição necessária. A eficiência da incorporação foi analisada por extração de DCS incorporado em metanol. A concentração do fármaco foi obtida a partir de uma curva padrão.

### **III.7. Preparação de géis de quitosana reacetilada e quitosana reacetilada/goma do cajueiro**

Os géis foram preparados baseando-se no método descrito por Paula, Gomes e de Paula [2002] com algumas modificações. Primeiramente foi preparado o gel de quitosana 100% (QTgel), preparando um solução de quitosana 2 % em ácido acético 1 %. A esta solução foi adicionado anidrido acético sob agitação vigorosa na razão de 2:1 (v/v) de solução de quitosana para anidrido (razão molar de 50:1). A mistura foi agitada por 15 min, que é o tempo necessário para observar a formação do gel.

Para os géis de quitosana/goma do cajueiro, primeiramente foram preparadas as soluções de goma do cajueiro na concentração de 30 % em água. A quitosana foi dissolvida em solução de ácido acético 1% e após completa dissolução a solução de goma do cajueiro foi adicionada sob agitação nas razões molares de 2:1 e 1:2 de quitosana/goma do cajueiro.

A mistura foi agitada por 15 min e então deixada em repouso durante a noite (~ 15h). A mistura foi lavada com água destilada e depois de retirado o excesso de anidrido, dialisada contra água destilada até não ser mais observada a presença de anidrido na água de lavagem, e então liofilizada. O gel seco na forma de pó foi passado em peneira para obtenção de granulometria homogênea entre 46-80 mesh.

### III.8. Preparação de géis de quitosana/goma do cajueiro oxidada (aldeído funcionalizada)

Os géis de quitosana-cajueiro aldeído funcionalizado foram preparados por mistura em solução aquosa de GCOX (10 mL) e quitosana em ácido acético 1% (10 mL).

A Tabela 6 descreve as razões utilizadas de quitosana e GCOX. O pH das soluções de polissacarídeos foi ajustado com NaOH 0,1 M separadamente até pH 6,5 e em seguida misturadas sob agitação lenta. O produto utilizado para preparação dos géis foi o GCOX4.

A concentração de unidades oxidadas foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$C_{ox} = D_{ox} \cdot C_{gcox} / M \quad (6)$$

onde M = massa molar da unidade glicosídica;  $D_{ox}$  = concentração de grupamentos aldeídos;  $C_{GCOX}$  = concentração de GCOX em mg/mL e  $D_{ox}$  = grau de oxidação.

A concentração de grupamentos  $NH_2$  foi calculada como a seguinte:

$$C_{NH_2} = F_D \cdot C_{qt} / M \quad (7)$$

onde M = massa molar da unidade glicosídica;  $C_{NH_2}$  = concentração de grupamentos amina ( $NH_2$ );  $C_{qt}$  = concentração de quitosana em mg/mL e  $F_D$  = fração de unidades não acetiladas (glucosaminas).

A mistura foi deixada em repouso por 24 h e em seguida lavada exaustivamente com água destilada para retirar o excesso de ácido acético ou de polissacarídeo solúvel que não reagiu.

Tabela 6. Condições reacionais da formação da base de Schiff quitosana/GCOX.

<b>Reação</b>	<b>Concentração de quitosana (mg/mL)</b>	<b>Concentração de GCOX4 (mg/mL)</b>	<b>Razão molar HC=O/NH<sub>2</sub></b>
1	5,3	30	1:2
2	2,6	30	1:1
3	1,3	30	2:1

A solubilidade dos complexos formados foi testada em ácido acético 1% e HCl 0,1 M.

### ***III.8.1. Preparação do gel QT/GCOX para liberação controlada***

O gel utilizado para o ensaio de liberação seqüenciada de diclofenaco de potássio foi o obtido na razão 1:2 de GCOX/QT, no texto será intitulado de GCOX/QT 1:2.

O gel foi preparado utilizando as razões descritas na Tabela 6 e após lavagens exaustivas foi utilizado para incorporação do DCS. 0,5 g do gel foi adicionado a 25 mL de uma solução hidroalcoólica (2:1 H<sub>2</sub>O/Etanol) de DCS (0,5%) e deixado sob agitação por 24 h, quando então foi lavado com água para retirar o excesso da superfície e a seguir liofilizado. Após secagem foi utilizado para medida da quantidade de fármaco incorporado e posterior ensaio de liberação seqüenciada de DCS em pH 1,2 e 7,4 (Ver item III.10.3).

## **III.9. Métodos físicos de caracterização**

### ***III.9.1. Titulação potenciométrica e condutimétrica***

As titulações potenciométricas foram realizadas a  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em um potenciômetro modelo 330i da WTW. As titulações condutimétricas foram realizadas com condutivímetro modelo LF521 da WTW, a  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  com célula de constante igual a 0,961.

### ***III.9.2. Espectroscopia na região do infravermelho***

As amostras foram analisadas por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho, utilizando equipamento SHIMADZU Corporation IR Prestige-21 em pastilhas de KBr. Para determinação de grau de substituição da goma carboximetilada e grau de acetilação da quitosana as amostras foram secas em estufa a 105 °C, por 48 h e pesadas até massa constante.

### ***III.9.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)***

Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de soluções de polissacarídeos (~2,5%) em  $\text{D}_2\text{O}$  foram obtidos em equipamento Bruker Modelo Avance DRX500, com controle de temperatura, a 80 °C, operando a 125,77 MHz na frequência do carbono. Para os experimentos de RMN  $^1\text{H}$  (numero de transientes = 8),  $^{13}\text{C}$ -BB (numero de transientes = 6000) e  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta = 135^\circ$ , numero de transientes = 3000), utilizou-se uma sonda de 5 mm por detecção direta, enquanto para o experimento heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMQC ( $\tau = 400$  ms, numero de transientes = 8) foi utilizada uma sonda de 5 mm por detecção inversa.

### ***III.9.4. Difração de Raios-X***

Difratogramas de raios-X da forma pó dos géis liofilizados foi obtida usando-se um equipamento Philips X-Part Pro Instrument equipado com um  $\theta - \theta$  goniometro, sob as seguintes condições: 30 kV e 30 mA, com tubo de radiação Cu  $K\alpha$ . Os padrões de difração foram obtidos na faixa de  $2\theta = 3-60^\circ$ .

### ***III.9.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)***

As curvas de DSC foram obtidas em equipamento SHIMADZU DSC-50. Aproximadamente  $5 \pm 0,1$  mg foram pesadas em cadinhos de alumina sob atmosfera de  $\text{N}_2$  com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ .



### ***III.9.6. Análise Termogravimétrica***

Foram realizados experimentos dinâmicos e isotérmicos, em equipamento Shimadzu –TGA - 50. Ambas as análises foram feitas em atmosfera de nitrogênio e ar sintético, a taxa de 10 °C\min, na faixa de 25 a 700 °C.

As análises termogravimétricas isotérmicas foram obtidas com massa inicial de 10 mg, sob atmosfera inerte. Nos experimentos isotérmicos as amostras foram secas a 150 °C por 20 min e então aquecidas até a temperatura de 220, 240, 280 e 300 °C por 60 min, considerando-se como zero o momento no qual o sistema estava estabilizado.

### ***III.9.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)***

A observação da superfície dos complexos (forma granulada ou esférica), após secagem, foi realizada utilizando-se um equipamento de microscopia eletrônica de varredura (MEV) ZIESS Alemanha DSM – 940A, com o material montado em suporte de metal e revestido com carbono.

### ***III.9.8. Cromatografia de permeação em gel (GPC)***

As massas molares dos polissacarídeos utilizados neste trabalho, com exceção da quitosana (item III.2), foram determinadas em equipamento HPLC/GPC da SHIMADZU, A coluna utilizada foi Ultrahydrogel Linear de 7,8 x 300 nm, com fase móvel NaNO<sub>3</sub> 0,1 M e fluxo de 0,5 mL/min. As amostras foram filtradas através de membrana de nylon com porosidade de 2 µm da marca Cole-Parmer. O volume injetado das amostras com concentração de 4 mg/mL foi de 50 µL.

A curva de calibração foi construída utilizando padrões de pullulana (Shodex P-82 da Showa Denko).

### **III.9.9. Ensaio de intumescimento**

A absorção de água das amostras de CPE e géis de QT reacetilada/CCM foi determinada por pesagem. À uma massa conhecida do gel, 2 mL de água foi adicionada ao e após 2 h (no equilíbrio) o excesso de água foi retirado e o gel pesado para determinar a massa da amostra úmida. O teor de água no equilíbrio foi determinado pela seguinte equação:

$$W = \frac{m_u - m_s}{m_s} \quad (8)$$

onde W é o ganho de massa de água por grama de gel seco,  $m_u$  a massa do material intumescido e  $m_s$  a massa do material seco.

Com CPE reticulado foi realizado ensaio de intumescimento utilizando o método do cadinho filtrante. A amostra seca (0,04 g) foi pesada em cadinho filtrante, previamente tarado, e em seguida imerso na solução tampão seguindo a ordem: pH 1,2; pH 7,4 e pH 9,8. A amostra foi pesada em intervalos determinados durante 2 h para cada tampão.

### **III.10. Ensaio de liberação de fármacos**

#### **III.10.1 Géis de quitosana reacetilada/goma do cajueiro**

O gel seco foi misturado com pilocarpina na razão 10:1 (m/m) e homogeneizado em um cadinho. A mistura foi intumescida em 5 mL de solução tampão e colocados dentro de uma membrana de diálise (MDD-44, Mw ~14000). A membrana foi imersa em 180 mL de solução tampão a  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (banho termostático ThermoHaake) sob agitação de 100 rpm. Em intervalos de tempo apropriados, 1 mL de solução foi retirado e um volume igual de tampão foi adicionado de volta para manter o volume constante. A alíquota retirada foi diluída para 5 mL e a concentração de pilocarpina foi determinada por espectroscopia UV-VIS (Ultrospec 2000 Pharmacia Biotec) em 214 nm, a partir de uma curva padrão de pilocarpina.

### ***III.10.2 Complexos polieletrólitos de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada***

As três matrizes de CPE quitosana/goma do cajueiro carboximetilada foram testadas em sistemas de liberação *in vitro* de acordo com a metodologia descrita a seguir:

Os ensaios de liberação do fármaco foram realizados com 0,15 g do complexo em 120 mL de tampão fosfato, com força iônica de  $I = 0,2$  M, pH 7,4 e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{K}_2\text{PO}_3$  em pH 9,8 mantido sob agitação de aproximadamente 100 rpm e a 37 °C, estabelecido para todos os ensaios.

O estudo de liberação seqüenciada de DCS foi realizado com a matriz CPE 3. A variação seqüenciada do pH do meio (solução tampão – 40 mL) foi feita a cada duas horas [González-Rodríguez e col., 2002]. Em intervalos de 10 min, durante a primeira hora, e de 20 min, durante a segunda hora, alíquotas de 3 mL foram retiradas e analisadas por espectroscopia na região do UV em 276 nm. As concentrações foram obtidas por meio de uma curva padrão preparada para cada meio.

### ***III.10.3. Complexos quitosana/goma do cajueiro oxidada***

O estudo de liberação seqüenciada de DCS foi realizado com o gel GCOX/QT 1:2. A variação seqüenciada do pH do meio (solução tampão – 40 mL) seguiu o mesmo procedimento descrito para o CPE 3 reticulado (III.10.2) utilizando, no entanto, 0,1 g de gel seco.

## ***IV. Resultados e discussão***

## **IV.1 Complexos polieletrólíticos (CPE) de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada (QT:GCM)**

### ***IV.1.1 Reação de carboximetilação***

O grau de substituição (GS) dos produtos carboximetilados da goma do cajueiro (GCM) determinados por titulação potenciométrica, foi de 0,84 e 0,62.

A massa molar ponderal média ( $M_w$ ) determinada por cromatografia de permeação em gel (GPC) foi de  $1,40 \times 10^4$  e  $1,48 \times 10^4$  g/mol para GCM1 e GCM2, respectivamente.

### ***IV.1.2 Acompanhamento da formação do complexo em soluções diluídas por titulação potenciométrica e condutimétrica***

A quitosana utilizada nesses experimentos possui massa molar de  $3,7 \times 10^5$  g/mol com grau de desacetilação de 82% determinado por titulação potenciométrica.

A formação do complexo corresponde à neutralização, no mínimo parcial, e liberação de espécies que possuem alta condutividade e, portanto, pode ser acompanhada por condutimetria ou potencimetria.

Como a ordem de adição pode afetar a complexação [Rusu-Balaita, Desbrières, e Rinaudo 2003], foram investigadas as adições de quitosana à goma do cajueiro carboximetilada e o inverso.

Nas titulações de poliíons, Z é definido dependendo da ordem de adição do polieletrólito.

Para titulação de poliânions (PA) com policátions (PC) como:

$$Z = \frac{[PC]}{[PA]} \text{ ou } Z = \frac{[\text{concentração de cargas positivas}]}{[\text{concentração de cargas negativas}]} \quad (9)$$

Para titulações de polycations com poliânions Z é definido como:

$$Z = \frac{[PA]}{[PC]} \text{ ou } Z = \frac{[\text{concentração de cargas negativas}]}{[\text{concentração de cargas positivas}]} \quad (10)$$

#### IV.1.2.1 Adição de solução de quitosana à solução de GCM

O acompanhamento da formação do complexo por titulações de quitosana com amostras de goma do cajueiro carboximetilada GCM1 e GCM2 foi realizado por potenciometria e condutimetria. A concentração das soluções utilizadas na titulação de GCM com quitosana foi de  $6,2 \times 10^{-3}$  mol/L (1,12 g/L) para ambas.

A reação de formação do complexo quando quitosana é adicionada à solução de GCM pode ser representada pela eq. 11 [Becherán-Marón, Peniche e Argüelles-Monal, 2004]:



Onde G = goma do cajueiro carboximetilada e QT = quitosana

A equação 11 mostra que a formação do CEP ocorre com liberação de íons de baixa massa molar no meio, os quais possuem mobilidades diferentes dos macroíons que estão reagindo. Assim, é possível esperar uma variação na condutividade específica no meio durante a reação.

A Figura 17 mostra a curva correspondente à titulação potenciométrica de solução de goma do cajueiro carboximetilada 1 (GCM1, GS = 0,84) com soluções de quitosana. O pH aparece como função da composição da mistura reacional expressa como a razão entre as cargas da quitosana ( $\text{NH}_3^+$ ) quando essa é adicionada à solução de GCM ( $\text{COO}^-$ ) ( $Z = \frac{[\text{NH}_3^+]}{[\text{COO}^-]}$ ).

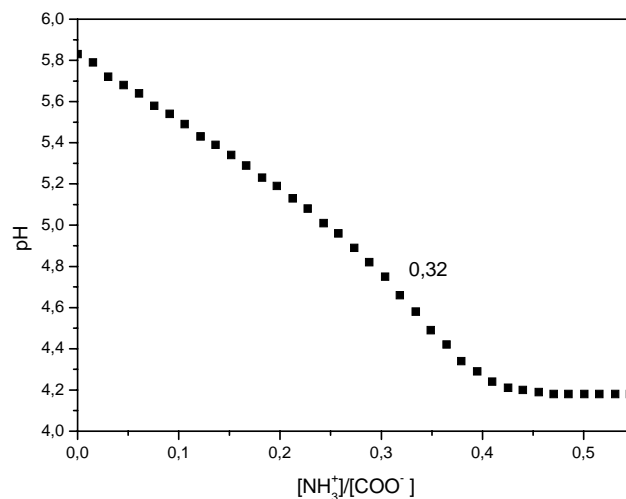
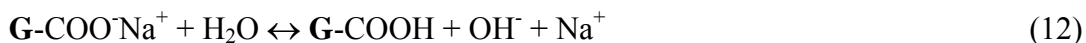


Figura 17. Titulação potenciométrica GCM1 com quitosana ( $6,2 \times 10^{-4}$  mol/L).

Na titulação potenciométrica observa-se um comportamento característico de uma titulação ácido fraco com base fraca. O pH inicial é correspondente ao da dissociação do poliânion dissociado (GCM) (Eq. 12).



Com a primeira adição de cloridrato de quitosana (polication), o pH do meio decresce, devido ao consumo de carboxilato na reação de complexação, o que provoca o deslocamento do equilíbrio do GCM para a esquerda (Eq. 12). O ponto de inflexão é alcançado quando a neutralização está completa, este foi encontrado para a titulação com GCM1 em  $Z = 0,32$ . O decréscimo do pH após o ponto de equivalência é devido à dissociação do excesso de cloridrato de quitosana em solução. A razão de  $\text{NH}_3^+:\text{COO}^-$  é não estequiométrica e mostra que a formação do complexo é máxima quando existe uma proporção de  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{COO}^-$  de aproximadamente 1:3. Este sistema pode ser representado pela formação de “loops” onde nem todo  $\text{COO}^-$  presente na amostra GCM1 está acessível a interação com grupos  $\text{NH}_3^+$  da quitosana (Fig. 18A).

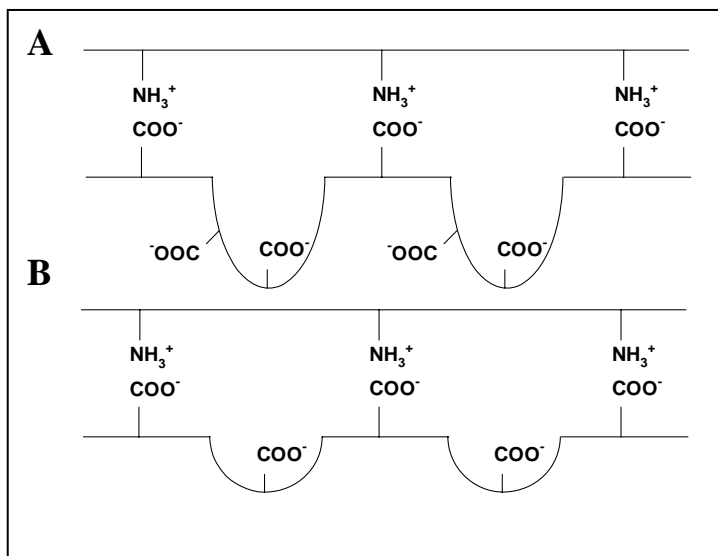


Figura 18. Representação esquemática da formação dos complexos polieletrólitos da goma carboximetilada pela adição de quitosana.

A titulação da amostra carboximetilada 2 (GCM2,  $\text{GS} = 0,62$ ) com quitosana foi acompanhada tanto por titulação potenciométrica como condutimétrica (Fig 19). A curva de titulação potenciométrica é similar à mostrada na Figura 17 para a amostra GCM1. O valor de  $Z$  obtido neste caso foi de 0,56.

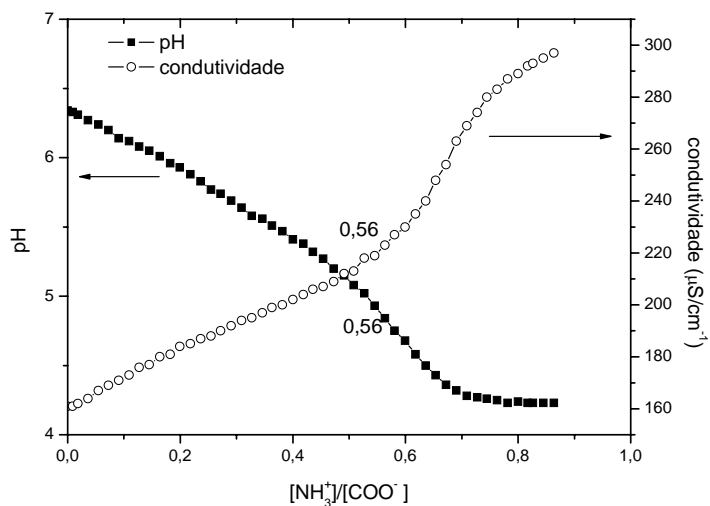
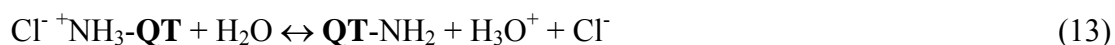


Figura 19. Titulação potenciométrica e condutimétrica de GCM2 com quitosana ( $6,2 \times 10^{-4}$  mol/L;  $\text{pH}=3,9$ ; condutividade  $488 \mu\text{S}/\text{cm}$ ).



A curva de condutividade pode ser explicada do seguinte modo: a condutividade inicial corresponde àquela da solução de GCM2 onde  $Z = 0$ . Uma linearidade é observada com o aumento de  $Z$ , ou seja, aumento da razão QT/GCM, devido a liberação de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no meio (Eq. 11) até  $Z = 0,56$ .

A concentração de  $\text{OH}^-$  proveniente da hidrólise de GCM diminui devido ao consumo do poliânion. A mudança da inclinação da reta em  $Z = 0,56$  indica que a formação do complexo está completa. Depois desse ponto, um aumento na condutividade específica é também observado, no entanto com uma inclinação maior. Isso é devido ao excesso de cloridrato de quitosana dissociada no meio (Eq. 13), liberando íons hidrônio que apresentam maior mobilidade:



O valor de  $Z$  obtido no ponto de equivalência para os dois métodos evidencia a formação não estequiométrica do complexo com excesso de GCM2 com uma razão de cargas de  $\text{NH}_3^+$  para  $\text{COO}^-$  de 1:2 (Fig. 18B).

Comparando os resultados para as amostras de GCM observa-se que o GS afeta a razão de cargas na formação dos complexos.

#### *IV.1.2.2 Adição de solução de GCM à solução de quitosana*

As Figuras 20 e 21 mostram as curvas de condutividade e pH em função da razão molar de cargas  $Z = [\text{COO}^-]/[\text{NH}_3^+]$  para a titulação de quitosana ( $1 \times 10^{-4}$  mol/L) com GCM ( $1 \times 10^{-3}$  mol/L) 1 e 2 respectivamente.

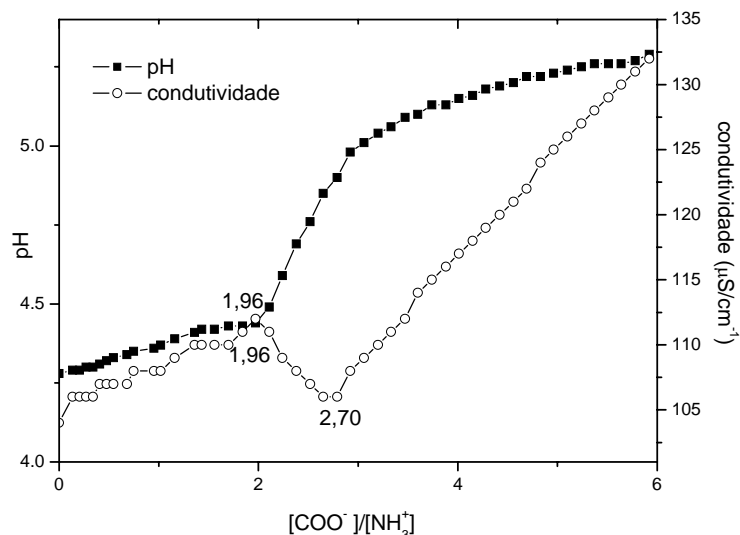


Figura 20. Titulação potenciométrica e condutimétrica de quitosana com GCM1 (GS = 0,84).

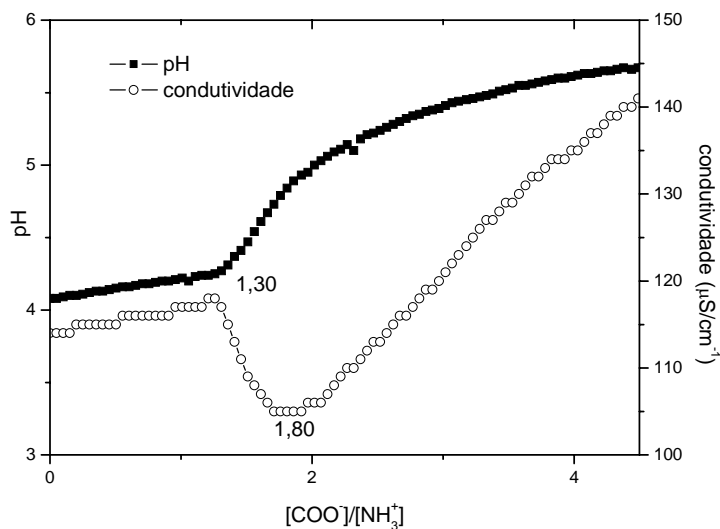


Figura 21. Titulação potenciométrica e condutimétrica de quitosana com GCM2 (GS = 0,62).

As curvas de condutividade podem ser explicadas da seguinte forma: a quitosana na forma de cloridrato é hidrolisada e um equilíbrio é estabelecido em água com produção parcial de HCl e uma fração não dissociada de quitosana (eq. 13). Quando GCM é adicionada à solução de quitosana observa-se um leve aumento da condutividade (Fig. 20 e 21) devido ao aumento da concentração de íons de baixa molar em solução ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) após as razões indicadas nas curva em 1,96 e 1,30, respectivamente para as amostras GCM 1 e 2,

a condutividade decresce na presença de um excesso de GCM. Esse resultado pode ser interpretado como a acidificação do grupo carboxilato da GCM. Acima de Z igual a 2,70 para GCM1 e 1,80 para GCM2 o excesso de GCM permanece na forma de carboxilato.

A variação de pH durante a titulação pode ser explicada de forma semelhante. Inicialmente o pH aumenta lentamente (resultado do efeito tamponante dos polieletrólitos em solução) durante a formação do complexo até  $Z = 1,96$  e  $1,30$ , respectivamente para as amostras GCM 1 e 2 onde ocorre uma inflexão nas curvas. Acima destes valores de Z, o pH aumenta rapidamente na região onde a condutividade decresce e então aumenta lentamente novamente. Fato este relacionado ao consumo de  $H_3O^+$  para acidificar o GCM adicionado [Rusu-Balaita, Desbrières, e Rinaudo 2003] e depois a hidrólise da goma carboximetilada (eq. 12).

A formação de complexos pela adição de carboximetilado a quitosana também ocorre com um excesso de grupos  $COO^-$  em relação ao  $NH_3^+$  entretanto, a razão de  $[NH_3^+] : [COO^-]$  neste caso é menor que para titulação de goma carboximetilada com quitosana (razão de  $[NH_3^+] : [COO^-]$  de aproximadamente de 1:2 e 1:1,3 respectivamente para GCM1 e GCM2).

#### ***IV.1.3 Acompanhamento da formação do complexo de quitosana-goma do cajueiro carboximetilada em solução concentrada***

O acompanhamento da formação do complexo de quitosana-goma do cajueiro carboximetilada com soluções concentradas foi realizado por gravimetria. A Tabela 7 mostra as relações utilizadas para preparação dos complexos das séries 1 e 2 e os rendimentos obtidos nas misturas.

Tabela 7. Razões utilizadas na preparação dos complexos polieletrólitos CPE séries 1 e 2.

Amostras	[NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ]:[COO <sup>-</sup> ]		Rendimento (%)	
	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2
CPE 10:90	0,12	0,16	24,8	23,5
CPE 10:80	-	0,36	-	48,5
CPE 25:75	<b>0,38</b>	0,53	<b>56,4</b>	56,0
CPE 30:70	0,52	<b>0,72</b>	51,8	<b>67,5</b>
CPE 40:60	0,84	<b>1,17</b>	50,0	<b>68,8</b>
CPE 50:50	1,33	1,84	40,7	56,0
CPE 60:40	2,12	2,95	28,1	42,5
CPE 70:30	-	4,15	-	28,8
CPE 80:20	-	6,00	-	18,1

O rendimento (massa do produto em relação à massa de quitosana e GCM adicionada inicialmente) do produto insolúvel obtido após a complexação pode ser associado a um máximo de interação de cargas COO<sup>-</sup> e NH<sub>3</sub><sup>+</sup>. O rendimento máximo na série 1 foi obtido quando a relação QT:GCM1 foi 25:75 (w/w) e na série 2 QT:GCM2 40:60, o que corresponde respectivamente a razão [NH<sub>3</sub><sup>+</sup>]/[COO<sup>-</sup>] de 0,38 e 1,2. Observou-se que, em ambos os casos, a condição de formação do complexo não apresenta uma razão estequiométrica entre as concentrações de QT e GCM. Resultado similar foi observado para complexos de quitosana/alginato [Becherán-Marón, Peniche e Argüelles-Monal 2004] e quitosana/ácido poligalacturônico [Argüelles-Monal e col. 2000]. Esta razão de cargas não pode ser comparada às obtidas pelas titulações das soluções diluídas, visto que neste caso ela é calculada em relação as massas de políons adicionados inicialmente.

#### ***IV.1.4 Caracterização dos complexos polieletrólíticos (CPE) no estado sólido***

##### *IV.1.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho*

A Figura 22 mostra os espectros na região do infravermelho para os complexos das séries 1 e 2 (razão QT:GCM 25:75) comparando-os com os da quitosana e da goma carboximetilada, respectivamente. Para o GCM1 (Fig. 22A) as principais absorções estão em torno de  $1608\text{ cm}^{-1}$  e  $1422\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação axial assimétrica e simétrica de C-O de grupos carboxilatos  $-\text{COO}^-$ . A Figura 22B mostra o espectro da quitosana com absorções em  $1084\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas à estrutura sacarídica e uma absorção característica de grupo amino em torno de  $1597\text{ cm}^{-1}$  [Qu, Wirsén e Albertsson, 2000]. O grupo de amida I (C=O) apresenta absorção característica em torno de  $1655\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 22B), como previamente reportado por Qu, Wirsén e Albertsson (2000), em  $1372\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$  e em  $1422\text{ cm}^{-1}$  devida à deformação axial de C-N. Todas as amostras apresentam absorções correspondente à deformação axial de C-O na faixa de  $1070\text{-}1062\text{ cm}^{-1}$  (C-O exocíclico) [Villetti e col., 2002]. As amostras de CPE apresentam uma absorção em torno de  $1390\text{ cm}^{-1}$ , similar à absorção no espectro de quitosana ( $1372\text{ cm}^{-1}$ ) (Fig. 22 C e D). Observou-se também absorção em  $1635\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação axial assimétrica de grupos carboxilato presentes na GCM.

O aparecimento de duas bandas na região de  $1540\text{-}1570\text{ cm}^{-1}$  nos complexos (Fig. 22 C e D) [Arguëlles-Monal, Gárciga e Peniche-Covas, 1990; Lee e Ha. 1997], atribuída à deformação angular simétrica de N-H em grupos  $\text{NH}_3^+$ . Esse resultado evidencia a formação do complexo polieletrólítico.

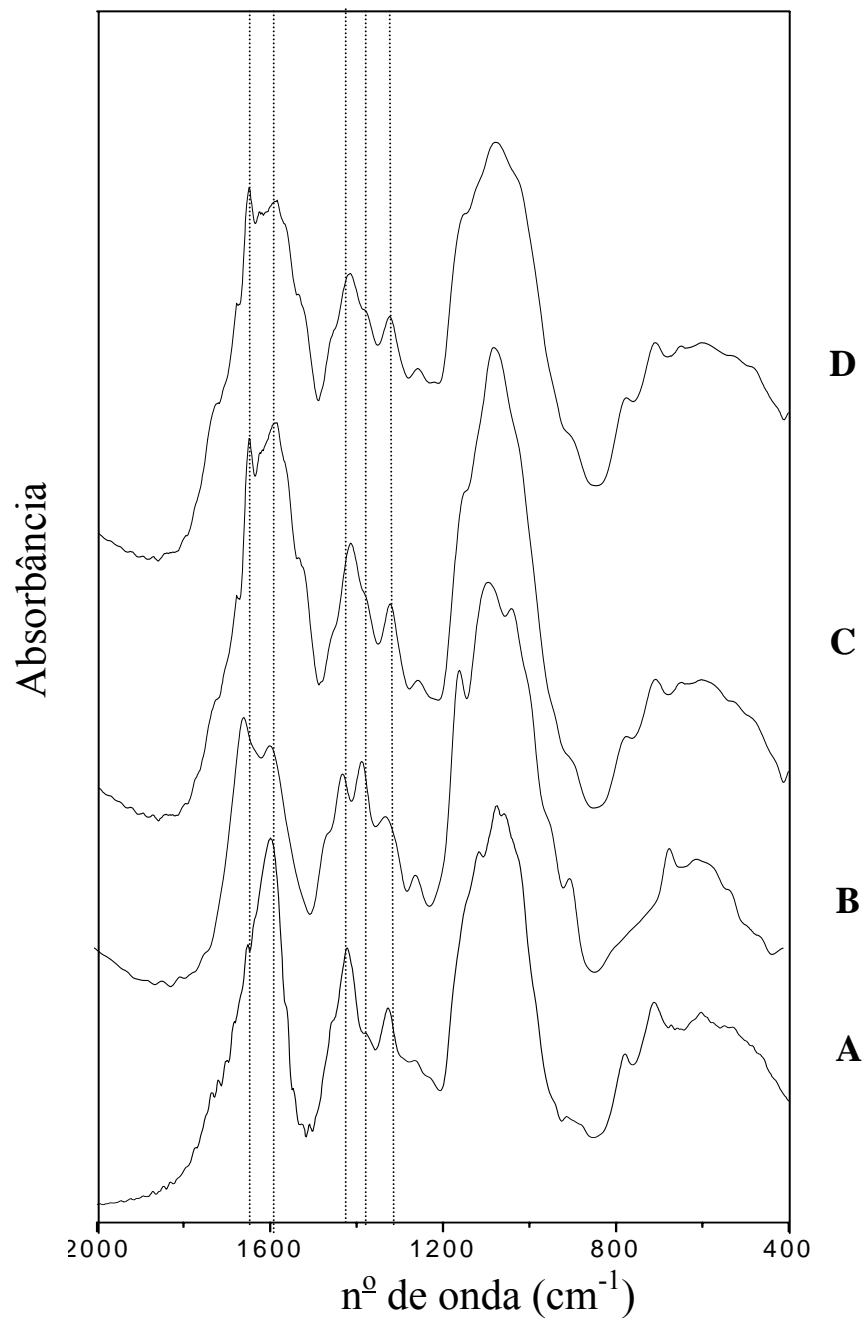


Figura 22. Espectros na região do infravermelho (A) GCM1; (B) QT; (C) CPE 25:75 Série 1; (D) CPE 25:75 Série 2.

#### IV.1.4.2 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi utilizada para caracterização dos complexos com objetivo de evidenciar a modificação química com a formação do complexo. A Figura 23 mostra as curvas de TGA obtidas em atmosfera de  $N_2$  para o GCM1, quitosana e complexos série 1. Observa-se que o perfil da curva é o mesmo para todas as amostras, com uma etapa de perda de água e outra de decomposição.

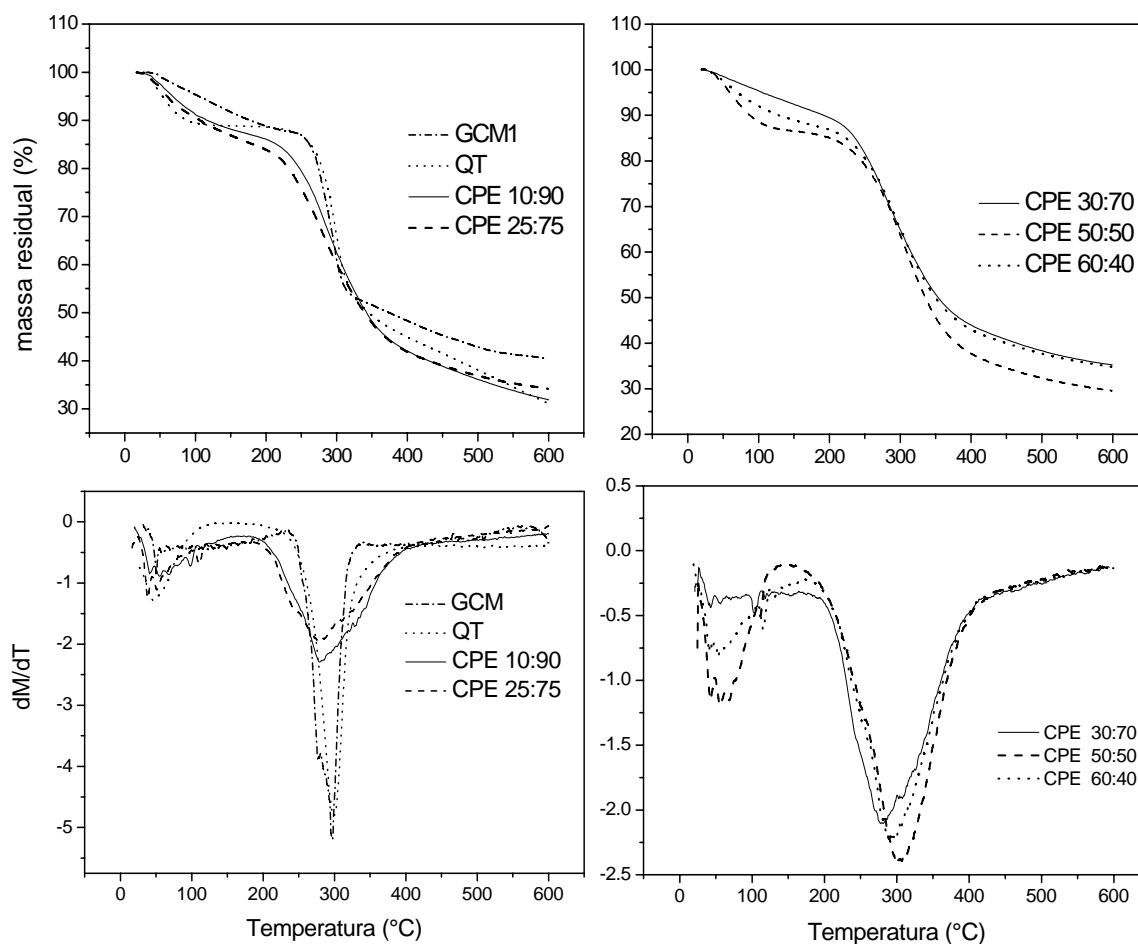


Figura 23. Curvas TGA e DTG em atmosfera de  $N_2$  para quitosana (QT), goma do cajueiro carboximetilada (GCM) e complexos polieletrólíticos série 1 (CPE).

Os dados obtidos (temperaturas de pico na DTG e perda de massa associada) para cada amostra são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8. Temperatura máxima na TGA durante a degradação térmica de quitosana (QT), Goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE (série 1)

Resultados	GCM1	QT	CPE (série 1)				
			10:90	25:75	30:70	50:50	60:40
Primeiro evento							
DTG (°C)	52	46	55	40	43	43	49
Perda de massa (%)	12	12	20	14	9	13	13
Segundo evento							
T <sub>inicial</sub> (°C)	256	242	230	224	226	215	220
DTG (°C)	297	299	280	280	280	299	294
T <sub>final</sub> (°C)	317	340	373	375	386	374	385
Perda de massa (%)	33	32	33	38	36	44	42
Massa residual a 600 °C (%)	41	31	31	34	35	30	35

Observa-se que as temperaturas iniciais de decomposição para os CPE (215-230 °C) são menores que para a quitosana (242 °C) e GCM1 (256 °C). Esse comportamento foi também observado para CPE de quitosana/sulfato de condroitina e quitosana/hialuronato de sódio [Denuziere, Ferier e Domard 1996] e quitosana-ácido hialurônico [Kim e col., 2003 a e b; Lee e col. 2003a]. A diminuição na estabilidade tem sido atribuída à diminuição na cristalinidade dos complexos. Estudo de raios-X de complexos de quitosana-ácido hialurônico [Lee e col. 2003b] mostram que com a formação do complexo ocorre a diminuição da cristalinidade observada para a quitosana, o que pode causar menor estabilidade na estrutura do complexo.

A Figura 24 mostra as curvas de TGA em atmosfera de N<sub>2</sub> para os CPE 25:75, séries 1 e 2. Observa-se que a variação do grau de substituição não provoca diferenças significativas na estabilidade térmica do complexo. Os CPE's apresentam curvas com o mesmo perfil discutido anteriormente. A temperatura inicial de decomposição (229 e 233 °C para CPE 25:75 série 1 e 2, respectivamente) e o teor de resíduo (34 e 30% séries 1 e 2, respectivamente) são aproximadamente os mesmos para os CPE 25:75 das duas séries. Entretanto, observa-se que a temperatura máxima de decomposição para o complexo da série 2 (300 °C) é superior à obtida no da série 1 (280 °C)



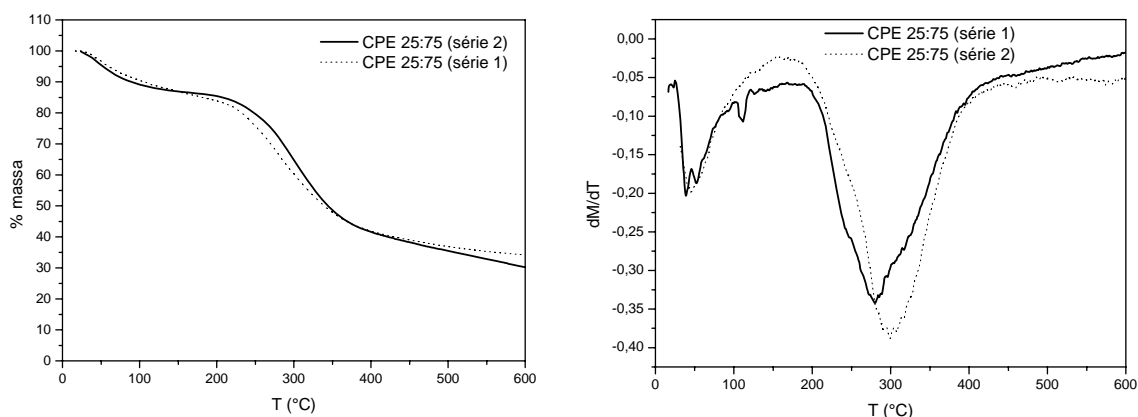


Figura 24. Curvas termogravimétricas em atmosfera de nitrogênio, taxa de aquecimento 10 °C/min. (A) curvas TGA; (B) curvas DTG.

#### IV.1.4.3 Estudo cinético da degradação dos complexos polieletrólíticos

##### *Estudo termogravimétrico dinâmico [Broido, 1969]*

A energia de ativação aparente ( $E_a$ ) para a degradação térmica da quitosana, GCM e as amostras de CPE's foram obtidas por curvas termogravimétricas usando o método descrito por Broido [1969].

A Equação utilizada pode ser escrita da seguinte forma:

$$\ln[\ln[1/(1-\alpha)]] = -E_a/RT + \ln[(R/E_a)(Z/U)T_m^2] \quad (14)$$

$\alpha$  é a extensão da taxa de conversão e é dada por:

$$\alpha = W_e/W_o \quad (15)$$

onde:  $W_e$  é a massa de polímero envolvido em fragmentos voláteis e  $W_o$  é a massa inicial,  $R$  é a constante dos gases,  $Z$  uma constante,  $T_m$  a temperatura máxima no evento e  $U$  é a velocidade de aquecimento.

As curvas de  $\ln[\ln[1/(1-\alpha)]]$  em função do inverso de  $1/T$  para QT, GCM e CPE são mostradas na Figura 25. A energia de ativação foi calculada a partir das inclinações das retas.

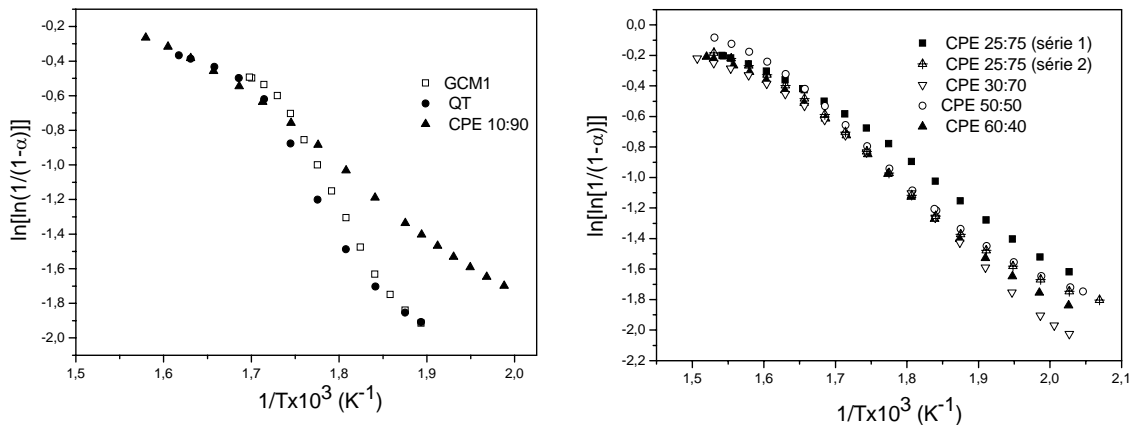


Figura 25. Curvas de  $\ln[\ln[1/(1-\alpha)]]$  em função do inverso de  $1/T$  para QT, GCM e CPE.

Os valores de  $E_a$  obtidos pelo método de Broido [1969] são dados na Tabela 9.

Tabela 9. Energia de ativação e perda de massa (%) para os experimentos dinâmicos de TGA para a decomposição térmica de quitosana (QT), goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE [Broido, 1960]. Atmosfera  $N_2$  e taxa de aquecimento  $10^\circ C/min$ .

Amostra	Período (°C)	$E_a$ (kJ/mol)	Perda de massa (%)	Período (260-375 °C)	$E_a$ (kJ/mol)	Perda de massa (%)	Período (305-385°C)	$E_a$ (kJ/mol)	Perda de massa (%)
GCM1	255-265	38,9	4,1	270-300	80	21,4	305-316	27,7	3,47
QT	255-270	47,6	6,4	280-310	78,6	21,3	320-345	16,0	4,45
CPE 10:90 (Série 1)	230-280	30,6	13,5	290-360	26,3	20,1	-	-	-
CPE 25:75 (Série 1)	220-290	28,2	21,8	300-375	19,0	16,0	-	-	-
CPE 25:75 (série 2)	240-290	29,0	12,9	300-380	28,5	21,1	-	-	-
CPE 30:70 (Série 1)	220-280	35,2	16	310-370	24,1	20,1	-	-	-
CPE 50:50 (Série 1)	215-280	24,1	16,4	290-370	32,8	28,1	-	-	-
CPE 60:40 (Série 1)	220-250	22,4	14,3	260-320	36,2	20,5	320-385	19,8	7,3

Observa-se que os CPEs apresentam  $E_a$  mais baixas que aquelas obtidas para a quitosana e goma do cajueiro carboximetilada. Os complexos obtidos com GCM de diferentes GS mostraram  $E_a$  semelhante para o início da decomposição, entretanto para

região acima de 300 °C a energia de ativação é maior para o CPE 25:75 série 2. Esse resultado pode estar associado ao fato de que, para o último a complexação máxima não foi alcançada nesta razão QT:GCM, de modo que, o arranjo estrutural dos complexos não é semelhante.

A Figura 26 mostra que a energia de ativação diminui para complexos obtidos de reações com maiores rendimentos. Isso indica que o aumento da interação entre as cadeias dos polissacarídeos reduz a estabilidade térmica do complexo.

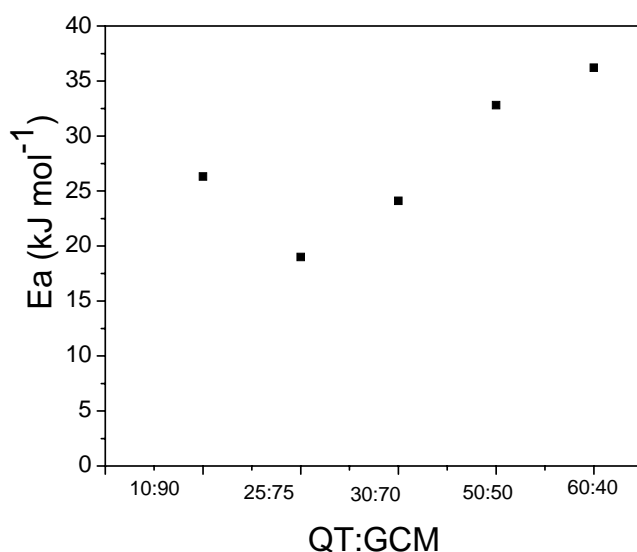


Figura 26. Relação da  $E_a$  de ativação (método Broido) com a razão QT:GCM para os CPE's série 1.

#### IV.1.4.4 Estudo isotérmico por termogravimetria

O estudo cinético da degradação térmica de quitosana, goma do cajueiro carboximetilada e CPE 25:75 (séries 1 e 2) foi realizado também através de experimentos isotérmicos, na faixa de 220 a 300 °C, em atmosfera de N<sub>2</sub>. As curvas na Figura 27 expressam a variação do grau de conversão com o tempo em diferentes temperaturas.

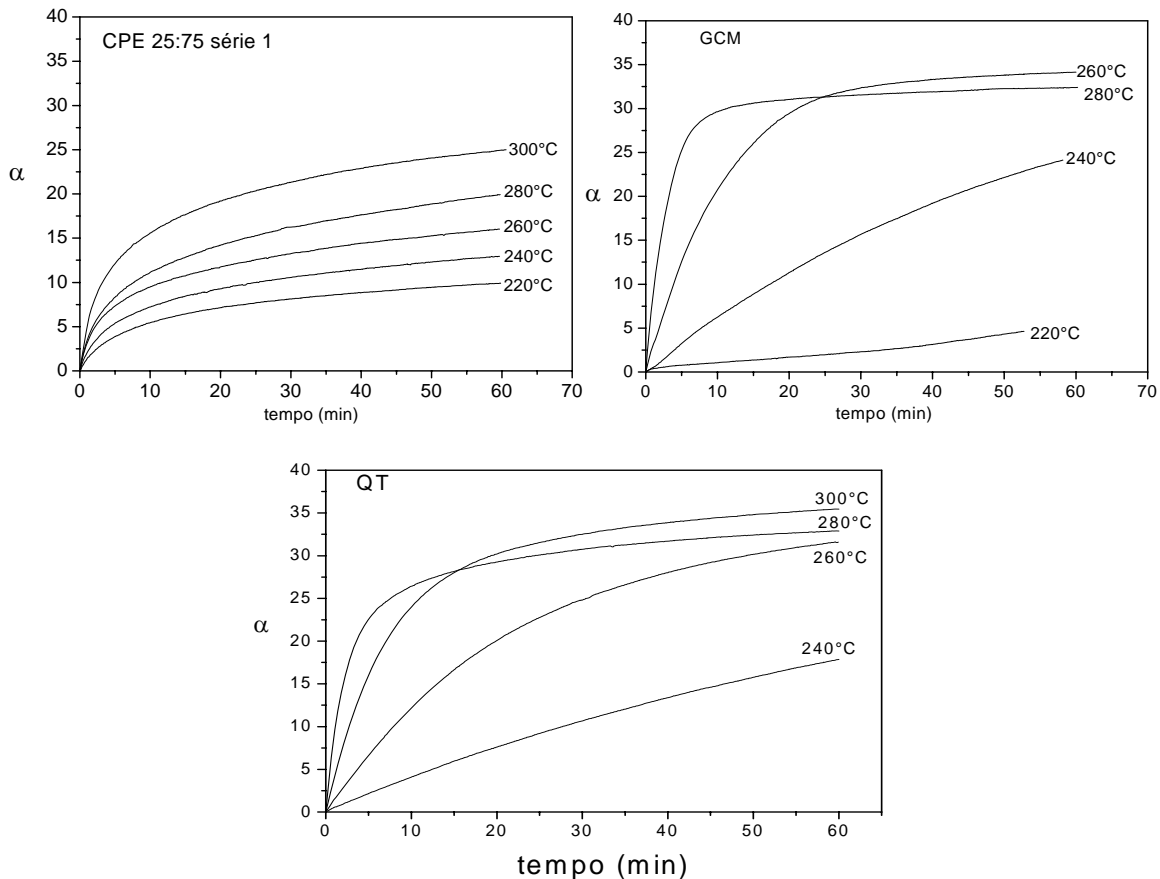


Figura 27. Curvas isotérmicas de grau de conversão em função do tempo em atmosfera de  $N_2$ .

Observa-se na Figura 27 que na temperatura de 220 °C o grau de conversão para a goma do cajueiro carboximetilada é menor que os para a amostra de CPE. Entretanto com o aumento da temperatura de decomposição um comportamento contrário é observado e a um dado tempo (por exemplo, 30 min.) o grau de conversão do CPE é menor do que os observados para GCM e QT.

A energia de ativação aparente em diferentes graus de conversão pode ser obtida pela equação de MacCallum [MacCallum, 1989]:

$$Ea/RT + \ln [F(1-\alpha)] - \ln A = \ln t \quad (16)$$

onde  $Ea$  é a energia de ativação aparente,  $A$  é o fator pré-exponencial,  $R$  é a constante dos gases e  $\alpha$  é o grau de conversão. A partir dos gráficos de  $\ln t$  para um dado grau de conversão em função de  $1/T$  é possível determinar a energia de ativação aparente para um

dados de  $\alpha$ . A Figura 28 mostra as curvas de  $\ln t$  em função de  $1/T$  para QT, GCM e CPE.

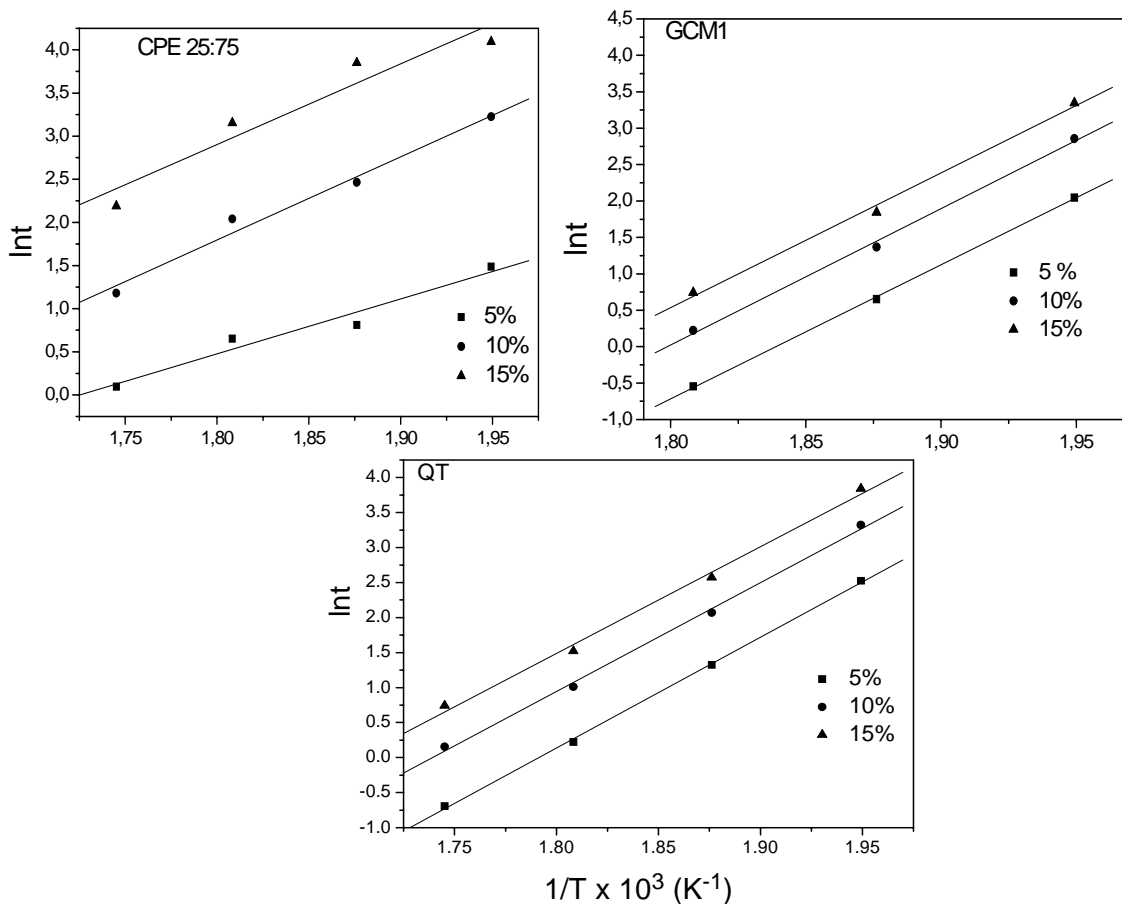


Figura 28. Curvas de  $\ln t$  em função de  $1/T$  para quitosana (QT); goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) e CPE 25:75.

A  $E_a$  obtida para diferentes graus de conversão ( $\alpha$ ) para as amostras de QT, GCM1 e CPE são dadas na Tabela 10.

Tabela 10. Energia de ativação da degradação térmica de QT, GCM1 e CPE 25:75 em experimentos isotérmicos (atmosfera de N<sub>2</sub>) [MacCallum, 1989].

Amostras	Energia de ativação (kJ mol <sup>-1</sup> )		
	$\alpha=5\%$	$\alpha=10\%$	$\alpha=15\%$
GCM1	152,9	155,5	153,7
QT	131,6	128,0	126,7
CPE 25:75 (série 1)	52,96	80,1	77,6
CPE 25:75 (série 2)	-	91,4	-

A  $E_a$  de ativação para a quitosana (QT) e goma do cajueiro carboximetilada (GCM1) é praticamente constante com o aumento do grau de conversão, no caso do CPE 25:75 (série 1) a  $E_a$  aumenta quando o grau de conversão aumenta de 5% para 10%. A maior  $E_a$  foi obtida para GCM1, comportamento similar ao obtido utilizando o método dinâmico, dentro da faixa de 270-300°C. Quando se compara os complexos das séries a uma mesma razão QT:GCM, observa-se um aumento da energia de ativação para o complexo formado com a goma do cajueiro carboximetilada de menor GS (série 2). Resultado similar foi observado no método dinâmico para essas amostras.

#### IV.1.4.5. Espectroscopia na região do infravermelho para resíduos de QT, GCM1 e CPE 25:75 aquecidos a 280 °C (atmosfera de N<sub>2</sub>)

As Figuras 29 e 30 mostram os espectros na região do IV dos produtos de degradação obtidos a 280 °C em função do tempo para as amostras de quitosana, goma do cajueiro carboximetilada e complexo 25:75 série 1.

Comparando com os dados de IV das amostras não aquecidas, observa-se que após 15 min de aquecimento a 280 °C uma intensa redução das absorções em torno de 1080 – 1100 cm<sup>-1</sup> devido a clivagem da ligação glicosídica (C-O-C) para a goma do cajueiro e quitosana (Fig 29) [Villetti e col., 2002] A redução destas bandas no complexo é bem mais lenta (Fig. 30). Isto é coerente com as curvas de grau de conversão em função do tempo (Fig. 27) onde

se observa que para a amostra de CPE 25:75 o grau de conversão a 280 °C é menor do que para a goma do cajueiro carboximetilada e a quitosana.

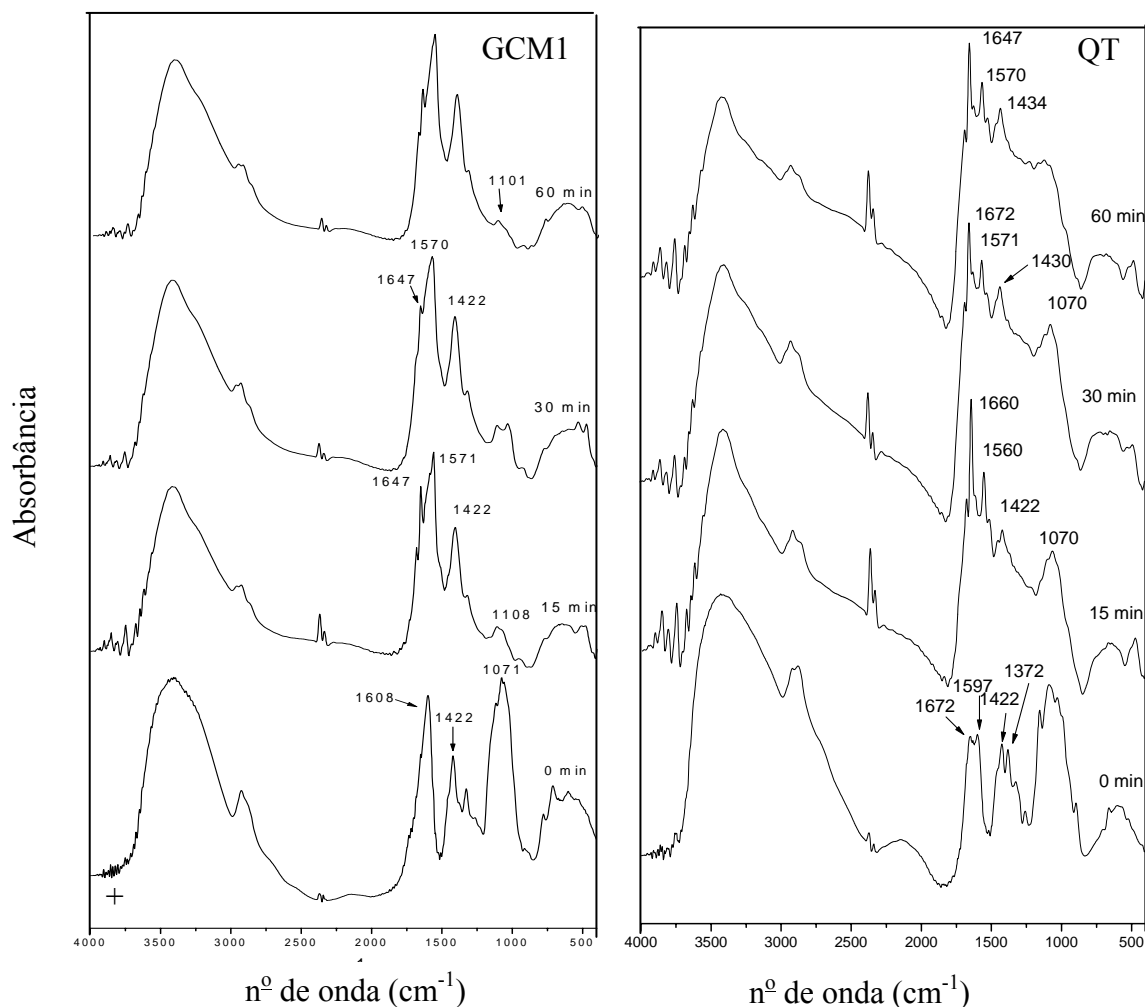


Figura 29. Espectros na região do infravermelho para QT e GCM1 após aquecimento a 280°C.

A intensificação de bandas na região de 1600 -1750  $\text{cm}^{-1}$  observada para todas as amostras deve ser devido a produção de produtos de degradação carbonilados. A degradação térmica de ácidos graxos de quitosana [Qu, Wirsém e Albertsson, 2000] e hialuronato de sódio [Villetti e col., 2002] também apresentaram formação de grupos carbonílicos. Nos espectros da quitosana após aquecimento observa-se uma drástica redução da banda em 1372  $\text{cm}^{-1}$ .

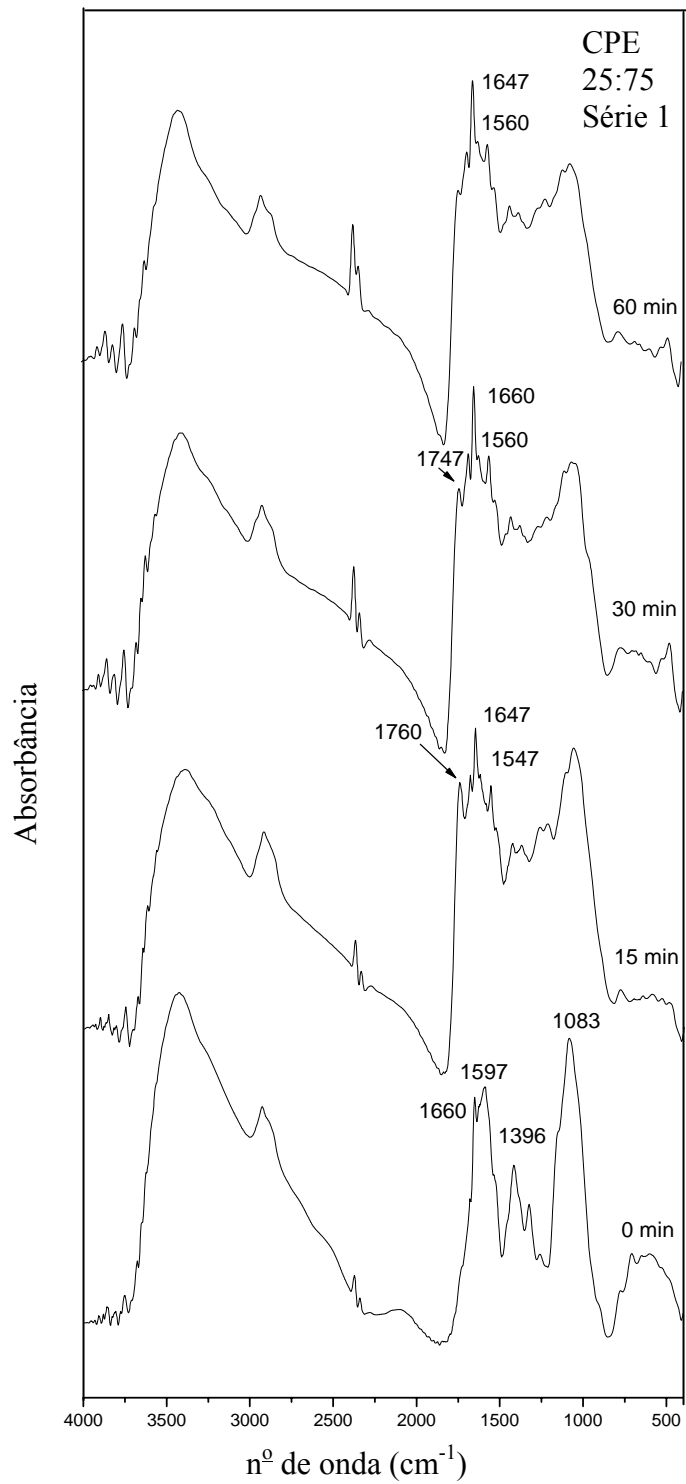


Figura 30. Espectros na região do infravermelho para CPE 25:75 (série 1) após aquecimento à 280°C.



#### *IV.1.4.6 Morfologia dos complexos polieletrólíticos utilizados em ensaios de liberação*

As imagens, obtidas em microscópio eletrônico de varredura, dos complexos polieletrólíticos não-reticulados e reticulados são mostradas nas Figuras 31 e 32. A Figura 31 mostra as imagens obtidas para os complexos CPE 2 (40:60 QT:GCM2) e a Figura 32 mostra as imagens obtidas para os complexos CPE 3 (40:60 QT:GCM1).

Os complexos sólidos foram avaliados quanto ao tamanho e forma de partícula, como também quanto à morfologia da superfície. O método de preparação dos complexos gerou partículas em forma e tamanho bastante heterogêneos. Esse resultado é devido a agregação do precipitado durante a preparação do complexo.

A precipitação do CPE ocorre imediatamente à adição da solução de GCM à solução de quitosana de modo que, não há tempo para formação da esfera bem definida. Após secagem o complexo insolúvel foi passado em peneira para homogeneização da granulometria.

No complexo CPE 3 (40:60 QT:GCM1) o diâmetro médio das partículas é de 1,3 mm para o sistema não reticulado e de  $1,2 \pm 0,1$  mm para o sistema após reticulação. Diâmetro de 0,8 mm foi observado para esferas de quitosana/alginato reticuladas com genipina [Mi, Sung e Shye 2002], esferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato preparadas por Ko e col. (2002) apresentam diâmetro entre 0,5 e 0,7 mm. Esferas de quitosana/alginato reticulado com sódio apresentam diâmetros de 0,78-0,92 mm [González-Rodríguez e col. 2002]. Quanto à morfologia da superfície os CPE de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada apresentam uma notável superfície rugosa.

Morfologia e formas similares foram observadas para CPE's de quitosana/alginato reticulado com sódio [González-Rodríguez e col. 2002] e também para quitosana reticulada com tripolifosfato, as quais não apresentam forma esférica.

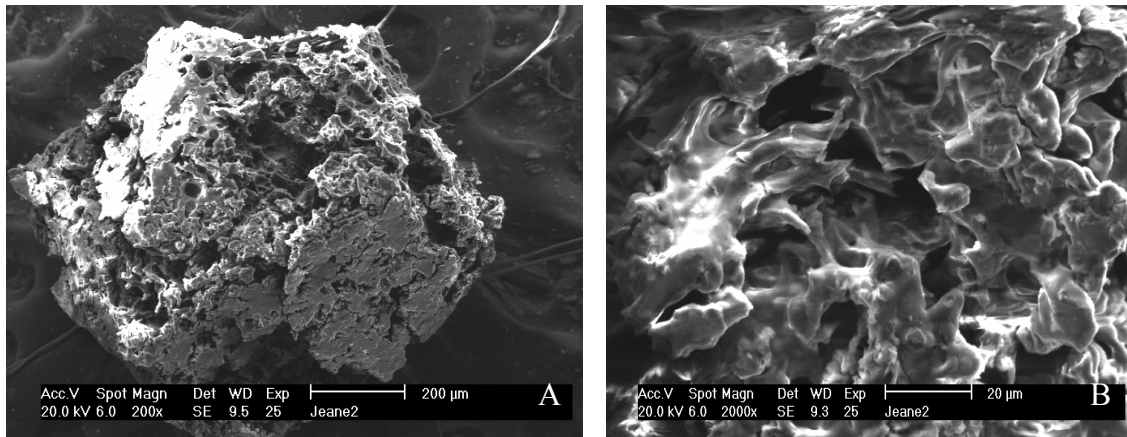


Figura 31. Imagens MEV para CPE 2 (40:60 QT:GCM2). (A) e (B) CPE 2 + diclofenaco de sódio (Aumento de 200x e 2000x).

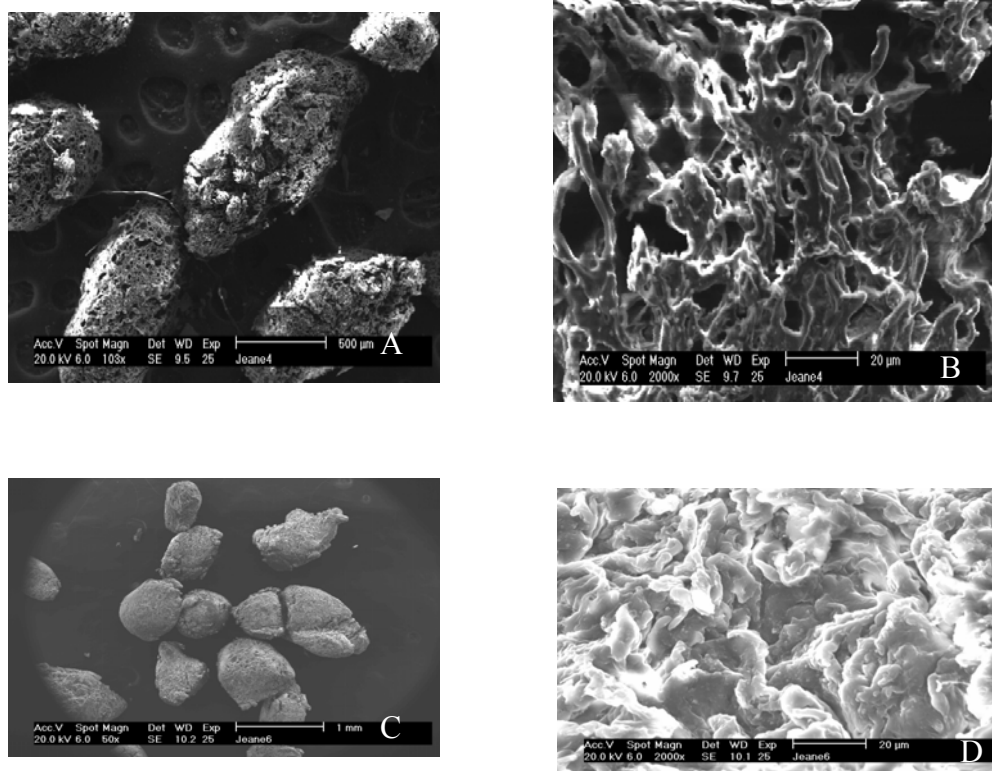


Figura 32. Imagens MEV para os CPE 3 (40:60 QT:GCM1): (A) e (B) CPE reticulado (Aumento de 100x e 2000x); (C) e (D) CPE reticulado e incorporado com diclofenaco de sódio (Aumento 50x e 2000x).

#### IV.1.4.7 Capacidade de absorção de água dos complexos

A Figura 33 mostra a relação do teor de água absorvida por grama de gel em função da razão QT/GCM (m/m) para os complexos da série 1 e 2. O aumento de quitosana no complexo aumenta o teor de água no equilíbrio até a razão QT:GCM 50:50 para os complexos das duas séries. A diminuição no grau de substituição do GCM parece influenciar no grau de intumescimento, diminuindo a capacidade de absorção de água do complexo. O maior teor de grupos  $\text{COO}^-$  por unidade de  $\text{NH}_3^+$  no complexo QT:GCM1 pode ser responsável pelo maior grau de intumescimento deste complexo.

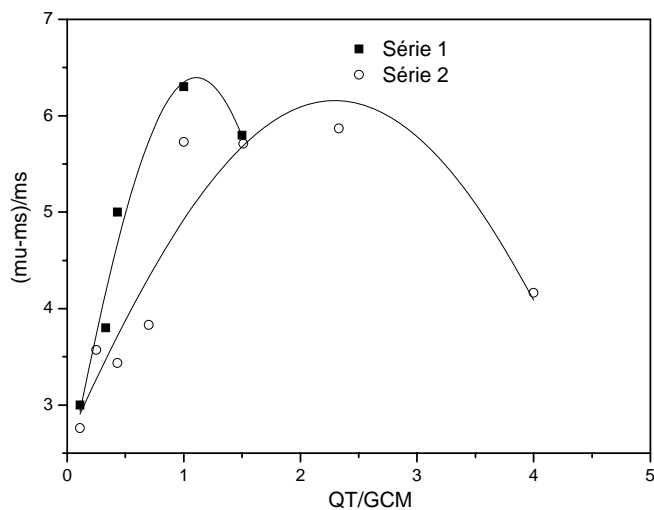


Figura 33. Relação entre teor de água no equilíbrio e a razão QT:GCM para os complexos da série 1 e 2.

#### IV.1.5. Aplicação do complexo polieletrólítico como matriz em sistemas de liberação controlada

Complexos polieletrólíticos de quitosana com polissacarídeos aniônicos têm sido testados *in vitro* com diferentes tipos de fármacos. Os ensaios realizados neste trabalho envolvem apenas a incorporação de fármacos solúveis no meio aquoso.

##### IV.1.5.1 CEP1 (QT:GCM1 25:75)

A adição de diclofenaco de potássio à solução de GCM foi feita sem prévio ajuste de pH. Observou-se que apenas parte do DCK foi solubilizado e finalmente incorporado à matriz. De acordo com os resultados obtidos a partir da extração com metanol diretamente das esferas, apenas 56,6 % do fármaco dissolvido inicialmente na solução de GCM foi incorporada no CPE. O resultado do ensaio preliminar de liberação de DCK realizado com a matriz CPE1 (25:75) é mostrado na Figura 34. A percentagem foi calculada em função da concentração do fármaco efetivamente incorporada ao complexo (46,4 mg de fármaco/g de CPE).

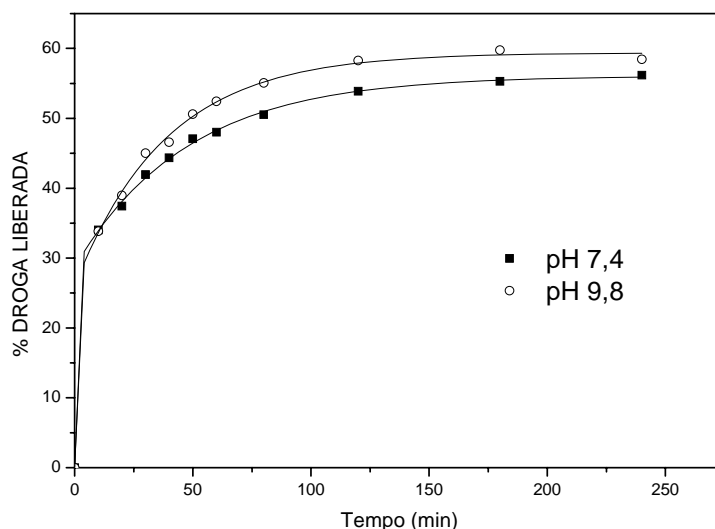


Figura 34. Curva de liberação de DCK *in vitro* em tampão pH 7,4 e 9,8 (Matriz CPE 1).

Em condições ácidas (tampão pH 1,2) o complexo solubilizou alguns minutos após o contato com o tampão. Este resultado indica que a interação entre os grupamentos iônicos

da quitosana e do GCM foi destruída, devido à protonação dos grupamentos ácido que eventualmente interagem com os grupamentos  $\text{NH}_3^+$  da quitosana. Uma interação extremamente forte não pode ser obtida em nenhum pH, porque em meio ácido grupos  $-\text{NH}_3^+$  da quitosana e grupos  $-\text{COOH}$  da GCM estão presentes em grande quantidade e em meio básico  $-\text{NH}_2$  e  $-\text{COO}^-$  aparecem. Lee e col. (2003b) observaram que complexos polieletrólíticos de quitosana/ácido hialurônico formados em pH maior que 4 são facilmente solúveis em ácidos fracos, como o ácido acético, já os complexos formados em pH mais baixo apresentam forte resistência à dissolução em meio ácido. Os complexos de quitosana/goma do cajueiro carboximetilada foram formados em pH aproximadamente 4, conseqüentemente o número grupos  $-\text{COO}^-$  pode ser menor na goma carboximetilada, devido a protonação ( $-\text{COOH}$ ). Segundo o que Lee e col. (2003b) observaram para o complexo quitosana/ácido hialurônico, isto pode facilitar a dissolução do complexo em meio ácido.

A liberação é afetada pela variação do pH. O aumento do pH para 9,8 aumenta a desprotonação dos grupamentos amino da quitosana diminuindo a interação entre os polissacarídeos e assim provocando aumento da liberação em relação ao pH 7,4. Esses resultados são similares aos resultados obtidos com a liberação de diclofenaco de sódio a partir de matrizes de quitosana/alginato [González-Rodríguez e col., 2002], no entanto nestas matrizes 100% do fármaco é liberado em pH 7,4 quando a relação alginato/quitosana é de 3:1 (relação próxima da utilizada nos ensaios com QT:GCM1). A diferença pode estar associada a mais baixa solubilidade de DCK em relação ao DCS.

Aplicando a equação de Ritgers e Peppas expoentes difusionais (n) de 0,10 e 0,19 foram obtidos para pH 7,4 e 9,8, respectivamente. O coeficiente em pH 7,4 é muito baixo, apesar do comportamento da curva se adequar a equação. Resultados similares foram obtidos para complexos polieletrólíticos de quitosana/ácido poliacrílico [Torres e Torrado 2003] com valores de 0,18 e 0,24 para matrizes contendo de 1:5 e 2:5 de ácido poliacrílico:quitosana, atribuído a comportamento não-Fickiano de amostras intumescidas, ou seja, tanto a relaxação da cadeia como a difusão do fármaco influenciam no fenômeno de liberação, e também pode ser resultado da liberação inicial de até 60% nos primeiros 60 min, o mesmo acontecendo em pH 9,8.

#### IV.1.5.2 CEP 2 (QT:GCM2 40:60)

Para aumentar a solubilidade de DCS na solução de GCM2, o pH desta solução foi ajustado para 7,0 e então adicionado o DCS sob agitação. Após ajuste do pH, a quitosana foi adicionada lentamente na solução de GCM e o sobrenadante utilizado para determinar o teor de fármaco não incorporado no complexo sólido. Os dados obtidos por espectroscopia na região do UV-vis mostraram que 90,4% do fármaco foi incorporada no complexo. Assim, a percentagem de fármaco liberado foi calculada em função do tempo (Fig. 35) considerando como 100% o teor de fármaco efetivamente incorporado (91,2 mg de fármaco/g de gel).

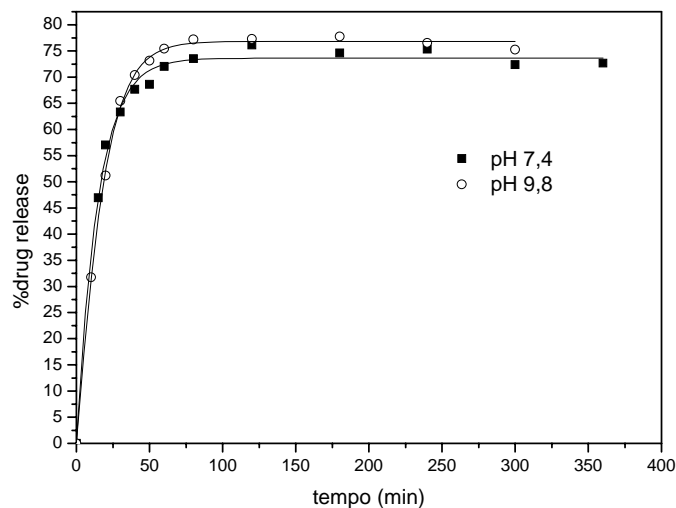


Figura 35. Curva de liberação de DCS *in vitro* a partir de matriz de CPE 2 (40:60 QT:GCM2) em diferentes pH.

A liberação inicial é também elevada, aproximadamente 75% é liberada nos primeiros 60 min. Para esta matriz também se observa uma liberação rápida, e aplicando a equação de Ritgers e Peppas valores de  $n$  de 0,36 e 0,59 foram obtidos para o pH 7,4 e 9,8, mas uma vez evidenciando um mecanismo anômalo ou não-Fickiano de liberação.

#### IV.1.5.3 CEP 3 (QT:GCM1 40:60 reticulado)

O complexo foi reticulado para obter maior resistência em meio ácido. A reação com epiclorigrina pode reticular tanto a quitosana, como o GCM. Se os grupos  $\text{NH}_2$  livres forem reticulados, a protonação e posterior dissolução em meio ácido serão reduzidas devido ao aumento de rigidez das cadeias. No entanto, o número de sítios de interação quitosana-cajueiro carboximetilados pode também ser reduzido.

A Figura 36 mostra a curva de liberação seqüenciada de DCS a partir da matriz CPE 3 reticulado.

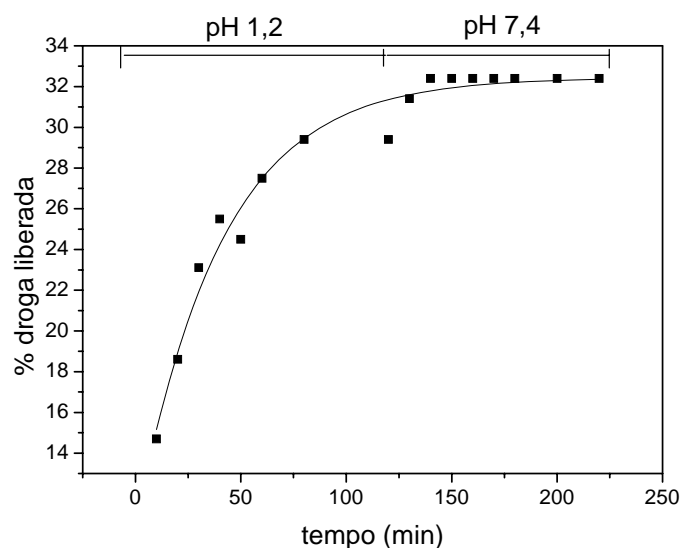


Figura 36. Liberação seqüenciada de DCS a partir da matriz CPE 3 (QT:GCM1 40:60 reticulado).

Observa-se que a concentração de fármaco aumenta nos primeiros minutos em pH 7,4. A partir de 20 min a concentração mantém-se constante durante os próximos 180 min neste pH.

O valor de  $n$  para  $0,1 < M_t/M_0 < 0,4$  foi de 0,33, similar aos resultados obtidos com as matrizes não reticuladas e em pH acima de 7,4.

Com objetivo de explicar o comportamento observado na liberação seqüenciada, foi feito o intumescimento seguindo os mesmos intervalos de tempo utilizados para a liberação e observou-se que o intumescimento é máximo em pH 1,2 e diminui continuamente até estabilização em pH 9,8 (Fig. 37). Diante destes dados conclui-se que a liberação está sendo liderada essencialmente por difusão através da matriz polimérica. Assim, quando a matriz se retrai o fármaco não é mais liberado e a concentração de fármaco mantém-se constante. Quando a matriz é adicionada em tampão 9,8 não se observa liberação do fármaco em solução mesmo após 2h.

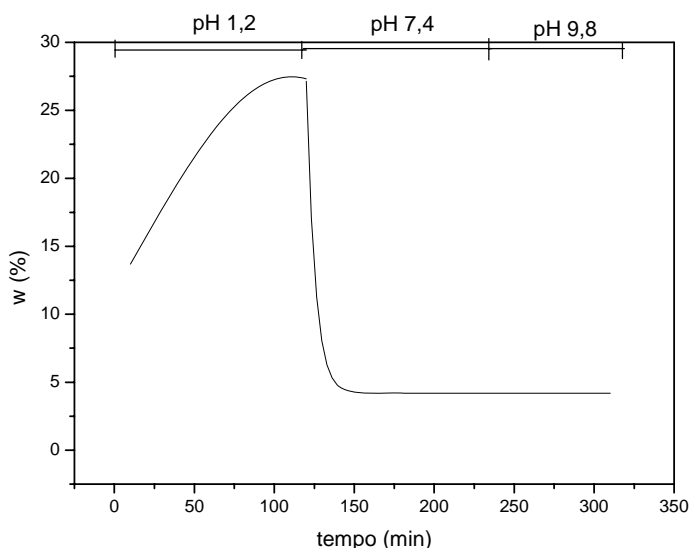


Figura 37. Intumescimento seqüenciado da matriz CPE 3 (40:60 QT:GCM1).

O acompanhamento da variação de diâmetro da matriz polimérica com o tempo e pH também mostrou claramente a influência do intumescimento da matriz na liberação do fármaco. A Figura 38 ilustra a variação do diâmetro (normalizado em relação ao tamanho original) em função do tempo. A expansão da matriz polimérica é rápida, sendo observado que o tamanho da esfera triplica após 5 min em pH 1,2 (Fig. 38). Resultado que explica a liberação rápida do fármaco neste pH. A contração máxima acontece após 30 min em pH 7,4, o que está de acordo com o tempo necessário para estabilizar a liberação do fármaco em pH 7,4.



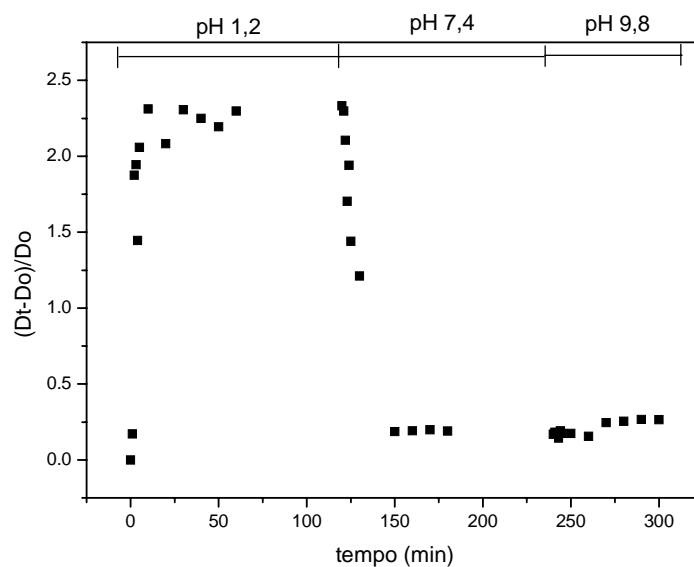


Figura 38. Cinética de intumescimento para esfera de CPE 3 (QT:GCM1 40:60) reticulado com epicloridrina.

A alta velocidade de intumescimento em pH 1,2 explica o mecanismo não-Fickiano encontrado para as matrizes, sugerindo que o fenômeno determinante no processo inicial de liberação de diclofenaco a partir da matriz reticulada de CPE QT:GCM é o processo de difusão do fármaco dentro da matriz e relaxação das cadeias dos polissacarídeos.

## IV.2 Géis de quitosana reacetilada/goma do cajueiro

### IV.2.1 Caracterização dos géis

#### IV.2.1.1 Grau de acetilação dos géis

O grau de acetilação da quitosana determinado por IV e titulação potenciométrica foi de 85%. A massa molar viscosimétrica foi de  $M_v = 1,5 \times 10^5$  g/mol.

O grau de acetilação dos géis foi determinado por espectroscopia na região do infravermelho, segundo método proposto por Moore e Roberts (1980), no qual a percentagem de grupamentos amina acetilados é dada por:

$$GA = A_{1655}/A_{3450} \times 100/ 1.33 \quad (17)$$

onde  $A_{1655}$  and  $A_{3450}$  são as absorbâncias de amida I e hidroxilas, respectivamente. O valor de 1,33 corresponderia a quitosana completamente *N*-acetilada.

A Figura 39 mostra os espectros de IV dos polissacarídeos de origem e géis reacetilados. Para os géis a média do grau de acetilação (GA) foi de  $68,2 \% \pm 2.4$ .

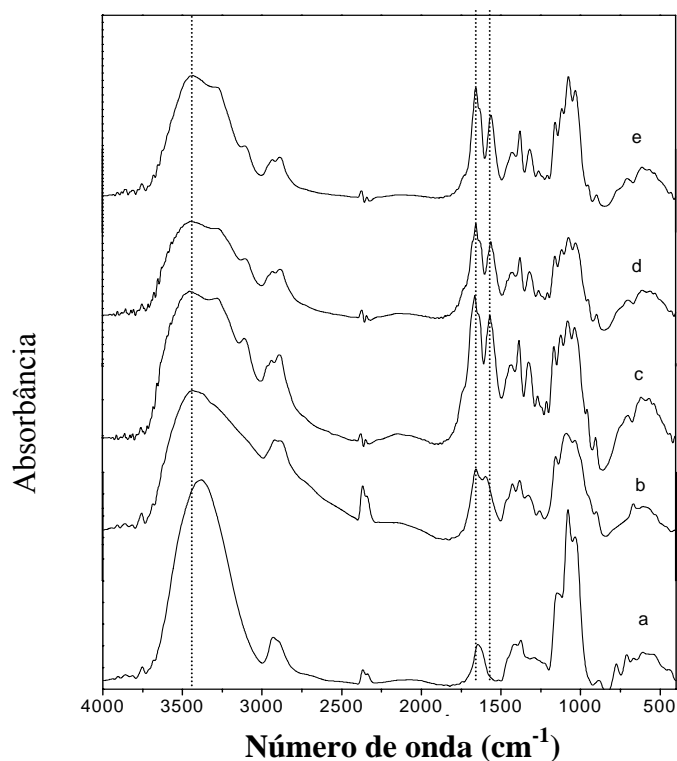


Figura 39. Espectros na região do infravermelho de (a) GC; (b) QT; (c) QT gel; (d) QT/GC 2:1; (e) QT/GC 1:2.

#### IV.2.1.2 Difração de Raio-X

A Figura 40 mostra os espectros de difração de raio-X para a quitosana, goma do cajueiro e géis reacetilados. A quitosana (Fig. 39a) mostra difração em  $10,3^\circ 2\theta$  a qual é atribuída aos cristais hidratados de quitosana, outro em  $19,8^\circ 2\theta$  atribuído ao plano cristalino ( $110$ ) e em  $21,8^\circ 2\theta$  correspondente ao plano cristalino ( $101$ ) [Carlstrom, 1957; Ogawa e Toshifumi 1993; Prashanth, Kittur e Tharnathan 2002], e o sinal amorfo em  $20,8^\circ 2\theta$ .

Após a reacetilação, os difratogramas dos géis são similares ao da quitina. Os géis exibem uma difração em  $9,2^\circ 2\theta$  (Fig. 39b). Esta é característica do plano de difração ( $020$ ) de cristais anidros da forma  $\alpha$ -quitina [Carlstrom, 1957; Ogawa e Toshifumi 1993]. Com o aumento da concentração de goma do cajueiro a intensidade da difração em  $2\theta$  de  $9,2^\circ$  diminui, o que pode ser consequência do aumento de regiões amorfas provenientes da goma do cajueiro.

O grau de cristalinidade  $X$  foi calculado de acordo com a Equação 18 (equação de Hermans-Weidinger) [Zhang e col, 2000]:

$$X(\%) = \left\{ K \times \frac{I_c}{(I_c + I_a)} \right\} \times 100 \quad (18)$$

onde  $I_c$  é a intensidade integrada dos picos cristalinos e  $I_a$  é a intensidade integrada do pico na região amorfa ( $20,8^\circ 2\theta$ ). As intensidades dos picos cristalinos e amorfo foram obtidos por deconvolução dos picos e subsequente cálculo das áreas.

O valor de  $X$  usando a equação (18) foi obtido para as amostras de QT, QT gel, QT:GC 2:1 e QT:GC 1:2 (Tabela 11). Estes resultados revelam que o aumento da concentração de GC provoca um decréscimo na cristalinidade do gel.

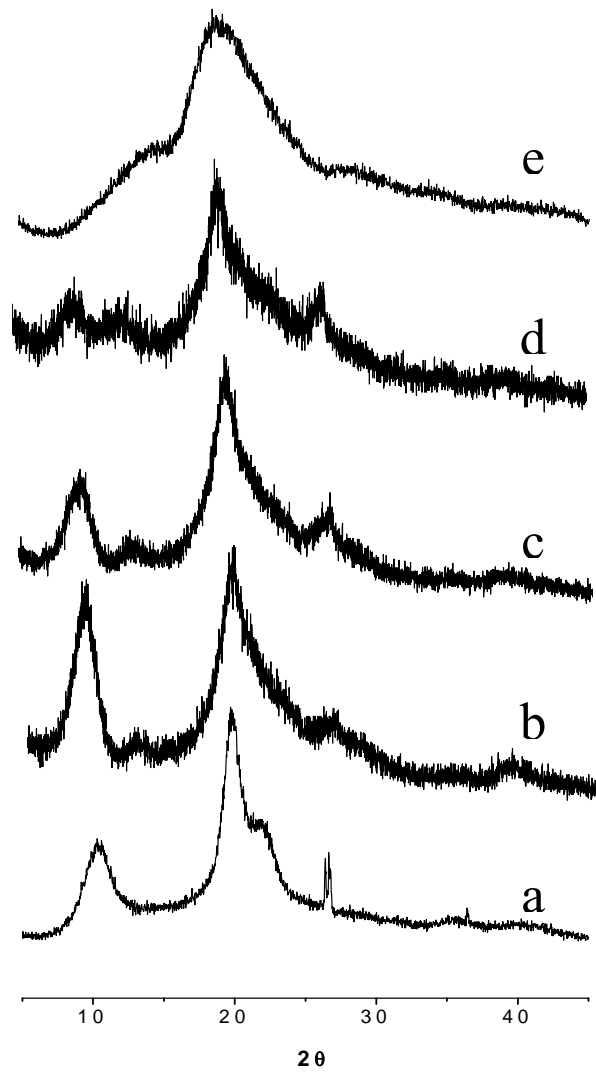


Figura 40. Difração de raio-X de: (a) QT; (b) QT gel; (c) QT/GC 2:1; (d) QT/GC 1:2; (e) GC.

Tabela 11 . Grau de cristalinidade obtido por deconvolução dos picos de difração.

Índice de cristalinidade (%)			
QT	QT gel	QT:GC 2:1	QT:GC 1:2
69,5	57,6	48,8	31,0

### IV.2.1.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A Figura 41 mostra as transições detectadas nas curvas de DSC para a quitosana, goma do cajueiro e géis reacetilados.

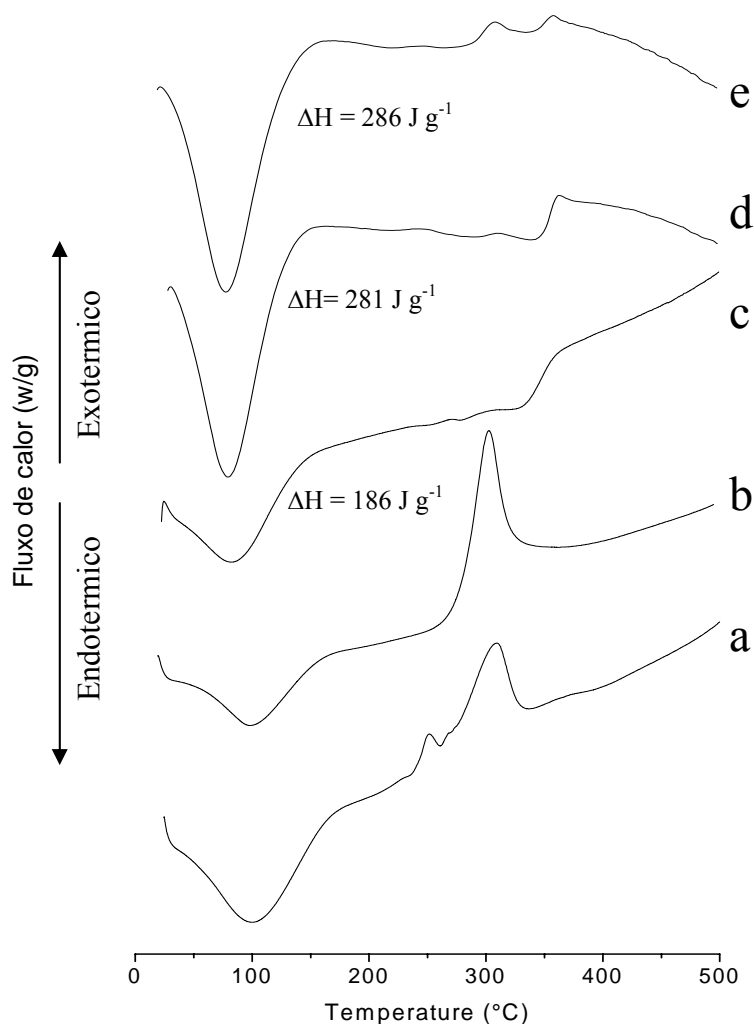


Figura 41. Curvas de DSC: (a) GC; (b) QT; (c) QT gel; (d) QT/GC 2:1; (e) QT/GC 1:2.

As curvas para os géis reacetilados são bastante semelhantes a de quitina [Kittur e col., 2002]. O primeiro evento registrado para todas as amostras foi um largo pico endotérmico na região de 36-129°C. Polissacarídeos no estado sólido apresentam grande afinidade por água, pois sua estrutura desordenada facilita a hidratação [Kittur e col., 2002].

A análise das curvas revela que existe diferença na área e temperatura dos picos endotérmicos mostrando que os géis apresentam diferentes afinidades com a água. O aumento de  $\Delta H$  com o aumento de GC pode estar relacionado ao maior número de grupos polares na estrutura devido à goma do cajueiro.

O segundo evento registrado foi um largo pico exotérmico, associado a decomposição do polissacarídeo. O pico é deslocado para temperaturas maiores concomitantemente com o decréscimo da área após a acetilação e o aumento de GC na estrutura.

#### *IV.2.1.4 Análise Termogravimétrica (TGA)*

As curvas termogravimétricas são mostradas na Figura 42, quitosana e géis mostram duas etapas de decomposição. Segundo Tirkistani (1998) a decomposição de quitina e quitosana resulta na formação de ácido fórmico e acético, como também de ácidos graxos de baixa massa molar como produto da degradação da cadeia principal. A goma do cajueiro se decompõe em três etapas, provavelmente devido sua estrutura extremamente ramificada. A etapa de evaporação de água está na faixa de 25-200 °C e a  $T_m$  do 2º pico de decomposição em torno de 307 °C.

Em atmosfera de nitrogênio observa-se que o gel QT (261,4 °C) reacetilado apresenta temperatura inicial de decomposição maior que os géis QT:GC (256,0 °C). Por outro lado, a temperatura final para o evento é praticamente a mesma para os três géis, 365,5 °C e 363,9 °C para QT gel e QT:GC, respectivamente. Os géis de QT/GC apresentam quantidade de resíduos maior que QT gel a 600°C. O deslocamento para temperaturas mais baixas no início da decomposição para os de QT:GC pode estar associado a maior desorganização da estrutura do gel com aumento do teor goma do cajueiro.

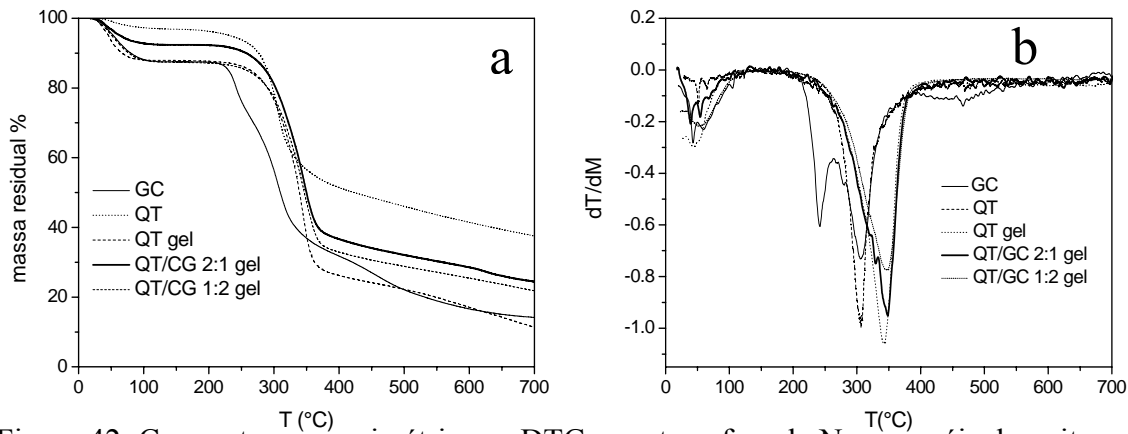


Figura 42. Curvas termogravimétricas e DTG em atmosfera de N<sub>2</sub> para géis de quitosana e quitosana:GC.

#### IV.2.1.5 Intumescimento

A Figura 43 mostra o intumescimento de QT gel e QT:GC géis em água e em tampões pH 2, 7,4 e 9,8. O grau de intumescimento de QT gel em água está dentro da mesma faixa observada para géis reacetilados de quitosana previamente preparados por Paula, Gomes e de Paula (2002), isto indica que o intumescimento não parece ser afetado pelo grau de acetilação, desde que, o grau de acetilação médio determinadas para os géis obtidos por Paula, Gomes e de Paula, 2002) foi de  $47,6 \pm 2,4$ , enquanto que os géis estudados aqui apresentam grau de acetilação de  $68,2 \pm 2,4$ . A adição de GC aos géis provoca um leve aumento na capacidade de absorção de água.

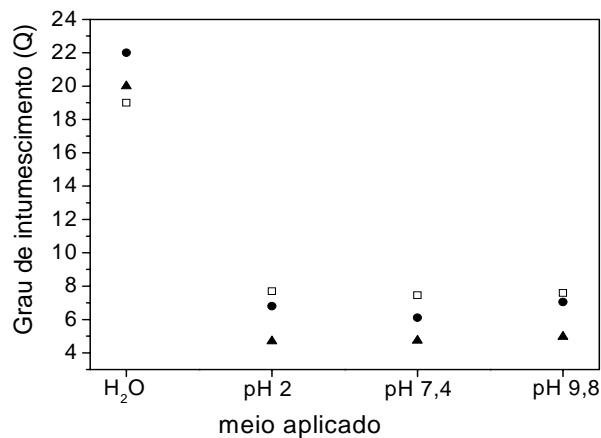


Figura 43. Grau de intumescimento de QT e QT/GC géis em água e soluções diferentes em diferentes pH. (□) QT; (●) QT:GC 2:1; (▲) QT:GC 1:2.

Em tampão fosfato o intumescimento diminui em relação ao intumescimento em H<sub>2</sub>O. O decréscimo de  $Q$  foi menor do que o observado por Paula, Gomes e de Paula (2002). No entanto, neste trabalho foram utilizados diferentes tipos de íons e força iônica na preparação dos tampões, assim diferenças no comportamento são certamente esperadas.

A presença de fosfato no meio pode afetar fortemente o intumescimento de géis de quitosana devido à possibilidade de formação de regiões reticuladas de QT com íons fosfato. Matrizes de quitosana reticuladas com ânions como sulfato, citrato e tripolifosfato têm sido proposta na literatura como materiais com potenciabilidade para aplicação na indústria farmacêutica [Shu e Zhu, 2002b; Shu, Zhu e Song 2001; Kawashima e col., 1985; Shirashi, Imai T., Otagiri M., 1993, Berger e col., 2004b].

O aumento de CG provoca um decréscimo no intumescimento em relação a QT gel. (Figure 42).

#### *IV.2.1.6 Liberação controlada de cloridrato de pilocarpina (in vitro)*

A Figura 44 mostra a liberação de cloridrato de pilocarpina a partir de matrizes de QT gel e QT:GC géis. A liberação é similar para os três géis nos primeiros 100 min, quando aproximadamente 60% do fármaco é liberado. Acima deste tempo, a liberação parece ser afetada pela presença de GC nas matrizes, observando-se uma diminuição na taxa de liberação de pilocarpina no meio, com o aumento do teor de goma. Este efeito pode ser mais claramente observado na Figura 45, a qual mostra a liberação em 180 min para os três meios estudados. A liberação de cloridrato de pilocarpina em pH 2 foi maior para QT gel que para QT:GC géis. Neste pH os grupos amina no QT gel estão protonados, o que provoca a expansão da cadeia e conseqüente aumento da liberação em relação aos géis de QT:GC. A interação de grupamentos carboxilato com os grupamentos amina protonados pode provocar a agregação maior na cadeia, diminuindo a taxa de liberação. A percentagem de fármaco liberado diminui em torno de 12% na matriz de QT:GC em comparação a QT gel (Figura 45). Com o aumento do pH para 9,8, a liberação diminui para os três géis, o que pode estar associado à diminuição da solubilidade da pilocarpina no meio. A maior liberação foi observada em pH 7,4. Este comportamento pode ser conseqüência da interação fármaco-matriz e também do intumescimento da matriz. Gupta e col. (2001)



observaram que a solubilidade e o caráter ácido ou básico do fármaco afetam a liberação de acordo com o pH do meio.

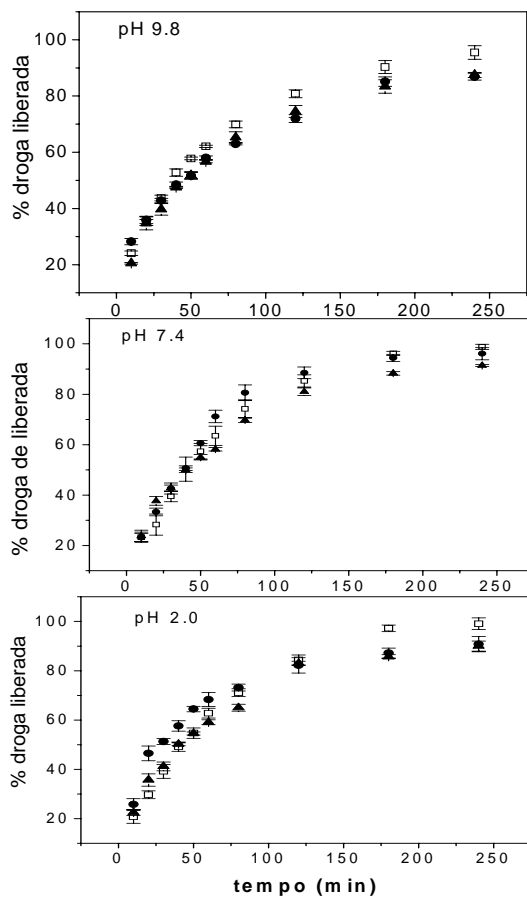


Figura 44. Liberação de pilocarpina em diferentes meios a 37°C. Os símbolos representam: QT gel (□); QT/GC 2:1 (●); QT:GC 1:2 (▲).

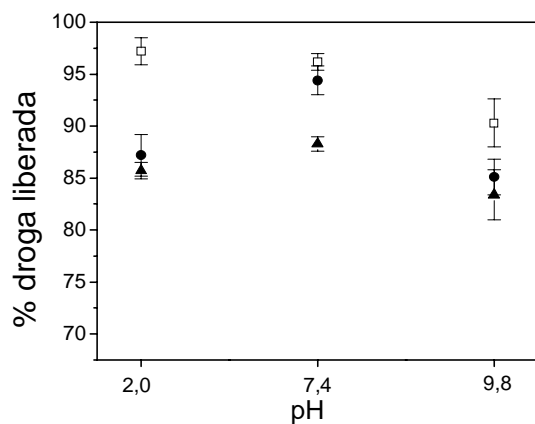


Figura 45. Percentagem de fármaco liberado em 180 min a partir de matrizes QT e QT:GC em diferentes meios. Os géis QT gel (□); QT:GC 2:1 (●); QT:GC 1:2 (▲).

Os dados de liberação controlada podem ser tratados pela equação semi-empírica proposta por Ritger e Peppas (1987) para sistemas poliméricos intumescidos. A Tabela 12 mostra o expoente difusional  $n$  para QT e QT:GC géis em diferentes valores de pH. A liberação de pilocarpina de matriz QT gel mostrou-se dependente do pH. Um mecanismo não-Fickiano foi observado para liberação em pH 2 e 7,4 para a matriz QT gel, enquanto que em pH 9,8 o mecanismo é Fickiano. Diversos sistemas intumescidos apresentam mecanismo de liberação por difusão [Saettone e col., 1992; Kumaresh e Tejraj, 2002]. A liberação de pilocarpina de matrizes de PVA/goma xantana; PVA/ácido hialurônico e PVA/hidroximetilcelulose também mostrou mecanismo de liberação por difusão (Fickiano), enquanto a liberação de matrizes PVA/carragenana ocorre por mecanismo não-Fickiano [Saettone e col., 1992]. As matrizes QT/GC mostraram mecanismo Fickiano, ou seja, controlado principalmente por difusão do fármaco através das cadeias.

Tabela 12 . Dados cinéticos da liberação de pilocarpina de matrizes QT gel e QT:GC géis.

pH	n			k		
	QT gel	QT/GC 2:1	QT/GC 1:2	QT gel	QT/GC 2:1	QT/GC 1:2
<b>2,0</b>	0,52	0,40	0,44	2,6	2,0	2,4
<b>7,4</b>	0,50	0,43	0,40	1,9	2,3	2,1
<b>9,8</b>	0,44	0,40	0,45	2,3	2,1	2,4

### IV.3- Géis de Goma do cajueiro oxidada/Quitosana

#### IV.3.1. Oxidação da Goma do Cajueiro com periodato e caracterização dos derivados

A percentagem de oxidação dos derivados de goma do cajueiro (GCOX) nas diferentes condições reacionais é mostrada na Tabela 13. Observa-se que o teor de grupamentos oxidados aumenta com o aumento da razão periodato/goma.

Tabela 13. Resultados da reação de oxidação da goma do cajueiro com  $\text{NaIO}_4$

Reação	Produto	Razão molar ( $\text{NaIO}_4/\text{G}$ )	Tempo de reação (h)	Rendimento (%)	% oxidação*
1	GCOX1	1:10	26	40,0	2,8
2	GCOX2	1:6	26	70,0	3,9
3	GCOX3	1:4	26	71,2	7,0
4	GCOX4	1:2	24	73,0	7,9
5	GCOX5	1:1	24	65,7	11,5
6	GCOX6	1:0,7	24	66,7	62,3

\* Percentagem determinada por titulação do ácido fórmico formado após a reação.

#### IV.3.1.1- Determinação da massa molar

Os resultados da massa molar obtido por GPC (Tabela 14) mostraram uma diminuição nos produtos oxidados em relação à goma do cajueiro com o aumento da percentagem de oxidação.

Tabela 14. Massa molar ponderal média ( $M_w$ ) para os produtos oxidados.

Amostras	$M_w$ ( $\text{g mol}^{-1}$ )*	% oxidação
GC	$3,2 \times 10^4$	-
GCOX1	$2,7 \times 10^4$	2,8
GCOX2	$3,3 \times 10^4$	3,9
GCOX3	$2,3 \times 10^4$	7,0
GCOX4	$1,1 \times 10^4$	7,9
GCOX5	$9,5 \times 10^3$	11,5
GCOX6	$6,0 \times 10^3$	62,3

A Figura 46 mostra a variação da massa molar com o aumento da percentagem de oxidação.

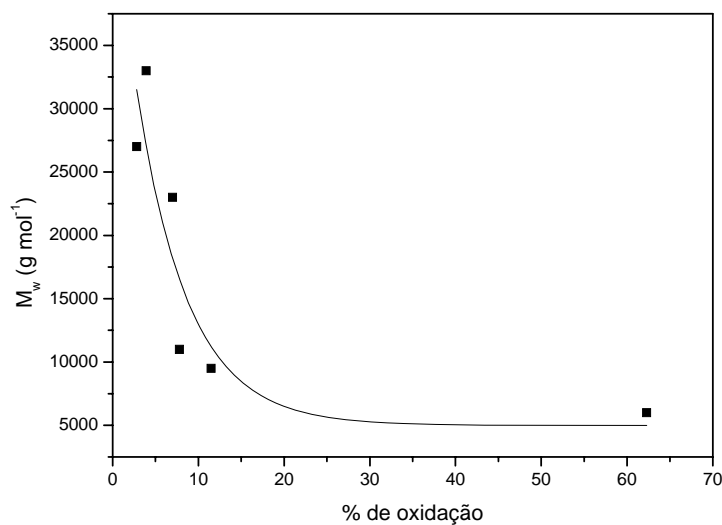


Figura 46. Variação da massa molar ponderal média ( $M_w$ ) com o aumento da percentagem de oxidação.

O aumento do teor de grupos oxidados reduz significativamente a massa molar do polissacarídeo, provavelmente devido à quebra de ligações glicosídicas das cadeias laterais.

#### IV.3.1.2 - Ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN-<sup>13</sup>C da goma do cajueiro e da goma oxidada (GCOX) após redução com borohidreto de sódio são mostrados na Figura 47. O espectro da goma do cajueiro (Fig.47a) é similar ao anteriormente publicado [de Paula, Heatley, Budd, 1998,] apresentando sinais de carbonos anoméricos de β-D-galactose (1→3) (104,4 ppm) e β-D-galactose (1→6) (105,3 ppm) e de α-D-glucose (101,7 ppm), α-L-arabinose (105,5 ppm); α-L-ramnose (101,1 ppm) e β-D- ácido glucurônico (103,6 ppm). Os sinais em 101,1 e 101,7 ppm, devido às absorções dos carbonos anoméricos da glucose e ramnose respectivamente, não foram detectados no espectro da goma oxidada (Figura 47B). Na região de carbonos do anel (C-2 a C-5; 80-70 ppm) e carbonos primários (68- 60 ppm) observa-se uma grande modificação no espectro da amostra oxidada. Os carbonos de C-2 a C-5 são deslocados para regiões de menor deslocamento químico.

Na oxidação da pululana com periodato de sódio [Brunell, Schacht, 1993], os autores mostraram que após a redução do grupamento aldeído ocorreu um comportamento similar, onde o carbono anomérico (C-1) com absorção em 100,6 ppm foi deslocado para 103,6 ppm e que os sinais da região dos carbonos C-2 a C-5, antes entre 70 – 74 ppm, foram deslocados para 61 – 63 ppm.

Como mostrado na introdução, a goma do cajueiro possui uma cadeia principal de β-D-galactose (1→3) e a oxidação por periodato não é permitida nesta cadeia devido à ausência de hidroxilas vicinais. Portanto, a oxidação deve estar ocorrendo nos pontos de ramificações onde existem unidades de galactose, glucose, arabinose, ramnose e ácido glucurônico.

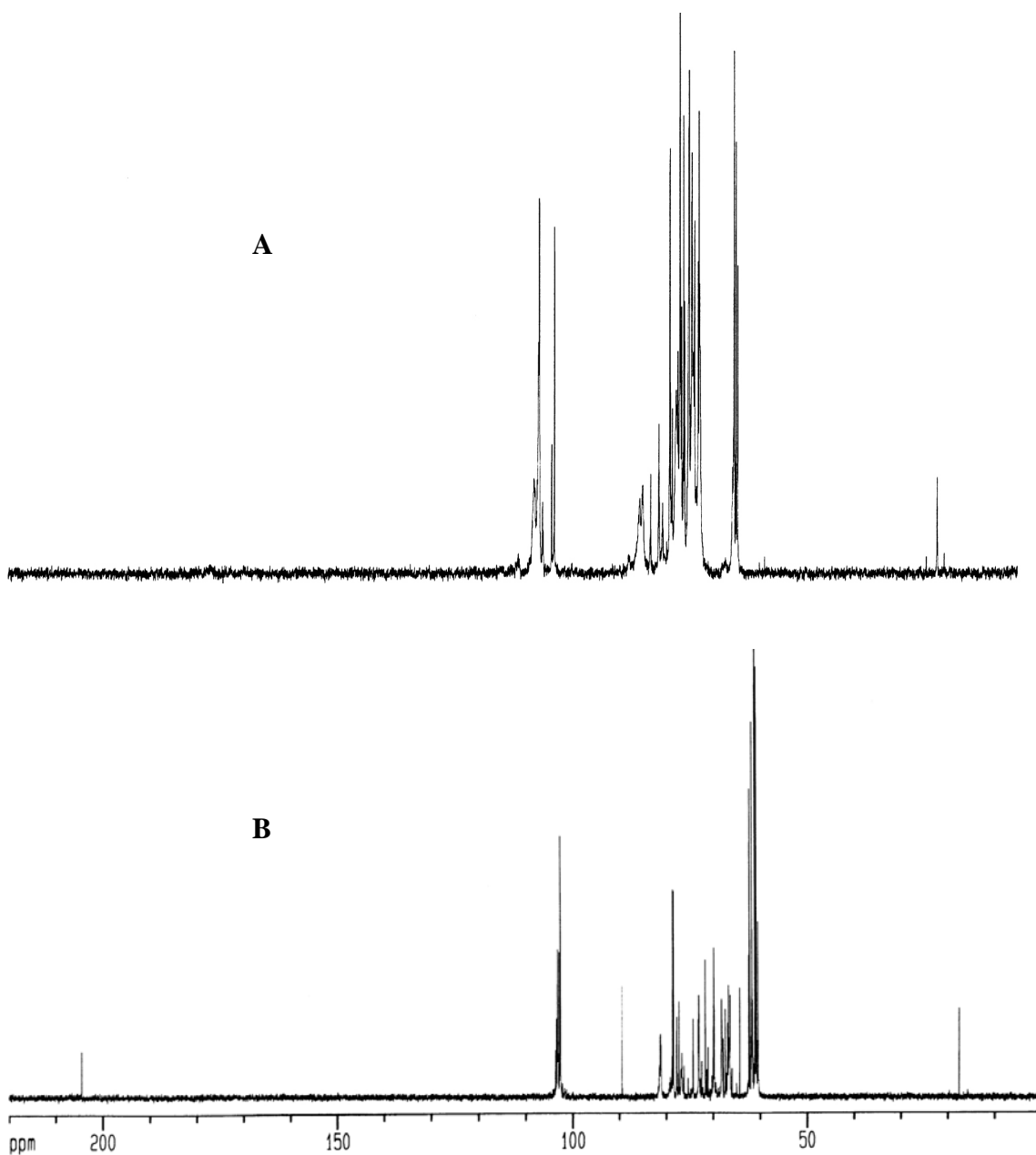


Figura 47. RMN  $^{13}\text{C}$  BB em  $\text{D}_2\text{O}$  da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B).

Na Figura 47B a ausência dos sinais em 101,1 e 101,7 ppm parece indicar que a glucose e ramnose sofreram oxidação.

A redução dos grupos aldeído com borohidreto de sódio levaria à formação de grupos  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , com isso aumentando o número de sinais na região de carbonos primários. Com a finalidade de verificar se o aumento do número de sinais na região de menor deslocamento químico era realmente devido à formação de grupos  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , um

experimento de DEPT 135 foi realizado (Figura 48). Neste experimento os carbonos metilênicos mostram amplitude oposta para os carbonos metílicos e metínicos. Na amostra oxidada (Figura 48B) o número de sinais devido aos carbonos metilênicos aumentou em relação à goma do cajueiro, confirmando a formação de grupos  $-CH_2OH$ .

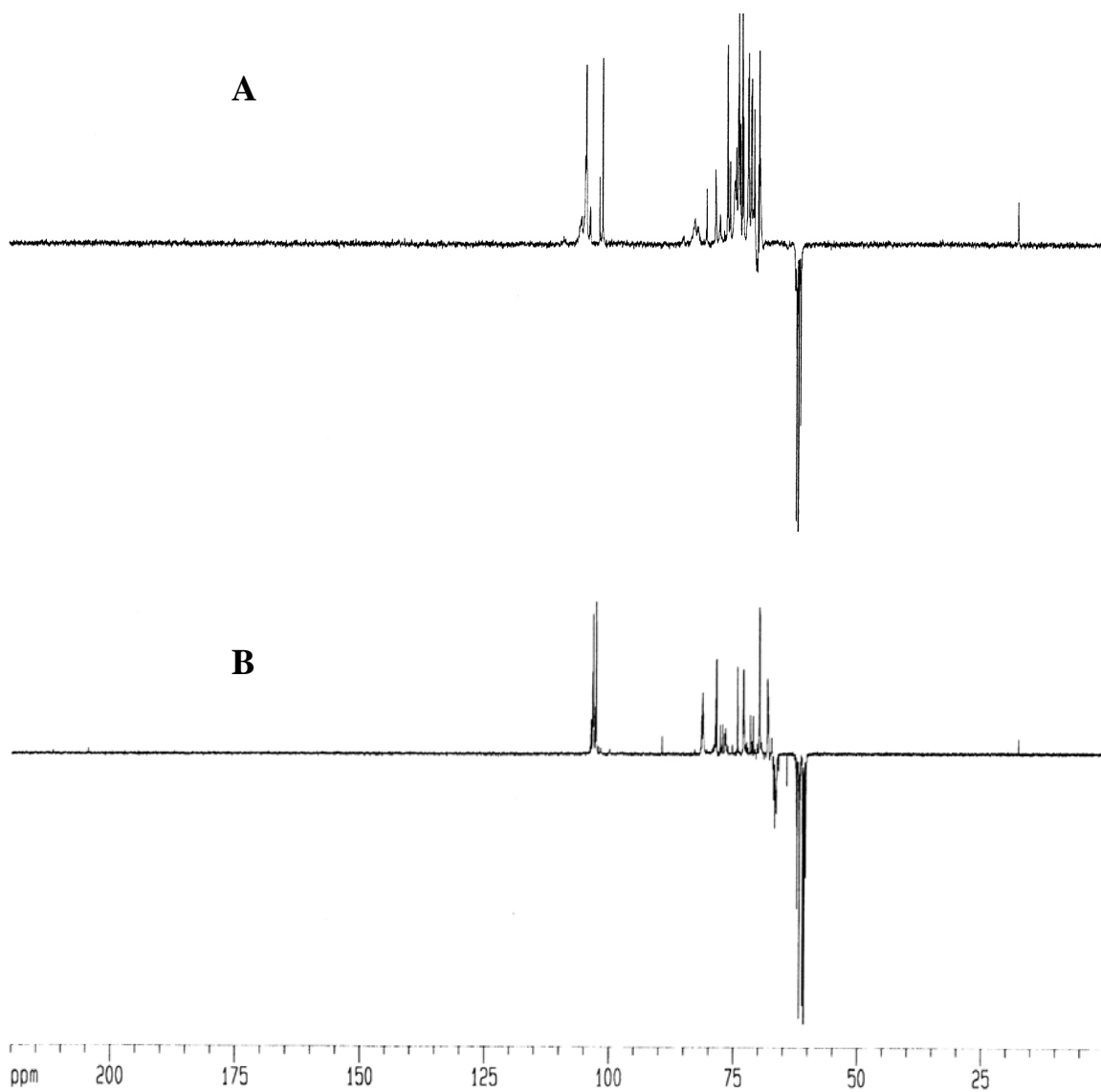
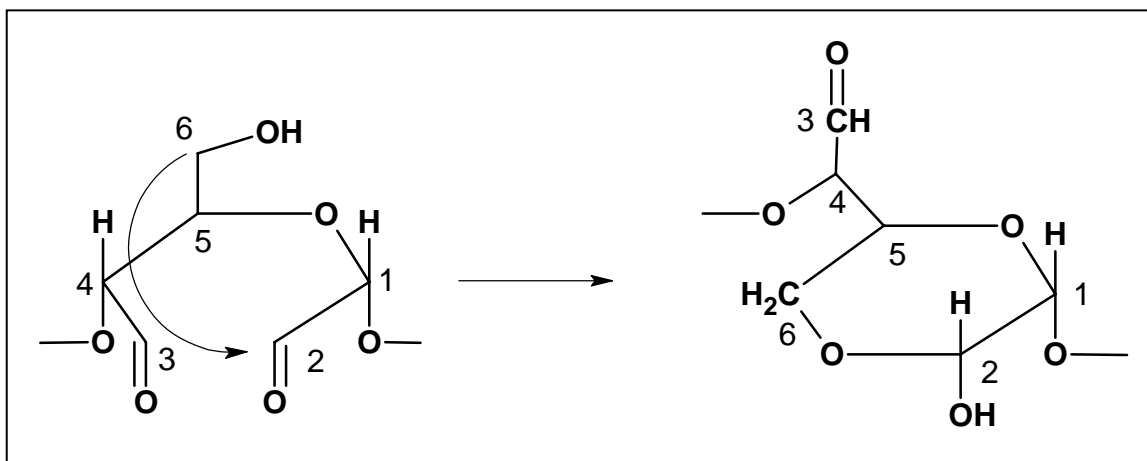


Figura 48. DEPT 135 em  $D_2O$  da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da goma oxidada (Figura 47B) também são observados dois picos bem distintos em 89,5 e 204,5 ppm. O sinal em 204,5 ppm é atribuído aos grupos aldeídicos não reduzidos pelo boroidreto de sódio.

Brunell e Schacht [1993] sugerem que os grupos não reduzidos podem sofrer ciclização interna formando hemiacetais intra-residuais (Figura 49). A formação desta estrutura na pululana apresenta um novo sinal entre 88 – 94 ppm.



**Figura 49.** Formação do Hemiacetal intra residual [Brunell e Schacht, 1993].

O espectro de HMQC (Figura 50) mostra a correlação entre  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  a uma ligação na região dos anoméricos para a goma do cajueiro e goma oxidada e reduzida. No espectro da goma do cajueiro pode-se observar que os sinais em 5,10 ppm e 4,84 ppm correlacionam-se com os carbonos anoméricos em 101,1 e 101,7 ppm (C-1 da glucose e ramnose) respectivamente. Após a oxidação/redução da goma, o sinal em 5,10 ppm é deslocado para 5,18 ppm e agora correlacionado com os sinais em 102,7 e 89,5 ppm. Isto indica que a glucose foi oxidada, que parte dela ficou na forma de álcool após a redução (correlação com 102,7 ppm) e a outra na forma de um hemiacetal intra-residual (correlação com 89,5 ppm). O sinal em 4,84 foi deslocado para 4,82 ppm e faz correlação com o sinal em 103 ppm, sugerindo que a ramnose foi oxidada e reduzida a álcool.



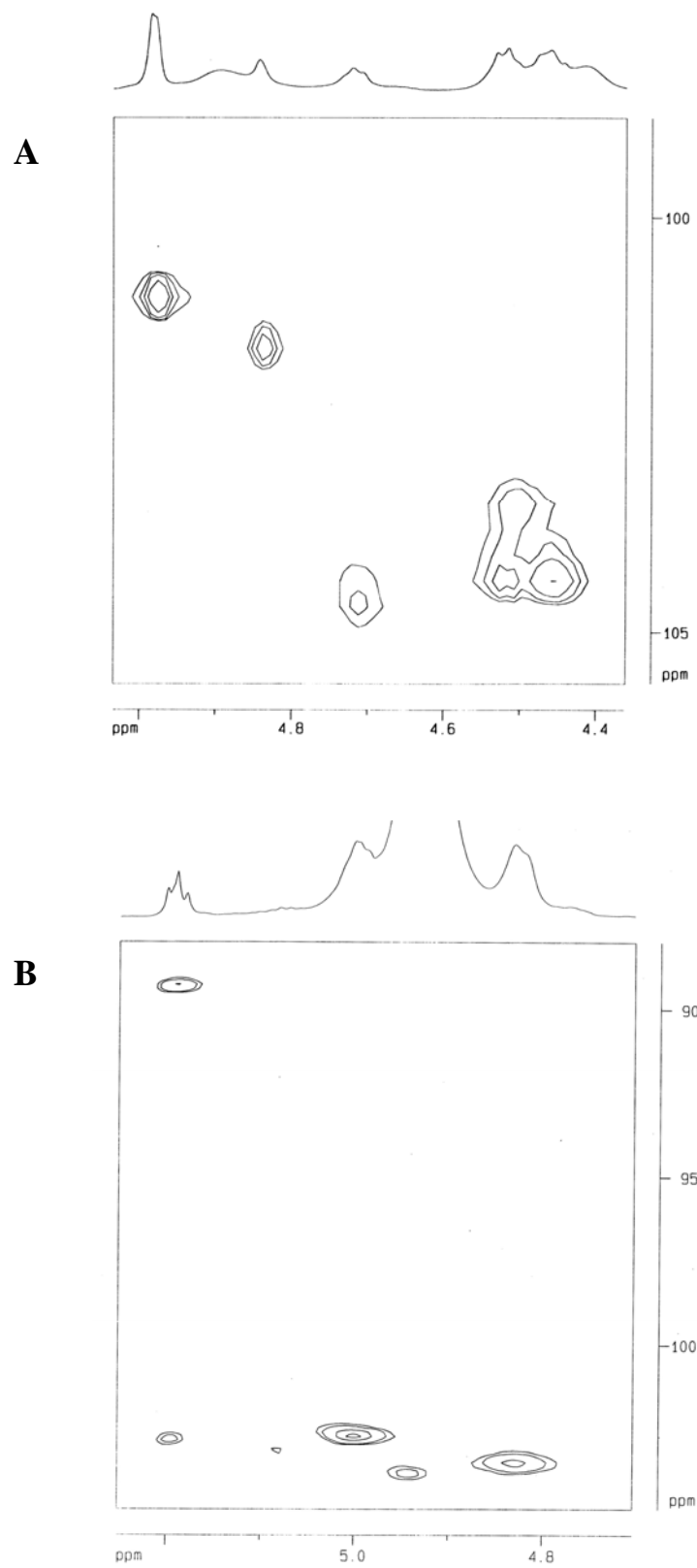


Figura 50. HMQC em D<sub>2</sub>O da goma do cajueiro (A) e da GCOX (B) (Região de anômeros).

### IV.3.1.3 Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas em atmosfera de ar sintético para os produtos oxidados da goma do cajueiro são mostradas na Figura 51. Todos os derivados são menos estáveis que a goma do cajueiro nativo. Isto indica que a oxidação diminui a estabilidade térmica no início do processo de degradação, devido à labilidade dos grupos aldeídos.

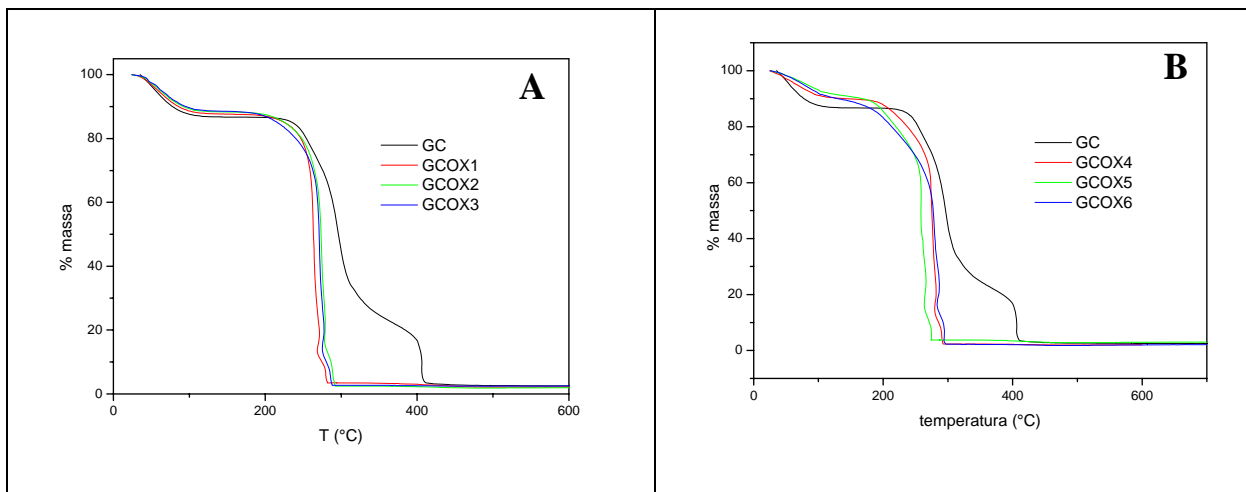


Figura 51. Curvas termogravimétricas de cajueiro e cajueiro oxidado: a) reações de 1-3 ; b) reações de 4-6.

As temperaturas para o início ( $T_i$ ), final ( $T_f$ ) e máxima ( $T_m$ ) são mostradas na Tabela 15. Os resultados das curvas de TGA indicam que todos os derivados oxidados apresentam degradação quase completa entre 220 e 320 °C. Observa-se que a percentagem de perda de massa a 600°C é bastante semelhante para todas as amostras. Resultado diferente do observado para os experimentos com a goma guar (Varma e col., 1997), nos quais observou-se que o aumento do grau de oxidação apresenta diminuição na percentagem de perda de massa.

Tabela 15 . Dados das curvas de TGA para a goma do cajueiro oxidado em atmosfera de ar sintético 10°C/ min.

Amostra	% de oxidação	TGA			T <sub>m</sub>		% perda de massa		Resíduo a 600 °C
		Início (onset)	I (220-280 °C)	II (260-350 °C)	III (400-450°C)	220°C	300 °C		
GC	-	238	243	295	406	13,8	68,6	2,5	
GCOX1	2,0	230	263	-	-	14,4	96,6	1,1	
GCOX2	3,0	226	273	-	-	14,2	97,7	1,9	
GCOX3	7,0	223	270	-	-	13,8	97,3	2,4	
GCOX4	8,0	206	275	-	-	15,8	97,7	2,0	
GCOX5	11,0	190	258	-	-	20,0	96,7	2,9	
GCOX6	62,0	186	280	-	-	21,8	97,8	1,5	

A Figura 52 mostra a relação entre o grau de oxidação e a temperatura inicial de decomposição. Observou-se que a temperatura inicial de decomposição diminui com o aumento do grau de oxidação, sendo significativa a diferença do 1-4 (24 °C), como também diminui mais significativamente com graus de oxidação maiores que 8 nos derivados da goma do cajueiro oxidada.

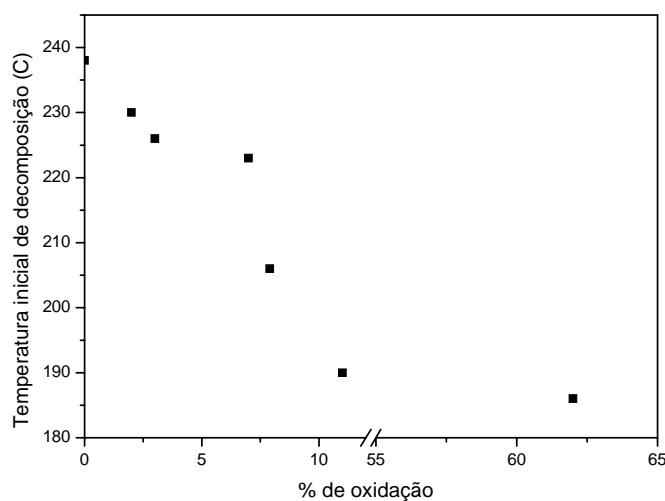


Figura 52. Relação entre a temperatura inicial (atmosfera de ar sintético, 10°C/min) de decomposição e a percentagem de oxidação dos derivados da goma do cajueiro.

A Figura 53 mostra as curvas de TGA em atmosfera de  $N_2$  para os derivados oxidados de 4-6. O perfil das curvas de degradação dos derivados é bastante similar ao da goma do cajueiro. As curvas de DTG mostram mais claramente a mudança no início da decomposição para os derivados oxidados (Figura 53B). O evento inicial com  $T_{max}$  em 240 °C, que aparece para a goma do cajueiro (GC), é deslocado para temperaturas mais baixas, 204 °C, para os derivados oxidados.

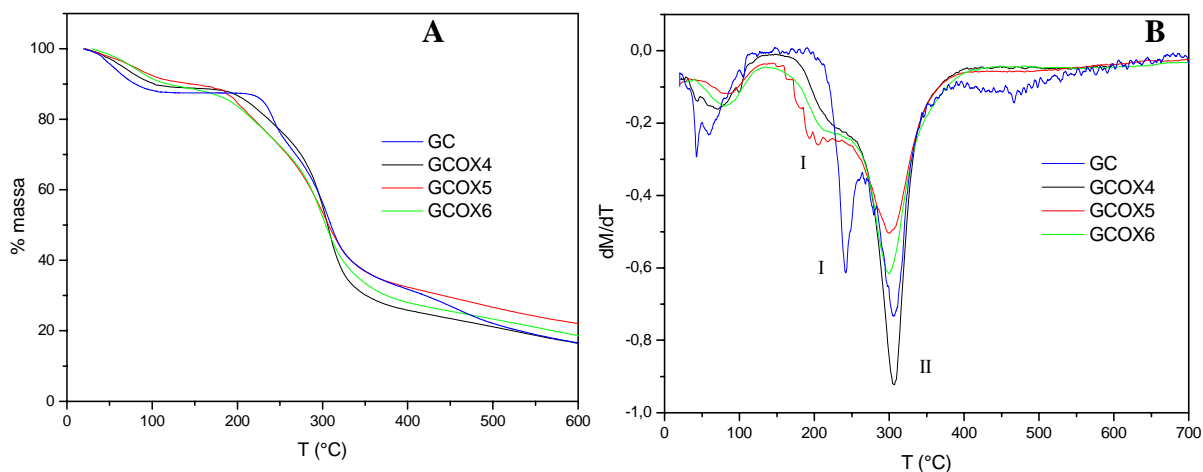


Figura 53. Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) para derivados oxidados de 5-7 em atmosfera de  $N_2$  a 10°C/min.

A Tabela 16 mostra os dados obtidos a partir das curvas de TGA em atmosfera de nitrogênio. Observa-se que o final da degradação em atmosfera inerte está acima de 600 °C, enquanto que em atmosfera oxidante está próximo de 450 °C. A % de perda de massa em atmosfera oxidante (96% em 320°C) é maior que em  $N_2$  (72% em de 320°C) mesmo em temperaturas mais baixas. Estes resultados mostram que os grupamentos adicionados são bastante reativos.

Tabela 16. Dados TGA em atmosfera de N<sub>2</sub> a 10°C/min para a goma do cajueiro e derivados oxidados.

Amostra	% de oxidação	TG		Tm		% perda de massa			resíduo 600°C (%)
		Início (onset)	Final (endset)	I (220-300 °C)	II (300-310°C)	220	320	500	
GC	0	235	>600	241	307	13,3	56,1	83,4	16,6
GCOX4	7,9	193	324	-	307	16,6	61,5	78,9	16,1
GCOX5	11	209	349	208	300	20,1	55,7	76,7	22,1
GCOX6	62	206	357	199	300	20,6	58,8	77,0	18,6

#### *IV.3.2 Formação do complexo quitosana-cajueiro aldeído funcionalizado*

A formação do gel de quitosana com a goma do cajueiro oxidada (aldeído funcionalizada) é facilmente observada logo após a mistura, no entanto somente após 24 h observou-se a completa geleificação, verificada pelo aumento de volume de gel no recipiente reacional.

A taxa de formação de géis de escleroglucana aldeído funcionalizada é máxima próximo do pH 7, devido ao balanço entre alguns efeitos competitivos, como a concentração de grupos amina livres na quitosana na faixa de 4,5 e 6,5 (pK<sub>a</sub> do grupamento amina) e a solubilidade da quitosana, decrescente com o aumento do pH.

A mistura foi realizada na razão molar de 2:1; 1:1 e 1:2 de [NH<sub>2</sub>]:[CHO]. Quando misturados observou-se a formação de precipitado gelatinoso, semelhante ao precipitado de quitosana em pH acima de 7.

Para verificar se o gel formado da mistura de GCOX com quitosana não seria resultado apenas da precipitação de quitosana em meio básico foi feito um ensaio de solubilidade em meio ácido. Observou-se que, ao contrário do precipitado de quitosana, os precipitados obtidos da mistura QT:GCOX não foram solúveis em meio ácido. Este resultado indica que o precipitado obtido da mistura não é apenas quitosana precipitada, mas sim o complexo formado via reação Base de Schiff.

A espectroscopia na região do infravermelho (Figura 54) foi utilizada para evidenciar a formação de ligações C=N. A absorção em  $1597\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação angular de N-H, aparece no precipitado de QT bem definida, ao contrário do observado para o gel de QT/GCOX. Esse resultado pode ser atribuído à diminuição de grupos N-H livres na quitosana após a reticulação com os grupos aldeídos de GCOX [Tirkistani, 1998].

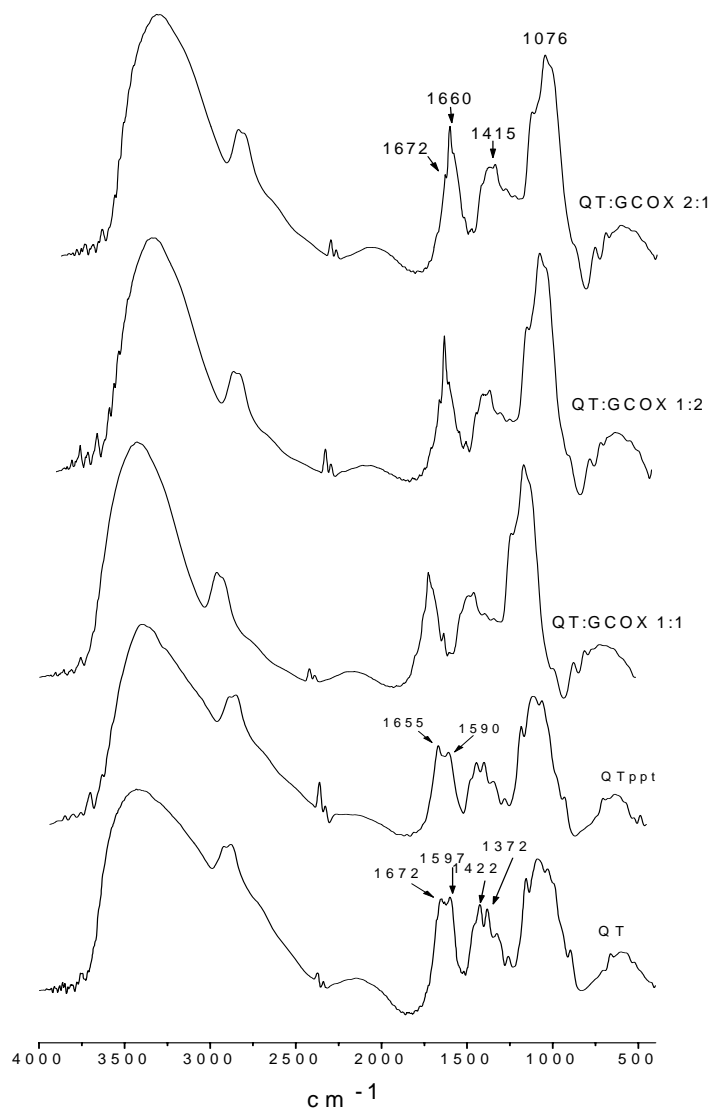


Figura 54. Espectros de quitosana e quitosana precipitada em meio básico e dos complexos QT:GCOX.

#### IV.3.2.1- Análise Termogravimétrica

O estudo por análise termogravimétrica mostra que a formação do gel não afeta o número de etapas de decomposição, pois as curvas apresentam o mesmo perfil de decomposição para quitosana precipitada e QT:GCOX4 (Figura 55). No entanto verificou-se que a temperatura inicial de decomposição é menor para os derivados (293, 282 e 283 °C para QT:GCOX 2:1, 1:1 e 1:2 respectivamente) do que para a quitosana (295°C). Comportamento similar foi encontrado para outras bases de Schiff de quitosana, e esse resultado foi atribuído à ausência do efeito estabilizador de NH<sub>2</sub> livre em relação à base de Schiff (Stokke, 1995)

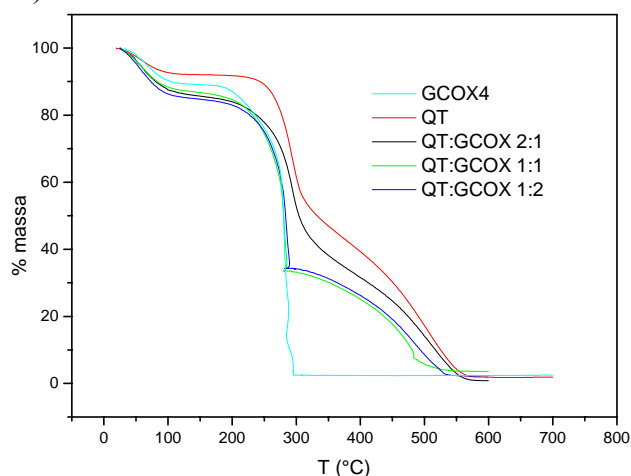


Figura 55. Curvas termogravimétricas para a quitosana e complexos QT:GCOX4.

Os resultados de termoanálise associados ao resultado de solubilidade indicam que ocorreu a formação da base de Schiff de cajueiro aldeído funcionalizado com quitosana.

#### IV.3.2.2. Aplicação em sistema de liberação controlada de DCS

O resultado do intumescimento mostrou que a capacidade de absorção de água pelo gel é comparável à absorção de água pelos géis de quitosana reacetilada/goma do cajueiro e dos complexos de quitosana e que o gel intumescer mais em meio ácido que básico. A absorção de água em pH 1,2 foi de 8% em relação a massa inicial, enquanto que em pH 7,4

e 9,8, a capacidade de intumescimento é cerca de 4%, indicando que deve existir ainda grupamentos amina livres para serem protonados e expandir a rede, enquanto que em meio básico ocorre ainda a retração da cadeia devido a presença de grupamentos  $\text{NH}_2$ .

A Figura 56 mostra a liberação de DCS seqüenciada, observa-se que percentagem de fármaco liberado em meio ácido é praticamente zero. Enquanto que no pH do meio fisiológico (7,4) a percentagem de liberação aumenta até 16% de fármaco. A percentagem de fármaco ainda é baixa mostrando que a fármaco pode estar mais retida na matriz devido a reticulação, quando compara aos complexos polieletrólíticos. A presença de grupamentos  $-\text{NH}_2$  no fármaco pode favorecer a interação com os grupamentos aldeídicos ainda presentes na GCOX.

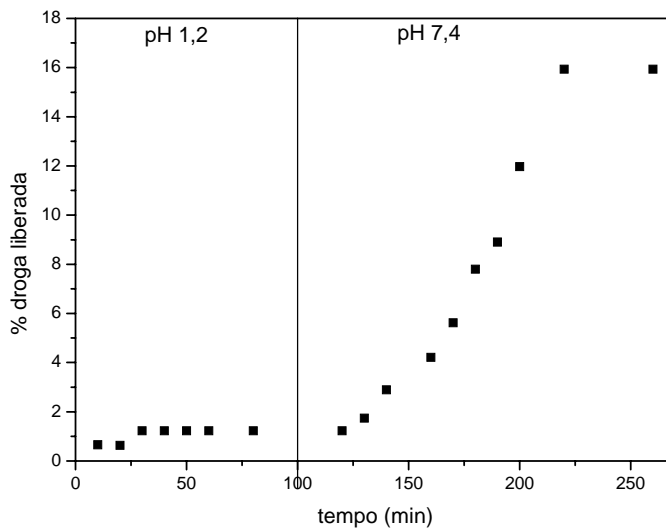


Figura 56. Liberação seqüenciada de DCS utilizando matriz QT/GCOX4.



## ***V. Conclusão***

Géis de goma do cajueiro e/ou derivados com quitosana foram sintetizados por três diferentes rotas: complexação polieletrólítica, reacetilação da quitosana e formação da base de Schiff.

Os géis por complexação polieletrólítica (CPE) da goma do cajueiro carboximetilada com quitosana foram obtidos em razão não estequiométricas de cargas. A razão  $[\text{NH}_3^+]/[\text{COO}]$  nos géis depende do grau de substituição da goma carboximetilada e da ordem de adição dos políons durante a complexação. Os géis são solúveis em meio ácido. A liberação de fármacos (DCS e DCK) nestas matrizes a  $\text{pH} > 7$  é rápida e ocorre via mecanismo não-Fickiano. A reticulação do gel com epícloridrina permite sua utilização em meio ácido e a liberação controlada do fármaco.

A reacetilação da quitosana possibilitou a formação de géis físicos de quitosana resistentes à dissolução em meio ácido e com capacidade de intumescer tanto em meio ácido quanto básico. A adição da goma do cajueiro na preparação do gel altera a cristalinidade dos géis.

A capacidade de absorção de água dos géis quitosana reacetilada/goma do cajueiro diminui em meio tamponado em relação à quitosana o que parece resultado da interação quitosana/goma do cajueiro (QT/GC).

Os géis apresentaram capacidade de liberação controlada de até 100 % do fármaco em 200 min, e maior capacidade de retenção em meio ácido. Géis de QT/GC mostraram maior capacidade de retenção do fármaco indicando cadeias mais interpenetradas e maior dificuldade de liberação do medicamento.

Derivados aldeídos funcionalizados da goma do cajueiro foram obtidos com percentagem de oxidação de 2 até 60%. Os derivados mostraram menor estabilidade térmica em relação a goma do cajueiro em atmosfera de ar sintético e nitrogênio, indicando a presença de grupamentos mais lábeis.

Os resultados de ressonância magnética nuclear mostraram a formação de hemiacetais intra-residuais com a proteção de um dos grupamentos aldeídicos de reações futuras.

Os derivados formam géis reticulados com quitosana via reação de Schiff com capacidade de intumescer até 8 vezes o seu peso em água.

A formação do gel pode ser evidenciada pela diminuição da estabilidade térmica em relação a quitosana, indicando a formação de ligações C=N, e também resistência à dissolução em meio ácido.

Teste de liberação controlada seqüenciada de DCS utilizando matriz GCOX mostram que não ocorre liberação do fármaco em pH 1,2 e que o fármaco é liberada controladamente em pH 7,4, sugerindo que esta poderia ser utilizada em sistemas para liberação de fármacos sítio dirigidas.

Os resultados preliminares de liberação controlada de fármacos por géis formados de goma do cajueiro e/ou derivados com quitosana possuem potencial para utilização na liberação de fármacos sítio dirigida.

## ***VI. Referências***

- Acar, N., Tulun, T. *European Polymer Journal* 37 (2001) 1599-1605.
- Açikgoz M., Kas H.S., Hascelik Z., Mili U., Hinal A. *Pharmazie* 50 (1995) 275-277.
- Acosta N., Aranaz I., Peniche C., Heras A. *Macromolecular Bioscience* 3 (2003) 546-551.
- Almo K. M., Painter T. *Carbohydrate Research* 89 (1981) 73-82.
- Anderson D. M.W., McDougall F.F. *Food Hydrocolloids* 1 (1987) 327.
- Anderson D.M., Bell P. C. *Phytochemistry* 13 (1974) 1875-1877.
- Anderson D.M.W, Hendrie A. *Phytochemistry* 9 (1970) 1585-1588.
- Apukuttan P. S., Surolia A., Bachawat. B. K. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 14 (1977) 382-384.
- Arguelles-Monal W, Cabrera C, Peniche C., Rinaudo M. *Polymer* 41 (2000) 2373-2378.
- Argüelles-Monal W., Gárciga M., Peniche C. *Polymer Bulletin* 23 (1990) 307-313.
- Aspinal G. O. *The polysaccharides*, Academic Press, cap1, (1982).
- Barai B. K., Singhal R. S., Kulkarni P. R. *Carbohydrate Polymer* 32 (1997) 229-231.
- Becherán-Marón L., Peniche C., Argüelles-Monal W. *International Journal of Biological Macromolecules* 34 (2004) 127-133.
- Berger J., Reist M., Mayer J. M, Felt O., Gurn R. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (2004b) 19-34.
- Berger J., Reist, M., Mayer, J. M, Felt, O., Gurn, R. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (2004a) 35-52.
- Bhattacharyya D., Singhal R. S. e Kulkarni P. R. *Carbohydrate Polymers* 27 (1995) 247-253.
- Bodmeir R., Chen H. G., Paeratakul O. *Pharmaceutics* 6 (1989) 413-417.
- Bose S., Biswas M. *Indian Journal of Biochemistry* 7 (1970) 68-&.
- Broido A J. *Polymer Science PartA-2* 7 (1969) 161.
- Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Arguelles-Monal M., Desbrieres J., Rinaudo M. *Polymer* 42 (2001) 3569-3580.
- Brunneel D., Schacht E., *Polymer* 34 (1993) 2628-2632.
- Carlstrom D. J. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 3 (1957) 669-&.
- Chatchawaslsaisin, J, Podezeck F., Newton J.M. *International Journal of Pharmaceutics* 275 (2004) 41-60.

- Chavasit V., Torres, J.A. *Biotechnology Progress* 6 (1990) 2-6.
- Chen L., Du Y., Wu H., Xiao L. *Journal of Applied of Polymer Science* 83 (2002) 1233-1241.
- Chen S. C, Wu Y. C., Mi, F. L., Yu L. C; Sung H. W. *Journal of Controlled Release* 96 (2004) 285-300.
- Christensen B. E., Aasprong E., Stokke B. T. *Carbohydrate Polymers* 46 (2001) 241-248.
- Costa S. M. O., Rodrigues, J. F., de Paula, R. C. M. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2 (1996) 49-55.
- Crescenzi V., Gamini A., Paradossi G. *Carbohydrate Polymer* 3 (1983) 273-286.
- Crescenzi V., Imbriaco D., Velasquez C. L., Dentin M., Ciferri A. *Macromolecular Chemistry and Physics* 196 (1995) 2873-2880.
- Crescenzi V., Paradossi G., Desideri P., Dentini M., Cavalieri F., Amici E., Lisi R. *Polymer Gels Network* 5 (1997) 225-239.
- Daly M. M., Knorr D. *Biotechnology Progress* 4 (1988) 76-81.
- Danishefky I., Whistler R.L., Bettelheim F.A., *Carbohydrate*, eds: Pigman W., Horton D., Academic Press, 35 (1970).
- De Nooy A. E. J., Rori, V., Masci, G., Dentini, M., Crescenzi V. *Carbohydrate Research* 324 (2000) 116-126.
- de Paula R. C. M., Heatley F., Budd, P. M. *Polymer International*, 45 (1998) 27-35.
- de Paula R.C.M., Rodrigues J.F. *Carbohydrate Polymer* 26 (1995) 177-181.
- Denuziere A., Ferier, O. Domard A. *Carbohydrate Polymers* 29 (1996) 317-323.
- Diaz-Rojas EI, Pacheco –Aguilar R, Lizardi J. Arguelles-Monal W. Valdez M. A. Rinaudo M. Goycoolea F. M. *Food Hydrocolloids* 18 (2004) 293-304.
- Domard A., Grey C., Rinaudo M., Terrassin C., *International Journal of Biological Macromolecules* 9 (1987) 233-237.
- Dong Y. M., Qiu W. B., Ruan Y., h., Wu Y. S., Wang M. A., Xu C. Y. *Polymer Journal* 33 (2001) 387-389.
- Dragan S., Cristea M. *European Polymer Journal*, 37 (2001)1571-1575.
- Dronnet V. M., Renard C. M. G. C., Axelos M. A. V., Thibault J. F., *Carbohydrate Polymers*, 30 (1996) 253-263.
- Dumitriu S., Chornet, E. *Chitin Enzymology* 2 (2000) 527-542.

Fowler P.D., Shadforth M.F., Crook P.R., John V.A. *European Journal for Clinical Pharmacology* 25 (1983) 389-394.

Fugita Y, Oishi K., Suzuki, Imahory K. *Biochemistry* 14 (1975) 4465-4470.

Fukuda H., Kikuchi Y., *J. Biomedical. Material Research* 12 (1978) 531-539.

Genta L., Pavanetto F., Conti B., Gunchedi P., Conte U. *STP Pharmaceutical Science* 5 (1995) 202-207.

Genta L., Perugini P., Pavanetto F. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 24 (1998) 779-784.

Gibaldi M., Feldman S. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 56 (1967) 1238-1242.

Glinel K., Sauvage J. P., Oulyadi H., Huguet J. *Carbohydrate Research* 328 (2000) 343-354.

Gonçalves V. L., Laranjeira M.C.M., Fávere V. T. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 15 (2005) 6-12.

Gonzales-Rodrigues M. L., Holgado M. A, Sanchez-Lafluente C. Rabasco A. M, Fini, A. *International Journal of Pharmaceutics* 232 (2002) 225-234.

Guo B., Elsaeter A., stokke B.T. *Polymer Gel and Networks* 6 (1998) 113-135.

Gupta V.K., Hariharan M., Wheatley T. A., Price J. C. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 51 (2001) 241-248.

Hamano T., Teramoto E., Abe K. *Journal of Biomedical Materials Research* 41 (1998) 270-277.

Hasan E.I., Amor B.I., Arafat T, Badwan A. A. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 55 (2003) 339-344.

Hejazi R., Amiji M. *Pharmaceutics Development Technology* 8 ( 2003) 253-262.

Higuchi T. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 50 (1961) 874-875.

Higuchi T. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 52 (1963)1145-1149.

Hiorth M., Tho I., Sande S. A. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2003) 175-182.

Hirano S., Tobetto K., Hasegawa M., Matsuda N. *Journal of Biomedical Materials Research* 14 (1980) 477-486.

Huglin, M. B., Webster L., Robb I. D. *Polymer* 37 (1996) 1211-1215.

Jackson E. L., Hudson C. S. *Journal of America Chemical Society* 60 (1938) 989-991.

- Jacobs C., Mason N. S. "Polymeric Delivery Systems: Properties and Applications I", M.A. El-Nokaly, D. M. Piatt, and B. A. Charpentier, Eds. Washington D.C., ACS *Symposium Series* 520 (1993) 1-19.
- Kabanov V. A., Zeszin A.B. *Makromolekulare Chemie Supplement* 6 (1984) 259-&.
- Kawashima Y., Handa T., Takenaka H., Lin S. Y., Ando Y. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 74 (1985) 1152-1156.
- Kennedy J.F., White C.A. *Em: Carbohydrate Chemistry*, editor Kennedy, J. F., cap.1, editora Clarendon Oxford, 1988.
- Kim S.J., Yoon S.G., Lee K.B., Park Y.D., Kim S.I. *Solid State Ionics* 164 (2003b) 199-204.
- Kim S.S., Lee Y.M., Cho C.S. *Polymer* 36 (1995) 4497-4501.
- Kim T. H, Park Y. H, Kim K. J, Cho C. S. *International Journal of Pharmaceutics* 250 (2003a) 371-383.
- Kittur F. S., Prashanth K. V. H., Sankar K. U., Taharanathan R. N. *Carbohydrate Polymers* 49 (2002) 185-193.
- Ko J.A., Park H.J., Hwang S.J., Park J.B., Lee J. S. *International Journal of Pharmaceutics* 249 (2002) 165-174.
- Kofuji K, Ito T, Murata Y., Kawashima S. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 48 (2000) 579-581.
- Kofuji K., Akamine, H., Oshirabe H, Maeda Y, Murata Y., Kawashima S., *J. Biomaterials Science – Polymer Edition* 14 (2003) 1243-1253.
- Kofuji K., Ito T., Murata Y., Kawashima S. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 25 (2002) 268-271.
- Kooijman L. M., Ganzeveld K. J., Manurung R. M., Heeres H. J., *Starch-Starke* 55 (2003) 495-503.
- Korsmeyer R. W., Pepas N. A., *Macromolecular and modeling aspects of swelling-controlled systems*, in: T.J. Roseman, S.Z., Mansdorf (eds.), *Controlled Release Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York (1983) 77-90.
- Kotz J., Paulke B., Philip B., Denking P., Burchard W. *Acta Polymer* 43 (1992) 193-198.
- Kotz J., Linow K.-J., Philipp B., Dautzenberg H. *Acta Polymer* 37 (1986) 108-112.
- Kumaresh S. S., Tejraj M. A. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 53



- (2002) 87-98.
- Kurita K. *Progress in Polymer Science* 26 (2001)1921-1971.
- Le Dung P., Milas M., Rinaudo M., Desbrières J. *Carbohydrate polymers* 24 (1994) 209-214.
- Lee D.W., Hwang S.J., Park, J.B., Park, H.J. *Journal of Microencapsulation* 20 (2003a) 179-192.
- Lee K.Y., Ha W.S. *Journal of Applied Polymer Science* 63 (1997) 425-432.
- Lee S.B., Lee Y. M., Song K. W., Park M. H. *Journal of Applied Polymer Science* 90 (2003b) 925-932.
- Lim S. T, Forbes B., Berry D. J, Martin G. P, Brown M. B. *International Journal of Pharmaceutics* 231 (2002) 73-82.
- Lim S. T, Martin G. P, Berry D. J, Brown M. B. *Journal of Controlled Release* 66 (2000) 281-292.
- Lima A. C., Santos R. A., Almeida F. A. G., Bandeira C. T. *Ciência Rural* 310 (2001) 409-415.
- Lima R. S. N., Lima J. R., Salis C. R., Moreira R. A. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 35 (2002) 45-53.
- Long D. D., VanLuyen D. *Journal of Macromolecular Science Pure and Applied Chemistry*. A3 (1996) 1875-1884.
- MacCallum J. R., *Comprehensive Polymer Science*, Oxford: Pergamon Press, cap. 37 (1989) 903.
- Machado A. A. S., Leite O. C. *Boletim do Instituto de Química Agrícola* 50 (1953) 1.
- Macleod S.G., Collet J.H., Fell J.T. *Journal of Controlled Release* 58 (1999) 303-310.
- Maeda H., Rambone G., Coviello T., Yuguchi Y., Urakawa H., Alhaique F., Kajiwara K. *International Journal of Biological Macromolecules* 28 (2001) 351-358.
- Maghami G.G., Roberts G. A. F. *Makromolekulare Chemie* 189 (1985) 1239-1244.
- Marques M. R., *Estudo do conteúdo protéico e das atividades antimicrobiana e inseticida da goma do cajueiro. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular –UFC, Fortaleza, 1990.*
- McMurry J. *Organic Chemistry* 2 edição, CA: Brooks/Cole Publishing 1988.
- Mende M., Petzold G., Buchhammer H.-M., *Colloid and Polymer Science* 280 (2002)

- 342-351.
- Meshali M. M, Gabr K. E . *International Journal of Pharmaceutics* 89 (1993) 177-181.
- Mi F. L., Shyu S. S., Kuan C. Y., Lee S. T., Lu K. T., Jang S. F. *Journal of Applied Polymer Science* 74 (1999) 1868-1879.
- Mi F. L., Sung H. W., Shyu S.S. *Journal of Polymer Science. Part A Polymer Chemistry* 38 (2000) 2804-2814.
- Mi F-L, Sung H-W, Shye S-S. *Carbohydrate Polymers* 48 (2002) 61-72.
- Michaels A. S. *Polyelectrolyte Complexes, Industrial and Engineering Chemistry Research* 57 (1965) 32-40.
- Mitsumata T., Suemitsu Y., Fujii K., Fujii T., Taniguchi T., Koyama K. *Polymer* 44 (2003) 7103-7111.
- Miyamoto K., Tsuji K., Nakamura T., Tokita M., Komai T. *Carbohydrate Polymers*, 30 (1996) 161-164.
- Möller M., Nordmeier E. *European Polymer Journal* 38 (2002) 445-450.
- Moore G. K., Roberts A. F. *International Journal of Biological Macromolecules* 2 (1980) 115-116.
- Mothé C. G., Rao M. A. *Thermochimica Acta* 357 (2000) 9-13.
- Mulye N. V., Turco S. J. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 21 (1995) 943-953.
- Munjeri O., Collet J. H., Fell J. T. *Journal of Controlled Release* 46 (1997) 273-278.
- Muzzarelli R., Chitosan em: Muzzarelli (Ed.), *Natural Chelating Polymers*, Pergamon Press, Oxford, 1973, pp. 144-176.
- Ngah W. S. W., Ghani S. A.B., Kamari A. *Bioresource Technology* 96 (2005) 443-450.
- Ogawa K., Toshifumi Y. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 57 (1993) 1466-1469.
- Ohkawa K., Kitagawa T., Yamamoto H. *Macromolecular Materials and Engineering* 289 (2004) 33-40.
- Palomo M. E., Ballesteros M. P., Frutos P. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 16 (1997) 431-438.
- Pandley R. Khuller G. K. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53 (2004) 635-640.
- Park K., Shalaby W. S. W., Park H. *Biodegradable Hidrogels for Drug Delivery*. Ed. Technomic Publishing Company. Inc., H. Park, Lancaster, 1993.

- Park W. H. *Macromolecular Chemistry and Physics* 197 (1996) 2175-2183.
- Paula H.C. B., Gomes F. J. S., de Paula R. C. M. *Carbohydrate Polymers* 48 (2002) 313-318.
- Peppas N.A. Prefácio: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, vol. 1, CRC Press, 1986.
- Perlin A. S., Casu B., *The Polysaccharide*, ed. Aspinall G. O., Academic Press 1 (1982) 133.
- Pessoa F.A. P., Bandeira C.T. *Caju Informativo*, ano VI, 1993.
- Picton L., Mocanu G., Mihai D., Carpov A., Muller G. *Carbohydrate Polymers* 28 (1995) 131-136.
- Pinto G. L., Martinez M., Mendonza J. A., Ocando E., Rivas C. *Biochemical Systematic and Ecology* 23 (1995) 151-156.
- Portero A., Remuñán-Lopez C., Criado M. T., Alonso M. J. *Journal of Microencapsulation* 19 (2002) 797-809.
- Prashanth K. V. H., Kittur F. S., Tharnathan R. N. *Carbohydrate Polymers* 50 (2002) 27-33.
- Qu X., Wirsem A., Albertsson A.-C. *Polymer* 41 (2000) 4841-4847.
- Ritger P. L., Peppas N. A. *Journal of Controlled Release* 5 (1987) 37-42.
- Rodrigues J. F., de Paula R. C. M., Costa S. M. O. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* 1 (1993) 31-36.
- Rosenthal F. R. T. *Revista de Química Industrial* 24 (1955) 17-&.
- Rusu-Balaita L, Desbrières J., Rinaudo M. *Polymer Bulletin* 50 (2003) 91-98.
- Saettone M. F., Torraca M. T., Pagano A., Giannaccini B., Rodriguez L., Cini M. *International Journal of Pharmaceutics* 86 (1992) 159-166.
- Sakiyama T., Chu C., Fujji T, Yano T. *Journal of Applied Polymer Science* 50 (1993) 2021-225.
- Sakiyama T., Takata H., Kikuchi M., Nakanishi K. *Journal of Applied Polymer Science* 73 (1999) 2227-2233.
- Schulz D., Rapp P. *Carbohydrate Research*. 222 (1991) 223-231.
- Shahabeddin L., Damour O., Berthoud F., Rousselle P., Saintigny G., Collombel C. J. *Materials in Medicina* 2 (1991) 222-226.
- Shiraihi S., Imai T., Otagiri M. *Journal of Controlled Release* 25 (1993) 217-225.

- Shu X. Z., Zhu K. J., Song W. *International Journal of Pharmaceutics* 212 (2001) 19-28.
- Shu X. Z., Zhu K. J. *International Journal of Pharmaceutics* 233 (2002) 217-225.
- Shuichi M., Ching H., Masahiro M. *Oil Chem* 38 (1989) 492-&.
- Silva D.A., de Paula R.C.M., Feitosa J.P.A., de Brito A.C.F., Maciel J.S., Paula H.C.B.,  
Carbohydrate Polymer 58 (2004) 163-171.
- Silva D.A., Modificação Química da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*):  
Carboximetilação e Reticulação, Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Departamento de Química Inorgânica-UFC, Fortaleza (2002).
- Sinha V. R., Singla A. K., Wadhawan S., Kaushik R., Kumria R. *International Journal of  
Pharmaceutics* 274 (2004) 1-33.
- Soares J.B. O caju: Aspectos Tecnológicos (1986) 133-205.
- Sorlier P., Denuziere A., Viton C., Domard A. *Biomacromolecules* 2 (2001) 765-772.
- Stokke B. T., Elgsaeter A., Smidsod O., Christensen B. E. *Carbohydrate Polymers* 27  
(1995) 5-14.
- Takahashi T., Takayama K., Machida Y., Nagai T. *International Journal of Pharmaceutics*  
61 (1990) 35-41.
- Takka S., Acarturk, F. *Journal of Microencapsulation* 16 (1999) 275-290.
- Tan T.W, Hu B., Jin X.H., Zhang M. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 18  
(2003) 207-218.
- Tapia C., Costa E., Moris M, Sapag-Hagar J., Valenzuela F., Basualto C. *Drug  
Development and Industrial Pharmacy* 28 (2002) 217-224.
- Tapia C., Escobar Z., E., Costa E., Sapag-Hagar J., Valenzuela F., Basualto C., Gai,  
M.N., Yazdani-Pedram M. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*  
57 (2004) 65-75.
- Taravel M. N. e Domard A. *Biomaterials* 17 (1996) 451-455.
- Tiomo F. R. *Revista de Química industrial* 147 (1946) 23-&.
- Tirkistani F. A. A. *Polymer Degradation and Stability* 60 (1998) 67-70.
- Tomida H., Nakamura C., Kiryu S. *Chemical & Pharmaceutics Bulletin* 42 (1994) 979-  
981.
- Tonchava G., Hadjikinov D., Panchev I. *Food Chemistry* 49 (1994) 29-31.
- Torre P. M., Torrado S. *Biomaterials* 24 (2003) 1459-1468.

- Torul H., Arslan N. Carbohydrate Polymer 54 (2003) 73-82.
- Trindade Neto C. G., Fernandes A. L. P. Santos A. I. B., Morais W. A., Navarro M. V. M., Dantas T. N. C., Pereira M. R., Fonseca J. L. C. Polymer International 54 (2005) 659.
- Trivedi H. C., Patel R. D. Angewandte Makromolekulare Chemie 141 (1986) 11.
- Vachoud L., Zydiwicz N., Domard A. Carbohydrate Research 302 (1997) 169-177.
- Vachoud L., Zydiwicz N., Domard A. Carbohydrate Research 326 (2000) 295-304.
- Varelas C. G., Dixon D. G., Steiner C. Journal of Controlled Release 34 (1995) 185-192.
- Varma A. J., Kokane S. P., Pathak G., Pradhan S. P. Carbohydrate Polymers 32 (1997) 111-114.
- Veelaert S., de Wit D., Gotlieb K.F., Verhé R. Carbohydrate Polymer 32 (1997) A 131-139.
- Veelaert S., de Wit D., Gotlieb K.F., Verhé R. Carbohydrate Polymer 33 (1997) B 153-162.
- Verma R. K., Krishna M. D., Garg S. Journal of Controlled Release 79 (2002) 7-27.
- Verraest D. L., Peters J. A., Kuzee H. C., Batelaan J. G., Van Bekkum, H. Carbohydrate Research 271 (1995) 101-112.
- Villetti M.A., Crespo J.S., Soldi M.S., Pires A.T.M., Borsali R., Soldi V. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 67 (2002) 295-303.
- Volesky B., Biosorption of Heavy Metals, CRC. Press inc., Boca Raton, USA. , 3 (1990).
- Wagner J. G. Journal of Pharmaceutical Sciences 58 (1969) 1253-1257.
- Wang H. F., Li W. J., Lu Y. H., Wang Z. L. Journal of Applied Polymer Science 65 (1997) 1445-1450.
- Watanabe K., Nakamura N. Kogyo Kagaku Zasshi 68 (1965) 1926-&.
- Whistler, R.L., Bemiller, J.N., Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives, 3<sup>o</sup> ed., eds, Whistler, R.L., Bemiller, Academic press, cap.1, (1993).
- Whistler, R.L., Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives, 3<sup>o</sup> ed., eds, Whistler, R.L., Bemiller, Academic press, cap.12, (1993).
- Winterowd J. G., Sandford P. A. em Food Polysaccharide and their applications, cap. 13 (1995) 441-462.
- Yook C., Sosulski F., Saskatoon P. R. B., Starch/Staerke 46 (1994) 393-399.
- Ywata S., Narui T., Takahashi K. e Shibata S. Carbohydrate Research 145 (1985) 160.

Zhang L., Guo J., Peng X.H, Jin Y. Journal of Applied Polymer Science 92 (2004) 878-882.

Zhang M. Haga A., Sekiguchi H., Hirano S. International Journal of Biological Macromolecules 27 (2000) 99-105.

Zhang Q. Q., Liu L. R., Ren L., Wang F. J. Journal of Applied Polymer Science 64 (1997) 2127-2130.

# ***Anexo I***

***Artigos aceitos para publicação em periódicos***