



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

JESSICA DE JESUS GALVÃO FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE BIOFILME DE QUITOSANA
COMO SISTEMA TRANSDÉRMICO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
INSULINA HUMANA**

Campina Grande – PB

2010

JESSICA DE JESUS GALVÃO FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE BIOFILME DE QUITOSANA
COMO SISTEMA TRANSDÉRMICO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
FÁRMACO: INSULINA HUMANA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada ao curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento às exigências para
obtenção do bacharelato em Farmácia.

ORIENTADOR: Prof Dr. José Alexsandro da Silva

Campina Grande – PB

2010

F363c Fernandes, Jessica de Jesus Galvão.

Caracterização termoanalítica de biofilme de quitosana como sistema transdérmico de liberação controlada de insulina humana [manuscrito] / Jessica de Jesus Galvão Fernandes. – 2010.

33 f.: il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2010.

“Orientação: Prof. Dr. José Alexsandro da Silva, Departamento de Farmácia”.

1. Quitosana. 2. Insulina. 3. Termogravimétrica. I.
Título.

**CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE BIOFILME DE QUITOSANA COMO
SISTEMA TRANSDÉRMICO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO:
INSULINA HUMANA**

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC

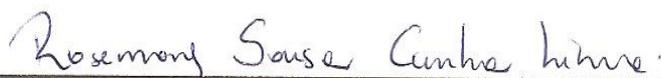
Aprovação em: 30/11 /2010

BANCA EXAMINADORA



Prof^o Dr. José Alexandre da Silva

(Orientador – CCBS/DF/UEPB)



Prof^a Msc Rosemary Cunha Lima

(Examinadores – CCBS/DF/UEPB)



Prof. Dr Bolivar P.G. de L. Damasceno

(Examinadores – CCBS/DF/UEPB)

Dedico,

*Aos meus pais Higino e Paula,
Irmãos Helmano e Estefanio,
Avós João, Maria, Mimoso e Ester.*

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Todo Poderoso que sempre nos ampara em todos os momentos.

Aos meus pais, Higino Semedo Fernandes e Maria Paula Fernandes que sempre acreditaram em mim e sempre apoiaram as minhas decisões, pelo amor.

Aos meus irmãos e familiares que junto com os meus pais me deram sempre carinho, apoio.

A Luis Amilcar pelo apoio, carinho e por ter estado presente em todos os momentos dessa caminhada.

Ao time Alfa e todos os meus amigos pela amizade e momentos inesquecíveis.

Ao professor José Alexandro da Silva por ter aceito me orientar e por ter feito parte da minha formação.

A professora Rosemary Sousa Cunha Lima pela grande amizade, pelos bons momentos de trabalho, uma encorajando a outra.

Ao professor Marcu Vinicius Lia Fook pela amizade e orientação.

Ao professor Bolivar P.G. de L. Damasceno por ter aceito fazer parte da banca examinadora e pela amizade.

A todos os professores do Departamento de Farmácia.

RESUMO

O aumento do interesse nas aplicações terapêuticas da quitosana tem gerado oportunidades de produção em sistemas especializados, como é o caso da obtenção de um biofilme transdérmico de quitosana incorporado com insulina humana, para fins específicos, como o controle do Diabetes melito. O objetivo geral do presente trabalho foi caracterizar o biofilme de quitosa e quitosana/insulina do ponto de vista das análises térmicas, através das técnicas de análise termogravimétrica (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). O biofilme de quitosana/insulina foi obtido a partir de uma de produção específica. As curvas TG foram realizadas em um equipamento SDTQ600 (TA Instruments, EUA) e as curvas DSC foram realizadas em um equipamento DSCQ20 (TA Instruments, EUA). Foram produzidos dois tipos de biofilmes apenas de quitosana e dois tipos de quitosana/insulina. Os biofilmes foram produzidos da seguinte forma: a) biofilmes apenas com quitosana; b) biofilmes quitosana/insulina 100 UI. As curvas de TG e DSC obtidas permitiram estabelecer uma comparação entre os biofilmes produzidos em relação às propriedades funcionais.

Palavras-chave: Insulina; Quitosana; Termogravimétrica.

ABSTRACT

The increasing interest in terapeutical applications of chitosan has generated production opportunities in specialized systems, such as obtaining a biofilm patch of chitosan incorporated with human insulin, for specific purposes, such as control of *diabetes mellitus*. The overall objective of this study was to characterize the biofilm quitosa and chitosan / insulin from the viewpoint of thermal analysis, through the techniques of thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). The biofilm of chitosan / insulin was obtained from a compounding specifics. TG curves were performed in a SDTQ600 equipment (TA Instruments, USA) and DSC curves were performed in a DSCQ20 equipment (TA Instruments, USA). Were produced only tou kinds of edible films with chitosan and two types with chitosan and insulin. Biofilms were produced as follows: a) biofilm only with chitosan, b) biofilms chitosan / 100 IU insulin. The TG and DSC curves obtained enabled a comparison between the biofilms produced in relation to functional properties.

Keywords: Insulin; Chitosan; Thermogravimetric.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 01 - Representação esquemática da estrutura da quitosana.....	14
Figura 02 - Representação esquemática do processo de desacetilação da quitina para produção de quitosana.....	16
Figura 03 - Curva de TG de uma reação de decomposição térmica em etapa única.....	18
Figura 04 - Ilustração dos modos de DSC com compensação de potência (a) e DSC com fluxo de calor (b).....	20
Figura 05 - Fotografia do Biofilme B15 pronto.....	23
Figura 06 - Curva de DSC das amostras A11 e A15.....	26
Figura 07 - Curva de DSC das amostras A11 e A15.....	26
Figura 08 - Curva de TG das amostras A11 e A15.....	29

LISTAS DE TABELAS

Tabela 01 - Demonstração das áreas e o emprego da Quitosana.....	15
Tabela 02 - Classificação geral das principais técnicas termoanalíticas de acordo com a propriedade física acompanhada.....	17
Tabela 03 - Classificação dos biofilmes.....	24

LISTAS DE ABREVIATURAS

(DM) - Diabetes Melitos

(DSC) - Calorimetria Exploratória Diferencial

(GD) – grau de desacetilação

(M) - massa molar média

(QT) - Quitina

(QTS) - Quitosana

(QTS/INS) - Quitosana/Insulina

(TG) - Termogravimetria

Sumário

1.INTRODUÇÃO.....	11
-------------------	----

2.OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 objetivo específico.....	13
3.REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1 Quitosana.....	14
3.2 Análise Térmica.....	16
3.3 Termogravimetria (TG).....	17
3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DCS).....	19
3.5 Sistemas transdérmicos de liberação de fármacos.....	20
3.6 Diabete Melito.....	21
4.METODOLOGIA.....	23
4.1 Materiais.....	23
4.2 Preparações do biofilme de quitosana e quitosana/insulina.....	23
4.3 Análise Termogravimétrica (TG).....	24
4.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	24
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	25
5.2 Termogravimetria (TG).....	28
6.CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIA.....	31

1 INTRODUÇÃO

A quitina (QT) é o segundo polímero, mais abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose; Isso leva a um grande interesse econômico no seu estudo e dos seus derivados. A QT é encontrada em abundância na natureza e as principais fontes são carrapaça de crustáceos (carangueijo, camarão e lagostas), insetos, moluscos e na parede celular de fungos (ANTONINO, 2007).

A quitosana (QTS) que é um dos derivados da QT, é obtida a partir da desacetilação parcial da QT. Após a desacetilação a quitosana é caracterizada pelo seu grau de acetilação (GA), na qual o GA tende para zero para a QTS e a um para QT (CHIANDOOTTI, 2005).

Apesar da QT ter sido descoberta há séculos, seu estudo e aplicação só aumentaram por volta de 1970, quando observou-se o grande potencial de aplicação que apresentavam tanto a QT como a QTS. Atualmente estes polissacarídeos vêm tomando destaque considerável nas pesquisas e aplicações, sendo considerados um dos materiais de maior potencial para o futuro próximo. Esta afirmação vem sendo tomada com base na grande versatilidade de aplicações encontradas para estes biopolímeros e muitos de seus derivados (ANTONINO, 2007).

Desde descoberta da QT e ,consequentemente, a QTS inúmeros trabalhos vem sendo publicado, e em diversas áreas sobre o grande potencial da QTS e a sua ampla escala de aplicação, sendo uma das mais novas propriedades da QTS a de liberação controlada de fármacos (SANTOS J. E., 2004).

A tecnologia de sistemas poliméricos de liberação controlada de fármacos tem sido estudada em detalhes nos últimos 30 anos com relevantes artigos de revisão, esta procura por novos sistemas de liberação controlada de fármacos tem sido muito importante no sentido de se estabelecer alternativas terapêuticas mais eficientes, que possibilitem administrar os fármacos com mais segurança e com efeitos colaterais minimizados, (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009).

O aumento do interesse nas aplicações biomédicas da QTS tem gerado oportunidades de produção em sistemas especializados, como é o caso da obtenção

de um biofilme transdérmico incorporado com insulina humana, para fins específicos, como o controle do Diabetes Melito (DM).

O DM é uma doença crônica que ocorre quando o pâncreas não produz insulina suficiente (tipo 1), ou quando o corpo não pode usar efetivamente a insulina que ele produz (tipo 2). O Brasil ocupa a sétima posição no ranking de países com maior número de diabéticos, com 6,9 milhões de casos registrados. Em 2025, estima-se que o país passe a ocupar a quarta posição, com 17,6 milhões de pessoas com diabetes (RIBEIRO & FREUDENRICH, 2008).

Este trabalho serviu como base para analisar o comportamento dos biofilmes de QTS/INS durante uma análise termogravimétrica (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). O desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação controlada de insulina humana em biofilmes de QTS poderá permitir o melhor controle da cinética de liberação da droga, resultando em níveis plasmáticos terapêuticos desejados, contribuindo para uma melhor qualidade de vida, além de consistir num passo importante para o desenvolvimento de uma nova terapêutica para DM.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e Caracterizar o biofilme de quitosana e quitosana/insulina do ponto de vista das análises térmicas.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obtenção de biofilmes de QTS e QTS/INS;
- ✓ Realizar caracterização termoanalítica dos biofilmes de QTS e QTS/INS.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Quitosana

A QT foi descoberta em 1811 na França pelo cientista Henri Braconnot que a isolou de cogumelos. Em 1823, Odier encontrou o mesmo polossacarídeo em insetos e o nomeou de quitina, palavra em grego para envelope ou cobertor. Em 1859 Rouget observou que realizando tratamento na QT com soluções de hidróxido de sódio sob fervura, originava um produto que ele nomeou de “quitina modificada” que era altamente solúvel em soluções aquosa de ácidos orgânicos se diferindo muito da QT que era bastante insolúvel. Mais tarde Hoppe-Seiler nomeou a “quitina modificada” em quitosana (MACIEL, 2005)

QT e QTS (FIGURA 01) são polissacarídeos de cadeias lineares que contêm proporções variáveis dos carboidratos 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose unidos por ligações glicosídicas beta (1-4) (SIGNINI, 1998).

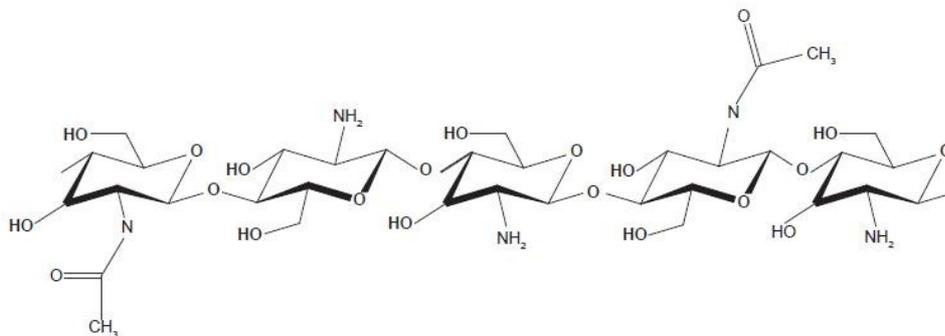


Figura 01 Representação esquemática da estrutura da quitosana
Fonte: ANTONINO (2007)

Com uma cadeia polimérica flexível, a QTS apresenta também grupos funcionais potencialmente reativos como grupamentos amina (-NH₂), vários grupos hidroxilas primários e secundários nas posições C-2, C-3 e C-6 que, por sua vez, apresentam forte afinidade com a água. Modificações feitas nestes grupamentos produziriam diferentes materiais que podem ser utilizados em diversas aplicações (SANTOS J. E., 2004).

A QTS é um polissacarídeo que exibe numerosas propriedades físico-químicas e biológicas, tais propriedades dependem de parâmetros como a massa molar média (M), grau de desacetilação (DG), força iônica, pH e temperatura. Propriedades estas que concedem aplicações em diferentes campos devido à sua baixa toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade, entre as inúmeras áreas de aplicação, a Tabela 01 demonstra algumas delas e as diversas formas de emprego da mesma (RODRIGUES, 2006).

Tabela 01 Demonstração das áreas e o emprego da Quitosana.

Área	Emprego
Biomédica	Biomembranas artificiais Sutura cirúrgica
Farmacêutica	Agente cicatrizante Aditivo de medicamentos Liberação controlada de drogas Controle de colesterol Lente de contato
Cosmética	Umectante Fungicida Bactericida
Indústria de Alimentos	Aditivos alimentares Nutrição animal Embalagem biodegradável para alimentos
Biotecnologia	Imobilização de enzimas e de células Separação de proteínas Cromatografia Agente antibactericida
Indústria Têxtil e de papel	Tratamento de Superfície
Papel para Indústria Fotográfica	Filmes

Fonte: ANTONINO (2007)

A QTS, como já foi dito anteriormente é obtida através da desacetilação da QT (FIGURA 02), que pode ser realizada por fusão alcalina, sendo esse processo o mais severo, ou por tratamento com soluções alcalinas, sendo este mais brando, com uma solução entre 40 e 50% de hidróxido de sódio na maioria dos casos. A desacetilação por tratamento alcalino da quitina é rapidamente obtido até 25-15% de acetilação, depois disso o tratamento tem apenas um efeito limitado (ALMEIDA, 2009).

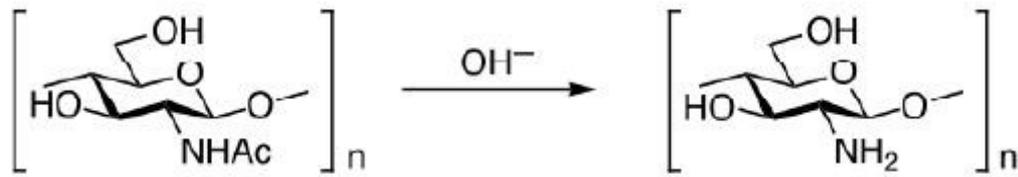


Figura 02 - Representação esquemática do processo de desacetilação da quitina, para produção de quitosana
Fonte: ALMEIDA (2009)

3.2 Análise Térmica

A análise térmica é definida como “grupo de técnicas” por meio da qual uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura e/ou tempo, enquanto essa substância é submetida a um programa controlado de temperatura (SILVA et al, 2007).

Essa técnica analítica não é apenas um método qualitativo, visto que a mesma proporciona resultados quantitativos termodinâmicos quanto às propriedades dos materiais, assim como mostra a Tabela 02, podendo inclusive ser empregada para caracterização de materiais de síntese, com a vantagem do menor tempo de ensaio e a utilização de pequenas quantidades de amostras. Assim sendo, pode ser aplicada a uma gama extensa de materiais, como polímeros, substâncias sintéticas e naturais, alimentos, fármacos e produtos cosméticos em geral (ANTONINO, 2007).

Tabela 02 Classificação geral das principais técnicas termoanalíticas de acordo com a propriedade física acompanhada.

TÉCNICA	PROPRIEDADE	ABREVIATURA
Termogravimetria	Massa	TG
Termogravimetria Derivada		DTG
Análise Térmica Diferencial	Temperatura	DTA
Calorimetria Exploratória Diferencial	Entalpia	DSC
Análise Termomecânica	Propriedades Mecânicas	TMA
Análise Dinâmica Mecânica		DMA
Termodilatometria	Dimensões	-
Termossonimetria	Propriedades acústicas	-
Termoacustimetria		TS
Termoptometria	Propriedades Ópticas	-
Termoeletrometria	Propriedades Elásticas	-
Termomagnetometria	Propriedades Magnéticas	-
Análise Termoparticulada	Desprendimento de Partículas	TPA

Fonte: ANTONINO (2007).

3.3 Termogravimetria - TG

É uma técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura, enquanto esta é submetida a uma programação controlada. Ela resulta de uma transformação física (sublimação, evaporação, condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura (ANTONINO, 2007).

Utilizando apenas a TG é possível, por exemplo: estudar a decomposição térmica de compostos orgânicos, inorgânicos e de substâncias poliméricas; a corrosão de metais em várias atmosferas, em temperaturas elevadas; reações no estado sólido; aquecimento e calcinação de minerais; destilação e evaporação de líquidos; pirólise de carvão, petróleo e madeira; determinação de hidratação, volatilização e conteúdo de cinza; determinar a velocidade de evaporação e sublimação, desidratação e higroscopicidade; análises termogravimétricas automáticas; degradação térmica oxidativa de polímeros; decomposição de material explosivo; desenvolvimento de procedimentos gravimétricos analíticos; estudos de cinética de reação, descoberta de novos compostos químicos, assim como

determinações de pressão de vapor e calor de vaporização (MATOS, MACHADO, 2004).

Realizando esse tipo de estudo os resultados são apresentados em curvas que fornecem informações relativas à composição e estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado. Dada a natureza dinâmica da variação de temperatura da amostra para originar curvas TG, fatores instrumentais, razão de aquecimento, atmosfera (N_2 , ar ou outros), vazão de gás, composição do cadinho, geometria do porta amostra e tamanho e forma do forno e relacionados às características da amostra (quantidade, granulometria, forma cristalina, empacotamento, condutividade térmica, solubilidade dos gases liberados da amostra e calor de reação envolvido) podem influenciar a natureza, a precisão e a exatidão dos resultados experimentais (SILVA et al, 2007; STORPIRTIS et al., 2009).

Na Figura 03, está ilustrado uma curva de TG para um processo que ocorre em uma única etapa. Assim observa-se que a substância **X** é termicamente estável entre os pontos **a** e **b**. Ao ponto **b** atribui-se a temperatura T_i , onde inicia-se o processo de perda de massa, com liberação do componente volátil **Z**. No ponto **c** registra-se a temperatura final T_f , na qual a perda da massa é finalizada e observa-se que a partir desta temperatura a substância **Y** é termicamente estável. As temperaturas T_{onset} e T_{endset} correspondem respectivamente ao início e final extrapolados do evento térmico (STORPIRTIS et al, 2009).

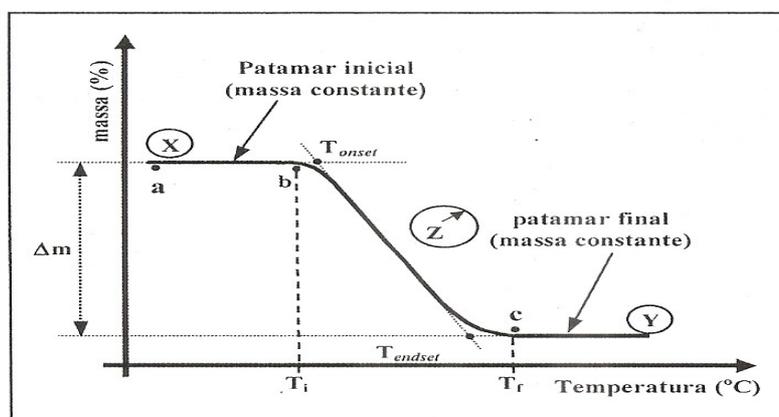


Figura 03: Curva de TG de uma reação de decomposição térmica em etapa única
Fonte: STORPIRTIS et al (2009)

3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC

É uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Essas medidas informam, qualitativamente e quantitativamente, sobre mudanças físicas e químicas que envolvem processos endotérmicos (absorção de calor), exotérmicos (liberação de calor) ou mudanças na capacidade calorífica (MOTHÉ ; AZEVEDO, 2002).

A técnica DSC pode ser aplicados em diversas áreas, como a determinação de fusão, transição vítrea, pureza relativa de compostos orgânicos e de medicamentos, observação de polimorfismo, investigação de processos de degradação de polímeros, detecção de água livre, estabilidade térmica, parâmetros cinéticos, entre outros (COMUNE, 1999).

Em uma análise de DSC o tempo de análise é rápido (geralmente, 30 minutos), a preparação da amostra é fácil, ela é aplicável em sólidos e líquidos e pode ser utilizado numa faixa larga de temperatura (ANTONINO, 2007).

Existem duas configurações possíveis para aparelhos de DSC, ou seja, DSC com compensação de potência e DSC com fluxo de calor, ambos estão ilustrados na Figura 04. Na primeira configuração a amostra e o material de referência são aquecidos em compartimentos separados em condições isotérmicas e submetidos à igual variação de potência de entrada no forno. Neste caso, os eventos são apresentados na curva DSC como picos, os ascendentes correspondem a processos endotérmicos e os descendentes a exotérmicos. No caso da DSC com fluxo de calor, a amostra e o material de referência são colocados em cápsulas idênticas, localizadas sobre o disco termoelétrico e aquecidas por uma única fonte de calor. As curvas DSC obtidas nesse sistema mostram picos ascendentes que caracterizam eventos exotérmicos, enquanto os descendentes eventos endotérmicos (MACHADO; MATOS, 2004).

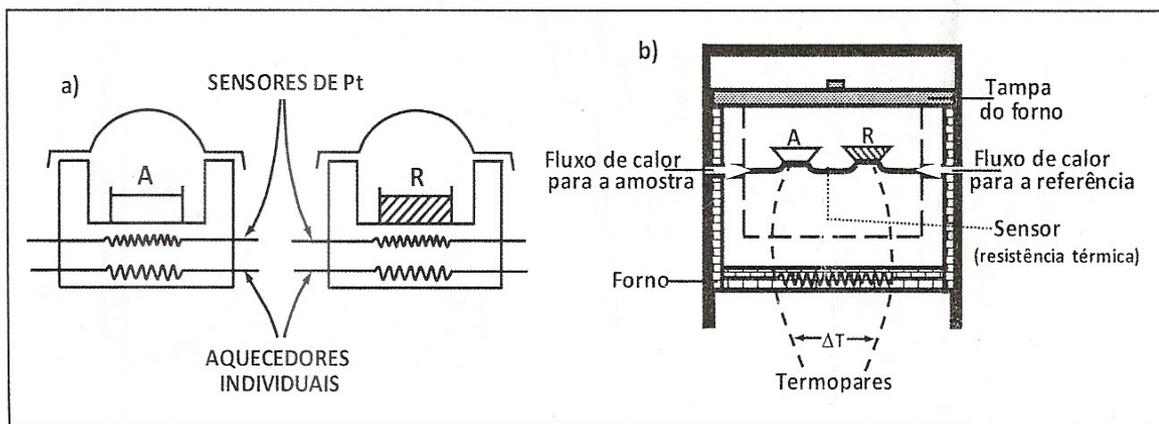


Figura 04: Ilustração dos modos de DSC com compensação de potência (a) e DSC com fluxo de calor (b)
Fonte: STORPIRTIS et al (2009)

3.5 Sistemas transdérmicos de liberação de fármacos

A via transdérmica é uma estratégia interessante para a veiculação de diversas classes de fármacos, por oferecer vantagens em diversas circunstâncias quando comparada as outras vias de administração, como alguns efeitos indesejáveis típicos da via oral, além de oferecer a vantagem sobre a via intravenosa e intramuscular, por ser indolor e não invasiva, aumentando a adesão do paciente à terapia (SILVA et al., 2010; SWART et al., 2005; ÖZGÜNEY et al., 2006; BADRAN et al., 2009).

Os sistemas transdérmicos transportadores de fármacos podem ser capazes de compartimentar a substância ativa e direcioná-la para os alvos onde deverá exercer o seu efeito farmacológico, além de poder controlar sua velocidade de liberação, sem alterar a estrutura química da molécula transportada. Desse modo com o intuito de desenvolver formulações que permitam a liberação eficiente de fármacos através da pele, têm sido utilizadas várias estratégias químicas, físicas além da utilização de sistemas especiais de liberação conforme relatado por SILVA et al. (2010). Segundo esses autores, os desafios implicados no desenvolvimento de formas farmacêuticas transdérmicas são direcionados, sobretudo a favorecer a eficiente liberação e permeação dos princípios ativos através das camadas da pele que se apresentam como barreira a penetração de fármacos.

A liberação controlada de fármacos transdérmicos, evita problemas como irritação gastrintestinal, metabolismo de primeira passagem, variações nas taxas de distribuição compartimental no organismo e incompatibilidade alimentar (SILVA et al., 2010). Outro fator que deve ser levado em consideração a estes sistemas, é que os mesmos são adequados para os pacientes inconscientes. Além disso, é considerada uma técnica não-invasiva e esteticamente aceitável, pois pode ser usado para fornecer distribuição local durante vários dias. Porém, existem algumas limitações, entre as quais, incluem taxa de penetração lenta, a falta de flexibilidade dosagem e/ou precisão, bem como uma restrição à relativamente baixa dosagem (KAPARISSIDES, 2006).

3.6 Diabete Melito

O DM é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade de a insulina exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídeos, e proteínas. As consequências do DM, a longo prazo, incluem disfunção e falência de vários órgãos, especialmente rins, olhos, nervos, coração e vasos sanguíneos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006).

O DM é classificado em DM tipo 1 (pode ser auto-imune ou idiopático), DM tipo2, DM gestacional e outros tipos especiais de DM. No diabetes tipo 1 ocorre à ausência ou diminuição da secreção da insulina pelas células betas das ilhotas de Langerhans do pâncreas ocasionada por fatores hereditários, destruição das células beta por auto-anticorpos ou por destruição viral. Já o diabetes tipo 2 caracteriza-se por dois defeitos fisiopatológicos principais: a resistência à insulina, resultando em aumento da produção hepática de glicose e redução da sua utilização periférica e o comprometimento da função secretora da célula beta, basal e estimulada por substrato, particularmente a glicose (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006).

Para DM 2 recém-diagnosticados, com as glicemias elevadas, geralmente acima de 250mg/dl, estaria indicada uma terapia intensiva com o emprego de insulina de ação rápida (regular) ou ultra-rápida (lispro ou aspart) antes de cada refeição e insulina basal de ação intermediária (neutral protamine hagedorn [NPH])

ou de ação prolongada (glargina) em uma ou mais doses por dia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2006).

A insulina é um hormônio produzido pelas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas. A molécula de insulina é uma proteína formada por duas cadeias interligadas de aminoácidos. Os efeitos da insulina consistem em reduzir os níveis sanguíneos de glicose, ácido graxos e aminoácidos e estimular a conversão destes para compostos de armazenamento que são o glicogênio, os triglicerídeos e as proteínas. Ela é uma proteína que apresenta massa molecular de aproximadamente 5600 Dalton, composta de dois polipeptídeos denominados cadeias A e B, que se unem por ligações covalentes por meio de duas pontes de dissulfeto, sendo que uma terceira ponte de dissulfeto ocorre na cadeia A. A administração oral da insulina não é viável, pois a maior parte do hormônio é destruída pelas proteases nas vias intestinais antes da absorção. Desta forma, a via de administração mais utilizada é a subcutânea, a qual apresenta diversas desvantagens, cujo início de ação ocorre a partir de 1 hora após a administração e dura cerca de 6 horas (JOHN; LAWRENCE, 1997).

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

Insulina humana comercial Humulin® R (regular) - Eli Lilly; Quitosana comercial – Polymar Indústria Comércio Importação e Exportação LTDA e Sigma-Aldrich Corporation; Ácido acético – Vetec; Hidróxido de Sódio – Vetec.

4.2 Preparações do biofilme de quitosana e quitosana/insulina

A obtenção do biofilme de QTS (Figura 05) foi baseado em CUI et al. (2008), utilizando-se a técnica conhecida como método sol-gel. Esta técnica pode ser dividida em três etapas ou seja, dissolução da quitosana em uma solução ácida diluída (Ácido acético a 1% v/v) formando a solução polimérica. Esta solução foi mantida sob aquecimento até 50°C e agitação contínua por 120 minutos. Em seguida a solução foi filtrada à vácuo para retirar possíveis impurezas insolúveis. Posteriormente o filtrado foi distribuído de maneira uniforme em placas de Petri para secagem em estufa por 24 horas (DALLAN, 2005).

Para produção dos biofilmes trabalhou-se com quitosanas de dois fornecedores diferentes, as quais foram denominadas de “A” e a “B”. Levando-se em consideração que para cada uma das marcas do polímero foram utilizados dois graus de desacetilação e diferentes concentrações, ainda foram numerados os biofilmes de acordo com estes parâmetros como mostra a Tabela 03.

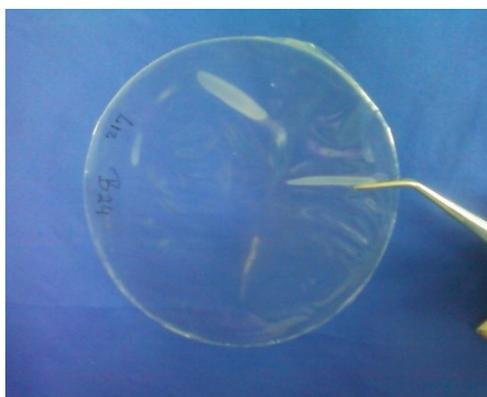


Figura 05: Fotografia do Biofilme B15 pronto.

Tabela 03: Classificação dos biofilmes.

Fornecedor	GD	Sigla	Composição
Polymar	86,5%	A11	Biofilme de quitosana 1% (m/v)
		A15	Biofilme de quitosana 1% (m/v) + 100UI de Insulina
SIGMA-ALDRICH	85%	B11	Biofilme de quitosana 1% (m/v)
		B15	Biofilme de quitosana 1% (m/v) + 100UI de Insulina

4.3 - Análise termogravimétrica (TG)

A Termogravimetria foi realizada em um equipamento SDTQ600 (TA Instruments, EUA) avaliando a variação da massa dos biofilmes de QTS e QTS/INS simultaneamente por meio da diferença de energia (fluxo de calor) fornecida aos biofilmes e a um material referência (metal índio), ambos em função da temperatura quando submetidos a uma programação controlada de temperatura em uma atmosfera controlada. As curvas foram analisadas em atmosfera de dinâmica de nitrogênio (50-100 mL min⁻¹) usando amostras de 5mg e fluxo de calor de 5°C min⁻¹. As amostras foram pesadas com precisão (±0,1mg).

4.4 - Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial foi realizada em um equipamento DSCQ20 (TA Instruments, EUA). As curvas foram analisadas em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50-100 mL min⁻¹) usando amostras de 3mg e fluxo de calor de 5°C min⁻¹. As amostras foram pesadas com precisão (±0,1mg) e prensadas em painéis de alumínio. A calibração do equipamento foi feita com metal índio (99,9%) em relação à temperatura e entalpia.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram desenvolvidos biofilmes de QTS e QTS/INS em quantidades consideráveis a fim da realização dos testes termoanalíticos.

5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

As técnicas termoanalíticas possuem grande importância no âmbito farmacêutico devido à grande variedade de aplicações, as quais podem ser utilizadas tanto no controle da matéria-prima, quanto do produto acabado, possuindo potencial de emprego no desenvolvimento e na caracterização de novas formas farmacêuticas, como é o caso dos biofilmes de quitosana (SANTANA et al., 2008).

As curvas de aquecimento de Le Chatelier acompanham a variação na temperatura de uma amostra em função do tempo, quando a mesma é aquecida. Caso não ocorra nenhum fenômeno físico ou químico com a amostra observa-se uma reta para a variação de temperatura em relação ao tempo, havendo liberação de calor, processo exotérmico, verifica-se um aumento na temperatura durante o processo, representada por uma inflexão no perfil temperatura-tempo. Já no processo endotérmico, com absorção de calor, observa-se a diminuição na temperatura da amostra e a inflexão na curva pode ser representado por um pico para baixo (BERNAL et al., 2002).

As curvas de DSC (Gráfico 06 e 07) mostram um primeiro evento endotérmico ocorrido na faixa de 40 a 170 °C que pode ser atribuído a perda de água livre dos biofilmes e um segundo evento exotérmico ocorrido entre 280 e 360°C que por sua vez pode ser atribuído ou presumido pela degradação do biofilme, consubstanciado pela possível decomposição do grupo funcional amina da molécula de QTS. Com relação a entalpia foi verificado, ao longo das corridas que ela foi diminuindo, ou seja, os biofilmes que continha insulina a entalpia foi decrescente. Logo, quanto a insulina se encontra presente nos biofilmes, menor o gasto de energia para sua decomposição. Todos os eventos foram verificados em todos os biofilmes, diferenciando-os nas faixas de temperatura que elas ocorrem, verificando, portanto, que nos biofilmes com insulina estes eventos ocorrem em temperaturas mais elevadas.

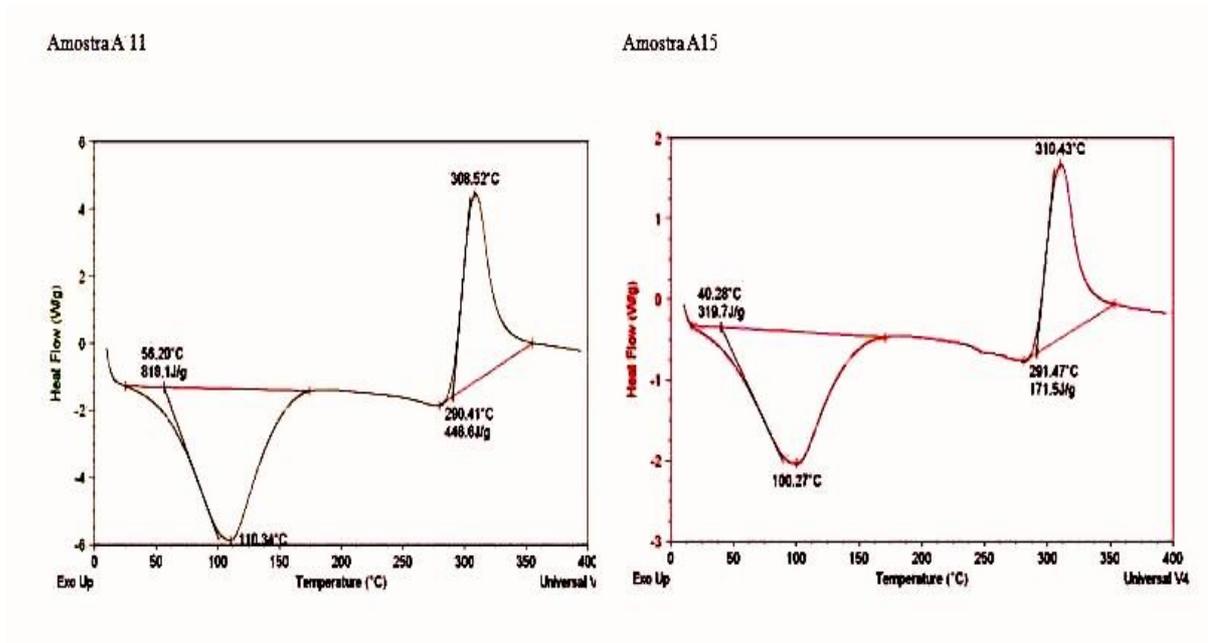


Figura 06: Curva de DSC das amostras A11 e A15

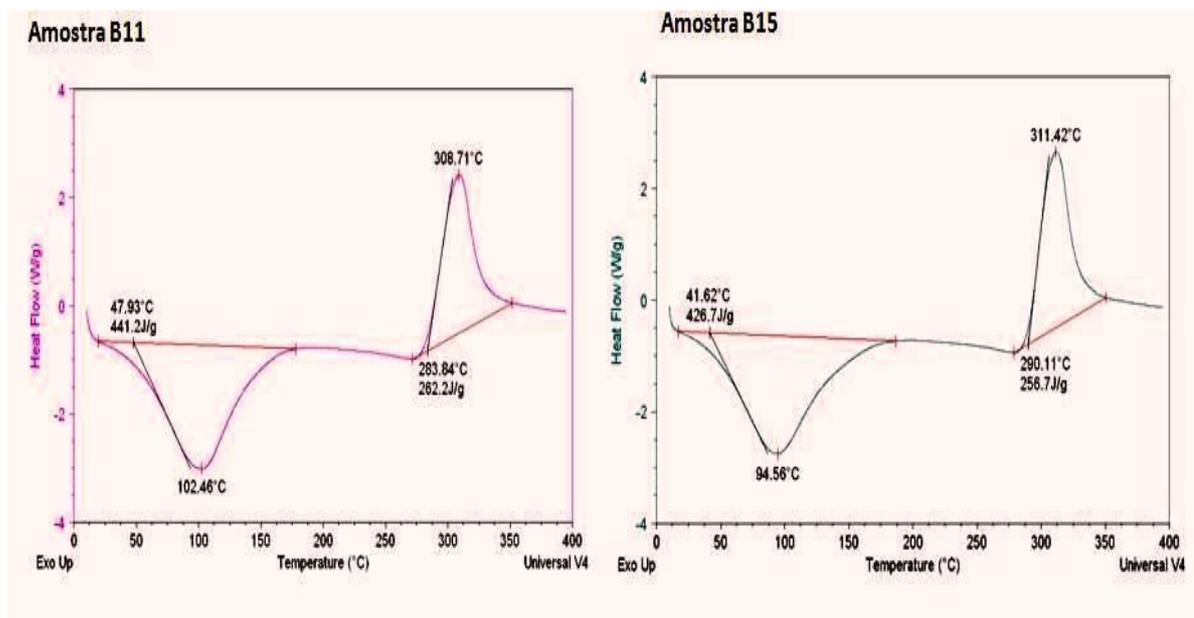


Figura 07: Curva de DSC das amostras B11 e B15

Na curva de DSC das amostras apresentam dois eventos térmicos sendo o primeiro evento endotérmico, que ocorreu entre 56,20 e 170°C, apresentando um pico em 110,34°C, já na amostra A15 o mesmo evento ocorreu entre 40,28 e 170°C e com um pico em 100,27°C. Já na amostra B11 o evento endotérmico ocorreu entre 47,93 e 170°C e apresentou um pico em 102,46°C diferente da amostra B15 que o mesmo evento endotérmico ocorreu entre 41,62 e 170°C e apresentou um pico em 94,56°C.

Não diferente dos demais, o segundo evento, sendo este exotérmico, ocorreu também em todos os biofilmes analisados, sendo que na amostra A11 ocorreu entre 290,41 e 360°C com um pico em 308,52°C e na amostra A15 este mesmo evento ocorreu entre 291,47 e 360°C com um pico em 310,43°C. Na amostra B11 este mesmo evento ocorreu entre 283,84 e 350°C com um pico em 308,71°C e na amostra B15 entre 290,11 e 350°C com um pico em 311,42°C.

Sabendo-se que DSC é uma técnica de análise térmica bastante utilizada para a obtenção de informações sobre as temperaturas de transição dos materiais como a temperatura de transição vítrea, a temperatura de cristalização e a temperatura de fusão cristalina (DALLAN, 2005). A transição vítrea do biofilme de QTS ocorreu entre 40,28 – 56,20°C, seguido de um evento endotérmico no intervalo de 47,93 - 170°C, devido à uma possível desidratação do polímero QTS presente na amostra (SILVA-JÚNIOR et al., 2008).

Segundo SANTOS et al. (2003), em Caracterização de QTS Comerciais de Diferentes Origens, a temperatura de transição vítrea (T_g) pode ser observada em aproximadamente 30°C para as amostras QA (QTS da Aldrich®) e QF (QTS da Fluka®) e, em torno de 10°C para a amostra QP (QTS da Polymar/Br), e concluem que este evento é difícil de ser observado, uma vez que depende do teor de água presente nas amostras.

Ao analisarmos os dados do Figura 06, o qual mostra a curva de DSC da amostra A11, verifica-se que o segundo evento inicia em torno de 56,20°C, enquanto que na amostra A15 (FÍGURA 06), o mesmo evento se inicia em torno de 40,28°C, mostrando uma diferença de 15,92°C entre ambas as amostras. Verifica-se, também, que na amostra B11e B15 (FIGURA 07) essa diferença é de 6,31°C. Estas variações estão sendo investigadaS através de dados da literatura, a qual estão sendo levantados para um melhor esclarecimento destes eventos. Por fim, foi observado a ocorrência de um terceiro evento, cujas diferenças de temperatura entre o biofilme A11 e A15 é de no máximo 1,06°C. Já entre as amostras B11 e B15 esta diferença é maior, sendo em torno de 6,27°C, cujas variações, também, estão sendo investigadas, através de dados da literatura.

A fusão caracteriza-se por ser um fenômeno físico, o qual pode ser detectado através das curvas DSC, apresentando-se como um evento endotérmico (BAZZO; SILVA, 2005). Foi observado um evento adicional nos biofilmes de quitosana com insulina (GRÁFICO A15 E B15), pois houve uma pequena variação na amplitude da temperatura de fusão do pico endotérmico, bem como alterações na forma do pico. Estas pequenas alterações estão relacionadas à presença dos componentes da formulação, as quais indicam o estado de organização do fármaco no sistema polimérico, que neste caso, dependeram, principalmente, do método de obtenção escolhido, o que pode ser presumido e caracterizado como a não ocorrência de interações.

5.2 Termogravimetria (TG)

O principal uso da TG na caracterização de polímeros está no estudo da estabilidade e decomposição térmica dos mesmos. As curvas TG (FIGURA 08) mostram que não houve modificação do perfil térmico das amostras estudadas, sendo que houve uma menor degradação na amostra A11 (14,34%) quando comparada com a amostra A15, cuja degradação foi maior (16,19%). A decomposição inicial do biofilme foi em torno de 50-110°C, e subsequentemente, observa-se que o biofilme de QTS/INS é termicamente estável até aproximadamente 200°C, onde inicia-se uma perda de massa, com liberação de componente volátil até 400°C. Observa-se, também, que não ocorreu alteração do perfil de degradação térmica entre as amostras A11 e A15, no entanto foi observada uma diferença de intensidade do perfil de degradação térmica de ambas amostras. Além disso, observa-se que o processo de decomposição térmica dos biofilmes contendo insulina inicia-se na mesma temperatura, os quais apresentam três estágios térmicos de decomposição em torno de 200 à 400°C.

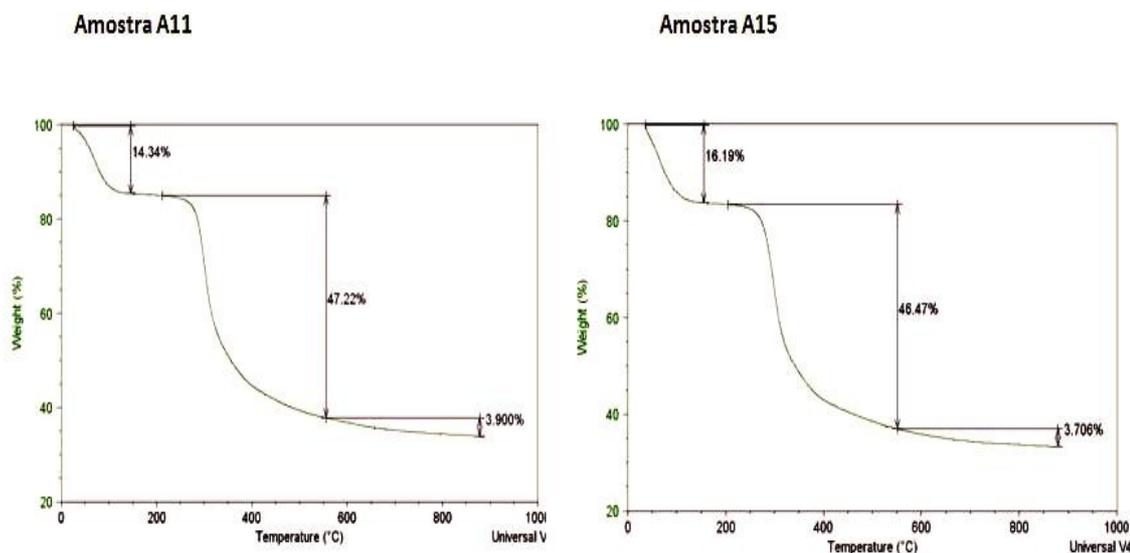


Figura 08: Curva de TG das amostras A11 e A15

Segundo Azevedo & Sizilio (2010), em estudo de caracterização físico-química de nanopartículas de quitosana contendo insulina, os mesmos obtiveram na curva de TG duas perdas de massa na curva de QTS, uma que ocorreu na faixa de 30 a 110°C e a segunda perda de massa em 292,96°C, e concluem que na curva TG da QTS/INS essas são discretas em relação á temperatura.

De acordo com Lima (2006), a primeira perda de massa para as membranas de QTS está relacionada à perda de moléculas de água que estariam ligados aos grupamentos amino e hidroxila, através de pontes de hidrogênio, então tal evento estaria relacionado tanto com as interações polímero-água quanto com a capacidade do polímero de reter água. A mesma descreveu que a segunda perda de massa é atribuído a um complexo processo de decomposição que tem início através da quebra aleatória de ligações glicosídicas, seguida da decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas do polímero.

No relato de Antonio (2007), a primeira decomposição, houve uma perda de 6,1% de massa correspondente a perda de água, a segunda decomposição, ocorreu uma perda de massa de 62,4%, referente à perda de material orgânico e a terceira decomposição, referente à material carbonizado, com uma perda de massa de 31,3%. Já na Figura 08, podemos dizer na primeira degradação, a água ligada através das pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da QTS é degradada, sendo

que no biofilme A11 (biofilme de QTS) degradou 14,34% da amostra e o biofilme A15 (biofilme de QTS/INS) degradou 16,19%, na segunda decomposição que seria a decomposição do grupo funcional amina, na curva de TG mostra a degradação das amostras sendo que 47,22% para A11 e 46,47% para A15 e na terceira decomposição, referente à material carbonizado 3,900 e 3,706% das amostras.

Modificações quanto à cristalinidade dos fármacos podem ser caracterizadas por DSC/TG através de alterações significativas nas temperaturas e valores de entalpia referentes aos eventos, alterações na área e formas dos picos, bem como pelo aparecimento de novos eventos. Estas observações podem sugerir a ocorrência de alterações na cristalinidade, porém devem ser comprovadas com o auxílio de técnicas adicionais, a exemplo de difratometria de raios-X ou espectroscopia de absorção na região do infravermelho (BAZZO; SILVA, 2005).

6 CONCLUSÃO

A manutenção das propriedades físico-químicas dos excipientes farmacêuticos após o processo de produção da forma farmacêutica é de fundamental importância para assegurar a atividade biológica do fármaco, neste caso, a insulina. As técnicas termoanalíticas empregadas no presente estudo fornecem parâmetros acerca do desenvolvimento e caracterização dos biofilmes de quitosana contendo insulina humana, que são de extrema importância na identificação e controle da qualidade de fármacos em geral, sendo portanto um tema relevante para a tecnologia farmacêutica. A calorimetria exploratória diferencial permitiu identificar a insulina, bem como a quitosana através de sua faixa e entalpia de fusão, fornecendo ainda dados quantitativos sobre sua pureza. Os resultados de DSC e TG evidenciaram a não ocorrência de interações entre a insulina e o polímero QTS, e que o processo e a farmacotécnica de desenvolvimento de produção dos biofilmes utilizados mantêm a integridade estrutural da insulina, além do estabelecimento da relação entre o comportamento térmico dos biofilmes e da insulina, presumindo, portanto, que o biofilme de quitosana é um bom carreador do fármaco (insulina humana). A realização deste trabalho permitiu o domínio do uso de várias técnicas de análises de sistemas polimérico no âmbito da Tecnologia Farmacêutica. Além disso, a produção de um sistema transdérmico de liberação controlada de insulina a partir de um biopolímero como a QTS será de grande utilidade no campo farmacêutico, pois permitirá o uso racional de uma molécula que é facilmente degradada, quando utilizada ou administrada na terapêutica clínica pela via oral, como é o caso da insulina humana.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. T. **DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA COMPOSTA DE PVAI E QUITOSANA COMPATÍVEL COM O SISTEMA DERMO – EPIDÉRMICO**. Dissertação de Mestrado, Março de 2009
- ANTONIO A. A. N., **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana**, Dissertação de mestrado, João Pessoa – PB, março de 2007.
- AZEVEDO J.R., SIZILIO R.H., BRITO M. B., COSTA A. M. B., SERAFIN M. B., ARAÚJO A. A. S., SANTOS M. R. V., LIRA A. A. M., NUNES R. S., **caracterização físico-química de nanopartículas de quitosana-tpg contendo insulina**, VII Congresso Brasileiro de análise Térmica e Calorimetria, São Paulo, 25 a 28 de Abril, 2010.
- BADRAN, M.M; KUNTSCHE J.; FAHR, A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller®) in vitro: Dependency on needle size and applied formulation. **European Journal Pharmaceutical Science**. 36 (4-5): 511-523, 2009.
- BAZZO, G.C.; SILVA, M. A. S. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 41(3): 315–22, 2005.
- BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**, 25 (5): 849-55, 2002.
- CHIANDOOTTI R. S. **Síntese e propriedades de derivados de Quitosana: Lauril Quitosana**, Dissertação de Mestrado, Universidade...Curitiba, 2005.
- COMUNE, A. P. D., **Análise térmica- Principios, aplicação e importância em Fármaco e Medicamento**. LECTA, Bragança Paulista, v.17, n.2, p.87-94, Jul/dez. 1999.
- CUI, Z. Ionic interactions between sulfuric acid and chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**. p. 1-6, 2008.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. 2005. 194f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.
- JOHN, C.; LAWRENCE, J. R. Insulina e Fármacos Hipoglicemiantes orais. In: BRODY, T. M. *et al.* **Farmacologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.39, p. 468-482, 2ª ed, 1997.
- KAPARISSIDES, C. **Recent advances in novel drug delivery systems**. Copyright AZoM., 2006. Disponível em: <<http://www.azonano.com/oars.asp>>. 25 abr. 2007.
- LARANJEIRA, M. C. M. & DE FÁVERE T. **Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico**. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, Brasil; Química Nova, Vol. 32, No. 3, 672-678, 2009.
- LIMA, M. S. P. **Preparo e caracterização de membranas de quitosana modificada com poli(ácido acrílico)**. Dissertação de Mestrado, Natal, Novembro 2006.
- MACIEL J. S. **Géis de Goma do Cajueiro e Derivados com Quitosana: Síntese, caracterização e Ensaios Preliminares em Sistemas de liberação de Fármacos**, Tese de Doutorado, Fortaleza, Ceara, 2005.

MATOS, J.R.; MACHADO, L.D.B. **Análise térmica – termogravimetria**. In: CANEVAROLO JUNIOR., S.V., (Ed.). Técnicas de caracterização de polímeros. São Paulo: Artliber, 2004. p.209-228.

MOTHÉ, C. G. & AZEVEDO, A. D., **Análise térmica de materiais**. São Paulo: Editora, 2002.

ÖZGUNEY, I. S.; KARASULU, H. Y.; KANTARCI, G.; SÖZER, S.; GÜNERI, T.; EERTAN, G. Transdermal delivery of diclofenac sodium through rat skin from various formulations. **AAPS Pharm Sci Tech.** 7 (4): 39-45, 2006.

RIBEIRO, G.; FREUDENRICH, C. **HowStuffWorks: como funciona o diabetes**. Disponível em: <<http://saude.hsw.uol.com.br/diabete.htm>>. Acesso em: 24 abr. 2008.

RODRIGUES I. R., **Síntese e caracterização de redes poliméricas a base de quitosana com PVP e PVA para aplicações controlada de fármacos**, Dissertação de Mestrado em Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006

SANTANA, D. P.; FONSECA, S. G. C.; BEDOR, D. C. G.; LEAL, L. B.; SILVA, J. A. Aplicação termoanalítica no desenvolvimento e caracterização de micropartículas de PLGA contendo lapachol. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 261-266, 2008.

SANTOS J. E., **Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. Tese Doutorado- Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004

SANTOS, J. E. , SOARES, J. P., DOCKAL, E. R., CAMPANA S. P., CAVALHEIRO, E. T. G. **Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens**. Departamento de Química, UFSCar, Instituto de Química de São Carlos, USP. Ciência e Tecnologia, vol. 13, nº 4, p. 242-249, 2003

SIGNINI R. e CAMPANA FILHO S. P. **Purificação e Caracterização de Quitosana Comercial**. Instituto de Química de São Carlos 1998.

SILVA E. C., VELASCO DE PAOLA M. V.R., MATOS J. R. **Análise térmica aplicada à cosmetologia**. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências

Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 43, n. 3, jul./set., 2007.

SILVA, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**. 31(3) no prelo, 2010.

SILVA-JÚNIOR, A. A.; SCARPA, M. V.; PESTANA, K. C.; MERCURI, L. P.; MATOS, J.R.; OLIVEIRA, A. G. Thermal analysis of biodegradable microparticles containing ciprofloxacin hydrochloride obtained by spray drying technique. **Thermochim Acta**, 467: 91-8, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD), **Tratamento e acompanhamento do Diabetes Mellitus: Diretrizes da sociedade Brasileira de Diabetes**, 2006.

STORPIRTIS, S.; GONCALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2009.

STULZER H.k., TAGLIARI M.P., SILVA M.A.S., LARANJEIRA M.C.M.. **Desenvolvimento, avaliação e caracterização físico química de microparticulas constituídos de Aciclovir/Quitosana desenvolvidas ela tecnica de Spray-drying.** Latin American Journal of Pharmacy – 26 (6) 2007.

SWART, H.; BREYTENBACH, J. C.; HADGRAFT, J.; PLESSIS, J. Synthesis and transdermal penetration of NSAID glycoside esters. **International Journal Pharmaceutical**, 301 (1-2): 71-79, 2005.