

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Fabrízia Pereira Brito**

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA/GELATINA PARA  
LIBERAÇÃO DE MIDAZOLAM**

Campina Grande - PB

2018

**Fabrizia Pereira Brito**

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA/GELATINA PARA  
LIBERAÇÃO DE MIDAZOLAM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.**

**Orientador:** Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande - PB

2018

B862o Brito, Fabrizia Pereira.  
Obtenção e avaliação de filmes de quitosana/gelatina para liberação de midazolam / Fabrizia Pereira Brito. – Campina Grande, 2018.  
57 f ; il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".

Referências.

1. Sedativo. 2. Liberação Controlada. 3. Polímeros. 4. Midazolam. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 677.473(043)

## VITAE DO CANDIDATO

Fabrizia Pereira Brito

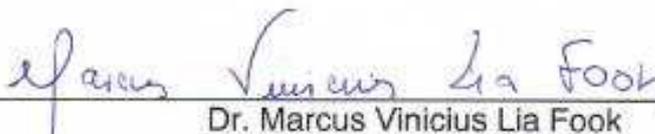
- Graduação em Medicina pela Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, em Novembro de 1990;
- Residência Médica em Clínica Médica no Hospital Universitário Lauro Wanderley pela Universidade Federal da Paraíba(UFPB) no período de 1991 a 1993;
- Especialização em Anestesiologia pela Sociedade Brasileira de Anestesiologia (SBA) no CET/SBA/RN no período de 1993 a 1995;
- Título de Especialista em Anestesiologia pela Associação Médica Brasileira (AMB) e pela Sociedade Brasileira de Anestesiologia (SBA) em 09 de Abril de 1996;
- Médica Anestesiologista da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) admitida através de concurso público em 1995, no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), atuando na prática clínica da Residência Médica em Anestesiologia nesse serviço;
- Médica Anestesiologista da Polícia Militar do Estado da Paraíba (PMPB), concursada desde 1998, no Hospital General Edson Ramalho, atuando na prática clínica da Residência Médica do CET/SBA/PB.

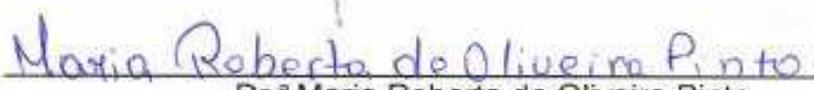
**FABRÍZIA PEREIRA BRITO**

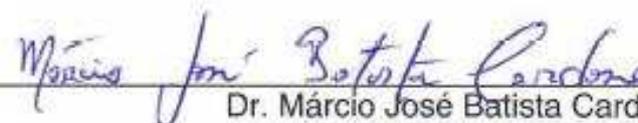
**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA/GELATINA PARA  
LIBERAÇÃO DE MIDAZOLAM**

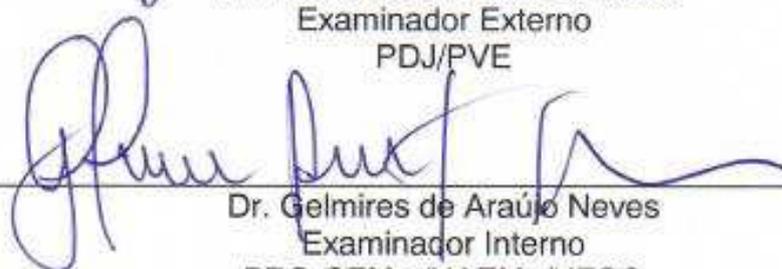
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais**.

Aprovado em: 24/04/2018

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Marcus Vinicius Lia Fook  
Orientador  
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG

  
\_\_\_\_\_  
Dr.ª Maria Roberta de Oliveira Pinto  
Examinadora Externa  
DQ/UEPB

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Márcio José Batista Cardoso  
Examinador Externo  
PDJ/PVE

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Gelmires de Araújo Neves  
Examinador Interno  
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG

*A real conquista não está no início, tampouco no fim ela se dispõe durante a travessia. Dessa forma, **DEDICO** essa conquista, primeiramente, a Deus pelo privilégio da vida e pelo dom da sabedoria. À minha família, pais, esposo e filhos amados, pois com zelo, estímulo e inspiração, acreditaram no meu trabalho e fizeram-no acontecer.*

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, minha força e meu refúgio, pela graça alcançada, saúde e serenidade, presença sempre constante em todos os momentos, de incertezas, de desânimos e de vitórias.

Aos meus **pais** muito amados, minha maior fonte de orgulho e inspiração, que nortearam meu caráter, sempre compartilhando meus sonhos, necessidades e aflições, aplaudindo cada nova conquista.

Ao meu **esposo e filhos**, amores sublimes, minha maior torcida, motivos da minha luta constante por aprendizado, coragem e fé, sempre presentes e tornando-me melhor a cada dia.

A minha secretária e amiga **Nazaré** presente em grande parte da minha trajetória, há quase 20 anos, sempre com uma palavra de força e estímulo, para que eu nunca desistisse diante dos tropeços.

Aos meus queridos **irmãos, cunhados, sobrinhos e amigos** pelo carinho e por representarem de onde eu venho e para onde sempre posso voltar e com quem sempre posso recorrer.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook** pela amizade, dedicação e zelo pelos seus alunos e pelo serviço, contribuindo com meu engrandecimento.

Aos queridos professores do CERTBIO, sempre atentos e dedicados, **Prof. Dr. Wladymyr Jefferson Bacalhau de Sousa** e **Prof. Dr. Rossemberg Cardoso**, que muito me ajudaram nessa conquista, com empenho, trabalho e muitas palavras de apoio e incentivo.

Enfim, a toda equipe de Biomateriais - **CERTBIO**, aos demais funcionários, doutorandos, mestrandos e alunos, a **Tânia** e **Paulinha** sempre prestativas, e em especial aos meus amigos do Mestrado, MEU MUITO OBRIGADO!

*“Se engana quem acha que a riqueza e o status atraem inveja... as pessoas invejam mesmo é o Sorriso fácil, a Luz própria, a Felicidade simples e sincera e a Paz interior”*

*Papa Francisco*

## RESUMO

O uso de ansiolíticos tem crescido nos últimos anos no mundo todo, pois um dos problemas mais recorrentes da população mundial é a ansiedade e distúrbios do sono. O desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos torna-se cada vez mais importante na promoção das ações terapêuticas a fim de reduzir as limitações nas terapias existentes. Diante disso, o uso de polímeros como a quitosana, que apresentam características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, mucoadesão, associada com outros polímeros como a gelatina, apresenta-se como uma alternativa viável para obtenção de um sistema de liberação controlada de diversos fármacos, incluindo os benzodiazepínicos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo obter filmes de Quitosana/Gelatina para liberação do Midazolam. Os filmes foram preparados pelo método de evaporação de solvente, através da dissolução da quitosana em ácido acético (1% v/v), para uma concentração final da solução polimérica (1% m/v), seguida da incorporação de gelatina (20% m/m) e Midazolam (0,03mg/mL). Após a obtenção os filmes foram caracterizados utilizando a MO, DRX, FTIR, Grau de Intumescimento, Biodegradação e Molhabilidade por Medida de Ângulo de Contato. Na MO observou-se no material superfícies uniformes e densas. No ensaio de DRX pode-se confirmar que a incorporação do fármaco e da gelatina na solução de quitosana acarretou na redução da cristalinidade do filme. No ensaio de FTIR evidenciou-se a interação do fármaco e da gelatina com os grupamentos hidroxila e amina da quitosana. Observou-se um aumento do grau de intumescimento com a adição do fármaco. Na análise de biodegradação, observou-se que a mesma é influenciada pela adição de gelatina e principalmente pelo fármaco. Os resultados de Molhabilidade demonstraram que o material tem caráter hidrofílico e que a incorporação do fármaco possibilitou o aumento da hidroflicidade do mesmo. Mediante o exposto nota-se que o sistema apresentou homogeneidade, adequada interação química entre os constituintes e foi possível obter filmes de Quitosana/Gelatina incorporadas com Midazolam. Sendo assim, conclui-se que os filmes apresentam potencial para utilização em sistema de liberação de midazolam, vislumbrando o uso como biomaterial biodegradável com ação ansiolítica.

**Palavras-chave:** Sedativo. Liberação controlada. Polímeros. Midazolam.

## ABSTRACT

The use of anxiolytics has grown in recent years worldwide, as one of the most recurrent problems in the world population is anxiety and sleep disorders. The development of new drug delivery systems becomes increasingly important in promoting therapeutic actions in order to reduce the limitations in existing therapies. Therefore, the use of polymers such as chitosan, which exhibit characteristics of biodegradability, biocompatibility, mucoadhesion, associated with other polymers such as gelatine, is presented as a viable alternative to obtain a controlled release system of several drugs, including benzodiazepines. Thus, the present work aimed to obtain Chitosan / Gelatin films for the release of Midazolam. The films were prepared by the solvent evaporation method, by dissolving the chitosan in acetic acid (1% v / v), to a final concentration of the polymer solution (1% m / v), followed by the incorporation of gelatin (20% m / m) and Midazolam (0.03mg / ml). After obtaining the films were characterized using MO, DRX, FTIR, Degree of Swelling, Biodegradation and Wettability by Contact Angle Measurement. In OM, uniform and dense surfaces were observed in the material. In the XRD assay it can be confirmed that the incorporation of the drug and gelatin in the chitosan solution led to the reduction of film crystallinity. In the FTIR assay the interaction of the drug and gelatin with the hydroxyl and amine groups of the chitosan was evidenced. As to the degree of swelling, a greater increase of the samples with the drug was observed. In the biodegradation analysis, it was observed that it is influenced by the addition of gelatin and mainly by the drug. The Wettability results showed that the material has a hydrophilic character and that the incorporation of the drug enabled the increase of the hydrophilicity of the same. It was observed that the system presented homogeneity, adequate chemical interaction between the constituents and it was possible to obtain Chitosan / Gelatin films incorporated with Midazolam. Thus, it is concluded that the films present potential for use in the midazolam release system, with the use of biodegradable biomaterial with anxiolytic action.

**Key-words:** Sedative. Controlled release. Polymers. Midazolam.

## **PUBLICAÇÕES**

F. P. Brito<sup>1\*</sup>; T. G. C. Garcia<sup>1</sup>; A. G. Bezerra Junior<sup>1</sup>; W. J. B. Sousa<sup>1</sup>; R. C. Barbosa<sup>1</sup>; A. F. Tomaz<sup>2</sup>; M. V. L. Fook<sup>1</sup>. Obtenção e avaliação de filmes de gelatina/quitosana para liberação sublingual de midazolam. Revista Eletrônica de Materiais e Processos – REMAP. ISSN 1809-8797.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura química da quitina e da quitosana (Fonte: Weber, 2016).....	20
Figura 2 – Estrutura química do Midazolam (Cristalia, 2018).....	25
Figura 3 – Fluxograma simplificado da metodologia de obtenção das amostras (Fonte: Própria).....	29
Figura 4 - Aparelho goniômetro (Fonte: Própria).....	33
Figura 5 – Filmes confeccionados na pesquisa (Fonte: Própria). ....	34
Figura 6 – Imagens de MO dos filmes (Fonte: Própria).....	35
Figura 7 – Difratoograma de raios X da quitosana (Fonte Própria). ....	36
Figura 8 – Difratoograma de raios X da gelatina (Fonte: Própria).....	37
Figura 9 – Difratoogramas de raios X das amostras de quitosana e quitosana/gelatina (Fonte: Própria). ....	38
Figura 10 – Difratoogramas de raios X das amostras de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco (Fonte: Própria). ....	39
Figura 11 – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier do pó da quitosana (Fonte: Própria).....	40
Figura 12 – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier da gelatina (Fonte: Própria).....	41
Figura 13 – Espectros de FTIR das amostras de quitosana e quitosana/gelatina (Fonte: Própria). ....	42
Figura 14 – Espectros de FTIR das amostras de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco (Fonte: Própria). ....	43
Figura 15 – Percentual de intumescimento das amostras (Fonte: Própria).....	44
Figura 16 – Molhabilidade dos filmes (Fonte: Própria). ....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Codificação das amostras. ....	30
Tabela 2 - Perda de massa percentual dos filmes de quitosana e dos biocompósitos submetidos a ensaios de biodegradação. ....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFMG - Universidade Federal de Campina Grande  
CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste  
-CO-CH<sub>3</sub> - Grupo Acetil  
-NH<sub>2</sub> - Grupo Amina  
SLC - Sistemas de Liberação Controlada  
pH - Potencial Hidrogeniônico  
SNC - Sistema Nervoso Central  
Lisozima - *Lysozyme From Hen White*  
PBS - *Phosphate Buffered Saline*  
CH<sub>3</sub>COOH - Ácido Acético  
NH<sub>4</sub>OH - Hidróxido de Amônio  
ASTM - *American Society for Testing and Materials*  
DRX - Difração de Raios X  
MO - Microscopia Ótica  
FTIR - Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier  
Mf - Peso Final  
Mi - Peso Inicial  
Q – Filmes de Quitosana  
QG – Filmes de Quitosana e Gelatina  
QF – Filmes de Quitosana e Fármaco  
QGF – Filmes de Quitosana, Gelatina e fármaco  
OMS – Organização Mundial de Saúde  
BDZ - Benzodiazepínicos  
CO<sub>2</sub> – Dióxido de Carbono  
O<sub>2</sub> – Gás Oxigênio  
COOH – Ácido carboxílico  
GABA – Ácido gama-aminobutírico  
C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> – Ácido acético  
mL – Mililitro  
NaOH- Hidróxido de sódio  
C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>ClFN<sub>3</sub> – Midazolam  
v/v – Volume/volume

m/v – Massa/volume

h – Hora

°C – Grau Celsius

cm – Centímetro

wt – Peso final

w0 – Peso inicial

GI – Grau de intumescimento

NH<sub>3</sub><sup>+</sup> - Amoníaco

COO<sup>-</sup> - Carboxila

NHCOCH<sub>3</sub> – Quitosana

NH – Amina

C-O-C- Éter

min – Minuto

m/m – Massa/massa

mA – Miliampere

mg – Miligrama

KV – Kilovolt

Á - Ampere

CH<sub>3</sub> - Metano

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1 Biomateriais .....	18
2.1.1 Quitosana .....	19
2.1.2 Gelatina .....	21
2.2 Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos .....	21
2.3 Sedação e Benzodiazepínicos .....	23
2.4 Midazolam.....	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 Local da Pesquisa.....	27
3.2 Materiais .....	27
3.2.1 Reagentes .....	27
3.3 Métodos .....	27
3.3.1 Obtenção dos filmes de quitosana.....	27
3.3.2 Obtenção dos filmes de quitosana com gelatina .....	28
3.3.3 Obtenção dos filmes de quitosana com gelatina e Midazolam .....	28
3.4 Caracterização.....	30
3.4.1 Microscopia Óptica (MO) .....	30
3.4.2 Difração de raios X (DRX) .....	30
3.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	31
3.4.4 Grau de Intumescimento .....	31
3.4.5 Biodegradação.....	31
3.4.6 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato .....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1 Microscopia Óptica (MO) .....	34
4.2 Difração de raios X (DRX).....	35
4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	39
4.4 Grau de Intumescimento.....	44
4.5 Biodegradação.....	45
4.6 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato.....	47

5 CONCLUSÃO.....	49
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos problemas mais recorrentes da população mundial é a ansiedade e distúrbios do sono que são problemas comuns e crescentes na sociedade atual, visto que a sociedade moderna vivencia em sua grande parte um elevado nível de estresse, o que caracteriza um aumento na busca de substâncias que produzam sensação de prazer e bem-estar físico e/ou mental, sendo os sedativos e hipnóticos uma das classes mais utilizadas com propriedade ansiolítica (Forsan, 2010). Segundo a OMS (2017) o Brasil tem a taxa mais elevada de pessoas com transtornos de ansiedade do mundo e o quinto maior com depressão, segundo o mesmo a estimativa é que 18,6 milhões de brasileiros viviam com algum transtorno de ansiedade no ano de 2015 e 11,5 milhões de pessoas, com depressão no País. Ainda segundo a mesma, 322 milhões de pessoas pelo mundo sofrem de depressão, 18% a mais que há dez anos o que equivale a 4,4% da população do planeta.

A utilização de fármacos a base de benzodiazepínicos (BDZ) são prescritos pelos médicos para a população desde as décadas de 1970 e 1980, uma vez que demonstraram eficácia no combate da ansiedade, insônia, agressividade e convulsões, dentre outras ações, além dessas indicações estes fármacos a base de BDZ possui efeitos menos adversos sobre o sistema nervoso central (Kapczinski, 2001).

O midazolam é um fármaco a base de benzodiazepínicos que tem propriedades ansiolíticas e anestésicas. Quando administrado por via oral, o midazolam produz uma sedação moderadamente rápida (<45min) sem impacto significativo no tempo de recuperação e é extremamente utilizado como pré-medicação para reduzir a ansiedade pré-operatória e procedimentos terapêuticos ou diagnósticos curtos em pacientes (Cox *et al.*, 2006). Alguns sistemas de liberação de fármacos utilizando matrizes poliméricas biodegradáveis como a quitosana e colágeno, destinam-se a liberar a substância no organismo de modo que seja absorvido com rapidez e completamente, enquanto outros devem liberar o princípio ativo lentamente para que a ação do mesmo seja prolongada (Vall e Almeida Filho, 2001; Stulzer *et al.*, 2007).

A quitosana é um biopolímero que já vem sendo estudado como sistema polimérico na liberação de fármacos em diversas classes terapêuticas, tais como, antibióticos, antiinflamatórios, anti-depressivos entre outras. Ela é um polissacarídeo biodegradável, atóxico e devido às suas características tem se tornado um material

potencialmente atraente para diversos usos, principalmente na área farmacêutica (Almeida, 2009). Outro biopolímero com potencial aplicações biomédicas, inclusive na utilização em sistemas de liberação de fármaco é a gelatina, um derivado do colágeno que é uma proteína presente na grande maioria dos seres vivos (Prestes, 2012; Bader e Putnam, 2014).

De acordo com a literatura o sistema de liberação de fármaco apresenta potencial e aplicabilidade prática nas mais variadas situações clínicas, particularmente para pacientes com limitações para o uso oral e parenteral das drogas, como crianças e idosos, pacientes especiais, pacientes com problemas gastrointestinais, uma vez que os mesmos são de fácil aplicação, boa tolerância e aceitação do paciente, absorção controlada da droga, baixa toxicidade e complicações. Baseado no exposto, o presente trabalho teve como objetivo obter filmes de Quitosana/Gelatina para liberação do Midazolam para fins ansiolíticos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biomateriais

Um biomaterial é uma substância ou a combinação de substâncias de origem natural ou sintética, que foi projetada e conformada para que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, possa ser usada para direcionar, controlar as interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, em medicina humana ou veterinária (Williams, 2009; Keane e Badylak, 2014).

O campo da ciência dos biomateriais abrange quatro classes principais do ponto de vista da Engenharia de Materiais: poliméricos, cerâmicos, metálicos e compósitos. Estes materiais são amplamente utilizados na ginecologia, obstetrícia, odontologia, oftalmologia, ortopedia, ou seja, em diversas aplicações médicas e biológicas. Além das considerações acerca das classes dos materiais, um fator considerado primordial na utilização ou combinação desses, para que possam atuar em sistemas *in vivo* de forma eficiente e/ou reparadora em determinada perda ou patologia, é a biocompatibilidade (Ratner *et al.*, 2005; Oréfice, Pereira e Mansur, 2012).

A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material apresentar resposta apropriada, quando aplicado, não causando reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade. Ela gira em torno da interação celular com o biomaterial. Além da biocompatibilidade, a biodegradabilidade e a bioabsorção, são outras características importantes na utilização dos mesmos (Santos Júnior e Wada, 2007; Attaf, 2011).

Sabendo disso, os biomateriais poliméricos estão dentre os mais empregados no âmbito médico. Dentre as principais vantagens em comparação aos materiais cerâmicos ou metálicos, destacam-se a facilidade de fabricação para produzir formas variadas (partículas, filmes, fios, dentre outros), o processamento secundário, custo razoável e sobretudo sua biointeração com o meio biológico (Heath, Cooper, 2013).

Dentre as diversas classes de biomateriais existentes, destaca-se a classe dos bioreabsorvíveis. Os polímeros biodegradáveis/reabsorvíveis são materiais que acabam por ser degradados, solubilizados ou fagocitados após a reparação dos

tecidos, evitando a permanência de um corpo estranho no organismo (Santos Júnior e Wada, 2007; Nandi *et al.*, 2010).

Um dos desafios no campo de biomateriais é que todos os dispositivos de implantes, cujas propriedades físicas são resultado de milhões de anos de otimização evolutiva e que têm a capacidade de crescimento, regeneração e reparo sejam utilizados na medicina. E nesse contexto, as aplicações dos biopolímeros na medicina regenerativa tem se tornado cada vez mais eficaz no tratamento de feridas, na liberação controlada de fármacos, entre outras (Mogosanu e Grumezescu, 2014; Orefice *et al.*, 2006).

Para tanto, a utilização de biomateriais à base de quitosana e gelatina são uma realidade na área da saúde, e sua aplicação vem sendo estudada em vários campos, desde a indústria farmacêutica, até a engenharia tecidual. Tendo em vista que esses polímeros naturais possuem grupos funcionais (como grupamentos amino, grupos carboxílicos e hidroxilas) disponíveis para modificações químicas (hidrólise, oxidação, redução, esterificação, ligações cruzadas, etc.) e enzimáticas e que também interagem com outras moléculas, através destes pode-se obter uma vasta variedade de produtos com propriedades adaptáveis (Gomes *et al.*, 2013; Spin-Neto *et al.*, 2008).

### 2.1.1 Quitosana

A quitosana é um biomaterial polimérico linear obtido geralmente pela desacetilação alcalina da quitina, que é um polissacarídeo constituído de unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose, ligadas através de ligação  $\beta$ -(1→4). Tem grande importância econômica e ambiental por ser obtida a partir da quitina (Spin -Neto *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2012).

A desacetilação da quitina leva à obtenção de quitosana, seu mais importante derivado, cuja estrutura primária é idêntica à da quitina a não ser pelo fato que em quitosana predominam as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose. De fato, a completa desacetilação da quitina raramente é realizada, pois são necessárias muitas reações consecutivas, que também favorecem a sua progressiva despolimerização. Assim, o termo quitosana abrange o conjunto de copolímeros que contém ao menos 50-60% de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose, como pode ser visualizada na estrutura química (Figura 1) da quitina e quitosana (Abram e Higuera, 2004; Zvezdova, 2010; Weber, 2016).

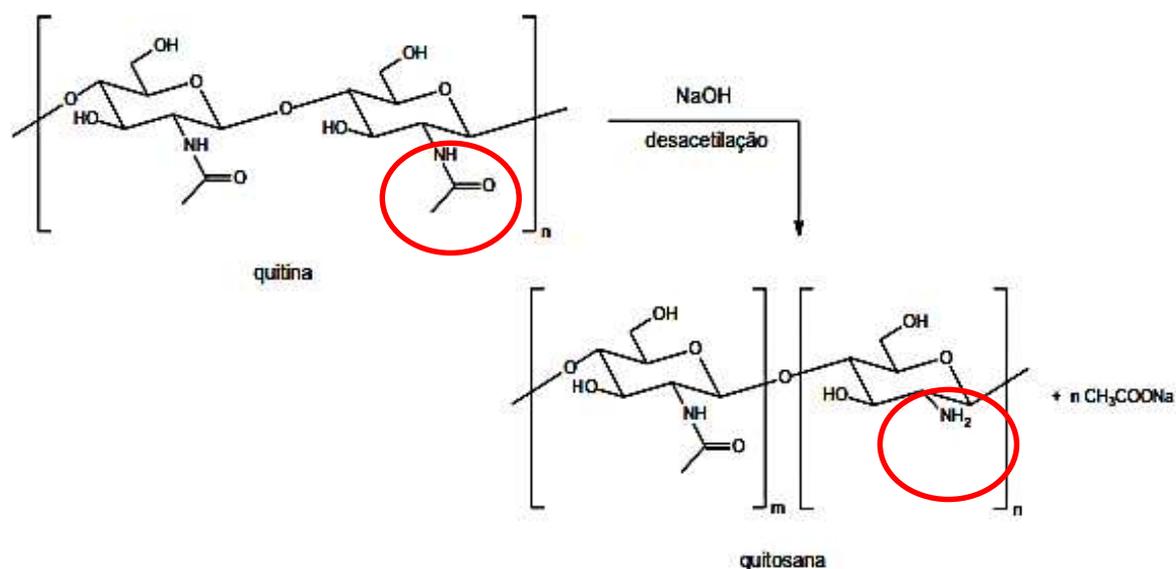


Figura 1 - Representação da estrutura química da quitina e da quitosana (Fonte: Weber, 2016).

A quitosana apresenta propriedades interessantes por ser um biopolímero versátil, possuindo propriedades intrínsecas tais como biocompatibilidade, não toxicidade, biodegradabilidade e bioadesividade. Essas características despertam interesse de inúmeros pesquisadores que visam o desenvolvimento de novos produtos, baseados em suas aplicações tecnológicas e biomédicas (Lourenço, 2006; Ávila *et al.*, 2012; Fráguas *et al.*, 2015)

A versatilidade da quitosana permite sua conformação em formas tão variadas quanto sua aplicabilidade como fibras, arcabouços, membranas, esferas etc. Por ela não ser hidrolisada pelas enzimas digestivas no homem e a sua estrutura química ser similar a da celulose, ela pode ser usada como um novo tipo de fibra dietética. A aplicação da mesma no meio biológico depende de sua massa molar e de seu grau de acetilação, e isto está relacionado à efetividade do processo de desacetilação da quitina, além da forma como se apresenta, isto é, como gel, fibra, nanopartícula, esponja, membrana, pó ou filme. Nas formas de esponja e micro grânulos, também pode ser utilizado para liberação de drogas (Jayakumar *et al.*, 2010). Tendo em vista as limitações da quitosana e, vislumbrando otimizar suas características, as pesquisas tem se intensificado cada vez mais na utilização de outro biopolímero nos sistemas de liberação de fármaco, como é o caso da gelatina.

### 2.1.2 Gelatina

A gelatina é considerada um biopolímero natural solúvel a base de proteína e obtida a partir da hidrólise parcial do colágeno que é insolúvel. Por apresentar características biocompatíveis e biodegradáveis, esta representa uma alternativa como material de encapsulação com liberação controlada de drogas, onde o sistema de entrega pode contemplar os hidrogéis, filmes, microesferas e nanopartículas (Lai, 2013; Khan e Scheneider, 2013). Filmes de hidrogéis produzidos a partir de proteínas apresentam alta permeabilidade ao vapor de água e efetiva barreira contra gases como CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (Carvalho e Grosso, 2006).

Uma vantagem da sua utilização é a naturalidade que leva ao baixo custo e facilidade na obtenção, além de possuir antigenicidade. Com relação a estrutura da gelatina, esta apresenta muitos grupos funcionais acessíveis como -NH<sub>2</sub>, -SH e -COOH, que são capazes de formar estrutura tripla-hélice, permitindo maiores oportunidades de modificação para o acoplamento e direcionamento de ligantes, como no caso de agentes reticulantes que auxiliam no fortalecimento da rede, como dos hidrogéis, por exemplo (Liu, Liu e Wang, 2011; Khan e Scheneider, 2013).

As propriedades da gelatina estão divididas em dois grupos principais: as propriedades relativas ao comportamento gelificante e as propriedades fundamentadas em seu comportamento superficial (baseadas na presença de grupos carregados, seções hidrofílicas ou hidrofóbicas da cadeia proteica) conseguindo assim ter aplicações na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica. Assim, estes materiais conseguem facilmente formar películas, microencapsular compostos, estabilizar emulsões, apresentando as propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, que fazem deles materiais promissores para a preparação de biomateriais (Gómez - Guillén *et al.*, 2011). Além das utilizações citadas, a gelatina vem sendo intensamente estudada no controle da liberação de fármaco e alguns estudos comprovam que a mesma pode influenciar no tempo de liberação do mesmo.

## 2.2 Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos

A procura por novos sistemas de liberação controlada de fármacos ou adequação dos já existentes, tem sido muito relevante no sentido de se estabelecer alternativas terapêuticas mais eficientes, que possibilitem administrá-los com mais

segurança e com efeitos colaterais minimizados. Para a administração de fármacos na cavidade oral pode se recorrer às formulações convencionais, tais como, os géis, as pastas dentifrícias, as pastilhas e os enxaguatórios bucais. As pastilhas produzem níveis efetivos do fármaco por cerca de 1 h, requerendo administrações repetidas que levam à ingestão de grande quantidade de fármaco. O mesmo acontece com os enxaguantes bucais (Del Valle *et al.*, 2009, Coimbra, 2010).

A obtenção de um SLC é bastante difícil, pois o sistema deve transportar o fármaco para seu sítio de ação, tornando-o disponível na concentração eficaz, em um tempo apropriado, para uma duração de ação adequada. Para se obter tais requisitos são necessários conhecimentos e integrações de uma série de aspectos de natureza diversa, tais como: propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco; via de administração e as consequentes barreiras fisiológicas e bioquímicas impostas à absorção das propriedades físico-químicas, biocompatibilidade, comportamento *in vivo* fármaco; propriedades do material/materiais base do SLC, interações com o fármaco, etc; métodos e tecnologias envolvidas na produção do SLC (Coimbra, 2010).

As formas convencionais de administração de fármacos têm a desvantagem de liberar as substâncias ativas rapidamente, podendo assim, conduzir a níveis sub-terapêuticos em um curto período de tempo após a administração. A eficácia terapêutica de um fármaco não depende apenas da sua atividade farmacológica intrínseca, mas de fatores relacionados às suas propriedades físico-químicas e aos componentes usados na formulação, além dos processos de fabricação. Então é certo que o desenvolvimento de formulações bioadesivas de liberação controlada é importante pela sua superioridade em relação às formas farmacêuticas convencionais (Baby, 2007).

A quitosana e a gelatina tem despertado o interesse dos pesquisadores para uso em sistema de liberação de fármacos na cavidade bucal, visto que as suas atividades podem ser devido às interações eletrostáticas entre grupos funcionais destes materiais com os mais diversos fármacos. Sistemas de liberação bucal mucoadesivos desenvolvidos a partir de hidrogéis de quitosana parecem ser apropriados para prolongar o tempo de residência da forma farmacêutica, melhorando o efeito terapêutico (Laranjeira e Fávere, 2009).

A quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável. Devido a estas propriedades favoráveis, o

interesse da quitosana e seus derivados em aplicações de liberação de fármacos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. Em tais aplicações é extremamente importante que a quitosana seja hidrossolúvel e carregada positivamente. Estas características fazem com que este biopolímero interaja com polímeros carregados negativamente, macromoléculas e poliânions em meio aquoso, ajudando na difusão de fármacos no mecanismo de liberação (Laranjeira e Fávère, 2009).

Seu emprego para a formação de sistemas de liberação controlada inclui a habilidade de controlar a liberação de agentes ativos, e de não necessitar de solventes orgânicos durante a síntese de partículas, devido a sua solubilidade em meio ácido. Os sistemas produzidos com quitosana são mucoadesivos, facilitando a passagem do princípio ativo, podendo ser administrada por via oral, transmucosa, nasal, ocular e cutânea (Dash *et al.*, 2011).

Dessa forma, ao escolher o sistema adequado para a liberação do fármaco estudado, podem-se utilizar meios na tentativa de aprimorar a processabilidade e as propriedades mecânicas para ser utilizado como carregador de fármaco, sendo isso possível à medida que novas tecnologias são desenvolvidas, de forma a reduzir as limitações nas terapias existentes (Abreu, 2005; Ansel *et al.*, 2013). No caso do fármaco estudado nesta pesquisa trata-se de um sedativo.

### **2.3 Sedação e Benzodiazepínicos**

Ansiedade é definida como um conjunto de manifestações comportamentais que pode apresentar-se como estado ou traço de ansiedade. O primeiro é tido como condição emocional temporária que varia em intensidade e flutua com o tempo enquanto que o traço de ansiedade é uma característica da personalidade que permanece relativamente estável durante o tempo. Durante o período que antecede a anestesia, a ansiedade pode se manifestar de diversas formas. Estudos antigos já mostravam que induções tempestuosas estão associadas à distúrbios no comportamento pós-operatório, tanto em adultos, como em crianças (Forsan, 2010).

Sedação é um procedimento que leva ao aprofundamento do nível de consciência do paciente, por meio da utilização de fármacos sedativas com o objetivo primordial de permitir o tratamento. Para tanto, a sedação consciente se constitui num método efetivo de controle da ansiedade, por produzir depressão mínima do nível de consciência do paciente, não afetando sua capacidade de respirar de forma

automática e independente de responder à estimulação física e ao comando verbal (Negro Jr, 2007; Ramos *et al.*, 2009).

Os benzodiazepínicos são uma classe de fármacos psicotrópicos cuja estrutura química é a fusão de um anel de benzeno com um anel de diazepina, eles estão entre as drogas mais largamente prescritas e empregadas em todo o mundo, constituindo a principal modalidade terapêutica para o tratamento de desordens relacionadas à ansiedade. A identificação de sítios de ligação específicos para os benzodiazepínicos em estruturas do Sistema Nervoso Central (SNC), como o sistema límbico, possibilitou a compreensão do seu mecanismo de ação. Foi demonstrado que essas drogas, ao se ligarem aos receptores, potencializam a ação do Ácido Gama-Amino Butírico (GABA), o neurotransmissor inibitório primário do SNC. A ativação do receptor GABA induz a abertura dos canais de cloreto da membrana dos neurônios, aumentando o influxo desse ânion para dentro das células, o que resulta, em última análise, na diminuição da propagação de impulsos excitatórios e, conseqüente, depressão do SNC (Amaral e Machado, 2012).

A ação dos benzodiazepínicos é praticamente limitada ao SNC, embora mínimos efeitos cardiovasculares e respiratórios sejam observados. Os benzodiazepínicos apresentam baixa incidência de efeitos adversos e toxicidade, particularmente em tratamentos de curta duração. Entretanto, uma pequena porcentagem dos pacientes (principalmente crianças e idosos) pode apresentar o chamado “efeito paradoxal”, caracterizado por excitação, agressividade e irritabilidade, mesmo em baixas doses (Amaral e Machado, 2012; Katzung, Masters e Trevor, 2014).

Segundo relatos de Silva (2012), os benzodiazepínicos são utilizados como substitutos para fármacos usados no tratamento de ansiedade, os sedativos-hipnóticos como meprobamato e barbitúricos, e ganharam ênfase devido ao baixo risco de intoxicação e alto índice terapêutico, passando a ser os medicamentos de escolha para os transtornos de ansiedade.

## **2.4 Midazolam**

O midazolam é um benzodiazepínicos, foi sintetizado em 1975 e inicialmente empregado como hipnótico, sendo utilizado em sedação pré, intra e pós-operatórias, com o objetivo de promover ansiólise, hipnose, amnésia e elevar o limiar dos efeitos

convulsivantes dos anestésicos locais. Além disso, nos últimos anos, está sendo testado como anti-emético (Lee *et al.*, 2007). O seu início de ação ocorre com 2 a 3 minutos da administração, atingindo sua concentração máxima após 30 minutos e com uma duração de efeito de aproximadamente 2 a 4 horas, dependendo da dose utilizada (Reves *et al.*, 2000).

O mecanismo de ação ocorre pela ativação dos receptores do GABA no sistema nervoso central, que leva o aumento da condutância aos cloretos e, conseqüentemente, hiperpolarização neuronal, produzindo os efeitos já citados (Young *et al.*, 2000).

É um benzodiazepínico hidrossolúvel, de ação curta, com potência duas a três vezes maior que o diazepam. Possui meia vida de distribuição ( $t_{1/2}$ ) de 5 a 10 minutos e de eliminação ( $t_{1/2}$ ) de 2 a 4 horas e o anel imidazólico em sua estrutura contribui para seu rápido metabolismo e estabilidade em solução aquosa (Figura 2) (Cristalia, 2018).

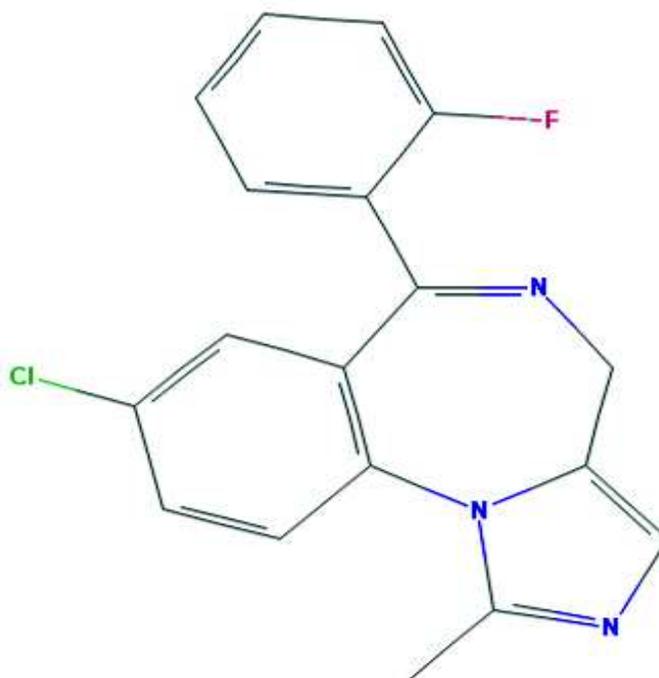


Figura 2 – Estrutura química do Midazolam (Cristalia, 2018).

As vias de administração incluem a venosa, a intramuscular, a oral, a intranasal e a retal. Após injeção parenteral, o anel imidazólico fecha-se, permitindo que o midazolam torne-se altamente lipossolúvel, resultando no rápido início de seus efeitos centrais. No uso clínico, as preparações de midazolam são compatíveis com as

soluções cristaloides, com os opioides e com as drogas anticolinérgicas (Cox *et al.*, 2006).

O midazolam tem alta ligação proteica, e cerca de 96% da dose administrada liga-se à albumina. Tal ligação não parece depender da concentração plasmática. Nos estados fisiológicos normais, o composto altamente lipofílico é visível pelos seus efeitos rápidos sobre o SNC e por seu grande volume de distribuição. O desaparecimento de seus efeitos sobre o SNC é devido, principalmente, pela redistribuição, embora, após infusão extensa e prolongada, seja necessário aumentar a dosagem devido a eliminação hepática progressivamente maior. Sua velocidade normal de depuração varia de 6 a 11 mL.kg.min<sup>-1</sup> (Seo *et al.*, 2010).

Quando administrado por via oral, o midazolam é absorvido pelo trato gastrointestinal, e aproximadamente 50% do fármaco atinge a circulação sanguínea, apresentando um efeito hepático de primeira passagem importante (Cox *et al.*, 2006).

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO.

### 3.2 Materiais

- Quitosana - Produzida no CERTBIO, em Grau Médico. Massa molar 260KDa (Médio Peso). Acima 90% Grau de desacetilação;
- Gelatina tipo A obtida de pele suína - Sigma Aldrich;
- Midazolam ( $C_{18}H_{13}ClFN_3$ ) – Cristália<sup>®</sup>.

#### 3.2.1 Reagentes

- Ácido Acético Glacial ( $C_2H_4O_2$ ) PA - Vetec<sup>®</sup>.
- Hidróxido de Sódio (NaOH) - Vetec<sup>®</sup>.
- Lisozima - Sigma Aldrich<sup>®</sup>.
- PBS: *Phosphate Buffered Saline* (PBS) - Sigma Aldrich<sup>®</sup>, pH = 7,4.
- Água destilada.

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Obtenção dos filmes de quitosana

Os filmes foram preparados pelo método de evaporação de solvente, através da dissolução do polímero em ácido acético (1% v/v), para uma concentração final da solução polimérica (1% m/v), sob agitação magnética por um período de 2 h, à uma temperatura de 40 °C.

Após obtenção da solução de quitosana, a mesma foi distribuída em placas de Petri de acrílico de 5,5 cm, tendo cada placa o volume final de 30 mL de solução, logo

após foram submetidas à secagem na estufa a 40 °C por 24 horas para a completa evaporação do solvente. Em seguida, conduziu-se a neutralização em hidróxido de sódio 1 M por 30 min, seguido da lavagem em água destilada e posteriormente levando-as a estufa a 40° C para secagem e caracterização.

### **3.3.2 Obtenção dos filmes de quitosana com gelatina**

Os filmes de quitosana com gelatina foram preparadas seguindo a metodologia anteriormente citada, sendo acrescida na solução de quitosana, a gelatina no percentual de 20% (m/m) em relação a massa de quitosana.

### **3.3.3 Obtenção dos filmes de quitosana com gelatina e Midazolam**

Inicialmente, o fármaco na proporção de 0,03 mg/mL foi colocado dentro das soluções de quitosana com e sem gelatina obtidas através das etapas anteriores, sob agitação magnética até a total homogeneização das soluções, logo após a obtenção das soluções, as mesmas passaram pelo mesmo processo de obtenção dos filmes descrito anteriormente. A Figura 3 ilustra o fluxograma simplificado da elaboração dos filmes confeccionado.

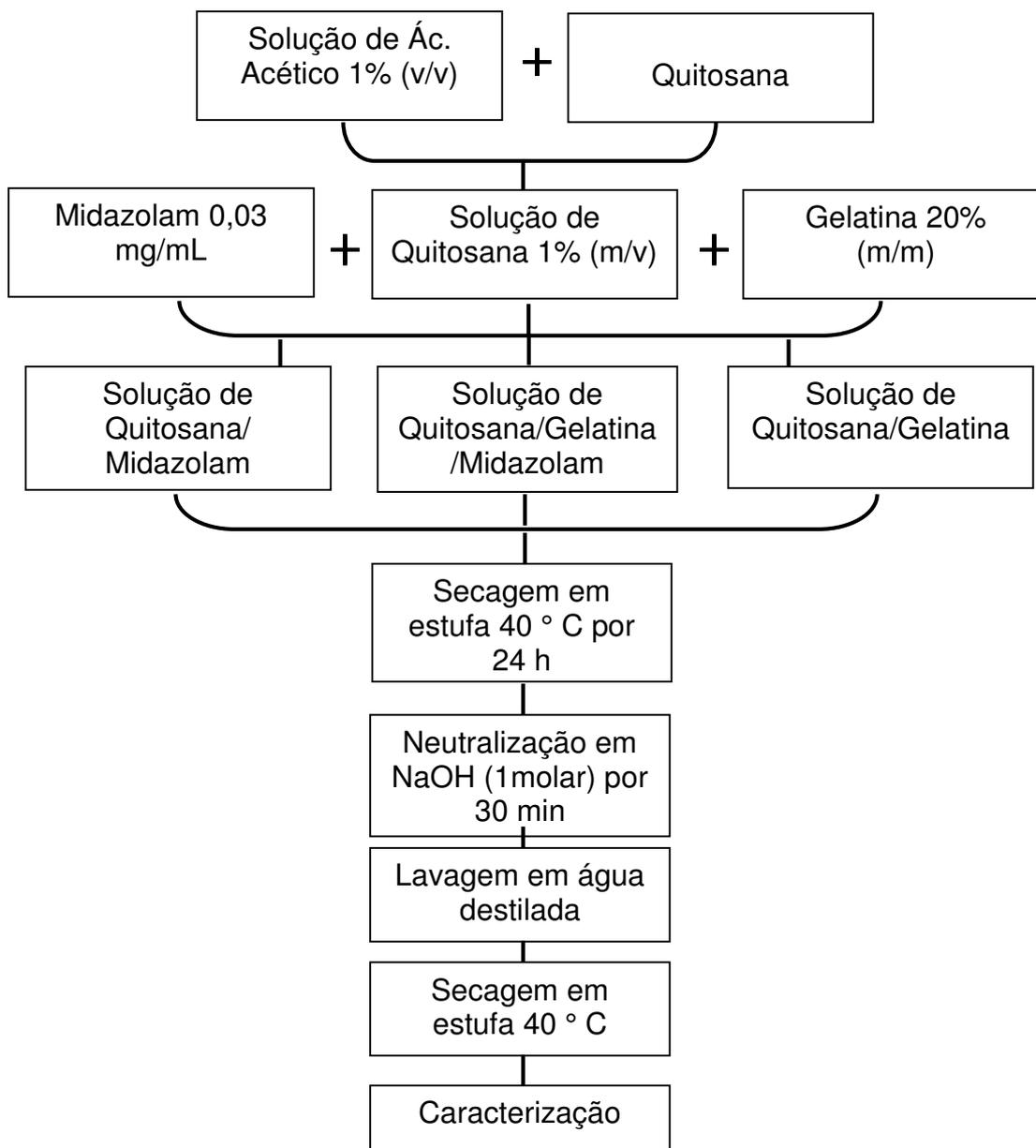


Figura 3 – Fluxograma simplificado da metodologia de obtenção das amostras (Fonte: Própria).

Após a obtenção das amostras, as mesmas foram codificadas conforme ilustradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Codificação das amostras.

<b>Codificação</b>	<b>Amostras</b>
Q	Filmes de Quitosana
QG	Filmes de Quitosana e Gelatina
QF	Filmes de Quitosana e Fármaco
QGF	Filmes de Quitosana, Gelatina e fármaco

Fonte: Própria

Os filmes foram caracterizados por Microscopia Ótica (MO), Difração de raios X (DRX), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Grau de Intumescimento, Biodegradação e Molhabilidade por Medida do Ângulo de Contato.

### **3.4 Caracterização**

#### **3.4.1 Microscopia Ótica (MO)**

A caracterização através do ensaio de MO foi utilizada para avaliar a morfologia dos filmes. A análise foi realizada em um Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D, além de promover uma variação de 50X-400X, onde o mesmo é acoplado a uma estação de análise de imagens. As imagens foram obtidas com magnificação de 160x.

#### **3.4.2 Difração de raios X (DRX)**

As análises por meio do DRX foram conduzidas a temperatura ambiente em modelo XRD-7000, marca Shimadzu, onde se utilizou a radiação  $K\alpha$  do cobre (1,5418 Å), a tensão de 40 kV e a corrente de 30 mA. As amostras foram examinadas em um intervalo de  $2\theta$  entre 5 e 70,0 graus, com uma velocidade de 2°/min. O objetivo deste ensaio foi estudar o comportamento cristalográfico do material.

### 3.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram submetidas a técnica de FTIR, em temperatura ambiente, o equipamento utilizado foi o modelo Spectrum 400, da marca Perkin Elmer. A técnica FTIR concerniu para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras, utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.4.4 Grau de Intumescimento

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar o grau de intumescimento. As mesmas foram pesadas inicialmente e mantidas em água destilada por 24hs. Em seguida, as amostras foram retiradas e colocadas sobre o papel filtro para retirada do excesso de solução e pesadas em balança digital. O grau de intumescimento de cada amostra no tempo “t”, foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$GI = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Wt: é o peso da amostra no tempo t

Wo: é o peso inicial da amostra.

Todas as amostras passaram por medições antes e após o seu intumescimento para verificar o quanto o filme intumescceu.

### 3.4.5 Biodegradação

O ensaio de biodegradação foi realizado para observar a degradação dos filmes no período de 7 dias.

Este ensaio obteve como base a norma ASTM F1635-11 Standard test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants (2011).

Os filmes foram obtidos e pesados em balança digital antes e após a submissão do ensaio, para verificar a quantidade de perda da massa das mesmas. As amostras foram divididas em dois grupos, um contendo a solução de PBS sob a concentração de 1mg/mL como controle (pH próximo de 7) e o outro grupo contendo Lisozima. O pH da solução foi verificado ao início e término do ensaio para avaliação das possíveis variações de pH.

Para cada tipo de filme foram utilizadas cinco amostras em solução de PBS e 5 amostras em solução de lisozima. O material foi incubado em estufa microbiológica, à temperatura de 37°C, sendo as retiradas da estufa após o período de 7 dias, seguido de um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24hs em estufa a 40°C e pesadas em balança analítica. Os resultados da biodegradação foram obtidos a partir da razão entre peso final (Mf) pelo peso inicial (Mi), como apresentando na Equação 2.

$$MR = \frac{Mf}{Mi} \quad \text{Equação 2}$$

#### **3.4.6 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato**

A técnica consiste na medida do ângulo de contato da superfície da amostra na análise do formato da gota. O ângulo de molhabilidade entre a água com tensão superficial conhecida e a superfície sólida depende da relação entre as forças coesivas e adesivas da água com os filmes obtidos, de modo que as gotas se espalhem sobre a superfície.

As análises de ângulo de contato foram efetuadas no goniômetro (Figura 5), após o gotejamento de água destilada sobre a superfície dos corpos de prova. Onde se utilizou uma câmera digital para capturar a imagem. Posteriormente essas imagens foram remetidas a um computador que possui um programa específico para ser feita a medida do ângulo. Foram realizadas três gotas sobre diferentes áreas para cada amostra e feito cinco medidas de cada gota para obtenção da média.

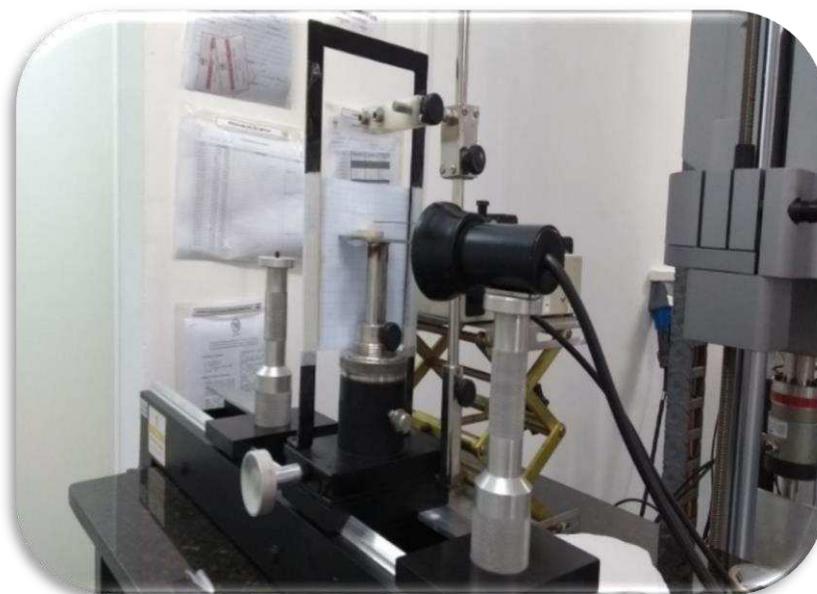


Figura 4 - Aparelho goniômetro (Fonte: Própria).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processamento, obteve-se os filmes de Q, QG, QF e QGF. Os mesmos apresentaram-se translúcidos e flexíveis como estão ilustrados na Figura 5.

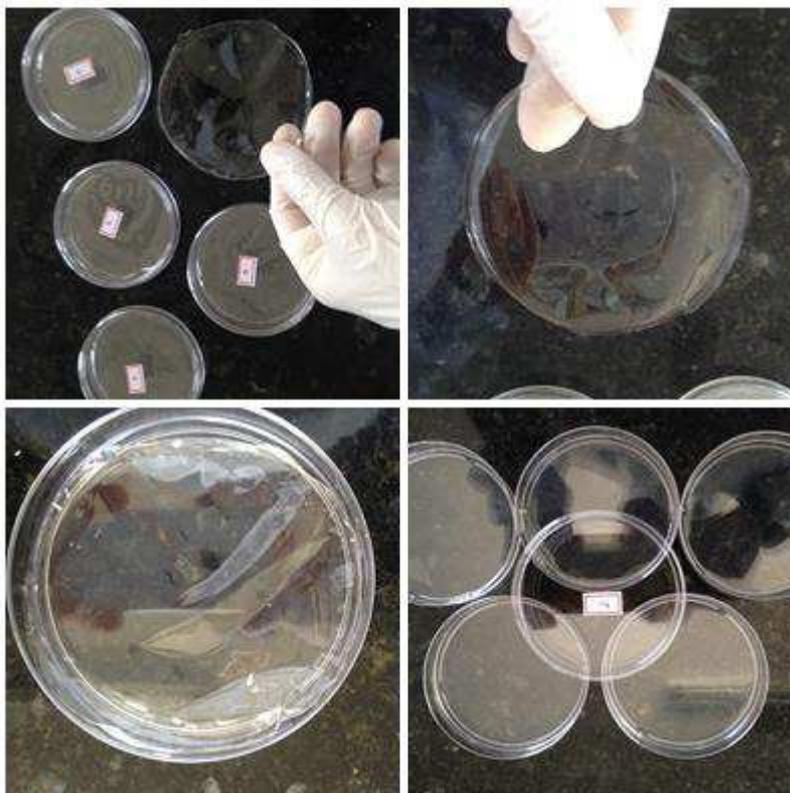


Figura 5 – Filmes confeccionados na pesquisa (Fonte: Própria).

### 4.1 Microscopia Ótica (MO)

A Figura 6 ilustra as imagens obtidas de MO das amostras de Q, QG, QF e QGF. Na análise da morfologia dos filmes observa-se uma superfície densa e lisa, com a presença de algumas partículas dispersas, provavelmente decorrentes do processo de solubilização da solução. Não foi possível visualizar diferenças significativas.

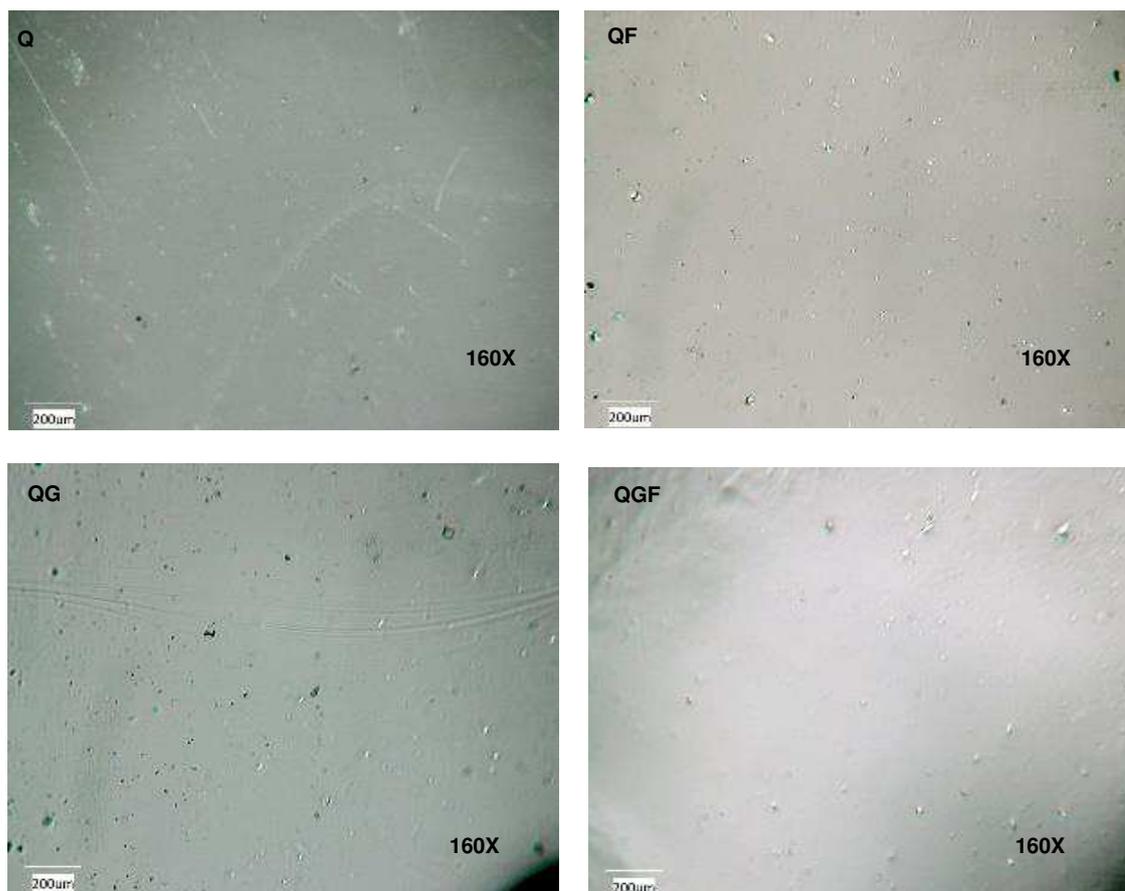


Figura 6 – Imagens de MO dos filmes (Fonte: Própria).

Nascimento (2012), nas análises microscópicas de filmes de quitosana, constatou que as mesmas se apresentaram densas, lisas e planas e sem a presença de poros, da mesma forma Batista (2015) em suas análises microscópicas observou o mesmo aspecto para os filmes de quitosana em seu trabalho corroborando com os achados nessa pesquisa.

Araújo e colaboradores (2018) confeccionou matrizes de quitosana/gelatina e etonogestrel, ao analisar a morfologia constatou o mesmo perfil uma superfície densa e lisa, com a presença de algumas partículas dispersas. Entretanto, no estudo de Furtado (2014), identificou-se a separação da interface entre a matriz polimérica e o fármaco.

#### 4.2 Difração de raios X (DRX)

Foram realizadas análises por DRX da matéria-prima das amostras do pó de quitosana e gelatina para verificação da cristalinidade do material. O perfil de DRX da quitosana encontra-se na Figura 7.

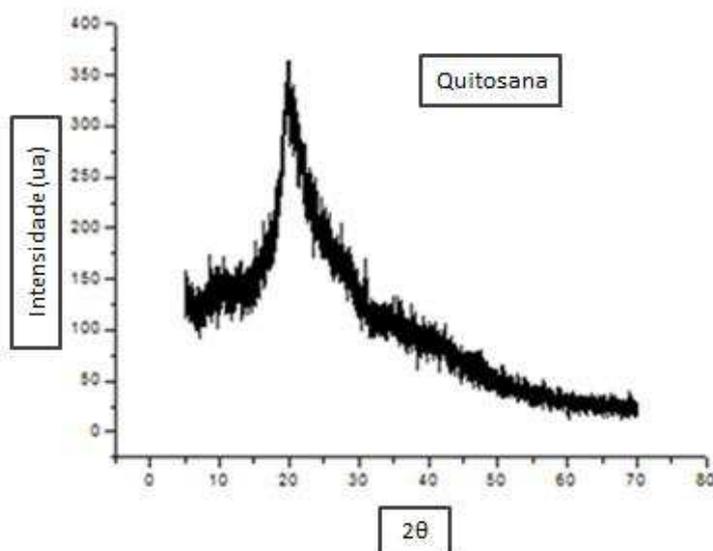


Figura 7 – Difratograma de raios X da quitosana (Fonte Própria).

No difratograma de raios X para a amostra de quitosana, observa-se a presença de duas bandas entre 8 – 13° com máximo em 10° e 17 – 32° com máximo em 20° característicos da quitosana e típicos de um material semicristalino, no qual condiz com a ficha JCPDS 40-1518. As ligações amino terminais da estrutura da quitosana contribuem para o caráter amorfo da estrutura, pois as pontes de hidrogênio que atuam como ligações secundárias também contribuem para a mudança do ângulo de ligação entre as moléculas de quitosana (Varma *et al.*, 2004).

O parâmetro principal que determina as propriedades da quitosana, além da massa molecular e do grau de desacetilação, refere-se à cristalinidade do polímero (Modrzejewska *et al.*, 2006).

No difratograma de raios X para a amostra de gelatina (Figura 8) também foram observados picos típicos característicos de um material semicristalino, com pico predominante em 2θ de 15 – 35° com máximo em 22° e uma pequena banda entre 4 – 9° com máximo em 8°. Este resultado é compatível com Thein-Han e seus colaboradores (2009).

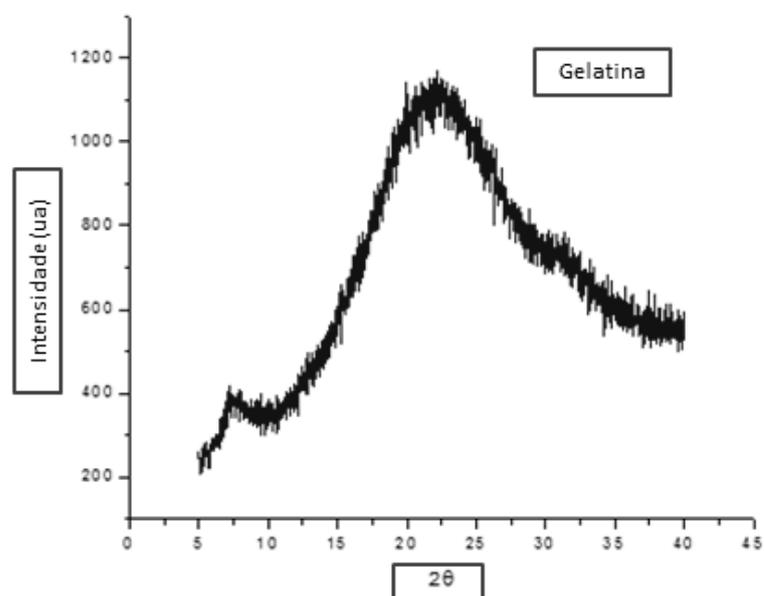


Figura 8 – Difratograma de raios X da gelatina (Fonte: Própria).

Os resultados da análise de DRX dos filmes estão ilustrados na Figura 9, onde se observa os perfis cristalográficos dos filmes de quitosana e quitosana/gelatina.

Foi possível evidenciar que após a incorporação de gelatina dos filmes ocorreu uma redução na cristalinidade da amostra confirmada pela diminuição da intensidade e alargamento das bandas. Para ambos os filmes o que se observa é um perfil semicristalino, onde para quitosana evidencia-se a presença de duas bandas em  $2\theta$ , sendo a primeira em torno de  $10^\circ$  e a segunda em  $21^\circ$ .

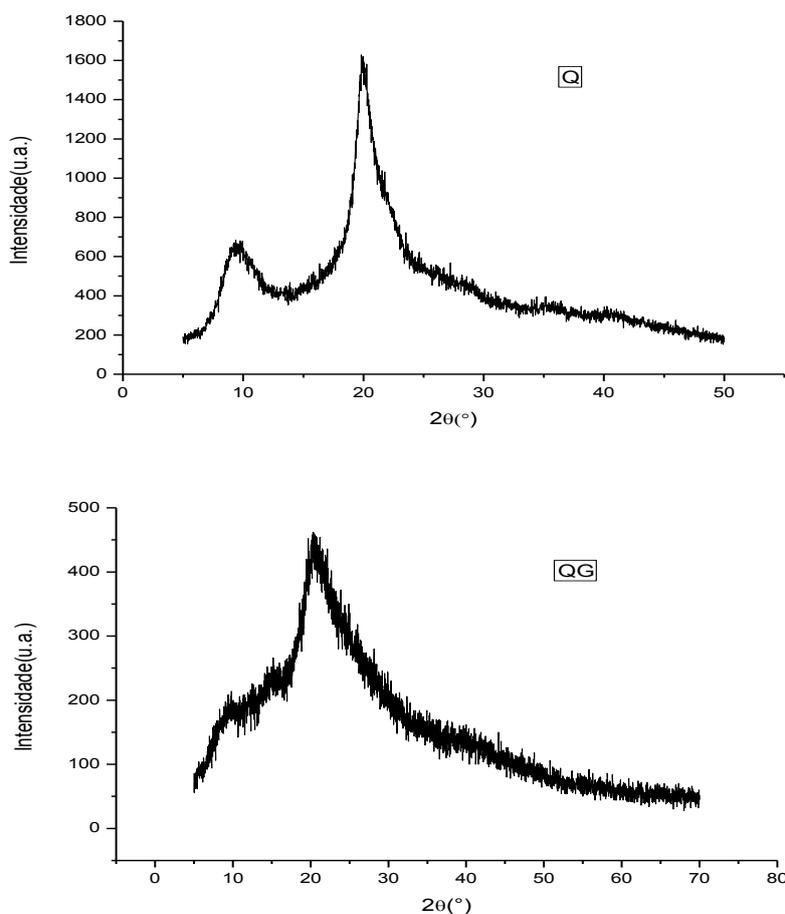


Figura 9 – Difratoformas de raios X das amostras de quitosana e quitosana/gelatina (Fonte: Própria).

Segundo Lavorgna e colaboradores (2010) e Chagas (2017), a banda em  $2\theta = 10^\circ$  é referente ao cristal hidratado, formado devido às ligações hidrogênicas entre os grupos acetoamido da quitosana e as moléculas de água, enquanto que a em banda  $2\theta = 21^\circ$  é atribuído à estrutura cristalina regular da quitosana.

Quanto a amostra de quitosana / gelatina observou-se apenas um pico em  $2\theta = 23^\circ$ . De acordo com Araújo e colaboradores (2012) a incorporação de gelatina nos filmes de quitosana possibilita um alargamento das bandas nos difratograma, indicando a ocorrência de um possível desordenamento cristalino na base polimérica da quitosana seguida pelas ligações N-glicosídicas entre os monômeros da estrutura, gerando assim uma estrutura aleatória.

Na Figura 10 observa-se os resultados referentes as amostras de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco e seus respectivos perfis.

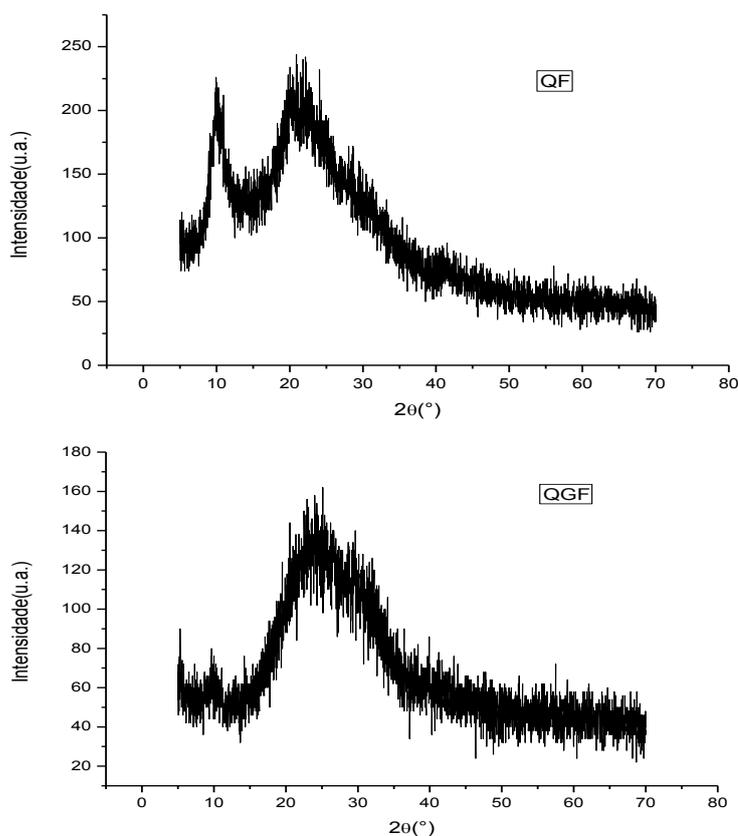


Figura 10 – Difratoogramas de raios X das amostras de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco (Fonte: Própria).

Diante dos resultados obtidos, é possível inferir que tanto as amostras de quitosana/fármaco quanto às amostras de quitosana/gelatina/fármaco apresentaram um perfil semicristalino e que há uma redução da cristalinidade para ambas, que foi influenciada pela incorporação do fármaco e também da gelatina.

Corroborando com os resultados encontrado nesse trabalho, nos estudos de Araújo e colaboradores (2018) os autores observaram que a incorporação do fármaco (Etonogestrel) possibilitou uma redução na cristalinidade das matrizes de quitosana.

#### 4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi realizada para avaliar se ocorreu a interação entre os grupos funcionais característicos dos materiais utilizados para obtenção do biocompósito nesta pesquisa. A Figura 11 ilustra o espectrograma obtido da Quitosana.

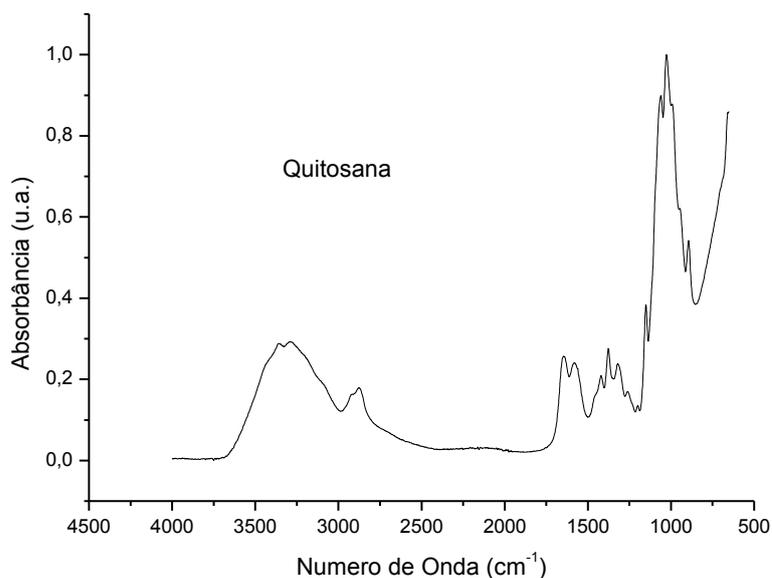


Figura 11 – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier do pó da quitosana (Fonte: Própria).

No espectro de FTIR da quitosana, as principais bandas observadas foram a das regiões de 890 e 1146  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao alongamento de C-O-C; 1020 a 1100  $\text{cm}^{-1}$  amino (CN) correspondente as aminas alifáticas; as regiões em 1065 e 1022  $\text{cm}^{-1}$  refere-se ao grupo (C-O); as deformações axiais de grupos entre 1323 a 1379  $\text{cm}^{-1}$  e a deformação angular simétrica do  $\text{CH}_3$  em 1379  $\text{cm}^{-1}$ . Já na região da banda 1411  $\text{cm}^{-1}$  e 1599  $\text{cm}^{-1}$  a vibração é atribuída à deformação do grupo amina (NH); e amida em 1600-1670  $\text{cm}^{-1}$ .

A banda localizada na região de 1646  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a absorção do C=O da amida, relativas ao alongamento dos grupos carbonilas (-NHCOCH<sub>3</sub>), indicando que a quitosana não está completamente desacetilada; em 1568  $\text{cm}^{-1}$  tem-se a banda referente ao grupo amina (NH<sub>2</sub>), em 1380  $\text{cm}^{-1}$  tem-se a região que corresponde ao grupo (CH); em 2900  $\text{cm}^{-1}$  a vibração é atribuída ao estiramento CH. A região localizada entre 3665 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída as vibrações de estiramento dos grupos OH e NH. Na região de 3264 a 2918  $\text{cm}^{-1}$  o estiramento axial do OH, sobreposta a banda de estiramento e NH, devido à formação de pontes de hidrogênio (Sampaio, 2012).

O espectro característico da quitosana está de acordo com Silva e seus colaboradores (2015), pois estes apresentam todas as absorções relativas à quitosana e, ainda está de acordo com o espectro da amostra de quitosana.

No espectro referente a gelatina (Figura 12), observa-se as bandas características em  $1656\text{ cm}^{-1}$ , típica de amida I devido ao estiramento da carbonila; em  $1556\text{ cm}^{-1}$ , está relacionado à amida II, devido às vibrações no plano da ligação de N-H e ao estiramento de C-N; em  $1229\text{ cm}^{-1}$ , correspondem as vibrações no plano da amida III, devido ao estiramento de C-N e a deformação de N-H; em  $1454\text{ cm}^{-1}$ , corresponde a estereoquímica dos anéis pirrolidínicos e próximo a  $3268\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento de O-H, no qual corrobora com Sionkowska e seus colaboradores (2004).

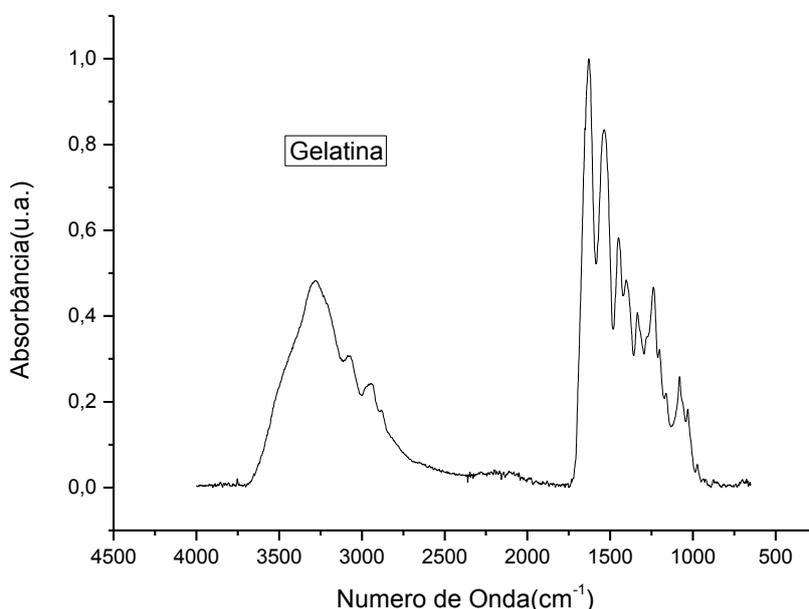


Figura 12 – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier da gelatina (Fonte: Própria).

Segundo Silva e seus colaboradores, (2015) o espectro referente a gelatina apresenta bandas características em  $1656\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da carbonila; em  $1556\text{ cm}^{-1}$ , devido às vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento C-N; em  $1229\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento C-N e a deformação N-H; em  $1454\text{ cm}^{-1}$ , e próximo a  $3268\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento O-H.

Os resultados de FTIR dos filmes de quitosana e quitosana/gelatina estão ilustrados na Figura 13. A partir dos espectros foi possível identificar os grupos característicos da quitosana nas bandas de absorção em  $3300\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento OH resultante da associação polimérica da quitosana, nas bandas  $1646\text{ cm}^{-1}$ ,  $1550$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$  caracterizadas pela deformação axial do grupo C=O em

amidas, e deformação angular em  $\text{NH}_2$  e ligações N-H de aminas primárias e secundárias.

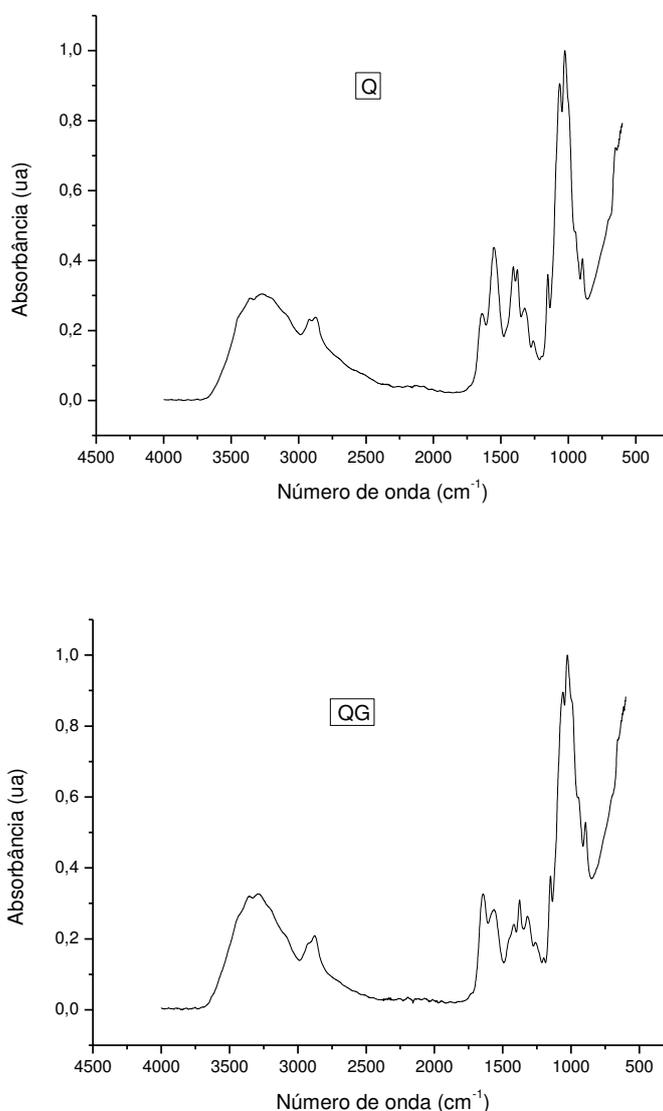


Figura 13 – Espectros de FTIR das amostras de quitosana e quitosana/gelatina (Fonte: Própria).

Após a incorporação da gelatina observa-se um aumento na intensidade da banda  $3300\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento OH que pode ser explicada pelo aumento dos grupos OH na matriz e, redução com deslocamento das bandas  $1550$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$  possivelmente evidenciando uma interação de segunda ordem do tipo pontes de hidrogênio e/ou dipolo induzido.

Segundo Mallman (2010) e Almeida (2012) quando há interação do tipo hidrogênio no grupo N-H observa-se descolamento nessa vibração, além disso, deslocamentos referentes a bandas abaixo de  $1150\text{ cm}^{-1}$  podem estar associados às

interações que ocorrem entre os grupos  $\text{-NH}_3^+$  da quitosana com  $\text{COO}^-$  ou com alguns sítios aniônicos presentes na gelatina.

Nos filmes de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco (Figura 14), observou-se para ambas as amostras a redução e o deslocamento das bandas em  $3300$ ,  $1550$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$ , referentes ao estiramento OH, a deformação axial do  $\text{C=O}$  de amidas e deformação angulares dos grupos  $\text{NH}_2$  e ligações  $\text{N-H}$  de aminas primárias e secundárias. Essa redução na intensidade evidencia uma forte interação entre o fármaco e os grupos característicos da quitosana por meio de ligações de segunda ordem.

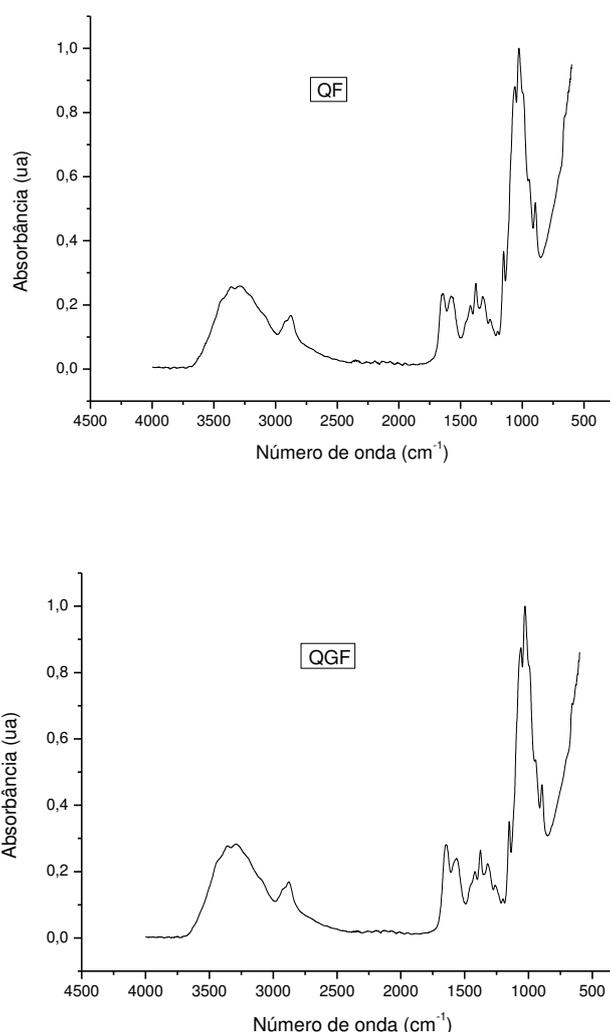


Figura 14 – Espectros de FTIR das amostras de quitosana/fármaco e quitosana/gelatina/fármaco (Fonte: Própria).

De acordo com Peres (2014) a interação entre o fármaco e a quitosana ocorre entre os grupos reativos do fármaco e o grupo amina da quitosana.

#### 4.4 Grau de Intumescimento

O grau de intumescimento se caracteriza pelo aumento no volume do polímero quando este está imerso em um determinado solvente ou pela quantidade da massa de fluido absorvido pelo polímero em relação a sua massa inicial (Oliveira, 2013).

A Figura 15 representa o percentual de intumescimento das amostras, onde percebe-se que o acréscimo de gelatina e fármaco nos filmes possibilitou o aumento no grau de intumescimento das mesmas. Esses resultados corroboram com encontrados pela análise de DRX, onde observou-se que a incorporação de gelatina e fármaco ocasionou em desordenamento na estrutura cristalina das amostras, consequentemente facilitando a entrada de fluido no sistema.

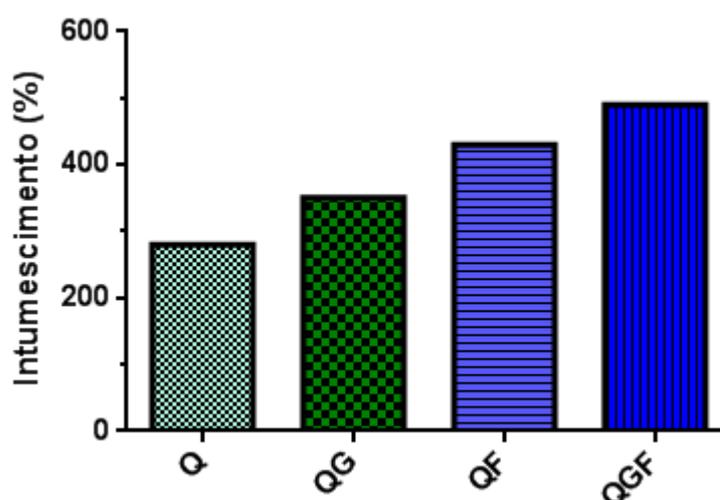


Figura 15 – Percentual de intumescimento das amostras (Fonte: Própria).

Segundo Rodrigues (2016) o intumescimento, ou capacidade de absorção de água é uma propriedade influenciada pela variação de cristalinidade em filmes de quitosana, essa característica depende da presença de grupos hidrofílicos em regiões acessíveis, para tanto, quando ocorre a redução na cristalinidade tem-se o aumento a disponibilidade destes grupos, deste modo, possibilitando um aumento na capacidade de intumescimento dos filmes.

De acordo com Denari (2014) a variação na quantidade de gelatina em filmes de quitosana/gelatina pode influenciar no grau de intumescimento dos mesmos, de modo que a diminuição ou aumento da proporção de gelatina no sistema pode resultar

na redução ou elevação da capacidade de absorção de água dos filmes. Além disso, o autor ressalta que a redução na quantidade de gelatina possivelmente implicaria na diminuição dos grupos  $\text{COO}^-$ , conseqüentemente nas possíveis interações de hidrogênio com os grupos  $\text{NH}_3^+$  da quitosana, gerando menos interstícios para a armazenagem de água, em contrapartida, também o aumento na quantidade possibilitaria mais interações de hidrogênio dos grupos  $\text{COO}^-$  entre os grupos  $\text{NH}_3^+$  da quitosana, aumentando interstícios para a armazenagem de água.

#### 4.5 Biodegradação

A análise de biodegradação foi realizada a 7 dias em solução de PBS e PBS/Lisozima e os resultados estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Perda de massa percentual dos filmes de quitosana e dos biocompósitos submetidos a ensaios de biodegradação.

Ensaio	PERDA DE MASSA DOS FILMES 7 DIAS DE ENSAIO (%)	
	PBS	Lisozima/PBS
Q	6,70	8,33
QG	14,96	17,83
QF	29,47	32,10
QFG	41,37	44,24

Fonte: Própria

Analisando os valores obtidos com a degradação dos filmes de quitosana expostos em PBS e lisozima/PBS no período de 7 dias, observou-se que, em todas as amostras, a degradação foi mais acentuada sob a ação da lisozima, o que demonstra a eficiência desta enzima na degradação da quitosana e corrobora com os resultados encontrados por Holanda (2011). Comparando os filmes nota-se que a QFG é obtida teve uma maior biodegradação, resultado este que corrobora com o DRX devido a este filme possuir um comportamento menos cristalino quando comparado com as demais, portanto zonas amorfas tendem a se degradar mais rápido que zonas cristalinas.

A hidrólise enzimática de um polímero vai depender da hidrofiliabilidade da cadeia polimérica, a qual deve ocorrer sempre na superfície do polímero, e esta pode ser facilitada pelo aumento da hidrofiliabilidade superficial do mesmo (Paoli, 2009).

Segundo Dallan (2005), a avaliação da degradação de um biomaterial no meio biológico é de suma importância, visto que esta caracterização está diretamente relacionada ao tempo em que o material será absorvido pelo organismo após sua inserção ou utilização no corpo.

Segundo Nelson e Cox (2014), a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima. A presença de grupos amino desacetilados permite maior reatividade da quitosana em relação à quitina. A lisozima é encontrada no fluido lacrimal em teores acima de 1%, no muco dos mamíferos e pode ser produzida por bactérias e outros organismos. É capaz de digerir a parede celular de bactérias cujas estruturas contém carboidratos. Sua ação provém da degradação do esqueleto glicosídico do peptidoglicano.

A degradação da quitosana pela lisozima depende, dentre outros fatores, do grau de desacetilação da quitosana, uma vez que a lisozima se liga aos grupamentos N-acetilglicosamina presentes na estrutura deste polissacarídeo. Estes grupamentos são de fundamental importância no reconhecimento da quitosana como substrato para a lisozima (Kurita *et al.*, 2000; Suh e Matthew, 2000).

Nos filmes adicionados de gelatina foi possível notar que à adição de gelatina nos filmes possibilitou maior percentual de degradação mássica nas amostras, quando comparado aos filmes de quitosana e da mesma forma ocorreu com a inserção do fármaco, entretanto a biodegradação quando inserida o fármaco foi mais acentuada.

Nos estudos de Batista (2015), as amostras de quitosana que ficaram expostas ao meio PBS seguiram um aumento gradativo na degradação mássica ao decorrer dos 21 dias de análise, no entanto, ocorreu um incremento na faixa de 3,6 a 4,6% do total de massa degradada nos filmes que ficaram imersos em meio PBS com a enzima Lisozima, sendo assim, corroborando assim com os resultados encontrados nesse trabalho.

De acordo com Medeiros (2016), a biodegradação de muitos polímeros tem sido estudada, especialmente da quitosana, por ser de fácil manipulação, favorecendo esse tipo de estudo. Quando o mesmo estudou o tempo de biodegradação de esferas de quitosana na presença da lisozima, observou que houve uma diminuição da massa das esferas, reforçando os resultados encontrados nessa pesquisa.

#### 4.6 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato

Observa-se na Figura 16 os resultados da molhabilidade por medida do ângulo de contato de todas as amostras.

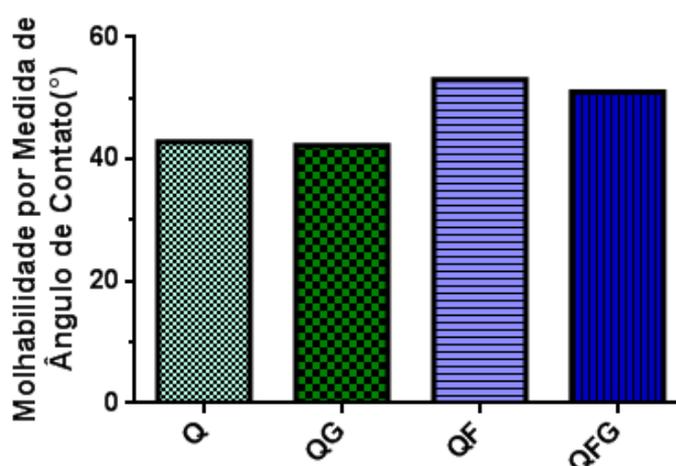


Figura 16 – Molhabilidade dos filmes (Fonte: Própria).

Todas as amostras apresentaram ângulo de contato inferior a  $90^\circ$  o que às caracteriza como sendo de caráter predominantemente hidrofílico. De acordo com Macêdo (2011) a hidrofiliicidade está relacionada com o molhar, que envolve a interação de um líquido com a superfície. A molhabilidade é afetada pela presença de grupos polares na superfície do material. Deste modo, o comportamento da gota sobre a superfície indica diferentes situações de molhabilidade de uma superfície: para ( $\theta = 0^\circ$ ) podemos dizer que a superfície apresenta alta molhabilidade ou que é uma superfície hidrofílica, para ( $0^\circ < \theta < 90^\circ$ ) diz-se que a superfície é predominantemente hidrofílica, para ( $90^\circ < \theta < 180^\circ$ ) a superfície é predominantemente hidrofóbica e para ( $\theta = 180^\circ$ ) a superfície é totalmente hidrofóbica ou não molhável.

Apesar de todas as amostras ressaltarem um caráter predominantemente hidrofílico nota-se que a incorporação de fármaco nos filmes resultou em decréscimo na sua hidrofiliicidade, tendo em vista que houve um aumento no ângulo de contato após a incorporação do mesmo nas amostras.

Segundo Tsai e Wang (2008) e Zheng e colaboradores (2009) a hidrofiliicidade da quitosana é atribuída aos grupos hidroxila e amino presentes em sua estrutura, portanto a presença de cargas positivas dos grupos amino protonados diminuem a

energia livre da superfície, otimizando a molhabilidade do material. Diante disso, é possível inferir que a redução da hidrofobicidade após a incorporação do fármaco está ligada a interação do mesmo com os grupos característicos da quitosana, evidenciado pelo aumento do ângulo de contato e confirmado pela análise de FTIR.

## 5 CONCLUSÃO

Os filmes obtidos nesta pesquisa apresentaram homogeneidade e interação química entre os constituintes, abrindo as possibilidades para sua utilização como sistema de liberação controlada de Midazolam, entretanto, faz-se necessário outros estudos pré-clínicos e clínicos, a fim de entender o perfil de liberação do fármaco e interação do mesmo no organismo.

Mediante o exposto pode-se concluir que foi possível obter filmes de Quitosana/Gelatina incorporadas com Midazolam.

## **6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Estudo da validação de metodologia analítica e liberação do midazolam e avaliação pré-clínica para confirmar a efetividade do sistema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAM, A. P.; HIGUERA, I. Quitina y quitosano: obtencion, caracterizacion y aplicaciones; Abram, A. P., ed.; Programa Cyted 2004, - Pontificia Universidad Catolicadel Peru/Fondo Editorial: Lima, cap 1. 2004.

ABREU, C. N. (2005). *Teoria do Apego: Fundamentos, Pesquisas e Implicações Clínicas*. São Paulo: Casa do Psicólogo.

ALMEIDA, P. F. **Análise qualitativa de gelatina obtida de tarsos de frango e aspectos envolvidos no processo produtivo**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção pela Universidade Nove de Julho, 2012.

ALMEIDA, T. L. **Desenvolvimento de membrana composta de PVAL e quitosana compatível com o sistema dermo - epidérmico**. 106f. 2009. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em ciências na área de tecnologia nuclear - materiais - Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo São Paulo, 2009.

AMARAL, B. D. A.; MACHADO, K. L. **Benzodiazepínicos: uso crônico e dependência**. 30 f. Monografia (Especialização em farmacologia) , UNIFIL -Centro Universitário Filadélfia, Londrina, 2012.

ANSEL, H.C. et al. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 716p.

ARAÚJO, P. M. A. G.; SANTOS, P. T. A.; SANTOS, P. T. A.; COSTA, A. C. F. M.; ARÁUJO, E. M. Obtenção de filmes de quitosana para aplicação em Engenharia de Tecido. **Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**. Natal – RN, 2012.

ARAÚJO, P. B.; GARCIA, T. G. C.; BEZERRA JUNIOR, A. G.; COLAÇO, R. M. R.; SOUSA, W. J. B.; BARBOSA, R. C.; FOOK, M. V. L. Matrizes de quitosana/gelatina para liberação de Etonogestrel. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 12, n. 2 (2018) 138-145.

ATTAF, B. **Advances in composite materials for medicine and nanotechnology**. Croatia: InTech, 2011.

ÁVILA, A.; BIERBRAUER, K.; PUCCI, G.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, M.; STRUMIA, M.; J. **Food Eng**. 2012, 109, 752

BABY, A. R.; FERRARINI, M. Influência do Kollidon® 90F e do Polyox® WSR301NF na Força de Adesão de Comprimidos Bucais de Clorexidin. *Lat. Am. J. Pharm.* v. 26, n. 4, pp. 541-7, 2007.

BADER, R. A.; PUTNAM, D. A. **Engineering polymer systems for improved drug delivery**. New York: Wiley. 2014.

BATISTA, J. G. S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas biodegradáveis à base de quitosana e possíveis blendas como sistemas de liberação controlada de fármacos**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear pela Universidade de São Paulo, 2015.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 3, pp. 495-501, jul-set, 2006.

CHAGAS, J. A. O. **Membranas de quitosana com glicerol para aplicação em tratamento de águas residuais**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2017.

CHEN, J. P.; KUO, C. Y.; LEE, WEE. L.; **Appl. Surf. Sci.** 2012, 262, 95.

COIMBRA, P. M. A. **Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural**. Tese (Doutorado). Universidade de Coimbra, 2010.

COX, R.G.; NEMISH, U.; EWEN, A.; CROWE, M.J.; . Evidence-based clinical update: does premedication with oral midazolam lead to improved behavioural outcomes in children? **Lata. J. Anaesth.** , v.53. p. 1213 - 1219, 2006.

CRISTALIA, 2018. Disponível em [https://www.cristalia.com.br/arquivos\\_medicamentos/257/Dormire\\_soloral.pdf](https://www.cristalia.com.br/arquivos_medicamentos/257/Dormire_soloral.pdf). Acesso em 16 de março 2018.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. (Tese). 194f, 2005.

DASH, M.; CHIELLINI, F. F.; OTTENBRITEB, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan- A versatile semi-synthetic polymer in biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, 2011.

DEL VALLE, E. M. M.; GALÁN, M. A.; CARBONELL, R.G. Drug delivery technologies: The way forward in the new decade. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v. 48, n. 5, p. 2475-2486, 2009.

DENARI, N. S. M. Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química pela universidade de São Paulo, 2014.

FORSAN, M. A. **O uso indiscriminado de benzodiazepínicos: uma análise crítica das práticas de prescrição, dispensação e uso prolongado**. 25 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Atenção Básica em Saúde da Família), UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais, Campos Gerais, 2010.

FRÁGUAS, R. M.; ROCHA, D. A.; QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SOUSA, R. V.; OLIVEIRA, Ê. N. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana, com

baixos valores de massa molar e grau de acetilação, em lesões cutâneas. **Polímeros**, 25(2), 205-211, 2015.

FURTADO, G. T. S. **Quitosana/Curcumina: Membranas de liberação controlada para tratamento de melanoma**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande. 2014.

GOMES, M.; AZEVEDO, H.; MALAFAYA, P.; SILVA, S.; OLIVEIRA, J.; SILVA, G.; MANO, R. S. J.; REIS, R. Em *Natural Polymers in Tissue Engineering Applications*; Ebnesajjad, S., eds.; **Elsevier**: Kidlington, 2013, cap. 16.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

HEATH, D. E.; COOPER, S. L. Em *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E., eds.; Academic Press: Oxford, 2013, cap. 1.2.2. **Polymers**: Basic Principles.

HOLANDA, A. L. **Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência em Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, 2011.

JAYAKUMAR, R.; CHENNAZHI, K. P.; MUZZARELLI, R. A. A.; TAMURA, H.; NAIR, S. V.; SELVAMURUGAM, N. Chitosan conjugated DNA nanoparticles in gene therapy. *Carbohydrate Polymers*, 79, 1-8. 2010.

KAPCZINSKI, F.; AMARAL, O.B.; MADRUGA, M.; QUEVEDO, J.; BUSNELLO, J.V.; LIMA, M.S.; Use and misuse of benzodiazepines in Brazil: a review. **Subst Use Misuse** 2001; 36(8):1053-1069.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. *Farmacologia básica e clínica*. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014, 1205 p.

KHAN, S. A.; SCHNEIDER, M. Improvement of Nanoprecipitation Technique for Preparation of Gelatin Nanoparticles and Potential Macromolecular Drug Loading. **Macromolecular Bioscience**, v. 13, pp. 455-463, 2013.

KEANE, T. J.; BADYLAK, S. F. Biomaterials for tissue engineering applications. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 23, n. 3, 2014.

KURITA, K.; KAJI, Y.; MORI, T.; NISHIYAMA, Y. Enzymatic degradation of b-chitin: susceptibility and the influence of deacetylation. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.19-21, 2000.

LAI, J. Y. Influence of solvent composition on the performance of carbodiimide cross-linked gelatin carriers for retinal sheet delivery. **J Mater Sci: Mater Med**, New York, v. 24, pp. 2201- 2210, mai. 2013.

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

LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, v. 82, p. 291-298, 2010.

LEE, S. H., AHN, S. C., LEE, Y. J., CHOI, T. K., YOOK, K. H., & SUH, S. Y. (2007). Effectiveness of a meditation-based stress management program as an adjunct to pharmacotherapy in patients with anxiety disorder. *Journal of Psychosomatic Research*, 62, 189–195.

LOURENÇO, V.A. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas de quitosana para veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele. Dissertação, 118f. Pós graduação em ciências farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Rio Preto, 2006.

MACÊDO, M. O. C.; MACÊDO, H. R. A.; BARBOSA, J. C. P.; GERRA NETO, C. L. B.; PEREIRA, M. R.; ALVES JÚNIOR, C. O uso do plasma de nitrogênio para modificação superficial em membranas de quitosana. *Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde*, v. 1, n. 2, 2011.

MALLMAN, E. J. J. Obtenção de um novo compósito biológico com propriedades magnéticas. Dissertação Universidade Federal do Ceará, 2010.

MEDEIROS, L. A. D. M.; BARBOSA, R. C.; ROSENDO, R. A.; OLIVEIRA, D. K. M.; VIANA, F. A. C.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana/D. ambrosioides (mastruz) para aplicação como biomaterial. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 73, n. 2, p. 124-9, Abr./Jun. 2016.

MODRZEJEWSKA, Z.; MANIUKIEWICZ, W.; WOJTASZ-PAJAŁ, A. Determination of Hydrogel Chitosan Membrane Structure. **Polish Chitin Society**, Monograph XI, 2006.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. **Int. J. Pharm.** 2014, p. 463, v.127.

NANDI, S. K.; ROY, S.; MUKHERJEE, P.; KUNDU, B.; DE, D. K., BASU, D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. **Indian J Med Res.** 2010;132:15–30.

NASCIMENTO, I. V. S. R.; LEAL, R. C. A.; FOOK, M. V. L.; MEIRA, R. C. Esterilização de membranas de quitosana para utilização como biomaterial. Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Natal, 2012.

NEGRO JR, P.J. Sedação consciente e sedação em psiquiatria: paralelos de eficácia e segurança clínicas. *Psychiatry on Line Brazil*. 2007; 12.

NELSON, D.; COX, M. Lehninger: Princípios de bioquímica. São Paulo: Saraiva, p. 220-223, 2014.

OLIVEIRA, A. P. R. Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia pela Universidade de São Paulo, 2013.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. (2017). Depression and Other Common Mental Disorders. Global Health Estimates. World Health Organization. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf;jsessionid=8F9BC31EE97D521E24FBDF7EC6D40143?sequence=1>. Acesso em 15 de março 2018.

ORÉFICE, R. L., PEREIRA, M. M., MANSUR, H. S. **Biomateriais** – fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: **Editora Cultura Médica**, 2012.

ORÉFICE, R.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. Biomateriais: Fundamentos e Aplicações. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

PAOLI, M. A. Degradação e estabilização de polímeros. **Artliber**, São Paulo (2009).

PERES, F. O. Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e montmorilonita/quitosana. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química pela Universidade de São Paulo, 2014.

PRESTES, R. C.; CARNEIRO, E. B. B.; DEMIATE, I. M. Adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto de peru. *Cienc. Rural* [online]. 2012, vol.42, n.7, pp.1307-1313.

PRESTES, R. C. Colágeno e seus derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, v.15, p. 65-74, 2012.

RAMOS, T.C.; RAMOS, M.; AZOUBEL, M.C.F.; AZOUBEL, E.; SOARES, A.R.; ALVES, E.T.P.; Midazolam: aspectos clínicos e farmacológicos em sedação consciente e estudo retrospectivo avaliando 258 casos clínicos. *Innov Implant J*. v4. n.1, p.39-45. 2009

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

Reves JG, Glass PSA, Lubarsky D. Nonbarbiturate intravenous anesthetics. In: Miller RD *Anesthesia*. 5º ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p.228-72.

RODRIGUES, M. A. V. Biomateriais de quitosana/gelatina com resina de jatobá: influência do grau de acetilação da quitosana e da inclusão da resina. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química pela Universidade de São Paulo, 2016.

SANTOS JÚNIOR, A. R.; WADA, M. L. F. Polímeros Biorreabsorvíveis como Substrato para Cultura de Células e Engenharia Tecidual. São Paulo – Campinas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, p. 308-317, 2007.

SAMPAIO, G. Y. H. **Desenvolvimento de arcabouços biodegradáveis para regeneração de tecidos cartilagosos**. Dissertação. Pós graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

SEO, K.A.; BAE, S.K.; CHOI, Y.K.; CHOI, C.S.; LIU, K.H.; SHIN, J.G.; Metabolism of 1'- and 4-hydroxymidazolam by glucuronide conjugation is largely mediated by UDP glucuronosyltransferases 1A4, 2B4, and 2B7. **Drug Metab. Dispos.** v. 38, p. 2007–2013, 2010.

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, pp. 21-28, 2015.

SILVA, R. S. **Atenção farmacêutica ao uso indiscriminado de benzodiazepínicos**. 52f Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) Curso de Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, 2012.

SIONKOWSKA, A.; WISNIEWSKI, M.; SKOPINSKA, J.; KENNEDY, C. J.; WESS, T. J.; Molecular interactions in collagen and chitosan blends. **Biomaterials**, v. 25, pp. 795-801, 2004.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO JÚNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**. v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008.

STULZER, H. K.; TAGLIARI, M. P.; SILVA, M. A. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Desenvolvimento, Avaliação e Caracterização Físico Química de Micropartículas Constituídas de Aciclovir/Quitosana Desenvolvidas pela Técnica de Spray-drying. **Lat. Am. J. Pharm.** v. 26, pp. 866-871, 2007.

SUH, J.K.F.; MATTHEW, H.W.T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review, **Biomaterials**, v.21, p.2589-2598, 2000.

THEIN-HAN, W. W.; SAIKHUN, J.; PHOLPRAMOO, C.; MISRA, R. D. K.; KITIYANANT, Y. Chitosan-gelatin scaffolds for tissue engineering: Physical-chemical properties and biological response of buffalo embryonic stem cells and transfectant of GFP- buffalo embryonic stem cells. **Acta Biomaterials**, v.5, p. 3453-3466, 2009.

TSAI, H. S.; WANG, Y. Z. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agentes. **Polymer Bulletin**, v. 60, pp. 103-113, 2008.

VALL, I. C. C.; ALMEIDA FILHO, G. L. Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal. **J bras. Doenças Sex. Transm.** v. 13, pp. 3-5, 2001.

VARMA, A. J.; DESHPANDE, S. V.; KENNEDY, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. **Carbohydrate Polymers**. v. 55, p. 77 – 93, 2004.

WEBER, D. Suportes poliméricos à base de quitosana: preparação, caracterização e aplicações biocatalíticas na síntese de ésteres terpênicos. Relatório apresentado ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909.2009

YOUNG JR, BRAUN CE, OYLER-MCCANCE SJ, HUPP JW, QUINN TW (2000). A new species of sage grouse (Phasianidae: Centrocercus) from southwestern Colorado, USA. *Wilson Bull* 112: 445–453.

ZHENG, Z. et al., Surface properties of chitosan films modified with polycations and their effects on the behavior of PC12 cells. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 24, pp. 63-82, 2009.

ZVEZDOVA, D. Synthesis and characterization of chitosan from marine sources in Black Sea. Annual Proceedings, " **Angel Kanchev**" **University of Ruse**, v. 49, n. 9.1, p. 65-69, 2010.