



APLICAÇÃO DE MICROESFERAS DE QUITOSANA NA ADSORÇÃO DE LOSARTANA VIA PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Mayna P. Alcantara¹; Zilvam M. Santos²; Izabelly L. Lucena³; Bruna R. G. Silva⁴; Letícia C. Silva⁵,
Marciano H. de Lucena Neto⁶

^{1, 2, 3, 4, 5} Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Mossoró; ⁶ Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Cuité.

Palavras-Chave: Quitosana, Fármacos, Adsorção.

Introdução

A adsorção é um processo fundamental de transferência de massa, caracterizado pela retenção de substâncias de uma fase fluida na superfície de um sólido. Esse processo permite a separação dos componentes do fluido através da coleta seletiva e concentração sobre o sólido [1]. A adsorção pode ocorrer de duas formas principais: adsorção química (quimissorção) e adsorção física (fisissorção). A quimissorção envolve ligações covalentes relativamente fortes, enquanto a fisissorção é baseada em forças intermoleculares mais fracas, resultando em menos mudanças no orbital eletrônico [2][3]. O processo oposto à adsorção é a dessorção, no qual uma substância é liberada de uma superfície sólida para uma solução. Este fenômeno está também associado aos Sistemas de Liberação Controlada (SLC), que têm ganhado destaque na área da farmacologia [3].

Nos últimos anos, os SLC têm sido amplamente desenvolvidos para melhorar a eficácia dos tratamentos medicamentosos. Estes sistemas são projetados para controlar a dosagem e a liberação dos fármacos, o que é particularmente importante dado que apenas uma parte da dose administrada de um medicamento alcança o tecido alvo, enquanto a maior parte é distribuída inadequadamente [4]. O avanço na tecnologia de SLC tem se concentrado em maximizar a eficácia dos medicamentos, reduzindo o desperdício e os efeitos colaterais associados.

Dentre os biomateriais estudados para SLC, os biopolímeros têm se destacado. Os biopolímeros são polímeros derivados de fontes renováveis e sustentáveis, como celulose e quitina. A quitina, um homopolissacarídeo abundante encontrado em artrópodes e alguns fungos, é convertida em quitosana através de um processo de desacetilação. A quitosana apresenta características notáveis, como biodegradabilidade, baixa toxicidade e propriedades biológicas úteis, o que a torna uma excelente candidata para aplicações em adsorção e liberação controlada de fármacos [4][5][6]. No entanto, a quitosana em pó tem limitações, como menor área superficial e dificuldades na separação após o processo. Em contraste, microesferas de quitosana têm sido exploradas para melhorar a eficiência dos SLC, oferecendo uma área superficial maior e facilitando a separação [7].

A hipertensão arterial, uma condição amplamente comum em todo o mundo é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares, pode ser controlada com o uso de Losartana Potássica. Este fármaco é um bloqueador dos receptores AT₁ da angiotensina II e é amplamente utilizado no Brasil para promover a dilatação dos vasos sanguíneos e melhorar o fluxo sanguíneo [11][12]. A administração eficaz de Losartana pode ser aprimorada por meio da liberação controlada utilizando microesferas de quitosana, proporcionando um tratamento mais eficiente e com menos efeitos adversos.

Para otimizar o processo de adsorção da Losartana em microesferas de quitosana reticuladas, o planejamento fatorial é uma ferramenta crucial. Esse método experimental permite a análise organizada e sistemática das variáveis envolvidas, facilitando a obtenção das melhores condições para o processo [13][14]. O planejamento fatorial 2^k é especialmente útil para avaliar múltiplas variáveis simultaneamente, garantindo a eficiência e a precisão do processo de adsorção. Este

estudo tem como objetivo identificar as condições ideais para a adsorção da Losartana, aproveitando o potencial da quitosana e a metodologia de planejamento fatorial para otimizar a liberação controlada do fármaco.

Material e Métodos

1.1 Materiais e reagentes

Quitosana (Polymar Ltda., Brasil), hidróxido de sódio micro pérolas (P.A. ACS, 99%) (Vetec Química Fina Ltda., Brasil), ácido acético (P.A., 99,7%) (Vetec Química Fina Ltda., Brasil), o fármaco losartana (MM = 423 g/mol) (Farmafórmula Ltda., Mossoró), glutaraldeído (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Brasil) e ácido clorídrico (Vetec Química Fina Ltda., Brasil).

1.1.1 Determinação do teor de sólidos da quitosana

A quitosana foi caracterizada com respeito ao teor de sólidos, com o propósito de corrigir sua massa devido a sua facilidade de absorção de água. Essa determinação foi feita através da pesagem de uma massa de quitosana em seu estado original (m_o). Em seguida, foi levada para a uma estufa a uma temperatura de 120 °C e pesada em intervalos de tempos determinados, até uma massa constante (m_c) [7]. A determinação do teor de sólidos (T_s) foi calculado a partir da equação 1:

$$T_s(\%) = 100 \times \frac{m_c}{m_o} \quad (1)$$

1.1.2 Preparação das microesferas

A quitosana foi dissolvida em ácido acético 2% (v/v) para obter uma solução de 3% (m/v) e agitada por 24 horas. A solução foi filtrada e gotejada em hidróxido de sódio 2 mol/L, agitando por mais 24 horas. As microesferas resultantes foram lavadas com água deionizada até neutralização do pH e, então, imersas em glutaraldeído 2,5% (v/v) para reticulação das cadeias macromoleculares de quitosana na forma de microesferas, o que confere maior resistência térmica, mecânica e química (meios ácidos) ao biopolímero [15]. Após agitação por 24 horas, foram lavadas novamente até atingir pH neutro.

1.1.3 Espectro de absorção

Em todos os ensaios a concentração da losartana foi mantida constante em 0,02 g/L, porém em diferentes pH's (5, 7 e 9). Cada solução foi preparada com água deionizada. Estas soluções foram levadas a um espectrofotômetro GEHAKA modelo UV – 340G. Realizou-se então a varredura completa na faixa espectral de 190 a 270 nanômetros da solução nos diferentes pH's. Obtendo-se assim, os gráficos de absorbância em função do comprimento de onda, e nestes foram observados os comprimentos de onda com absorbância máxima, sendo 206, 207 e 207 nm, respectivamente.

1.1.4 Ensaio de Adsorção

Foram pesados 7 erlenmeyers contendo diferentes massas de microesferas de quitosana, sendo estas com valores de proporção mássica dadas de acordo com a Tabela 1. Adicionou-se

em cada erlenmeyer, 50 mL de solução de fármaco com o pH ajustado de acordo com o planejamento. Estas foram postas em agitação orbital a 37 °C e 90 RPM durante 24h. Após esse tempo, as soluções foram centrifugadas em Centrifuga Edutec por 20 minutos e, em seguida, levadas ao espectrofotômetro para a leitura referente as absorbâncias.

1.1.5 Planejamento Experimental

Para medir a eficiência de adsorção do fármaco, as variáveis selecionadas foram a dosagem de quitosana e as soluções de Losartana em diferentes pH. Foi proposto um planejamento experimental do tipo 2²+ 3 Pontos Centrais, num intervalo de confiança de 90%, realizado de maneira aleatória.

Utilizando este planejamento, foram realizadas 7 corridas experimentais, para três dosagens e três pH diferentes, onde os níveis foram codificados em -1 (menor valor de cada variável) e +1 (maior valor de cada variável) e como variável resposta, obteve-se o percentual de remoção. Os valores foram codificados de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Valores numéricos e codificação das variáveis. (Dados de pesquisa)

Variável	Codificação		
	-1	0	+1
Dosagem de microesfera (g/L)	4	8	12
pH	5	7	9

Os resultados alcançados mostraram então a função resposta e pela análise dos testes F e p, foi verificada a qualidade e a relevância desse ajuste a um nível de confiança de 90%. O cálculo da remoção do fármaco foi feito através da Equação 2:

$$R(\%) = \frac{A_i - A_f}{A_i} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

R(%) = Percentual de remoção;

A_i = Absorbância da solução antes de entrar em contato com o adsorvente;

A_f = Absorbância da solução após as 24 horas em contato com o adsorvente.

Resultados e Discussão

2.1 Percentual de Remoção

A análise da absorbância para as diferentes combinações de pH e dosagem foram identificadas e organizadas na Tabela 2, onde pode ser observada um maior percentual de remoção no menor pH, juntamente com a menor dosagem. A porcentagem de remoção foi calculada segundo a Equação 2.

Tabela 2. Matriz do planejamento fatorial a dois níveis para remoção do fármaco. (Dados de pesquisa)

N	Dosagem (g/L)	pH	Remoção (%)
1	-1	-1	68,07
2	+1	-1	58,02
3	-1	+1	41,85
4	+1	+1	46,57
5 PC	0	0	63,61
6 PC	0	0	60,19
7 PC	0	0	63,72

A partir da Tabela 2, pode ser observado que a combinação entre menor dosagem e menor pH é onde ocorre o maior percentual de remoção. Já no experimento de menor dosagem maior pH, ocorre o inverso, o percentual de remoção é o menor. Além disso, em pH neutro, podem ser verificados valores próximos do máximo. Estes dados podem ser melhor observados no diagrama de superfície (Figura 3).

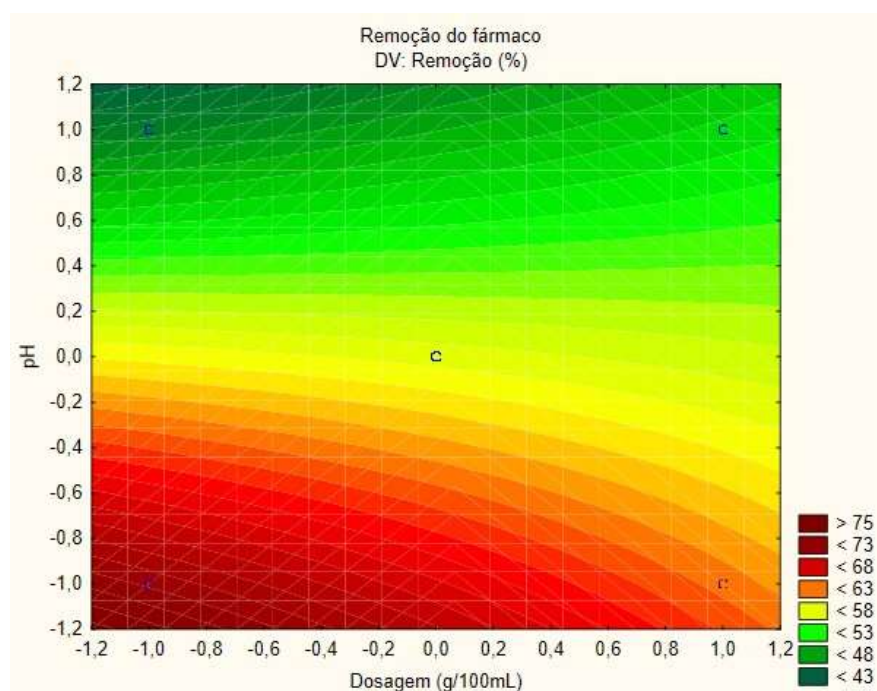


Figura 3. Remoção do fármaco em função do pH e dosagem. (Dados de pesquisa)

A Figura 3 apresenta a influência da variável resposta sobre a eficiência da remoção nessas condições. A região vermelha indica onde ocorreu uma maior adsorção, ou seja, ao se caminhar em direção à menores valores de pH e dosagem de microesferas. Sendo assim, a interação entre a quitosana e a Losartana pode se tornar torna mais eficiente à medida que se diminui a dosagem de microesferas, o que pode acarretar uma maior economia.

2.2 Diagrama de Pareto

Através do diagrama de Pareto, podem-se identificar quais parâmetros ou interações entre estes e sua influência sobre a variável resposta de interesse. Assim, este resultado serve para detectar a importância dos efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes.

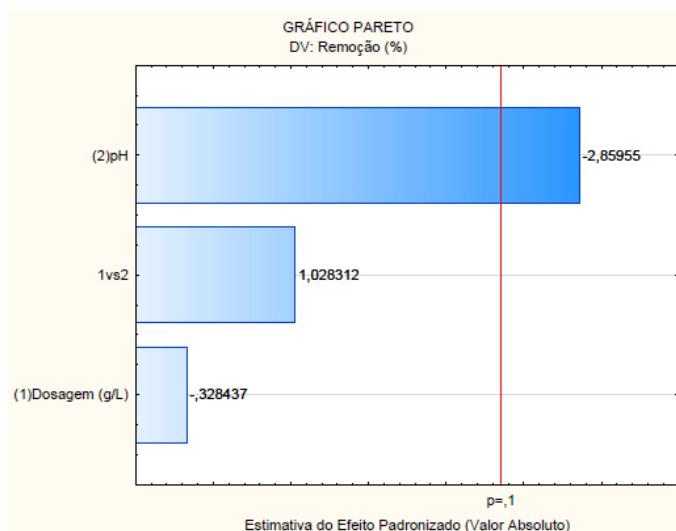


Figura 4. Gráfico de Pareto. (Dados de pesquisa)

O pH foi o único parâmetro que apresentou significância estatística no intervalo de confiança de 90% na zona amostral analisada neste estudo. O valor negativo da variável pH no gráfico de Pareto indica que a eficiência da remoção aumenta à medida que o pH diminui.

2.3 Diagrama de dispersão

O diagrama de dispersão nos permite detectar problemas, aumentar a eficiência de métodos e planejar ações de melhoria. Quanto mais próximos os pontos estiverem da linha contínua, melhor será representada a interação entre as variáveis.

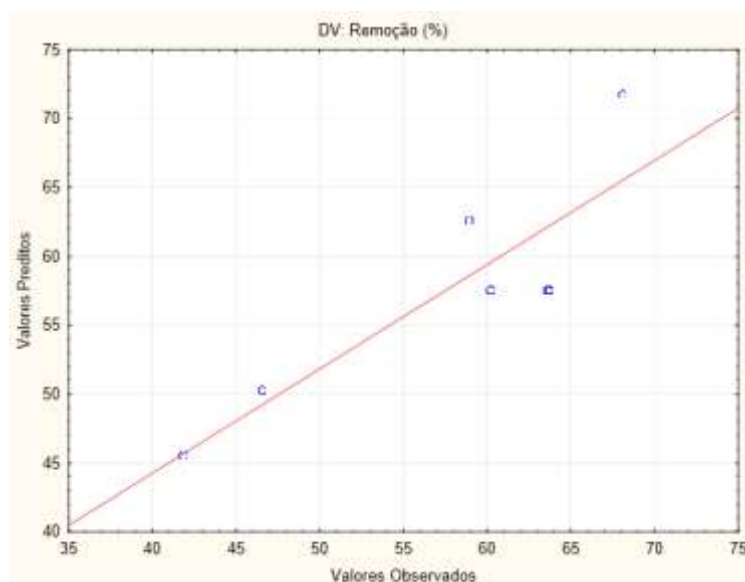


Figura 5. Valores preditos versus observados. (Dados de pesquisa)

Na Figura 5, percebe-se que os pontos do gráfico não estão próximos da reta representativa, possivelmente devido ao fato de que o planejamento 2^2 é um modelo estatístico muito simples para descrever com precisão um processo complexo como o de adsorção. Portanto, espera-se que um modelo mais avançado, com um número maior de variáveis e experimentos, possa representar esse processo de maneira mais adequada. Esse indicativo deve ser confirmado através de um teste de ANOVA (seção 2.4). Tais interações podem ter efeito linear e ser

definidos pelo modelo de primeira ordem, mostrado na Equação 3:

$$\%Remoção = 57,561428571429 (\pm 2,549017) - 1,1075(\pm 6,744064) \times dosagem - 9,6425(\pm 6,744064) \times pH + 3,4675(\pm 6,744064) \times (dosagem \times pH) \quad (3)$$

2.4 Análise ANOVA

Na análise estatística das variáveis testadas, foi utilizada a análise de variância (ANOVA). Com base no valor de R, que indica um melhor ajuste quanto mais próximo de 1, observou-se uma correlação moderada. Em seguida, foi realizado o teste F para essas condições. Para que o resultado seja estatisticamente significativo, o valor de F calculado na regressão deve ser superior ao valor de F tabelado, conforme apresentado na Tabela 3 [8].

Tabela 3. Análise de Variância (ANOVA) para a variável resposta remoção. R (coeficiente de correlação) = 0,76; $F_{3;3;0,10} = 5,39$. (Dados de pesquisa)

Fonte de Variação	Soma Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F _{Calculado}
Regressão	424,91	3	141,64	3,11
Erro	136,45	3	45,48	
Total SS	561,36	6		

Os resultados da análise de variância (ANOVA) para a resposta rendimento estão descritos na Tabela 3, onde se observa que o valor de F calculado = 3,11 é menor que o valor de F tabelado = 5,39 a um nível de confiança de 90%. Observa-se também que o coeficiente de correlação de 0,76 não foi satisfatório, pois para um resultado significativo, esse valor deve ser muito próximo de 1. Deste modo, pode-se afirmar que o referido modelo não apresentou significância estatística nos parâmetros avaliados nesse experimento.

Conclui-se também que a Equação 3, por ser um modelo de primeira ordem não representa bem a variável resposta, pois é uma equação muito simples. Um modelo de ordem superior possivelmente representaria melhor o percentual de remoção.

Estes resultados concordam com os discutidos anteriormente, onde realmente se comprova que para o processo de adsorção estudado neste trabalho necessita de um planejamento mais amplo com um maior número de experimentos numa diferente zona amostral. Por outro lado, talvez esteja ocorrendo que a quitosana reticulada na forma de microesferas e a losartana de fato não apresentam interações químicas fortes inviabilizando seu processo de adsorção. Assim, os resultados deste estudo podem estar refletindo que outros tipos diferentes de modificações na quitosana se tornam importantes para de fato o processo adsorptivo com a losartana seja estatisticamente significativo.

Conclusões

Este estudo investigou a eficácia das microesferas de quitosana na adsorção de Losartana, utilizando um planejamento experimental fatorial para otimizar o processo. A adsorção da Losartana foi influenciada por variáveis como a dosagem de quitosana e o pH da solução. Os resultados mostraram que a eficiência da adsorção foi maximizada em condições de menor dosagem e pH ácido. A análise dos dados revelou que a combinação de menor dosagem e pH baixo proporcionou o maior percentual de remoção do fármaco, destacando a importância de ajustar essas variáveis para otimizar o processo de adsorção.

A análise de variância (ANOVA) e o modelo de regressão utilizado mostraram que, apesar de algumas tendências identificadas, o modelo de primeira ordem não conseguiu capturar a complexidade do processo de adsorção, como evidenciado pelo coeficiente de correlação moderado e pela insignificância estatística dos resultados. Isso sugere que um modelo mais complexo, com mais variáveis e experimentos, seria necessário para uma representação mais precisa do processo.

Portanto, os resultados indicam que, embora as microesferas de quitosana tenham mostrado potencial na adsorção de Losartana, o processo experimental e o modelo adotado precisam ser aprimorados para alcançar uma compreensão mais robusta e aplicável. Futuras pesquisas devem explorar modelos de ordem superior e diferentes modificações na quitosana para melhorar a eficácia da adsorção e validar a significância estatística dos resultados obtidos.

Referências

- [1] RUTHVEN, D. M. *Principles of Adsorption and Adsorption Process*. New York: John Wiley & Sons, 1984.
- [2] HILL, C. *An Introduction to Chemical Engineering Kinetics and Reactor Design*. New York: John Wiley and Sons, 1977. 594 p.
- [3] SPIN-NETO, Rubens. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. *Revista de Odontologia da Unesp, São Paulo*, v. 2, n. 37, p.155-161, 2008.
- [4] RASSI JUNIOR, Anis. Tratamento da hipertensão arterial baseado em evidências. *Rev Bras Hipertens, Goiânia*, v. 9, n. 1, p.41-53, mar. 2002.
- [5] REQUE, Regiane. Avaliação da ecotoxicidade de Losartana Potássica em *Astyanax altiparanae* (Lambari) através de ensaio cometa e biomarcadores bioquímicos. 2017. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017.



- [6] DOS SANTOS, Z. M et al. Determination of deacetylation degree of chitosan: a comparison between conductometric titration and CHN elemental analysis. *Carbohydrate Research*, v. 344, n. 18, p. 2591–2595, 2009.
- [7] AVARES, I. S. Obtenção e caracterização de nanopartículas de quitosana. 2011. Dissertação (Mestrado em Físico-Química; Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.
- [8] LUCENA, Izabelly Larissa. Otimização do processo de obtenção de biodiesel através da adsorção de água formada durante a reação de esterificação. 2008. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- [9] KLAYPRADIT, W.; HUANG, Y. W. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT - Food Science and Technology*, v. 41, p. 1133–1139, 2008.
- [10] MIRMOHSENI, A.; DORRAJI, M.; FIGOLI, A.; TASSELLI, F. Chitosan hollow fibers as effective biosorbent toward dye: Preparation and modeling. *Bioresource Technology*, v. 121, p. 212–220, 2012.
- [11] COIMBRA, Patrícia Manuela Almeida. Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural. 2010. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.
- [12] BRUNTON, L.L., CHABNER, B. A., KNOLLMANN, B. C. *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.
- [13] PRASHANTH, K. V. H.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential: an overview. *Food Science & Technology*, v. 18, p. 117-131, 2007.
- [14] BONFILIO, R., FAVORETTO, L.B., PEREIRA, G.R., AZEVEDO, R.C.P., BENJAMIM, M.A. Comparative study of analytical methods by direct and first-derivative UV spectrophotometry for evaluation of losartan potassium in capsules. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v. 46, p. 147-155, 2010.
- [15] GONSALVES, Arlan de Assis; ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. *Quimicanova, Petrolina*, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, abr. 2011.