

RETICULAÇÃO DE HIDROGÉIS DE CARBOXIMETILCELULOSE COM ÁCIDO CÍTRICO PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Nádia S. V. Capanema¹, Alexandra A. P. Mansur¹, Herman S. Mansur¹

¹Centro de Nanociências, Nanotecnologia e Inovação - CeNano²I, Departamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627 – Escola de Engenharia, Bloco 2 – Sala 2233, 31.270-901, Belo Horizonte/MG, Brazil, e-mail: nsvnadia@gmail.com

RESUMO

A Carboximetilcelulose (CMCel) tem sido extensivamente utilizada visando aplicação como membrana polimérica flexível. Biopolímeros reticulados têm sido pesquisados visando otimizar a sua performance nas aplicações biomédicas. Neste trabalho, filmes de CMCel com grau de substituição (GS=0,77) foram preparados por evaporação do solvente e reticulados com diferentes concentrações de ácido cítrico (AC). A CMCel sintetizada foi caracterizada por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier raio X (FTIR), e a morfologia avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise morfológica realizada usando o MEV indicou a CMCel reticulada e não reticulada com um aspecto bem homogêneo e uniforme. Os resultados de FTIR indicaram a modificação de bandas existentes e o surgimento de nova banda 1715 cm^{-1} sugerindo que houve modificação na estrutura da CMCel reticulada.

Palavras-chave: Carboximetilcelulose, reticulação, ácido cítrico.

1. INTRODUÇÃO

Hidrogéis são polímeros em arranjos de rede tridimensional com a capacidade de reter e absorver grande quantidade de água¹. A reticulação física e química das cadeias de polímeros são usualmente cruciais para manter a estrutura dos hidrogéis². Nas recentes décadas, hidrogéis baseados em polímeros naturais tais como a celulose e seus derivados tem atraído muita atenção e mostrado aplicação com grande potencial em muitos campos incluindo medicina, farmácia e biotecnologia³.

Carboximetilcelulose (CMCel) um polieletrólito natural derivado da celulose por introdução de um grupo carboximetil ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), tem atraído considerável interesse em uma ampla faixa de aplicação biomédica⁴. Devido à propriedade de

formar filmes, biodegradabilidade e biocompatibilidade única, a carboximetilcelulose tem tido aplicações como curativo em feridas e pele artificial⁵.

O ácido cítrico (AC), amplamente utilizado na indústria de alimentos e drogas, é uma excelente agente de reticulação. O AC é usado como agente de reticulação em vários sistemas derivado da celulose e diferentes mecanismos têm sido propostos na literatura para explicar a reação de reticulação de polímeros de celulose com AC⁶.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi a síntese de filmes de hidrogéis de carboximetilcelulose (CMCel) com grau de substituição (GS=0,77), reticulada com ácido cítrico em diferentes concentrações visando modular suas estruturas e propriedades para potenciais aplicações biomédicas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Materiais

A partir da carboximetilcelulose (CMCel_250-77) (Aldrich, USA, MM=250000g·mol⁻¹, GS=0,77 e viscosidade 400–800 cPoise, lote número MKBW1368V) foram desenvolvidos filmes não reticulados (CMCel-77-0) e reticulados com ácido cítrico (CMCel-77-AC) por evaporação do solvente.

2.2 Preparação dos Filmes

Para o preparo dos filmes de CMCel não reticulados foi preparada uma solução de carboximetilcelulose 2% m/v (total do polímero). Para os filmes de CMCel-AC, foi utilizado o ácido cítrico 10, 15, 20 e 25% m/m em relação à massa do polímero. A solução de CMCel-AC foi mantida em agitação magnética, vertida em placas de Petri de polipropileno, e pré-secas em estufa à temperatura de 40 ± 1 °C por 24 h para remoção da água absorvida, e depois mantidas à 80° C por 24 h para ocorrer a reação de reticulação.

2.3 Avaliação qualitativa

As observações visuais qualitativas foram realizadas levando-se em conta a solubilidade, miscibilidade, além de avaliar a espessura dos filmes obtidos com um micrometro Mitotoyo (± 10 μ m).

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras dos filmes foram recobertas com carbono e suas superfícies foram observadas com alta resolução e grande profundidade para análise detalhada de sua morfologia e obtenção de imagens com aparência tridimensional, no microscópio eletrônico de varredura, usando equipamento marca FEI e modelo INSPECT™ S50 através da incidência de feixe de elétrons de 10 a 15 kV acoplado com detector de raios-X característicos (EDAX GENESIS).

2.5 Intumescimento

As amostras (n=3) foram recortadas nas dimensões de 20 x 20 mm² secas e foram colocadas em frascos de polietileno e imersas em água deionizada obedecendo à relação entre a área superficial e o volume de solução (= 0,2 cm⁻¹)⁷.

As amostras foram mantidas a (25 ± 2) °C. Após o período de tempo (1 h) as amostras foram retiradas do recipiente e pesadas. A fim de retirar o excesso de fluido as amostras foram colocadas rapidamente (<20s) sobre papel filtro e então pesadas em balança analítica (precisão de 0,0001g). Após a pesagem as amostras foram secas novamente em estufa a (40 ± 1) °C até atingir a estabilização do peso. O grau de intumescimento (GI) foi obtido conforme a equação A⁸.

$$GI = \frac{M_i - M_{sf}}{M_{sf}} \times 100 \quad (A)$$

Onde M_i é a massa intumescida e M_{sf} a massa da amostra após a secagem final.

2.6 Espectroscopia de infravermelho

O espectro de FTIR dos filmes de CMCel por espectroscopia no infravermelho foi realizado no aparelho Nicolet 6700, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA por ATR (Attenuated Total Reflectance) na faixa de número de onda de 675 a 4000 cm⁻¹, com 32 varreduras e 4 cm⁻¹ de resolução. As medidas de absorbância das amostras nas regiões do infravermelho permitiram a determinação qualitativa de suas moléculas, identificando sua estrutura química.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação qualitativa

Observou-se que em todos os sistemas sintetizados ocorreu uma completa solubilização da carboximetilcelulose, caracterizada pelo aspecto límpido e transparente das soluções. Após secagem, os filmes apresentaram-se lisos e flexíveis e com espessura de $54 \pm 4 \mu\text{m}$ (Fig.1 (A) e (B)).

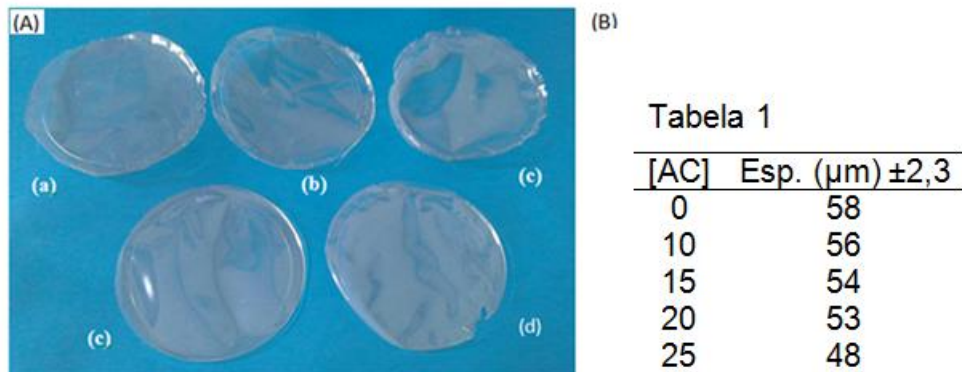


Fig.1 – (A) Filmes de CMCel-77-0 não reticulada em (a), e reticulada em (b) CMCel - 77-10, (c) CMCel-77-15, (d) CMCel-77-20, (e) CMCel-77-25. Em (B) Tabela 1 indicando a espessura de cada amostra de (A).

3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens de MEV dos filmes de não reticulados (CMCel-77-0) e reticulados (CMCel-77-AC) analisados não apresentaram alterações, heterogeneidades ou segregações detectáveis na superfície.

As amostras dos filmes CMCel-77-20 mostraram picos de maior intensidade dos elementos carbono, oxigênio, que são os principais componentes. As imagens de MEV dos filmes de CMCel-77-0 (b) e CMCel-77-20 mostram aspecto mais homogêneo dos filmes, Fig.2.

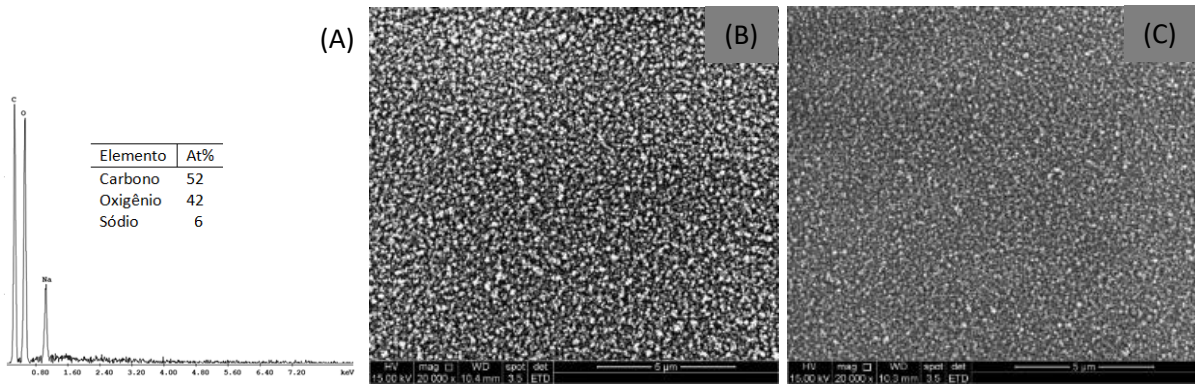


Fig.2 - Espectro de EDS da CM Cel-77-25 (A) e Imagem de MEV da CM Cel-77-0 (B) e (C) da CM Cel-77-25, ampliação em 20.000X.

3.3 Intumescimento

Nos experimentos de intumescimento, os filmes CM Cel-77-0 apresentaram solubilidade quase imediata quando colocados em água (pH = 6,0), ao contrário dos outros filmes CM Cel-77-AC que não solubilizaram em água devido a presença do ácido cítrico.

A Fig.3 mostra que os maiores valores de intumescimento foram obtidos com as menores concentrações do ácido cítrico (10 e 15%) e assim, à medida que aumentou a concentração do ácido cítrico foi diminuindo a absorção de água para todas CM Cels reticuladas.

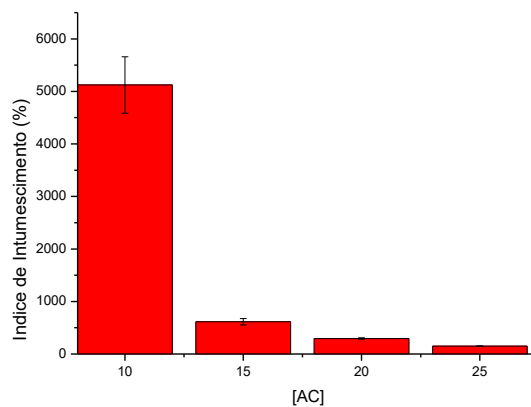


Fig.3 - CM Cel-77-AC com diferentes concentrações de ácido cítrico (10, 15, 20 e 25%), indicando o maior índice de intumescimento correspondendo à amostra com menor concentração de ácido cítrico (CM Cel-77-10).

3.3.1 Efeito da concentração do reticulante no intumescimento das amostras

O efeito da concentração do ácido cítrico sobre o intumescimento da CMCel foi demonstrado neste trabalho. A Fig.3 mostrou os maiores valores de intumescimento obtidos com as menores concentrações do ácido cítrico (10 e 15%). Esses resultados foram demonstrados na literatura com PEPAS¹ *et al.* Os resultados indicaram que a maior concentração do ácido cítrico (25%) diminuiu a absorção de água pela CMCel-77-25, demonstrado por SOLEIMANI⁹ *et al.*, mostrando que a alta concentração do reticulante diminui o espaço livre entre a cadeia do polímero e resultando em uma estrutura mais rígida, com menor capacidade de expansão e assim menor retenção de água. Em DEMITRI⁶, que trabalhou com CMCel (PM=700 KDa) e grau de substituição (GS=0,9) e reticulou com ácido cítrico (1,74; 2,75; 3,75; 10 e 20% W/W polímero) e apresentou índice de intumescimento na faixa de 1000 (na concentração de 10% AC); e 700 na concentração de 20%. Assim, os sistemas investigados indicaram uma redução significativa no comportamento de inchamento com o aumento da quantidade de agente de reticulação, o que também é verificado em outros trabalhos descritos na literatura.

3.5 Espectroscopia de infravermelho

A Fig.4 mostra o espectro de bandas obtidas para a CMCel. A banda em 3409 cm^{-1} refere-se ao estiramento axial O-H em ligações hidrogênio intramolecular/intermolecular, já em 2930 cm^{-1} e 2859 cm^{-1} ocorre deformação axial C-H. A banda em 1735 cm^{-1} se refere à deformação axial COOH. Em 1593 cm^{-1} identifica-se deformação simétrica do ânion carboxilato ($\text{COO}^- \text{Na}^+$). A banda em 1420 cm^{-1} refere-se a deformação assimétrica do ânion carboxilato ($\text{COO}^- \text{Na}^+$). As bandas em 1326 e 1263 cm^{-1} corresponde á deformação axial C-O. As bandas em 1122 e 1074 cm^{-1} é devido ao estiramento C-O-C. estiramento C-C. E também encontra-se a banda 895 cm^{-1} referente à deformação angular C-H,^{10,11}, Tab.2.

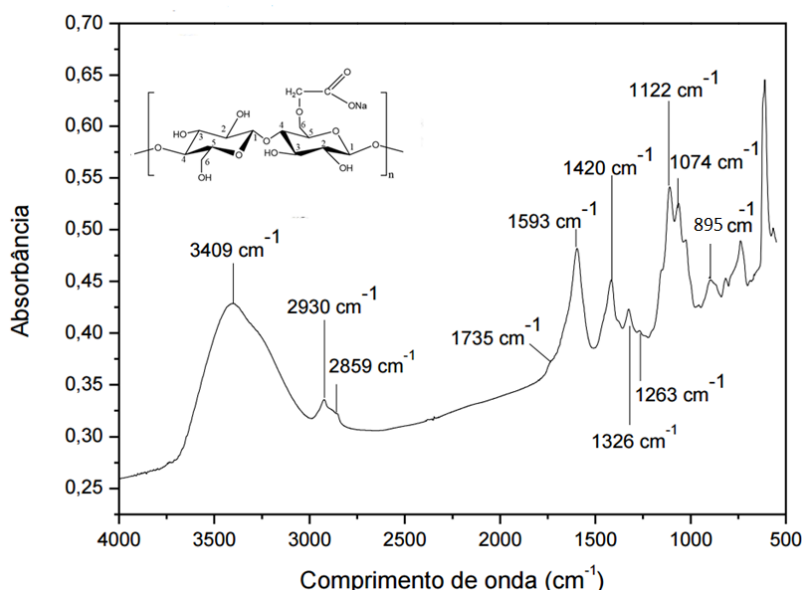


Fig.4 – Espectros de FTIR da Carboximetilcelulose, destacando-se as bandas características^{10, 11}.

Tab. 2 - Identificação de bandas para a CM Cel¹⁰.

Grupo	Atribuição
Estiramento axial O-H	3409 cm ⁻¹
Deformação axial C-H	2930 cm ⁻¹ e 2859 cm ⁻¹
Estiramento de C-O-C	1122 cm ⁻¹ e 1074 cm ⁻¹
Deformação axial COOH	1735 cm ⁻¹
Deformação axial C-O	1326 e 1263 cm ⁻¹
Deformação simétrica ânion carboxilato	1593 cm ⁻¹
Deformação assimétrica ânion carboxilato	1420 cm ⁻¹

A Fig.5 apresenta os resultados de FTIR que indicaram a modificação nas bandas existentes da CM Cel-77-0 (não reticulada) e o surgimento de novas bandas nas CM Cels reticuladas (b), (c), (d) e (e) com a presença de uma nova banda em 1715 cm⁻¹ que pode ser atribuída ao estiramento característico do grupo carbonila, segundo CUADRO ¹², relacionado a formação de anidridos resultantes da reação do ácido cítrico com os grupamentos hidroxilas da CM Cel. A reação de reticulação resultou em considerável redução da intensidade dos picos OH (região I) dos filmes reticulados, indicando possível consumo de OH em diferentes concentrações do reticulante presente na CM Cel.

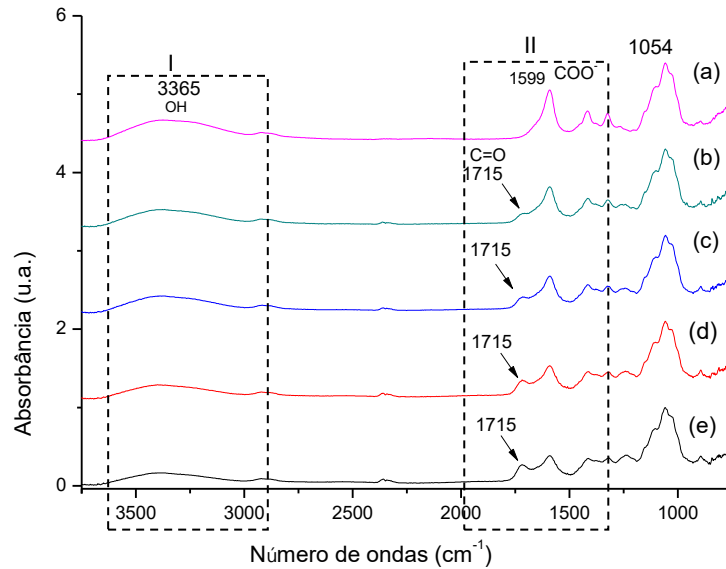


Fig.5 - Espectros de FTIR da CMCell, onde temos em (a) CMCell-77-0 sem reticulação; e a CMCell reticulada em (b) CMCell-77-10, (c) CMCell-77-15, (d) CMCell-77-20 e em (e) CMCell-77-25. A região I pontilhada mostra a redução da banda OH e a região II, o aparecimento de novo pico em 1715 cm⁻¹ nas amostras reticuladas.

A Fig.6 apresenta a relação da banda OH com a banda CH (A_{3400}/A_{900}). Esta correlação é calculada através da banda OH em 3400 cm⁻¹, e vibração do CH em 900 cm⁻¹, a qual permaneceu mais estável. Pode ser observado que o decréscimo na razão de [OH]/[CH] coincidiu com o aumento da concentração do reticulante e conseqüentemente a redução dos grupos OH disponíveis, indicando que houve seu consumo. Na literatura, CUADRO¹² *et al* utilizou a razão C=O e COOH, para quantificar grupos ésteres e carboxílicos envolvidos na reticulação.

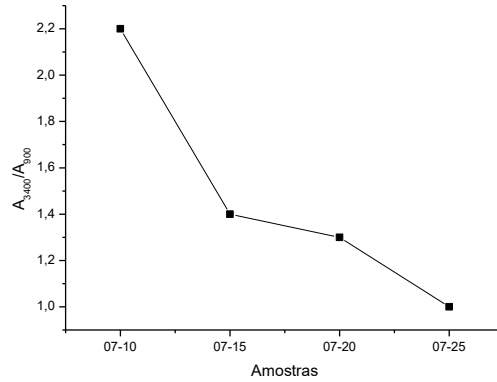


Fig.6 - Relação da banda OH com a banda CH (A_{3400}/A_{900}), indicando a redução da banda OH à medida que aumentou a concentração do reticulante nas amostras.

Além disso, a Fig.7, mostra que concomitantemente com o decréscimo da [OH] temos um pico adicional em 1715 cm^{-1} (relativo à banda C=O) com o aumento da concentração do reticulante.

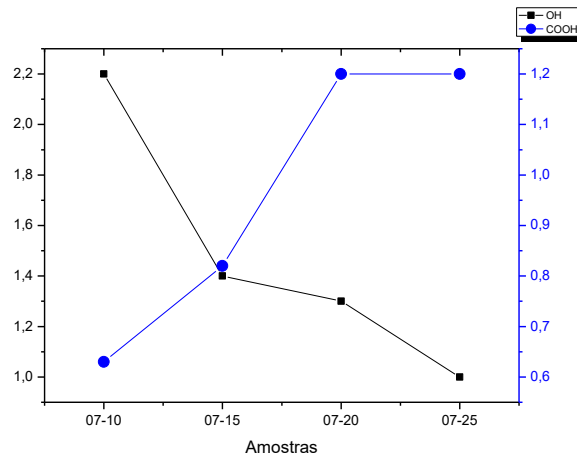


Fig.7 - Relação inversa das concentrações das bandas OH e COOH em relação a concentração do reticulante nas amostras.

4. CONCLUSÃO

Os filmes caracterizados por MEV e EDS com o objetivo de evidenciar a morfologia e análise química elementar respectivamente mostraram que a reticulação promoveu alteração na espessura das amostras. E os ensaios de intumescimento indicaram que o método de reticulação com ácido cítrico promoveu alterações na estrutura do polímero com o enrijecimento de suas cadeias, diminuindo a absorção de água, em diferentes concentrações e assim conferindo as amostras menor grau de intumescimento. A caracterização por FTIR de CMCel

indicou a modificação nas bandas existentes da CMCel não reticulada com o surgimento de uma nova banda (1715 cm^{-1}) na CMCel reticulada, que pode ser atribuído ao estiramento característico do grupo carbonila, relacionado a formação de anidridos resultantes da reação do ácido cítrico com os grupamentos hidroxilas da CMCel com a utilização da relação da banda OH com a banda CH (A_{3400}/A_{900}), onde o decréscimo na razão de $[OH]/[CH]$ coincidiu com o aumento da concentração do reticulante e conseqüentemente a redução dos grupos OH disponíveis, indicando que houve seu consumo.

Assim, foram obtidos filmes de CMCel-77, com e sem reticulação química visando aplicação biomédica como membranas poliméricas flexíveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro dos órgãos de fomento FAPEMIG, CAPES, CNPq, CEMUCASI e Prof. Dagoberto Brandão e Patrícia Trigueiro pela análise do MEV.

REFERÊNCIAS

- (1) PEPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W. & ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.50, p.27-46, 2000.
- (2) SANGEETHA, N. M.; & MAITRA, U. Supramolecular gels: Functions and uses. *Chemical Society Reviews*, v.34, p. 821-836, 2005.
- (3) AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; & AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 100, p. 5-28, 2004.
- (4) LEE, W., & CHIANG, W. Swelling and drug-release behavior of the poly (AA-co-N-vinyl pyrrolidone)/chitosan interpenetratingpolymer network hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, v.91, p.2135-2142, 2004.
- (5) CHEN, S.; WU, Y.; MI, F.; LIN, Y.; YU, I.; & SUNG, H. A novel pH-sensitive hydrogel composed of N,O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipinfor protein drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v.96, p.285-300, 2004.
- (6) DEMITRI, C., DEL SOLE, R., SCALERA, F., SANNINO, A., VASAPOLLO, G., MAFFEZZOLI, A., AMBROSIO, L., NICOLAIS, L. Novel superabsorbent cellulose-

based hydrogels crosslinked with citric acid. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.110, n.4, p.2453-2460, 2008.

(7) COSTA-JÚNIOR, E. S., MANSUR, H. S. Preparação e Caracterização de Blendas de Quitosana/Poli(Álcool Vinílico) Reticulados Quimicamente com Glutaraldeído para Aplicação em Engenharia de Tecido. *Química Nova*, v.31, n.6, p.1460-66, 2008.

(8) KUMAR, P.T.S.; ABHILASH, S.; MANZOOR, K.; NAIR, S.V.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Preparation and characterization of novel β -chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, v.80, p.761-767, 2010.

(9) SOLEIMANI, F.; SADEGHI, H. Investigation of Effective Parameters onto Swelling Behavior of Superabsorbent Hydrogels. *Asian Journal of Chemistry*; v.25, n.9, p.4797-4800, 2013.

(10) ROSCA, C.; POPA, M.I.; LISA, G.; CHITANUB, G.C. Interaction of chitosan natural or synthetic anionic polyelectrolytes. The chitosan-carboxymethylcellulose complex. *Carbohydrate Polymers*, v. 62, 35-41, 2005.

(11) SINGH, R. K.; KHATRI, O. P. A scanning electron microscope based new method for determining degree of substitution of sodium carboxymethyl cellulose. *Journal of Microscopy*, v. 246, n. 1, p. 43–52, 2012.

(12) CUADRO, P.; BELT, T.; KONTTURI, K.*et al.* Cross-linking of Cellulose and poly (ethylene glycol) with citric acid. *Reactive & Functional Polymers*, v.90, p.21-24, 2015.

CARBOXYMETHYLCELLULOSE HYDROGEL CROSSLINKED WITH CITRIC ACID FOR BIOMEDICAL APPLICATION

ABSTRACT

The carboxymethylcellulose (CMC_{el}) has been extensively used in order application as flexible polymer membrane. Biopolymers crosslinked have been studied to optimize

their performance in biomedical applications. In this work, CMCel films with a degree of substitution (DS = 0.77) were prepared by evaporation of solvent and crosslinked with different concentrations of citric acid (CA). The synthesized CMCel was characterized by Infrared Spectroscopy by Fourier Transform X-ray spectroscopy (FTIR), and morphology assessed by scanning electron microscopy (SEM). Morphological analysis performed using the SEM indicated the crosslinked CMCel and not crosslinked with a very smooth and uniform appearance. The FTIR results indicated the modification of existing bands and appearance of a new band 1715 cm^{-1} suggesting that there has been change in the structure of the crosslinked CMCel.

Keywords: Carboxymethylcellulose, crosslinking, citric acid.