



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO
TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS**



Dissertação de Mestrado

Juliana Bié Ferreira de Souza

**Processamento e caracterização de esferas de
quitosana/PVA com incorporação de Cisplatina para
potencial aplicação em liberação controlada do
fármaco**

**Belo Horizonte
2016**

Juliana Bié Ferreira de Souza

Processamento e caracterização de esferas de quitosana/PVA com incorporação de Cisplatina para potencial aplicação em liberação controlada do fármaco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na linha de Pesquisa em Biomateriais, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

Belo Horizonte
2016

Souza, Juliana Bié Ferreira de.
S719p Processamento e caracterização de esferas de quitosana/PVA com
incorporação de Cisplatina para potencial aplicação em liberação
controlada do fármaco / Juliana Bié Ferreira de Souza. - 2016.

79 f. : il.; tabs. ; grafs ; fotos. –

Orientador: Ezequiel de Souza Costa Júnior.

Dissertação (mestrado) – Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2016.

Bibliografia.

1. Biopolímeros. 2. Câncer. 3. Quimioterapia. 4. Materiais biomédicos.
I. Costa Júnior, Ezequiel de Souza. II. Título.

CDD: 620.192



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
“PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
ESFERAS DE QUITOSANA/PVA COM
INCORPORAÇÃO DE CISPLATINA PARA POTENCIAL
APLICAÇÃO EM LIBERAÇÃO CONTROLADA DO
FÁRMACO”

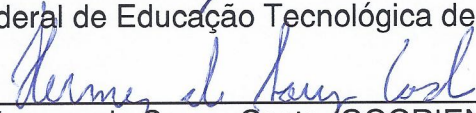
Autora: Juliana Bie Ferreira de Souza

Orientador: Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



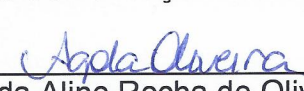
Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior (ORIENTADOR)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG



Prof. Dr. Hermes de Souza Costa (COORIENTADOR)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG



Profª. Drª. Danielle Marra de Freitas Silva Azevedo
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG



Profª. Drª. Agda Aline Rocha de Oliveira
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais – PUC/MG

Belo Horizonte, 30 de Setembro de 2016.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, eu agradeço a Deus, por ser meu tudo, meu Senhor, meu amigo... por que Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

Agradeço também aos meus pais, pelo amor incondicional com o qual sempre me criaram, pelo apoio em todos os momentos da minha vida e por estarem presentes em cada conquista da minha vida me ensinando a caminhar com meus próprios pés.

Agradeço à minha irmazinha por todo amor a mim dedicados, pelo companheirismo em todas as etapas do meu dia a dia, minha confidente e melhor amiga... também ao meu cunhado Ezequiel por fazer minha florzinha feliz.

À minha vó Eva, por ser sempre companheira, batalhadora e meu exemplo de vida. Matriarca e pilar da nossa família.

Aos tios e primos por sempre estarem ao meu lado e ao lado da minha família. Obrigada a todos.

Aos amigos que sempre estão e estiveram presentes, me dando força em alguns momentos sem mesmo saber o problema.

Ao professor Ezequiel pelo ensinamento e paciência na orientação. Pelas correções necessárias à melhor qualidade deste trabalho.

Aos colegas de mestrado agradeço pela convivência e experiência adquiridas. Especialmente à Sandra pelo auxílio e disponibilidade em todos os momentos, sempre disposta à ajudar.

À professora Cristina, professor Hermes e professor Cleverson pela disponibilidade de tempo, materiais e ajuda no desenvolvimento desta dissertação.

À todos os professores que estiveram presentes com os quais pude contar durante o desenvolvimento do trabalho e pelos ensinamentos.

Ao CEFET-MG por disponibilizar toda estrutura física e laboratórios bem equipados para melhor qualidade do trabalho desenvolvido.

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”. (Claude Lévi-Strauss)

RESUMO

Câncer é um conjunto de doenças nas quais existe a multiplicação desordenada de células. A quimioterapia está entre os métodos convencionais de tratamento do câncer na qual a Cisplatina é um dos fármacos que possuem alvo terapêutico no DNA. Um dos métodos que está sendo utilizado para o tratamento do câncer é o sistema de liberação controlada de fármacos que apresenta biomateriais como agentes facilitadores. A quitosana, por possuir grupamentos que podem sofrer modificações, apresenta boa escolha para a liberação controlada de fármacos. Uma alternativa para melhorar as propriedades mecânicas e de degradação química da quitosana é o PVA (Poli álcool vinílico). O objetivo desse trabalho é desenvolver blenda polimérica à base de quitosana e PVA, para utilização potencial como biomaterial para liberação controlada de cisplatina. Para a produção das esferas de quitosana/PVA foi feita a dissolução de quitosana em ácido acético. As esferas ficaram imersas na solução e depois foram lavadas em água destilada. Houve adsorção da Cisplatina nas esferas de quitosana/PVA em autoclave. As esferas de quitosana/PVA foram caracterizadas por FTIR e microscopia eletrônica de varredura. A avaliação da adsorção da Cisplatina em Quitosana/PVA foi realizada por ensaios Microscopia Eletrônica de Varredura, FTIR e UV-visível. Observa-se o tamanho das microesferas de Quitosana/PVA através da realização do MEV e a presença de superfície regular com pouca porosidade, compatíveis com microesferas de quitosana reticuladas com PVA. Pode-se concluir que o complexo Quitosana/PVA apresenta comportamento de veículo para liberação de fármaco.

Palavras chave: Câncer, Cisplatina, Quitosana, PVA

ABSTRACT

Cancer is a group of diseases in which there is uncontrolled cell proliferation. Chemotherapy is one of the conventional methods of cancer treatment in which cisplatin is one of the drugs having therapeutic target DNA. One of methods being used for the treatment of cancer is controlled drug release system which has biomaterials as facilitating agents. Chitosan, by having groups which can undergo modifications, shows good choice for the controlled release of drugs. An alternative to improve the mechanical and chemical degradation of chitosan properties is PVA (poly vinyl alcohol). The aim of this work is to develop polymer blends based on chitosan and PVA, for potential use as biomaterials for controlled release of cisplatin. For the production of spheres chitosan / PVA was made dissolving chitosan in acetic acid. The beads were immersed in the solution and then washed with distilled water. There was adsorption of Cisplatin in the spheres of chitosan / PVA in an autoclave. Spheres of chitosan / PVA were characterized by FTIR and scanning electron microscopy. The evaluation of adsorption of Cisplatin on Chitosan / PVA was performed by testing scanning electron microscopy, FTIR and UV-visible. The size of the microspheres Chitosan / PVA observed the presence of smooth surface with low porosity, compatible with Chitosan microspheres crosslinked PVA. It can be concluded that the complex chitosan / PVA presents the vehicle behavior for drug delivery.

Keywords: Cancer, Cisplatin, Chitosan, PVA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da Cisplatina	18
Figura 2 – Diferença nas estruturas da Celulose e da Quitina	25
Figura 3 – Estrutura química Quitosana	26
Figura 4 – Curva Termogravimétrica	39
Figura 5 – Fluxograma das Etapas do Experimento	42
Figura 6 – (A) Esferas de Quitosana/PVA, (B) Esferas de Quitosana/PVA/Cisplatina antes da secagem	46
Figura 7 – (A) Esferas de Quitosana/PVA, (B) Esferas de Quitosana/PVA/Cisplatina antes da secagem	46
Figura 8 – Imagem de MEV de microesferas de Quitosana/PVA (a) 40x; (b) detalhe destacado em “a” 400x; (c) detalhe de “b” 1800x; (d) detalhe destacado em “c” 4000x.	47
Figura 9 – Imagem de MEV de microesferas de Quitosana/PVA/ Cisplatina (a) 40x; (b) detalhe destacado em “a” 400x; (c) detalhe de “b” 1800x; (d) detalhe destacado em “c” 4000x.	48
Figura 10- Difratoograma da Quitosana	49
Figura 11 - Difratoograma do PVA	50
Figura 12- Difratoograma Quitosana/PVA	51
Figura 13 - Espectro FTIR da Quitosana.....	52
Figura 14- Espectro FTIR da PVA.....	53
Figura 15- Espectro FTIR da Cisplatina	54
Figura 16 - Espectro FTIR Quitosana/PVA	55
Figura 17- Espectro FTIR Quitosana/PVA/Cisplatina.....	56
Figura 18- (a) Espectro FTIR Quitosana/PVA (b) Espectro FTIR Quitosana/PVA/Cisplatina	57
Figura 19 - Curva TG da Quitosana em atmosfera de N ₂	58
Figura 20 - Curva TG do PVA em atmosfera de N ₂	60
Figura 21 – Espectro de Raio-X da Energia Dispersiva da cisplatina nas esferas de quitosana/PVA/Cisplatina	62
Figura 22 – Espectro uv-visível da Cisplatina a 0,1% m/v.....	64
Figura 23 – Espectro UV-Visível de liberação da Cisplatina em pH 7,0 em 30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas.....	65
Figura 24 – Espectro de concentração X tempo em pH 7,0.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Influência da MM e do GH nas propriedades do PVA	34
Tabela 2 - Grupos Químicos da Quitosana	52
Tabela 3 - Grupos químicos do PVA	54
Tabela 4 - Grupos químicos do PVA	55
Tabela 5 - Perda de massa da Quitosana em função dos estágios térmicos.....	59
Tabela 6 - Perda de massa do PVA em função dos estágios térmicos.....	61
Tabela 7 – Resultado quantitativo da Fluorescência de Raio-x por Energia Dispersiva	63

LISTA DE ABREVIATURAS

A – Absorbância;
AA – Área Amorfa;
AC – Área Cristalina;
°C – Graus Celsius;
CG – Grau de Cristalinidade;
Cl – Cloro;
DNA – Ácido Desoxirribonucleico;
DRX – Difração de raios X; Difractometria de Raio – X;
EDX – Raio –x por Energia Dispersiva;
FTIR - *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho;
GD – Grau de Desacetilação;
GH – Grau de Hidrólise;
GP – Grau de Polimerização;
GSH – Glutathione;
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura;
MM – Massa Molar;
NaOH – Hidróxido de Sódio;
Pe – Ponto de Ebulição;
Pf – Ponto de Fusão;
Pt – Platina;
PVA – Poli álcool vinílico;
PVAc – Poli acetato vinílico;
RNA – Ácido Ribonucleico;
Tab – Tabela;
TG – *Termogravimetric Analysis* – Análise Termogravimétrica; Termogravimetria;
UV-VIS – Espectroscopia na região ultravioleta – visível.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	14
3. OBJETIVOS DO PROJETO	15
3.1 Objetivo Geral	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4. REVISÃO DA LITERATURA	16
4.1 O Câncer	16
4.2 A Quimioterapia e a Radioterapia	17
4.2.2 Cisplatina.....	18
4.3 Liberação controlada de fármacos	20
4.4 Biomateriais.....	22
4.4.1 Quitina	23
4.4.1.1 Aspectos gerais	24
4.4.1.2 Histórico	25
4.4.2 Quitosana	26
4.4.1.4 Características	27
4.4.1.5 Propriedades	27
4.4.1.6 Esferas de quitosana.....	28
4.4.1.7 Aplicações	29
4.4.1.8 Aplicações na liberação controlada de fármacos	30
4.5 Poli(Álcool Vinílico) - PVA	31
4.5.1 Aspectos Gerais	31
4.5.2 Grau de hidrólise	31
4.5.3 Obtenção.....	32
4.5.4 Características	32
4.5.5 Propriedades	33
4.5.6 Aplicação.....	34
4.5.7 Aplicação em liberação controlada de fármacos	35
4.6 Blendas de quitosana e PVA.....	35
4.7 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	36
4.7.1 Difração de Raio-x.....	36
4.7.2 Espectroscopia Região Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)....	37
4.7.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta	38
4.7.4 Análise termogravimétrica	38
4.7.5 Microscopia Eletrônica de Varredura	40
4.7.6 Fluorescência de Raio-x.....	40
4.7.7 Espectroscopia de Energia Dispersiva por Raio-X (EDX)	41
5. METODOLOGIA.....	42
5.1 Desenvolvimento Experimental	42
5.2 Matérias Primas	42
5.3 Etapa 1 – Caracterização das Matérias Primas	43
5.4 Etapa 2 – Obtenção das esferas de quitosana/PVA	44
5.5 Etapa 3 – Adsorção de Cisplatina	44
5.6 Etapa 4 – Caracterização das esferas de quitosana/PVA.....	45
5.7 Etapa 5 – Estudo da Liberação	45
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
6.1 Obtenção das Esferas de Quitosana/PVA e Quitosana/PVA/Cisplatina	46

6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	46
6.1 Difração de raio-x	49
6.1.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	51
6.1.2.1 Quitosana	51
6.1.2.2 PVA	53
6.1.2.3 Cisplatina.....	54
6.1.2.4 Caracterização esferas poliméricas Quitosana/PVA e Quitosana/PVA/Cisplatina	55
6.1.3 – Termogravimetria	58
6.1.3.1 – Análise TG da Quitosana	58
6.1.3.2 – Análise TG do PVA.....	59
6.1.4 Raio –X da Energia Dispersiva (EDX)	62
6.1.5 – Fluorescência de Raio –X	63
SUMÁRIO DE RESULTADOS	67
CONCLUSÃO.....	68
TRABALHOS FUTUROS	69
REFERÊNCIAS.....	70

1. INTRODUÇÃO

O câncer é a segunda doença não-transmissível mais prevalente que acomete o ser humano, perdendo apenas para a cardiopatia isquêmica. Dentre os tratamentos convencionais utilizados contra a doença, citam-se: as incisões cirúrgicas que são as modalidades terapêuticas mais antigas, a quimioterapia que se utiliza de drogas citotóxicas e a terapia com radiação que apresenta grande eficácia no controle de diversos tipos de tumores malignos (VYAS et al, 2010). Os terríveis efeitos colaterais e adversos causados nos pacientes, assim como a qualidade de vida destes têm sido o grande alvo e desafio de médicos cientistas. Em vários casos é necessário que se combine mais de uma modalidade de terapia para que se consiga combater o câncer (BELIZÁRIO, 2002).

Os agentes antineoplásicos para o tratamento do câncer incluem os alquilantes polifuncionais, os antimetabólitos, os antibióticos antitumorais, os inibidores mitóticos e outros. (BRASIL, 2014).

A Cisplatina é agente antineoplásico da família dos alquilantes que são compostos capazes de substituir em outra molécula o átomo de hidrogênio pelo radical alquil. Eles se ligam ao DNA impedindo a separação dos dois filamentos na dupla hélice, impedindo assim a replicação. Os alquilantes afetam as células em todas as fases do ciclo celular de modo inespecífico (BRASIL, 2014).

Biomateriais são materiais que possuem características adequadas para a substituição total ou parcial de tecidos presentes no corpo (SINHORETI, VITTI e CORRER-SOBRINHO, 2013). O material escolhido para ser usado como biomaterial deve possuir alguns requisitos como bioatividade, não possuir efeito carcinogênico, não provocar reações alérgicas e possuir biocompatibilidade (PEREIRA, VASCONCELOS e OREFICE, 1999). Um dos materiais utilizados para esse fim é o biopolímero quitosana. A quitosana possui características atóxicas além de ser biodegradável e biocompatível sendo obtida a partir de fonte natural renovável. (AZEVEDO, 2007). É o principal derivado da quitina de custo relativamente baixo. A quitina é um polissacarídeo que pode ser extraído do exoesqueleto de crustáceos, ou seja, presente de forma abundante na natureza. A quitosana possui propriedades químicas e biológicas distintas, devido aos seus grupos químicos amino e hidroxila que podem sofrer modificações (COSTA JUNIOR, 2008). Essas modificações

podem conferir propriedades funcionais presentes no próprio polímero (GONÇALVES, 2011).

As aplicações da quitosana como biomaterial, têm crescido muito nos últimos anos, um dos seus usos é no sistema de liberação controlada de fármacos (BEZERRA, 2011). O grau de desacetilação é uma característica importante da quitosana, já que ele determina o conteúdo de grupos amínicos livres no polissacarídeo diferenciando-o da quitina e influenciando principalmente a sua solubilidade. A quitosana tem grupos amino e hidroxila reativos capazes de serem submetidos a modificações químicas. Essas modificações acontecem em meios aquosos ácidos de $\text{pH} < 6,5$ possui alta carga positiva sobre os grupos $-\text{NH}_3^+$. Já em ácidos diluídos ($\text{pH} < 5,5$) os grupos aminos livres são protonados e as moléculas se tornam solúveis (JIANG et al, 2014).

Estes sistemas de liberação utilizam os biomateriais como agentes facilitadores na entrega de fármacos, capazes de proporcionar taxas de liberação controlada e prolongada, de maneira a se obter resposta ótima com o mínimo de efeitos colaterais (BEZERRA, 2011). A quitosana, por possuir grupamentos que podem sofrer modificações é uma alternativa de escolha para a liberação controlada de fármacos no meio gastrointestinal, mucosa oral, canais radiculares, entre outros (SPIN-NETO, 2008).

Na administração por via oral, a quitosana apresenta a vantagem de não ser absorvida pelo organismo. Esta também apresenta propriedade muco adesiva, favorecendo sua utilização para promover o transporte de fármacos através da mucosa, tanto no estômago, como no intestino (SPIN-NETO, 2008).

Para melhorar as propriedades mecânicas da quitosana usa-se hidrogeis poliméricos sintéticos como o poli(álcool vinílico) (PVA) . O hidrogel de PVA possui como características: transparência, consistência macia, quando na forma de membrana, e apresenta alta resistência química sendo compatível e biodegradável (COSTA JUNIOR, 2008). A aplicação do gel de quitosana pode promover a longa permanência de fármacos no organismo, sendo enviados para os tecidos aos quais foram designados, aliados à alta eficácia e aceitabilidade (SPIN-NETO, 2008). O grau de hidrólise do PVA reduz a solubilidade deste na água estabilizando energeticamente as cadeias devido às ligações de hidrogênio aumentando assim, a adesão em superfícies hidrofílicas, a viscosidade e a resistência à tração. A massa

molar desse material em até 30kg/mol não apresenta toxicidade (COSTA JUNIOR, 2008).

2. JUSTIFICATIVA

Baseado em dados epidemiológicos, sabe-se que o câncer é doença multifatorial e também considerada com alta taxa de mortalidade e morbidade que leva a óbito mais de seis milhões de pessoas, isso representa 12% de todas as causas de morte do mundo e faz com que o câncer esteja entre um dos principais problemas de saúde pública mundial.

A busca por modalidades de tratamento cada vez mais específicas e com menos efeitos colaterais tem sido alvo de muitas pesquisas. Vários estudos revelam que a quitosana possui a propriedade de agente de liberação controlada.

Com o intuito de criar mais uma alternativa no tratamento do câncer justifica-se avaliar o comportamento da quitosana para o controle da liberação de Cisplatina que é um quimioterápico com elevada toxicidade.

3. OBJETIVOS DO PROJETO

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver estrutura polimérica à base de quitosana e PVA poli (álcool vinílico), para utilização potencial como biomaterial para incorporação da cisplatina.

3.2 Objetivos Específicos

1 – Caracterizar a quitosana e o PVA por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Difractometria de Raio-X (DRX) e Termogravimetria;

2 – Caracterizar a Cisplatina pelas técnicas de FTIR e UV-visível;

3 – Promover a reticulação física da quitosana e do PVA através da mistura dos polímeros na proporção de 75/25% em massa;

4 – Produzir esferas de quitosana/PVA pela técnica de geleificação;

5 – Verificar a compatibilidade do sistema quitosana/PVA com a cisplatina;

6 – Caracterizar os materiais obtidos através das técnicas de FTIR, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), DRX, Raio-X de Energia Dispersiva (EDX) e Fluorescência de Raio-X;

7 – Avaliar o perfil de liberação do fármaco em pH (7,00±0,05).

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 O Câncer

O câncer é considerado doença de alta complexidade com crescimento desordenado de células que possui vários subtipos e pode afetar de diferentes maneiras, os mais diversos tecidos do organismo (DALIKIC, 2010). As células neoplásicas conseguem crescer mesmo sem os fatores de crescimento tornando-se indiferenciadas de forma descontrolada, o que determina a formação de tumores malignos além disso, a doença pode-se espalhar por outras regiões do corpo, causando metástase (DALIKIC, 2010).

A diferença entre tumor benigno e maligno está na capacidade deste último em invadir outros tecidos e formar novos tumores. Assim, as células quando se tornam malignas adquirem características metabólicas e biológicas como: proliferação descontrolada, capacidade de imortalização da célula, devido à ativação da telomerase, perda da função e capacidade de especialização e capacidade em induzir metástases (BELIZÁRIO, 2002).

As causas de câncer podem ser externas como fatores ambientais, hábitos e costumes que estão presentes na sociedade, até fatores genéticos que produzem mutações no DNA e transmissão de informações aos genes tumorais. Quando estes genes são traduzidos, formam proteínas com perda ou ganho de função biológica (BELIZÁRIO, 2002).

Dados dos anos de 2010 e 2011 apresentam 489.270 novos casos de câncer no Brasil, sendo a distribuição destes novos casos de forma heterogênea entre os Estados e capitais do país. As maiores taxas estão concentradas nas regiões Sul e Sudeste, já nas regiões Norte e Nordeste concentram-se as menores taxas. Na região Centro-Oeste as taxas estão dentro do padrão intermediário de ocorrência. Esse cenário evidencia que a continuidade em investimentos de ações que sejam abrangentes ao controle do câncer nos mais diferentes patamares de atuação, como: promoção da saúde, formação de recursos humanos, detecção precoce, assistência aos pacientes, são de extrema necessidade (DALIKIC, 2010).

4.2 A Quimioterapia e a Radioterapia

A quimioterapia e a radioterapia estão entre os métodos convencionais de tratamento contra o câncer que induzem as células neoplásicas, geralmente, à apoptose com condensação e fragmentação nuclear. Por meio desses métodos de tratamento, a sobrevivência de muitos pacientes diagnosticados com neoplasias pode ser estendida (SAFDIE, 2009).

O maior obstáculo dos antitumorais consiste em atingir somente as células tumorais, sem trazer efeitos colaterais ao paciente (LEE e WONG, 2011). Portanto, os efeitos colaterais causados às células normais e tecidos devido à alta toxicidade das drogas, limitam-se à densidade e à intensidade da dosagem do quimioterápico administrado, o que muitas vezes acaba comprometendo a eficácia do tratamento. As drogas podem provocar cardiotoxicidade e nefrotoxicidade, restringindo a atuação do seu completo potencial terapêutico (SAFDIE, 2009).

Muitas das drogas quimioterápicas, como Taxol, Cisplatina, Anfotericina, e Ramycin provocam nos pacientes em tratamento, notáveis efeitos colaterais imunossupressores, paralisia, dor de cabeça, falta de apetite, dores abdominais, queda de pêlos, elevação da temperatura corpórea, xerostomia, vômitos, náuseas, diarreia (LIU, ZHANG e YAN, 2011). Além de possuírem propriedades citotóxicas diretas ao ataque às células tumorais, a irradiação medeia muitos efeitos em células e tecidos, algumas das quais podem estimular resposta imunológica (APETOH et al, 2008).

A radioterapia utiliza-se da radiação ionizante para o tratamento dos mais diversos tipos de câncer como forma curativa, paliativa e profilática. Uma vez que as células cancerosas possuem natureza indiferenciada e se reproduzem com rapidez, há diminuição na capacidade de reparação da quebra do DNA. A radioterapia, por sua vez, acumula prejuízos às células neoplásicas, fazendo com que essas se reproduzam mais lentamente, o que leva a contração ou total destruição do tumor (PRAETORIOUS e MANDAL, 2007).

As vias de administração predominantes de antineoplásicos na quimioterapia é a endovenosa que por sua vez, possui progresso de desenvolvimento limitado e que muitas vezes não direciona o medicamento especificamente às células tumorais

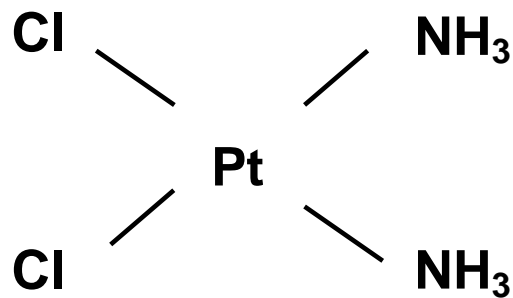
(HUGHES, 2004). Para que terapias com DNA e RNA obtenham sucesso é necessária a inovação da técnica de administração.

Para o sucesso do tratamento do câncer é necessário que a concentração do quimioterápico/radioterápico seja apenas o suficiente para atuar efetivamente nas células neoplásicas de forma que possa haver a redução na toxicidade indesejada, melhorando assim, a qualidade de vida do paciente (SAFDIE, 2009) (PRAETORIOUS e MANDAL, 2007).

4.2.2 Cisplatina

A Cisplatina é um fármaco antineoplásico alquilante que possui átomo central de platina com dois átomos de cloro e dois grupos amônia como apresentado na figura 1. Sua descoberta na década de 60 resultou em importante avanço medicinal no que se refere ao combate ao câncer, como o de mama, pulmão, cabeça e pescoço, ovário e testículo (BRASIL, 2014; SIDDIK, 2003).

Figura 1 – Estrutura química da Cisplatina



Adaptado: FORTES et al, 2006.

Cisplatina é complexo inorgânico neutro planar que reage com o DNA para induzir os seus efeitos biológicos que culminam em qualquer reparação de danos no material genético e a sobrevivência celular ou a ativação do programa apoptótico irreversível. No entanto, para que ocorra interação com o DNA, a cisplatina neutra tem que ser ativada através de uma série de reações espontâneas, as quais envolvem a substituição sequencial dos cis-cloros ligados a cisplatina com

moléculas de água (FORTES, 2006). Essa forma ativa da Cisplatina é reconhecida como espécie altamente reativa, mas a sua formação é limitante a taxa de interação com diversos nucleófilos endógenos, tais como a glutatona (GSH), metionina, metalotioneína, e proteína. Assim, quando a cisplatina entra nas células, ocorre a inativação citoplasmática por estes e outros componentes intracelulares (SIDDIK, 2003).

O fármaco possui alvo terapêutico no DNA, sendo capaz de se intercalar com este formando ligações cruzadas com os filamentos de purina inibindo assim, a replicação e transcrição do material genético da célula, esse mecanismo é capaz de levar à quebras, erros de codificação e apoptose (RANDON, 2006) (FORTES, 2006).

Em função da síntese de compostos com estruturas análogas à da Cisplatina e sua utilização em testes biológicos, algumas características gerais entre estrutura e atividade têm sido delineadas (FONTES, ALMEIDA e NADER, 1996).

Essas características são descritas a seguir:

(a) Os complexos de cisplatina devem ter configuração cis, ou seja, apresentar dois grupos com configuração relativa cis, já que os correspondentes isômeros trans são considerados inativos;

(b) Os complexos devem ser eletricamente neutros, embora a forma ativa possa ser carregada, após a troca de ligantes no meio biológico;

(c) Os ligantes que não são trocados devem ser aminas relativamente inertes, preferencialmente com um átomo de hidrogênio no grupo diretamente ligado à platina, ou o NH_3 ; (FONTES, ALMEIDA e NADER, 1996).

A cisplatina possui espectro de absorção no ultravioleta na faixa entre 230nm a 350nm, para solução amostra a 0,1% (p/v) em água ela exibe máximo em 300nm. Seu pH está entre faixa entre 3,5 a 6,5, contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$ em sua solução injetável (BRASIL, 2010).

Pacientes em tratamento com Cisplatina devem ser cuidadosamente observados quanto a possíveis reações do tipo anafiláticas. Equipamentos e terapia de suporte devem estar disponíveis, caso ocorram estas reações. Antes e após cada tratamento, devem ser efetuados os seguintes exames laboratoriais: Ureia, creatinina sérica e clearance de creatinina (NEVES e VARGAS, 2011; BRASIL, 2010; FADULCISPLA, 2014).

Apesar da alta eficácia da cisplatina, efeitos colaterais, como nefrotoxicidade e neurotoxicidade, além de resistência adquirida à droga após determinado tempo de administração, representam sua limitação à utilização. Muitos fatores têm sido atribuídos à resistência adquirida à cisplatina, entre eles a desativação do fármaco por proteínas e peptídeos contendo enxofre no plasma, ocorrência de reparo no DNA, diminuição do acúmulo na célula e aumento do efluxo (NEVES e VARGAS, 2011, p.200).

Além da neurotoxicidade e nefrotoxicidade foram relatados casos de ototoxicidade (dano ao sistema coclear), como zumbido no ouvido e diminuição da acuidade auditiva. A perda auditiva pode ser uni ou bilateral, reversível ou não. As náuseas e vômitos são provocados em quase todos os pacientes, que começam geralmente entre 1 a 4 horas após o tratamento, podendo persistir por mais de uma semana, outras reações observadas são: diarreia, anorexia, soluços, alopecia, astenia e mal estar (FADULCISPLA, 2014).

Devido aos efeitos colaterais da Cisplatina inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas para propor novos meios de administração desse fármaco de modo a tornar esse medicamento mais biodisponível e menos tóxico fazendo com que o tratamento do câncer seja mais eficiente.

4.3 Liberação controlada de fármacos

Os problemas mais comuns que os fármacos apresentam são sua rápida metabolização no organismo, os efeitos tóxicos decorrentes de sua baixa solubilidade plasmática e/ou sua ação indiscriminada sobre células sadias (PRAETORIOUS e MANDAL, 2007). O fármaco potencialmente ativo deve permanecer na circulação o tempo necessário para apresentar efeito terapêutico,

dentro de uma faixa segura de alta eficácia, combinada à baixa toxicidade e um mínimo de doses repetitivas (VYAS et al, 2010).

Um dos métodos alternativo, interessante no tratamento do câncer é o sistema de liberação controlada de fármacos que consiste em carrear pequenas doses de agentes farmacológicos de forma efetiva e controlar a distribuição desse medicamento dentro do corpo. O uso de sistemas de liberação controlada é hoje tecnologia muito importante na terapia de diagnóstico e tratamento de câncer, pois fornece melhor penetração do medicamento dentro do corpo com reduzindo risco quando comparado à terapia convencional. A distribuição mais eficiente do fármaco usando liberação de forma controlada baseia-se em parâmetros como o tamanho relativamente pequeno da substância que resulta num tempo mais longo de circulação do medicamento, uma vez que essas substâncias possuem propriedades vantajosas como a solubilidade e a biocompatibilidade aumentadas (JAIN, 2005).

Essa área tem despertado muito interesse nos pesquisadores por estar potencialmente revolucionando a entrega de drogas às células-alvo, de forma a preservar as células saudáveis e diminuindo os efeitos colaterais dos fármacos (BERGMAN, 2008). Os principais sistemas de carreamento de drogas são: lipossomas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, ciclodextrinas, dendrímeros, estruturas de silício, estruturas de carbono, estruturas de metal, estruturas magnéticas, nanoestruturas de ácidos nucleicos, nanoporos, fulerenos e nanotubos (BERGMAN, 2008; SURENDIRAN et al, 2009; HUGUES, 2004).

Hughes (2005) complementa a ideia em que a eficiência na distribuição da droga nas diversas partes do corpo está diretamente relacionada ao tamanho da partícula em que a droga está encapsulada, assim como a habilidade dos carreadores em direcionar o fármaco às células-alvos sem afetar os tecidos saudáveis, o que não se percebe no tratamento convencional.

O sistema de carreamento de drogas para células tumorais tem vasta gama de estratégias disponíveis para a liberação controlada do fármaco (JAIN, 2010). Segundo Kim e Nie (2005), para o direcionamento das drogas de forma específica, deve-se levar em consideração as diferenças entre células cancerosas e células normais que incluem: a proliferação descontrolada, insensibilidade à regulação do crescimento e os sinais anticrescimento como inibidores farmacológicos da apoptose, angiogênese e metástase podem ser muito exploradas. Enquanto Lyra e colaboradores (2007) demonstram que se devem observar algumas características

dos fármacos, relativas à absorção: se é feita de maneira uniforme no trato gastrointestinal; se é em doses pequenas; se há existência de margem de segurança relativamente larga; se podem ser utilizados no tratamento de doenças crônicas ao invés de agudas e as velocidades médias de absorção e excreção.

Outras pesquisas apresentam resultados sobre o sistema de carreamento de drogas comparando entre os diversos tipos de materiais que podem compor o carreador (BERGMAN, 2008; YANG, PENG e WANG, 2009; COELHO, FERREIRA e ALVES, 2009; ALLEN e CULLIS, 2004). Ainda mostram o uso de vários tipos de carreadores que podem ser utilizadas simultaneamente formando carreadores conjugados e dessa forma causar efeito mais eficaz sobre as células neoplásicas, melhorando a cinética, biodistribuição e liberação do fármaco (CHRAI, MURARI e AHMAD, 2002; ZHANG, YANG e GU, 2011; KHEMTONG, KESSINGER e GAO, 2009; PATRA, BHATTACHARYA e MUKHOPADHYAY, 2010).

Assim, os sistemas de liberação controlada de fármacos apresentam várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais: maior controle da liberação do princípio ativo, diminuindo o aparecimento de doses tóxicas e subterapêuticas; utilização de menor quantidade do princípio ativo, resultando em menor custo; maior intervalo de administração; melhor aceitação do tratamento pelo paciente; possibilidade de direcionamento do princípio ativo para seu alvo específico (BERGMANN, 2008).

4.4 Biomateriais

Os biomateriais podem ser entendidos como materiais utilizados como dispositivos que substituem parte ou função do corpo humano e que entram em contato com tecidos vivos e devem ser seguros, econômicos e fisiologicamente aceitável (OLIVEIRA, 2015). Os biomateriais se dividem em três principais subclasses: cerâmicos, metálicos, poliméricos e compósitos (LOURENÇO, 2015).

A interação dos tecidos vivos com o biomaterial e a resposta do organismo à presença do material é um ponto desafiador no desenvolvimento de biomateriais onde estes devem desempenhar sua função com resposta adequada do hospedeiro (RATNER et al, 2004).

A escolha do material para ser usado como biomaterial passa pela análise de diversos requisitos como o efeito do ambiente orgânico no material (corrosão, forma

e tipo de degradação) e o efeito do material no organismo (PEREIRA, VASCONCELOS e ORÉFICE, 1999).

Como há contato com os fluidos, é essencial que o material apresente biocompatibilidade, ou seja, não produza resposta biológica adversa, não induza efeito sistêmico, não seja tóxico, carcinogênico, antigênico ou mutagênico (MORAIS, GUIMARÃES e ELIAS, 2007; PIRES, BIERHALZ e MORAES, 2015).

A biocompatibilidade pode ser entendida como a capacidade de determinado material desempenhar a função esperada sem produzir efeito indesejado local ou sistêmico e de gerar resposta tecidual ou celular benéfica e apropriada (OLIVEIRA, 2015).

Os biomateriais implantáveis podem ser classificados em quatro categorias de acordo com o tipo de reação que acarretam nas células as quais entram em contato, a saber: biotolerantes, não tóxicos inertes (bioinertes), bioativos e não tóxicos degradáveis (bioreabsorvíveis). Os tóxicos são aqueles que resultam na morte das células que circundam o implante se tornam biotolerantes devido a camada de tecido mole ao longo da interface que evita seu contato direto com os tecidos circundantes, já os não tóxicos ou bioinertes causam a formação de tecido fibroso em torno do implante. Biomateriais bioativos são aqueles reconhecidos biologicamente por apresentarem em sua constituição fatores de adesão, sítios polianiônicos similares aos de polissacarídeos regulatórios ou sítios para a clivagem enzimática envolvidos na migração celular. Por fim, os biomateriais classificados como não tóxicos e degradáveis chamados de bioreabsorvíveis, possibilitam que as células saudáveis circundantes ou nele presentes cresçam e substituam a matriz que constitui o biomaterial (ORÉFICE, PEREIRA e MANSUR, 2006; PIRES, BIERHALZ e MORAES, 2015).

Biomateriais naturais apresentam vantagem em relação a outros materiais já que possuem reconhecimento biológico favorável pelo receptor e pela presença de moléculas estruturais e funcionais como é o caso da quitosana (OLIVEIRA, 2015).

4.4.1 Quitina

4.4.1.1 Aspectos gerais

A quitina é biopolímero de abundante ocorrência natural, sendo encontrado no exoesqueleto de crustáceos, em paredes celulares de fungos e de outros materiais biológicos (ARVANITOYANNIS, NAKAYAMA e AIBA, 1998).

As principais fontes para a obtenção de quitina são carapaças de crustáceos que podem variar de 3 a 42%, dependendo da espécie, do seu estado nutricional e do estágio do ciclo reprodutivo na qual a mesma se encontra (SANTOS, CIRILO e NUNES, 2011).

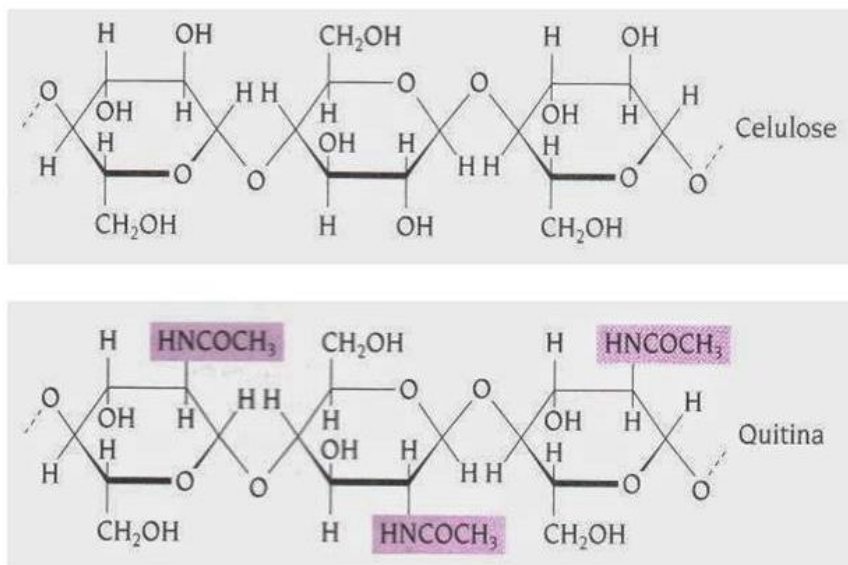
A quitina é semicristalina com as cadeias lameladas paralelas. Nesses domínios cristalinos o arranjo das cadeias nas folhas possui variações. A quitina apresenta três polimorfos, denominadas α , β e γ -quitina, que se diferenciam pela disposição relativa das extremidades redutora e não-redutora das cadeias nas folhas. Essas variações nos domínios cristalinos atribuem às polimorfos diferentes propriedades, devido às possibilidades de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (PAVINATTO, 2009; DIAS, 2013; PANGESTUTI e KIM, 2010).

Esta é um homopolissacarídeo linear constituído exclusivamente por resíduos de N-acetil-D-glucosamina (GlcNac) ligados por ligação glicosídica β (1 \rightarrow 4) como pode ser observado na figura 2 (MELO e CUAMATZI, 2007).

Outro homopolissacarídeo em grande abundância na natureza é a celulose. A quitina se diferencia da celulose (figura 2) em cada grupo OH de carbonos que é substituído por um grupo acetamina. Na celulose a ligação se faz por hidroxila (DALLAN, 2005; MELO e CUAMATZI, 2007).

Esse biopolímero supera a celulose em termos de taxa de reposição, que chega a ser duas vezes maior. A quitina e a celulose além de possuírem características estruturais semelhantes atuam como invólucros protetores e materiais de suporte e defesa nos organismos em que estão presentes (CAMPANA-FILHO et al, 2006).

Figura 2 – Diferença nas estruturas da Celulose e da Quitina



Fonte: Produzido pela autora

4.4.1.2 Histórico

Em torno de 1823, os pesquisadores Odier e Children isolaram a quitina através de múltiplos tratamentos com soluções de hidróxido de potássio concentrado (BERGER, 2013). Entretanto, pode-se presumir que foi isolado quitosana ao invés de quitina, uma vez que, a quitina em meio alcalino concentrado pode sofrer desacetilação.

A quitina foi isolada por Braconnot em 1811 em fungos e denominada fungina (CAMPANA-FILHO et al, 2006). Já em 1823 ela foi isolada em insetos pelo professor Odier e assim foi dado o nome de quitina (SANTOS, 2004). Odier também relacionou a semelhança entre as substâncias presentes nos insetos e nos tecidos vegetais (BERGER, 2013).

A descoberta de quitosana em 1859 por C. Rouget marcou o início de intensa pesquisa sobre esses compostos (CAMPANA-FILHO et al, 2006). Essa denominação foi proposta por Hoppe-Seyler porque a quitosana possui quantidade de nitrogênio igual à quitina original (ROBERTS e DOMSZY, 1992). Atualmente, os usos industriais e em larga escala de quitina ainda são muito menos importantes que os de celulose, mas alguns importantes segmentos do mercado já são ocupados por derivados do polímero, como na indústria cosmética e alimentícia (CAMPANA-FILHO et al, 2006).

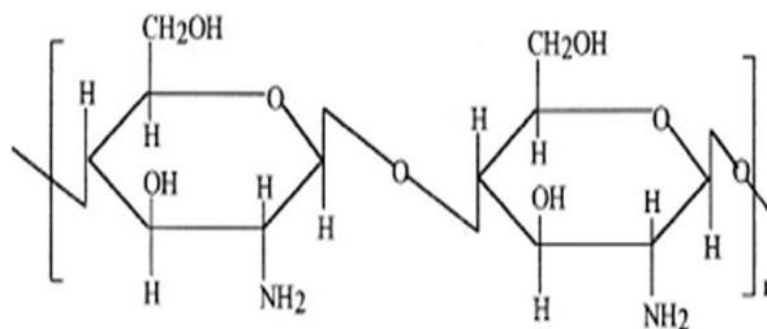
4.4.2 Quitosana

A quitosana (Figura 3) é um biopolímero cujo grau de desacetilação, com distribuição de massa molar e conteúdo de impurezas que dependem das fontes naturais de matéria-prima e dos métodos de preparação (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).

O biopolímero é derivado da quitina por desacetilação na presença de agente alcalino, como pode ser observado na figura 4, e onde o seu grau de desacetilação representa a porcentagem de grupos NH_2 livres, e é geralmente representado como um copolímero de 2-amino-2-desoxi-D-glicose (glicosamina) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose (N-acetilglicosamina). (ARVANITOYANNIS, NAKAYAMA e AIBA, 1998) (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).

A quitosana comercial possui, geralmente, grau de desacetilação (GD) variando de 70 a 95%, com massa molar na faixa de $10^4 - 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$ (CANELLA e GARCIA, 2001).

Figura 3 – Estrutura química Quitosana



Fonte: Produzido pela autora

As propriedades tanto da quitina quanto da quitosana estão relacionados ao GD das mesmas. O conhecimento preciso do teor de grupos N-desacetilados e, conseqüentemente, de grupos NH_2 é importante para caracterizar qualquer processo de desacetilação da quitina (CANELLA e GARCIA, 2001). A solubilidade da quitosana está relacionada assim a quantidade de grupos NH_2 que podem ser protonados em meio ácido (SILVA, 2014).

A quitosana pode ser preparada através de soluções muito concentradas de hidróxido de sódio (NaOH 40- 50%), o que promove a sua degradação. Nesta reação de hidrólise são removidos todos ou somente alguns grupos acetila da quitina, ocorrendo à liberação de grupos amino que ajudam na natureza catiônica da quitosana resultante (DIAS et al, 2013).

4.4.1.4 Características

Entre os vários polímeros renováveis a quitosana é um dos mais importantes em termos de biocompatibilidade (HE et al, 2016). Além dessa, o biopolímero possui características biofarmacêuticas como sensibilidade ao pH, e baixa toxicidade. A quitosana pode ser metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).

Suas estruturas, sejam elas porosas ou densas, exploram a natureza policatiônica desse biopolímero, das quais são normalmente sintetizadas por secagem ou coagulação de soluções aquosas de quitosana levemente acidificadas. A quitosana é composta de grupos aminos que se torna solúvel em meios polares com pH inferior a 6,5 (BEPPU, ARRUDA e SANTANA, 1999; GONSALVES, 2011).

A quitosana se refere a 60% de unidades desacetiladas, enquanto quitina corresponde a produtos muito mais acetilados. Assim, por causa dos diferentes conteúdos de unidades acetiladas, quitina e quitosana possuem diferentes graus de solubilidade, sendo que quitina é insolúvel na maioria dos solventes, enquanto a quitosana é solúvel em soluções aquosas de ácidos orgânicos e inorgânicos (GOY, ASSIS e CAMPANA-FILHO, 2004).

4.4.1.5 Propriedades

Vários fatores determinam as propriedades da quitosana, mas as principais delas são o peso molecular e o grau de desacetilação (RODRIGUES, 2006).

“A determinação de sua massa molecular, que é comumente feito através da viscosimetria (método relativo), sendo este o método mais rápido e simples” (CATÃO, 2012, p. 11).

A quitosana também age como quelante, pois ela pode se ligar seletivamente a substâncias como o colesterol, gorduras, proteínas, células tumorais, e também a íons metálicos, o que tem originado sua exploração em diversas áreas médicas.

Tratamentos são geralmente realizados de modo a tornar a quitosana mais bacteriostática, e para melhorar a sua resistência química e mecânica. Vários trabalhos exploram a modificação de grupos funcionais da quitosana, principalmente composta por grupos amino (BEPPU et al, 2007).

“Essa versatilidade da quitosana permite sua conformação em formas tão variadas, quanto sua aplicabilidade: fibras, glóbulos, membranas, etc” (BEPPU, ARRUDA e SANTANA, 1999, p 163).

A cadeia polimérica da quitosana é do tipo ramificada e para determinadas aplicações ela tem sido reticulada por agentes reticulantes como; ácido sulfúrico, glutaraldeído, tripolifosfato, entre outros. Como a maioria dos polissacarídeos e proteínas, a quitosana é um material termoplástico constituída de cadeias poliméricas individuais que são mantidas por ligações dipolo-dipolo e forças de Van der Waals (SILVA, FIDELES e FOOK, 2015).

O polímero quitosana em sua forma simples está restrito a faixa de pH de neutro e básico, pois nessa faixa a quitosana é insolúvel. A solubilidade da quitosana em meios polares com valores baixos de pH é consequência dos grupos amino protonáveis presentes na cadeia polimérica (CATÃO, 2012).

Com a reticulação as cadeias de quitosana se mostram resistentes a valores de pH baixos, não se solubilizando como mostra CATÃO, 2012. Afim de melhorar a solubilidade desse biopolímero e aumentar a adsorção de outras substâncias no polímero é necessário que os grupos amino permaneçam livres (CATÃO, 2012). Contudo, o aumento no grau de reticulação pode ser prejudicial a capacidade adsortiva do biomaterial, já que as cadeias poliméricas se arranjam em rede tridimensional impossibilitando a acessibilidade a grupos ativos do material e diminuindo sua capacidade de expansão gerando um caráter hidrofóbico (ROBERTS e DOMSZY, 1982).

4.4.1.6 Esferas de quitosana

Quitosana no formato de esferas e microesferas têm sido produzidas e amplamente empregadas em diversas áreas de biotecnologia (GOY, ASSIS e

CAMPANA-FILHO, 2004). SILVA (2014) descreve em seu estudo a adsorção do Etinilestradiol em solução aquosa através de esferas de quitosana, observando o potencial das esferas como adsorvente do hormônio. TORRES, 2013 trabalha com esferas de quitosana para imobilização de enzimas.

Vários sistemas de produção do biopolímero em esferas têm sido também estudados. Diferentes métodos têm sido utilizados para preparar partículas de quitosana dentre elas tem-se: separação de fase, técnica de evaporação/extração de solventes, técnica emulsão *cross-linking*, secagem por pulverização e geleificação ionotrópica (SILVA, FIDELES e FOOK, 2015). O método de coagulação é uma das mais simples e consiste no gotejamento do biopolímero, anteriormente dissolvido em solução ácida, em meio alcalino (CRUZ, VIEIRA e REIS, 2015; SILVA, 2014; SILVA, FIDELES e FOOK, 2015).

A forma esférica é desejada por apresentar vantagens como melhor caracterização superficial, permitindo parâmetros úteis na reprodutibilidade dos processos e comparações, além de otimização do empacotamento em reatores e dispositivo de filtração (GOY, ASSIS e CAMPANA-FILHO, 2004).

^bBarros et al (2006) relata que a produção de esferas de quitosana modificada com 8-hidroxiquinolina e de reticulação das mesmas com epicloridrina permite a obtenção de esferas resistentes à ação de soluções ácidas.

4.4.1.7 Aplicações

Hidrogéis biocompatíveis e biodegradáveis foram estudados usando polímeros naturais que são susceptíveis a degradação enzimática, ou usando polímeros sintéticos que possuem porções hidrolizáveis. Destes, hidrogéis usando a quitosana têm recebido grande quantidade de atenção devido à sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e degradabilidade por enzimas humanas (BHATTARAI, GUN e ZHANG, 2010).

A quitosana tem sido pesquisada em várias aplicações, podendo ser encontrada em várias formas no que se refere ao peso molecular médio e grau de desacetilação (SILVA, FIDELES e FOOK, 2015). Devido as possíveis modificações químicas que o polímero pode sofrer, há otimização de sua utilização em diversas áreas de pesquisa, como na área farmacêutica, medicina, veterinária, odontológica, produção de cosméticos, biotecnologia, engenharia genética, agricultura, indústria

alimentícia, controle de poluição, tratamento da água, manufatura, fotográfica entre outras (CHEBA, 2011).

Membranas de quitosana têm sido explorada em diversos usos, tal como no processo de evaporação de água-etanol, imobilizador enzimático e transporte de espécime catiônico, separação e concentração de proteínas, gradiente de liberação controlada, aplicações ambientais, entre outros (BEPPU, 2007).

Segundo ^bBarros et al (2006) a eficiência de adsorção da quitosana funcionalizada foi testada em estudos de adsorção em batelada com soluções de concentrações conhecidas do íon cádmio e observou aumento da adsorção desses íons em esferas de quitosana.

A quitosana tem grande diversidade de aplicações na área biomédica. Este biopolímero e seus derivados são facilmente moldados em várias formas e podem ser biodegradados pela lisozima. Assim, este biomaterial pode ser candidato muito interessante para uso como sistema de liberação controlada para grande variedade de fármacos (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009).

4.4.1.8 Aplicações na liberação controlada de fármacos

BHATTARAI, GUN e ZHANG (2010) relatam que as propriedades da quitosana a torna uma candidata ideal para a liberação controlada de fármacos. A quitosana tem desempenhado um papel de liderança em avançadas aplicações de biomateriais, incluindo vetores não virais para gene de DNA e entrega de fármacos. Recentemente levantamento das centenas de papeis relacionados a sistemas de distribuição de fármacos através da quitosana tem sido realizado.

A abordagem da utilização do polímero em engenharia para a entrega de fármacos localizados como forma terapêutica mostra grande notoriedade para o tratamento de diversas doenças.

Recentemente, a estimulação ambiental tornou-se uma área de intensa pesquisa para o desenvolvimento de materiais exclusivos, que podem atuar com segurança no interior do corpo contrapondo com a necessidade de cirurgia, liberação de fármacos em sítios locais para prevenir a toxicidade sistêmica e o controle para liberação do fármaco em longo prazo de forma eficaz (TORRES, 2009). A flexibilidade da quitosana como um importante componente de material em tais sistemas de entrega "inteligentes" é garantido por sua biocompatibilidade e

biodegradabilidade *in vivo*. Na verdade, a quitosana tem recebido atenção significativa no desenvolvimento de materiais injetáveis *in situ*, sistemas geleificantes para fins de tratamento de tumores e de regeneração de tecidos e como veículo em sistemas de entrega orais e oftálmicas (BHATTARAI, GUN e ZHANG 2010).

4.5 Poli(Álcool Vinílico) – PVA

4.5.1 Aspectos Gerais

O PVA é um copolímero produzido com a polimerização do acetato de vinila e sua reação de hidrólise em poli(álcool vinílico) (COSTA JUNIOR, E. S., 2008).

O poli(álcool vinílico) (PVA) é resina sintética, solúvel em água e, produzida em maior volume no mundo (CRUZ, CAMPOS e THIM, 2008). O grau de hidrólise fornece a quantidade do poli(acetato de vinila) convertido em poli(álcool vinílico), que pode ser baixa quando entorno de 70% ou alta até 100% (MARAGON, 2008)

O PVA é utilizado principalmente em solução, e é solúvel em solventes altamente polares e hidrófilos. Sua solubilidade depende do grau de hidrólise, grau de polimerização e temperatura da solução. O PVA hidrolisado de forma completa possui elevado número de hidroxilas que formam fortes ligações de hidrogênio entre os grupos de hidroxilas inter e intramoleculares e, impede sua solubilidade em água fria (MACEDO, 2013).

4.5.2 Grau de hidrólise

As propriedades básicas do PVA dependem do grau de polimerização (GP), grau de hidrólise (GH) e massa molar (MM) (ARANHA e LUCAS, 2001). O grau de hidrólise do PVA representa o número inicial dos grupos acetila em relação ao percentual de hidroxilas no copolímero final obtido através da reação de hidrólise, sendo importante na caracterização das propriedades deste polímero (MANSUR et al, 2007). Com o aumento do grau de hidrólise há redução da solubilidade na água, devido às ligações de hidrogênio intra e intercadeias poliméricas, e no aumento da adesão em superfícies hidrofílicas, aumento da viscosidade e da resistência à tração (MANSUR, 2007).

Industrialmente, são produzidos diversos tipos de PVA, possuindo diferentes GH e diferentes GP (GUERRINI et al, 2006).

MORAES et al (2008) em seu estudo percebeu que o grau de hidrólise do PVA afetou a solubilidade, a opacidade, o brilho e a resistência mecânica dos filmes de gelatina, não afetando a cor e nem a temperatura de transição vítrea. Já as propriedades viscoelásticas das soluções formadoras de filmes não foram afetadas pelo GH do PVA.

4.5.3 Obtenção

O PVA foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, pela hidrólise do poli(acetato de vinila), forma de obtenção utilizada também nos dias atuais (ARANHA e LUCAS, 2001).

Já em 1926 o polímero foi produzido em escala industrial com diferentes graus de hidrólise e diferentes propriedades. Nos dias atuais são produzidos tipos de PVA com diferentes graus de hidrólise (GH) e diferentes graus de polimerização (GP) (OLIVEIRA et al, 2013).

4.5.4 Características

O PVA é biocompatível, inofensivos ao organismo, estéril, transparente, e acima de tudo capazes de absorver a água de forma eficiente (STASKO et al, 2009).

Também é solúvel em água, forma filmes transparentes com facilidade, não tem cheiro e nem sabor, atóxico, possui moléculas polihidroxiladas e uma variedade de aplicações industriais (SILVA et al, 2016).

É um polímero semicristalino com boas características interfaciais e mecânicas (ARANHA e LUCAS, 2001). Este tem sido usado no processamento de papel e fibras e como estabilizante de emulsão com grande importância como matéria-prima para filmes.

É um ótimo adesivo, possuindo boa resistência a solventes, óleos e graxas e sua resistência à passagem de oxigênio é superior a de outros polímeros (CHECCHINATO, 2007).

Devido à sua alta solubilidade em água, o PVA deve ser reticulado quimicamente e/ou fisicamente a fim de manter o material estruturalmente estável

após intumescimento em água ou em meio fisiológico (LOURENÇO, 2015). Como mencionado anteriormente, diversos reticulantes como glutaraldeído e formaldeído utilizado como agentes reticulantes possuem restrição para aplicações médicas e farmacêuticas. Esses agentes não são aceitáveis devido à permanência de resíduos tóxicos no material que podem ser posteriormente liberados no paciente gerando efeitos danosos à saúde (LOURENÇO, 2015).

A reticulação física se dá por formação de cristalitos entre as cadeias de polímero. O PVA cristaliza através de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares. Para a cristalização ocorrer, as cadeias devem ter mobilidade suficiente para se alinhar e dobrar formando lamelas (LOURENÇO, 2015).

“Estudos de obtenção de PVA vêm sendo desenvolvidos para controle da cristalinidade e, pela introdução de grupos funcionais, para melhorar ou conferir propriedades específicas” (ARANHA e LUCAS, 2001).

4.5.5 Propriedades

As características importantes do PVA que determinam uma série de propriedades do material obtido são o grau de hidrólise e a massa molar (Tabela 1) que influenciam: a solubilidade, a viscosidade, a resistência mecânica, o poder de dispersão, a adesão em superfícies, a flexibilidade entre outras (ARANHA e LUCAS, 2001; COSTA JUNIOR, 2008).

O PVA possui excelentes propriedades mecânicas, pois proporciona filmes mais resistentes à perfuração e à tração, biocompatibilidade além de ser atóxico. Ele exibe adesão celular mínima e adsorção de proteínas (MORAES, et al, 2009; DON et al, 2006).

Tabela 1 – Influência da MM e do GH nas propriedades do PVA

AUMENTO DA MM	AUMENTO DA GH
Reduz a solubilidade	Reduz a Solubilidade
Aumento da resistência à água	Aumento da resistência à água
Aumento da resistência à aderência	Aumenta a adesão em superfícies hidrofílicas
Aumento da viscosidade	Aumento da viscosidade
Aumento da resistência a tração	Aumento da resistência a tração
Aumento do poder de dispersão	Reduz o poder de dispersão
Reduz a Flexibilidade	Reduz a Flexibilidade
	Aumento da cristalinidade

Fonte: (MANSUR et al, 2007) (COSTA JÚNIOR, 2008).

4.5.6 Aplicação

O PVA como polímero hidrofílico e semicristalino é observado que sua elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade representam importantes vantagens para aplicações médicas (OLIVEIRA, MOURA e OLIVEIRA, 2013).

O PVA é um polímero com boas características interfaciais e mecânicas. Tem sido usado em processamento de papel e fibras e como estabilizante de emulsão sendo importante também como matéria-prima para filmes (ARANHA e LUCAS, 2001).

Nas aplicações médicas o PVA está associado à preparação de géis de fácil secagem em contato com a pele, córnea sintética, engenharia de tecido de cartilagem, hidrogel mucoadesivo para liberação de fármacos (COSTA JUNIOR, 2008).

Lourenço (2015) utilizou membranas de PVA para liberação de Óxido Nítrico e seus resultados indicaram que essas membranas possuem potencial de aplicação na promoção de vasodilatação dérmica local em pacientes com desordens microcirculatórias de pele.

4.5.7 Aplicação em liberação controlada de fármacos

Uma característica de maior relevância das partículas de PVA é o fato de ser possível agregar outros componentes às partículas desse polímero, como fármacos específicos ao tratamento de determinados tumores (BASSO, 2011).

BASSO (2011) relata as análises de citotoxicidade *in vitro* do PVA e PVAc poli (acetato vinílico) demonstraram que as partículas sintetizadas não apresentaram efeito tóxico assim com características necessárias para realização da avaliação *in vivo*, para determinação da biocompatibilidade das partículas.

Nos sistemas de matrizes o fármaco pode estar homogeneamente disperso na matriz polimérica, adsorvido em sua superfície ou dentro de um reservatório. A liberação do fármaco envolve processos físicos e químicos, tais como: penetração de água na matriz, difusão do fármaco pelos poros da matriz, degradação do polímero ou por combinação dos últimos dois mecanismos (LYRA, 2007).

4.6 Blendas de quitosana e PVA

Um dos polímeros amplamente utilizados para ser incorporado ao poli(álcool vinílico), PVA é a quitosana, Os hidrogéis são membranas com elasticidade elevada, assemelhando-se aos tecidos macios do corpo humano (KOYANO, 2000).

Devido à boa atividade biológica da quitosana com o PVA, a combinação destes dois biopolímeros pode possuir efeitos benéficos sobre as características biológicas de materiais compósitos (HE e SHIONG, 2012).

A utilização de sistemas de matrizes constituídos por polímeros é uma das técnicas de liberação controlada mais utilizadas devido às suas vantagens, tais como, versatilidade; eficácia; baixo custo; produção que utiliza equipamentos e técnicas convencionais (LYRA, 2007).

Interações entre os grupos hidroxila do PVA com as aminas e hidroxilas da quitosana ocorrem por ligações de hidrogênio e melhoram as propriedades mecânicas dessa blenda (DON et al, 2006)

As moléculas de PVA e quitosana podem se interpenetrar formando blendas homogêneas (OLIVEIRA, 2015). Os hidrogéis podem ser preparados por reticulação química e física como mencionado anteriormente.

SAMBUDI, KIM e PARK (2016) observaram que fibras de quitosana/PVA carregadas de carbonato de sódio possuem excelentes propriedades como suporte em aplicação de engenharia de tecidos.

A quitosana e o PVA podem ser usados em diferentes concentrações para a formação das blendas. COSTA JUNIOR (2008) em seus resultados observou que a alteração das proporções de Quitosana e PVA, associadas a diferentes concentrações de agente reticulante modificam as propriedades dos filmes de hidrogel no que diz respeito, principalmente, ao intumescimento, degradação, propriedades mecânicas e biológicas.

Assim, pode-se observar que as blendas baseadas em Quitosana/PVA oferecem ampla faixa de escolhas a serem usadas em aplicações biomédicas, tais como, biomaterial, veículo de liberação controlada de drogas, e engenharia de tecido epitelial (COSTA JÚNIOR, 2008).

4.7 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

4.7.1 Difração de Raio-x

Os métodos de difração possuem grande importância para a análise microestrutural, fornecendo informações sobre a natureza, parâmetros do reticulado, tamanho, informações da perfeição e orientação dos cristais (PADILHA e FILHO, 2004).

A técnica de difração de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes nos diversos tipos de materiais. A maior parte dos sólidos (cristais), os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X (ALBERS et al, 2002).

O feixe de raios X ao incidir no cristal interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração. Os elétrons desses átomos são excitados e vibrarão com a frequência do feixe incidente, os quais emitirão raio-x em todas as direções. No caso de átomos regularmente espalhados, como ocorre nos materiais cristalinos, pode ocorrer interferência construtiva em algumas direções e destrutiva em outras com relação à incidência do feixe (ALBERS et al, 2002; VAN VLACK, 2003).

A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg (Equação 1), a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram (ALBERS et al, 2002, OREFICE, PEFEIRA e MANSUR, 2012).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

Onde:

n: número inteiro;

λ : comprimento de onda dos raios X incidentes;

d: distância interplanar;

θ : ângulo de difração.

Dentre as vantagens da técnica de difração de raios X para a caracterização dos materiais, destacam-se a simplicidade e rapidez do método, a confiabilidade dos resultados obtidos (pois o perfil de difração obtido é característico para cada fase cristalina), a partir disso existe a possibilidade de análise de materiais compostos por mistura de fases e análise quantitativa destas fases (ALBERS et al, 2002).

4.7.2 Espectroscopia Região Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética na região do infravermelho com a matéria, ou seja, da energia absorvida por átomos ou moléculas. O número onda de vibrações das moléculas pode ser associado aos grupos químicos característicos presentes e em cada tipo de espectroscopia vibracional (infravermelho e Raman) podem ser identificadas a presença de tais grupos na molécula (HATANAKA, 2015).

A radiação da região do infravermelho (IV) do espectro eletromagnético faz com que os átomos vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações presentes no composto (SILVERSTEIN, 2007).

A absorção da energia no IV pela molécula orgânica ocorrerá em frequências específicas, características dos tipos de ligações e átomos presentes nos grupos funcionais específicos daquela molécula. Essas vibrações são quantizadas e, à medida que elas ocorrem, os compostos absorvem energia no IV em regiões

específicas da parte do espectro do IV (SOUZA et al, 2009; CANELLA e GACIA, 2001).

Os espectros dos compostos consistem numa série de picos e/ou bandas, onde cada frequência vibracional é inerente a cada grupamento químico específico. Assim, a espectroscopia na região do infravermelho tem extensa aplicação na identificação/caracterização dos compostos (SOUZA et al, 2009; CANELLA e GACIA, 2001)

4.7.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta

A espectroscopia na região ultravioleta – visível (UV-Vis) é a técnica analítica que é utilizada para a identificação e determinação quantitativa de espécies moleculares orgânicas e inorgânicas em diferentes tipos moleculares. Ela estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria (BRASIL, 2010).

A espectroscopia UV baseia-se em medidas de absorção da radiação nas regiões visível e ultravioleta do espectro. A determinação do analito é obtido pela quantidade de luz que é absorvida pela amostra (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001; NASCIMENTO, 2010).

Essa absorção ocorre devido à estimulação energética dos elétrons devido à absorção da mesma. (OREFICE, PEREIRA e MANSUR, 2012).

Este ensaio tem como vantagens identificar substâncias, identificar grupos químicos, identificar comprimentos de onda para a dosagem de substâncias.

4.7.4 Análise termogravimétrica

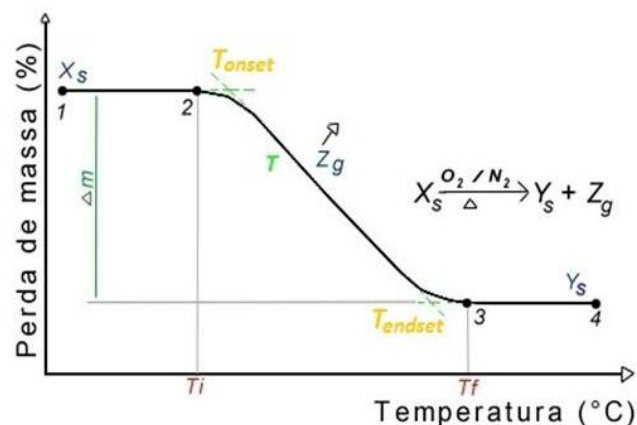
As análises térmicas possuem o objetivo de melhorar os processos de moldagem, transporte e conservação e melhorar as aplicações de determinados compostos e materiais (DENARI e CAVALHEIRO, 2012).

A Termogravimetria (TG) é a técnica na qual a massa da substância é medida em função da temperatura, enquanto esta é submetida a variação controlada da temperatura, baseando-se na variação da massa da referida amostra resultando de transformações físicas como sublimação, evaporação e condensação ou químicas como degradação, decomposição e oxidação (LEIVA, CRNKOVIC e SANTOS, 2006; BARROS et al, 2006).

O instrumento utilizado nesse ensaio termodinâmico é a balança de precisão adaptada ao forno programado no qual a temperatura varie com o tempo. Os resultados são expressos em forma de curva onde se registra a variação da massa em função do tempo ou em função da temperatura (SILVA, 2014).

Os fatores que influenciam o aspecto da curva TG são devidos às características instrumentais e da amostra. Nos fatores instrumentais predominam a razão de aquecimento do forno, atmosfera do forno e geometria do suporte de amostras, já nas características da amostra a influência é devido ao tamanho de partículas, quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação da amostra, natureza da amostra e condutividade térmica da amostra como mostrado na figura 5 (LONASHIRO, 2005).

Figura 4 – Curva Termogravimétrica



Fonte: adaptado de SANTANA, 2009

Pode-se observar:

- X_s é a massa inicial que é estável entre os pontos 1 e 2;
- Y_s a massa final que permanece estável a partir do ponto 3;
- No ponto 2 inicia-se a decomposição térmica de X_s , liberando Z_g .
- No ponto 3 acaba a decomposição térmica de X_s , restando Y_s , termicamente estável.
- A linha T, extrapola a curva de reação, que ao ultrapassar as linhas de base e a linha T, podemos obter os pontos de início e fim do evento térmico.
- Entre os patamares dos pontos 1, 2 e 3, 4 temos a quantidade de massa despreendida da amostra na reação.

4.7.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é utilizada para a análise microestrutural, sendo esta muito importante para entender as correlações microestruturais como defeitos e propriedades e, prever as propriedades do material quando estas estão correlacionadas (DEDAVID, 2007).

Em relação ao microscópio óptico o microscópio eletrônico possui a vantagem de utilizar feixes de elétrons no lugar de fótons o que permite solucionar os problemas de resolução relacionado a fonte de luz branca (PADILHA e FILHO, 2004; DEDAVID, 2007).

Segundo PADILHA e FILHO, 2004 a MEV permite a análise de superfícies irregulares e superfícies de fratura por apresentar excelente profundidade de foco.

Nesse tipo de ensaio, um feixe colimado de elétrons varre a superfície da amostra e, os elétrons espalhados são coletados, gerando um sinal que é amplificado e usado para moldar o brilho de um tubo de raios catódicos que é varrido simultaneamente ao feixe de elétrons. A imagem é gerada ponto a ponto (SANTOS, 2009).

De acordo com MORAIS (2007) a amostra deve estar isenta de água para não interferir na análise morfológica da superfície da amostra, que deve ser preparada à vácuo e revestida com ouro.

4.7.6 Fluorescência de Raio-x

A Fluorescência de Raio-x pode ser classificada como uma técnica de emissão atômica, fundamentada no efeito fotoelétrico. Quando um átomo é submetido ao processo de radiação por fonte de raios-X, um elétron pode ser ejetado das camadas eletrônicas mais internas. Para estabilização desta forma excitada, elétrons das camadas eletrônicas mais externas passam para as vacâncias geradas, liberando a diferença de energia existente entre os dois níveis energéticos envolvidos (PINTO, 2013; FRANÇA, 2014).

Esse processo envolve níveis de energia característicos de cada elemento assim, a radiação emitida para cada transição também é característica. Desta maneira, a energia da radiação emitida pode ser diretamente utilizada na

identificação da espécie em questão. Por outro lado, como a intensidade da radiação emitida é diretamente proporcional à concentração da espécie, a técnica também fornece informações que podem ser utilizadas para fins quantitativos (NAGATA, BUENO e PERALTA-ZAMORA, 2001)

Entre as vantagens da fluorescência de raios X para a análise química de elementos destacam-se: adaptabilidade para automação, análise rápida multi elementar, preparação simplificada da amostra e limite de detectabilidade dentro do exigido por muitas amostras biológicas (FILHO, 1999).

4.7.7 Espectroscopia de Energia Dispersiva por Raio-X (EDX)

A espectrometria de energia dispersiva de raios-X é uma técnica de análise qualitativa e quantitativa baseada na obtenção e estudo do espectro de emissão dos elementos que compõem um material. É um método amplamente utilizado quando se procura caracterizar a composição química e análise elementar de um material. Esta tecnologia de microanálise é bastante eficiente, mesmo quando se possui pequena quantidade de amostra. Os sistemas de EDX podem ser encontrados isolados ou acoplados a microscópios eletrônicos de varredura, sendo este último mais comumente observado (ANDRADE, 2010).

O princípio da energia dispersiva é baseada num detector semiconductor que emite sinal proporcional à energia do fóton de raios-X incidente. Feixes de raios-X atravessam o polímero (boa transparência aos raios-X) e produzem um par de elétrons vazios em um cristal de silício dopado com lítio (CORBARI et al, 2008).

A corrente gerada é inicialmente amplificada, e processada em um sistema eletrônico. Depois de amplificado, o sinal é encaminhado a um analisador, que pode ser visualizado como um banco de dados, onde são acumuladas as contagens correspondentes à energia de cada fóton processado: esta contagem é representativa da proporção de cada elemento presente, e dá origem a um espectro (CORBARI et al, 2008; FRANÇA, 2014).

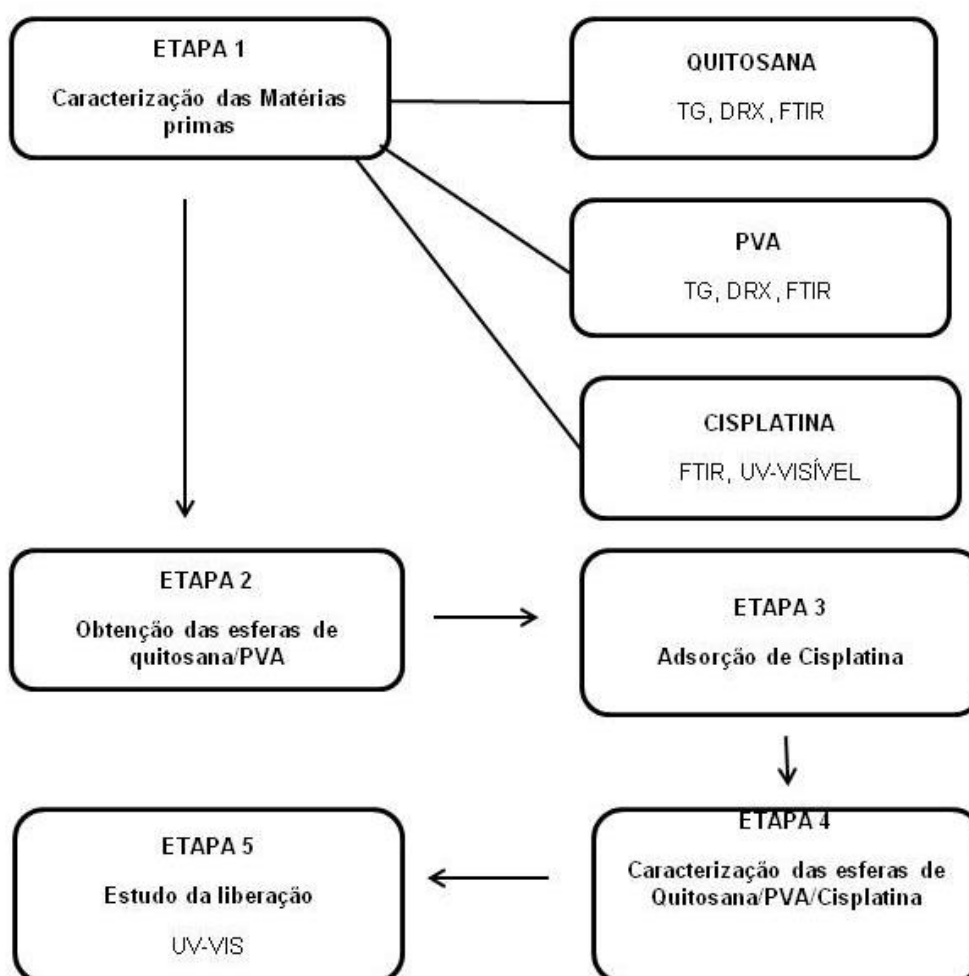
A técnica possui vantagens como: baixos custos de análise, baixo consumo de reagentes e vidraria, gera pouco ou nenhum resíduo além de permitir a montagem de um espectrômetro de baixo custo (SANTOS, et al, 2013).

5. METODOLOGIA

5.1 Desenvolvimento Experimental

A parte experimental foi desenvolvida a partir do fluxograma da Figura 5 em que são apresentadas as etapas dos experimentos e os respectivos ensaios desenvolvidos em cada etapa.

Figura 5 – Fluxograma das Etapas do Experimento



Fonte: Elaborado pela autora

5.2 Matérias Primas

Foi utilizada água destilada no preparo das soluções.

Todos os seguintes reagentes foram utilizados em grau analítico:

- 1- Quitosana em pó de alta massa molar - CAS 9012-76-4, fornecedor Sigma-Aldrich Chemical®, massa molar 340.000g/mol, GD 78%, viscosidade 1218 cP solução 1% em ácido acético 1%, lote MKBD 7240V;
- 2- Poli(álcool vinílico-co-acetato de vinila) PVA (GH=80% e massa molar(MW) de 9.000 a 10.000g.mol⁻¹, Sigma-Aldrich, Cat.#360627);
- 3- Ácido acético glacial - CAS 64-19-7, fornecedor Cinética®, massa molar = 60,04g/mol, lote 17655;
- 4- Hidróxido de sódio – CAS 1310-73-2, fornecedor Vetec®, massa molar 39.99g/mol, lote 1203202 solução tampão pH 4 e pH 7;
- 5- Fadulcispla® (Cisplatina) 50mg, fornecedor LIBBS Farmacêutica Ltda, Lote 14a0852.

5.3 Etapa 1 – Caracterização das Matérias Primas

As matérias primas quitosana e PVA foram caracterizadas pelas técnicas, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy), difração de Raios X (XRD- X Ray Diffraction) e Termogravimetria em atmosfera de N₂.

A matéria prima Cisplatina foi caracterizada pela técnica espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy) e ultravioleta visível.

A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada no modo de transmitância e as medidas foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu, modelo IRPrestige-21, e acessório de ATR. Os espectros foram obtidos com 40 varreduras entre 4000cm⁻¹ e 400cm⁻¹ com resolução de 4cm⁻¹ e intervalos 2cm⁻¹.

O grau de cristalinidade da quitosana em pó e do PVA foi analisado pela técnica de difração de raios-X, em aparelho Shimadzu XRD 7000, no intervalo 5°<2θ<80°, com passo de 0,02° e velocidade de varredura de 2°.min⁻¹. O grau de cristalinidade das amostras (GC) foi estimado pelo cálculo das áreas do difratograma identificadas como fração cristalina (A_C) e fração amorfa (A_A) conforme, utilizando-se a equação 2.

$$GC = \frac{A_C}{(A_C + A_A)} \times 100 \quad (2)$$

A termogravimetria foi realizada com o objetivo de avaliar o comportamento, a estabilidade térmica das matérias-primas e as etapas do processo de degradação das amostras. O aquecimento foi realizado em razão inicial de 5°C/min até 900°C e sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 100mL/min. As medidas termogravimétricas foram efetuadas utilizando-se suporte de amostra de alumina em analisador termográfico DTG-60H, Shimadzu.

Foi realizada a avaliação qualitativa da Cisplatina por espectroscopia na região do ultravioleta – visível (UV-Vis), em um intervalo de 230 a 400nm em adaptação à Farmacopeia Brasileira v.2, 2010. O espectro foi obtido empregando uma solução aquosa com concentração de 1,6mg/L, obtida a partir da solução de Cisplatina. As análises foram realizadas em equipamento Cary 50 Scan UV/Vis Spectrophotometer com correção da linha de base. Foi utilizada célula de quartzo de caminho ótico de 1 cm.

5.4 Etapa 2 – Obtenção das esferas de quitosana/PVA

Para a produção das esferas de quitosana/PVA foi utilizado método de coagulação, ou seja, no gotejamento de solução ácida de quitosana produzida pela dissolução de 2,7g de quitosana em 100mL de ácido acético 5% m/v.

O PVA será preparado pela dissolução de 5,0g do pó do polímero em 100mL de água destilada, sob agitação magnética à temperatura 70±2°C. Será então, realizada a mistura de Quitosana/PVA na proporção 75/25.

A solução obtida será gotejada empregando uma bureta de 25mL sobre a solução de hidróxido de sódio 2,5M submetida à agitação de 375rpm. As esferas ficaram imersas na solução de NaOH por 18 horas e depois serão lavadas em água destilada até que a água de lavagem possa atingir pH (7,0 ± 0,1).

5.5 Etapa 3 – Adsorção de Cisplatina

100mg de microesferas produzidas e geleificadas foram colocadas em solução de 2mL de ácido acético e 50mg de Cisplatina para reagir em autoclave na temperatura 100°C por 2 hora. Após o período de autoclave foi realizado a correção

da solução para pH ($7,00 \pm 0,05$) utilizando NaOH (Hidróxido de Sódio). As amostras foram então secas em estufa de secagem à 45° C durante 24 horas.

5.6 Etapa 4 – Caracterização das esferas de quitosana/PVA

As esferas de quitosana foram avaliadas morfológicamente e dimensionalmente através de imagens obtidas com câmera Canon Power Shot SX50HS e tratadas com AutoCad10®. Também foram caracterizadas por FTIR nas mesmas condições anteriormente descritas para caracterização das matérias primas, MEV, EDS e Fluorescência de RX.

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada em equipamento da marca Shimadzu Corporation, modelo SSX-550 com fina camada de cobertura de ouro, tensão de 15,0kV, magnitudes de 40,400,1800 e 4000 vezes e posicionadas à máxima distância do alvo, para impedir danos às amostras. O EDS foi realizado a partir de imagens das microesferas no equipamento da marca Shimadzu Corporation, modelo SSX-550 com fina camada de cobertura de ouro, tensão de 15,0kV.

A fluorescência de Raio-x foi realizada em instrumento de EDX-720.

5.7 Etapa 5 – Estudo da Liberação

Foi realizado o estudo da liberação através de uv-vis em equipamento Cary 50 Scan UV/Vis Spectrophotometer com correção da linha de base. Foi utilizada célula de quartzo de caminho ótico de 1cm.

A banda da Cisplatina foi obtida através de 0,1% m/v da solução base do fármaco de acordo com o descrito pela Farmacopeia Brasileira, 2010 v.2.

As esferas de quitosana/PVA adsorvidas anteriormente em na solução de Cisplatina tiveram seu pH corrigido para pH ($7,00 \pm 0,05$).

As bandas das esferas de quitosana/PVA/Cisplatina foram obtidas no aparelho uv-vis em diferentes tempos (30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas) para avaliação da liberação do fármaco.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Obtenção das Esferas de Quitosana/PVA e Quitosana/PVA/Cisplatina

As figuras 6A e 6B apresentam as esferas de quitosana/PVA e quitosana/PVA/Cisplatina antes da secagem. Já as figuras 7A e 7B apresentam as esferas de Quitosana/PVA e Quitosana/PVA com adsorção de Cisplatina, após secagem, respectivamente. Foram obtidas esferas de quitosana/PVA e quitosana/PVA com adsorção de Cisplatina com dimensões médias de $(1,0\pm 0,2)$ mm. As esferas com a adsorção de cisplatina apresentaram coloração mais amarelada e formas menos arredondadas o que pode ter sido devido à lixiviação de parte do PVA durante o processo de adsorção. As superfícies apresentam-se regulares e sem porosidade aparente. Já as figuras 8A e 8B representam as esferas antes da secagem.

Figura 6 – (A) Esferas de Quitosana/PVA, (B) Esferas de Quitosana/PVA/Cisplatina antes da secagem

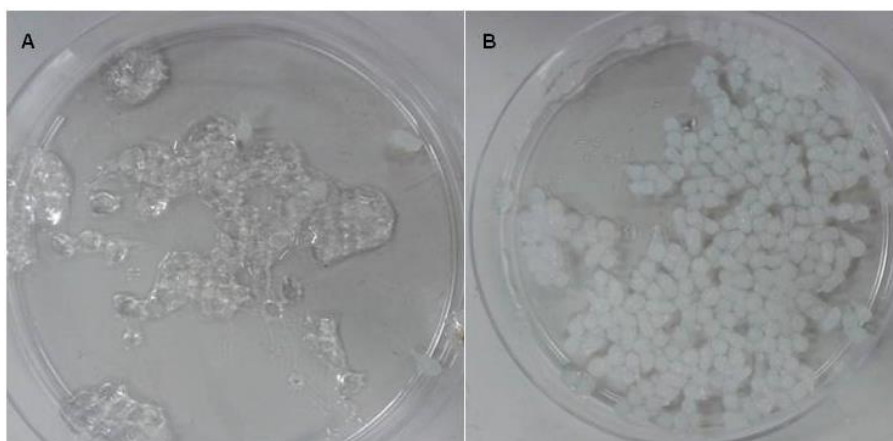
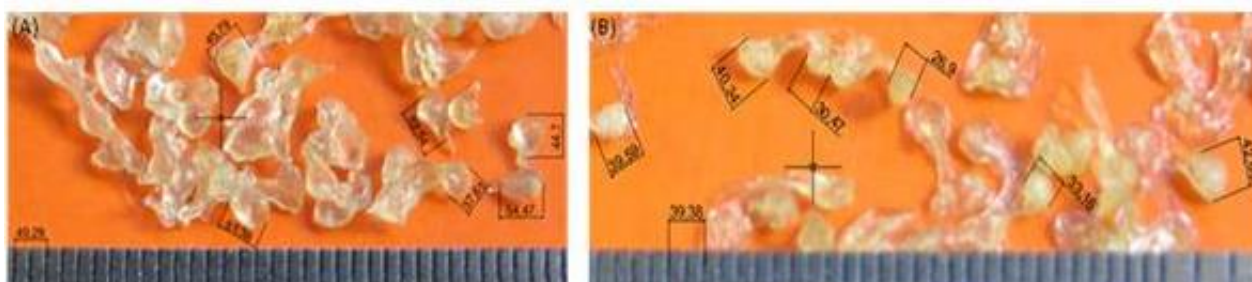


Figura 7 – (A) Esferas de Quitosana/PVA, (B) Esferas de Quitosana/PVA/Cisplatina antes da secagem

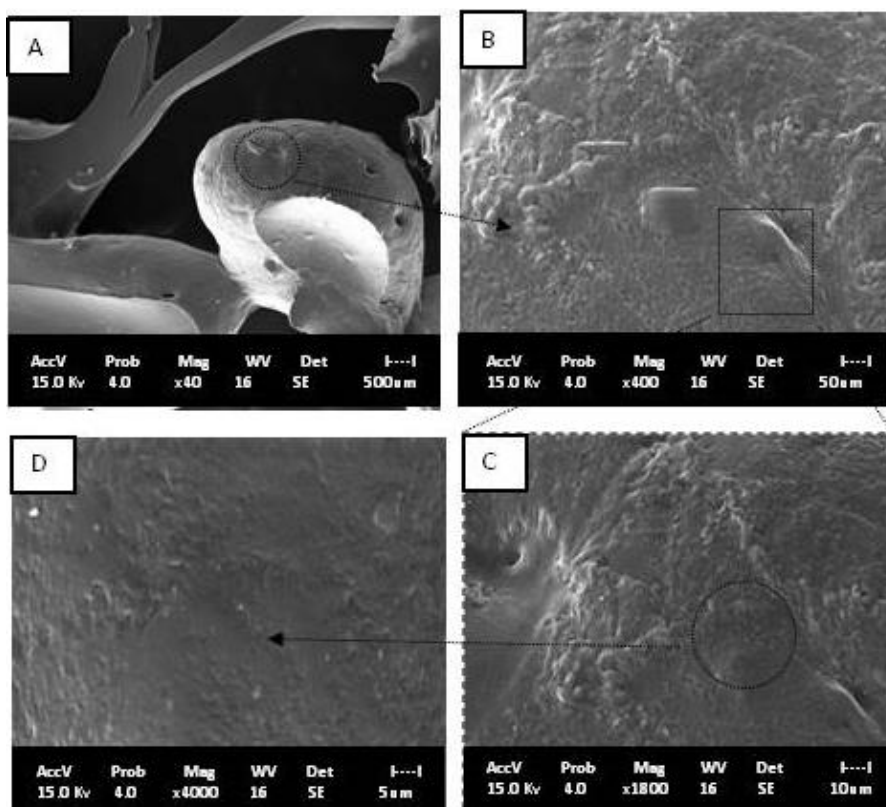


6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A figura 8 apresenta as imagens da superfície das esferas de quitosana/PVA antes da adsorção da cisplatina.

Através das imagens de MEV observou-se a morfologia esférica, a ordem de grandeza dimensional e o aspecto superficial das esferas as quais revelaram superfície regular com pouca porosidade tanto para as esferas de quitosana/PVA quanto para as de quitosana/PVA/Cisplatina, o mesmo foi observado por SILVA, 2014.

Figura 8 – Imagem de MEV de microesferas de Quitosana/PVA (a) 40x; (b) detalhe destacado em “a” 400x; (c) detalhe de “b” 1800x; (d) detalhe destacado em “c” 4000x.



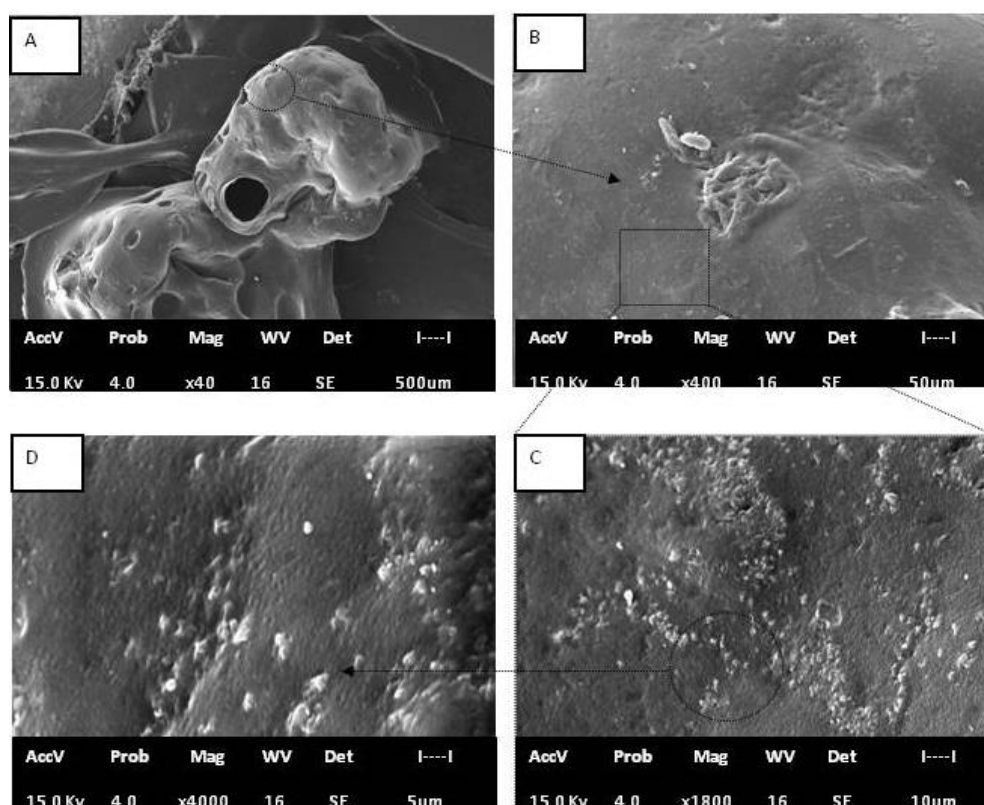
Fonte: Elaborado pela autora.

A figura 9 apresenta a superfície da Quitosana/PVA após a adsorção de Cisplatina e observa-se que não há modificação significativa na superfície após o processo. As esferas mantiveram sua integridade durante o processo. A superfície das esferas apresenta-se pouco porosa antes e após o processo de adsorção como

se pode observar nas imagens 9C e 9D. Características superficiais semelhantes para esferas de quitosana foram encontradas por SILVA, 2014; ABREU, 2008.

Após a secagem o material apresentou formato oval e ao mesmo tempo irregular tanto com e sem a presença da Cisplatina, como observou ^bBARROS, et al (2006) e ABREU (2008).

Figura 9 – Imagem de MEV de microesferas de Quitosana/PVA/ Cisplatina (a) 40x; (b) detalhe destacado em “a” 400x; (c) detalhe de “b” 1800x; (d) detalhe destacado em “c” 4000x.



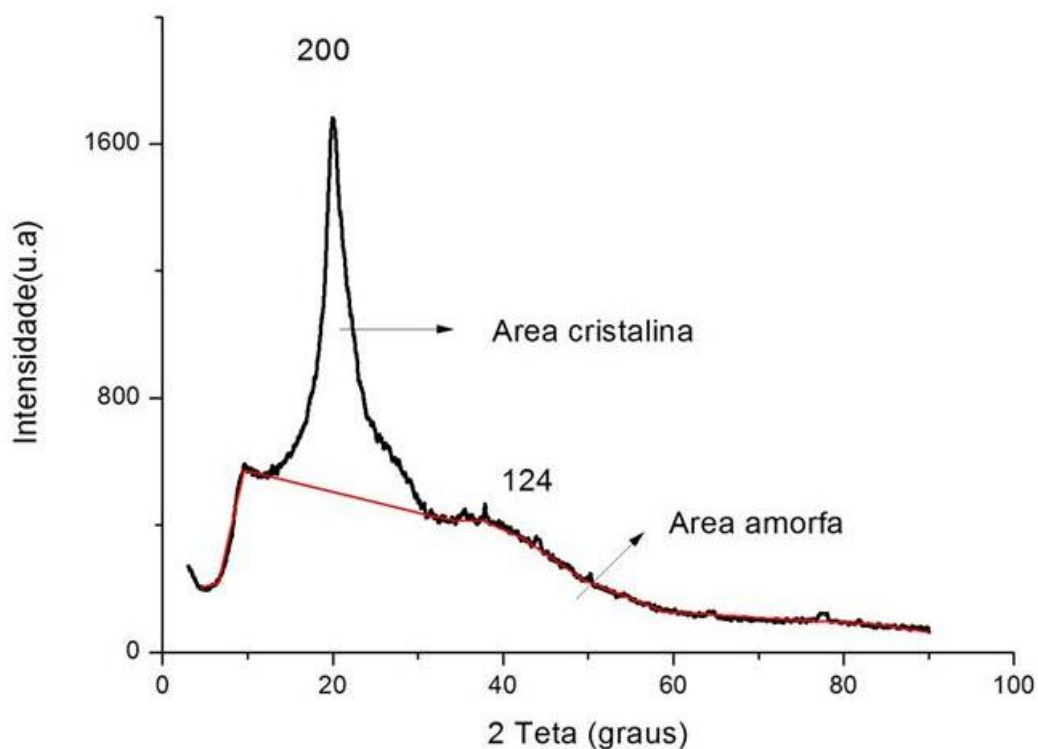
Fonte: Elaborado pela autora.

Os cristais observados nas imagens 9C e 9D se devem a presença de sais de cloreto de sódio conforme verificado pelo EDX. O hidróxido de sódio foi usado para correção do pH das esferas para estudo da liberação controlada do fármaco e este pode ter se associado aos íons cloro presente na Cisplatina formando Cloreto de Sódio.

6.1 Difração de raio-x

O ensaio de difração de Raio-x refere-se ao pó de Quitosana e do PVA. A quitosana (fig.10) apresenta pico de alta intensidade em $19,9^\circ$ ($d=0,448\text{nm}$) atribuído ao plano de difração (200) e um pico discreto em $37,7^\circ$ relativo ao plano de difração (124). Os dois picos representam a fase cristalina e logo abaixo destes pode-se observar uma ampla faixa que caracteriza a fase amorfa do material (SILVA, 2014) (COSTA JR e MANSUR, 2008) (RODRIGUES, 2006).

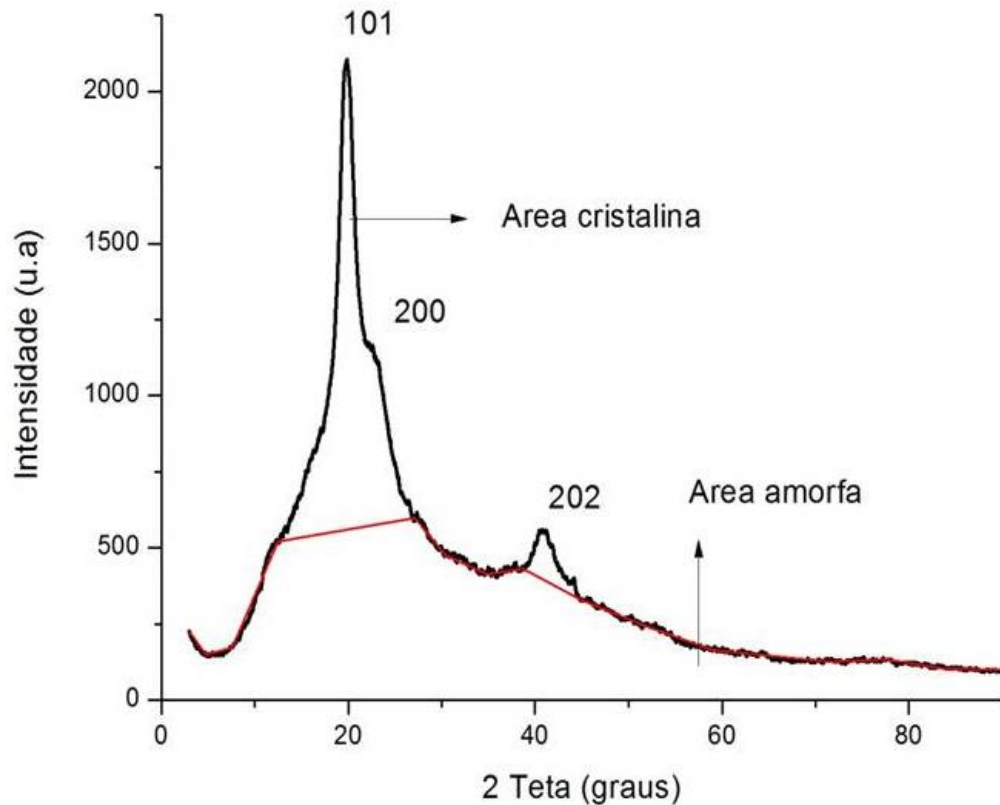
Figura 10- Difratoograma da Quitosana



Fonte: Elaborado pela autora utilizando software Origin versão 8.0

O PVA (Fig. 11) apresenta pico de alta intensidade em $19,7^\circ$ ($d=0,448\text{nm}$) atribuído ao plano de difração (101), um pico pouco definido em $22,7^\circ$ relativo ao plano de difração (200) e um pico discreto em $40,7^\circ$ relativo ao plano de difração (202). Os três picos representam a fase cristalina e logo abaixo destes pode-se observar ampla faixa que caracteriza a fase amorfa do material, semelhante aos resultados obtidos por COSTA JR e MANSUR, 2008.

Figura 11 - Difratoograma do PVA

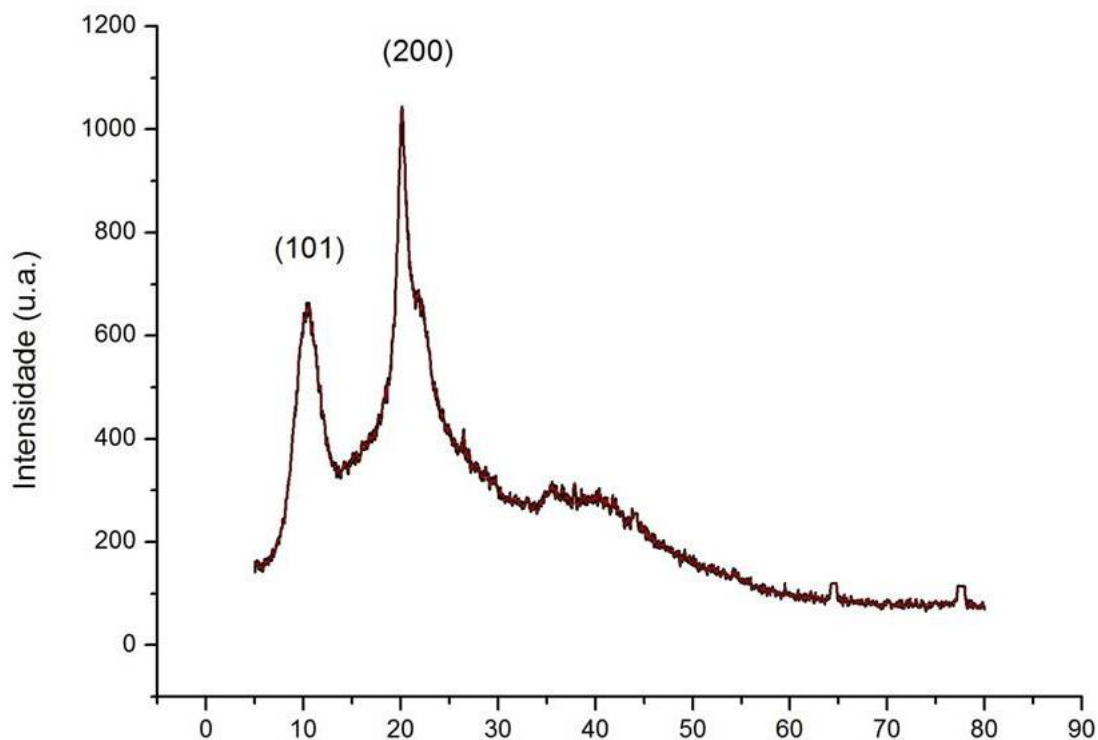


Fonte: Elaborado pelo autor utilizando software Origin versão 8.0

A partir dos difratogramas obtidos foi possível estimar sua cristalinidade em 24% e do PVA 23% compatíveis com os planos de difração de (200) e (101) respectivamente como observado por GOMES, 2008.

Após a produção das esferas de Quitosana e PVA (fig. 12) foi realizado um novo difratoograma que apresentou picos bem definidos característicos da Quitosana referente ao plano de difração (200) e do PVA o plano (101), concluindo assim que a blenda polimérica foi realizada conforme COSTA JR e MANSUR, 2008.

Na matéria prima não foi evidenciada nenhuma contaminação a partir da análise realizada por Fluorescência de Raio-x realizadas por Silva (2014) e Oliveira (2015) com a mesma matéria-prima utilizada na parte experimental desse trabalho.

Figura 12- Difratoograma Quitosana/PVA

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando software Origin versão 8.0

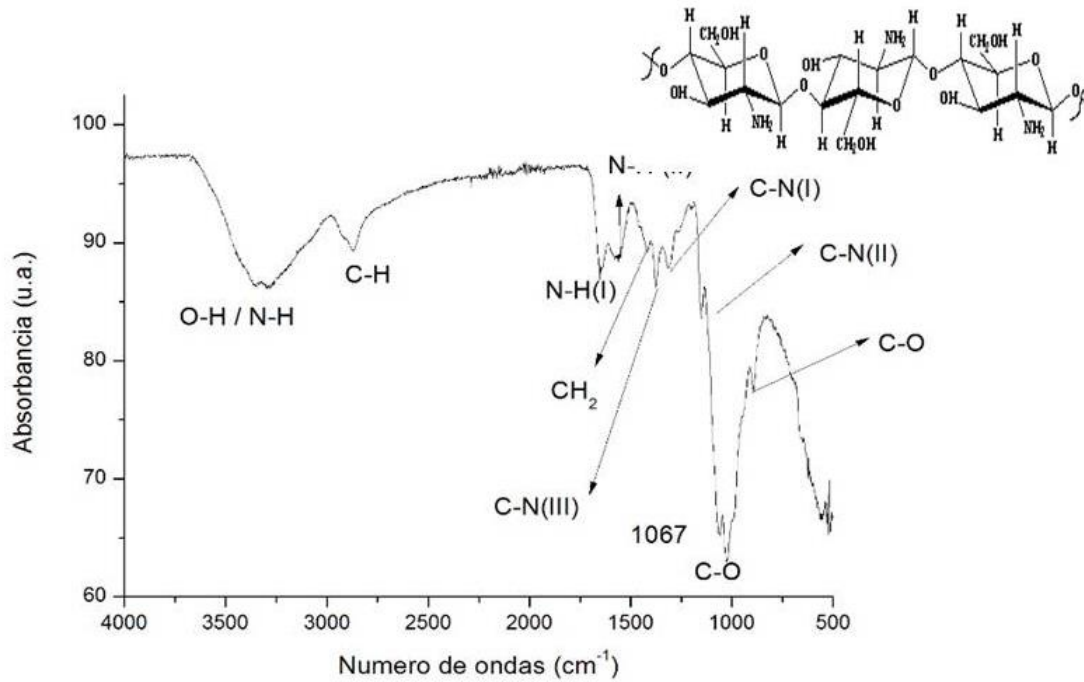
6.1.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

A técnica de FTIR foi realizada para identificar os grupos funcionais presentes nas amostras e as possíveis alterações nestes grupos.

6.1.2.1 Quitosana

No espectro da quitosana (fig. 13) observou-se as bandas de absorção em 3292cm^{-1} características das ligações N-H e 3356cm^{-1} presente no estiramento O-H. As bandas em 2947cm^{-1} e 2902cm^{-1} são características do estiramento assimétrico e do estiramento simétrico do grupo C-H, respectivamente. Há também a deformação angular do grupo CH_2 em 1430cm^{-1} também apresentado por CANELLA e GARCIA, 2001; RODRIGUES, 2006; SILVA, 2014).

Figura 13 - Espectro FTIR da Quitosana



Fonte: Elaborado pela autora utilizando software Origin versão 8.0

Tabela 2 - Grupos Químicos da Quitosana

COMPRIMENTO DE ONDA (CM ⁻¹)	GRUPOS QUÍMICOS ASSOCIADOS
3570-3200	Estiramento O-H
3450	Estiramento NH ₂
2955-2845	Estiramento C-H
2922	(assimétrico)
1650-1550	Deformação axial N-H primária
1570-1515	Deformação axial N-H secundária
1560	
1423	Deformação angular CH ₂
1465	Deformação O-H
1340-1250	Deformação axial C-N (amina terciária)
1379	
1321	Deformação axial C-N (amina primária)
1260	Deformação axial C-N (amina secundária)
1154	Estiramento COC
896	(estrutura sacarídea β-1-4)
1070	Estiramento C-O (cíclico)
1030	

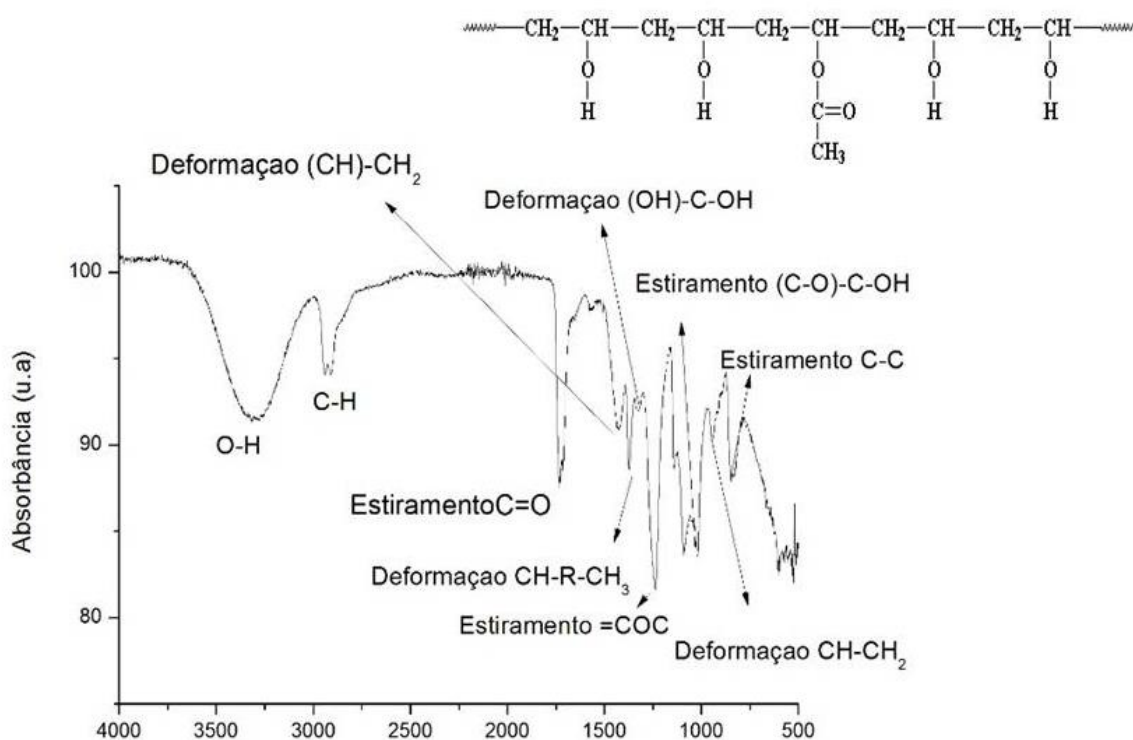
Fonte: Produzido pela autora

Já as bandas 1303cm^{-1} , 1265cm^{-1} e 1375cm^{-1} , são características das aminas primárias, secundárias e terciárias respectivamente nas vibrações de ligações C-N. As vibrações fora do plano do grupo C-H da estrutura sacarídea em 1139cm^{-1} e da banda em 895cm^{-1} estão associadas ao grupo COC. Pode-se também observar em 1067cm^{-1} e 1030cm^{-1} bandas correspondentes ao estiramento do grupo C-O cíclico. Os resultados encontrados estão resumidos na tabela 2 e estão em conformidade com SILVA, 2014 e COSTA JR e MANSUR, 2008.

6.1.2.2 PVA

O espectro do PVA (fig 14) apresenta bandas de adsorção associadas aos principais grupamentos químicos presentes na cadeia polimérica. As bandas entre $3355\text{-}3209\text{cm}^{-1}$ representa vibrações do tipo estiramento das hidroxilas (O-H). A banda observada entre $2947\text{-}2902\text{cm}^{-1}$ é referente ao estiramento das ligações C-H₂, bandas à 1721cm^{-1} referem-se aos estiramentos das ligações C=O e C-O dos grupos acetatos do polímero (MORAES et al, 2008; COSTA JR e MANSUR, 2008; RODRIGUES, 2006).

Figura 14- Espectro FTIR da PVA



Fonte: Elaborado pelo autor utilizando software Origin versão 8.0

Tabela 3 - Grupos químicos do PVA

COMPRIMENTO DE ONDA (CM ⁻¹)	GRUPOS QUIMICOS ASSOCIADOS
3550-3200	Estiramento O-H
2937-2870	Estiramento C-H
1650-1630	Deformação O-H
1461-1417	Deformação CH-CH ₂
1366	Deformação CH-R-CH ₃
1329	Deformação OH-C-OH
1254	Estiramento (=CO-C)
1084	Estiramento (C-O)-C-OH
922	Deformação CH-CH ₂
842	Estiramento C-C

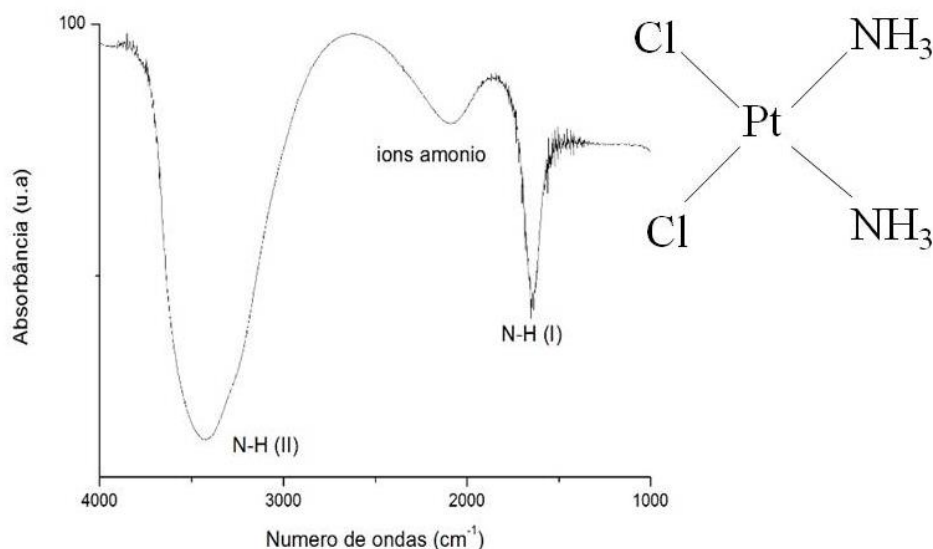
Fonte: Produzido pela autora

Os resultados encontrados estão resumidos na tabela 3 (acima) e estão de acordo com COSTA JR e MANSUR, 2008; RODRIGUES, 2006.

6.1.2.3 Cisplatina

No espectro da Cisplatina (fig. 15) observou-se as bandas de absorção características em 3440cm⁻¹ e 1657cm⁻¹ características das aminas secundária e primária respectivamente e 2085cm⁻¹ cuja banda é característico do íon amônio.

Figura 15- Espectro FTIR da Cisplatina



Fonte: Elaborado pela autora utilizando software Origin versão 8.0

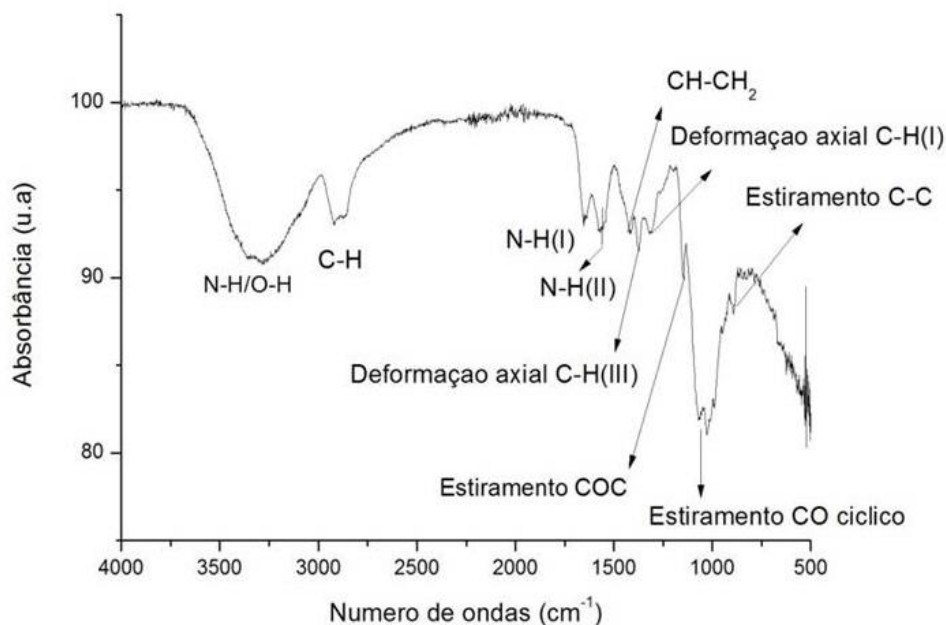
Tabela 4 - Grupos químicos do PVA

Comprimento de onda (cm^{-1})	Grupos químicos associados
3285	Deformação axial N-H secundária
3204	
1461-1417	Deformação angular simétrica CH_2

Fonte: Produzido pela autora

6.1.2.4 Caracterização esferas poliméricas Quitosana/PVA e Quitosana/PVA/Cisplatina

Figura 16 - Espectro FTIR Quitosana/PVA

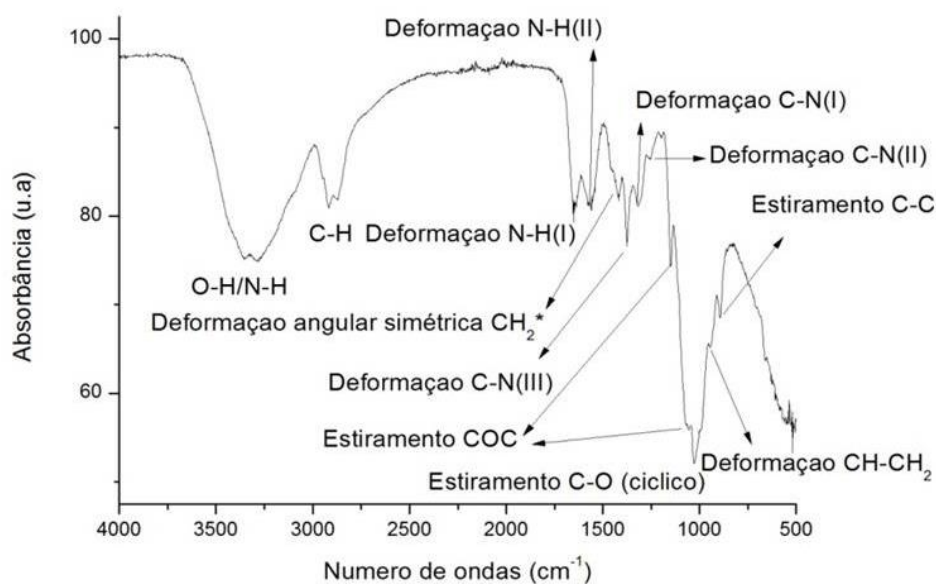


Fonte: Elaborado pela autora utilizando software Origin versão 8.0

Os espectros de FTIR as esferas de quitosana/PVA (fig. 16) mostram claramente o pico a 1575cm^{-1} corresponde à vibração do grupo amino protonado com ácido acético. A apresentação desse pico se deve ao fato da interação da Quitosana com o PVA e a interação destes com o ácido acético como relatado por RODRIGUES, 2006.

Após a complexação da Cisplatina às esferas de Quitosana/PVA pode-se observar (fig. 17) aumento nas bandas 1375cm^{-1} que corresponde ao grupamento hidroxila, e 1557cm^{-1} correspondendo ao grupamento amina. As alterações na estrutura química das microsferas podem ser reveladas pelo desvio do pico atribuído à vibração do grupo carbonilo, dos grupos amida presentes nas unidades acetiladas da Quitosana (MARTINS, 2013).

Figura 17- Espectro FTIR Quitosana/PVA/Cisplatina

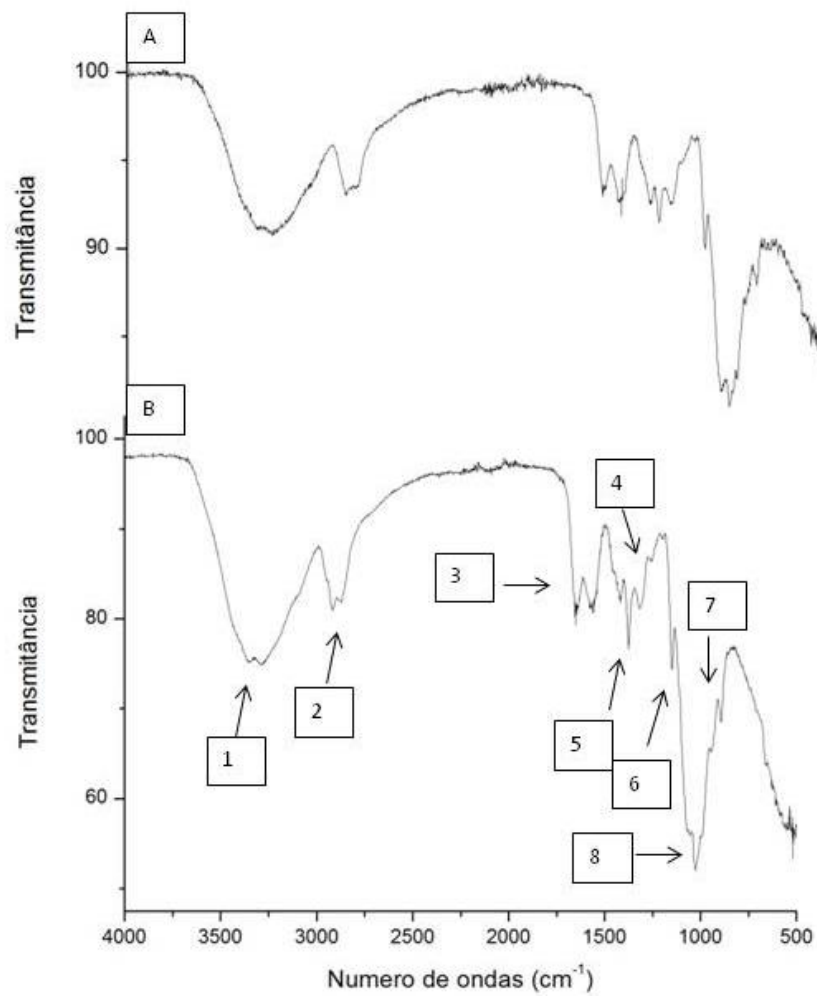


Fonte: Elaborada pela autora utilizando software Origin versão 8.0

As figuras 18 A e 18 B representam os gráficos das esferas de quitosana/PVA e Quitosana/PVA/Cisplatina sem a presença dos grupamentos químicos. Como pode-se observar na banda representada pelo número 1 houve aumento das bandas de O-H e N-H, no número 2 discreto aumento de C-H, no 3 aumento da banda de deformação da N-H (I).

Na banda 4 houve um aumento discreto da deformação C-N (II), aumento discreto também na banda de deformação C-N (III) representada pelo número 5, Estiramento COC representada pelo número 6, no número 7 discreto aumento no estiramento C-C e no número 6 aumento da banda de estiramento C-O (cíclico).

Figura 18- (a) Espectro FTIR Quitosana/PVA (b) Espectro FTIR Quitosana/PVA/Cisplatina



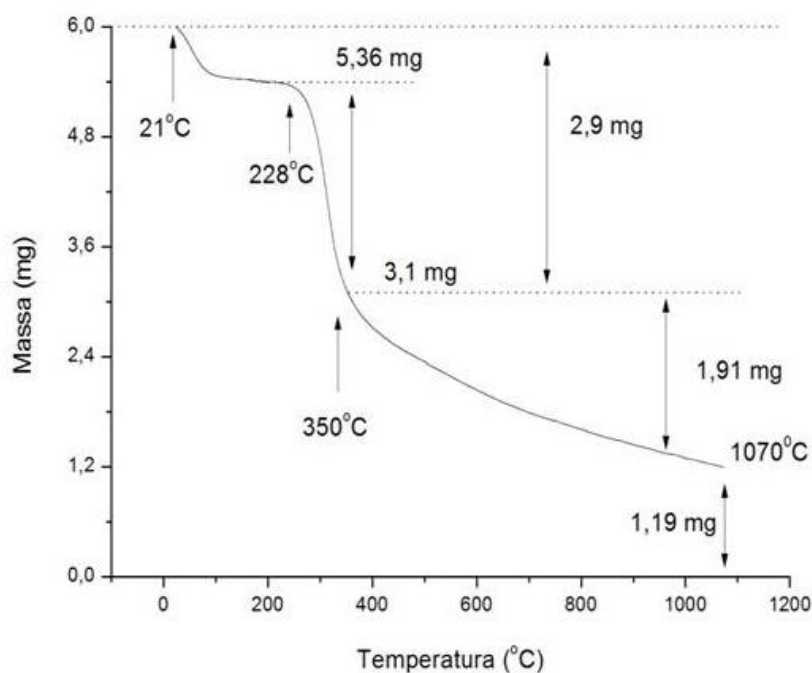
Fonte: Elaborada pela autora utilizando software Origin versão 8.0

6.1.3 – Termogravimetria

6.1.3.1 – Análise TG da Quitosana

A Fig 19 representa a curva de análise termogravimétrica (TG) da amostra de quitosana pura. Podem ser observados 3 eventos no perfil de degradação do material. Segundo Beppu et al (2007) e Oliveira (2015) esses estágios se devem a perda de massa do material que estão relacionados à degradação térmica.

Figura 19 - Curva TG da Quitosana em atmosfera de N₂



Fonte: Produzido pela autora utilizando software Origin 8

No primeiro estágio, foram observados perda de massa de 10,66% que foi realizado entre as temperaturas de 21°C a 228°C. Está associado a perda de água residual como relatam SILVA (2014) e OLIVEIRA (2015).

No segundo estágio observado entre as temperaturas de 228°C a 350°C houve perda de massa da matéria-prima e se devem à degradação térmica e decomposição do polímero em fragmentos menores (SILVA, 2014; OLIVEIRA, 2015).

Na segunda etapa às perdas de amostra é de 42,16% e alcança perda acumulada do valor total de 52,82% em relação ao valor inicial.

Na terceira etapa foi possível observar uma perda de massa de 31,83% que está relacionado à temperatura final de 1070°C.

A tabela 5 apresenta de forma resumida os valores da perda de massa do polímero encontrados durante o ensaio.

Tabela 5 - Perda de massa da Quitosana em função dos estágios térmicos

Estágios	1	2	3	Resíduo
Faixa de Temperatura (°C)	21-228	228-350	350-1070	1070
Perda de massa parcial (%)	10,66	42,16	31,83	15,35
Perda de massa acumulada (%)	10,66	52,82	84,65	-
Eventos	Desidratação	Decomposição	Decomposição	-

Fonte: Produzido pela autora

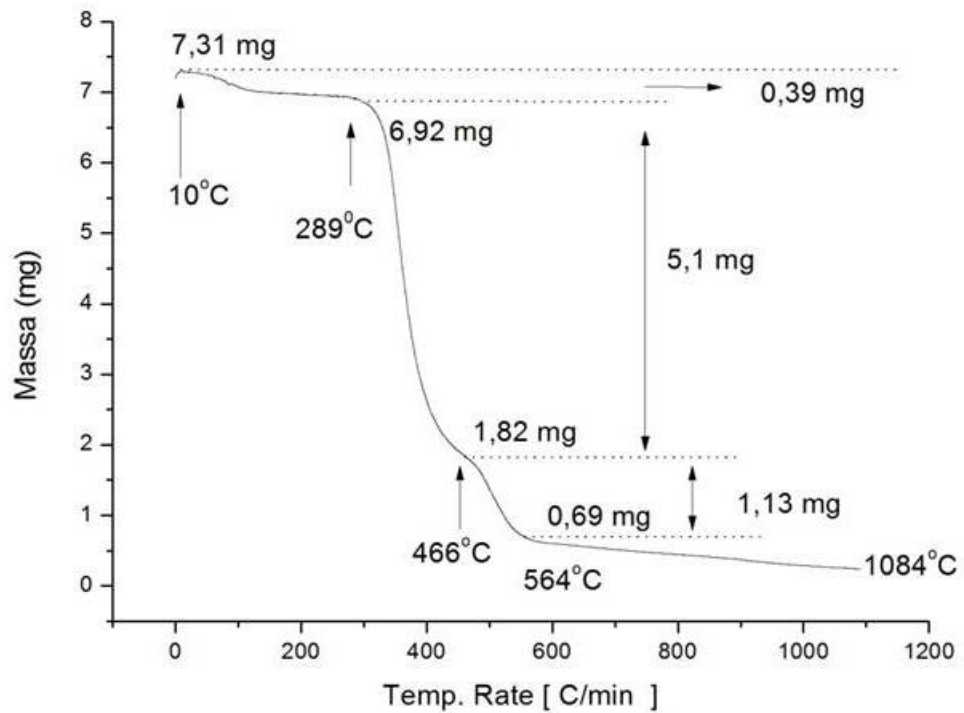
6.1.3.2 – Análise TG do PVA

A Fig 20 representa a curva de análise termogravimétrica (TG) da amostra da blenda polimérica de quitosana e PVA. São observados 3 eventos no perfil de degradação do material. Segundo Arvaniyannis et al (1997) e Oliveira (2015) esses estágios se devem a perda de massa do material e degradação das cadeias relacionados à degradação térmica.

O primeiro estágio, a perda de massa apresentada foi de 5,33% que foi realizado entre as temperaturas de 10°C a 289°C. Os valores encontrados estão de acordo com os apresentados por YANG et al, 2004.

No segundo estágio as temperaturas foram de 289°C a 466°C com perda de massa de 73,69% sendo estes resultados semelhantes aos encontrados por OLIVIERA, 2015.

Figura 20 - Curva TG do PVA em atmosfera de N₂



Fonte: Produzido pela autora utilizando software Origin 8.0

No terceiro estágio foi observado perda de massa de 11,54% cujo valor acumulado em relação ao inicial foi de 90,56%. O valor residual de 0,69mg o qual está relacionado à temperatura final 1084°C.

A tabela 6 apresenta de forma resumida os valores da perda de massa do polímero encontrados durante o ensaio.

Tabela 6 - Perda de massa do PVA em função dos estágios térmicos

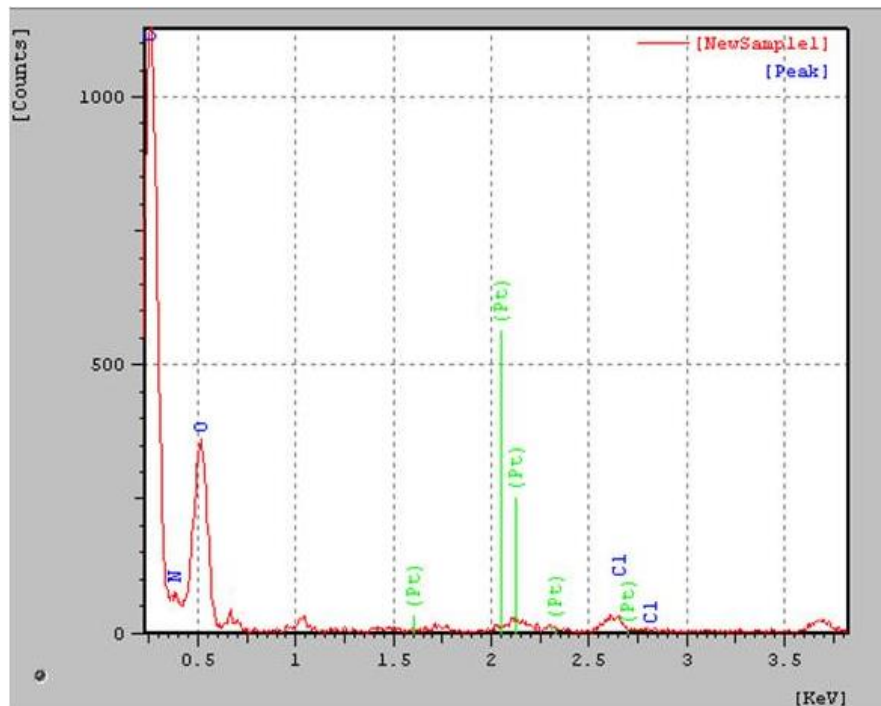
Estágios	1	2	3	Resíduo
Faixa de Temperatura (°C)	10-289	289-466	350-1070	1084
Perda de massa parcial (%)	5,33	73,69	11,54	9,44
Perda de massa acumulada (%)	5,33	79,02	90,56	-
Eventos	Desidratação	Decomposição	Decomposição	-

Fonte: Produzido pela autora

6.1.4 Raio –X da Energia Dispersiva (EDX)

No espectro de raios-X de energia dispersiva (EDX) das amostras preparadas pelo método de incorporação do fármaco, mostrado na figura 21, as linhas $K\alpha$ de oxigênio e carbono dominam o quadro, além dessas linhas estão presentes as linhas de $K\alpha$ com a presença de picos de cloro, substância usada na correção do pH. Picos assinalados por Pt representam a presença do elemento platina no material.

Figura 21 – Espectro de Raio-X da Energia Dispersiva da cisplatina nas esferas de quitosana/PVA/Cisplatina



Fonte: Elaborada pela autora

6.1.5 – Fluorescência de Raio –X

Pode-se observar, na tabela 8, a presença dos elementos da Cisplatina pela presença do Cloro em 84,83% e a presença do átomo central de Platina com 6,49% em microesferas de quitosana/PVA após adsorção.

Tabela 7 – Resultado quantitativo da Fluorescência de Raio-x por Energia Dispersiva

RESULTADO QUANTITATIVO		
ELEMENTO	RESULTADO	Line
Cl	84,831%	Cl Ka
Pt	6,494%	Pt La

Fonte: Elaborado pela autora

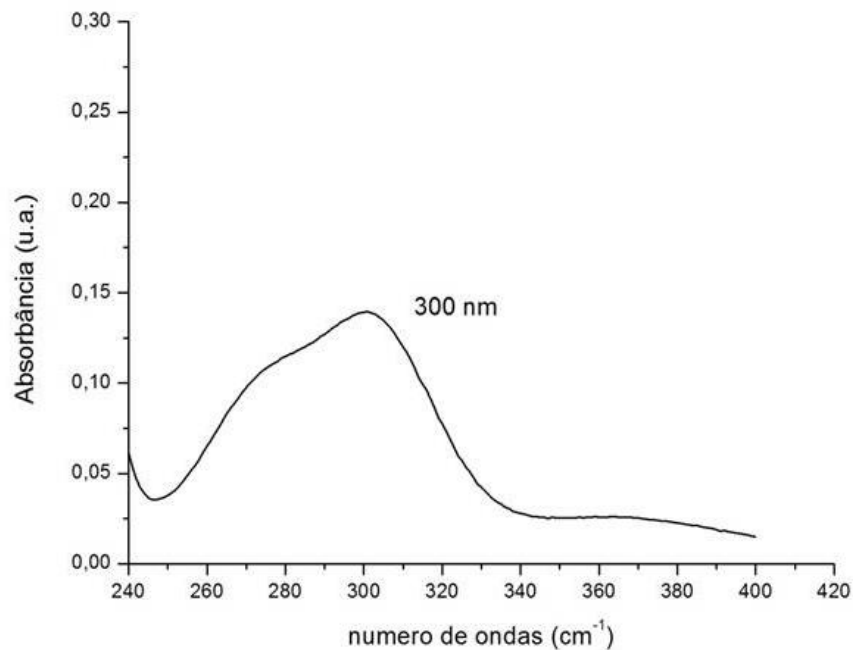
O peso inicial da amostra era de 0,0730g e o peso final foi de 0,0698g assim, na fig 21 é possível estimar a quantidade do elemento da Platina em 2×10^{-4} g em 0,0032g de microesferas de quitosana/PVA/Cisplatina.

Já o elemento Cl, que faz parte da estrutura da cisplatina apresentada na fig 1, possui quantidade de 0,0027g em 0,0032g de microesferas de quitosana/PVA/Cisplatina.

6.1.6 – Estudo da liberação do fármaco

No estudo da liberação controlada da Cisplatina foram obtidos os espectros de UV-Vis de acordo com as figuras 22 e 23. A fig 22 apresenta o espectro da Cisplatina apresentando pico de intensidade à 300nm como apresentado em BRASIL, 2014.

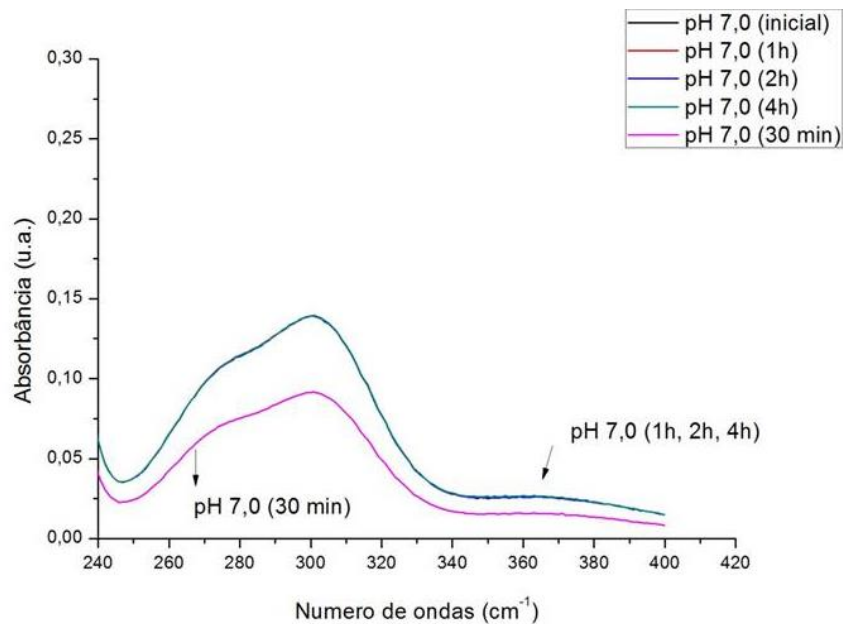
Figura 22 – Espectro uv-visível da Cisplatina a 0,1% m/v



Fonte: Elaborada pela autora utilizando software Origin versão 8.0

A fig 23 apresenta o espectro de UV-Vis das esferas de quitosana/PVA geleificadas em pH 7,0 durante os tempos de liberação de 30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas. Como pode-se observar o gráfico possui pico máximo em 300 nm de acordo com o apresentado na fig. 22 mostrando a presença de Cisplatina nas esferas.

Figura 23 – Espectro UV-Visível de liberação da Cisplatina em pH 7,0 em 30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas.



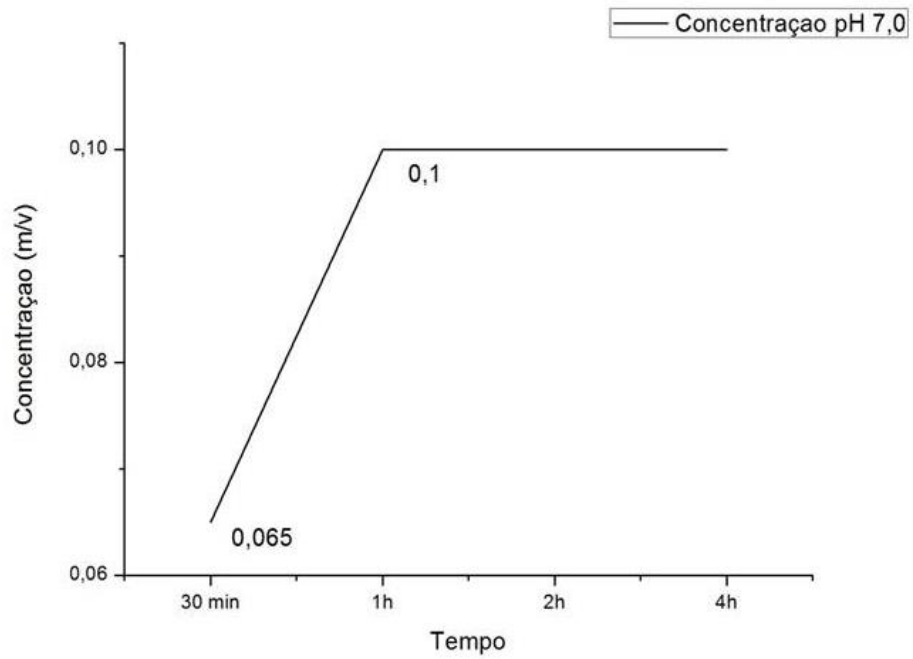
Fonte: Elaborada pela autora utilizando software Origin versão 8.0

Como pode-se observar na figura 23 houve primeiro a liberação da Cisplatina em 7,0 no tempo de 30 minutos e após foram observados que não houve variação na liberação nos períodos de 1 hora, 2 horas e 4 horas sendo representado no gráfico com linhas sobrepostas.

Na fig 24 pode-se observar o gráfico da concentração de Cisplatina em função do tempo em pH 7,0 que aos 30 minutos a concentração foi de 0,065 a partir de 1h não houve variação da concentração de 0,1.

Foram também realizado o estudo em pHs 3,0; 5,0; 9,0 e 11,0 (figuras não apresentadas) porém não houve variação do pico máximo em 300nm com a mesma concentração de 0,065 em 30 minutos e 0,1 nos demais períodos de tempo. Os mesmos apresentam comportamento idêntico ao pH 7,0.

Figura 24 – Espectro de concentração X tempo em pH 7,0



Fonte: Elaborada pela autora utilizando software Origin versão 8.0

SUMÁRIO DE RESULTADOS

Esferas de quitosana/PVA foram produzidas segundo o método de coagulação.

Os polímeros quitosana e PVA formaram blendas a partir da dissolução em ácido acético.

Os resultados de sua caracterização dimensional e morfológica evidenciaram esferas com superfície pouco porosa e irregular, além de se apresentarem estáveis durante o processo de adsorção.

Pode-se observar a presença da cisplatina dentro das esferas de quitosana/PVA, interagindo quimicamente com os mesmos pela presença do grupamento amina na estrutura do fármaco como foi apresentado pelo gráfico de FTIR das esferas de Quitosana/PVA incorporadas com Cisplatina.

O fármaco apresentou concentração constante a partir de 1h no estudo da liberação controlada.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho mostraram que esferas de quitosana/PVA podem, através da adsorção, se tornar um veículo de liberação controlada da Cisplatina e, para melhorar os índices de adsorção, sugere-se que seja reduzido o tamanho das esferas obtendo-se esferas menores, aumentando a sua área superficial.

Tendo como referência os resultados obtidos observa-se o potencial do material quitosana/PVA como veículo para liberação controlada de Cisplatina.

Espera-se que os resultados apresentados contribuam em estudos futuros em liberação controlada de Cisplatina, melhorando dessa forma o tratamento do câncer, tornando-o mais específico e com menor efeito colateral e tóxico durante o tratamento.

TRABALHOS FUTUROS

Promover a liofilização das esferas para aumentar sua porosidade e consequentemente também a área superficial.

Alterar a forma de incorporação do fármaco para modular sua liberação.

Substituir o PVA com grau de hidrolise de 80% para o de 99% melhorando a reticulação física da blenda.

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.** 2008. 182f. Tese (Programa de pós-graduação em Engenharia de minas, metalúrgica e de materiais – Escola de engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R. BALDO, J. B. BOSCHI, A. O. A simple method for the characterization of clay minerals by X-ray diffraction. **Cerâmica**, v. 48, p. 34-37, 2002.

ALLEN, T M.; CULLIS, P R. Drug delivery systems: entering the mainstream. **Science**, vol. 303. 2004.

ANDRADE, N. F. **Os efeitos da temperatura sobre a oxidação de nanotubos de carbono.** 2010. 107f. Dissertação (Programa de pós graduação em Física) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010

APETOH, L.; TESNIERE, A.; GHIRINGHELLI, F.; KROEMER, G.; ZITVOGEL, L. Molecular interactions between dying tumor cells and the innate immune system determine the efficacy of conventional anticancer therapies. **Cancer Res.**, v. 68, p.4026-4030, 2008.

ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F. Poli (álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: avaliação do balanço hidrofílico/lipófilo. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 174 – 181, 2001.

ARVANITTOYANNIS, I. S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 371–382, 1998.

ARVANITTOYANNIS, I.; KOLOKURIS, I.; NAKAYAMA, A.; YAMAMOTO, N.; ABA, S. I.; Physico-chemical studies of chitosan-poly(vinil-alcohol) blends plasticized with sorbitol e sucrose. **Carbohydrate polymers**, v.34, p. 9-19, 1997.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como Biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2.3, p.27-34, 2007.

^aBARROS, A. J. M., PRASAD, S.; LEITE, V. D.; SOUZA, A. G. Thermogravimetric study of the sorption process of heavy metals in organic solid waste. **Eng. san. ambient.**, v.11, n.2, p. 184-190, 2006.

^bBARROS, F. C. F.; CAVALCANTE, R. M.; CARVALHO, T. V.; DIAS, F. S.; QUEIROZ, D. C.; VASCONSELLOS, L. C. G.; NASCIMENTO, R. F. Produção e caracterização de esferas de quitosana modificadas quimicamente. **Revista ibero americana de polímeros**, v.7, n.4, p.232-246, 2006.

BHATTARAI, N.; GUNN, J.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced drugs delivery reviews**, v. 62, p. 83-99, 2010.

BELIZÁRIO, J. E. O próximo desafio: reverter o câncer. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 184, p. 50-57. 2002.

BEPPU, M. M.; ARRUDA, E. J.; SANTANA, C. C. Síntese e caracterização de estruturas densas e porosas de quitosana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 163-169, Out/Dez, 1999.

BEPPU, M. M.; VIEIRA, R. S.; AIMOLI, C. G.; SANTANA, C.C. Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: effect on ion permeability and water absorption. **Journal of Membrane Science**, n. 301, p. 126–130, 2007.

BERGER, L. R. R. **Produção e Caracterização de Quitina e Quitosana por Rhizopus arrhizus e Cunninghamella elegans e Aplicação em Membranas na Remoção de Cádmio**. 182f. 2013. Tese (Doutorado - Programa de PósGraduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2013.

BERGMAN, B R. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, vol. 60 nº 2. 2008.

BEZERRA, A. M. Síntese e avaliação físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular. 2011. 72f. Dissertação (Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica- Faculdade de Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 2011.

BRASIL, Farmacopéia Brasileira. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 546 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. 2014.

CAMPANA-FILHO, S.P., et al. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, v. 30. n. 3. p.644-650. 2007

CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização da quitosana por cromatografia de permeação e gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v.24, n.1, p.13-17. 2001.

CATÃO, A. J. L. **Estudo de adsorção de íons cobre (II) em esferas de quitosana e esferas de quitosana reticulada**. 65f. 2012. (Dissertação). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2012.

CHEBA, B. A. Chitin and chitosan: marine biopolymers with unique properties and versatile applications. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 6, n.3, p.149-153, 2011.

CHECCHINATO, F. **Síntese, caracterização e incorporação via polimerização em suspensão do peliestireno de materiais bactericidas obtidos a partir da modificação estrutural do poliestireno e do poli (álcool vinílico)**. 152f. 2007.

Dissertação (Programa de pós- graduação em ciência e engenharia de materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

CHRAI, S S.; MURARI, R.; AHMAD, I. Liposomes part two: drug delivery systems. **Biopharm International**, p. 40-43. 2002.

COELHO, J.F.; FERREIRA, P.C.; ALVES, P. et al. Drug delivery systems: advanced Technologies potentially applicable in personalized treatments. **EPMA Journal**, v. 1, p. 64-209. 2009.

CORBARI, L; et al. Iron oxide deposits associated with the ectosymbiotic bacteria in the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*. **Biogeosciences**, n. 5, pg. 1295-1310, 2008.

COSTA JÚNIOR, E. S. **Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial**. 151f. 2008. Tese (Curso De Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

COSTA JÚNIOR, E. S.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana / poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.

CRUZ, T. A.; CAMPOS, T. M. B.; THIM, G. P. Estudo do comportamento do PVA com aditivos inorgânicos. 14º Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação do ITA – XIV ENCITA; outubro 20-23; Instituto Tecnológico de Aeronáutica. São José dos Campos, São Paulo; 2008.

CRUZ, F. S. de O.; VIEIRA, F. T.; REIS, A. B.; "OBTENÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA PARA ESTUDO DO COMPORTAMENTO EM ÁGUAS POLUÍDAS ARTIFICIALMENTE COM METAIS PESADOS", p. 6900-6907 . In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]. São Paulo: Blucher, 2015.

DALLAN, P. R. M. Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele. 2005.

DALKIC, E. et al. Cancer – drug associations: a complex system. **Clinical Cancer Network**, v. 5, n. 4., 2010.

DEDAVID, B. A. et al. Microscopia eletrônica de varredura – aplicações e preparações de amostras. **Edipucrs**, p.60. 2007.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações da análise térmica. Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos. 2012.

DIAS, K. B. et al. Chitin and chitosan: Characteristics, uses and production current perspectives. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4. n. 3. P 184 – 191. 2013.

DON, T. M., et al. Preparation and characterization of chitosan-g-poly (vinyl alcohol)/poly(vinyl alcohol) blends used for the evaluation of blood-contacting compatibility. **Carbohydrate Polymers**, n. 63, p. 331-339, 2006.

FADULCISPLA. Responsável técnico Cintia Delphino de Andrade. São Paulo: Libbs Farmacêutica Ltda, 2014. Bula de Remédio.

FILHO, V. F. N. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF). **Unicamp**, p.32, 1999.

FONTES, A.P.S.; ALMEIDA, S.G.; NADER, L.A. Compostos de Platina em Quimioterapia do Câncer. **Química Nova**, v.20, n.4, 1997.

FORTES, C. et al. A cisplatina. Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto. 2006. Disponível em: <http://cisplatina.paginas.sapo.pt/Historia.html>

GOMES, A. M. M. **Preparação, caracterização e avaliação da biodegradabilidade de blendas de amido/ quitosana/ PVA**. 2008. 176f. Tese – (Universidade Federal do Paraná – Programa de pós-graduação em Química Inorgânica). 2008.

GONSALVES, A. A.; et al. Diferentes estratégias para a reticulação da quitosana. **Química Nova**, n. 7, v. 34, p. 1215-1223, 2011.

GOY, R. C.; ASSIS, O. B. G.; CAMPANA-FILHO, S. P. Produção das esferas de quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, ed. 33, 2004.

GUERRINI, M. L., BRANCIFORTI, M. C., BRETAS, R. E. S., OLIVEIRA, M. P. Eletrofiação do poli (álcool vinílico) via solução aquosa. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 4, p. 286-293, 2006.

HATANAKA, R. R. **Desenvolvimento, validação, avaliação da incerteza de medição e análise de custos de método baseado em espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de parâmetros de qualidade de amostras de E85**. 150 f. 2015. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química., 2015.

HE, X.; LI, K.; XING, R.; LIU, S., HU, L.; LI, P. The production of fully deacetylated chitosan by compression method. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 42, p. 75 – 81, 2016.

HUGHES, G A. Nanostructure-mediated drug delivery. **Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine**, vol.1, p. 22-30. 2004.

JAIN, K. K. Editorial: Targeted drug delivery for cancer. **Technology in Cancer Research & Treatment**, v. 1, n. 4. p. 311-313, 2005.

JAIN, K.K. Advances in the field of nanooncology. **BMC Medicine**, n. 8, p.83-87. 2010.

JIANG, T.; SINGH, B.; LI, H. S.; KIM, Y.K.; KANG, S. K.; NAH, J. W.; CHOI, Y. J.; CHO, C. S. Targeted oral delivery of BmpB vaccine using porous PLGA microparticles coated with M cell homing peptide-coupled chitosan. **Biomaterials**, v. 35, p. 2365 – 2373. 2014.

KIM, G. J.; NIE, S. Target cancer nanotherapy. **Elsevier Ltd**, 2005.

KOYANO, T. et al. Surface states of PVA/chitosan blended hydrogels. **Polymer**, n. 41, p. 4461-4465, 2000.

KHEMTONG, C.; KESSINGER, C.W.; GAO, J. Polymeric nanomedicine for cancer MR imaging and drug delivery. **Chem Commun (Camb.)**, v. 24, p. 3497-3510, 2009.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32; n. 3, p.672-678. 2009.

LEE, P.Y.; WONG, K.K.Y. Nanomedicine: a new frontier in câncer therapeutics. **Current drug delivery**, v. 8, p. 245-253, 2011.

LEIVA, C. R. M.; CRNKOVIC, P. M.; SANTOS, A. M. O emprego da Termogravimetria para determinar a ativação do processo de combustão de óleos combustíveis. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p.940-946, 2006.

LIU, Y.; MIYOSHI, H.; NAKAMURA, M. Nanomedicine for drug delivery and imaging: A promising avenue for cancer therapy and diagnosis using targeted functional nanoparticles. **International Union Against Cancer**, v. 120, p. 2527-37, 2007.

LIU, Y.; ZHANG, B.; YAN, B. Enabling anticancer therapeutics by nanoparticle carriers: the delivery of paclitaxel. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 12, p. 4395-4413, 2011.

LONASHIRO, M. **Giolito, fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. Giz editorial, ed. 2. São Paulo, 2005.

LOURENÇO, A. S. C. **Fucopol as encapsulating matrix of bioactive compounds**. 98f. 2015. Dissertação (Instituto Superior de Agronomia). Universidade de Lisboa, 2015.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros determinação de peso molecular e análise térmica. **E-papers**, Rio de Janeiro, 2001.

LYRA, M. A. S. et al. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, p. 784-793, 2007.

MACEDO, T. L. **Características estruturais e degradação de matrizes de poli (álcool vinílico) / quitosana / vidro bioativo por liofilização**. 83f. 2013. Dissertação (Pós graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas). 2013

MANSUR, A. A. P. **Mecanismo físico-químico de aderência na interface argamassa modificada com polímeros/cerâmica de revestimento**. Belo

Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG. 365p. 2007. (Tese, Doutorado em Engenharia Metalúrgica, Ciência e Eng. de Materiais). 2007.

MANSUR, H. S., SADAHIRA, C.M, SOUZA, A., MANSUR, A. A. P. FTIR spectroscopy characterization of poly(vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Material Science and Engineering C**, v.28, p.539-548, 2007.

MARANGON, A. A. S. **Compósitos de PVOH/Caulinita e PVOH/Caulinita funcionalizada.** 78f. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba -PR, 2008.

MARTINS, S. P. **Preparação de micro/ nanopartículas de quitosano para liberação controlada de Cisplatina.** 84f. 2013. Dissertação (Processos químicos e biológicos – Instituto Superior de Engenharia em Coimbra). 2013.

MELO, V; CUAMATZI, O. Bioquímica de los procesos metabólicos. **Editorial Reverté.** 2ª ed. 2007.

MENDONÇA, L. M. **Avaliação genotóxica e antígeno-tóxica da curcumina contra a toxicidade induzida pela cisplatina em culturas de células PC12.** 51f. 2008. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Toxicologia - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto) – Universidade de São Paulo, 2008.

MORAES, I. C. et al. Influência do grau de hidrólise do poli(vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) plastificados com glicerol. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v.28, n.3, p. 738-745. 2008.

MORAIS, W. A. **Estudos de sorção de um corante aniônico modelo em partículas de quitosana reticulada.** 107f. 2007. Dissertação (Centro de Ciências Exatas e da Terra) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2007.

MORAIS, L. S.; GUIMARÃES, G. S.; ELIAS, C. N. Liberação de íons por materiais metálicos. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 12, n. 6, p. 48 – 53, 2007.

NAGATA, N.; BUENO, I. M. S.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Métodos matemáticos para correção de interferências espectrais e efeitos interelementos na análise quantitativa por fluorescência de raio-x. **Química nova**, v. 24, n. 4, p. 531-539, 2001.

NASCIMENTO, J. A. et al. Análise screening de vinhos empregado um analisador fluxo-batela, espectroscopia UV-VIS e quimiometria. **Química Nova**, v. 33, n.2, p.351-357. 2010.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer. **Rev. Virtual Quim.**, n.3, p.196-209. 2011.

OLIVEIRA, F. M. **Desenvolvimento de filmes de quitosana e PVA em ácido Adípico**. 141f. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2015).

OLIVEIRA, A. H. P.; MOURA, J. A. S.; OLIVEIRA, M. H. P. Preparação e caracterização de microfibras de poli(álcool vinílico)/dióxido de titânio. **Polímeros**, v. 23, n. 2, p. 196- 200, 2013.

OREFICE, L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, S. H. **Biomateriais – fundamentos e aplicações**. Belo Horizonte: Guanabara Koogan, 2012. 538p.

PADILHA, A. F.; FILHO, F. A. Técnicas de análise micro estrutural. **Hemus**, p. 190. 2004.

PANGESTUTI, R.; KIM, S.K. Neuroprotective properties of chitosan and its derivatives. **Marine Drugs**, v. 8, p. 2117–2128, 2010.

PATRA, C.R.; BHATTACHARYA, R.; MUKHOPADHYAY, D.et al. Fabrication of gold nanoparticles for targeted therapy in pancreatic câncer. **Adv. Drug Deliv Rev.**, v. 62 n.3, p. 346-361, 2010.

PAVINATTO, A. **Efeito de características estruturais da quitosana sobre sua interação com filmes de langmuir como modelo de biomembrana**. 105 f. 2009. Dissertação (Mestre em Ciências e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; ORÉFICE, R. L. Novos biomateriais: híbridos orgânico-inorgânicos bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Out/Dez, 1999.

PINTO, H. P. F. **Três estratégias para análise quantitativa ou qualitativa por Espectroscopia de Fluorescência de Raio-x por energia dispersiva**. 139f. 2013. Dissertação (Engenharia Química) – Universidade de São Paulo, 2013.

PINTO, L. D. **Síntese e caracterização de compostos resultantes de cisplatina da interação de cisplatina com ácido guanidoacético e arginina**. 91f. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) – Pontífica Universidade Católica do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2006.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957 – 971. 2015.

PRAETORIOUS, N P; MANDAL, T K. Engineered nanoparticles in câncer therapy. **Recent patents on drug delivery & formulation**, v.1, p.37-51. 2007.

RANDON, F. R. **Avaliação dos níveis de genotoxicidade e estresse oxidativo em manipuladores de quimioterápicos em serviços de oncologia**. 88f. 2006. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, 2006.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. 2^a ed. Tóquio: Elsevier Academic, 2004. 851 p.

ROBERTS, G. A. F.; DOMSZY, J. G. Determination of the viscometric constants for chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 4, n. 6, p. 374-377. 1982

RODRIGUES, I. R. **Síntese e caracterização de redes poliméricas a base de Quitosana com PVP e PVA para aplicação na liberação controlada de fármacos**. 107f. 2006. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

SAMBUDI, N. S.; KIM, M. G.; PARK, S. B. The formation of web-like connection among electrospun chitosan/PVA fiber network by the reinforcement of ellipsoidal calcium carbonate. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 60, n. 1, p. 518-525, 2016.

SANTANA, R. C. Análise instrumental aplicada à polímeros, UFRGSEAD 11, 2009. Disponível em: asqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/index.html

SANTOS, E. M. S. **Modificação e caracterização da quitosana para uso como suporte em processos biotecnológicos**. 517f. 2009. Tese (Centro de Ciência e Tecnologia) – Universidade Estadual Norte do Fluminense, 2009.

SANTOS, E. S.; et al. Espectrofotometria de fluorescência de raio-x na determinação de espécimes químicas. **Enciclopédia Bioesfera**, v. 9, n. 17, p.3413 – 3432, 2013.

SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de shiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. 2004. Tese (Doutorado), Ciências – Área Química Analítica - Departamento de Química, Universidade federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L. Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “Saburica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877). **Scientia Plena**, v. 7, n. 9. 2011.

SAFDIE, F.M. et al. Fasting and cancer treatment in humans: a case series report. **Aging**, v.1, n.12, p.988-1007. 2009.

SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. **Oncogene**, n.22, p. 7265-7279. 2003.

SILVA, L. M. **Avaliação do uso de esferas de quitosana como adsorvente de Etinilestradiol em soluções aquosas**. 85f. 2014. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2014.

SILVA, M. C.; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da

incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 10, n. 1, p. 21–28, 2015.

SILVA, P. L.; GOMES, A. M. M.; RICARDO, N. M. P. S.; MACHADO, T. F. Elaboração e caracterização de blendas de amido fosforilado com quitosana e PVA. **Química Nova**, V. 34, n. 4, p. 1-6, 2016

SILVERSTEIN, R. M. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490p.

SINHORETI, M. A. C.; VITTI, R. P.; CORRER-SOBRINHO, L. Biomateriais na odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.67, n.4, p. 256-261, 2013.

SOUZA, M.L. et al. Aplicação de espectroscopia de Raman e infravermelho na identificação e quantificação de plastificantes em filmes comerciais de PVC esticável. **Química Nova**, v. 23; n. 6, p. 1452-1456. 2009.

SPIN-NETO, R. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP.**, n.37, v.2, p.155-161, 2008.

SURENDIRAN, A.; SANDHIYA; PRANDHAN,S.C. et al. Novel applications of nanotechnology in medicine. **Indian J Med Res**, v. 130, p. 689-701, 2009.

STASKO, J. et al. Ply (vinil alcohol) hydrogels. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences**, v. 58, n.1, p. 63 – 66, 2009.

TORRES, A. A. F. N.; et al. Microesferas de quitosana para utilização como sistemas de liberação controlada de fitoterápicos. **IV CONNEPI - Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**. Belém-PA, 2009.

TORRES, C. F. **Imobilização de TiO₂ p-25 em esferas de quitosana para uso em fotocatalise heterogênea**. 137f. 2013. Dissertação (Instituto de Química) – Unicamp – 2013.

VAN VLACK, L. H. **Princípios de ciência e tecnologia dos materiais**. Campus, 4 ed., p. 565. 2003.

VASCONSELOS, A.; CAVACO-PAULO, A. The use of keratin in biomedical applications. **Current Drug Targets**, v. 14, p. 612-619, 2013.

VYAS, P.; et al. Efficacy of Rasayana Avaleha as adjuvant to radiotherapy and chemotherapy in reducing adverse effects. **An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda**, v. 31, p.417-423. 2010.

ZHANG, X.; YANG, H.; GU, K. et al. In vitro and in vivo study of a nanoliposomal cisplatin as a radiosensitizer. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 437-444. 2011.

YANG, L.; PENG, XH.; WANG, Y.A. et al. Receptor-targeted nanoparticles for in vivo imaging of breast cancer. **Clin Cancer Res.**,v.15, n.14, pp.4722-4732.,2009.

YANG, J. M.; SU, W. Y.; LEU, T. L.; YANG, M. C. Evaluation of chitosan/PVA blended hydrogel membranes. Journal of membrane. **Science**, v.236, p.39-51, 2004.