

# COMBINANDO LIGAÇÕES COVALENTES DINÂMICAS E LIGAÇÕES IÔNICAS PARA O PREPARO DE HIDROGEL AUTO-REGENERATIVO

Palavras-Chave: QUITOSANA, ALGINATO DE SÓDIO, HIDROGEL

Autores(as):

BEATRIZ GABRIELA FERREIRA, IQ – UNICAMP

Prof. Dr. WATSON LOH, IQ - UNICAMP

## INTRODUÇÃO

O hidrogel é um material formado por cadeias poliméricas reticuladas através de interações físicas, como as interações eletrostáticas, e/ou por ligações covalentes, o que resulta na formação de uma rede tridimensional com capacidade de absorver altas quantidades de água. Devido a essa característica, o hidrogel tem sido aplicado por diversas áreas como curativos, meio para crescimento de células ou até mesmo em fraldas descartáveis e na agricultura.<sup>1,2</sup>

Além disso, esse polímero pode ser dividido em duas classes com base no composto que se utiliza para produzi-lo, isto é, este pode ser de origem natural ou sintética. Para a obtenção do material natural, há diversas matérias-primas que podem ser utilizadas, como por exemplo, o alginato de sódio e a quitosana.<sup>1,3</sup>

A quitosana é um polissacarídeo comumente obtido da desacetilação da quitina, presente no exoesqueleto de insetos. Essa molécula não possui toxicidade e possui propriedades como biodegradabilidade, inculcando tais características ao hidrogel e resulta em aplicações destes hidrogéis na biomedicina. A quitosana pode ser funcionalizada com grupos de amina quaternária, fornecendo atividade antibacteriana e antifúngica.<sup>3,4</sup>

Já o alginato de sódio, é um polissacarídeo natural derivado de algas e que possui grande relevância devido à sua biodegradabilidade e capacidade de formar géis em condições amenas, características que o tornam amplamente utilizado em aplicações biomédicas, como curativos para feridas. A modificação do alginato de sódio por oxidação parcial gera o alginato de sódio funcionalizado com grupos aldeído capazes de formar ligações cruzadas com outras moléculas permitindo a obtenção de estruturas tridimensionais com propriedades mecânicas e biológicas otimizadas.<sup>5</sup>

A quitosana funcionalizada possui tanto aminas quaternárias quanto aminas primárias, sendo que as aminas primárias possuem uma alta reatividade e são responsáveis por reagir com os grupos aldeídos da molécula do alginato de sódio oxidado. Essa reação entre a amina e o aldeído resulta na formação da ligação imina, a qual é uma reação reversível e dependente do pH da solução em que a reação ocorre, ou seja, essa ligação é formada em condições básicas e em condições ácidas a mesma é hidrolisada, conforme representado na Figura 1.<sup>3,6</sup>

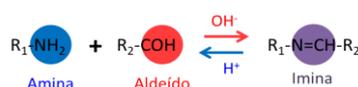


Figura 1. Representação da reação de formação de imina.

Estes hidrogéis auto-regenerativo possui diversas potenciais aplicações na biomedicina como curativo empregado na cicatrização de feridas, como biossensores ou até mesmo como veículos de fármacos ou biomoléculas, como enzimas, proteínas e DNA.<sup>2,3,6</sup>

Dessa forma, o presente estudo visa o preparo da quitosana funcionalizada com grupos amina quaternária e do alginato de sódio funcionalizado com grupos aldeído bem como do hidrogel auto-regenerativo formado a partir da ligação imina e das interações eletrostáticas entre os grupos presentes nos polissacarídeos, e a caracterização destes materiais por meio de técnicas analíticas visando investigar a influência do pH nas propriedades.

## METODOLOGIA

### 1. Síntese e Caracterização de Quitosana funcionalizada com grupos amina quaternária.

Para a síntese da quitosana funcionalizada com aminas quaternárias, a quitosana foi dissolvida em solução aquosa de ácido acético 5% v/v e submetida à agitação por 30 minutos. Ajustou-se a massa de quitosana e o volume de cloreto de glicidil trimetilamônio (GTMAC) para obter razões molares de 0,5:1 a 3:1, conforme quantidades representadas na Tabela 1, visando obter diferentes graus de funcionalização. Assim, após a adição do reagente, as soluções foram mantidas sob agitação vigorosa e temperatura de 55 °C por 18 h, como relatado por Cho *et al.*<sup>7</sup>

Para a purificação, as soluções foram diluídas em 8 mL de água mili-Q e precipitadas em 200 mL de acetona. Em seguida, a quitosana funcionalizada foi filtrada, o sólido redissolvido em água mili-Q e submetido a uma nova precipitação. Após esse processo, a solução foi liofilizada por 3 dias para remoção completa de água.<sup>7</sup>

A quitosana funcionalizada com grupos amina quaternária foi caracterizada por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e ressonância magnética nuclear de próton (<sup>1</sup>H RMN). A concentração de aminas quaternárias por mg de quitosana foi determinada por titulação condutimétrica, dissolvendo-se 0,01 g da quitosana funcionalizada em 10 mL de água mili-Q e titulando com uma solução de nitrato de prata 0,017 mol L<sup>-1</sup>.<sup>7</sup>

### 2. Síntese e Caracterização de Alginato de Sódio funcionalizado com grupos aldeídos.

O alginato de sódio parcialmente oxidado contendo grupos aldeídos foi sintetizado conforme reportado por Yu *et al.*<sup>8</sup> Para isso, alginato de sódio e periodato de sódio foram dissolvidos separadamente em água mili-Q, com razões molares de 0,1; 0,3 e 0,7, conforme quantidades representadas na Tabela 1. A solução de periodato de sódio foi adicionada à solução do alginato de sódio e mantida sob agitação a 37 °C por 4 h no escuro. A reação foi finalizada pela adição de etilenoglicol e agitação por mais 30 minutos.<sup>8</sup>

Após a síntese, a solução foi purificada por diálise em água destilada por 2 dias e liofilizada por 3 dias. A concentração de grupos aldeído por mg de polissacarídeo foi determinada por titulação potenciométrica, dissolvendo-se 0,1 g do alginato de sódio oxidado em 16 mL de cloreto de hidroxilamina 0,25 mol L<sup>-1</sup> por 24 h sob agitação. A reação entre eles libera ácido clorídrico que posteriormente foi titulado com hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A caracterização estrutural foi realizada por FTIR e <sup>1</sup>H RMN.<sup>5</sup>

**Tabela 1.** Quantidades utilizadas para a síntese da quitosana funcionalizada com aminas quaternárias e alginato de sódio oxidado de acordo com a razão molar entre o reagente e o polissacarídeo.

	Proporção	0,5:1	1,5:1	3:1
Quitosana funcionalizada com aminas quaternárias	Quitosana (g)		0,2	
	Ácido acético (mL)		0,04	
	GTMAC (mL)	0,083	0,249	0,498
	Água mili-Q (mL)	8,415	8,249	8
Alginato de sódio oxidado	Razão molar	0,1	0,3	0,7
	Alginato de sódio (g)		0,3	

	Periodato de sódio (g)	0,036	0,109	0,255
	Água mili-Q (mL)		6	
	Etilenoglicol (mL)		2	

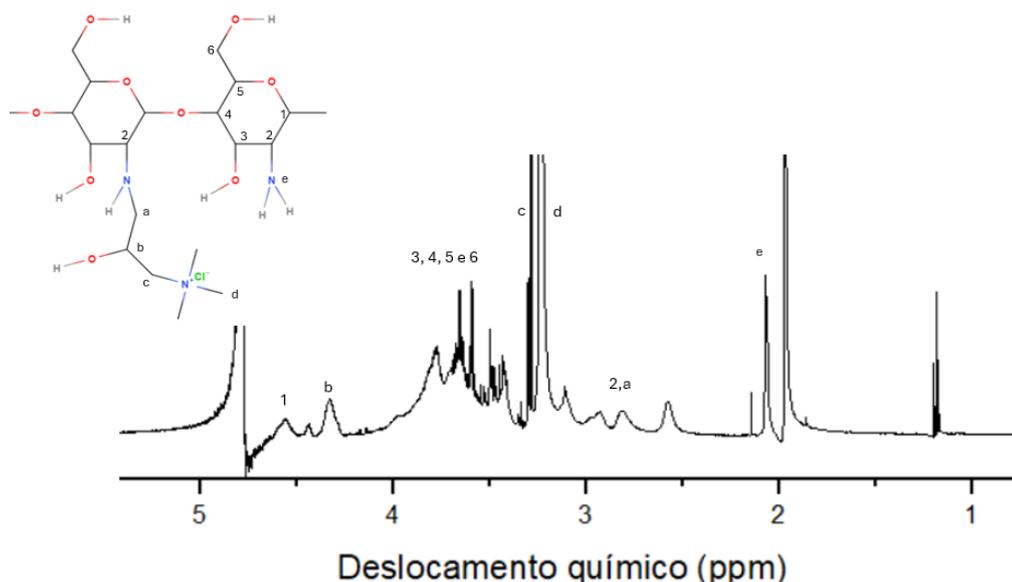
### 3. Preparo e Caracterização dos Hidrogéis em Função do pH

As quantidades em massa foram calculadas para obter concentrações em torno de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  e razões molares entre os grupos amina e aldeído de 1; 2,5; 5 e 10, em  $\text{pH} = 7$ . Para isso, a quitosana pura e o alginato de sódio oxidado à 15, 60 e 98% foram dissolvidos em solução aquosa de ácido clorídrico e hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Após 24 h sob agitação à temperatura ambiente para completa dissolução, as soluções de alginato de sódio oxidado foram adicionadas, gota a gota, às soluções de quitosana, homogeneizadas manualmente e deixadas em repouso por 24 h para a formação dos hidrogéis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a funcionalização da quitosana foram utilizadas razões estequiométricas entre as concentrações de GTMAC e grupo amina da quitosana de 3:1; 1,5:1 e 0,5:1 visando obter graus de funcionalização em torno de 10, 28 e 56%. O grau de funcionalização foi determinado por titulação condutimétrica através do consumo de íons cloretos, presentes em solução devido à formação de um sólido insolúvel, o cloreto de prata. Assim, com o volume de titulante utilizado e com auxílio da equação matemática descrita por Cho *et al.*<sup>7</sup> foi possível determinar o grau de funcionalização da quitosana, apresentados na Tabela 2, e que estão em concordância com os valores reportados na literatura.<sup>7</sup>

A análise do espectro de  $^1\text{H}$  RMN demonstrou a mudança nos picos quando comparado ao espectro da quitosana pura e o aparecimento de um pico, identificado como 'b' na Figura 1, correspondente a dois hidrogênios presentes no grupo funcional substituídos na quitosana funcionalizada oriundos da molécula de GTMAC, que pode ser relacionado ao grau de funcionalização. Além disso, a espectroscopia no infravermelho evidenciou novas bandas características da amina quaternária, como a do substituinte metila, em aproximadamente,  $1400 \text{ cm}^{-1}$ .<sup>7</sup>

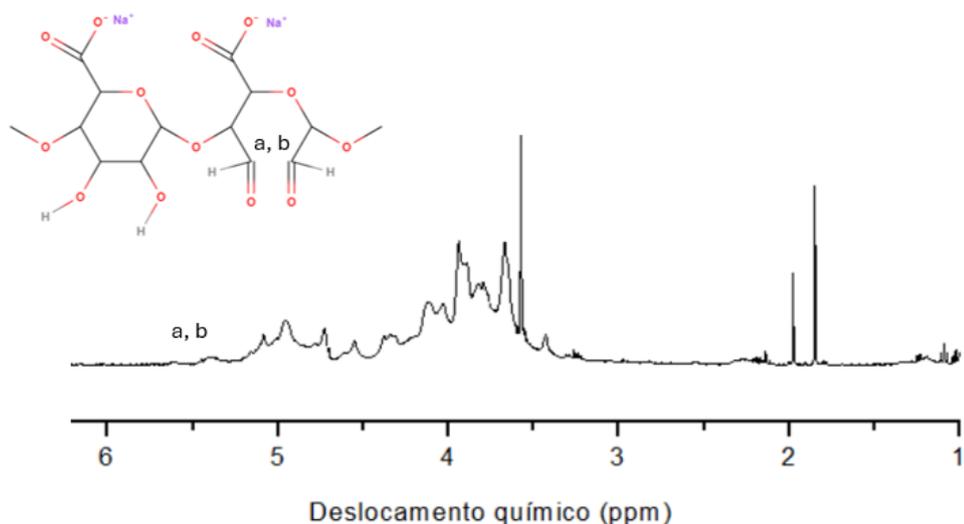


**Figura 2.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN para a quitosana funcionalizada com aminas quaternárias e de proporção molar de 0,5:1.

Para a oxidação do alginato de sódio foram utilizadas razões molares entre o periodato de sódio e as unidades monoméricas do alginato de sódio de 0,1; 0,3 e 0,7 visando obter graus de oxidação em torno de 15, 30 e 60%. Os valores de grau de oxidação das amostras de alginato de sódio obtidos, apresentados na Tabela 2, foram determinados através da razão entre o número de mol de grupos aldeídos presente em

solução, quantificado pelo volume de hidróxido de sódio consumido na titulação potenciométrica, e o número de mol de alginato de sódio teórico e estão em concordância com os valores reportados por Yu *et al.*<sup>8</sup>

A espectroscopia por ressonância magnética nuclear (<sup>1</sup>H RMN) revelou sinais próximos a 5,5 ppm no espectro do alginato de sódio oxidado atribuídos ao grupo aldeído formado pela oxidação parcial, conforme mostrado na Figura 2. Além disso, a espectroscopia no infravermelho evidenciou a diminuição da banda em aproximadamente 3300 cm<sup>-1</sup> referente aos grupos hidroxila que foram oxidados, confirmando a ocorrência da reação conforme esperado.<sup>5</sup>



**Figura 3.** Espectro de <sup>1</sup>H RMN para o alginato de sódio oxidado à 15%.

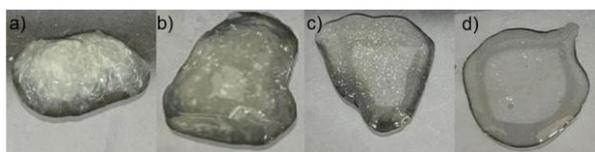
**Tabela 2.** Relação entre as razões molares e o grau de funcionalização obtido para a quitosana funcionalizada com aminas quaternárias e o alginato de sódio oxidado.

	Quitosana funcionalizada com aminas quaternárias			Alginato de sódio oxidado		
	0,5:1	1,5:1	3:1	0,1	0,3	0,7
Razão molar	0,5:1	1,5:1	3:1	0,1	0,3	0,7
Grau de funcionalização (%)	9	15	31	18	49	77

A fim de se obter os hidrogéis, alguns testes foram realizados utilizando ambos os polissacarídeos funcionalizados. No entanto, notou-se a formação de precipitado e não houve a formação de hidrogéis e por isso, decidiu-se analisar a ligação eletrostática e a ligação imina separadamente.

Nas amostras de hidrogéis preparadas com a quitosana pura e o alginato de sódio com graus de oxidação de 15, 60 e 98%, observou-se que não houve a formação do hidrogel para as amostras realizadas com o alginato de sódio oxidado à 15%, mas sim uma estrutura heterogênea se assemelhando a uma solução com precipitado, indicando uma forte reticulação entre os grupos amina e aldeído, respectivamente, da quitosana e do alginato de sódio oxidado.<sup>6</sup>

Já nas amostras com alginato de sódio oxidado à 60 e 98% foi possível observar a formação de hidrogel, de acordo com Figura 3. Além disso, observou-se que, à medida que a razão molar entre as concentrações de grupos amina e aldeído aumentava, os hidrogéis se tornavam mais fluidos devido ao aumento da razão entre as cargas já que há o aumento da quantidade de amina presente em relação à quantidade do grupo aldeído.<sup>6</sup>



**Figura 4.** Hidrogéis utilizando quitosana pura e alginato de sódio oxidado à 98% com razões molares entre os grupos amina e aldeído igual a) 1, b) 2,5, c) 5 e d) 10.

## CONCLUSÕES

Portanto, conclui-se o sucesso nas modificações químicas, isto é, as reações de funcionalização da quitosana com grupos amina quaternária e alginato de sódio com grupos aldeído, confirmadas pelas caracterizações realizadas e os testes de hidrogéis realizados com diferentes proporções e com diferentes graus de oxidação do alginato de sódio permitiram identificar a melhor forma de preparo do mesmo e também indicaram que a eficiência na formação do hidrogel depende de maiores graus de funcionalização do alginato de sódio.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Yu, Z. J.; Li, Q.; He, X.; Wang, X.; Wen, Y.; Zeng, L.; Yu, W.; Hu, P.; Chen, H. **A Multifunctional Hydrogel Based on Nature Polysaccharide Fabricated by Schiff Base Reaction.** *Eur. Polym. J.* **2023**, *197*, 112330.
- (2) Xu, J.; Liu, Y.; Hsu, S. **Hydrogels Based on Schiff Base Linkages For.** *Molecules* **2019**, *24* (3005), 1–21.
- (3) Duceac, I. A.; Coseri, S. **Chitosan Schiff-Base Hydrogels-A Critical Perspective Review.** *Gels* **2022**, *8* (12).
- (4) Zhang, Z.; He, C.; Chen, X. **Hydrogels Based on pH-Responsive Reversible Carbon-Nitrogen Double-Bond Linkages for Biomedical Applications.** *Mater. Chem. Front.* **2018**, *2* (10), 1765–1778.
- (5) Wang, W.; Liu, M.; Shafiq, M.; Li, H. **Synthesis of oxidized sodium alginate and its electrospun bio-hybrids with zinc oxide nanoparticles to promote wound healing.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, Volume 232.
- (6) Pawariya, V.; De, S.; Dutta, J. **Chitosan-Based Schiff Bases: Promising Materials for Biomedical and Industrial Applications.** *Carbohydr. Polym.* **2024**, *323* (September 2023), 121395.
- (7) Cho, J.; Grant, J.; Piquette-Miller, M.; Allen, C. **Synthesis and Physicochemical and Dynamic Mechanical Properties of a Water-Soluble Chitosan Derivative as a Biomaterial.** *Biomacromolecules* **2006**, *7* (12), 3548.
- (8) Yu, J.; Chang, P. R.; Ma, X. **The Preparation and Properties of Dialdehyde Starch and Thermoplastic Dialdehyde Starch.** *Carbohydr. Polym.* **2010**, *79* (2), 296–300.