



## SÍNTESE DO DERIVADO ORGANOSSELÊNIO-QUITOSANA PARA POTENCIAIS APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

ANDRESSA BAPTISTA NÖRNBERG<sup>1</sup>; ANDRÉ RICARDO FAJARDO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – andressanornberg@outlook.com.br*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – drefajardo@hotmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

Um polissacarídeo bastante explorado no preparo de biomateriais é a quitosana (CS). Provavelmente, isso esteja relacionado com as interessantes propriedades físico-químicas e biológicas atribuídas a este polissacarídeo, incluindo a biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, relativamente de baixo custo e atividade antimicrobiana (SAHARIAH, 2017). A CS é um copolímero linear obtido pela desacetilação total ou parcial da quitina, e que é constituída de unidades *D*-glucosamina e *N*-acetil-*D*-glucosamina ligadas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta(1\rightarrow4)$ . Sua estrutura química é altamente funcionalizada com grupos hidroxila e amina, os quais facilitam a funcionalização química e a derivatização da CS. Os grupamentos amina presentes na estrutura da CS, dão origem a reações químicas que fornecem uma grande variedade de derivados com propriedades biológicas interessantes como, por exemplo, atividades antifúngica, antibacteriana, antiácido, além de melhor características como biocompatibilidade e biodegradabilidade. De modo geral, há na literatura um grande número de reações e estratégias sintéticas úteis para funcionalização e derivatização da CS. Dentre essas opções, a derivatização é, em particular, a mais interessante, pois permite dotar os polímeros com diferentes propriedades. Além disso, entre as reações que permitem realizar o processo de derivatização, encontra-se um grupo particularmente interessante conhecidas como reações do tipo "click". No caso da CS, reações do tipo "click" possibilitam a inserção de compostos orgânicos em sua estrutura a partir da formação de 1,2,3-triazóis utilizando para isso seus grupos amina (HUANG, 2020).

Os triazóis são compostos heterociclos formados por um anel de cinco membros, contendo três átomos de nitrogênio, no mesmo núcleo cíclico. É um composto aromático, que possui dois isômeros o 1,2,3-triazol e o 1,2,4-triazol, porém a seletividade na obtenção destes compostos irá depender da metodologia aplicada. Dentre estes isômeros, o 1,2,3-triazol, tem despertado interesse pelo fato deste possuir um vasto campo de aplicações, como blocos de construção em síntese orgânica, agroquímicos, fármacos (GENG, 2021). Uma das metodologias mais eficientes e empregadas para a síntese de 1,2,3-triazol é feita pela reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen. Essa reação ocorre entre um grupamento azida e um alquino terminal, usando como catalisador sais de cobre. Sendo essa uma reação do tipo "click", a mesma tem proporcionado alta regiosseletividade, excelentes rendimentos quantitativos e uma redução na formação de subprodutos. De modo geral, os derivados de 1,2,3-triazol apresentam um amplo espectro de propriedades biológicas por serem antimicrobiano, anticancerígeno, agentes citotóxicos e antioxidantes. Com base nisso, pesquisadores de diferentes áreas têm recorrido às reações de "click" para modificar e derivar polímeros (sintéticos ou naturais), o que permite ampliar o leque de propriedades e aplicações dessas macromoléculas. Tão importante quanto à rota sintética, os compostos orgânicos usados para funcionalizar a CS também possuem um papel fundamental nas propriedades finais dos derivados desse polissacarídeo.



Levando isso em consideração, neste trabalho será relatado à síntese via reação de “click” de um derivado organosselênio-CS (CS-TSe), a partir da formação de 1,2,3-triazol. Compostos orgânicos contendo átomos de selênio (Se), especialmente aqueles compostos contendo um heterocíclico nitrogenado, como pirazóis, indóis e triazóis, têm sido estudados por apresentarem diferentes propriedades biológicas. Até o momento, estudos têm demonstrado que os polissacarídeos contendo Se possuem melhor absorvividade no organismo humano do que o selênio inorgânico (HUANG, 2020) Por esse motivo, esses compostos possuem propriedades biológicas atrativas, como ter atividade antioxidante, um importante aliado no processo de cicatrização de feridas. Durante o processo de cura das feridas, nota-se a excessiva produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), também conhecido como estresse oxidativo, levando ao desequilíbrio de oxidantes e antioxidantes, resultando numa regeneração lenta do tecido rompido. A formação de biomateriais, usados como curativos de feridas, contendo propriedades antioxidantes diminuem os danos das ROS, acelerando o processo de regeneração.

A partir dessas considerações, levantamos como hipótese que derivados de CS com compostos organosselênio podem apresentar propriedades biológicas superiores quando comparados aos materiais precursores não modificados. Além disso, espera-se que o uso deste derivado permita a obtenção de um material (filme ou membrana, por exemplo) com maior potencial para uso no revestimento de ferimentos. Até onde sabemos, esse tipo de estratégia ainda não foi relatada na literatura.

## 2. METODOLOGIA

*Síntese da quitosana-azidada (CS-N<sub>3</sub>):* A CS-N<sub>3</sub> foi sintetizada a partir da dispersão de 1,0 g de CS em uma mistura de água destilada e acetato de etila (1:8 v/v, 25 mL total), a qual foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 1 h. Após isso, 1 mL de ácido clorídrico concentrado foi adicionado ao frasco reacional. Em seguida, solução de nitrito de sódio (1,28 g em 3,8 mL de água destilada) foi também adicionada ao sistema, que foi homogeneizado sob agitação magnética e resfriado a 4 °C, permanecendo por 1 h em banho de gelo. Logo depois, uma solução de nitrato de sódio (1,2 g em 4 mL de água destilada) foi gotejada no sistema reacional, que continuou sob agitação magnética a 4 °C por mais 30 min. Posteriormente, o produto CS-N<sub>3</sub> foi recuperado por filtração a vácuo, neutralizado com solução de hidróxido de sódio (1 mol L<sup>-1</sup>) e seco em estufa a 40 °C por 24 h.

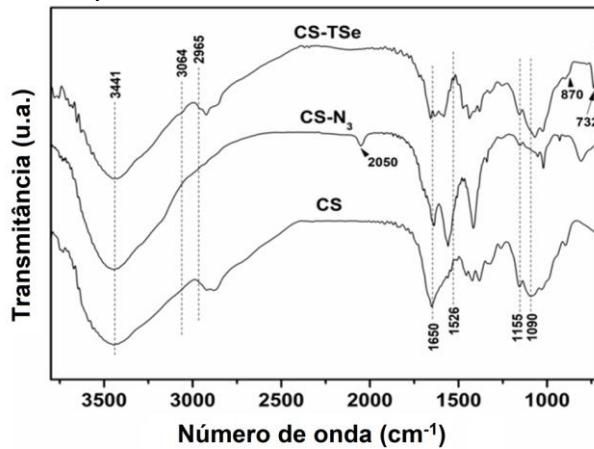
*Síntese do derivado organosselênio-quitosana (CS-TSe):* Em um frasco de 50 mL, foram adicionados iodeto de cobre (0,005 g), trietilamina (1 mL), tolueno (2 mL) e dimetilformamida (1 mL). A mistura foi deixada sob agitação magnética a 50 °C, por 30 min. Posteriormente, foram adicionados ao frasco reacional, CS-N<sub>3</sub> (0,16 g) e PhSe-alquino (0,0477 g) previamente dissolvidos em 1 mL de tolueno, permanecendo sob agitação magnética, a 50 °C, por 12 h. Em seguida, a reação foi resfriada à temperatura ambiente e o produto foi recuperado por filtração a vácuo, redisperso em água destilada e dialisado por 1 dia, numa membrana de diálise com corte Mw de 12.000–14.000 Spectra/Por®). Por fim, o produto CS-TSe foi obtido por liofilização (-55 °C por 48 h).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a funcionalização da CS e a obtenção dos compostos CS-N<sub>3</sub> e CS-TSe, suas estruturas e as naturezas químicas foram identificadas utilizando a técnica de FTIR. Os espectros obtidos estão ilustrados na Figura 1. O espectro obtido para a CS apresentou as bandas características de sua estrutura como,



por exemplo, uma banda alargada centrada em  $3441\text{ cm}^{-1}$  atribuída à sobreposição do estiramento O–H e N–H dos grupos hidroxila e amina, bandas na região de  $2930\text{--}2870\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento C–H dos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  e bandas em  $1647$  e  $1605\text{ cm}^{-1}$  devido à amida I e flexão N–H dos grupos amina e a ligações amida II. Além disso, as bandas em  $1457$ ,  $1281$ ,  $1158$  e  $1032\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à flexão dos grupos  $\text{CH}_2$ , deformação simétrica dos grupos  $\text{CH}_3$ , estiramento antissimétrico e estiramento das ligações C–O–C e C–O do anel *D*-glicosamina. Para o composto CS- $\text{N}_3$ , a banda larga na região  $3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  torna-se mais nítida e a banda em  $1605\text{ cm}^{-1}$  quase desapareceu, sugerindo o consumo parcial dos grupos  $-\text{NH}_2$  da CS após a reação de azidação. Além disso, o aparecimento de uma nova banda em  $2050\text{ cm}^{-1}$  característica dos grupos  $-\text{N}_3$  confirma a funcionalização da CS. Após a reação de “click”, é possível notar o desaparecimento da banda em  $2050\text{ cm}^{-1}$  nos espectros da CS-TSe, indicando o consumo dos grupos  $-\text{N}_3$ . Além disso, é possível notar que o espectro CS-TSe exibiu novas bandas em  $3064$ ,  $2965$ ,  $1586$  e  $1526\text{ cm}^{-1}$ , que são atribuídas ao estiramento C–H (CH do anel triazólico, CH do anel aromático, e  $\text{CH}_2$  da cadeia alifática), ligações C=C do anel aromático e N=N do 1,2,3-triazol. Além disso, novas bandas em  $870$  e  $732\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à vibração da deformação do plano da ligação N–C=N do anel triazólico e a deformação fora do plano da ligação =C–H do anel aromático. Já as bandas em  $1647$ ,  $1158$  e  $1091\text{ cm}^{-1}$  não mudaram de posição, indicando a preservação da estrutura da CS. Isso demonstra que o PhSe-alquino foi enxertado com sucesso na CS.



**Figura 1.** Espectros de FTIR obtidos para CS, CS- $\text{N}_3$  e CS-TSe.

Além disso, estudos das atividades antioxidantes do composto sintetizado foram desenvolvidos em conjunto com o grupo de pesquisa Laboratório de Pesquisa em Farmacologia Bioquímica (LaFarBio-UFPel) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). A atividade antioxidante do composto CS-TSe foi investigada por meio de ensaios 2,2'-azinobis-(ácido 3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS<sup>+</sup>) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ambos os métodos são espectrofotométricos e, comumente utilizados para determinar a atividade de neutralização dos radicais, de novos compostos. A fim de haver parâmetros comparativos com o composto sintetizado, também, foram investigadas as atividades antioxidantes dos compostos CS, CS- $\text{N}_3$ , PhSe-alquino e ácido ascórbico (padrão antioxidante). Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 1. Nos ensaios de ABST<sup>+</sup> foi possível observar que os compostos PhSe-alquino e CS-TSe foram capazes de transferir pelo menos um único elétron para realizar a redução do radical ABTS<sup>+</sup>. Apesar disso, o composto CS-TSe apresentou um nível maior de atividade antioxidante, sendo possível observar um aumento de cerca de 10% superior quando comparado com o composto PhSe-



alquino, com isso, é possível observar a importância de realizar o processo de derivatização de compostos organosselênio na estrutura da CS, visto que, o polissacarídeo *in natura* não demonstrou pelo ensaio de ABTS<sup>+</sup>, atividade antioxidante. Isso também pode ser observado para os ensaios de DPPH, no qual, é possível observar que os compostos CS, CS-N<sub>3</sub> e PhSe-alquino foram incapaz de reduzir o radical DPPH. Desta forma, apenas o composto CS-TSe apresentou valores significativos de 40,0 ± 4,1%, como demonstrado na Tabela 1, demonstrando que o composto CS-TSe sintetizado neste estudo mostrou ter uma atividade superior do que os materiais precursores.

**Tabela 1.** Efeito da CS, CS-N<sub>3</sub>, CS-TSe, PhSe-alquino e ácido ascórbico no parâmetro de inibição máxima ( $I_{máx}$ ) calculado a partir de ensaios ABTS<sup>+</sup> e DPPH.

Compostos	ABTS <sup>+</sup>	DPPH
	$I_{máx}$ (%)	$I_{máx}$ (%)
CS	–	–
CS-N <sub>3</sub>	–	–
PhSe-alquino	23,5 ± 1,4	–
CS-TSe	33,5 ± 0,9	40,0 ± 4,1
Ácido Ascórbico	100,0 ± 0,0	97,4 ± 1,3

#### 4. CONCLUSÕES

Neste estudo foi apresentada a síntese de um derivado da quitosana, por meio da formação do 1,2,3-triazóis, usando como metodologia a reação de “click”. A estrutura química do derivado da quitosana obtido, CS-TSe, foi confirmada pela análise de FTIR. A atividade antioxidante do derivado sintetizado foi examinada por dois ensaios de neutralização dos radicais (ABTS<sup>+</sup> e o DPPH) que demonstram que o CS-TSe tem desempenho superior em comparação com a CS bruta e os compostos fenilseleno-alquino “livre”. Em resumo, a funcionalização da CS com o composto organosselênio confere ao polissacarídeo a capacidade de transferir um único elétron ou os átomos de hidrogênio para emparelhar o elétron desemparelhado presente nos radicais livres. A partir disso, foi demonstrado que a associação entre a CS e a fração organosselênio exerce um efeito sinérgico favorecendo a atividade antioxidante do derivado sintetizado. Esta propriedade atraente será explorada na continuidade desse estudo para o desenvolvimento de biomateriais (filmes ou membranas) aplicáveis na cicatrização de feridas e ferimentos. Espera-se produzir um novo biomaterial, usando como base o derivado CS-TSe que seja eficiente no processo de cicatrização de feridas, diminuindo a produção de ROS. Ainda, estudos serão realizados para melhor caracterização do derivado obtido, a fim de realizar a publicação destes estudos em periódicos da área.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SAHARIAH, P.; MASSON, M. Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure–Activity Relationship. **Biomacromolecules**. v. 18, p. 3846-3868, 2017.
- HUANG, J.; YIN, Z. Y.; WU, J. G. Covalent attachment of chitosan to graphene via click chemistry for superior antibacterial activity. **Advances Materials**. v. 1, p. 579-583, 2020.
- GENG, Z. S.; SHIN, J. J.; XI, Y. M.; HAWKER, C. J. Click chemistry strategies for the accelerated synthesis of functional macromolecules. **Journal of Polymer Science**. v. 59, p. 963-1042, 2021.
- HUANG, S. Y.; YANG, W. J.; HUANG, G. L. Preparation and activities of selenium polysaccharide from plant such as Grifola frondosa. **Carbohydrate Polymer**. v. 242, p. 116409- 116417, 2020.