

DIFERENTES ESTRATÉGIAS PARA A RETICULAÇÃO DE QUITOSANA

Arlan de Assis Gonsalves e Cleônia Roberta Melo Araújo

Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina Centro, 56304-917 Petrolina - PE, Brasil

Nivaldo Alves Soares, Marília Oliveira Fonseca Goulart e Fabiane Caxico de Abreu*

Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, 57072-970 Maceió - AL, Brasil

Recebido em 18/5/10; aceito em 1/2/11; publicado na web em 1/4/11

DIFFERENT STRATEGIES FOR CROSSLINKING OF CHITOSAN. One of the most important aspects of chitosan's derivatization depends on the crosslinking of their polymeric chains. This chemical strategy may confer new properties to those derivatives, which can be used to enhance their biotechnological applications. So far, this work aims to discuss some strategies related to the crosslinking of chitosan focusing on reagents, reaction mechanisms and properties/applications of the crosslinked derivatives in several fields of science.

Keywords: chitosan; crosslinking reagents; reaction mechanisms.

INTRODUÇÃO

A modificação da estrutura química de biopolímeros, com o intuito de conferir-lhes propriedades funcionais adicionais ou simplesmente melhorar atributos já característicos dos mesmos é uma atividade de pesquisa muito explorada, haja vista o número expressivo de publicações científicas e de patentes disponíveis. A quitosana é um biopolímero que apresenta sítios reativos versáteis para modificações químicas, o que a insere em um conjunto de biomoléculas de grande interesse para pesquisadores de diversos ramos da ciência, uma vez que derivados de quitosana obtidos por meio dessas transformações demonstram diversas aplicações biotecnológicas, biomédicas e farmacêuticas.¹

Muitos dos métodos disponíveis na literatura para obtenção de derivados estruturais da quitosana promovem a reticulação das cadeias poliméricas desse biopolímero, estratégia que confere às quitosanas modificadas propriedades atraentes, tais como, maior resistência à dissolução em meio ácido,² menor hidrofília,³ geração de estruturas poliméricas densas ou porosas e redução da reatividade química do material preparado.⁴ Frente a essas novas propriedades, aplicações mais específicas podem ser vinculadas à quitosana: fabricação de resinas para extração em fase sólida de íons metálicos,⁵ corantes e poluentes orgânicos,⁶⁻⁸ desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos e construção de biossensores baseados na imobilização de enzimas ou de células vivas em filmes de quitosana reticulada.⁹⁻¹²

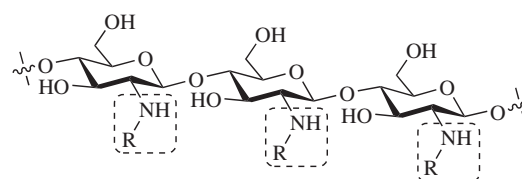
Apesar de já existirem artigos de revisão que abordam a funcionalização de quitosana e a aplicação dos respectivos derivados, ainda há escassez de relatos detalhados sobre os diferentes processos e agentes de reticulação utilizados. Em razão disso e da importância do tema exposto, o presente trabalho visou reunir e discutir uma série de estratégias relacionadas com a reticulação de quitosana. O artigo inicia com um breve relato acerca dos aspectos químicos desse biopolímero diretamente relacionados com o tema exposto para, em seguida, discutir os diferentes agentes de reticulação, os mecanismos reacionais e as propriedades e aplicações dos derivados produzidos.

*e-mail: fca@qui.ufal.br

ASPECTOS QUÍMICOS DA QUITOSANA

A quitosana é um heteropolissacarídeo preparado a partir da reação de *N*-desacetilação da quitina, um dos biopolímeros mais abundantes depois da celulose, e que é extraída principalmente de carapaças e exoesqueletos de crustáceos.

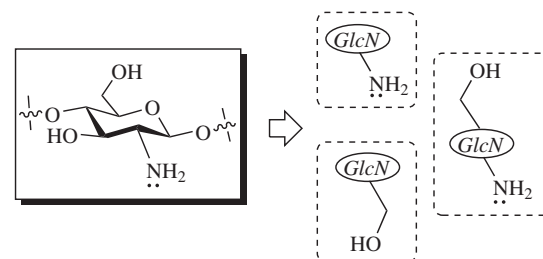
Quimicamente, a quitosana se apresenta na forma de um copolímero composto por unidades estruturais de 2-amino-2-desoxi-*D*-glicopiranosose (*GlcN*) e 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicopiranosose (*GlcNAc*) unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4) (Esquema 1), porém, com a unidade de glicosamina (*GlcN*) sempre em maior proporção.¹³ Na obtenção da quitosana via *N*-desacetilação da quitina, os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) das unidades de *N*-acetilglicosamina (*GI-NAc*) remanescentes do precursor são con-



Quitina: R = COCH₃

Quitosana: R = H (*GlcN*) ou COCH₃ (*GlcNAc*)

Formas abreviadas da unidade de glicosamina (*GlcN*):



Esquema 1. Diferenças entre as estruturas químicas de quitina e quitosana e formas abreviadas das unidades estruturais de glicosamina (*GlcN*) destacando apenas os sítios mais susceptíveis às reações de entrecruzamento

vertidos em grupos amino ($-\text{NH}_2$), em taxas variadas, para originar o heteropolissacarídeo com diferentes graus médios de substituição (GD). Em geral, o produto *N*-desacetilado da quitina só passa a ser considerado quitosana quando o GD se torna igual ou superior a 60%, percentagem a partir da qual o biopolímero se torna solúvel em soluções ácidas diluídas. A massa relativa (*Mr*) da quitosana varia de acordo com a metodologia utilizada em sua preparação e, de forma geral, está compreendida entre 10^4 e 10^6 g mol⁻¹.¹⁴

O grau de desacetilação (GD) é uma propriedade química muito importante da quitosana, sendo um parâmetro que expressa o conteúdo médio de unidades de *GlcN* nas cadeias desse biopolímero. Esse parâmetro é capaz de influenciar as características químicas, físicas e biológicas do biopolímero.¹⁵ Do ponto de vista químico, o GD da quitosana exerce influência sobre algumas de suas propriedades, tais como, hidrofobia, capacidade de reticulação na presença de determinados agentes de entrecruzamento,¹⁶ solubilidade e viscosidade de suas soluções.¹⁷

A quitosana atua como uma base fraca, apresentando pKa de grupos amino nas unidades de *GlcN* variando entre 6,3 e 7,2, o qual é influenciado pelo GD e pela densidade de carga.^{17,18} Assim, o valor do pKa tende a diminuir com o aumento do GD e, como consequência, alguns processos de reticulação tendem a alterar levemente o valor da constante de acidez.¹⁹

Uma característica singular da quitosana reside no fato desse heteropolissacarídeo apresentar, dentre todos os biopolímeros naturais, o maior caráter catiônico,²⁰ uma vez que a maioria dos polissacarídeos animais ou vegetais apresenta caráter neutro (celulose, dextrana, amido) ou aniônico (alginato, carragenina, xantana).¹⁷ Em adição, algumas funções particulares da quitosana estão diretamente relacionadas a seu caráter eletrolítico,¹⁷ inclusive certos procedimentos de reticulação de suas cadeias.

A quitosana é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, sendo solúvel na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6,0. Os ácidos acético e fórmico são os mais usados na solubilização do biopolímero. Em adição, dispersões de quitosana também podem ser preparadas por dissolução em ácidos inorgânicos diluídos, tais como, nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico.²¹ Após dissolução em meio ácido, os grupos amino livres da quitosana tornam-se protonados ($-\text{NH}_3^+$), o que facilita sua solvatação em água.²² Essa é a razão pela qual o biopolímero passou a ser classificado como um polieletrólito catiônico.¹⁷

A versatilidade química da quitosana resulta principalmente da presença dos grupos amino em sua estrutura, os quais oferecem muitas possibilidades de modificações, tais como, *N*-acetilação, *N*-alquilação, *N*-carboxilação, *N*-sulfonação e formação de bases de Schiff com aldeídos e cetonas.²³ Apesar da maioria das modificações químicas da quitosana ocorrer em seus grupos amino, as hidroxilas em C-3 e C-6 das unidades estruturais do biopolímero também são susceptíveis a reações. As modificações químicas nos grupos hidroxila ocorrem preferencialmente naqueles posicionados em C-6, uma vez que os localizados em C-3 são menos reativos e mais estericamente impedidos. Ao considerar apenas as unidades de *GlcN* da quitosana, a ordem decrescente de reatividade química é C-2 > C-6 > C-3 referindo-se, respectivamente, aos carbonos onde estão ligados os grupos amino, hidroxila primário e secundário. Nesse último centro, há necessidade de um forte agente de desprotonação para torná-lo pré-disponível a reações subsequentes.²⁴

ESTRATÉGIAS E PROCESSOS DE RETICULAÇÃO

A reticulação das cadeias poliméricas de quitosana, processo também denominado de reação de entrecruzamento, é um tipo de modificação química que visa unir suas cadeias poliméricas, ou ainda, ligar suas cadeias às de outros polímeros gerando redes poliméricas

híbridas.²⁵ Esse procedimento ocorre por meio da reação entre sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais da quitosana e alguns reagentes reticulantes. No caso da quitosana, os sítios mais reativos são os grupos amino e hidroxila das unidades de *GlcN* e *GlcNAc*.

Reações de reticulação visam principalmente modificar determinadas propriedades do biopolímero, tais como, estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quebra e capacidade de imobilização proteica e celular.⁹ O processo de reticulação sofre influência tanto de algumas características físico-químicas da quitosana utilizada quanto das condições reacionais adotadas. Dessa forma, GD, massa relativa, temperatura e tempo reacional elevados, em geral, favorecem as reações e consequentemente promovem o aumento do grau de reticulação. As reticulações também sofrem influência do tipo e da concentração do agente de entrecruzamento envolvido no processo. Com a elevação do grau de reticulação, reduz-se a porosidade do material obtido, a permeabilidade à água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas.²⁵

Há algumas finalidades que justificam a realização desse tipo de modificação química na quitosana. Ao se fazer uma correlação entre a necessidade de reticulação da quitosana e a aplicação do produto final podem-se citar os seguintes casos: a fabricação de adsorventes e de resinas de pré-concentração requer biopolímeros resistentes a meios fortemente ácidos; assim, a reticulação química é capaz de conferir essa propriedade aos polímeros;²⁶ o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos demanda matrizes permeáveis à água e aptas a aprisionar, transportar e liberar as substâncias eficientemente; por esse motivo, algumas reticulações são capazes de suprir tais exigências⁹ e, em relação à imobilização de biocomponentes, faz-se necessário manter ao máximo as funções e atividades desses materiais biológicos, fato que a quitosana reticulada também é capaz de proporcionar.¹¹

A maior parte dos processos de reticulação une covalentemente as cadeias poliméricas de quitosana por meio de mecanismos reacionais distintos e dependentes do tipo de agente de entrecruzamento empregado. Essas reações ocorrem unindo de forma permanente sítios reativos de cadeias poliméricas diferentes através de ligações intermoleculares, ou regiões distintas de uma mesma cadeia por meio de ligações intramoleculares.²⁷

Outra forma de reticular permanentemente a quitosana consiste em realizar reações radiculares induzidas por um iniciador fotoquímico ativado por luz ultravioleta. Nesses processos, cadeias poliméricas de quitosana são reticuladas com a introdução de moléculas sintéticas entre suas estruturas. O procedimento traz certas vantagens em relação à reticulação covalente convencional, tais como, baixo consumo de energia, experimentos conduzidos em temperatura ambiente, redução do tempo de reação e aumento da qualidade do produto final.²⁸

Além dos entrecruzamentos permanentes, reticulações via interações físicas (iônicas) também são possíveis. Nesses processos, atrações eletrostáticas fortes passam a ocorrer entre as regiões catiônicas da quitosana (grupos amino protonados: $-\text{NH}_3^+$) e os sítios aniônicos de um agente de entrecruzamento com essa característica particular. Apesar das vantagens associadas a esse tipo de reticulação, mecanismo reacional simples e procedimento experimental realizado em etapa única, o mesmo demonstra menor estabilidade, já que é muito sensível a alterações do pH e da força iônica do meio. Esses últimos aspectos tornam esse processo de reticulação reversível.²⁹

AGENTES DE RETICULAÇÃO E ASPECTOS MECANÍSTICOS

Agentes de reticulação são substâncias que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter ou intracadeias poliméricas.²⁵ Ao fazer

um levantamento bibliográfico em busca de reagentes químicos já empregados como agentes de entrecruzamento de quitosana foi possível encontrar uma variedade dessas substâncias. A Tabela 1 traz uma relação de compostos químicos empregados como agentes de reticulação em diversas publicações, fazendo uma classificação deles quanto aos sítios de ligação na quitosana e listando a aplicação do derivado produzido.

Reticulação covalente

Ao se empregarem aldeídos monofuncionais (formaldeído) ou bifuncionais (gloxal e glutaraldeído) como agentes de entrecruzamento, a reticulação ocorre via adição nucleofílica da amina da quitosana à carbonila dos agentes. A reação de eliminação subsequente produz as correspondentes aldiminas ou bases de Schiff. O mesmo mecanismo reacional ocorre quando são empregadas cetonas bifuncionais (benzoquinona). As correspondentes cetiminas são geradas por meio desse processo. Na reticulação com formaldeído, observa-se uma

particularidade no mecanismo de reticulação. Após o ataque nucleofílico, forma-se um produto intermediário, a *N*-metilenoquitosana, que, em seguida, reage com outro grupo amino da cadeia polimérica para propiciar a reticulação. Essa metodologia foi adotada por Singh e colaboradores para produzir géis de quitosana.³³ No procedimento, as reações de entrecruzamento foram realizadas em fase homogênea e em meio ácido (Esquema 2A).

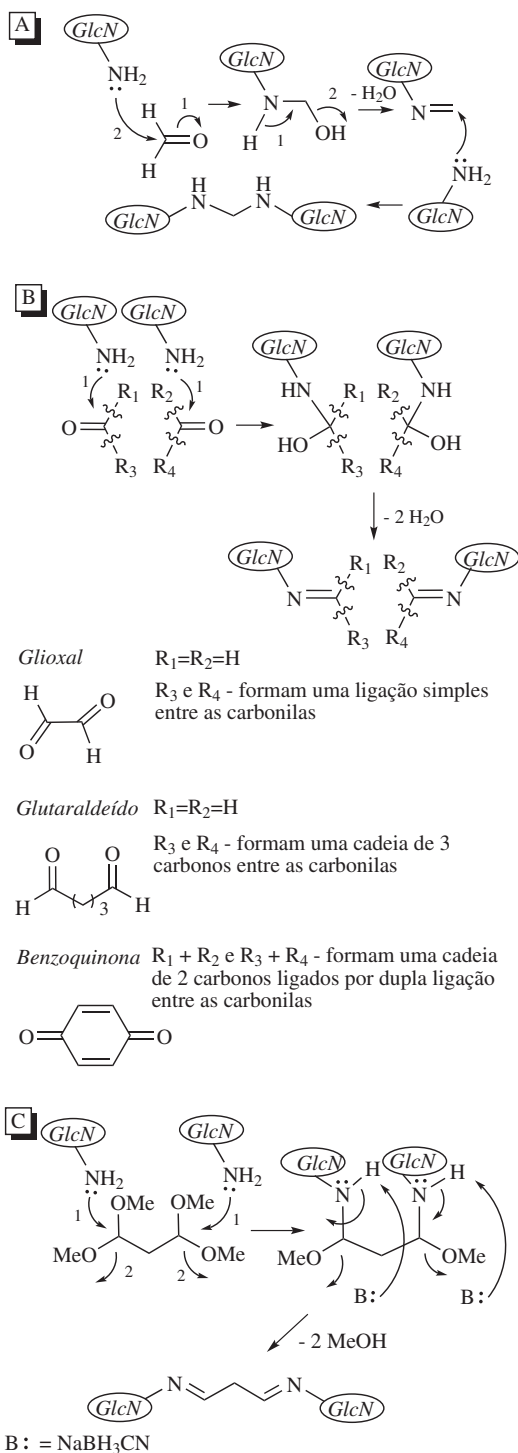
Gupta e Jabrail desenvolveram sistemas de liberação controlada para um contraceptivo não esteroidal (ormeloxifeno) utilizando microesferas de quitosana reticuladas com glioxal e glutaraldeído.¹⁶ Os procedimentos foram conduzidos em fase heterogênea e em meio ácido (pH 4,0) para o glioxal e neutro (pH 7,0) para o glutaraldeído (Esquema 2B). Em 2001, McAfee e colaboradores promoveram a reticulação de quitosana em meio alcalino empregando benzoquinona como agente de entrecruzamento.⁴¹ A quitosana preparada foi utilizada em estudos de adsorção de alguns cátions metálicos (Cu²⁺, Zn²⁺, As³⁺, Al³⁺ e Cr⁶⁺) (Esquema 2B). Para a obtenção de géis de quitosana, Capitani e colaboradores utilizaram o 1,1,3,3-tetrametoxipropano para a reticulação

Tabela 1. Reagentes químicos utilizados para a reticulação de quitosana e aplicação dos derivados produzidos

Agente reticulante	Aplicação ^{Ref.}
Ligante de Grupos –NH₂:	
Formaldeído ^a	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de fármaco: cimetidina, famotidina, nizatidina,³⁰ insulina³¹ e salbutamol³² preparação de gel³³
Gloxal ^a	<ul style="list-style-type: none"> imobilização enzimática: pepsina,¹⁰ peroxidase³⁴ incorporação e liberação de fármaco: ormeloxifeno¹⁶ estudo de reticulação³⁵
Glutaraldeído ^a	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de contraste: gadolínio³⁶ construção de biossensor celular: <i>Pseudomonas sp.</i>,¹² <i>Gluconobacter oxidans</i>³⁷ adsorção de cátion metálico: Mn²⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ e Cr⁶⁺,³⁸ Hg²⁺³⁹ pré-concentração de cátion metálico: Zn²⁺⁴⁰
Benzoquinona ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Cu²⁺, Zn²⁺, As³⁺, Al³⁺ e Cr⁶⁺⁴¹
1,1,3,3-Tetrametoxipropano ^a	<ul style="list-style-type: none"> preparação de gel⁴²
Ácido nitriloacético (NTA) ^a	<ul style="list-style-type: none"> preparação de gel quelante de cátion metálico: Cu²⁺⁴³
Ácido etilenodiaminotetracético ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Ca²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ e avaliação de propriedade mucoadesiva e de inibição enzimática: tripsina, quimotripsina, elastase, carboxipeptidase A e aminopeptidase N⁴⁴
Ácido dietilenotriaminopentacético ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Zn²⁺ e avaliação de propriedade mucoadesiva e de inibição enzimática: carboxipeptidase A e aminopeptidase N⁴⁵
Acrilato de metila (AM) ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Ag⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Pd²⁺, Hg²⁺, Au³⁺ e Pt⁴⁺⁴⁶
1,2-Etanoditol ^a	<ul style="list-style-type: none"> estudo de interação de cátion metálico: Ag⁺, Cu²⁺ e Hg²⁺⁴⁷
Genipina ^a	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de óleo vegetal: <i>Zanthoxylum limonella</i>⁴⁸ preparação de hidrogel para cultura de células do disco intervertebral⁴⁹ preparação de hidrogel com capacidade de reconhecimento do <i>o</i>-xileno⁵⁰
2-Iminotiolano ^a	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de hormônio: fator de crescimento de fibroblastos⁵¹
Tripolifosfato ^b	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Cu²⁺,²⁷ Mn²⁺ e Fe³⁺⁵² imobilização enzimática: lipase⁵³
Pirofosfato ^b	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de fármaco: riboflavina⁵⁴
Fosfato ^b	<ul style="list-style-type: none"> incorporação e liberação de fármaco: riboflavina⁵⁴
Citrato ^b	<ul style="list-style-type: none"> construção de biossensor enzimático: peroxidase⁵⁵ incorporação e liberação de fármaco: ácido acetilsalicílico,⁵⁶ 5-fluoracil e indometacina⁵⁷
Sulfato ^b	<ul style="list-style-type: none"> revestimento da superfície de tijolos⁵⁸ preparação de gel⁵⁹ e membrana⁶⁰
Ligante de Grupos –OH:	
Epilcloridrina ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de ânion inorgânico: NO₃⁻⁶¹ adsorção de corante: vermelho 189,⁶ índigo carmim⁶² e outros corantes⁶³ adsorção de matéria orgânica: ácido húmico⁸
Etilenoglicol ^a	<ul style="list-style-type: none"> estudo de degradação de filme polimérico²⁸
Etilenoglicol dimetacrilato ^a	<ul style="list-style-type: none"> estudo de degradação de filme polimérico²⁸
Ligante de Grupos –NH₂ ou –OH:	
Etilenoglicol diglicidil éter ^a	<ul style="list-style-type: none"> pré-concentração de cátion metálico: Ag⁺,⁶⁴ Hg²⁺,⁶⁵ Cd²⁺, Pb²⁺ e Cu²⁺⁶⁶ adsorção de cátion metálico: Cu²⁺⁶⁷ adsorção de corante: vermelho 37 e azul 25⁷
Diisocianato de hexametileno ^a	<ul style="list-style-type: none"> adsorção de cátion metálico: Au³⁺¹⁹

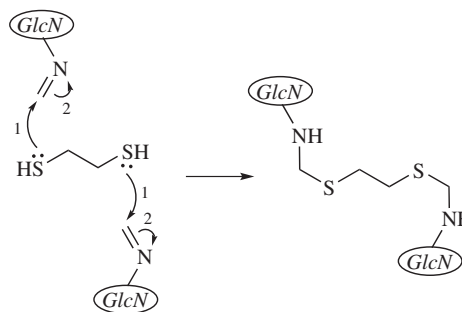
desse biopolímero, sendo o material produzido caracterizado por meio de diferentes técnicas de RMN.⁴² Os experimentos de reticulação foram realizados em fase homogênea e em solução aquosa ácida (pH 4,7). O mecanismo da reação é similar à reticulação com aldeídos bifuncionais, já que esse composto atua como um “dialdeído mascarado”. A diferença reside na redução das bases de Schiff geradas com cianoboridreto de sódio (NaBH_3CN) (Esquema 2C).

Vieira e colaboradores utilizaram o reagente 1,2-etanoditiol como agente de entrecruzamento de quitosana e estudaram a natureza das interações desse derivado com íons Ag^+ , Hg^{2+} e Cu^{2+} .⁴⁷ Nesse procedimento, a quitosana sólida foi inicialmente submetida à reação



Esquema 2. Reticulação de quitosana com o emprego de: a) formaldeído; b) glioxal, glutaraldeído ou benzoquinona e c) 1,1,3,3-tetrametoxipropano

com formaldeído até a geração da imina. Posteriormente, o agente ditiólico foi adicionado para propiciar a reticulação (Esquema 3).

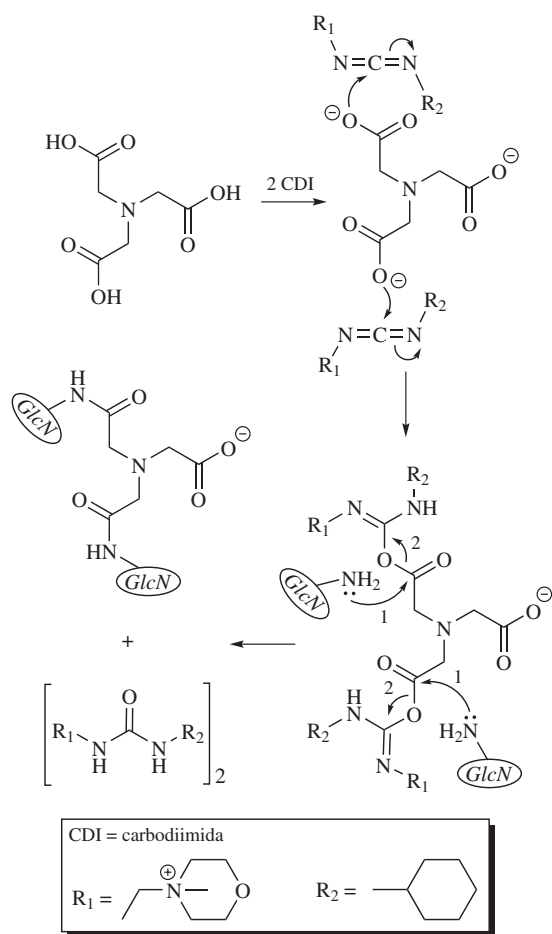


Esquema 3. Reticulação de quitosana com o emprego de 1,2-etanoditiol

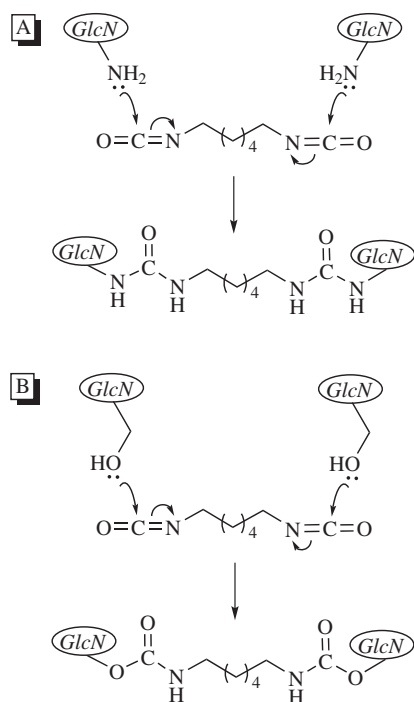
Ao reticular quitosana com agentes de entrecruzamento contendo duas ou mais funções ácido carboxílico, tais como os complexantes: ácidos nitriloacético, etilenodiaminotetracético e dietilenotriaminopentacético, a reação se processa via adição nucleofílica para originar as amidas correspondentes. Em 1996, Tikhonov e colaboradores produziram géis quelantes de quitosana por reticulação com ácido nitrilotriacético (NTA).⁴³ A reação foi conduzida em fase homogênea e em solução aquosa alcalina utilizando uma carbodi-imida (CDI) solúvel em água para promover a amidação. Por intermédio de titulações ácido-base, os autores concluíram que, devido ao grande impedimento estérico, o NTA não reage como um reticulante trifuncional, mas sim como um bifuncional (Esquema 4). Anos depois, Bernkop-Schnürch e Kast relataram que a incorporação de tais complexantes entre as cadeias poliméricas de quitosana pode resultar, a depender do número de moléculas do agente de entrecruzamento inseridas, na inversão do caráter eletrolítico do biopolímero, de catiônico para aniônico, em razão da presença de um excesso de grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$) livres na matriz.⁶⁸ Esse efeito traz uma vantagem, já que a resina aniônica gerada se torna mais propensa a quelar íons metálicos e corantes catiônicos em soluções neutras e alcalinas.

O reagente hexametileno di-isocianato (HMDI), composto bifuncional empregado como agente de entrecruzamento por Arrascue e colaboradores, é capaz de unir cadeias de quitosana através dos grupos amino e/ou hidroxila do heteropolímero.⁶⁹ Devido à baixa solubilidade e à elevada reatividade dessa substância em fase aquosa, meio favorável à forma canônica do HMDI, reticulações empregando esse ligante devem ser conduzidas em solventes orgânicos. A reticulação com HMDI ocorre via ataque nucleofílico do grupo amino (Esquema 5A) e/ou hidroxila (Esquema 5B) da quitosana às carbonilas do agente de entrecruzamento, para produzir, respectivamente, os grupos amido e carbamato.

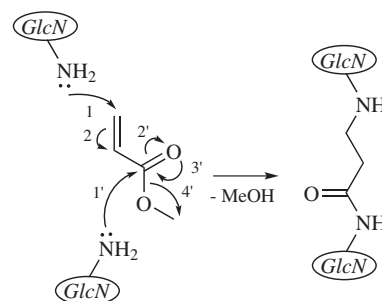
Para a preparação de um novo adsorvente resistente ao meio ácido visando estudos de adsorção de cátions metálicos nobres (Au^{3+} , Pd^{2+} , Pt^{4+} e Ag^+) e pesados (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} e Cd^{2+}) Qu e colaboradores utilizaram acrilato de metila (AM) e etilenodiamina para a obtenção de um dendrímero de poliamidoamina (PAMAM) empregando quitosana como suporte sólido.⁴⁶ O método adotado pelos autores constituiu-se de dois processos consecutivos: reação de adição de Michael do AM aos grupos amino da quitosana e, amidação dos ésteres resultantes com etilenodiamina. Logo na primeira etapa sintética, foi conduzida em fase heterogênea e tendo metanol como solvente, verificaram a formação de ligações entre o AM e os grupos amino das cadeias do biopolímero. Assim, constatou-se que nessa reticulação ocorrem dois tipos de reações: a adição de Michael de um grupo amino à dupla ligação do AM e a substituição nucleofílica no grupo éster do reagente com outro grupo amino do biopolímero (Esquema 6).



Esquema 4. Reticulação de quitosana com o emprego de ácido nitriloacético (NTA)



Esquema 5. Reticulação de quitosana com o emprego de hexametileno diisocianato (HMDI): a) ligando cadeias por meio de grupos amino; b) ligando cadeias por meio de grupos hidroxila



Esquema 6. Reticulação de quitosana com o emprego de acrilato de metila (AM)

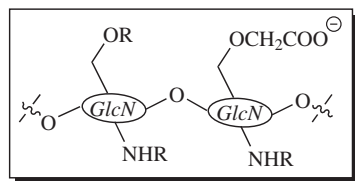
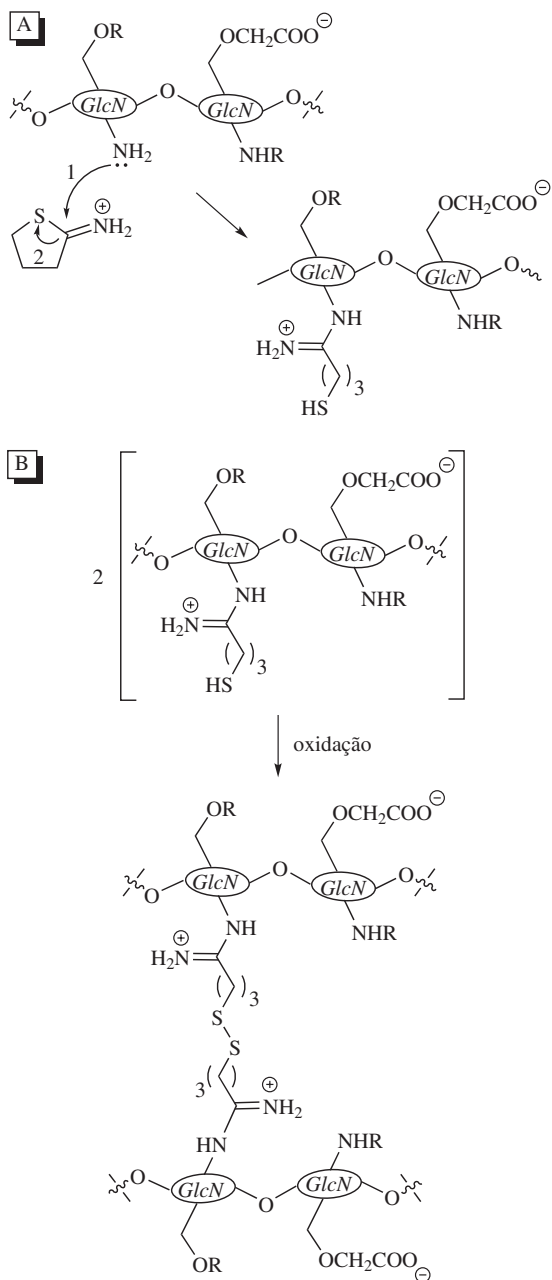
Em 2010, Ho e colaboradores sintetizaram uma série de derivados de quitosana visando produzir novas matrizes poliméricas para atuarem como sistemas de liberação do fator de crescimento de fibroblastos.⁵¹ Dentre os derivados poliméricos produzidos, um deles apresentou um processo de reticulação de suas cadeias por meio da formação de ligações dissulfeto. O entrecruzamento ocorreu após a reação entre a 2-*N*-3,6-*O*-sulfato de 6-*O*-carboximetilquitosana (N,O-SOCC), um derivado de quitosana previamente preparado pelos autores, e o agente 2-iminotiolano. Inicialmente, a tioração do N,O-SOCC foi realizada utilizando 2-iminotiolano em solução aquosa e à temperatura ambiente, sendo os meios ácido (pH 5,0) e neutro (pH 7,0) os mais eficientes para a modificação almejada (Esquema 7A). Após a purificação do tioderivado preparado, a oxidação das tio-hidroxilas livres para a formação das ligações dissulfeto foi melhor conduzida em meio tamponado (tampão fosfato pH 7,4) e sob atmosfera de oxigênio (Esquema 7B).

Ao se empregar a epícloridrina (haleta de epóxi-alkila) na reticulação de cadeias de quitosana, o processo é iniciado com uma reação de eliminação do haleta, seguida de abertura do epóxido, com consequente formação do entrecruzamento (Esquema 8A). Esse agente reticulante foi empregado por Torres e colaboradores, na preparação de microesferas de quitosana com o objetivo de estudar suas resistências térmica, mecânica e química.⁷⁰ No procedimento adotado pelos autores, a reação de entrecruzamento foi conduzida em fase heterogênea e em solução aquosa alcalina.

O etilenoglicol diglicidil éter (EDGE) é uma substância empregada para formar reticulações tanto entre grupos amino quanto entre grupos hidroxila.⁵ Zeng e colaboradores produziram membranas macroporosas de quitosana para emprego em separações proteicas utilizando EDGE como agente de entrecruzamento.⁷¹ Nesse processo, com reação conduzida em fase heterogênea e em meio aquoso, o mecanismo reacional ocorreu via abertura dos epóxidos após a reação desses com os grupos amino nas cadeias do biopolímero (Esquema 8B).

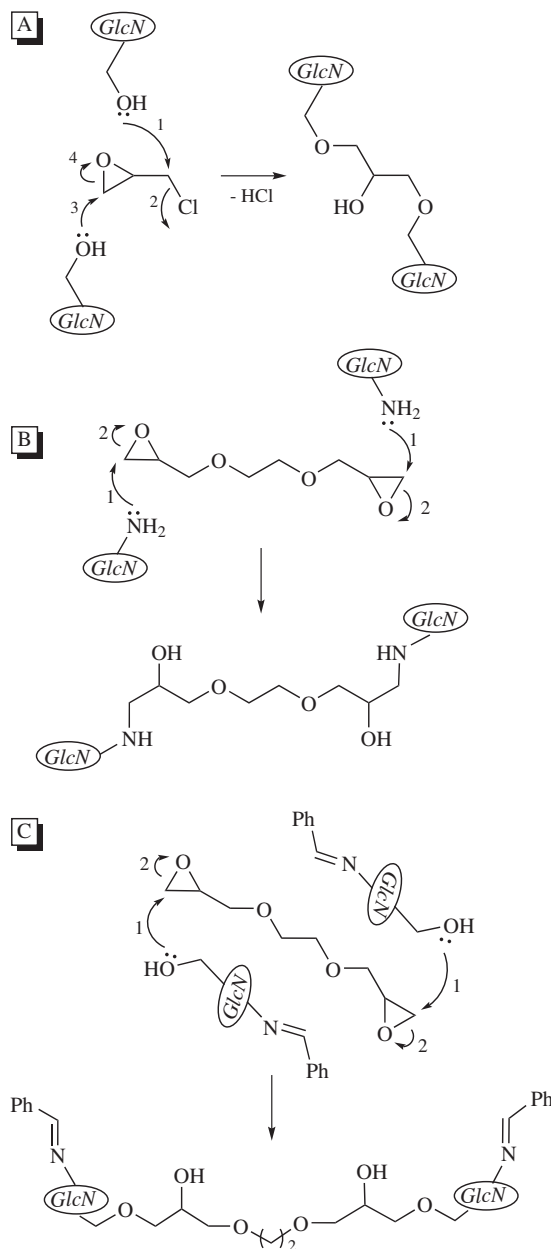
A reticulação das cadeias poliméricas de quitosana empregando EDGE, via reação com os grupos hidroxila, exige uma etapa de proteção dos grupos amino, que pode ser realizada empregando benzaldeído em meio metanólico ou ftalimida.^{72,73} Após processo de reticulação, a desproteção dos grupos amino pode ser realizada empregando-se uma solução de ácido clorídrico diluído, o que libera esses grupos para modificações químicas futuras.⁶⁶ Em 2001, Oshita e colaboradores prepararam uma resina quelante derivada da quitosana visando estudos de adsorção de cátions metálicos e ânions inorgânicos empregando esse método de reticulação.⁷⁴ Em seus experimentos, a reação de entrecruzamento foi precedida da proteção dos grupos amino com benzaldeído e, posteriormente, as cadeias poliméricas da quitosana foram reticuladas com EDGE por meio de grupos hidroxila do biopolímero. A reação foi conduzida em fase heterogênea e em uma mistura de solução aquosa de hidróxido de sódio e dioxano (Esquema 8C).

Derivado N,O-SOCC:

R = H ou SO₃⁻

Esquema 7. Reticulação de quitosana com o emprego de 2-iminotiolano: a) tiolação do derivado N,O-SOCC; b) ligação das cadeias poliméricas por formação de ligação dissulfeto

A reticulação química de quitosana com o objetivo de obter derivados para aplicações farmacêuticas (sistemas de liberação controlada) ou biomédicas (engenharia de tecidos e culturas celulares) tem como limitação o uso de reticulantes químicos que são, em sua grande maioria, tóxicos. Na busca de uma so-

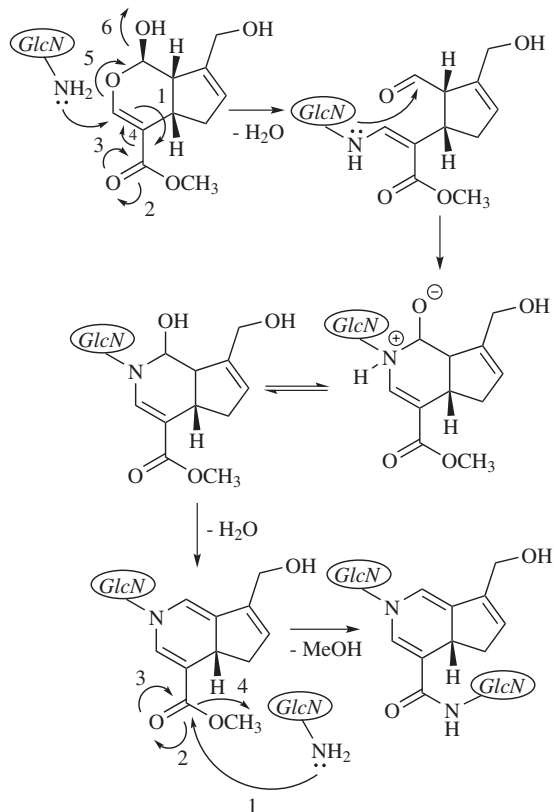


Esquema 8. Reticulação de quitosana com o emprego de: a) epicloridrina; b) etilenoglicol diglicidil éter com ligação das cadeias por meio dos grupos amino e c) etilenoglicol diglicidil éter com ligação das cadeias por meio de grupos hidroxila

lução para esse problema, alguns pesquisadores voltaram seus estudos para a descoberta de agentes de entrecruzamento menos citotóxicos e mais biocompatíveis. Foi assim que a genipina, um produto natural isolado de *Genipa americana* e *Gardenia jasminoides* Ellis, foi introduzida como um eficaz reticulante químico de quitosana.⁷⁵

Segundo Muzzarelli, o mecanismo de reticulação das cadeias poliméricas de quitosana pela genipina é influenciado pelo pH do meio reacional.⁷⁶ Assim, dois processos químicos de reticulação podem acontecer: um em meio ácido ou neutro e outro em meio alcalino. Em 2008, Chiono e colaboradores empregaram a genipina para reticular quitosana e produzir blendas entre o heteropolímero e uma gelatina proteica derivada da desnaturação do colágeno.⁷⁵ As blendas obtidas tornaram-se então alvo de estudos de suas propriedades físico-químicas e de sua aplicação na adesão e proliferação

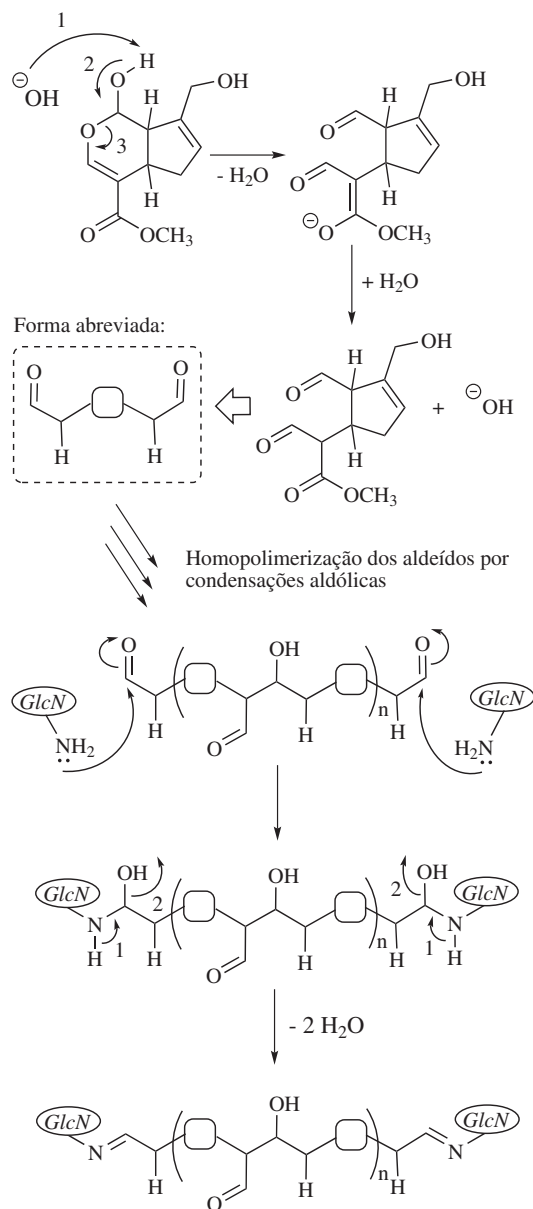
de neurônios. Nesse trabalho, a reação de entrecruzamento foi conduzida em meio homogêneo e em solução aquosa ácida. Na proposta do mecanismo reacional, sugere-se um ataque nucleofílico inicial de um grupo amino da quitosana ao carbono olefínico em C-3, com consequente abertura do anel di-hidropirânico e geração da função aldeído na molécula. A aldoxila reage então com a amina secundária recém-formada para gerar o novo heterociclo. Na etapa final da reticulação ocorre uma substituição nucleofílica no éster da genipina por uma amina primária do biopolímero, com consequente formação de metanol (Esquema 9).



Esquema 9. Reticulação de quitosana com o emprego de genipina em meio ácido

A reticulação de quitosana com genipina em solução aquosa alcalina é antecedida por uma reação de homopolimerização do agente de entrecruzamento. No processo, a polimerização do reticulante inicia-se com a abertura do anel di-hidropirânico por meio de ataque nucleofílico promovido por íons hidroxila do meio reacional. Isso resulta na formação de grupos aldoxila na molécula que, em seguida, sofrem condensação aldólica. Na etapa final, os grupos aldoxila terminais da genipina polimerizada participam de uma reação de Schiff com as aminas das cadeias da quitosana para promover a reticulação⁷⁶ (Esquema 10).

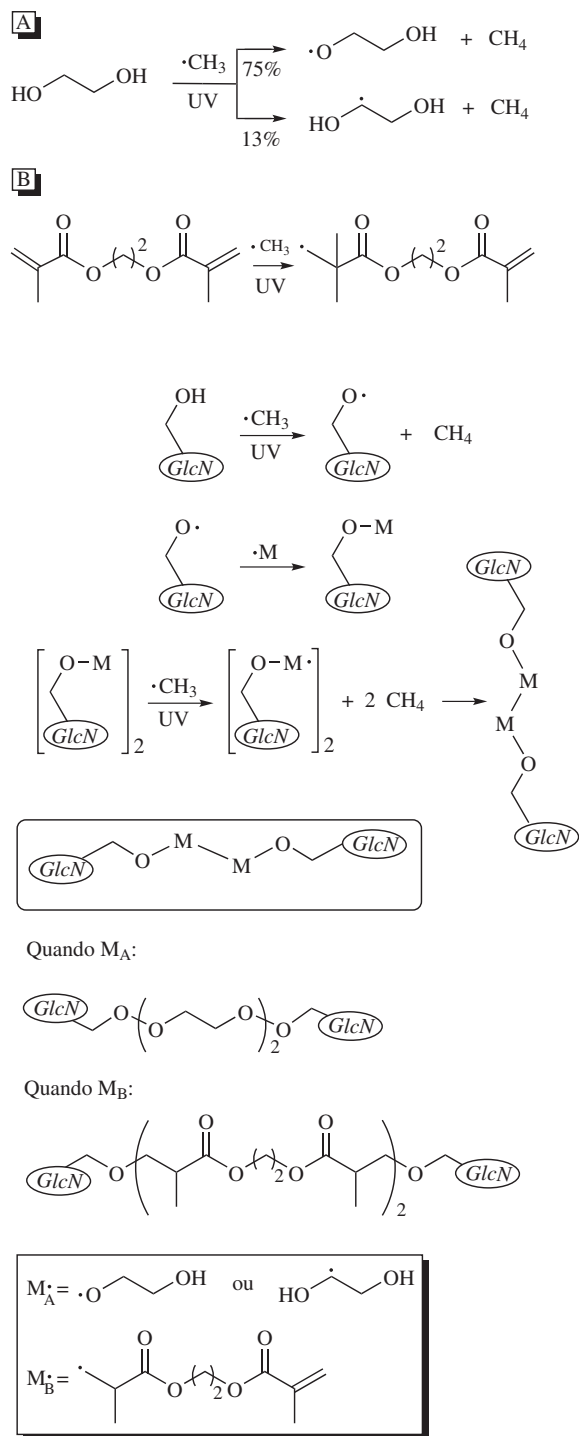
Haque e colaboradores produziram filmes de quitosana, por reticulação via reação radicalar, e estudaram as propriedades mecânicas e de degradação dos biomateriais produzidos.²⁸ O processo experimental foi conduzido empregando-se irgacure-651 (2,2-dimetoxi-1,2-difeniletanona) como iniciador de radicalar e etilenoglicol e dimetacrilato como agentes de entrecruzamento. Nesse mecanismo, o radical metila ($\bullet\text{CH}_3$) produzido pelo fotoiniciador, ativado por irradiação UV, promove a formação de sítios radicalares na quitosana e nas moléculas utilizadas como reticulantes que, em seguida, reagem entre si unindo as cadeias poliméricas (Esquema 11).



Esquema 10. Abertura do anel dihidropirânico da genipina em meio alcalino seguido de homopolimerização do agente de entrecruzamento e reticulação das cadeias poliméricas de quitosana

Reticulação iônica

A reticulação iônica é um processo reacional muito prático do ponto de vista experimental, uma vez que exige apenas a mistura do agente de entrecruzamento com a quitosana. Ao utilizar esse procedimento de reticulação, Nilpairach e Dubas revestiram superfícies de tijolos com filmes de quitosana reticulada com o objetivo de obter blocos cerâmicos menos porosos e com propriedade hidrofóbica.⁵⁹ Os agentes de reticulação empregados foram os íons sulfato, tripolifosfato e citrato, todos na forma de seus respectivos sais sódicos. O método de revestimento consistiu inicialmente em pulverizar os tijolos com uma solução ácida de quitosana e, após secagem, proceder com uma rápida imersão dos tijolos recém-preparados em solução de hidróxido de sódio. Os blocos cerâmicos foram novamente postos para secar e, em seguida, foram imersos nas respectivas soluções dos agentes de entrecruzamento para promover a formação das reticulações iônicas. Uma última etapa de

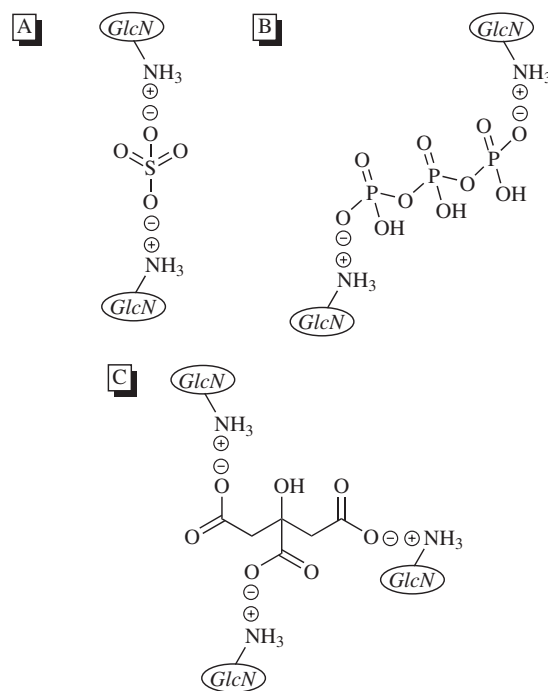


Esquema 11. Reticulação radicalar de quitosana com o emprego de: a) etilenoglicol e b) etilenoglicol dimetacrilato

secagem à temperatura ambiente foi realizada para finalizar todo o processo (Esquema 12).

CONCLUSÕES

A quitosana é uma matéria-prima natural, abundante e útil em diversas aplicações, sendo a reticulação de suas cadeias poliméricas uma maneira de alterar algumas de suas propriedades, tais como, a sua solubilidade em meio ácido. Assim, o entrecruzamento das cadeias desse biopolímero possibilita que determinadas aplicações



Esquema 12. Reticulação iônica de quitosana com o emprego de: a) sulfato; b) tripolifosfato e c) citrato

sejam alcançadas como, por exemplo, a utilização de derivados de quitosana na retenção de íons metálicos em soluções ácidas. Em face de todas as reações químicas descritas para a reticulação das cadeias desse heteropolissacarídeo, fica evidente que os grupos amino e hidroxila são os responsáveis diretos pela grande possibilidade de modificações que o mesmo pode sofrer. Na maioria dos processos mostrados, os agentes de reticulação empregados foram os que promoviam a formação de ligações covalentes, com destaque para a possibilidade de reversão da reticulação iônica em função de alterações do pH e da força iônica do meio em que o derivado produzido será utilizado. Dentre os diversos reagentes já utilizados para a reticulação do biopolímero, os mais empregados ainda continuam sendo o glutaraldeído, o etilenoglicol diglicidil éter e a epiclorigrina, haja vista que, na maioria das publicações relacionadas com a reticulação de quitosana, um desses agentes de entrecruzamento é empregado. Vale ressaltar ainda que o emprego do composto natural genipina na reticulação de quitosana tem hoje grande destaque, em virtude principalmente de sua menor toxicidade em relação aos demais reagentes de reticulação. A busca por novos agentes de entrecruzamento capazes de promover reticulações permanentes é de grande interesse científico. Em termos químicos, os mecanismos mostrados ao longo desse artigo de revisão deixam claro que os grupos reativos da quitosana atuam como nucleófilos nas reticulações covalentes e, portanto, compostos que apresentem mais de um sítio susceptível a ataque nucleofílico podem se tornar candidatos a reticulantes desse biopolímero.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CNPq/CTHIDRO, à CAPES e FAPEAL pelo suporte financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

- Laranjeira, M. C. M.; Fávère, V. T.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 672.
- Yi, Y.; Wang, Y.; Liu, H.; *Carbohydr. Polym.* **2003**, *53*, 425.

3. Assis, O. B. G.; Silva, V. L.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2003**, *13*, 223.
4. Torres, M. A.; Vieira, R. S.; Beppu, M. M.; Santana, C. C.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2005**, *15*, 306.
5. Ngah, W. S. W.; Endud, C. S.; Mayanar, R.; *React. Funct. Polym.* **2002**, *50*, 181.
6. Chiou, M. S.; Li, H. Y.; *Chemosphere* **2003**, *50*, 1095.
7. Kamari, A.; Ngah, W. S. W.; Liew, L. K.; *J. Environ. Sci.* **2009**, *21*, 296.
8. Ngah, W. S. W.; Hanafiah, M. A. K. M.; Yong, S. S.; *Colloids Surf., B* **2008**, *65*, 18.
9. Neto, C. G. T.; Dantas, T. N. C.; Fonseca, J. L. C.; Pereira, M. R.; *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 2630.
10. Altun, G. D.; Cetinus, S. A.; *Food Chem.* **2007**, *100*, 964.
11. Martín, A. B.; Picciolato, M.; Heras, A.; *Prog. Biotechnol.* **1998**, *15*, 679.
12. Odaci, D.; Timur, S.; Telefoncu, A.; *Sens. Actuators, B* **2008**, *134*, 89.
13. Alves, N. M.; Mano, J. F.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, *43*, 401.
14. Roberts, G. A. F.; *Chitin Chemistry*, The Macmillan Press: London, 1992.
15. Jiang, X.; Chen, L.; Zhong, W.; *Carbohydr. Polym.* **2003**, *54*, 457.
16. Gupta, K. C.; Jabrail, F. H.; *Carbohydr. Polym.* **2006**, *66*, 43.
17. Kumar, M. N. V. R.; *React. Funct. Polym.* **2000**, *46*, 1.
18. Crini, G.; Badot, P.-M.; *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 399.
19. Arrascue, M. L.; Garcia, H. M.; Horna, O.; Guibal, E.; *Hydrometallurgy* **2003**, *71*, 191.
20. Argin-Soysal, S.; Kofinas, P.; Loa, Y. M.; *Food Hydrocolloids* **2009**, *23*, 202.
21. Damian, C.; Beirão, L. H.; Francisco, A.; Espírito Santo, M. L. P.; Teixeira, E.; *Alimentos e Nutrição* **2005**, *16*, 195.
22. Lai, W.-F.; Lin, M. C.-M.; *J. Controlled Release* **2009**, *134*, 158.
23. Santos, J. E.; Soares, J. P.; Dockal, E. R.; Campana Filho, S. P.; Cavalheiro, E. T. G.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2003**, *13*, 242.
24. Lima, I. S.; Ribeiro, E. S.; Airolidi, C.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 501.
25. Berger, J.; Reist, M.; Mayer, J. M.; Felt, O.; Peppas, N. A.; Gurny, R.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *57*, 19.
26. Beppu, M. M.; Arruda, E. J.; Vieira, R. S.; Santos, N. N.; *J. Membr. Sci.* **2004**, *240*, 227.
27. Lee, S. T.; Mia, F. L.; Shena, Y. J.; Shyu, S. S.; *Polymer* **2001**, *42*, 1879.
28. Haque, P.; Mustafa, A. I.; Khan, M. A.; *Carbohydr. Polym.* **2007**, *68*, 109.
29. Airolidi, C.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 144.
30. He, P.; Davis, S. S.; Illum, L.; *Int. J. Pharm.* **1999**, *187*, 53.
31. Wang, L. Y.; Gu, Y. H.; Su, Z. G.; Ma, G. H.; *Int. J. Pharm.* **2006**, *311*, 187.
32. Corrigan, D. O.; Healy, A. M.; Corrigan, O. I.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2006**, *62*, 295.
33. Singh, A.; Narvi, S. S.; Dutta, P. K.; Pandey, N. D.; *Bull. Mater. Sci.* **2006**, *29*, 233.
34. Ichi, S. E.; Limam, F.; Marzouki, M. N.; *Mater. Sci. Eng., C* **2009**, *29*, 1662.
35. Yang, Q.; Dou, F.; Liang, B.; Shen, Q.; *Carbohydr. Polym.* **2005**, *59*, 205.
36. Saha, T. K.; Ichikawa, H.; Fukumori, Y.; *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 2835.
37. Odaci, D.; Timur, S.; Telefoncu, A.; *Bioelectrochemistry* **2009**, *75*, 77.
38. Vieira, R. S.; Beppu, M. M.; *Colloids Surf., A* **2006**, *279*, 196.
39. Gavilan, K. C.; Pestovc, A. V.; Garcia, H. M.; Yatluk, Y.; Roussy, J. R.; Guibal, E.; *J. Hazard. Mater.* **2009**, *165*, 415.
40. Carletto, J. S.; Roux, K. C. P.; Maltez, H. F.; Martendal, E.; Carasek, E.; *J. Hazard. Mater.* **2008**, *157*, 88.
41. McAfee, B. J.; Gould, W. D.; Nadeau, J. C.; Costa, A. C. A.; *Sep. Sci. Technol.* **2001**, *36*, 3207.
42. Capitani, D.; De Angelis, A. A.; Crescenzi, V.; Masci, G.; Segre, A. L.; *Carbohydr. Polym.* **2001**, *45*, 245.
43. Tikhonov, V. E.; Radigina, L. A.; Yamskov, Y. A.; *Carbohydr. Res.* **1996**, *290*, 33.
44. Bernkop-Schnürch, A.; Krajcicek, M. E.; *J. Controlled Release* **1998**, *50*, 215.
45. Bernkop-Schnürch, A.; Freudl, J.; *Pharmazie* **1999**, *54*, 369.
46. Qu, R.; Sun, C.; Ji, C.; Wang, C.; Chen, H.; Niu, Y.; Liang, C.; Song, Q.; *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 267.
47. Vieira, E. S.; Cestari, A. R.; Santos, E. B.; Dias, F. S.; *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *289*, 42.
48. Hussain, M. R.; Maji, T. K.; *J. Microencapsulation* **2008**, *25*, 414.
49. Mwale, F.; Iordanova, M.; Demers, C. N.; Steffen, T.; Roughley, P.; Antoniou, J.; *Tiss. Eng.* **2005**, *11*, 130.
50. Espinosa-García, B. M.; Argüelles-Monal, W. M.; Hernandez, J.; Félix-Valenzuela, L.; Acosta, N.; Goycoolea, F.; *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 3355.
51. Ho, Y.-C.; Wu, S.-J.; Mi, F.-L.; Chiu, Y.-L.; Yu, S.-H.; Panda, N.; Sung, H.-W.; *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 28.
52. Laus, R.; Laranjeira, M. C. M.; Martins, A. O.; Fávere, V. T.; Pedrosa, R. C.; Benassi, J. C.; Geremias, R.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 34.
53. Wu, Y.; Wang, Y.; Luo, G.; Dai, Y.; *Bioresour. Technol.* **2009**, *100*, 3459.
54. Shu, X. Z.; Zhu, K. J.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2002**, *54*, 235.
55. Maguerroski, K. S.; Fernandes, S. C.; Franzoi, A. C.; Vieira, I. C.; *Enzyme Microb. Technol.* **2009**, *44*, 400.
56. Chen, S.; Liu, M.; Jin, S.; Wang, B.; *Int. J. Pharm.* **2008**, *349*, 180.
57. Rana, V.; Babita, K.; Goyal, D.; Tiwary, A.; *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2004**, *8*, 10.
58. Nilpairach, S.; Dubas, S. T.; *J. Met., Mater. Miner.* **2008**, *18*, 33.
59. Ling, X.; Zu-yu, Y.; Chao, Y.; Hua-yue, Z.; Yu-min, D.; *J. Nat. Sci. (Wuhan Univ.)* **2004**, *9*, 247.
60. Karakeçili, A. G.; Satriano, C.; Gümü derelio lu, M.; Marletta, G.; *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *106*, 3884.
61. Chatterjee, S.; Lee, D. S.; Lee, M. W.; Woo, S. H.; *J. Hazard. Mater.* **2009**, *166*, 508.
62. Cestari, A. R.; Vieira, E. F. S.; Tavares, A. M. G.; Bruns, R. E.; *J. Hazard. Mater.* **2008**, *153*, 566.
63. Chiou, M. S.; Ho, P. Y.; Li, H. Y.; *Dyes Pigm.* **2004**, *60*, 69.
64. Hosoba, M.; Oshita, K.; Katarina, R. K.; Takayanagi, T.; Oshima, M.; Motomizu, S.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *639*, 51.
65. Hakim, L.; Sabarudin, A.; Oshita, K.; Oshima, M.; Motomizu, S.; *Talanta* **2008**, *76*, 1256.
66. Hakim, L.; Sabarudin, A.; Oshima, M.; Motomizu, S.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *588*, 73.
67. Chen, F.; Luo, G.; Yang, W.; Wang, Y.; *Tsinghua Sci. Technol.* **2005**, *10*, 535.
68. Bernkop-Schnürch, A.; Kast, C. E.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *52*, 127.
69. Naimark, W. A.; Pereira, C. A.; Tsang, K.; Lee, J. M.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1995**, *6*, 235.
70. Torres, M. A.; Vieira, R. S.; Beppu, M. M.; Santana, C. C.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2005**, *15*, 306.
71. Zeng, X.; Ruckenstein, E.; *J. Membr. Sci.* **1998**, *148*, 195.
72. Sabarudin, A.; Oshita, K.; Oshima, M.; Motomizu, S.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *542*, 207.
73. Lebourg, F.; Dez, I.; Desbrières, J.; Picton, L.; Made, P. J.; *Polymer* **2005**, *46*, 639.
74. Oshita, K.; Gao, Y. H.; Oshima, M.; Motomizu, S.; *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 317.
75. Chiono, V.; Pulieri, E.; Vozzi, G.; Ciardelli, G.; Ahluwalia, A.; Giusti, P.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2008**, *19*, 889.
76. Muzzarelli, R. A. A.; *Carbohydr. Polym.* **2009**, *77*, 1.