

## AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PARA A PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

Juliana Pitanga Negrão Souza<sup>1</sup>; Jaqueline Leite Vieira<sup>2</sup>; Ana Paula Bispo Gonçalves<sup>2</sup>; Willams Teles Barbosa<sup>3</sup>; Josiane Dantas Viana Barbosa<sup>3</sup>; Milena Botelho Pereira Soares<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduando em Engenharia Química; Iniciação científica – CNPq; juli.negraosouza@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ; Salvador-BA; milena.soares@fiocruz.br

<sup>3</sup> Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA.

### RESUMO

O presente trabalho visa avaliar os efeitos das alterações dos parâmetros na produção de nanopartículas de quitosana. O objetivo é variar parâmetros durante o processo de obtenção de nanopartículas de quitosana, a fim de avaliar as características finais. As nanopartículas foram produzidas pelo método de gelificação iônica, variando o pH (4.5 e 5.0) e as razões entre a quitosana e o agente reticulante (3,4,5 e 6:1 respectivamente). As formulações foram caracterizadas quanto ao tamanho hidrodinâmico e análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os resultados preliminares indicaram que variações nos parâmetros físico-químicos (pH e concentração) impactaram as características finais das nanopartículas. Novas revisões serão realizadas para aprimorar a técnica e as formulações que produzem nanopartículas mais estáveis e uniformes, bem como outras técnicas de análise serão incluídas. Conclui-se que os resultados podem contribuir para o desenvolvimento de novos dispositivos farmacêuticos com melhor desempenho terapêutico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nanopartículas; Quitosana; Gelificação iônica; Caracterização.

### 1. INTRODUÇÃO

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da desacetilação da quitina. Em relação a estrutura molecular, é um polissacarídeo linear formado por unidades repetidas de N-acetilglicosamina, ligadas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). Além disso, a quitosana tem propriedades hidrofóbicas que lhe permitem formar complexos insolúveis em água com muitas moléculas orgânicas, como proteínas, ácidos graxos e outros compostos lipofílicos.<sup>1</sup>

Propriedades como biocompatibilidade, não toxicidade, biodegradabilidade e sua capacidade de interagir com diversas substâncias conferem à quitosana desempenho interessante para estudo na área farmacêutica. Nas aplicações destaca-se a criação de sistemas carreadores de fármacos com liberação controlada. Além disso, também têm sido relatadas aplicações da quitosana em vacinas e como agentes antimicrobianos, e na produção de hidrogéis e scaffolds para engenharia tecidual.<sup>2</sup>

A escolha e produção de um sistema carreador fármaco depende da ação final pretendida. O desenvolvimento dos sistemas requer um planejamento e estudo de estabilidade e compatibilidade, além de análises de perfis físico-químicos. Os estudos sobre métodos de produção, ao longo dos anos, são aprofundados visando uma melhor caracterização dos parâmetros fundamentais para estabelecer critérios de controle de qualidade dos produtos finais.<sup>3</sup>

O presente trabalho teve como objetivo variar os parâmetros físico-químicos (pH e concentração) durante o processo de obtenção das nanopartículas de quitosana por meio da gelificação iônica, a fim de avaliar os impactos causados em suas características finais.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Preparo das nanopartículas de quitosana

As nanopartículas foram produzidas a partir do método de gelificação iônica. Primeiramente, foi dissolvida a quitosana (alto peso molecular, com massa molar de 200 kg/mol, respectivamente, e grau de desacetilação de 96%) em uma solução de 1% (v/v) de ácido acético, esse sistema permaneceu por 24h em agitação magnética. Os pH propostos a serem analisados para as formulações são 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 e 6.5, entretanto, o presente trabalho abordará apenas os resultados preliminares obtidos para os pH de 4.5 e 5.0. Após o ajuste do pH, a solução de quitosana foi filtrada utilizando um filtro de 0,22 $\mu$ m.<sup>4</sup>

Após a filtração, foi adicionado, por gotejamento, o tripolifosfato de sódio (TPP, 1mg/mL) e deixado em agitação magnética em temperatura ambiente por 2h, com concentrações de 3:1, 4:1, 5:1 e 6:1 (quitosana: TPP)<sup>4</sup>. Seguidamente, às soluções foram submetidas a ultrassom, para dispersar as

nanopartículas, por 5 minutos com uma pulsação de 5 segundos ligado e 3 segundos desligado com amplitude de 25%. As nanopartículas foram armazenadas e congeladas (-80°C) por 24h e liofilizadas.

## 2.2. Caracterização das nanopartículas

As nanopartículas foram avaliadas pelo tamanho hidrodinâmico por DLS (espalhamento dinâmico de luz), e os resultados obtidos incluem o tamanho médio da intensidade e a homogeneidade no tamanho das nanopartículas (índice de polidispersividade, PI). Essa análise foi realizada em triplicata em um equipamento Zetasizer Nano-S90 (Malvern Panalytical).

As nanopartículas também foram avaliadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier (FTIR), análise que fornece evidências da presença de grupos funcionais presentes na estrutura, ou seja, interações entre a quitosana e o TPP. Os espectros de FTIR das amostras foram obtidos a partir de um equipamento da marca Thermo Scientific, modelo NICOLET iS10. Para tal análise, utilizou-se o acessório de reflexão (reflexão total atenuada - ATR) que foi colocado sobre a amostra. Foram feitas 32 varreduras, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> na faixa de 4000-800 cm<sup>-1</sup>.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras analisadas são parte de resultados preliminares. Vale salientar que novas revisões na metodologia da preparação das nanopartículas serão realizadas.

### 3.1. DLS

O tamanho hidrodinâmico da molécula e sua polidispersão foram tratados para o pH de 4.5 e 5.0 das nanopartículas. A Tabela 1 encontra-se os resultados obtidos para o pH de 4.5, nos quais foram apresentados a média de valores para as três bateladas.

**Tabela 1.** Resultado DLS e PDI para quitosana de alto peso molecular no pH 4.5

Quitosana/TPP(mg/ml)	3:1	4:1	5:1	6:1
DLS (nm)	1,41E+04	1,02E+04	8,29E+03	6779
PDI	0,515	0,754	0,615	0,813

Observou-se uma tendência de diminuição do valor de DLS conforme o aumento de concentração de quitosana em relação ao TPP, seguindo a ordem decrescente: 3:1 > 4:1 > 5:1 > 6:1. Em relação ao PDI, a amostra com concentração 4:1 e 6:1 apresentaram valores maiores, indicando uma maior heterogeneidade no tamanho das partículas enquanto as com concentrações 3:1 e 5:1 apresentaram valores menores de PDI, exibindo uma maior homogeneidade no tamanho das partículas.

Entretanto, o esperado seria que a medida que a razão de concentração entre quitosana e TPP aumentasse o tamanho das partículas e o PDI também aumentassem, em uma relação de proporção direta. Em geral, quanto maior a concentração da amostra, maior é a probabilidade de ocorrer agregação de partículas, o que pode levar a uma superestimação do tamanho médio das partículas e aumento da polidispersidade. Além disso, altas concentrações também podem aumentar a turbidez da amostra, o que dificulta a medição precisa do tamanho de partículas por DLS. Possivelmente, devido a turbidez das amostras o tamanho das nanopartículas apresentaram-se elevados. Como são testes preliminares, revisões nos dados serão realizados. Na Tabela 2 encontram-se os valores de DLS para o pH de 5.0, com a média das três bateladas.

**Tabela 2.** Resultado DLS e PDI para quitosana de alto peso molecular no pH 5.0

Quitosana/TPP (mg/ml)	3:1	4:1	5:1	6:1
DLS (nm)	6,08E+03	7,69E+03	6,86E+03	6,17E+03
PDI	0,426	0,387	0,476	0,417

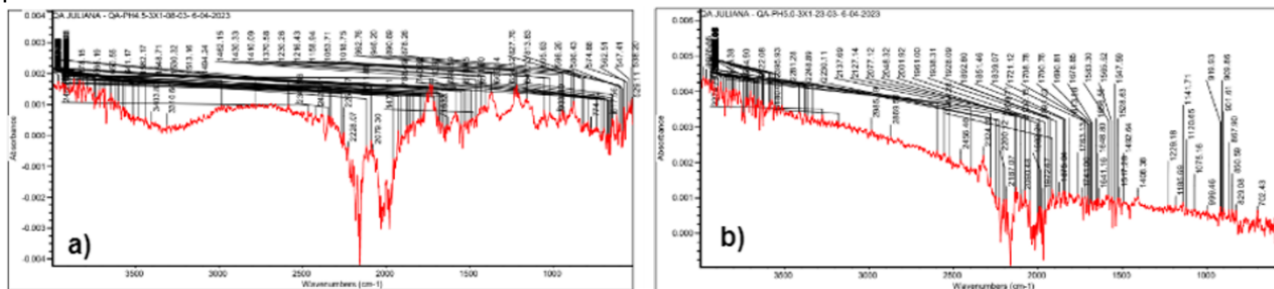
Comparando ambas as amostras observou-se que a mudança de pH resultou em partículas mais homogêneas com PDI menores. O DLS foi maior no pH 5.0 quando comparado ao pH 4.5, mas as concentrações de 6:1 apresentaram partículas maiores do que a de 3:1, o que era esperado devido a tendência do tamanho aumentar à medida que a concentração aumenta.

Assim como na amostra de pH 4.5, as amostras apresentaram valores iniciais que irão passar por revisão e realização novamente dos testes.

### 3.2. FTIR

A análise do FTIR consiste na comprovação das interações de quitosana e TPP, entretanto os resultados obtidos não apresentaram um padrão das nanopartículas de quitosana em ambos os pH, ou seja, mais testes terão que ser realizados para compreender a abordagem utilizada para assim conseguir caracterizar. Na Figura 1 apresenta-se os espectros obtidos para a concentração 3:1 do pH 4.5 e 5.0.

**Figura 1.** Espectros de FTIR da amostra de concentração 3:1 correspondente a (a) pH 4.5 e a (b) pH 5.0



## 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da análise dos resultados iniciais obtidos no estudo, foi possível verificar que a variação dos parâmetros físico-químicos durante o processo de obtenção das nanopartículas de quitosana apresentou impactos nas características finais das nanopartículas. Os resultados do tamanho hidrodinâmico por DLS são apenas preliminares, necessitando novas análises. A análise de FTIR não permitiu conclusões acerca das interações de quitosana com o TPP. Com isso, será preciso realizar revisões na técnica e na abordagem utilizadas na preparação de nanopartículas, a fim de melhorar os resultados obtidos e possibilitar a produção de nanopartículas que sejam mais uniformes e estáveis.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao SENAI CIMATEC por disponibilizar seus laboratórios. Ao CNPq, CAPES e FIOCRUZ pelo financiamento da pesquisa. E ao Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook do CERTBIO/UFMG pela disponibilização da quitosana, que foi fundamental para o desenvolvimento da pesquisa.

## 5. REFERÊNCIAS

- 1 TAVARES, Idylla Silva. **Obtenção e caracterização de nanopartículas de quitosana**. 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/17651/1/IdyllaST DISSERT.pdf>. Acesso em: 2 abr. 2023
- 2 FILHO, Sergio Paulo Campana; SIGNINI, Roberta; CARDOSO, Márcia Barreto. **Propriedades e Aplicações de Quitosana**. 2007. Revista Processos Químicos. Disponível em: [http://ojs.rpqsena.org.br/index.php/rpq\\_n1/article/view/41/30](http://ojs.rpqsena.org.br/index.php/rpq_n1/article/view/41/30). Acesso em: 2 abr. 2023
- 3 FRANCO, Nuno Araújo. **Nanopartículas e suas Aplicações em Ciências Farmacêuticas O Estado da Arte**. 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013. Disponível em: <https://bdigital.upf.pt/handle/10284/4180>. Acesso em: 2 abr. 2023.
- 4 DANANJAYA, S.H.S et all. **Comparative study on antifungal activities of chitosan nanoparticles and chitosan silver nano composites against Fusarium oxysporum species complex**. 2017. International Journal of Biological Macromolecules. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.056>