

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

ROBERTA CRISTINA VELOSO POSSEBON

**OBTENÇÃO DE BLENDA**  
**N-ACETILQUITOSANA/SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS COM**  
**POTENCIAL APLICAÇÃO PARA LESÕES DA PELE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

ROBERTA CRISTINA VELOSO POSSEBON

**OBTENÇÃO DE BLENDA**  
**N-ACETILQUITOSANA/SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS COM**  
**POTENCIAL APLICAÇÃO PARA LESÕES DA PELE**

Trabalho de Pesquisa apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 (TCC2), do Curso de Licenciatura em Química do Departamento Acadêmico de Química – DAQUI da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Química.

Orientador: Prof. Ms. Adriano L. Romero

Co-orientador: Profª. Dra. Rafaele B. Romero.

CAMPO MOURÃO

2016



## TERMO DE APROVAÇÃO

### **OBTENÇÃO DE BLENDAS N-ACETILQUITOSANA/SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS COM POTENCIAL APLICAÇÃO PARA LESÕES DA PELE**

por

**ROBERTA CRISTINA VELOSO POSSEBON**

Este trabalho foi apresentado em 24 de novembro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Química. O Candidato foi argüido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Estela Dos Reis Crespan

(UTFPR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Ledo Marciniuk

(UTFPR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rafaelle Bonzanini Romero

(UTFPR)

---

Prof. Ms. Adriano Lopes Romero

(UTFPR)

*Aos que contribuíram para minha formação,  
em especial minha família.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, fonte inesgotável de amor, que por inúmeras vezes me acalmou e me deu forças, me guiando para finalizar este trabalho. Pela proteção e pelas oportunidades maravilhosas que me concedeu durante toda minha vida.

Em especial à minha família, que nunca desistiram de mim, especialmente meus pais Roberto e Sirlene, que sempre me apoiam e incentivam, e acima de tudo, me tratam com enorme carinho. Amo muito vocês!

Meus avós paternos Eneido e Nadir, e maternos José Batista e Maria, que foram e são meu porto seguro, e que também contribuíram muito para minha formação até aqui.

Quero agradecer aos meus amigos, que muitas vezes formaram minha família, Alex, Gislaine, Manoel, Mirele, Marlige, Jacqueline, Bruna Raiane, Stefanie, Ciconello, Leandro, Amarana, Helaine, Hellen, Mickelly, Arthur, Tiago e Thayle, que durante essa jornada, estiveram ao meu lado, nas horas difíceis dessa graduação, e sem dúvida são muito especiais para mim. Obrigada meus queridos!

Agradeço ao Álvaro pelo carinho, paciência e amor incondicional, que por alguns momentos pensei em desanimar, e ele esteve sempre presente, me incentivando e auxiliando, para não desistir de meus sonhos.

Aos professores que contribuíram para minha formação acadêmica, Estela, Adriano, Patrícia, Marcilene, Nelson, Natália, Daniela, Gustavo, Letícia, Ethiene, Franciellen, Sergio, Elizabette, Ricardo, Piza e Regiane, que são exemplos de professores.

Agradeço, principalmente, à professora Dra. Rafaelle B. Romero, pela orientação, atenção disponibilizada a este trabalho, dedicação, paciência, ensinamentos e incentivo. Muito obrigada!

Aos professores membros da banca examinadora, Letícia e Estela por aceitarem e pelas contribuições a este trabalho.

Ao professor Dr. Juliano A. Bonacin, pelas análises realizadas na Universidade Estadual de Campinas e também ao professor Dr. Adley Forti Rubira da Universidade Estadual de Maringá pelas análises.

E a todos que dê alguma maneira somaram em minha formação pessoal e acadêmica.

*“A maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe e tudo pode. Isto fica sendo a minha última e mais elevada descoberta.”*

*Isaac Newton*

## RESUMO

POSSEBON, Roberta C. V. Obtenção de blendas *N*-acetilquitosana/substâncias bioativas com potencial aplicação para lesões da pele. 2016. 61 f. TCC (Curso de Licenciatura em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016.

Embora exista no mercado uma grande diversidade de materiais que são destinados ao tratamento de queimaduras, normalmente o custo é elevado, tal como ocorre para os curativos devido à necessidade de troca frequente. Logo, um dos grandes desafios da pesquisa na área de regeneração da pele consiste no desenvolvimento de biomateriais a partir de matérias-primas de baixo custo, fácil acesso e com características adequadas. Neste contexto a quitosana - um biopolímero obtida a partir de rejeitos de crustáceos - merece destaque devido as suas propriedades bacteriostática, coagulante e cicatrizante. O curativo ideal deve proteger a ferida, prevenir a infecção, promover a cicatrização e deve manter um ambiente úmido na interface da lesão, e espera-se também que os curativos modernos modelem-se à região da ferida e tenham efeito cicatrizante, por esta razão, muitos deles contêm substâncias biologicamente ativas. Dessa maneira, o presente trabalho tem como objetivo estudar a utilização de um biopolímero, como a quitosana, com o uso de substâncias bioativas para a regeneração e tratamento de lesões na pele. Para isto, filmes de *N*-acetilquitosana e blendas de *N*-acetilquitosana com acetato de celulose e/ou polietileno glicol puros e com substâncias bioativas (eugenol, naproxeno e mistura eugenol/naproxeno) foram preparados. Uma amostra de quitosana foi acetilada em meio heterogêneo utilizando piridina e anidrido acético. As caracterizações estruturais das amostras, foram obtidos a partir de análises de ressonância magnética nuclear de <sup>13</sup>C e difração de raios X. Os filmes e as blendas obtidos através da solubilização da *N*-acetilquitosana em uma mistura de *N,N*-dimetilacetamida contendo 5% de cloreto de lítio, apresentaram boas propriedades mecânicas, mesmo após consecutivas lavagens com água destilada. A cinética de liberação das substâncias bioativas incorporadas nos filmes e nas blendas de *N*-acetilquitosana foram avaliadas por espectroscopia UV-Vis em determinados períodos de tempo, em solução de simulação da pele (pH 6,8). Os resultados obtidos indicam que as blendas utilizando a *N*-acetilquitosana e polietileno glicol com substâncias bioativas são promissores sistemas para liberação transdérmica e acredita-se que este sistema poderá permitir não só a recuperação de tecidos lesados, mas também o controle do crescimento de microrganismos.

**Palavras chave:** Quitosana, Blendas, Liberação Controlada, Lesões da Pele.

## ABSTRACT

POSSEBON, Roberta C. V. Obtaion *N*-acetylchitosan blends/bioactive substances with potential application to skin lesions. 2016. 61 f. TCC ((Licenciate Course of Chemistry), Technological University Federal of Paraná, Campo Mourão, 2016.

Although there is a huge variance of materials on the treatment of burns market, the cost is usually high, as is the case for because of the need for frequent exchange. Therefore, one of the big challenges of research in the area of skin regeneration consists of the development of biomaterials to from raw materials of low cost, easy access and with appropriate characteristics. In this context, chitosan - a biopolymer obtained from crustacean tailings - merit attention just to its bacteriostatic, coagulant and healing properties. The ideal band-aid should protect the wound, prevent infection, promote healing and should maintain a humid place at the interface of the lesion, and it is also expected that modern band-aid should be adjusted to the wound region and have a healing effect, many of them contain biologically active substances. In this way, this study aims to study the use of a biopolymer, such as chitosan, with the use of bioactive substances for the regeneration and treatment of lesions in the skin. For this, *N*-acetylchitosan films and blends were prepared. A sample of chitosan was acetylated in heterogeneous medium using pyridine and acetic anhydride. At characterization of the samples were obtained from <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance and X-ray diffraction. Solubilization of *N*-acetylchitosan in a mixture of *N,N*-dimethylacetamide containing 5% lithium chloride, presented high stability, even after consecutive washes with distilled water. For the production of blends with bioactive substances (eugenol, naproxen and eugenol/naproxen mixture) the casting method was used. The kinetics of liberation of the bioactive substances incorporated in the *N*-acetylchitosan were evaluated by UV-Vis spectroscopy in certain periods of time, in skin simulation solution (pH 6.8). The results indicate that blends using chitosan and bioactive substances are promising systems for transdermal liberation and it is believed that this system could allow not only the recovery of damaged tissues, but also the control of the growth of microorganisms.

**Keywords:** Chitosan, Blends, Controlled Liberation, Skin Lesions.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação das camadas da pele.....	3
Figura 2: Representação estrutural da (a) quitosana e (b) quitina .....	8
Figura 3: Representação esquemática da quitina ( $\text{NH}_2 > \text{NHCOCH}_3$ ) ou quitosana ( $\text{NHCOCH}_3 > \text{NH}_2$ ). .....	9
Figura 4: Representação esquemática da formação de um hidrogel físico e de um hidrogel químico a partir da modificação química de um polímero hidrofóbico.....	11
Figura 5: Estrutura do Eugenol .....	15
Figura 6: Estrutura do Naproxeno.....	15
Figura 7: Fotografia do produto obtido após a acetilação da quitosana.....	19
Figura 8: Fotografia do Teste de Solubilidade da <i>N</i> -acetilquitosana em diferentes solventes: (a) acetato de etila, (b) acetona, (c) solução de ácido acético, (d) água destilada, (e) diclorometano, (f) <i>N,N</i> -dimetilacetamida, (g) DMA/LiCl após 24 horas e (h) DMA/LiCl após 48 horas.....	26
Figura 9: Fotografia dos filmes de <i>N</i> -acetilquitosana com DMA/LiCl: (a) filme sem lavagem, (b) filme após a lavagem com água destilada e (c) filme após a secagem.....	27
Figura 10: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da quitosana pura.....	28
Figura 11: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da <i>N</i> -acetilquitosana pura.....	29
Figura 12: Difratoograma de Raio X da Quitosana e da <i>N</i> -acetilquitosana.....	31
Figura 13: Fotografia dos filmes de <i>N</i> -Acetilquitosana puro (a) e com as substâncias bioativas: (b) eugenol (QTA/EUG), (c) naproxeno (QTA/NAP) e (d) mistura de eugenol e naproxeno (QTA/EUG/NAP).....	32
Figura 14: Fotografia dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Acetato de Celulose puras em diferentes proporções.....	33
Figura 15: Fotografia dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Polietileno Glicol puras em diferentes proporções.....	33
Figura 16: Fotografia dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Acetato de Celulose com Eugenol em diferentes proporções.....	34
Figura 17: Fotografia dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Acetato de Celulose com Naproxeno em diferentes proporções.....	34
Figura 18: Fotografia dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Polietileno Glicol (a) com Eugenol, (b) Naproxeno e (c) mistura Eugenol com Naproxeno.....	34

Figura 19: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de <i>N</i> -acetilquitosana pura.....	35
Figura 20: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com eugenol.....	35
Figura 21: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com naproxeno.....	36
Figura 22: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com mistura eugenol/naproxeno.....	36
Figura 23: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA90/AC10.....	37
Figura 24: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA80/AC20.....	37
Figura 25: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA70/AC30.....	37
Figura 26: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA60/AC40.....	38
Figura 27: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA90/PEG10.....	38
Figura 28: Curvas de intumescimento das amostras QTA, QTA/EUG, QTA/NAP, QTA/EUG/NAP, QTA80/AC20/EUG e QTA80/AC20/NAP em função do tempo.....	39
Figura 29: Curvas de intumescimento das amostras QTA80/PEG20/NAP, QTA80/PEG20/EUG, QTA80/PEG20/EUG/NAP em função do tempo.....	39
Figura 30: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda das soluções do eugenol em diferentes concentrações.....	40
Figura 31: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda das soluções do naproxeno em diferentes concentrações.....	41
Figura 32: Curva analítica do Eugenol ( $\lambda = 277$ nm).....	41
Figura 33: Curva analítica do naproxeno ( $\lambda = 332$ nm).....	42
Figura 34: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com eugenol em função do tempo.....	43
Figura 35: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com naproxeno em função do tempo.....	43
Figura 36: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana com mistura eugenol/naproxeno em função do tempo.....	43

Figura 37: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme da blenda de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA80/AC20/EUG) em função do tempo. .....	44
Figura 38: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA70/AC30/EUG) em função do tempo. .....	44
Figura 39: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA60/AC40/EUG) em função do tempo. .....	45
Figura 40: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose com naproxeno (QTA80/AC20/NAP) em função do tempo.....	45
Figura 41: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose com naproxeno (QTA70/AC30/NAP) em função do tempo. .....	45
Figura 42: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/polietileno glicol com eugenol (QTA80/PEG20/EUG) em função do tempo... .....	46
Figura 43: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/polietileno glicol com naproxeno (QTA80/PEG20/NAP) em função do tempo.....	46
Figura 44: Espectro de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda do filme de <i>N</i> -acetilquitosana/polietileno glicol com mistura eugenol/naproxeno (QTA80/PEG20/EUG/NAP) em função do tempo.....	47
Figura 45: Curvas de liberação do eugenol e do naproxeno dos filmes de QTA/EUG e QTA/NAP.....	47
Figura 46: Curva de liberação do eugenol dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Acetato de Celulose e <i>N</i> -acetilquitosana/Polietileno Glicol, obtidos no comprimento de onda de 277 nm.....	48
Figura 47: Curva de liberação do naproxeno dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato de celulose e <i>N</i> -acetilquitosana/polietileno glicol, obtidos no comprimento de onda de 330 nm.....	48
Figura 48: Curva de liberação do eugenol e naproxeno dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/acetato com proporções 70/30.....	49

Figura 49: Curva de liberação do eugenol no filme da blenda de *N*-acetilquitosana/acetato na proporção 60/40.....49

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>AC</b>	Acetato de Celulose
<b>DMA</b>	<i>N,N</i> -Dimetilacetamida
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
<b>DRX</b>	Difração de Raios X
<b>EUG</b>	Eugenol
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>LiCl</b>	Cloreto de Lítio
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>NAP</b>	Naproxeno
<b>PEG</b>	Polietileno Glicol
<b>QT</b>	Quitosana pura
<b>QTA</b>	<i>N</i> -acetilquitosana
<b>QTA90/AC10</b>	Blendas com 90% de <i>N</i> -acetilquitosana e 10% de Acetato de Celulose
<b>QTA80/AC20</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Acetato de Celulose
<b>QTA70/AC30</b>	Blendas com 70% de <i>N</i> -acetilquitosana e 30% de Acetato de Celulose
<b>QTA60/AC40</b>	Blendas com 60% de <i>N</i> -acetilquitosana e 40% de Acetato de Celulose
<b>QTA50/AC50</b>	Blendas com 50% de <i>N</i> -acetilquitosana e 50% de Acetato de Celulose
<b>QTA90/AC10/EUG</b>	Blendas com 90% de <i>N</i> -acetilquitosana e 10% de Acetato de Celulose com eugenol
<b>QTA80/AC20/EUG</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Acetato de Celulose com eugenol
<b>QTA70/AC30/EUG</b>	Blendas com 70% de <i>N</i> -acetilquitosana e 30% de Acetato de Celulose com eugenol
<b>QTA60/AC40/EUG</b>	Blendas com 60% de <i>N</i> -acetilquitosana e 40% de Acetato de Celulose com eugenol
<b>QTA50/AC50/EUG</b>	Blendas com 50% de <i>N</i> -acetilquitosana e 50% de Acetato de Celulose com eugenol
<b>QTA90/AC10/NAP</b>	Blendas com 90% de <i>N</i> -acetilquitosana e 10% de Acetato de Celulose com naproxeno
<b>QTA80/AC20/NAP</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Acetato de Celulose com naproxeno
<b>QTA70/AC30/NAP</b>	Blendas com 70% de <i>N</i> -acetilquitosana e 30% de Acetato de Celulose com naproxeno
<b>QTA60/AC40/NAP</b>	Blendas com 60% de <i>N</i> -acetilquitosana e 40% de Acetato de Celulose com naproxeno
<b>QTA50/AC50/NAP</b>	Blendas com 50% de <i>N</i> -acetilquitosana e 50% de Acetato de Celulose com naproxeno
<b>QTA90/PEG10</b>	Blendas com 90% de <i>N</i> -acetilquitosana e 10% de Polietileno Glicol
<b>QTA80/PEG20</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Polietileno Glicol
<b>QTA70/PEG30</b>	Blendas com 70% de <i>N</i> -acetilquitosana e 30% de Polietileno Glicol
<b>QTA60/PEG40</b>	Blendas com 60% de <i>N</i> -acetilquitosana e 40% de Polietileno Glicol
<b>QTA50/PEG50</b>	Blendas com 50% de <i>N</i> -acetilquitosana e 50% de Polietileno Glicol
<b>QTA80/PEG20/EUG</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Polietileno Glicol com eugenol
<b>QTA80/PEG20/EUG/NAP</b>	Blendas com 80% de <i>N</i> -acetilquitosana e 20% de Polietileno Glicol com mistura de eugenol e naproxeno

**QTA80/PEG20/NAP**

Blendas com 80% de *N*-acetilquitosana e 20% de Polietileno Glicol com naproxeno

**QTA/EUG**

Filmes de *N*-acetilquitosana pura com eugenol

**QTA/EUG/NAP**

Filmes de *N*-acetilquitosana pura com eugenol e naproxeno

**QTA/NAP**

Filmes de *N*-acetilquitosana pura com naproxeno

**RMN**

Ressonância Magnética Nuclear

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO TEÓRICA</b> .....	3
2.1 LESÕES DA PELE .....	3
2.2 CURATIVOS .....	4
2.3 POLÍMEROS BIOCMPATÍVEIS E BIODEGRADÁVEIS .....	5
2.4 QUITOSANA.....	7
2.4.1 Modificações da Quitosana .....	9
2.4.2 Hidrogéis .....	10
2.4.2.1 Hidrogéis a Base de Blendas Poliméricas .....	12
2.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS .....	13
2.6 SUBSTÂNCIA BIOATIVA.....	14
2.6.1 Eugenol.....	14
2.6.2 Naproxeno .....	15
<b>3 OBJETIVO</b> .....	17
3.1 Objetivo Geral .....	17
3.2 Objetivos específicos.....	17
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	18
4.1 REAGENTES.....	18
4.2 PREPARAÇÃO DA <i>N</i> -ACETILQUITOSANA. ....	18
4.2.1 Teste de solubilidade .....	19
4.2.2 Caracterização da <i>N</i> -acetilquitosana.....	19
4.2.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C (RMN de <sup>13</sup> C).....	19
4.2.2.2 Difração de Raios X (DRX) .....	20
4.3 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE <i>N</i> -ACETILQUITOSANA.....	20
4.3.1 Filmes de <i>N</i> -acetilquitosana.....	20
4.3.2 Filmes de <i>N</i> -acetilquitosana com substâncias bioativas .....	21
4.4 PREPARAÇÃO DAS BLENDA.....	21
4.4.1 Blendas de <i>N</i> -acetilquitosana e Acetato de Celulose (QTA/AC) .....	21
4.4.2 Blendas de <i>N</i> -acetilquitosana e Polietileno Glicol .....	22
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAS. ....	23
4.5.1 Teste de Intumescimento .....	23

4.5.2 Caracterização Morfológica.....	24
4.5.3 Liberação controlada das substâncias bioativas.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>25</b>
5.1 TESTE DE SOLUBILIDADE.....	25
5.2 CARACTERIZAÇÃO DE <i>N</i> -ACETILQUITOSANA.....	28
5.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C.....	28
5.2.2 Difração de Raios X.....	30
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS À BASE DE <i>N</i> -ACETILQUITOSANA. ....	31
5.3.1 Caracterização dos filmes de <i>N</i> -acetilquitosana.. ....	31
5.3.2 Caracterização dos filmes das blendas de <i>N</i> -acetilquitosana/Acetato de Celulose e de <i>N</i> -acetilquitosana/Poliétileno Glicol.....	32
5.3.3 Caracterização Morfológica.....	35
5.3.4 Teste de Intumescimento.....	38
5.3.5 Liberação controlada da substância bioativa.....	40
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>50</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>





## 1 INTRODUÇÃO

O corpo humano é recoberto por aproximadamente dois metros quadrados de pele, que além de desempenhar o papel de barreira aos ataques externos, ainda é responsável pela regulação da temperatura corpórea e pela remoção de impurezas. Assim sendo, qualquer lesão cutânea, além de causar danos físicos, mecânicos e térmicos superficiais, pode também afetar as funções fisiológicas de tecidos internos (GEESON; BERG, 1991). Quando a pele é lesionada, seja por doenças crônicas ou por fatores externos, como queimaduras, sua função fica comprometida. Assim, é importante que se garanta uma cicatrização adequada da área afetada, a fim de que não haja danos à saúde do indivíduo (PENZER; ERSSER, 2010; KOROTKOV; GARCIA, 2012; BOATENG et al., 2008). O tratamento de lesões é um tópico que merece grande atenção, pois um elevado número de pessoas sofre de ferimentos crônicos e estes constituem um problema de saúde pública (BRASIL, 2002).

Embora exista no mercado uma grande diversidade de materiais que são destinados ao tratamento de queimaduras, normalmente o custo é bastante elevado, principalmente por conta de curativos e à necessidade de sua frequente troca. Logo, um dos grandes desafios da pesquisa na área de regeneração de pele consiste no desenvolvimento de biomateriais a partir de matérias-primas de baixo custo, fácil acesso e com características adequadas para a função destinada. Neste contexto os polissacarídeos se destacam, como por exemplo, a xantana, pectina, celulose, amido, alginato e quitosana, dentre outros (DALLAN, 2005).

Os polissacarídeos, em particular, possuem diversas propriedades intrínsecas como biocompatibilidade e biodegradabilidade, são renováveis, podem, dependendo do tipo, formar filmes, géis, cápsulas, partículas e fibras, além de agirem como espessantes (RINAUDO, 2008).

Dentre os polissacarídeos, a quitosana se destaca por ser um biopolímero linear obtido por meio da desacetilação da quitina, encontrada em exoesqueletos de crustáceos, insetos, parede celular de fungos, além de outras fontes. Este polissacarídeo possui propriedades intrínsecas muito importantes, dentre as quais se destacam biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividades antibacteriana e antifúngica, além da capacidade de facilitar a coagulação sanguínea e a penetração de compostos pelas juntas intercelulares epiteliais (SOUZA, 2014).

No tratamento de ferimentos ou queimaduras, a quitina e a quitosana podem ser empregadas sob a forma de filmes de recobrimento (membranas), soluções coloidais ou esponjas (CRAVEIRO; CRAVEIRO, 2000). Quitosana apresenta grupos hidroxílicos e

amínicos em sua cadeia, o que conferem propriedades hemostáticas, bactericidas e fungicidas (PAUL e SHARMA, 2004), permite sua utilização como biomaterial na forma de comprimidos, micro e nanopartículas, géis, hidrogéis e membranas em diversas aplicações, como veículo de liberação de fármacos (BORCHARD, 2001; LEE; PARK, 1995). Além dessas características, possuem também propriedades cicatrizantes e grande disponibilidade comercial (KUCHARSKA et al., 2008; REDDY et al., 2008).

Membranas porosas de quitosana têm sido bastante estudadas, ocupando atualmente um lugar de destaque devido às suas diversas aplicações como, por exemplo, em sistemas de liberação controlada de medicamentos, como suportes para a imobilização de enzimas, na adsorção de metais de transição e na área de engenharia de tecidos (CHOW; KHOR, 2000). Vem sendo regularmente utilizada em processos de regeneração de pele em clínicas no Japão (CRAVEIRO et al., 1999), consistindo em um tratamento com combinação de três procedimentos: aplicação de uma solução de quitosana sobre a lesão cutânea, banhos de imersão contendo soluções diluídas de quitosana e ingestão oral de uma solução de quitosana.

Apesar da intensa pesquisa nesta área, nota-se a existência de poucos trabalhos enfocando a produção de membranas de quitosana, escassez de informações detalhadas sobre as condições para a obtenção destas membranas e sobre os fatores que influenciam nas características físicas, químicas, mecânicas e biológicas destes materiais, bem como da padronização nos métodos de caracterização destes biomateriais.

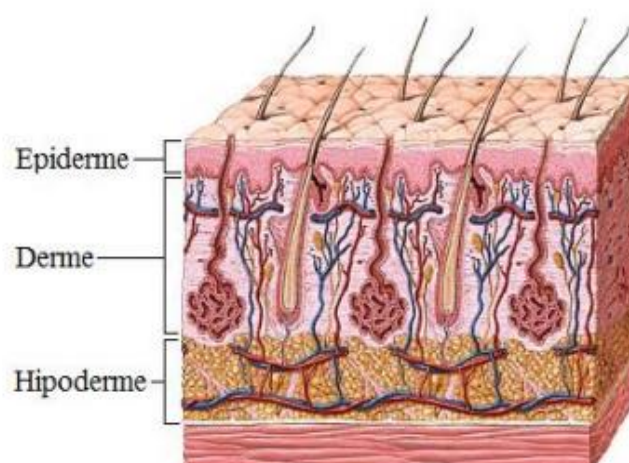
Além disso, nenhum trabalho enfoca a inclusão de substâncias bioativas, como óleos essenciais e anti-inflamatórios, na produção de membranas de quitosana. Este sistema pode permitir não só a recuperação dos tecidos lesados pela ação dos biopolímeros, mas também o controle do crescimento de microrganismos indesejáveis.

Neste contexto, a utilização de um biopolímero como a quitosana no desenvolvimento de curativos destinados a terapia de lesões é bastante atraente. O presente trabalho propõe o desenvolvimento de filmes e blendas à base de *N*-acetilquitosana, contendo substâncias bioativas, para aplicação em lesões da pele.

## 2 REVISÃO TEÓRICA

### 2.1 LESÕES DE PELE

A pele possui estrutura complexa e é dividida em duas principais camadas: a epiderme e a derme (**Figura 1**). A epiderme é a camada mais externa, que está em contato com o ambiente, sendo a maior responsável pela proteção mecânica e contra infecções. Ela é bem mais fina que a derme, representando apenas 10% da espessura total da pele. A epiderme é composta majoritariamente de células chamadas queratinócitos, responsáveis pela constante renovação superficial do órgão. Outros tipos de células que a constitui são os melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, responsáveis pela pigmentação, reconhecimento de antígenos e recepção sensorial, respectivamente. Já a derme serve como um sistema de suporte para a epiderme, funcionando como fornecedora de oxigênio e nutrientes, e removendo resíduos da mesma. É composta de colágeno e elastina, que conferem resistência e elasticidade à pele (SOUZA, 2014). Abaixo das camadas anteriormente mencionadas, existe ainda a chamada hipoderme, ou tecido subcutâneo, composta principalmente por tecido adiposo. Esta camada tem como função o armazenamento de energia, isolamento térmico e amortecimento de impactos (PENZER; ERSSER, 2010; KOROTKOV; GARCIA, 2012).



**Figura 1: Representação das camadas da pele.**

**Fonte: RUMC, 2013.**

As queimaduras são consideradas as mais traumáticas lesões que podem acometer a pele (BALASUBRAMANI et al., 2001). Apesar de decorrerem de acidentes relativamente comuns, estas requerem tratamento multiprofissional (BERALDO et al., 1999). É uma doença que se diferencia por uma lesão na pele ou nos tecidos mais profundos, podendo ser causada por diversos agentes como: térmicos, químicos, elétricos ou radioativos. Pode-se manifestar desde uma pequena bolha até formas mais graves, sendo capazes de desencadear respostas sistêmicas proporcionais à gravidade e extensão da lesão.

Pensando nisso, há curativos que podem ser utilizados para tratamentos dessas lesões, tais como hidrogéis e membranas.

## 2.2 CURATIVOS

Curativos e unguentos ou pomadas vêm sendo utilizados com sucesso ao longo da história e o advento da teoria dos germes, que revolucionou a medicina, trouxe impactos significativos na cirurgia e no tratamento de feridas (GANTWERKER; HOM, 2012). A produção de curativos e bandagens constituiu-se rapidamente em um novo campo de desenvolvimento e aplicação da química de polímeros. Os curativos modernos são significativamente diferentes dos tradicionais, em relação ao projeto e às propriedades desejáveis (YUDANOVA; RESHETOV, 2006).

Segundo dados da literatura, vários curativos para feridas úmidas já estão comercialmente disponíveis, sendo a maioria deles baseada em matrizes de poliuretano sintético combinados com hidrogéis (ágar, gelatina ou carboximetil celulose) ou com um gel simples baseado em carboximetilcelulose concentrada, alginato de cálcio ou colágeno (CLASEN et al., 2006). Porém, especialmente para o tratamento de feridas problemáticas como queimaduras e feridas crônicas, os curativos disponíveis não apresentam desempenho satisfatório.

Os curativos atualmente disponíveis no mercado podem ser classificados como: convencionais, hidrogéis, hidrocolóides, polímeros, bioativos, enzimas proteolíticas, curativos antidolor e filmes adesivos (CANDIDO, 2001).

Um curativo ideal deve proteger a ferida, prevenir a infecção, promover a cicatrização, deve manter um ambiente úmido na interface da lesão, com o ambiente, permitir a troca gasosa, agir como uma barreira para os microrganismos, remover o excesso de exsudato, além de ser

não tóxico, não alergênico e não aderente, propiciando um microambiente ótimo para a cura (JAYAKUMAR et al., 2011; SINGH; CHACHARKAR, 2011).

Além disso, espera-se também que os curativos modernos modelam-se à região da ferida e tenham efeito cicatrizante, por esta razão, muitos deles contêm substâncias biologicamente ativas ou são constituídos de materiais com atividade biológica, como proteoglicanos, proteínas e polissacarídeos (BUENO, 2010).

### 2.3 POLÍMEROS BIOCOMPATÍVEIS E BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros possuem um papel importante na sociedade moderna, estando presentes na medicina, no vestuário, na agricultura e em embalagens, entre outros.

Atualmente, a revista *Biomaterials* apresentou a seguinte definição: “Um biomaterial é definido como uma substância que foi desenvolvida com o intuito de, por si só ou como parte de um sistema complexo, ser usada para conduzir, pelo controle de interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer processo terapêutico ou diagnóstico” (BIOMATERIALS, 2013).

Um biomaterial deve se dirigir ao curso do tratamento médico, tanto no diagnóstico ou na terapia e deve ainda controlar as interações com os componentes biológicos do paciente a ser tratado (WILLIAMS, 2009).

Os biopolímeros representam uma alternativa de materiais para aplicação em avançadas terapias no combate de feridas de pele, tanto agudas como crônicas. A quitosana é um polissacarídeo que vêm ganhando bastante atenção por seu uso já estabelecido em várias aplicações, inclusive como curativo (METCALFE; FERGUSON, 2007; GIRATA, 2011);

Os biomateriais geralmente se apresentam em quatro diferentes formas: filmes, espumas, géis ou compósitos (CRAVEIRO; CRAVEIRO, 2000) e devem apresentar como características fundamentais: leveza, ausência de odor, impermeabilidade a microrganismos, permeabilidade ao vapor d’água e ao oxigênio, biodegradabilidade, propriedades mecânicas e biológicas adequadas. O material não deve ser tóxico, carcinogênico, antigênico ou mutagênico.

Materiais biocompatíveis são aqueles capazes de substituírem os órgãos de seres vivos ou, ao serem implantados em organismos vivos, são facilmente adaptados e não liberam substâncias tóxicas. Destacando-se os polímeros usados como substitutos da platina ou titânio em próteses.

A biocompatibilidade de polímeros envolve normalmente quatro fenômenos: processos de concentração de biomacromoléculas junto à superfície dos materiais (adsorção), logo após a implantação destes no corpo; resposta local do tecido à presença do biomaterial (observada na forma de respostas inflamatórias e imunológicas); efeito do ambiente corpóreo no material que pode ser visualizado, por exemplo, pelo estabelecimento de processos de degradação do polímero; resposta do corpo como um todo à presença do biomaterial que pode ser percebida através do aparecimento de tumores, alergias, imperfeições generalizadas, etc (RATNER et al., 2005; DAREA et al., 2009).

A necessidade por materiais biodegradáveis aumentou muito desde a última década, não somente pelo aumento do apelo ambiental, mas também por suas aplicações na área de embalagens, biomédicas e liberação de fármacos (SINGH et al., 2003).

Os materiais biodegradáveis são degradados pela ação de fungos, bactérias ou algas e produzem dióxido de carbono, biomassa e água. Por último, polímeros oriundos de fontes renováveis são aqueles fabricados a partir de insumos químicos extraídos de fontes renováveis, tais como etanol e são classificados como polímeros naturais ou sintéticos, biodegradáveis ou biocompatíveis (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

A biodegradação ou degradação biológica de polímeros consiste em processos decorrentes do ataque do material por microorganismos vivos, por exemplo, bactérias, fungos, insetos ou outros agentes biológicos, convertendo o material em CO<sub>2</sub>, água e outros constituintes (WILDE; BOELEN, 1998).

De acordo com Chandra; Rusti (1998) e Scott (1999), os polímeros biodegradáveis podem ser divididos em três categorias: Polímeros Naturais ou Biopolímeros, Polímeros Naturais Modificados e as Formulações Biodegradáveis.

- Polímeros Naturais ou Biopolímeros que são produzidos na natureza por todos os organismos vivos e representam fontes renováveis desde que sejam biodegradados no meio ambiente. Os polímeros naturais mais abundantes são os polissacarídeos, tais como a celulose, quitosana, quitina e o amido; outros menos como os poliésteres; proteína da seda e hidrocarbonetos.
- Polímeros Naturais Modificados que são polímeros preparados a partir de modificação química ou biológica na estrutura dos polímeros naturais; pode-se citar como exemplo o acetato de celulose e derivados do poli(ácido láctico).
- Formulações Biodegradáveis que combinam polímeros biodegradáveis sintéticos com compostos naturais, tais como amido, celulose regenerada ou borrachas naturais.

Os polímeros naturais são de particular interesse, dado que, sendo componentes naturais de seres vivos, apresentam semelhança química e biológica aos tecidos naturais (KIM et al., 2008).

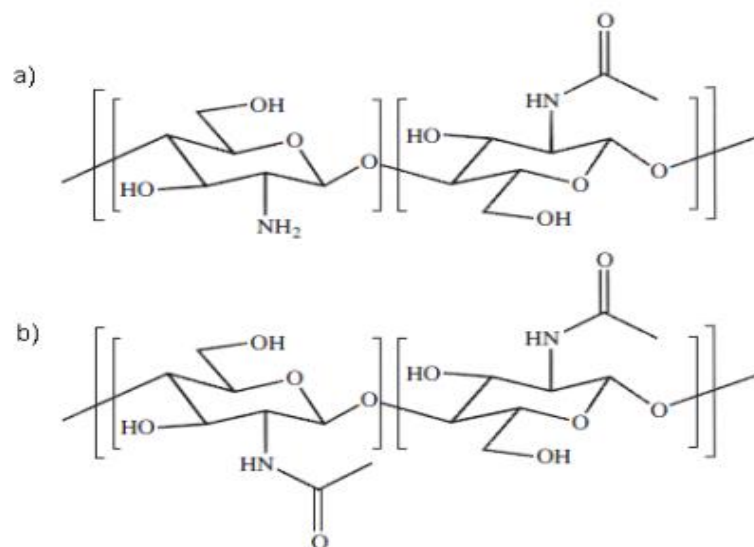
## 2.4 QUITOSANA

A quitosana é o principal derivado da quitina, que é um polímero normalmente encontrado na natureza. Dentre os inúmeros polissacarídeos, celulose e quitina são produzidas em larga escala, estima-se que aproximadamente 10 bilhões de toneladas de quitina e celulose são biossintetizadas na natureza a cada ano. A quitina é o segundo polímero mais abundante na natureza, ficando atrás apenas da celulose (DASH, 2011) e se apresenta na natureza, como microfibrilas cristalinas que formam componentes estruturais no exoesqueleto de artrópodes. Sua principal fonte são as carapaças de crustáceos como camarão, caranguejo e lagostas (BABEL; KURNIAWAN, 2003; KURITA, 2006; RINAUDO, 2006).

A quitosana é um co-polímero constituído de unidades de *N*-acetilglicosamina e *N*-glicosamina distribuídas aleatoriamente ao longo da cadeia, sendo o número de unidades de *N*-acetil-glicosamina inferior a 50%. Este biopolímero não é encontrado diretamente na natureza em grande quantidade (apenas em certos tipos de fungo pertencentes ao gênero *Mucoraceae*), porém pode ser facilmente obtido por desacetilação alcalina ou por hidrólise enzimática da quitina (DASH, 2011; CROISIER; JÉRÔME, 2013). As estruturas da quitina e da quitosana estão representadas na **Figura 2**.

Este biopolímero tem sido pesquisado para várias aplicações, podendo ser encontrado em várias formas no que se refere ao peso molecular médio e grau de desacetilação. Esta diversidade morfológica/estrutural é aumentada exponencialmente pela fácil modificação química da quitosana, que permite sua otimização para diversas aplicações (GNAVI et al., 2013).





**Figura 2: Representação estrutural da (a) quitosana e (b) quitina.**  
**Fonte: Autoria Própria.**

Na área farmacêutica, no contexto de liberação de fármacos, a quitosana tem sido utilizada como um transportador potencial para administração prolongada de fármacos específicos e macromoléculas, e em formulações de administração oral, nasal, transdérmica e tópica, e na obtenção de nanopartículas para veiculação de proteínas, vacinas e DNA (KEAN e THANOU, 2010). A quitosana pode ser obtida na forma de géis, membranas, nanofibras, micropartículas, nanopartículas, *scaffolds* e esponjas, as micro/nanopartículas à base de quitosana são amplamente utilizados na concepção de sistemas terapêuticos e tem sido utilizadas com sucesso em vários fármacos como por exemplo: amoxicilina e tetracilina (YUE, 2014).

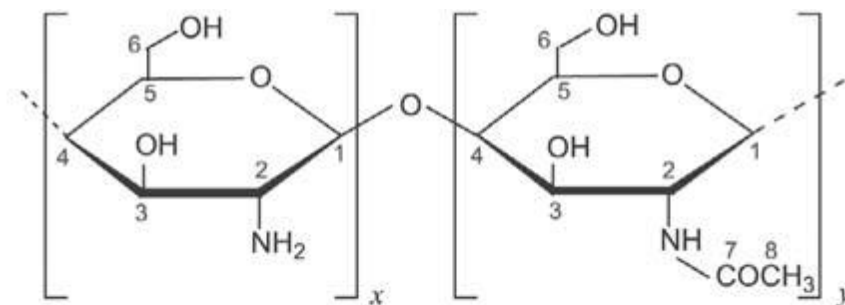
A quitosana é solúvel em condições ácidas, pela protonação do grupo amino, e insolúvel em valores de pH acima de seu pKa (6,3), pela desprotonação da amina. Seu pKa é altamente dependente do grau de desacetilação, que por sua vez influencia as propriedades estruturais físico-químicas (massa molar, alongamento na ruptura e resistência à tração) e biológicas (principalmente as propriedades cicatrizantes da quitosana) (DASH et al., 2011; ZHABG et al., 2010; CHATELET et al., 2001).

Além de ser um polímero bioativo, a quitosana é um agente homeostático, que apresenta propriedades anti-trombogênicas. Também possui a capacidade de estimular o sistema imune do organismo contra infecções virais e bacterianas. Finalmente, favorece a regeneração de tecidos moles (como a pele) e duros (como por exemplo, os ossos) (MUZZARELLI, 1993; MUZZARELLI et al., 1994). A quitosana pode ter ainda seu uso ampliado quando combinada com outros materiais, por exemplo: heparina (HE et al., 2007), xantana (VEIGA, 2009) e

alginate (RODRIGUES, 2008; BUENO, 2010 MENG et al., 2010), dentre outros. Entretanto, sua insolubilidade em água e em alguns solventes orgânicos limita seu uso como suporte de fármacos, estimulando assim modificações químicas na sua cadeia.

#### 2.4.1 Modificações da Quitosana

A modificação da estrutura química de biopolímeros confere propriedades funcionais adicionais ou simplesmente melhora seus atributos já característicos. A quitosana também pode ser submetida a modificações químicas, o que pode potencializar ou inibir suas propriedades de acordo com a aplicação desejada. Isso porque a quitosana permite modificações químicas seletivas devido às diferenças de reatividade do grupo amino na posição C2 e das hidroxilas nas posições C3 e C6 (**Figura 3**) (LIU et al., 2004).



**Figura 3: Representação esquemática da quitina ( $\text{NH}_2 > \text{NHCOCH}_3$ ) ou quitosana ( $\text{NHCOCH}_3 > \text{NH}_2$ )**  
**Fonte: Autoria Própria.**

Os grupamentos hidroxila e amino possuem pares de elétrons livres, que podem ser compartilhados, podendo atuar como base em reações ácido-base e também como um nucleófilo em reações de substituição, como por exemplo, em acilação e em alquilação (SANTOS et al., 2003). Sendo o grupamento amino da quitosana mais reativo que os grupamentos hidroxílicos (LIMA, 2010).

A presença destes grupos reativos em sua cadeia, conferem a quitosana, uma das características mais interessantes, a sua versatilidade para modificação química. A presença de grupos amino propicia inúmeras modificações químicas na superfície do polímero (LAUS et al., 2006; LIMA, 2010). Podendo introduzir novos grupos funcionais na cadeia polimérica da quitosana obtendo-se inúmeros derivados a fim de atingir as finalidades desejadas. Nessa

função, podem ser feitas várias reações de modificação, dentre as quais se destacam as reações de acilação, alquilação, formação de base de Schiff, carboxilação, *N*-ftaloilação, sililação, tosilação etc (BONAR et al, 2005).

A imobilização de novos grupos funcionais na cadeia da quitosana pode torná-la mais estável quimicamente, termicamente, além de prevenir a dissolução do biopolímero quando o mesmo se encontra em soluções ácidas ou ainda aumentar a reatividade (NGAH, 2002).

Uma vez que, em soluções ácidas o grupo amino da quitosana encontra-se protonado tornando assim a quitosana solúvel, reações com agentes reticulantes tornam a quitosana insolúvel em meio ácido (NGAH, 2002) devido à formação de uma rede tridimensional formada por ligações cruzadas. Na reticulação de um polímero as cadeias poliméricas adjacentes são interconectadas através de um agente reticulante (NGAH, 2002).

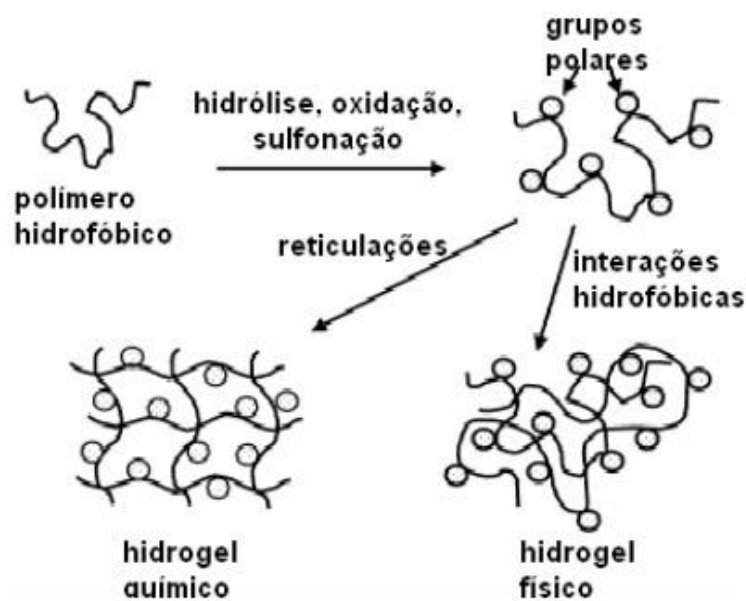
Pesquisas indicam que a quitosana reticulada quando usada como matriz na liberação controlada de fármacos libera a droga por um tempo mais prolongado (ROKHADE et al., 2007).

#### 2.4.2 Hidrogéis

Os hidrogéis representam uma classe importante de materiais poliméricos que podem inchar retendo grandes quantidades água no seu interior, sem dissolverem. Uma vez inchados, as propriedades destes hidrogéis são influenciadas em grande parte pelo teor de água no seu interior que, frequentemente, excede 100% de seu peso em volume (KIM et al., 2003).

Os hidrogéis são compostos por redes tridimensionais usualmente de polímeros hidrofílicos e podem apresentar diversas composições químicas e conseqüentemente diferentes propriedades físicas, o que os permite ter uma vasta aplicação na área médica.

Podem ser quimicamente estáveis ou podem degradar e eventualmente desintegrar e dissolver. Estes são considerados reversíveis ou géis físicos quando a rede é mantida unida por entrelaçamento molecular, e/ou forças de interação secundárias, incluindo forças iônicas, ligações de hidrogênio ou força hidrofóbicas, ou podem ser considerados géis permanentes ou químicos quando formam redes covalentemente reticuladas (HOFFMAN, 2002). A **Figura 4** ilustra a formação de um hidrogél físico e/ou químico a partir da modificação química de um polímero hidrofóbico.



**Figura 4: Representação esquemática da formação de um hidrogel físico e de um hidrogel químico a partir da modificação química de um polímero hidrofóbico.**

Fonte: HOFFMAN, 2002.

Na engenharia de tecidos, os hidrogéis se destacam na aplicação como curativos para terapia de lesões, já que promovem um ambiente úmido no local do ferimento, são permeáveis a metabólitos, não aderem e não reagem com tecidos biológicos, não causam irritação no local e, portanto, possuem boa aceitação dos pacientes. Em geral apresentam limitada resistência mecânica, o que pode ser superado pela reticulação de suas cadeias, promovendo reforço na estrutura (LEE et al., 1995; HOFFMAN, 2002; BOATENG et al., 2008; HOARE; KOHANE, 2008). A maioria dos hidrogéis, formados pela reticulação de cadeias poliméricas, exibem uma forte dependência da densidade das ligações cruzadas, das propriedades mecânicas e da taxa de degradação.

Hidrogéis para revestimentos de lesões são disponíveis comercialmente como membranas, gazes, ou mesmo na forma original. Proporcionam um efeito calmante e refrescante às regiões lesadas. Eles são excelentes para a criação ou manutenção de um ambiente hidrofílico e são utilizados em ulcerações com baixos níveis de drenagem. Géis são aplicados diretamente sobre a lesão, não aderem à ferida, e geralmente são cobertos com um curativo secundário de espuma ou gaze, por exemplo, para manter o nível de umidade necessária para promover a cicatrização (OVINGTON, 2002; SIPOS, 2004; NGUYEN et al., 2009).

Entre as propriedades referidas, os hidrogéis possuem ainda um elevado grau de flexibilidade comparável à de um tecido natural, um ambiente interior muito aquoso, uma baixa

tensão interfacial e uma estrutura porosa. Estas características fazem dos hidrogéis, materiais excepcionalmente promissores para várias aplicações biomédicas nomeadamente no campo biológico (SADOWSKI et al., 2013).

Existem muitas estruturas macromoleculares possíveis para a formação de hidrogéis. Estes podem ser constituídos de redes poliméricas reticuladas como as redes de polímeros interpenetrantes (IPNs) ou complexos polieletrólíticos, assim como pela obtenção de blendas, compósitos e de copolímeros.

#### 2.4.2.1 Hidrogéis a Base de Blendas Poliméricas

As blendas são misturas físicas de dois ou mais polímeros. Nessa mistura não há ligação química e o produto final resulta numa combinação de propriedades. Elas podem se apresentar na forma de um sistema homogêneo, monofásico ou heterogêneo, multifásico com polímeros sintéticos ou outros polímeros naturais (MANO; MENDES, 1999). Assim, a característica mais importante de uma blenda e o comportamento das fases, ou seja, as blendas poliméricas podem apresentar miscibilidade, separação de fases ou miscibilidade parcial (LLOYD, 2007). Segundo Orefice et al. (2004) as propriedades de uma blenda dependem da composição do sistema, da compatibilidade de seus componentes, do processamento e da morfologia.

As blendas a base de polímeros biodegradáveis são desenvolvidas com a finalidade de melhorar as propriedades físicas, químicas, mecânicas e, principalmente, aumentar a taxa de biodegradação. Em algumas formulações obtêm-se ainda a redução do custo total do material (ISHIAKU et al., 2002).

Blendas a base de quitosana têm sido propostas a fim de aumentar a biocompatibilidade e a eficiência de encapsulamento dos fármacos (CASCONI, 2001; CASCONI, 2004; HIRANO, 2000 apud ABREU, 2008). E o teor de quitosana é fundamental para o ajuste entre as propriedades mecânicas e de liberação de fármacos (ZENG; FANNG; XU, 2004 apud ABREU, 2008).

## 2.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

Os sistemas de liberação controlada podem ser definidos como modificações farmacotécnicas que permitem alterar as propriedades cinéticas ou dinâmicas de um fármaco (CHELLAT et al., 2005; BRIGGER et al., 2001). O controle da liberação de fármacos em sítios específicos, através da utilização de vetores capazes de permitirem a otimização da atividade terapêutica do fármaco tem sido uma área de intensa pesquisa na última década. Dentre os vetores, incluem-se as micropartículas e os sistemas coloidais (lipossomas e nanopartículas) (SCHAFFAZICK et al., 2003).

A melhoria no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada depende da seleção de um agente adequado capaz de controlar a liberação do fármaco, manter a ação terapêutica ao longo do tempo e/ou liberar o fármaco em um determinado tecido ou órgão desejado (RAVAL et al., 2010). Dentre as várias opções, os polímeros são agentes eficientes para atuar nesta função.

A liberação de substâncias ativas pode ser resultante de vários fatores tais como: a erosão e o intumescimento das matrizes, a taxa de penetração da água na matriz, a difusão e distribuição do fármaco na matriz, a proporção entre o fármaco e a quantidade de polímero, dentre outros (CARABALLO, 2009).

Os sistemas de liberação controlada de fármaco apresentam um conjunto vasto de vantagens: a frequência de administração do fármaco pode ser reduzida com um consequente aumento da adesão à terapêutica por parte do doente, mantendo desta forma um nível plasmático de fármaco mais adequado. Assim, proporciona um controle mais adequado da absorção do fármaco, sendo que a margem de segurança de fármacos potentes pode ser aumentada e a incidência de efeitos laterais adversos diminuídos (LACHMAN, 2001).

A escolha da via de administração de uma droga é determinada por suas propriedades físicas e químicas, pelo local de ação desejado e pela rapidez de ação solicitada (GROLLMAN, 1951). A via de administração é o mais importante dos fatores que influenciam na absorção das drogas. A absorção é a velocidade com que uma droga deixa seu local de administração e a extensão em que isso ocorre.

As vias de administração podem ser agrupadas em enteral e parenteral. A via enteral inclui o uso de medicamentos pelas vias bucal, oral, sublingual e reta, ou seja, quando a droga entra em contato com qualquer um dos segmentos do trato gastrintestinal. As demais vias são denominadas parenterais, e, portanto, podem ser acessadas pelas injeções (intradérmica,

intramuscular, intravenosa, intrarterial, intratecal, intracardíaca, etc) ou por outras formas (percutânea, respiratória, conjuntiva, genitourinária, etc) (SILVA, 1989; ANDRADE, 1999).

A pele é uma rota alternativa para administração de fármacos, permitindo a liberação controlada na corrente circulatória e evitando efeitos adversos geralmente observados pela via oral ou parenteral (BOLZINGER et al., 2012). O uso desta via pode aumentar a biodisponibilidade, evitar o metabolismo de primeira passagem do fígado e a degradação enzimática no sistema gástrico (LV et al., 2011; SMITH; WOOD; DORNISH, 2004).

No desenvolvimento de novos sistemas para liberação de fármacos, micelas, lipossomas, emulsões sub-micrométricas e nanopartículas poliméricas têm sido propostas para aumentar a absorção percutânea de ativos farmacológicos, atenuando o dano causado na função de barreira da pele (ALVAREZ-ROMAN et al., 2004; SHIM et al., 2004; GUTERRES et al., 2007; KULKAMP et al., 2009; MORAES et al., 2009).

## 2.6 SUBSTÂNCIA BIOATIVA

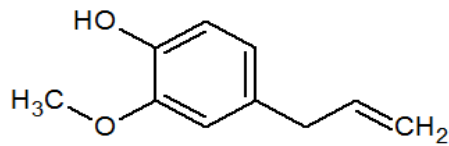
### 2.6.1 Eugenol

O eugenol (EUG) é um derivado fenilpropanóide, sendo quimicamente designado como 4-alil-2-metóxi-fenol ou 2-metoxi-4-(2-propenil-fenol) (MORRISON; BOYD, 1961), conhecido comumente como essência de cravo, pois está presente em grande quantidade no óleo essencial de cravo da Índia (*Eugenia aromatica*) (ESCOBAR, 2002).

É sintetizado biologicamente, a partir do aminoácido fenilalanina, através da rota metabólica dos fenilpropanóides, via: chiquinato, fenilalanina e ácido unâmico (SENANAYAKE et al., 1977). Possui consistência líquida e oleosa, de cor amarelo claro, com aroma característico, sabor ardente e picante (ALMEIDA, 2004). Os pontos de fusão e ebulição são  $-9$  e  $+253^{\circ}\text{C}$  (BUDAVARI, 1996). Quando em contato prolongado com o ar, apresenta instabilidade, tornando-se mais viscoso e de cor escura avermelhada.

Os efeitos biológicos do eugenol dependem de sua concentração e do tempo de exposição ao tecido (ESCOBAR, 2002). Possui várias propriedades farmacológicas, dentre elas: antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, modulador de respostas imunes,

anticarcinogênica, cardiovasculares, antinociceptiva e anestésica local. Estrutura química do eugenol está representada na **Figura 5**.



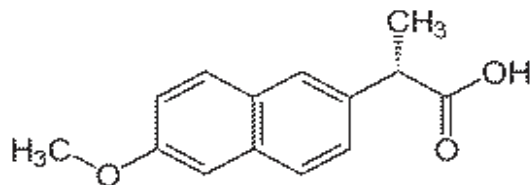
**Figura 5: Estrutura do Eugenol**  
Fonte: Autoria Própria.

### 2.6.2 Naproxeno

O naproxeno (NAP) é um anti-inflamatório não-esteróide, derivado do ácido propiônico, conhecidos como profenos. Mas, diferentemente de outros derivados do seu grupo, o naproxeno sobressai, pois possui longo tempo de meia-vida, permitindo uma administração eficaz e um menor número de dosagens durante o dia (AMARAL, 1997).

O naproxeno é um pó cristalino branco com sabor e cheiro pouco ativo. Denominado quimicamente como ácido (*S*)-2-(6-metoxi-2naftil)propiônico (AMARAL, 1997), este anti-inflamatório é comercializado enantiomericamente puro, pois o *R* é hepatotóxico. Estrutura química do Naproxeno está representada na **Figura 6**.

Segundo Pereira (2009) o naproxeno é solúvel em álcool, clorofórmio, metanol, acetona e lipídeos, sendo pouco solúvel a baixo pH, apresentando um coeficiente de partição (Log P) a pH 7 entre 1,4 à 1,8. Deste modo, conferindo ao naproxeno um caráter lipofílico.



**Figura 6: Estrutura do Naproxeno.**  
Fonte: Autoria própria.

Segundo Amaral, (1997) o naproxeno além de ser administrado por via oral, tem sido bastante utilizado em formas de administração cutâneas, pois se apresenta de modo geral, bem tolerado pela pele humana. Estudos recentes demonstraram níveis significativos deste fármaco



em tecidos profundos como o músculo e o líquido sinovial, após aplicação tópica (AMARAL, 1997). O que representa uma vantagem quando se pretende aliviar sintomas locais, eliminando efeitos sistêmicos indesejados, quando administrado por via oral.

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi à obtenção de hidrogéis à base de *N*-acetilquitosana com substâncias bioativas (naproxeno e/ou eugenol) para aplicação em lesões da pele utilizando sistemas de liberação controladas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar a quitosana através de reação de acetilação;
- Obter filmes à base de *N*-acetilquitosana pura e contendo substâncias bioativas;
- Obter hidrogéis à base de blendas de *N*-acetilquitosana pura e contendo as substâncias bioativas;
- Avaliar a liberação das substâncias bioativas através de medidas de espectrofotometria UV-Vis.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES

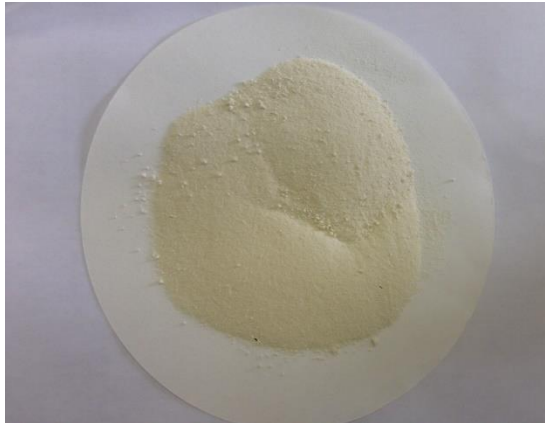
A quitosana utilizada foi adquirida pela Polymar S.A. com grau de desacetilação de 86,7%. Acetato de celulose (CA,  $M_n = 30.000 \text{ g.mol}^{-1}$ , grau de substituição de 2,5) e o polietileno glicol (PEG) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os reagentes utilizados foram: acetona (Synth), *N,N*-dimetilformamida P.A. (Cromato Produtos Químicos Ltda); anidrido acético P.A. (ISO FAR Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda); piridina P.A. (Vetec Química Fina Ltda); metanol P.A. (Vetec Química Fina Ltda); *N,N*-dimetilacetamida P.A. (Vetec Química Fina Ltda); cloreto de lítio (LiCl) P.A. (Êxodo Científica) e ácido clorídrico (HCl) P.A. (Proquímios). Todos reagentes que foram utilizados apresentaram pureza analítica.

O naproxeno (NAP) foi extraído de medicamento comercial e o eugenol (EUG, Natural  $\geq 98\%$ ) foi adquirido da Sigma-Aldrich.

### 4.2 PREPARAÇÃO DA *N*-ACETILQUITOSANA

A *N*-acetilquitosana (QTA) foi obtida por acetilação da quitosana em meio heterogêneo segundo metodologia descrita por GARCIA (2008). Neste procedimento 12,50 g de quitosana (QT) foram dispersos em 100,0 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF), em um balão de fundo redondo. O sistema ficou sob agitação constante por 30 minutos, para que houvesse o intumescimento da quitosana, e desta forma, favorecer a reação pela maior exposição dos grupos funcionais reativos. Após este processo, o sistema foi resfriado a  $0^\circ\text{C}$  em banho de gelo.

Em seguida, foi adicionado no balão 500 mL de uma solução previamente preparada de anidrido acético e piridina, em uma proporção de 96 e 4% (v/v), respectivamente. A mistura foi mantida sob agitação constante, por cerca de 10 horas, à temperatura ambiente. Após esse período, a reação foi interrompida pela adição de água destilada e gelo. Formando um pó branco, que foi filtrado e lavado com água destilada e, posteriormente, com metanol. O material obtido foi seco sob pressão reduzida. A **Figura 7** apresenta a fotografia do material obtido após acetilação da quitosana.



**Figura 7: Fotografia do produto obtido após a acetilação da quitosana.  
Fonte: Autoria própria.**

#### 4.2.1 Teste de solubilidade

Cerca de 50 mg da quitosana ou *N*-acetilquitosana foi pesada e inserida dentro de tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se 10 mL de diferentes solventes: água destilada, acetato de etila, diclorometano, acetona, *N,N*-dimetilacetamida (DMA), solução de 5% (m/v) de LiCl em DMA e solução de ácido acético 2% (m/m). As misturas foram mantidas sob agitação constante à temperatura ambiente e a solubilidade foi analisada após 24 e 48 horas, considerando-se a massa residual de sólido e a formação de gel.

#### 4.2.2 Caracterização da *N*-acetilquitosana

##### 4.2.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ (RMN de $^{13}\text{C}$ )

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  do estado sólido foram obtidos em um espectrômetro Bruker, 75,48 MHz. Os espectros foram obtidos utilizando a técnica de CP/MAS (polarização cruzada com rotação no ângulo mágico) nas seguintes condições: tempo de contato de 500  $\mu\text{s}$ , pulso de 90 graus (4,5  $\mu\text{s}$ ), intervalo entre pulsos de 1 s e potência de pulsos de  $^{13}\text{C}$  calibrados

para atingir a condição Hartmana-Haha; velocidade de rotação no MAS de 4,5 KHz e 2048 transientes. Os espectros foram processados utilizando-se função de alargamento de linha *line broadening* de 50 Hz e os deslocamentos químicos referenciados pelo DMSO. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Campinas, por intermédio do prof. Dr. Juliano A. Bonacin.

#### 4.2.2.2 Difração de Raios X (DRX)

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro de raios X Shimadzu, modelo XRD-7000, operando com radiação  $K_{\alpha}$  do Cu ( $\lambda = 0,15406$  nm), tensão de 40 kV e corrente de 40 mA. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Campinas, por intermédio do prof. Dr. Juliano A. Bonacin.

### 4.3 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE *N*-ACETILQUITOSANA

#### 4.3.1 Filmes de *N*-acetilquitosana

Os filmes foram preparados dispersando 100 mg de *N*-acetilquitosana em 10 mL de uma solução de *N,N*-dimetilacetamida (DMA) contendo 5% (m/m) de cloreto de lítio (LiCl). A dispersão foi mantida em agitação constante durante 12 horas à temperatura ambiente. Após a homogeneização a dispersão foi espalhada em placa de Petri e o solvente foi evaporado em temperatura ambiente por uma semana. Após obtenção dos filmes, o mesmo foi lavado com água destilada, por diversas vezes, durante três dias, a fim de remover resíduo de *N,N*-dimetilacetamida. Posteriormente, os filmes foram secos, em estufa 40°C, por 4 dias. Os filmes obtidos apresentaram espessura de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$ .

#### 4.3.2 Filmes de *N*-acetilquitosana com substâncias bioativas

As substâncias bioativas utilizadas foram: eugenol (EUG), naproxeno (NAP) e mistura de eugenol com naproxeno na proporção de 1:1 (EUG/NAP).

Os filmes de *N*-acetilquitosana contendo as substâncias bioativas foram preparadas utilizando a mesma metodologia descrita no item 4.3.1. Sendo que, a substância bioativa foi incorporada a dispersão após 12 horas e mantida sob agitação por mais uma hora. Em todos os casos foi mantida a proporção de 1% (m/v) de *N*-acetilquitosana e 5% (m/m) da substância bioativa.

#### 4.4 PREPARAÇÃO DAS BLENIDAS

##### 4.4.1 Blendas de *N*-acetilquitosana e Acetato de Celulose (QTA/AC)

As blendas de *N*-acetilquitosana e Acetato de Celulose (QTA/AC) foram preparadas em diferentes proporções. Inicialmente, *N*-acetilquitosana e o Acetato de Celulose foram dispersos, separadamente, na solução de *N,N*-dimetilacetamida contendo 5% (m/m) de LiCl. As dispersões foram mantidas em agitação constante durante 12 horas, à temperatura ambiente. Após a homogeneização, a dispersão do acetato de celulose foi adicionada sobre a dispersão da *N*-acetilquitosana e a mistura foi agitada por mais 12 horas.

Após a homogeneização, a mistura foi vertida em placa de vidro e o solvente foi evaporado em temperatura ambiente por uma semana. Após obtenção dos filmes das blendas, o mesmo foi lavado com água destilada, por diversas vezes, durante três dias, a fim de remover resíduo de *N,N*-dimetilacetamida. Posteriormente, os filmes foram secos, em estufa 40°C, por 4 dias. Os filmes obtidos apresentaram espessura de aproximadamente 500 µm.

As blendas contendo as substâncias bioativas foram preparadas utilizando a mesma metodologia das blendas puras. Sendo que, o eugenol ou naproxeno foram incorporados a dispersão após 12 horas de agitação.

Em todos os casos foi mantida a proporção de 1% (m/v) de *N*-acetilquitosana/Acetato de Celulose e 5% (m/m) da substância bioativa.

#### 4.4.2 Blendas de *N*-acetilquitosana e Polietileno Glicol (QTA/PEG)

As blendas de *N*-acetilquitosana e Polietileno Glicol (QTA/PEG) foram preparadas em diferentes proporções. Inicialmente, a *N*-acetilquitosana e o Polietileno Glicol foram dispersos, separadamente, na solução de *N,N*-dimetilacetamida contendo 5% (m/m) de LiCl. As dispersões foram mantidas em agitação constante durante 12 horas, à temperatura ambiente. Após a homogeneização, a dispersão do polietileno glicol foi adicionado sobre a dispersão da *N*-acetilquitosana, a mistura foi agitada por mais 12 horas.

Após a homogeneização, a mistura foi vertida em placa de vidro e o solvente foi evaporado em temperatura ambiente por uma semana. Após obtenção dos filmes das blendas, o mesmo foi lavado com água destilada, por diversas vezes, durante três dias, a fim de remover resíduo de *N,N*-dimetilacetamida. Posteriormente, os filmes foram secos, em estufa 40°C, por 4 dias. Os filmes obtidos apresentaram espessura de aproximadamente 500 µm.

As blendas contendo as substâncias bioativas foram preparadas utilizando a mesma metodologia das blendas puras. Sendo que, o eugenol ou o naproxeno ou mistura eugenol/naproxeno foram incorporados a dispersão após 12 horas de agitação. Em todos os casos foi mantida a proporção de 1% (m/v) de *N*-acetilquitosana/Polietileno Glicol e 5% (m/m) da substância bioativa.

Na **Tabela 1** estão apresentadas todas as composições e os códigos das amostras obtidas.

**Tabela 1 - Composição e os códigos dos filmes de *N*-acetilquitosana e das blendas puras e contendo as substâncias bioativas.**

Código das Amostras	Porcentagem Mássica de Quitosana (%)	Porcentagem Mássica de Acetato de Celulose (%)	Porcentagem Mássica de Polietileno Glicol (%)	Massa daSubstânci a Bioativa (%)
QTA	100	--	--	--
QTA/EUG	100	--	--	5
QTA/NAP	100	--	--	5
QTA/EUG/NAP	100	--	--	5
AC	--	100	--	--
QTA90/AC10	90	10	--	--
QTA80/AC20	80	20	--	--
QTA70/AC30	70	30	--	--
QTA60/AC40	60	40	--	--

QTA50/AC50	50	50	--	--
QTA80/AC20/EUG	80	20	--	5
QTA80/AC20/NAP	80	20	--	5
PEG	--	--	100	--
QTA90/PEG10	90	--	10	--
QTA80/PEG20	80	--	20	--
QTA70/PEG30	70	--	30	--
QTA60/PEG40	60	--	40	--
QTA50/PEG50	50	--	50	--
QTA80/PEG20/EUG	80	--	20	5
QTA80/PEG20/NAP	80	--	20	5
QTA80/PEG20/EUG/NAP	80	--	20	5

Fonte: Autorial própria.

## 4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

### 4.5.1 Teste de Intumescimento

O ensaio de intumescimento foi realizado utilizando solução tampão salina (pH = 6,8). Para o ensaio dos filmes, as amostras foram cortados, 0,5 x 0,5 cm<sup>2</sup>, pesando cerca de 100 mg. Em seguida os filmes foram imersos em 50 mL da solução tampão salina, os filmes foram retirados, em intervalos de tempo pré-determinados, secos com auxílio de papel de filtro e pesados.

A partir dos resultados obtidos, o grau de intumescimento (GI%) foi calculado segundo a **Equação 1** (KOKABI M. M., 2007):

$$GI\% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

GI % o grau de intumescimento;

M<sub>0</sub> a massa da amostra seca (g);

M<sub>t</sub> a massa da amostra hidratada (g).



#### 4.5.2 Caracterização Morfológica

A caracterização morfológica dos filmes foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Shimadzu, SS 550 Superscan, voltagem de aceleração de 15 kV e intensidade de corrente de 30 mA). Sendo a superfície de fratura das amostras cobertas previamente com uma fina camada de ouro. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Maringá, por intermédio do prof. Dr. Adley Forti Rubira.

#### 4.5.3 Liberação controlada das substâncias bioativas

A liberação das substâncias bioativas foi feita imergindo os filmes em um fluido de simulação da pele com pH 6,8. Para analisar o tempo e a forma (rápida/lenta) de liberação das substâncias bioativas dos materiais obtidos, estas soluções foram mantidas sob agitação constante e com temperatura controlada de 37 °C. Alíquotas de 3 mL foram recolhidas, em intervalos de tempo variando de 5 min até 5 dias, e em seguida, leituras de absorção foram realizadas em Espectrofotômetro UV-Vis T70+, *PG Instruments*. Posteriormente as alíquotas foram devolvidas para dentro do frasco. A concentração da substância bioativa liberada foi determinada a partir de uma curva analítica, correlacionando a absorção *versus* concentração da substância bioativa.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TESTE DE SOLUBILIDADE

Inicialmente, foi realizado um teste de solubilidade com a quitosana, em diferentes solventes, os resultados estão apresentados na **Tabela 2**. A partir do teste de solubilidade, é possível observar que a quitosana intumesciu somente na solução de ácido acético. Este resultado já era esperado uma vez que, a presença de um grande número de grupos hidroxila e amino em sua cadeia, leva à formação de ligações de hidrogênio intra- e intercadeias, onde o mesmo é insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, sendo solúvel somente nas soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6 (MUZZARELLI, 1973).

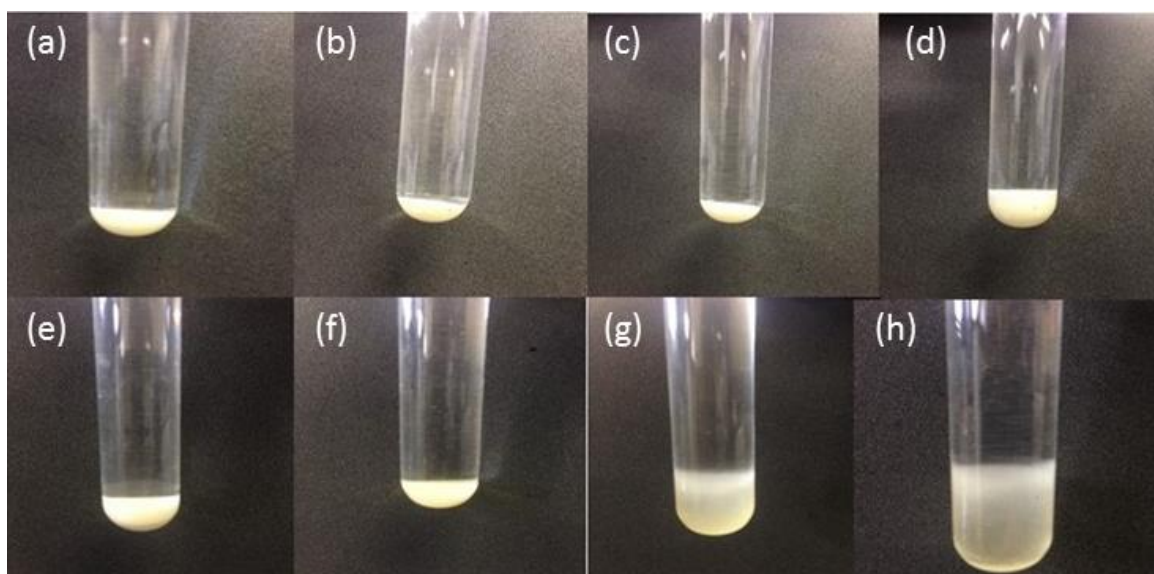
A insolubilidade da quitosana em água e em alguns solventes orgânicos limita seu uso como suporte de fármacos, estimulando assim modificações químicas na sua cadeia. Entretanto, a presença destes grupos reativos, conferem a quitosana, uma das características mais interessantes, a sua versatilidade para modificação química. Além disso, a imobilização de novos grupos funcionais na cadeia da quitosana pode torná-la mais estável quimicamente, termicamente, além de prevenir a dissolução do biopolímero quando o mesmo se encontra em soluções ácidas ou ainda aumentar a reatividade (NGAH, 2002).

**Tabela 2 - Teste de Solubilidade da Quitosana e da *N*-acetilquitosana em diferentes solventes após 24 horas de agitação.**

Solventes	Quitosana	<i>N</i> -acetilquitosana
Acetato de etila	Não Intumescce	Não Intumescce
Acetona	Não Intumescce	Não Intumescce
Solução de Ácido Acético 2%	Intumescce	Não Intumescce
Água destilada	Não Intumescce	Não Intumescce
Diclorometano	Não Intumescce	Não Intumescce
<i>N,N</i> -dimetilacetamida	Não Intumescce	Não Intumescce
DMA/LiCl	Não Intumescce	Formação de gel

Fonte: Autoria própria.

Com intuito de obter hidrogéis a base de quitosana, a mesma foi acetilada em meio heterogêneo utilizando anidrido acético e piridina. A reação em meio heterogêneo consiste no intumescimento da quitosana em *N,N*-dimetilformamida, favorecendo a reação pela maior exposição dos grupos funcionais reativos. Após a modificação foram realizados testes de solubilidade, afim de observar em qual solvente haveria a formação do gel, **Tabela 2**. A fotografia das dispersões da *N*-acetilquitosana em diferentes solventes está apresentada na **Figura 8**.



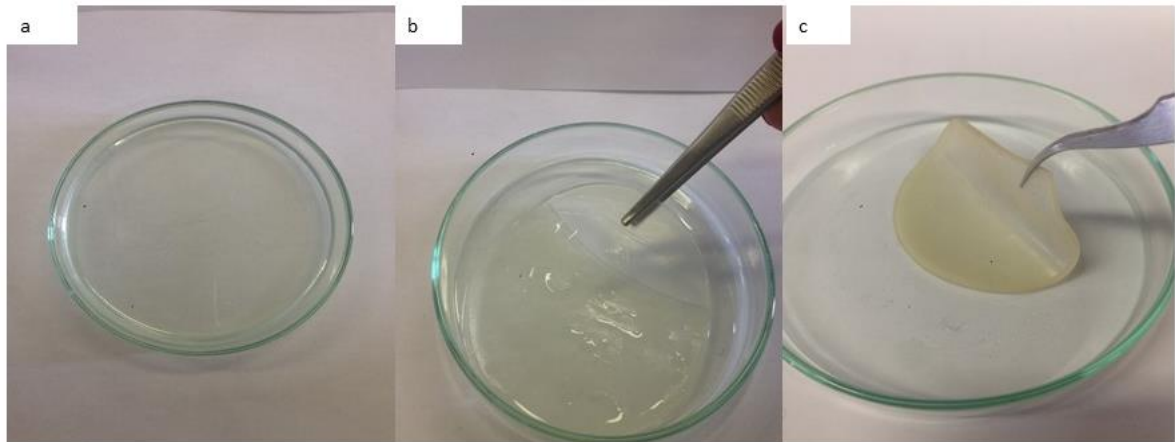
**Figura 8:** Fotografia do teste de solubilidade da *N*-acetilquitosana em diferentes solventes: (a) acetato de etila, (b) acetona, (c) solução de ácido acético, (d) água destilada, (e) diclorometano, (f) *N,N*-dimetilacetamida, (g) DMA/LiCl após 24 horas e (h) DMA/LiCl após 48 horas.  
Fonte: Autoria própria.

Observa-se nas **Figuras 8(c) e 8(d)** que a *N*-acetilquitosana não intumescceu em água e na solução aquosa de ácido acético, apresentando pouca afinidade pelos solventes mais polares e próticos. Esse resultado pode ser um reflexo da diminuição do número de grupos hidrofílicos (OH e NH<sub>2</sub>) livres do polímero, devido a introdução dos grupos acetil. Sabe-se que a obtenção de derivados acetilados de quitosana solúveis em água se deve a uma distribuição aleatória dos grupos acetil proporcionada pela reação em solução, aumentando assim a repulsão eletrostática entre as cadeias, logo, existindo uma maior solubilidade em meio ácido.

Por outro lado, a *N*-acetilquitosana intumescceu somente na solução de *N,N*-dimetilacetamida com cloreto de lítio (DMA/LiCl), como observar-se na **Figura 8(g)**. Além disso, foi possível verificar a formação do gel após 48 horas, **Figura 8(h)**. Estes resultados mostram a importância da força iônica no meio, sendo o cloreto de lítio, o responsável pela

ruptura das regiões cristalinas. Isso pode ser explicado pelo fato do  $\text{Li}^+$  formar um complexo com as moléculas do DMA, originando um macrocátion ( $[\text{DMA-Li}]^+$ ), e os íons cloreto, por sua vez, passam a formar ligações semelhantes às ligações hidrogênio com os átomos de hidrogênio das hidroxilas do polissacarídeo, promovendo a redução das interações entre as moléculas de quitosana e a consequente solubilização do polímero (STRIEGEL, 1997).

Portanto, os filmes de *N*-acetilquitosana foram preparados utilizando a solução de DMA com 5% (m/m) de LiCl. A **Figura 9** mostra a fotografia do filme obtido da *N*-acetilquitosana, podendo observar sua fácil gelificação, isso devido à redução da hidrofiliicidade da quitosana pela introdução dos grupos acetil, e sua capacidade de conservação após a sinérese. Por se tratar de um material para aplicação biomédica, os filmes foram lavados, pois o DMA se trata de um solvente orgânico com elevada toxicidade. Após o processo de lavagem, observou-se que os filmes de *N*-acetilquitosana se tornaram mais rígidos, isso devido à contração da estrutura do filme após a redução de seu volume, devido à formação de novas ligações hidrofóbicas e de hidrogênio (GARCIA, 2008), com aspecto borrachoso, **Figura 9(c)**.



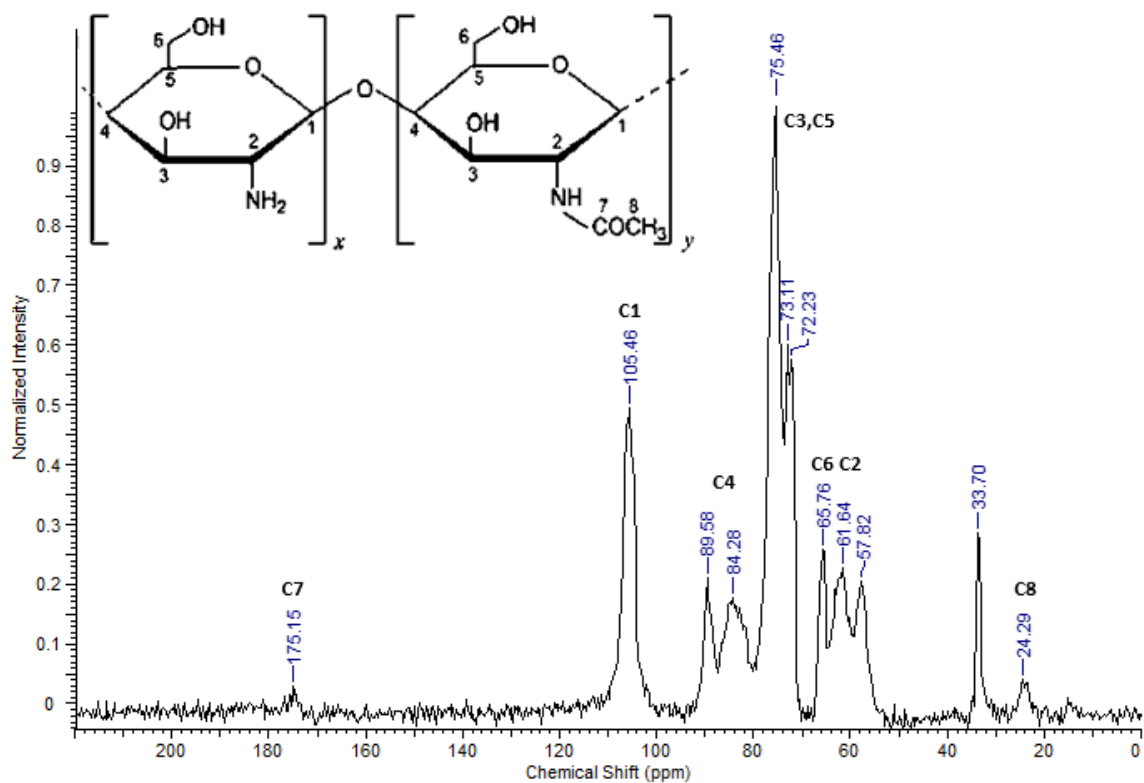
**Figura9:** Fotografia dos filmes de *N*-acetilquitosana com DMA/LiCl:(a) filme sem lavagem, (b) filme após a lavagem com água destilada e (c) filme após a secagem.

Fonte: Autoria própria.

## 5.2 CARACTERIZAÇÕES DA *N*-ACETILQUITOSANA

### 5.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$

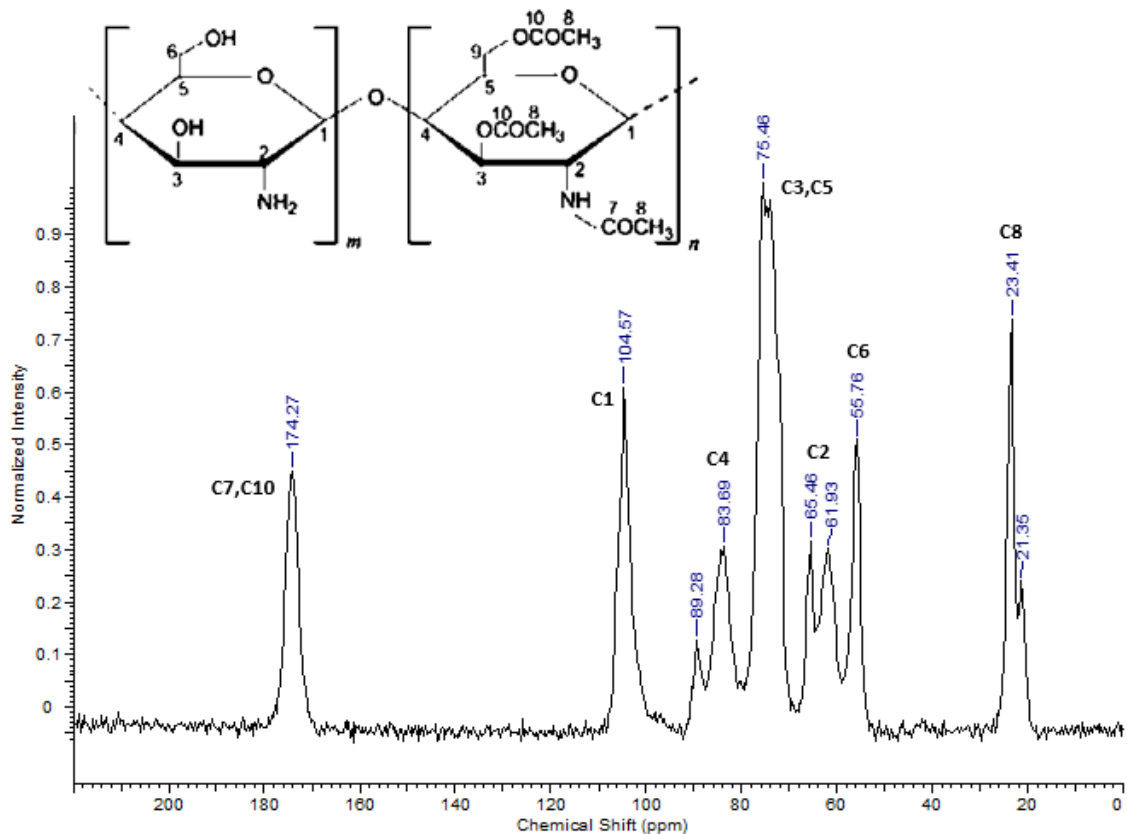
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do estado sólido da quitosana pura e a associação dos picos aos átomos de carbono estão apresentados na **Figura 10**. Os picos em 24,3 e 175,2 ppm são atribuídos respectivamente aos grupos metila e carbonila do resíduo da  $(\text{COCH}_3)$  presentes na quitosana original (MONTEIRO et al., 1999). Os demais picos associados aos carbonos encontram-se indicados na estrutura presente na **Figura 10**, estando em concordância com a literatura (GARCIA, 2008).



**Figura 10:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da quitosana pura.  
**Fonte:** Autoria própria.

A **Figura 11** apresenta o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da *N*-acetilquitosana, na qual é possível observar um aumento significativo na intensidade dos picos em 23,4 (**C8**) e 174,3 ppm

(C7), comparado ao da quitosana pura, confirmando assim, a acetilação nos grupamentos amino livres. Além disso, o pico em 174 ppm está associado não só ao carbono da carbonila da amida (C7), mas também ao carbono da carbonila do grupo éster (C10). Dessa forma, a quantificação isolada dos grupamentos OH e NH<sub>2</sub> acetilados não foi possível através dessa técnica, devido à sobreposição dos picos dos carbonos C7 e C10.



**Figura 11: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da N-acetilquitosana.**  
**Fonte: Autoria própria.**

Uma avaliação do grau de substituição foi realizada em função da razão entre as porcentagens de carbono presentes nas amostras a 23 ppm (C8) e a 104 ppm (C1), sendo este último o padrão interno de referência, **Tabela 3**. Estes resultados sugerem que a amostra acetilada apresenta grau de substituição igual 0,95. Tendo em vista que o grau de substituição máximo seria 3 (as duas hidroxilas dos carbonos 3 e 6, e o grupo amino livre), o percentual de OH e NH<sub>2</sub> acetilados é de 31,7%. Trabalhos publicados anteriormente por outros pesquisadores, (GARCIA, 2008; VACHOUD et al., 2007), mostram que a acetilação da quitosana em meio homogêneo, realizada pelo anidrido acético em solução aquosa contendo um álcool, alcançaram graus de N-acetilação na faixa de 25 a 99,5%, a partir da variação da razão molar anidrido

acético/grupos amino livres da quitosana. Entretanto, deve-se lembrar que, nessas condições experimentais, a acetilação ocorre apenas nos grupos amino livres (GARCIA, 2008; VACHOUD; ZYDOWICZ; DOMARD, 2007). Pode-se considerar que as amostras obtidas e estudadas apresentam grau de acetilação da mesma ordem de grandeza daquelas preparadas por acetilação em meio homogêneo. A diferença básica entre as amostras acetiladas em meio homogêneo e heterogêneo seria a distribuição dos grupos acetil ao longo da cadeia polimérica.

**Tabela 3 - Determinação do grau de substituição da quitosana e da *N*-acetilquitosana.**

Amostras	Valores de Integração		Grau de substituição (GS)*
	C8	C1	
Quitosana	0,02	0,57	0,03
<i>N</i> -acetilquitosana	0,40	0,38	0,95

\*Grau de substituição: razão entre os valores de integração dos carbonos presentes nas amostras C8 e C1.

Fonte: Autoria própria.

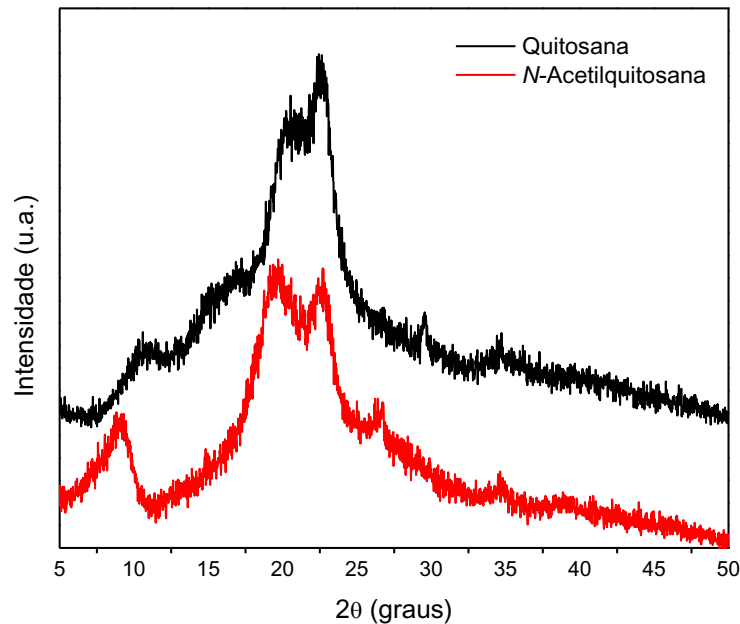
### 5.2.2 Difração de Raios X

Os difratogramas de raios X, obtido do pó da quitosana pura e da *N*-acetilquitosana, podem ser observados na **Figura 12**. O difratograma da quitosana pura apresenta uma banda larga na região  $10^\circ - 40^\circ$ , correspondendo a fase amorfa característico de um polímero semicristalino.

Segundo Saito et al., (1987), a quitosana apresenta um arranjo atômico similar ao da quitina, sendo que os picos característicos em  $2\theta = 10,5^\circ$ ,  $19,9^\circ$  e  $22,2^\circ$  correspondem aos equatoriais (200), (020) e (220) e (202) de reflexão. O pico em  $2\theta=19,9^\circ$  apresentada pela quitosana, indica uma região de cristalinidade.

Além disso, o difratograma da *N*-acetilquitosana não apresenta mudanças significativa em relação ao difratograma da quitosana pura, sugerindo que a reação de acetilação, em meio heterogêneo, provavelmente ocorreu nos domínios amorfos, preservando as regiões cristalinas

e favorecendo o surgimento dos grupos acetil em uma distribuição pouco aleatória na cadeia polimérica (GARCIA, 2008).



**Figura 12: Difratograma de Raio X da quitosana e da *N*-acetilquitosana.**  
**Fonte: Autoria própria.**

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS À BASE DE *N*-ACETILQUITOSANA

#### 5.3.1 Caracterização dos filmes de *N*-acetilquitosana

A fotografia dos filmes obtidos da *N*-acetilquitosana pura e contendo eugenol ou naproxeno ou mistura eugenol/naproxeno estão apresentadas na **Figura 13**. Todos os filmes obtidos são translúcidos e flexíveis, porém frágeis. Os filmes contendo eugenol possuem coloração amarelada, devido à própria coloração do óleo essencial. Além disso, a presença das substâncias bioativas não modificou as características visuais e as propriedades mecânicas dos filmes, indicando que as partículas estão distribuídas uniformemente na matriz polimérica e em escala submicrométrica, além de serem miscíveis com o polímero.





**Figura 13:** Fotografia dos filmes de *N*-acetilquitosana puro (a) e com as substâncias bioativas: (b) eugenol (QTA/EUG), (c) naproxeno (QTA/NAP) e (d) mistura de eugenol e naproxeno (QTA/EUG/NAP).  
**Fonte:** Autoria própria.

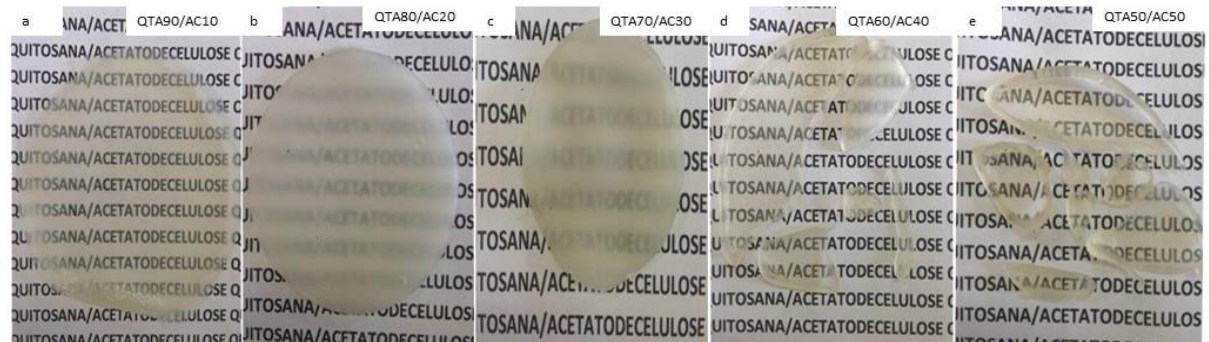
### 5.3.2 Caracterização dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose e de *N*-acetilquitosana/polietileno glicol

Na busca de curativos mais modernos, que apresentem boa bioadesividade, flexibilidade e elasticidade, neste trabalho, foram preparadas blendas a base de *N*-acetilquitosana. A obtenção destas blendas, também podem aumentar a eficiência de encapsulamento dos fármacos. Neste sentido, o teor de quitosana na blenda é fundamental para o ajuste entre as propriedades mecânicas e de liberação de fármacos seja estabelecido.

Portanto, blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose e *N*-acetilquitosana/polietileno glicol foram preparadas em várias proporções. As fotografias dos filmes destas blendas estão apresentadas nas **Figuras 14 e 15**.

Todos os filmes das blendas obtidos são flexíveis e mais rígido em relação ao filme da *N*-acetilquitosana puro, conferindo melhores propriedades mecânicas para os mesmos. Além disso, observa-se que as blendas contendo 20% (**Figura 14(b)**) e 30% (**Figura 14(c)**) de acetato de celulose são mais esbranquiçados. Esta característica pode ser explicada pelo processo de separação de fase que ocorre após a evaporação do solvente, indicando que nestas composições a *N*-acetilquitosana é parcialmente miscível com o acetato de celulose. Os filmes das blendas QTA60/AC40 (**Figura 14(d)**) e QTA50/AC50 (**Figura 14(e)**), que possui maior porcentagem de AC, são mais quebradiços em relação as outras blendas. Esta característica pode ser atribuída a maior rigidez do acetato de celulose. Já, as blendas de *N*-acetilquitosana com polietileno glicol

preparadas nas proporções 60/40 (QTA60/PEG40) e 50/50 (QTA50/PEG50), não ocorreu a formação de filme, devido a maior porcentagem de polietileno glicol.



**Figura 14:** Fotografias dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose puras em diferentes proporções.

Fonte: Autoria própria.



**Figura 15:** Fotografia dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/Polietileno Glicol puras em diferentes proporções.

Fonte: Autoria própria.

As blendas contendo as substâncias bioativas também foram preparadas e a fotografia dos filmes estão apresentadas nas **Figuras 16, 17 e 18**. De maneira geral, as blendas apresentam propriedades mecânicas semelhantes as blendas puras, em todas as porcentagens preparadas e são translúcidas. Sugerindo que o naproxeno e o eugenol atuam como agente compatibilizante, devido às interações favoráveis, tornando os sistemas mais miscível. As blendas contendo eugenol apresentam uma cor amarelada, devido à própria coloração do óleo essencial (**Figura 16**).

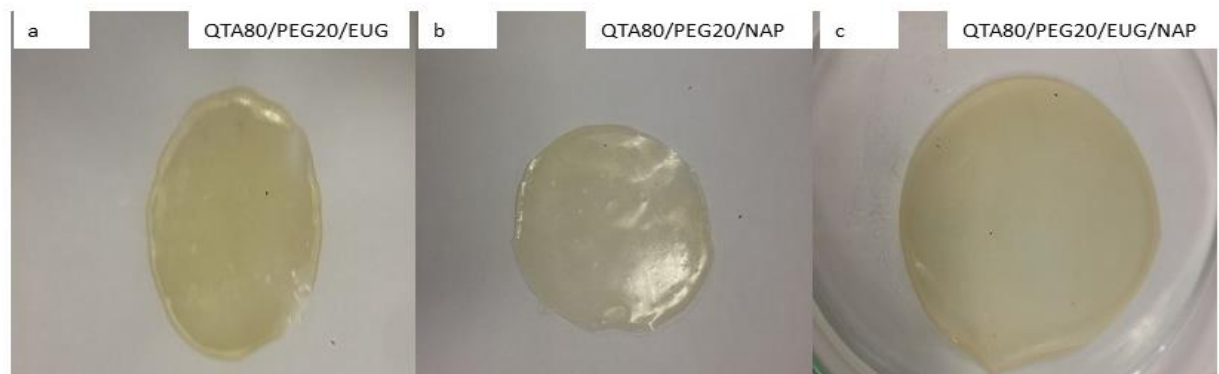




**Figura 16:** Fotografia dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/Acetato de Celulose com Eugenol em diferentes proporções.  
**Fonte:** Autoria própria.



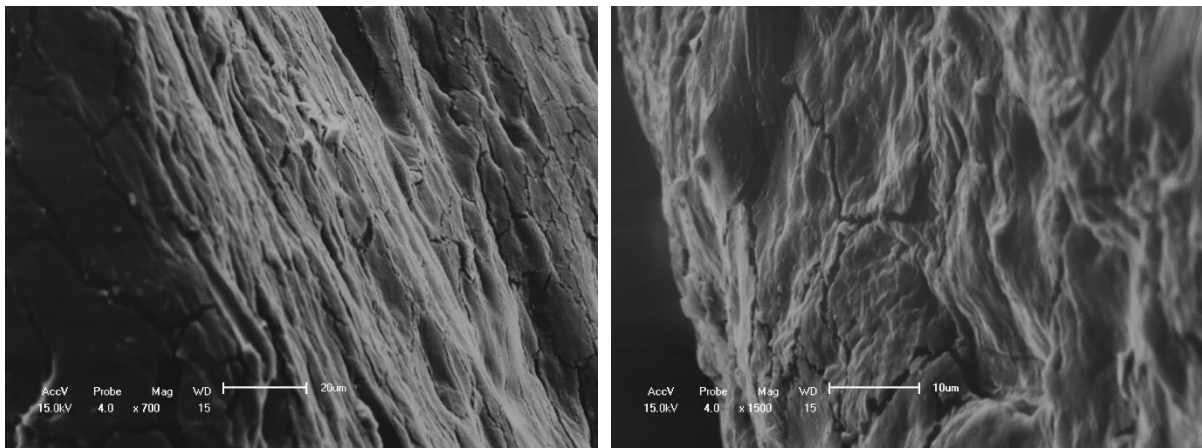
**Figura 17:** Fotografia dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/Acetato de Celulose com Naproxeno em diferentes proporções.  
**Fonte:** Autoria própria.



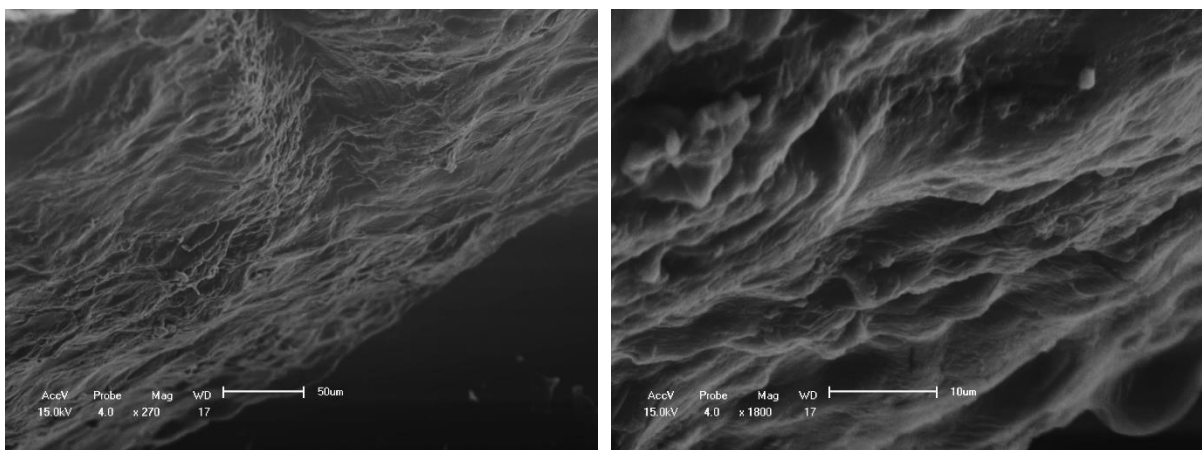
**Figura 18:** Fotografia dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/Poliétileno Glicol (a) com Eugenol, (b) Naproxeno e (c) mistura Eugenol com Naproxeno.  
**Fonte:** Autoria própria.

### 5.3.3 Caracterização Morfológica

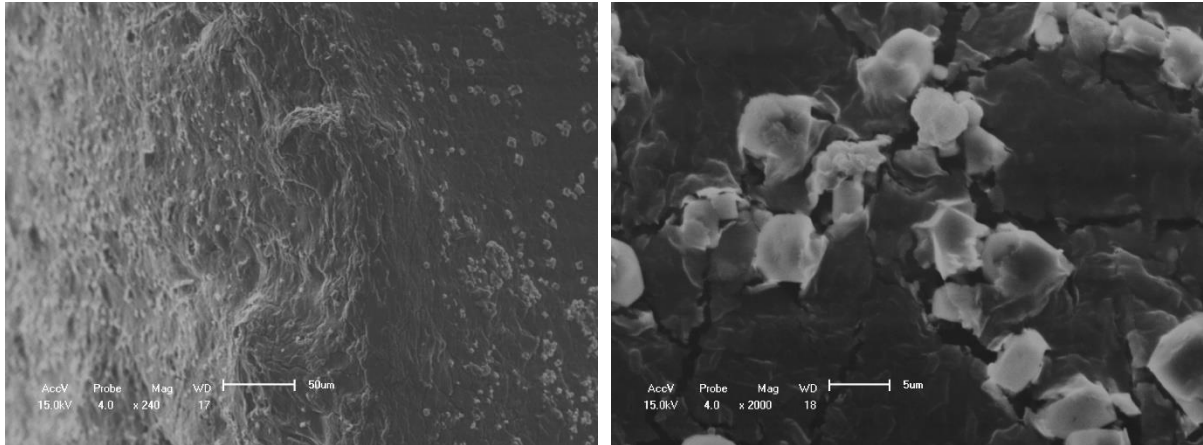
As características morfológicas das superfícies de fratura criogênicas dos filmes de *N*-acetilquitosana e das blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose e *N*-acetilquitosana/polietileno glicol puro e com substâncias bioativas foram investigadas por MEV algumas micrografias estão apresentadas nas **Figuras 19 à 27**. A morfologia da superfície de fratura do filme de *N*-acetilquitosana puro (**Figura 19**) revela uma superfície lisa e indica um filme denso e uniforme. As micrografias dos filmes de *N*-acetilquitosana com eugenol (**Figura 20**), naproxeno (**Figura 21**) e mistura eugenol/naproxeno (**Figura 22**) mostram as mesmas características, embora algumas partículas de naproxeno envolvidas pela matriz polimérica também possam ser observadas, evidenciando a boa adesão na interface polímero/substância bioativa.



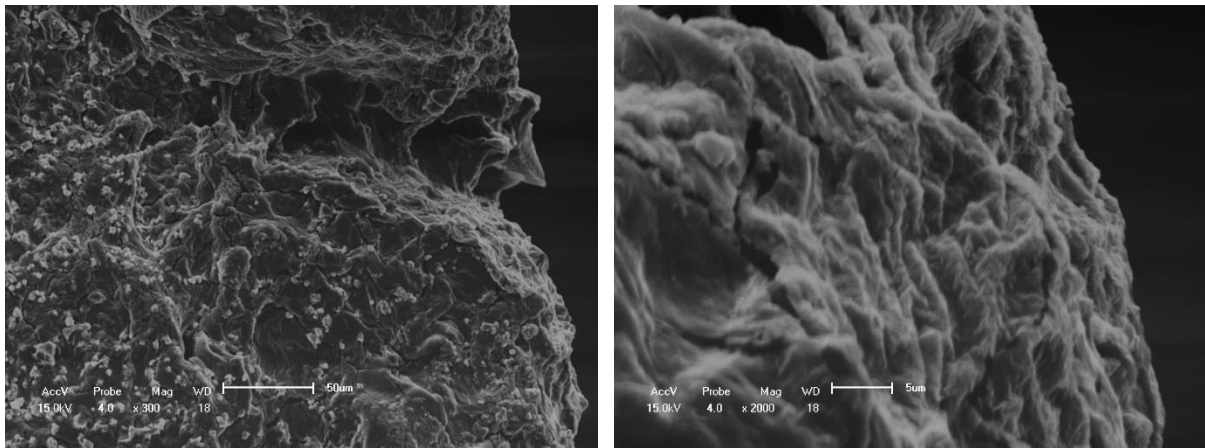
**Figura 19:** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de *N*-acetilquitosana puro.  
Fonte: Autoria própria.



**Figura 20:** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de *N*-acetilquitosana com eugenol.  
Fonte: Autoria própria.

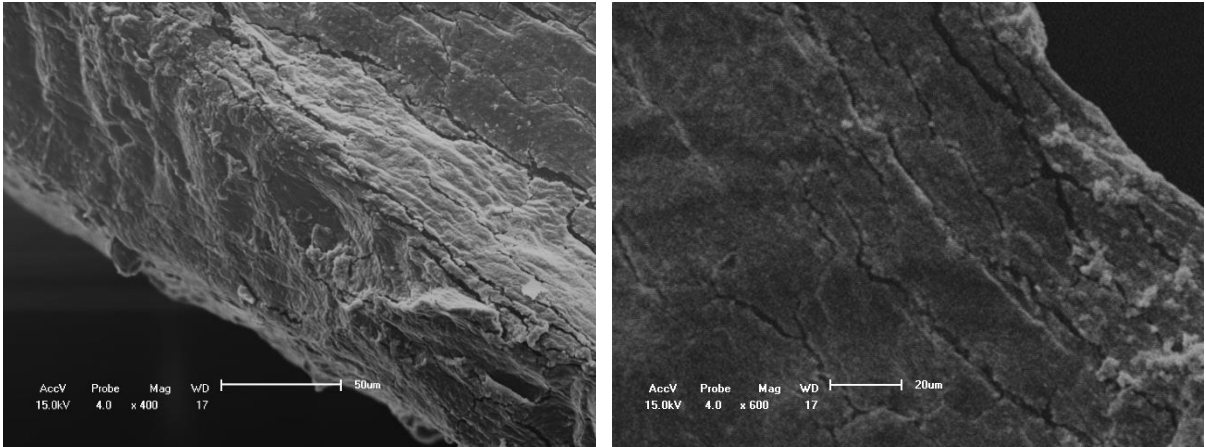


**Figura 21:** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de *N*-acetilquitosana com naproxeno.  
**Fonte:** Autoria própria.

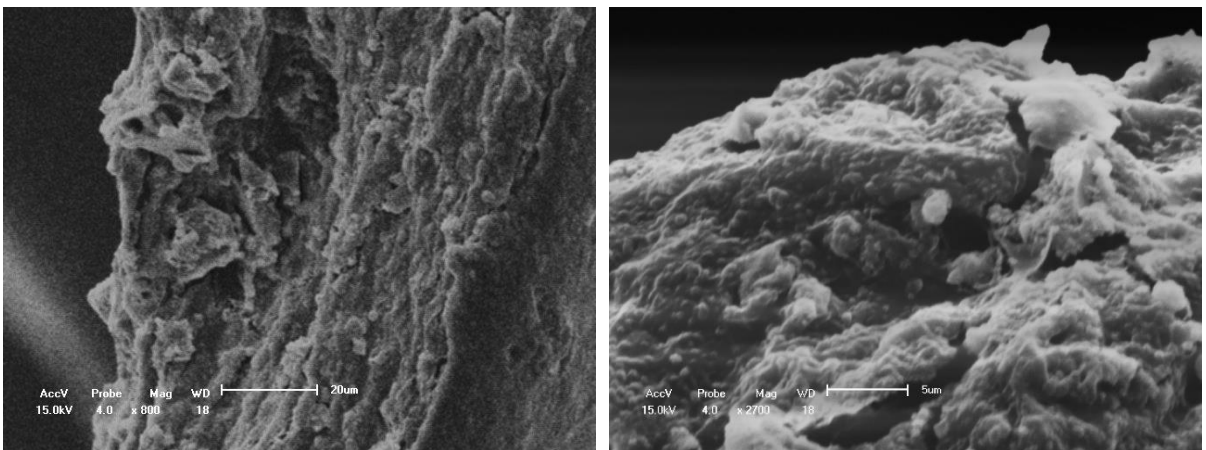


**Figura 22:** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de *N*-acetilquitosana com mistura eugenol/naproxeno.  
**Fonte:** Autoria própria.

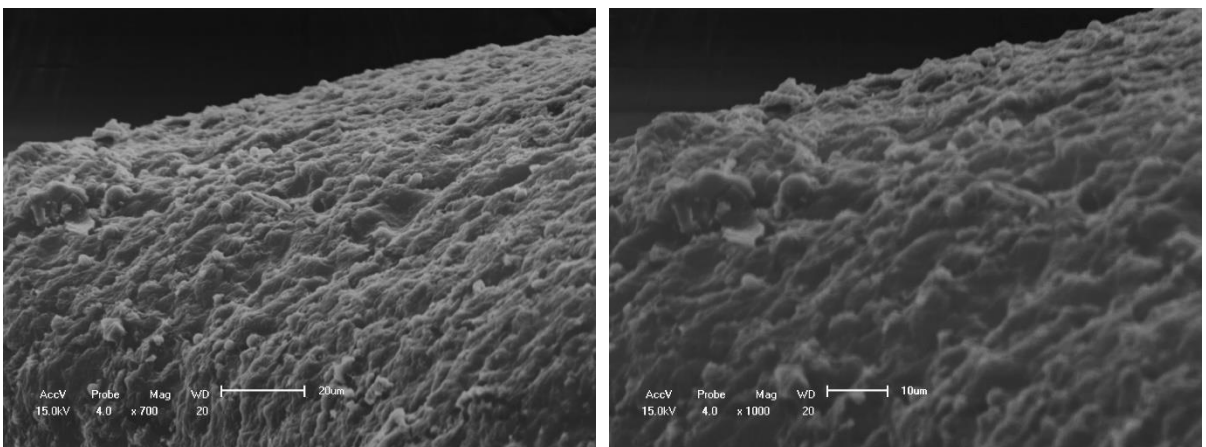
As micrografias dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana com 10% e 40% de acetato de celulose (**Figuras 23 e 26**) mostram uma superfície lisa, sugerindo um filme denso e uniforme. Além disso, as blendas obtidas nestas composições 90/10 e 60/40 são miscíveis. Já nas imagens das blendas QTA80/AC20 (**Figura 24**) e QTA70/AC30 (**Figura 25**), ou seja, contendo 20% e 30 % de acetato de celulose, respectivamente, é possível observar os domínios de acetato de celulose dispersos na matriz de *N*-acetilquitosana. Estes resultados indicam que nestas composições a *N*-acetilquitosana é parcialmente miscível com o acetato de celulose, concordando com aspecto visual observado previamente nas fotografias **Figura 14(b)** e **Figura 14(c)**. O filme da blenda de *N*-acetilquitosana contendo 10% de polietileno glicol, QTA90/PEG10, (**Figura 27**) também apresentou uma superfície lisa, sugerindo um filme denso e que nesta composição a blenda de *N*-acetilquitosana e polietileno glicol são miscíveis.



**Figura 23: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA90/AC10.**  
**Fonte: Autoria própria.**

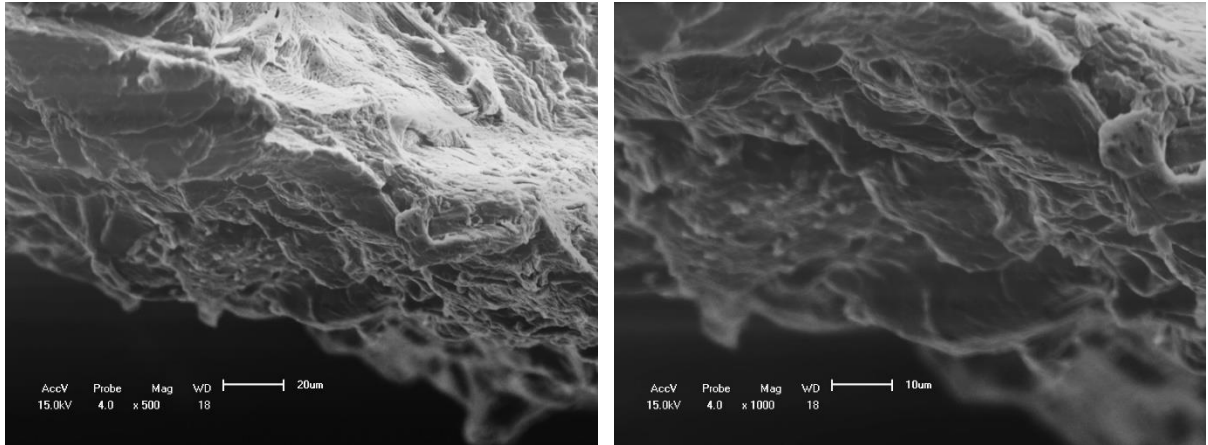


**Figura 24: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA80/AC20.**  
**Fonte: Autoria própria.**

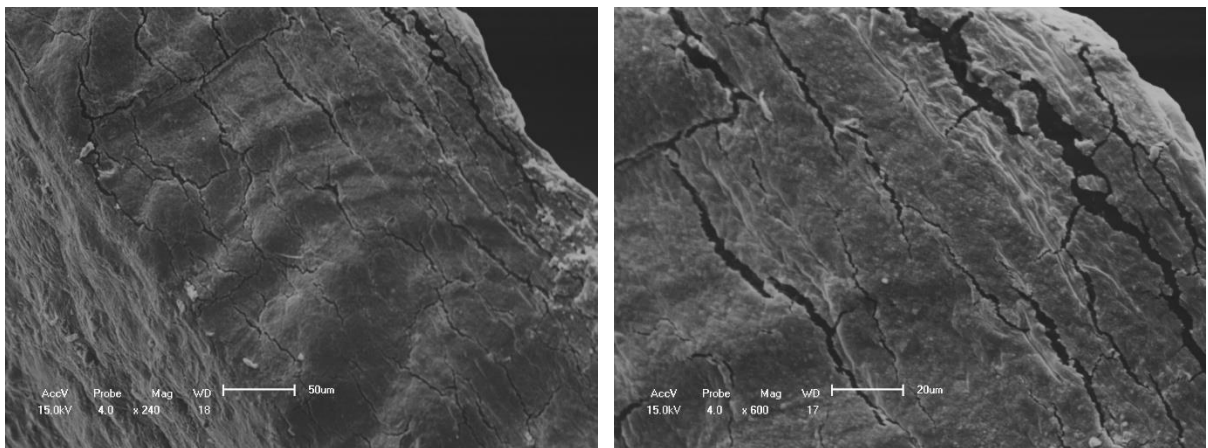


**Figura 25: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA70/AC30.**  
**Fonte: Autoria própria.**





**Figura 26: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA60/AC40.**  
**Fonte: Autoria própria.**



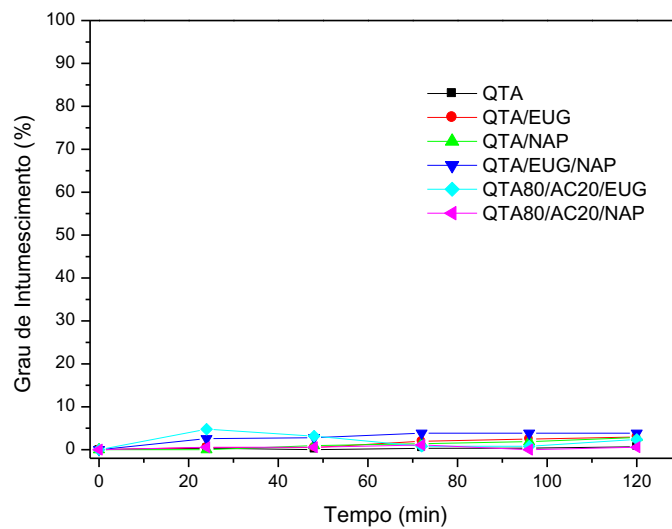
**Figura 27: Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de blenda de QTA90/PEG10.**  
**Fonte: Autoria própria.**

#### 5.3.4 Teste de Intumescimento

O teste de intumescimento foi realizado para avaliar as amostras após a imersão em solução de simulação da pele (pH 6,8). As **Figuras 28 e 29** apresentam o perfil das curvas de intumescimento das amostras dos filmes de *N*-acetilquitosana e das blendas de *N*-acetilquitosana com 20% de AC e 20% de PEG contendo as substâncias bioativas em função do tempo. Observa-se que, as amostras das blendas contendo eugenol (QTA80/PEG20/EUG) e naproxeno (QTA80/PEG20/NAP) atingiram o grau de intumescimento no equilíbrio em 30 minutos, sendo a amostra QTA80/PEG20/NAP a de maior grau de intumescimento, chegando em 53% em apenas 30 minutos. Além disso, os filmes de *N*-acetilquitosana e as blendas *N*-

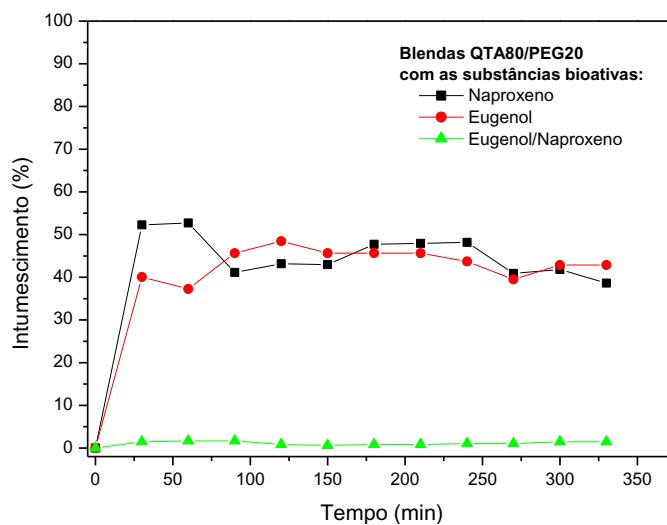
acetilquitosana/acetato de celulose contendo as substâncias bioativas não intumesciu no tempo analisado.

O maior grau de intumescimento, das blendas de *N*-acetilquitosana/polietileno glicol, pode ser explicado devido às fortes interações eletrostáticas entre as cadeias poliméricas que facilitam uma melhor interação com o meio, permitindo um rápido e eficiente inchamento no local de interesse (ABREU, 2008). Já as blendas com acetato de celulose há a diminuição dessas interações, além de ser hidrofóbico, o que limita a penetração de água ou meios aquosos em suas cadeias, diminuindo assim o grau de intumescimento do filme.



**Figura 28:** Curvas de intumescimento das amostras QTA, QTA/EUG, QTA/NAP, QTA/EUG/NAP, QTA80/AC20/EUG e QTA80/AC20/NAP em função do tempo.

Fonte: Autoria própria.



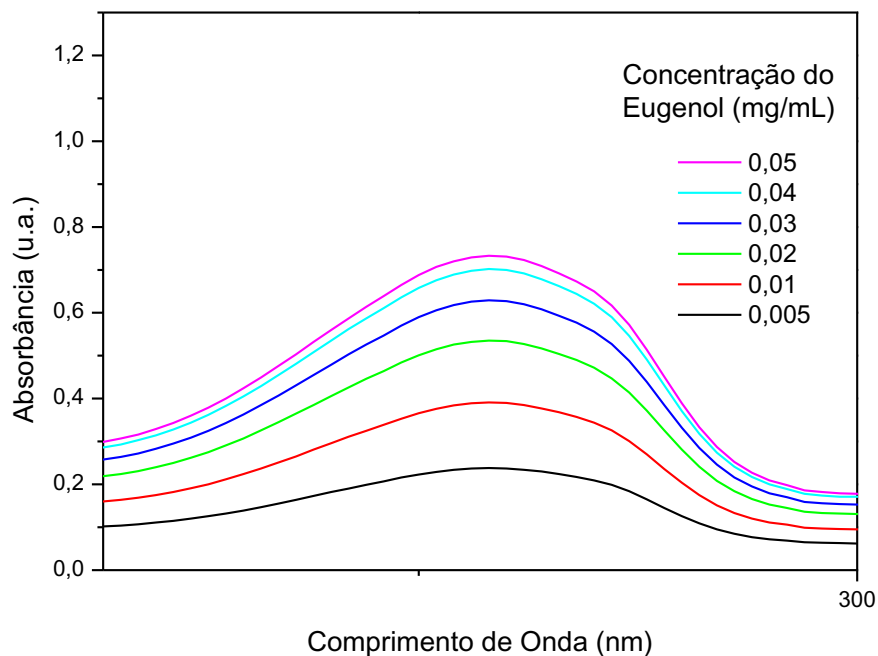
**Figura 29:** Curvas de intumescimento das amostras QTA80/PEG20/NAP, QTA80/PEG20/EUG, QTA80/PEG20/EUG/NAP em função do tempo.

Fonte: Autoria própria.



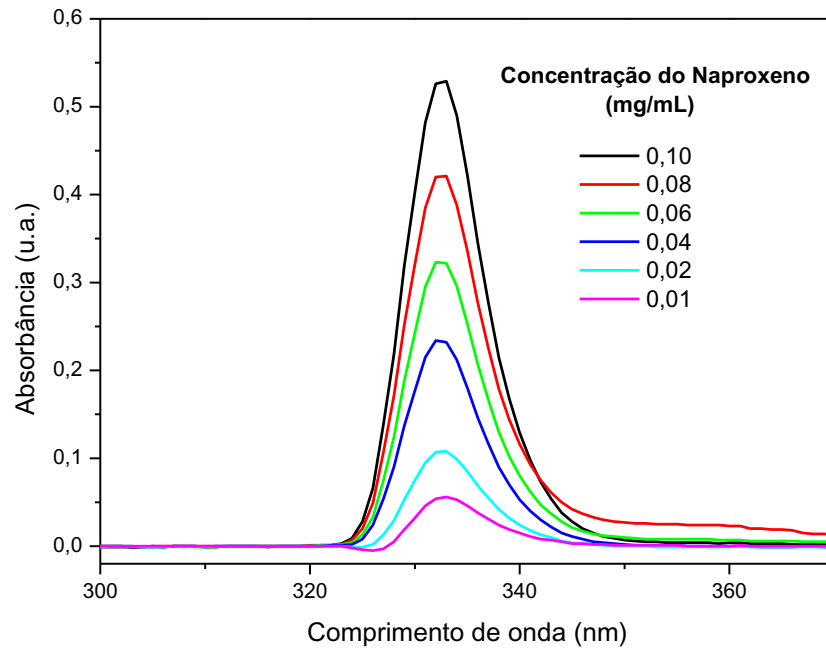
### 5.3.5 Liberação controlada da substância bioativa

O estudo de liberação controlada foi realizado com o intuito de verificar o potencial das membranas e blendas de quitosana como carregadores de substâncias bioativas. Os gráficos dos espectros de absorção do eugenol e naproxeno em diferentes concentrações estão apresentadas nas **Figuras 30** e **31**, respectivamente. O eugenol apresentou absorbância máxima em aproximadamente 277 nm e o naproxeno em 332 nm. A partir destes gráficos foi possível construir as curvas analíticas, correlacionando a absorção *versus* concentração da substância bioativa, **Figuras 32** e **33**.



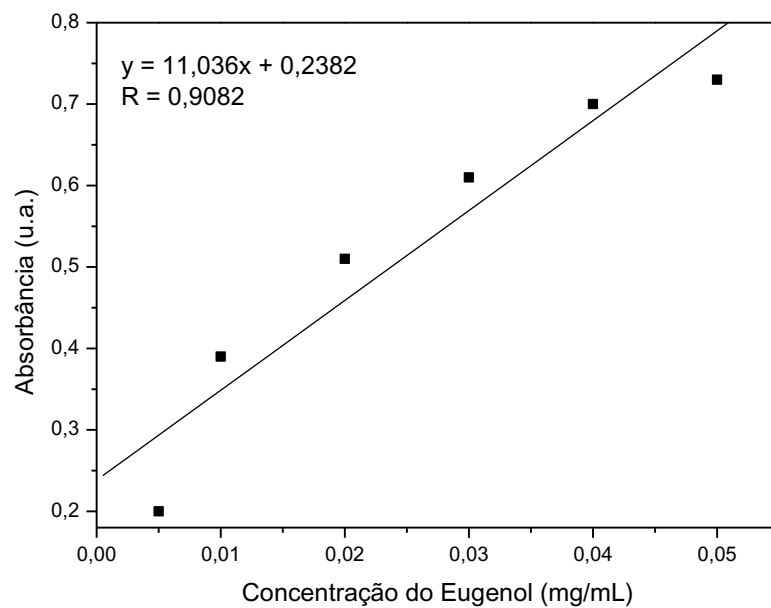
**Figura 30:** Espectro de absorbância *versus* comprimento de onda das soluções do eugenol em diferentes concentrações.

Fonte: Autoria própria.



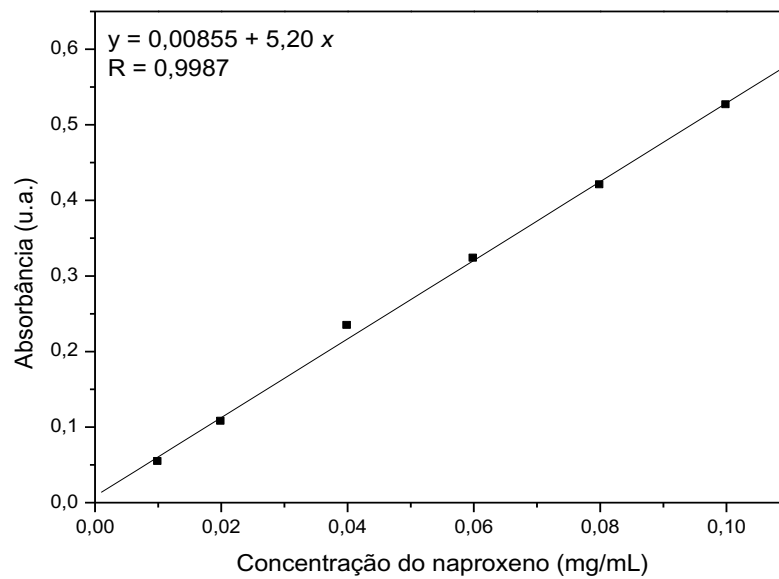
**Figura 31:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda das soluções do naproxeno em diferentes concentrações.

Fonte: Autoria própria.



**Figura 32:** Curva analítica do Eugenol ( $\lambda = 277$  nm).

Fonte: Autoria própria.



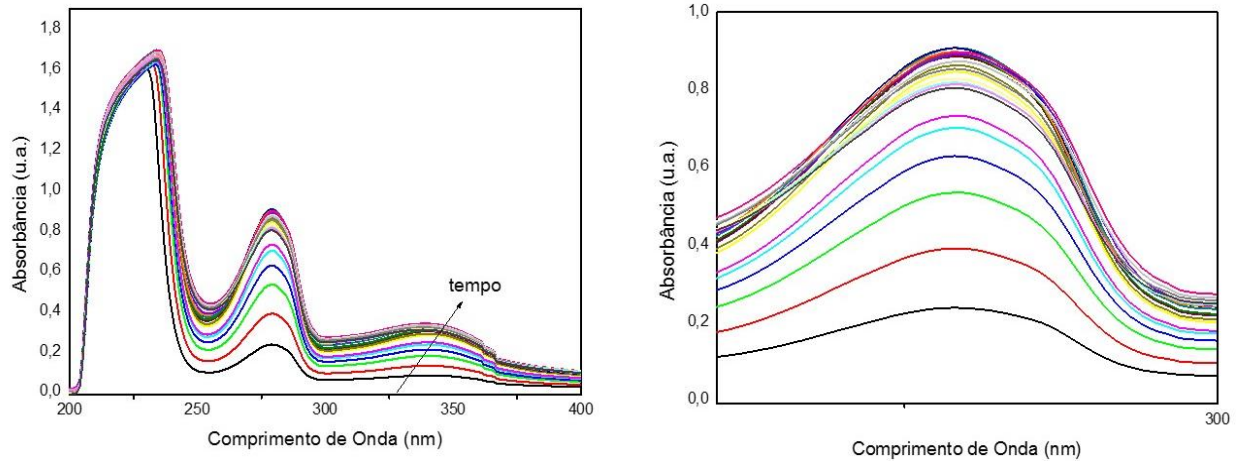
**Figura 33: Curva analítica do naproxeno ( $\lambda = 332$  nm).**  
**Fonte: Autoria própria.**

A concentração do eugenol e do naproxeno liberada a partir dos filmes foi determinada utilizando a **Equação 2 e 3**, respectivamente.

$$y = 0,2382 + 11,036x \quad (2)$$

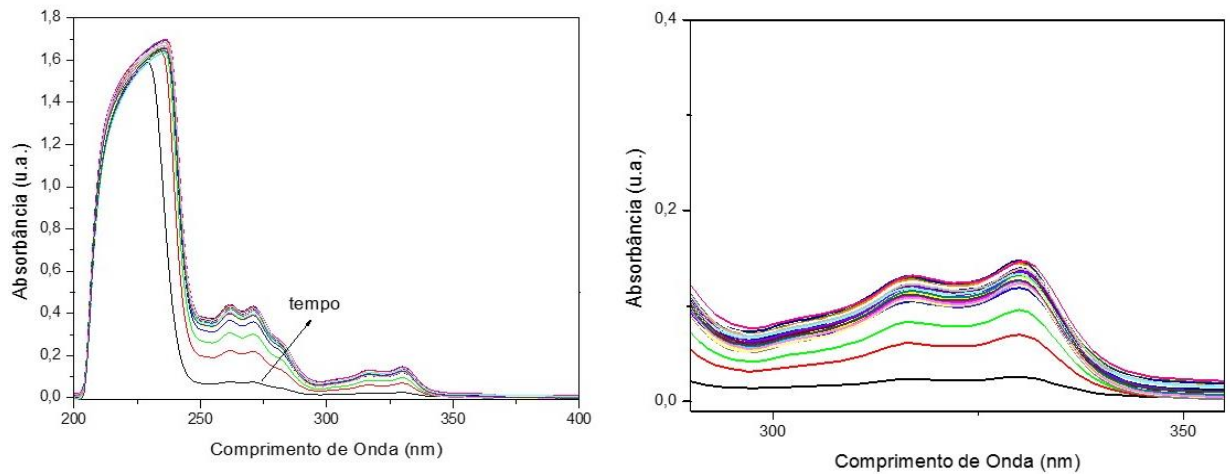
$$y = 0,00855 + 5,2x \quad (3)$$

Os espectros de absorção em função do tempo dos filmes de *N*-acetilquitosana contendo as substâncias bioativas estão apresentadas nas **Figuras 34, 35 e 36**. Nos espectros de absorbância *N*-acetilquitosana com as substâncias bioativas, é possível observar três picos de absorção, 220, 277 e 332 nm, na qual a absorção máxima relativa em 220 nm é referente a *N*-acetilquitosana pura, em 277 nm ao eugenol (**Figuras 34 e 35**) e em 332 nm do naproxeno (**Figuras 35 e 36**).



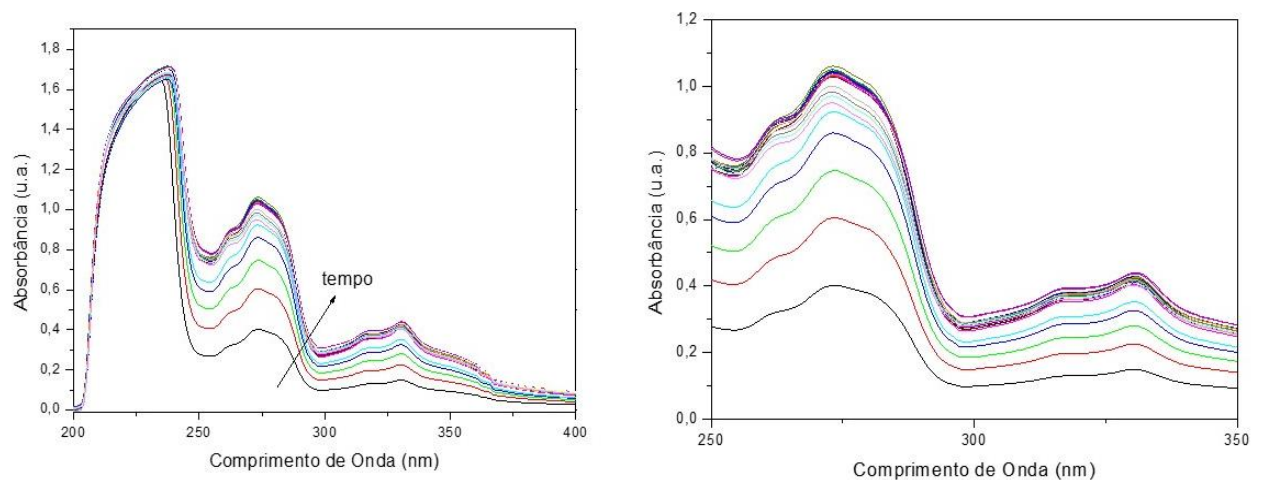
**Figura 34:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana com eugenol em função do tempo.

Fonte: Autoria própria.



**Figura 35:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana com naproxeno em função do tempo.

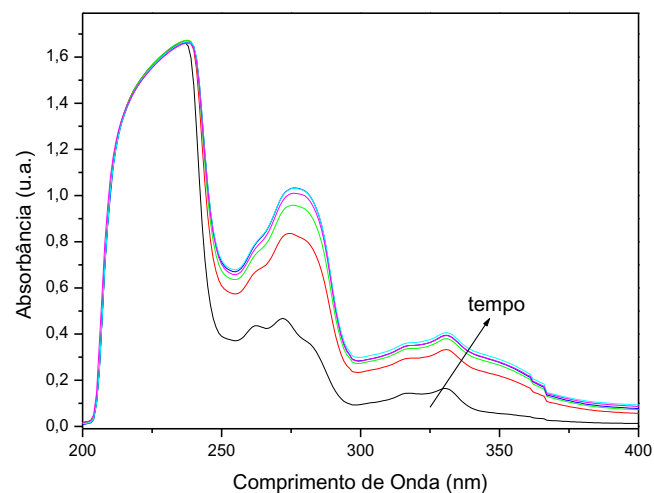
Fonte: Autoria própria.



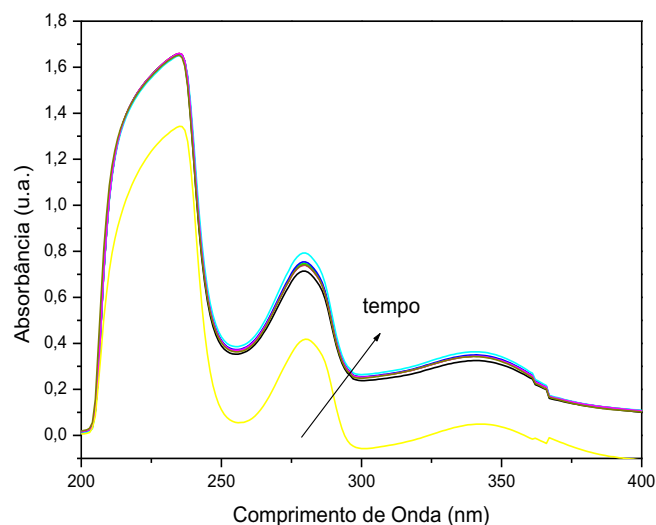
**Figura 36:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana com mistura eugenol/naproxeno em função do tempo.

Fonte: Autoria própria.

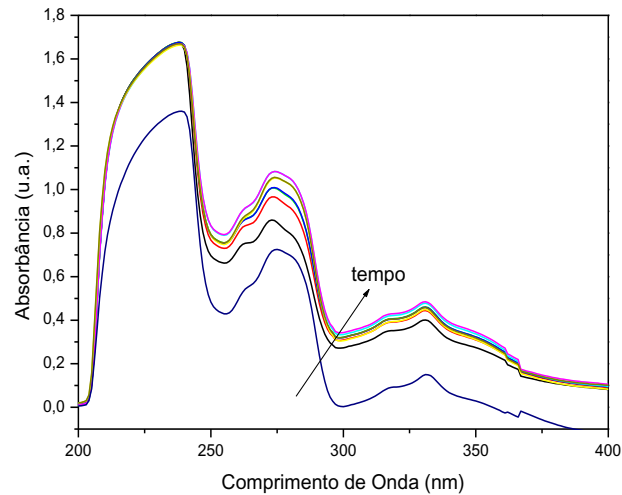
Nas **Figuras 37, 38 e 39** estão apresentados os espectros de absorvância das blendas QTA80/AC20/EUG, QTA70/AC30/EUG, QTA60/AC40/EUG, com a substância biologicamente ativa eugenol em função do tempo. Nas **Figuras 40 e 41**, estão apresentados os espectros referentes as blendas *N*-acetilquitosana/Acetato de Celulose com o naproxeno, QTA80/AC20/NAP e QTA70/AC30/NAP, respectivamente. Blendas com acetato de celulose contendo mistura eugenol/naproxeno não apresentaram formação de filme. Nos espectros de absorvância das blendas também observou-se três picos de absorção (220, 270 e 332 nm), sendo as absorções máximas em 220 e 270 nm relativas as absorções dos polímeros puros *N*-acetilquitosana e do acetato de celulose, respectivamente.



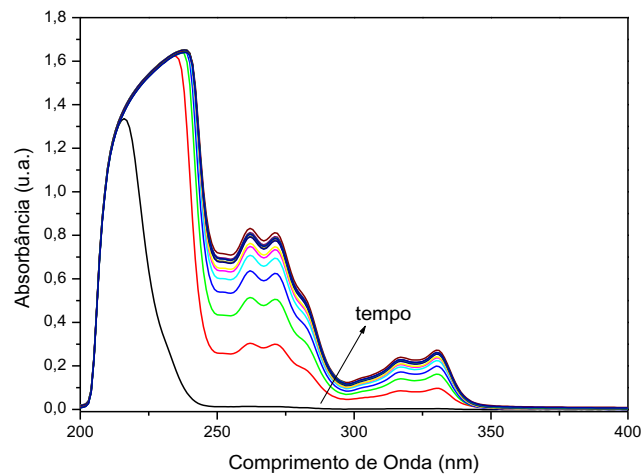
**Figura 37:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme da blenda de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA80/AC20/EUG) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.



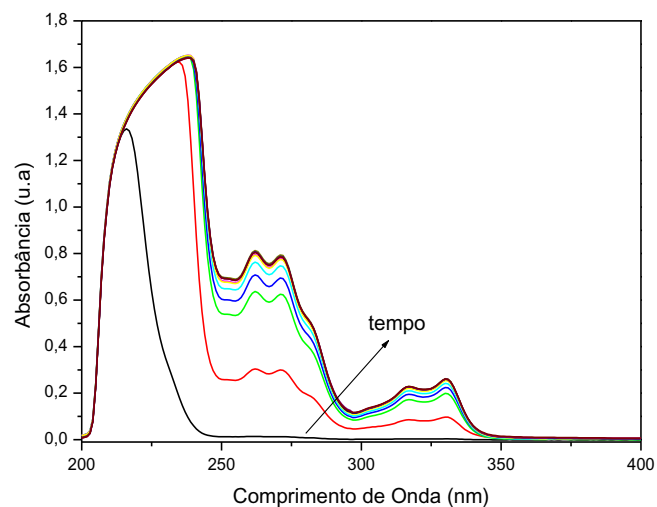
**Figura 38:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA70/AC30/EUG) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.



**Figura 39:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose com eugenol (QTA60/AC40/EUG) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.

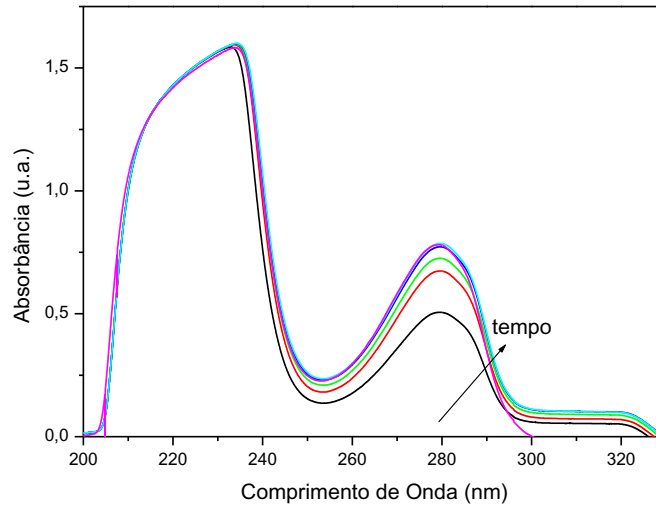


**Figura 40:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose com naproxeno (QTA80/AC20/NAP) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.

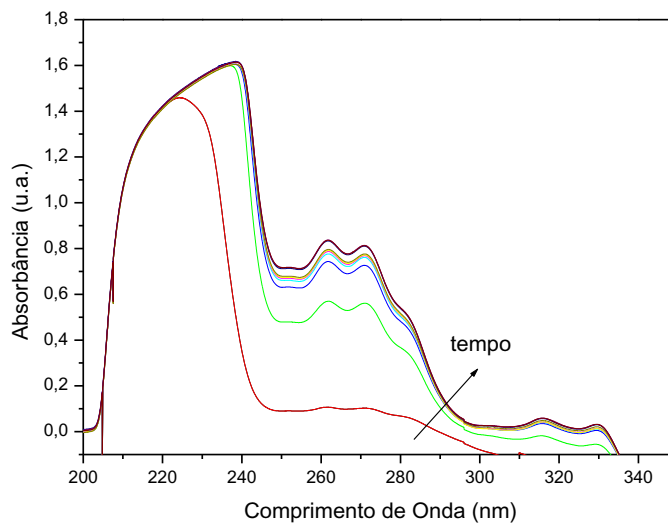


**Figura 41:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose com naproxeno (QTA70/AC30/NAP) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.

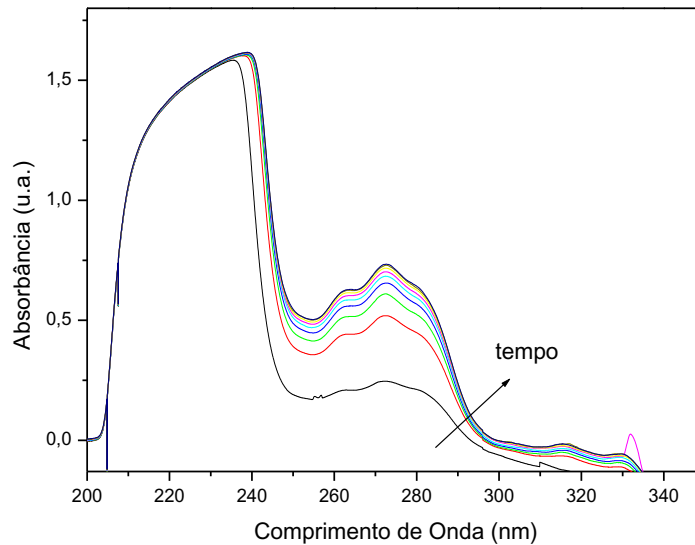
Nos espectros de absorvância das blends QTA80/PEG20 contendo eugenol (**Figura 42**), naproxeno (**Figura 43**) e a mistura de eugenol/naproxeno (**Figura 44**) verificou-se os picos característicos da *N*-acetilquitosana pura (220 nm), eugenol (277 nm) e do naproxeno (330 nm).



**Figura 42:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/polietileno glicol com eugenol (QTA80/PEG20/EUG) em função do tempo.  
Fonte: Autoria própria.

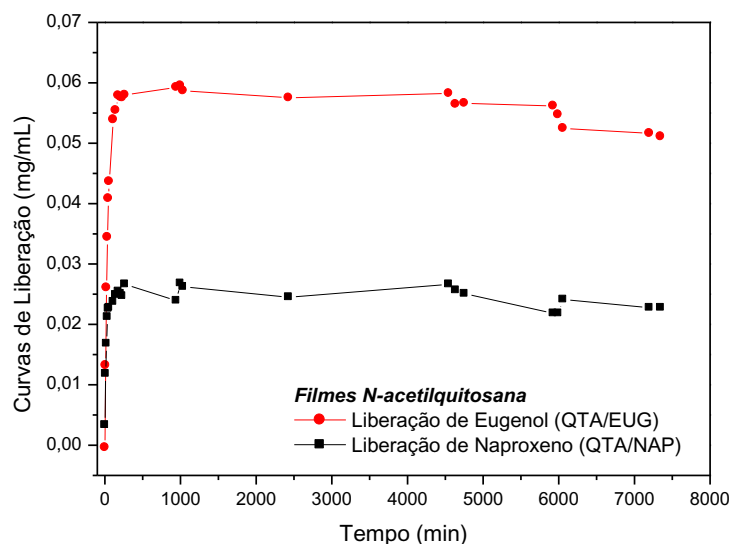


**Figura 43:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/polietileno glicol com naproxeno (QTA80/PEG20/NAP) em função do tempo.  
Fonte: Autoria própria.



**Figura 44:** Espectro de absorvância *versus* comprimento de onda do filme de *N*-acetilquitosana/polietileno glicol com mistura eugenol/naproxeno (QTA80/PEG20/EUG/NAP) em função do tempo.  
**Fonte:** Autoria própria.

O estudo de liberação do eugenol e naproxeno incorporado nas amostras QTA/EUG e QTA/NAP foram avaliadas por espectroscopia UV-Vis, as curvas de liberação estão apresentadas na **Figura 45**. Após uma hora de contato com o fluido de simulação da pele, ocorreu liberação de aproximadamente 0,043 mg/mL de eugenol e 0,023 mg/mL de naproxeno. Estes resultados demonstram que a liberação do naproxeno é mais controlada em relação ao eugenol.

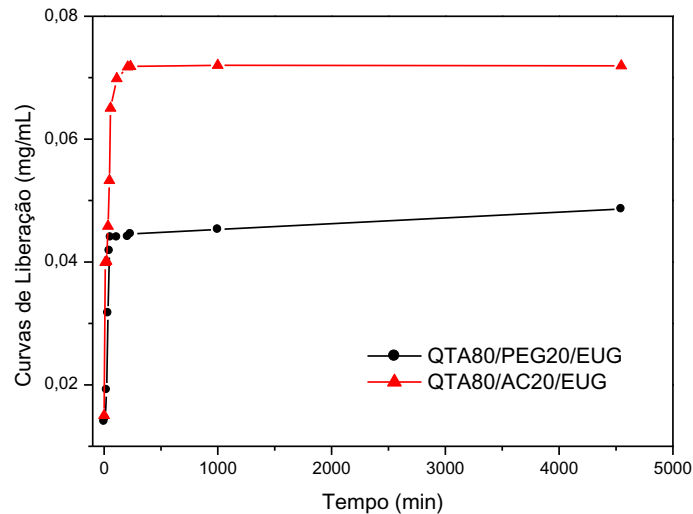


**Figura 45:** Curvas de liberação do eugenol e do naproxeno dos filmes de QTA/EUG e QTA/NAP.  
**Fonte:** Autoria própria.

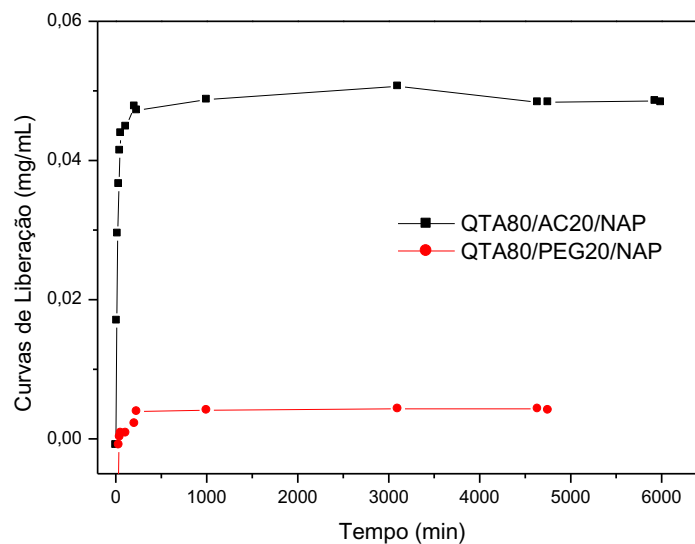
Nas **Figuras 46 e 47**, são apresentadas as curvas de liberação do eugenol e do naproxeno para as blends QTA80/PEG20 e QTA80/AC20. A liberação do eugenol é mais controlada para



as blendas preparadas com PEG em relação aos outros sistemas, sugerindo que a adição do polietileno glicol ocasiona boas propriedades para a liberação controlada, fazendo com que a substância bioativa mantenha-se por mais tempo em liberação.



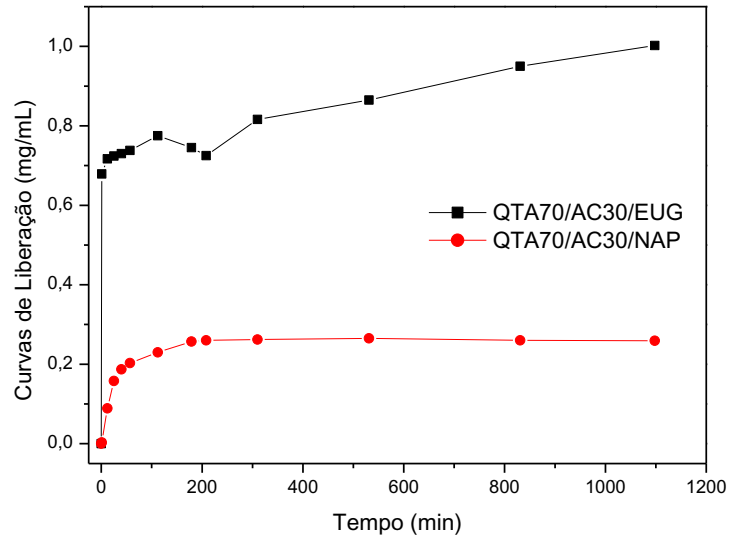
**Figura 46:** Curva de liberação do eugenol dos filmes das blendas de *N*-Acetilquitosana/Acetato de Celulose e *N*-acetilquitosana/Polietileno Glicol, obtidos no comprimento de onda de 277 nm.  
Fonte: Autoria própria.



**Figura 47:** Curva de liberação do naproxeno dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose e *N*-acetilquitosana/polietileno glicol, obtidos no comprimento de onda de 330 nm.  
Fonte: Autoria própria.

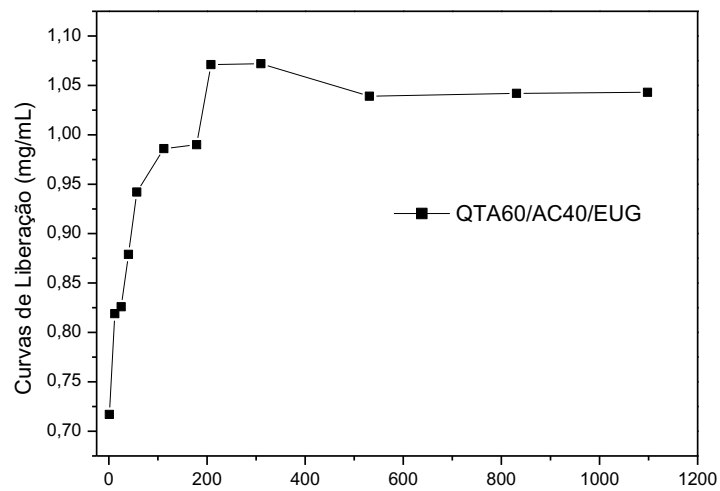
Na **Figura 48** estão apresentadas as curvas de liberação do eugenol e do naproxeno para as blendas QTA70/AC30/EUG e QTA70/AC30/NAP, onde é possível observar que após uma hora de contato com o fluido de simulação pele, com pH 6,8, ocorreu liberação de aproximadamente 0,7 mg/mL de eugenol e 0,2 mg/mL de naproxeno. Para a blenda QTA60/AC40/EUG, após uma hora houve a liberação de aproximadamente 0,95 mg/mL de

eugenol, **Figura 49** Estes resultados demonstram que a liberação do naproxeno, nos filmes de *N*-acetilquitosana e nas blends, é mais controlada em relação ao eugenol, devido provavelmente à maior interação do naproxeno com as matrizes poliméricas.



**Figura 48:** Curva de liberação do eugenol e naproxeno dos filmes das blends de *N*-acetilquitosana/acetato com proporções 70/30.

Fonte: Autoria própria.



**Figura 49:** Curva de liberação do eugenol no filme da blenda de *N*-acetilquitosana/acetato na proporção 60/40.

Fonte: Autoria própria.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *N*-acetilquitosana foi obtida a partir da acetilação da quitosana em meio heterogêneo, o teste de solubilidade da amostra foi realizado em diferentes solventes, afim de observar o intumescimento e formação do filme.

A caracterização da *N*-acetilquitosana foi realizada por Ressonância Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido e por Difração de Raios X, confirmando a acetilação da quitosana com grau de substituição de 0,95.

Os filmes de *N*-acetilquitosana foram preparadas utilizando o método *casting*, em soluções de *N,N*-dimetilacetamida contendo 5% (m/v) de cloreto de lítio, onde foram obtidos filmes que apresentaram boas estabilidades, mesmo após consecutivas lavagens com água destilada. Filmes de *N*-acetilquitosana com substâncias biotivas eugenol, naproxeno e mistura eugenol/naproxeno também foram preparadas a partir do método *casting*.

Foram preparados filmes de blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose e *N*-acetilquitosana/polietileno glicol puras e contendo as substâncias bioativas, na qual possuem melhores propriedades mecânicas em relação aos filmes de *N*-acetilquitosana.

As características morfológicas das superfícies de fratura dos filmes de *N*-acetilquitosana foram investigadas por microscopia eletrônica de varredura. A morfologia dos filmes de *N*-acetilquitosana revelou uma superfície lisa e indica um filme denso e uniforme. A morfologia dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana/acetato de celulose revelou uma superfície lisa e indica um filme denso e uniforme. As micrografias dos filmes das blendas de *N*-acetilquitosana com 10% e 40% de acetato de celulose são miscíveis. Já as blendas QTA80/AC20 e QTA70/AC30 são parcialmente miscíveis. A blenda de *N*-acetilquitosana contendo 10% de polietileno glicol, QTA90/PEG10, também apresentou uma superfície lisa, sugerindo um filme denso e que nesta composição a blenda é miscível.

O estudo de liberação das substâncias bioativas incorporadas nos filmes de *N*-acetilquitosana foram avaliadas por espectroscopia UV-Vis em diferentes períodos de tempo. Para os filmes de *N*-acetilquitosana observou-se que a liberação do naproxeno é mais controlada em relação ao eugenol. Para as blendas preparadas com PEG a liberação do eugenol foi mais controlada em relação aos outros sistemas.

Os resultados obtidos indicam que os filmes de *N*-acetilquitosana são promissores sistemas para liberação transdérmica de substâncias bioativas. Acredita-se que este sistema

poderá permitir não só a recuperação de tecidos lesados, mas também o controle do crescimento de microrganismos indesejáveis.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABREU, F. O. M. S. **Síntese e Caracterização de Hidrogéis Biodegradáveis à Base de Quitosana com Morfologia Controlada com Potencial Aplicação como Carregadores de Fármacos**. Tese (Doutorado em Engenharia de Ciência e Tecnologia de Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2008.
- ALMEIDA, M.A. **Efeitos do eugenol sobre o músculo liso traqueal de cobaio**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza – CE, 2004.
- ALBUQUERQUE, L.L. **Projeto, construção e ensaio de um gerador de Raios-X de laboratório**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1985.
- ALVAREZ-ROMAN, R.; NAIK, A.; KALIA, Y. N.; GUY, R.H.; FESSI, H. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 99, p. 53 – 62, 2004.
- AMARAL, M. H. A. R. **Estudo do naproxeno em formas de aplicação cutânea**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto, 1997.
- ANDRADE, E.D. **Terapêutica Medicamentosa em Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, p.188, 1999.
- BABEL, S.; KURNIAWAN, T.A. Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. **J. Hazard Mater**, v. 97, n. 1-3, p. 219-43, 2003.
- BALASUBRAMANI, M.; KUMAR, T. R.; BABU, M. Skin substitutes: a review. **Burns**, v. 27, p. 534-544, 2001.
- BEPPU, M. M.; ARRUDA, E. J.; SANTANA, C. C. Síntese e Caracterização de Estruturas Densas e Porosas de Quitosana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 9, n. 4, p. 163-169, 1999.
- BERALDO, P. S. S.; NUNES, L. G. N.; SILVA, I. P.; RAMOS, M. F. G. Sazonalidade de queimaduras por fogo, em pacientes admitidos numa unidade especializada do Distrito Federal, no período 1993-1996. **Revista Brasília Médica**, v. 36, p. 72-81, 1999.

BIOMATERIALS: **aims and scope**. Disponível em:  
<<http://www.journals.elsevier.com/biomaterials/>>. Acesso em: 10/04/16.

BOATENG, J. S.; MATTHEWS, K. H.; STEVENS, H. N. E.; Eccleston G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems - a review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 2892-2923, 2008.

BOLZINGER, M.; BRIANÇON, S.; PELLETIER, J.; CHEVALIER, Y. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, p. 156-165, 2012.

BORCHARD, G. Chitosans for gene delivery. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v. 52, n. 2, p. 145-150, 2001.

BRASIL. Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. Manual de condutas para úlceras neutróficas e traumáticas. **Ministério da Saúde**, 2002. ISBN 85-334-0562-6.

BRIGGER, I.; CHAMINADE, P.; MARSAUD, V.; APPEL, M.; BESNARD, M.; GURNY, R.; RENOIR, M.; COUVREUR, P.; Tamoxifen encapsulation within polyethylene glycol-coated nanospheres. A new antiestrogen formulation. **Int. J. Pharm.**, v. 214, p. 37-42, 2001.

BUDAVARI, S. The merck index. **Merck & Co. Inc.**, Rahway, N.J., 1996.

BUENO, C. Z.; **Influência do tipo de estratégia de reforço das propriedades mecânicas nas características de membranas de quitosana e alginato projetadas para o recobrimento de lesões de pele**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas; Campinas - SP, 2010.

CANDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. Editora Senac, São Paulo, SP, p.282, 2001.

CARABALLO, I. Critical points in the formulation of pharmaceutical swellable controlled release dosage forms: Influence of particle size. **Particuology**, v. 7, p. 421-425, 2009.

CHANDRA, R.; RUST GI R. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. **Biomaterials**, v. 22, p. 261-268, 2001.

CHELLAT, F.; MERHI, Y.; MOREAU, A.; YAHIA, L., Therapeutic potential of nanoparticulate systems for macrophage targeting. **Biomaterials**, v. 26, p. 7260-7275, 2005.

CHOW, K.S. e KHOR, E. Novel fabrication of open-pore chitin matrixes. **Biomacromolecules**, v. 1, p. 61-67, 2000.

CLASEN, C.; WILHELMS, T.; KULICKE, W. M. Formation and characterization of chitosan membranes. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 3210-3222, 2006.

CRAVEIRO, A.A.; CRAVEIRO, A.C. **Membrana de quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e cicatrizações**. Patente brasileira, PI 9805480-5A. 12/09/2000.

CRAVEIRO, A.A.; CRAVEIRO, A.C.; QUEIROZ, D.C. **Quitosana – A fibra do futuro**, Padetec, p. 124, 1999.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 780-792, 2013.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2005.

DAREA, E. V; GRIFFITHA, M.; POITRASB, P.; KAUPPC, J. A.; WALDMANC, S. D.; CARLSSOND, D. J.; DERVINE, G.; MAYOUXD, C.; HINCKEA, M. T. Genipin cross-linked fibrin hydrogels for in vitro human articular cartilage tissue-engineered regeneration. **Cells Tissues Organs**, v. 189, p. 1-13, 2009.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan: A versatile semisynthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981-1014, 2011.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: Propriedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. **Rev. Cubana Estomatol.** v. 39, n. 2, p. 139-156, 2002.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis: uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GANTWERKER, E. A.; HOM, D. B. Skin: Histology and physiology of wound healing. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 39, p. 85-97, 2012.

GARCIA, R. B.; SILVA, D. L. P.; COSTA, M.; RAFFIN, F. N.; RUIZ, N. M. S. Avaliação de géis obtidos a partir da acetilação da quitosana em meio heterogêneo. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 486-492, 2008.

GEESON, J.C.; BERG, R.A. Biochemistry of skin, bone and cartilage. In: GLASGOLD A.I. e SILVER, F.H. **Applications of biomaterials in facial plastic surgery**. CRC Press, Boca Raton, FL, 1991.

GEHRKE S. H. Synthesis and Properties of Hydrogels used for Drug Delivery. **Fundamental Aspects of Polymers in Pharmaceutics**. Marcel Dekker, New York, 2000.

GIRATA, A. K. **Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química); Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas; Campinas - SP, 2011.

GNAVI, S.; BARWIG, C.; FREIER, T.; HAASTERT-TALINI, K.; GROTHE, C.; GEUNA, S. Chapter one – the use of chitosan-based scaffolds to enhance regeneration in the nervous system. **International Review of Neurobiology**, v. 109, p. 1–62, 2013.

GROLLMAN, A. **Pharmacology & Therapeutics**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1951.

GUESSER F. **Preparação, caracterização e aplicação de hidrogel de quitosana /glutaraldeído** 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

GUTERRES, S.S.; ALVES, M.P.; POHLMANN, A.R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules for cutaneous applications. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 147–157, 2007.

HE, Q.; AO, Q.; WANG, A.; GONG Y.; ZHAO, N.; ZHANG, X. In Vitro Cytotoxicity and Protein Drug Release Properties of Chitosan/Heparin Microspheres. **Tsinghua Science & Technology**, v.12, p. 361-365, 2007.



HOARE, T. R.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, p. 1993-2007, 2008.

HOFFMAN, A.S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 3-12, 2002.

ISHIAKU, U. S.; PANG, K. W.; LEE, W. S.; ISHAK, Z. A. MOHD. Mechanical properties and enzymic degradation of thermoplastic and granular sago starch filled poly( $\epsilon$ -caprolactone). **European polymer journal**, v.38, p.393-401, 2002.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, P. T. S.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing application. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 322-337, 2011.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n.1, p.3-11, 2010.

KIM, I-Y., SEO, S-J., MOON, H-S et al., Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 1-21, 2008.

KIM, S. J.; PARK, S. J.; KIM, S. I. Synthesis and characteristics of interpenetrating polymer network hydrogels composed of poly(vinyl alcohol) and poly(isopropylacrylamide). **Reactive & Functional Polymers**, v. 55, p. 61-67, 2003.

KOROTKOV, K.; GARCIA, R. Computerized analysis of pigmented skin lesions - A review. **Artificial Intelligence in Medicine**, v. 56, p. 69-90, 2012.

KUCHARSKA, M.; NIEKRASZEWICZ, A.; WIŚNIEWSKA-WRONA, M.; BRZOZAMALCZEWSKA, K. Dressing sponges made of chitosan and chitosan-alginate fibrils. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v. 16, n.3, p. 109-113, 2008.

KULKAMP, I.C.; PAESE, K.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R. Stabilization of lipoic acid by encapsulation in polymeric nanocapsules designed for cutaneous administration. **Quimica Nova**, v. 32, p. 2078-2084, 2009.

KURITA, K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Mar Biotechnol**, v. 8, n. 3, p. 203-26, may/jun 2006.

LACHMAN, L., **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2001.

LAUS, R.; LARANJEIRA, M. C. M.; MARTINS, A. O. FÁVERE, V. T. PEDROSA, R. C. BENASSI, J. C. GEREMIAS, R. Microesferas De Quitosana Reticuladas Com Tripolifosfato Utilizadas Para Remoção Da Acidez, Ferro(II) E Manganês(II) De Águas Contaminadas Pela Mineração De Carvão. **Química Nova.**, vol. 29, no. 1, p. 34-39, 2006.

LEE, K. Y.; HA, W. S.; PARK, W. H. Blood compatibility and biodegradability of partially N-acetylated chitosan derivatives. **Biomaterials**, v. 16, p. 1211-1216, 1995.

LLOYD, M. ROBESON. **Polymer Blends: A comprehensive review**. Hanser Gardner Publications, Ohio, USA, p. 451, 2007.

LIMA, E. C. N. L. **Quitosana modificada quimicamente através de cloretos orgânicos e o uso como fonte em remoção catiônica**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas-SP, 2010.

LIU, Y. L.; SU, Y. H.; LAI, J. Y. In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan-silica hybrid membranes with using  $\gamma$ -glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent. **Polymer**, v. 45, n. 20, p. 6831-6837, 2004.

LV, H.; ZHANG, Z.; WANG, X.; CHENG, Q.; WANG, W.; HUANG, X.; ZHOU, J.; ZHANG, Q.; HOU, L.; HUO, W. A Biomimetic Chitosan Derivates: Preparation, Characterization and Transdermal Enhancement Studies of N-Arginine Chitosan. **Molecules**, v. 16, p. 6778-6790, 2011.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução à polimeros**. 2. ed. Rio de Janeiro: Edgard Blucher Ltda, p.191, 1999.

MENG, X.; TIAN, F.; YANG, J.; HE, C.; XING, N.; LI, L. Chitosan and alginate polyelectrolyte complex membranes and their properties for wound dressing application. **Journal of Material Science**, v. 21, p. 1751-1759, 2010.

METCALFE, A. D.; FERGUSON, M. W. J. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 4, p. 413-437, 2007.

MONTEIRO JR.,O.A.C.; AIROLDI, C. Some studies of crosslinking chitosan–glutaraldehyde interaction in a homogeneous system. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 26, p. 119–128, 1999.

MORAES, C.M.; DE MATOS, A.P.; DE PAULA, E.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-coglycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. **Material Science Engineer B Solid-State Mater Advanced Technology**, v. 165, p. 243–246, 2009.

MORRISON, R; BOYD, R. **Organic Chemistry**. Allyn and Bacon, Inc., Boston, 1961.

MUZZARELLI, R.A.A. Biochemical significance of exogenous chitins and chitosans in animals and patients; **Carbohydr. Polym.**, v. 20, p. 7-16, 1993.

MUZZARELLI, R.; MATTIOLI-BELLMONTE, M.; TIETZ, C.; BIAGINI, R.; FERIOLLI, G.; BRUNELLI, M.A.; FINI, M.; GIARDINO, R.; ILARI, P.; BIAGINI, G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. **Biomaterials**, v. 15, p. 1075-1081, 1994.

NGAH, W. S. W.; ENDUD, C. S.; MAYANAR, R. Removal of copper(II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads, **React. Funct. Polym.**, v. 50, p. 181, 2002.

NGUYEN, D.T.; ORGILL D.P.; MURPHY G.F. CHAPTER 4: The pathophysiologic basis for wound healing and cutaneous regeneration, **Biomaterials For Treating Skin Loss**, p. 25-57, 2009.

OREFICE, R. L.; VASCONCELOS, W. L.; MORAES, M. A. S. Estabilidade de fases em blendas de policarbonato-poliestireno avaliada por micro-FTIR, análise térmica e microscopia eletrônica de varredura. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n. 2, p. 129-133, 2004.

OVINGTON, L. G. The evolution of wound management: ancient origins and advances of the past 20 years. **Home Healthcare Nurse**, v. 20, p. 652-656, 2002.

PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitosan and alginate wound dressings: A short review. **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, v.18, n.1, p. 18-23, 2004.

PENZER, R.; ERSSER, S. **Principles of Skin Care - A Guide for nurses and health care practitioners**. Wiley-Blackwell, 2010.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN F.J.; LEMONS, J.E. **An introduction to materials in medicine**. Academic Press, San Diego, 2005.

RAVAL, A.; PARIKH, J.; ENGINEER, C. Mechanism of controlled release kinetics from medical devices. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. v. 27, p. 211-225, 2010.

REDDY, A.S.; KALYANI, S.; KUMAR, N.S.; BODDU, V.M.; KRISHNAIAH, A. Dehydration of 1,4-dioxane by pervaporation using crosslinked calcium alginate-chitosan blend membranes. **Polymer Bulletin**, v. 61, p. 779–790, 2008.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**, v. 57, p. 397-430, 2008.

RODRIGUES, A. P. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões**; Tese (Doutorado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas; Campinas – SP, 2008.

ROKHADE, A.; PATIL, S.; AMINABHAVI, T. Synthesis and characterization of semi-interpenetrating polymer network microspheres of acrylamide grafted dextran and chitosan for controlled release of acyclovir. **Carbohydr. Polym.**, v. 67, p. 605-690, 2007.

RUMC (Rush University Medical Center): **Health Information**. Disponível em: <<https://www.rush.edu/health-wellness>>. Acesso em 20/04/2016.

SADOWSKI, G.; W. RICHTERING, **Intelligent hydrogels**. Progress in colloid and polymer science, Heidelberg: Springer, v.140, 2013.

SAITO, H. et al. High-resolution solid-state carbon-13 NMR study of chitosan and its salts with acids: conformational characterization of polymorphs and helical structures as viewed from the conformation-dependent carbon-13 chemical shifts. **Macromolecules**, v. 20, n. 10, p. 2424-2430, 1987.

SENANAYAKE, U.M; WILLS, B.H; Lee, T.H. Biosynthesis of eugenol and cinnamic aldehyde in *Cinnamomum zeylanicum*. **Phytoch.**, v.16, p. 2032-2033, 1977.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCOTT, G. **Polymers and the Environment**, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, p.132, 1999.

SHIM, J.; KANG, H.S.; PARK, W.; HAN, S.; KIM, J.; CHANG, I. Transdermal delivery of minoxidil with block copolymer nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 97, p. 477-484, 2004.

SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, v. 1, 1989.

SINGH, R.; CHACHARKAR, M. P. Dried gamma-irradiated amniotic membrane as dressing in burn wound care. **Journal of Tissue Viability**, v. 20, p. 49-54, 2011.

SINGH,R.P.; PANDEY,J.K.; RUTOT,D.; DEGÉE,P.H.; DUBOIS; P.H. Biodegradation of poly(e-caprolactone)/starch blends and composites in composting and culture environments: the effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer. **Carbohydrate Research**, v. 338, p.1759-1769, 2003.

SIPOS, P.; GYORY, H.; HAGYMASI, K.; ONDREJKA, P.; BLAZOVICS, A. Special wound healing methods used in ancient Egypt and the mythological background. **World Journal of Surgery**, v. 28, p. 211-216, 2004.

SMITH, J.; WOOD, E.; DORNISH, M. Effect of Chitosan on Epithelial Cell Tight Junctions. **Pharmaceutical Research**, v. 21, p. 43-50, n. 1, 2004.

SOUSA, K. S., SILVA FILHO, E. C., AIROLDI, C., Ethylenesulfide as a useful agent for incorporation into the biopolymer chitosan in a solvent-free reaction for use in cation removal. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 13, p. 1716-1723, 2009.

SOUZA, R. F. B.; **Membranas de quitosana complexada com alginato e xantana: comportamento na presença de diferentes proporções de água e incorporação de eritromicina**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, Campinas- SP, 2014.

STRIEGEL, A. M. Theory and applications of DMAC/LICL in the analysis of polysaccharides. **Carbohydr. Polym.**, v. 34, p. 267-274, 1997.

SUH, J. K. F.; MATTHEW, H. W. T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. **Biomaterials**, v. 26, p. 1-21, 2000.

VEIGA, I. G. **Uso de xantana em substituição ao alginato em membranas coacervadas de quitosana projetadas para a cicatrização de lesões de pele**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2009.

WILDE, B.; BOELEN, J. Prerequisites for biodegradable plastic materials for acceptance in real-life composting plants and technical aspects. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 7-12, 1998.

WILLIAMS, D. F. On the nature biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, p. 5897-5909, 2009.

YUDANOVA, T. N.; RESHETOV, I. V. Modern wound dressings: manufacturing and properties. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 40, p. 85-92, 2006.

YUE, W. Prevention of browning of depolymerized chitosan obtained by gamma irradiation. **Carbohydrate Polymers**, v. 10, p. 857-863, 2014.

ZHANG, J.; XIA, W.; LIU, P.; CHENG, Q.; TAHIROU, T.; GU, W.; LI, B. Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications. **Marine Drugs**, v. 8, p. 1962-1987, 2010.