

**UNIVERSIDADE BRASIL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**  
**CAMPUS ITAQUERA – SÃO PAULO**

**BRUNO BATISTA DA SILVA**

**COMPARAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ACICLOVIR  
CARREADO EM SISTEMAS MICROESTRUTURADOS FORMADOS A  
BASE DE QUITOSANA**

**COMPARISON OF ACYCLOVIR RELEASE CARRIED IN CHITOSAN-  
BASED MICROSTRUCTURED SYSTEMS**

São Paulo – SP

2022

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
BIOMÉDICA CAMPUS ITAQUERA – SÃO PAULO**

**BRUNO BATISTA DA SILVA**

**COMPARAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ACICLOVIR  
CARREADO EM SISTEMAS MICROESTRUTURADOS FORMADOS A  
BASE DE QUITOSANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Profa. Dra. Adriana Pavinatto da Costa  
**Orientadora**

São Paulo – SP  
2022

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,  
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

S579c      SILVA, Bruno Batista da.  
            Comparação da liberação do fármaco Aciclovir carreado em sistemas microestruturados formados a base de Quitosana / Bruno Batista da Silva. -- São Paulo: Universidade Brasil, 2022.  
            75 f.: il. color.

            Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

            Orientação: Profa. Dra. Adriana Pavinatto da Costa.

            1. Quitosana. 2. Microestruturas. 3. Liberação controlada. 4. Aciclovir. I. Costa, Adriana Pavinatto da. II. Título.

CDD 620.82



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**BRUNO BATISTA DA SILVA**

**“COMPARAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ACICLOVIR CARREADO EM  
SISTEMAS MICROESTRUTURADOS FORMADOS À BASE DE QUITOSANA”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) Adriana Pavinatto da Costa (presidente-orientadora)

Prof.(a) Dr.(a) Laurita dos Santos (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof.(a) Dr.(a) Rafaela Cristina Sanfelice (UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS)

São Paulo, 28 de junho de 2022

**Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a). Adriana Pavinatto da Costa**

Houve alteração do Título: sim ( ) não ( X ):

---

---

---



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

### Termo de Autorização

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES**

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **“COMPARAÇÃO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ACICLOVIR CARREADO EM SISTEMAS MICROESTRUTURADOS FORMADOS À BASE DE QUITOSANA”**

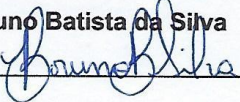
Houve alteração do Título: sim ( ) não ( X ):

\_\_\_\_\_

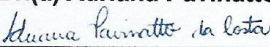
\_\_\_\_\_

Autor(es):

Discente: **Bruno Batista da Silva**

Assinatura: 

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Adriana Pavinatto da Costa**

Assinatura: 

Coorientador(a):

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: 28/06/2022

Campus Itaquera  
Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030  
Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070  
[www.ub.edu.br](http://www.ub.edu.br)

## DEDICATÓRIA

*“Dedico primeiramente a Deus, autor do meu destino, companheiro de todos os momentos. Ele alimentou a minha alma com calma, esperança durante toda a jornada e teve papel essencial na realização de cada linha dessa pesquisa”.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Universidade Brasil por ter concebido oportunidade de me especializar e por ter colocado pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta !

A minha professora orientadora Dra. Adriana Pavinatto pela oportunidade de realizar este trabalho e por toda paciência e dedicação ao longo dos experimentos e escrita da dissertação.

A Universidade de São Paulo (USP) – campus de São Carlos - por abrir seus laboratórios para realização de alguns experimentos.

A empresa Biopdi pela realização dos ensaios mecânicos de tração.

A professora Dra. Rafaela Sanfelice por toda a ajuda durante a realização dos experimentos deste trabalho.

Dedico esta pesquisa à minha querida esposa Juliana de Almeida, que prestou suporte, acompanhando toda a trajetória de elaboração deste trabalho.

Por último, quero agradecer à minha família e amigos pelo apoio incondicional que me deram, especialmente aos meus pais Valdir Batista da Silva e Lúcia Batista Lima da Silva, e para meu grande amigo José Roberto Pereira da Silva por toda ajuda e apoio durante este trabalho.

## RESUMO

As infecções por vírus herpes simples (HSV) são causadas por dois tipos de vírus, o tipo 1 (HSV-1) e o tipo 2 (HSV-2), sendo endêmicas em todo o mundo e frequente preocupação em saúde pública. Para tratamento o fármaco de primeira escolha é o Aciclovir que atua inibindo a polimerase do DNA viral, porém, seu uso tópico em forma de pomadas requer frequente aplicação para alcance da eficácia desejada, pois apresenta baixa permeação. Nesse contexto, a utilização de biomateriais como carreador na liberação controlada de fármacos é uma alternativa interessante na área da saúde, para melhorar a permeação e evitar efeitos tóxicos. Dentre os biopolímeros mais utilizados, a quitosana destaca-se devido ao elevado potencial de aplicações em diversas áreas e por ser um material seletivamente permeável, sendo bom candidato para a liberação de fármacos de administração tópica. Nesse contexto, no presente trabalho, foram produzidas e caracterizadas diferentes microestruturas formadas a base de quitosana, sendo elas: membranas, cápsulas e membrana + cápsula para encapsulamento e liberação do fármaco Aciclovir. As membranas foram produzidas utilizando a técnica *casting* (evaporação do solvente) de formação de filmes finos e as cápsulas foram obtidas através da reticulação ionotrópica, utilizando Tripolifosfato de sódio (TPP) como agente reticulante. As microestruturas e/ou os materiais de partida foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR-ATR), difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA), perda e ganho de massa através de testes de absorção de água, ensaios mecânicos de tensão *versus* deformação e ensaios de liberação. As microestruturas que apresentaram melhor estabilidade no encapsulamento do fármaco foram as cápsulas e o sistema composto por membrana + cápsulas. Quanto ao ensaio de liberação, a microestrutura que apresentou melhor resultado foi a composta por membrana + cápsulas, modulando a liberação em 1 hora e 20 minutos, com pico de concentração máxima em 2 horas. Quanto aos sistemas membrana e cápsula, ambos tiveram o mesmo perfil de liberação convencional, sendo que entre 15 a 20 minutos foi liberada toda a concentração de fármaco.

**Palavras-chave:** quitosana; microestruturas; liberação controlada; aciclovir.

## ABSTRACT

Herpes simplex virus (HSV) infections are caused by two types of viruses, type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2), being endemic worldwide and a frequent public health concern. For treatment, the drug of first choice is Acyclovir, which acts by inhibiting viral DNA polymerase, however, its topical use in the form of ointments requires frequent application to achieve the desired efficacy, as it has low permeation. In this context, the use of biomaterials as a carrier in the controlled release of drugs is an interesting alternative in the health area, to improve permeation and avoid toxic effects. Among the most used biopolymers, chitosan stands out due to its high potential for applications in several areas and for being a selectively permeable material, being a good candidate for the release of topically administered drugs. In this context, in the present work, different microstructures formed based on chitosan were produced and characterized, namely: membranes, capsules and membrane + capsule for encapsulation and release of the drug Acyclovir. The membranes were produced using the casting technique (solvent evaporation) of thin film formation and the capsules were obtained through ionotropic crosslinking, using Sodium Tripolyphosphate (TPP) as a crosslinking agent. The microstructures and/or the starting materials were characterized by infrared spectroscopy (FTIR-ATR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), mass loss and gain through water absorption tests, mechanical stress versus deformation tests and release tests. The microstructures that showed better stability in drug encapsulation were capsules and the system composed of membrane + capsules. As for the release assay, the microstructure that presented the best result was the one composed of membrane + capsules, modulating the release in 1 hour and 20 minutes, with peak concentration at 2 hours. As for the membrane and capsule systems, both had the same conventional release profile, with the entire drug concentration being released between 15 and 20 minutes.

**Keywords:** chitosan; microstructures; release; acyclovir.

## **DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO**

Esta pesquisa foi desenvolvida para avaliar a capacidade de estruturas obtidas a partir de quitosana no encapsulamento e liberação do fármaco Aciclovir. Nesse sentido, o trabalho visou o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de drogas com baixo custo utilizando quitosana, um polissacarídeo obtido principalmente através do processo de desacetilação da quitina, polímero que provém do rejeito da indústria pesqueira. Assim, objetivou-se a produção de membranas e microcápsulas que viabilizem o processo de liberação do fármaco para tratamento da herpes e reparação da pele. Dos sistemas desenvolvidos neste trabalho, o formado pela mistura das microestruturas de membranas e cápsulas (membranas + cápsulas) foi o que mais prolongou o tempo de liberação do fármaco. Tal resultado é interessante a fim de melhorar a recuperação dos pacientes, aumentando a resposta terapêutica e adesão ao tratamento.

## Lista de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1- Estruturas químicas da quitina (a) e quitosana (b).....  | 20 |
| Figura 2 - Estrutura molecular conformacional da molécula de ACV (A) e a comparação da sua estrutura química com a guanosina (B). ....   | 22 |
| Figura 3- Mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo vírus simples da herpes (HSV).....   | 23 |
| Figura 4- Estrutura tridimensional da pele e suas camadas.....   | 24 |
| Figura 5- Períodos clínicos da manifestação do vírus do herpes simples (HSV) com ocorrência na pele peribucal e semimucosa labial: A = período prodrômico, B = período clínico ativo, C = período reparatório.....   | 26 |
| Figura 6– Microscopia eletrônica de varredura das microesferas: quitosana reticulada com glutaraldeído.....  | 27 |
| Figura 7– Microcápsulas de quitosana-alginato obtidas por extrusão invertida. Microcápsulas de Ca <sup>+</sup> -alginato-quitosana na forma úmida (a); microcápsulas tingidas (b); microcápsulas de Ca <sup>+</sup> -alginato-quitosana carregadas após quatro meses de liberação em água (c)..... | 32 |
| Figura 8- Agitação de quitosana em solução aquosa de ácido acético 1%.....   | 34 |
| Figura 9- Fracionamento da solução de quitosana para adição do plastificante. ....   | 35 |
| Figura 10 - Estufa ventilada utilizada para secar as membranas. ....   | 35 |
| Figura 11- Modelo do suporte utilizado para secar as membranas (18 x 11 cm).....   | 36 |
| Figura 12 - Processo de obtenção das microcápsulas.....  | 37 |
| Figura 13 – Suporte de silicone vazio (A) e (B) microcápsulas de quitosana e aciclovir sobre o suporte de silicone.....  | 38 |
| Figura 14 - Suporte de silicone vazio (A) e (B) microcápsulas de quitosana e aciclovir com solução quitosana sobre o suporte de silicone .....   | 38 |
| Figura 15 - Espectrofotômetro na região do Infravermelho (IV) com transformada de Fourier e acessório de ATR (refletância atenuada).....   | 40 |
| Figura 16- Membranas formadas por a) quitosana, b) quitosana/glicerol 10%, c) quitosana/glicerol 20% e d) quitosana/glicerol 30% secas em estufa a 50°C. ....  | 43 |
| Figura 17 - (A) Membrana com Aciclovir 24 horas após o preparo, e após a secagem (B) Membrana com Aciclovir após 48 horas após a secagem.....  | 44 |
| Figura 18 - Interação entre os materiais formadores da membrana.....   | 44 |
| Figura 19 – Tamanho e morfologia das cápsulas após o processo de secagem de em   |    |

|   |    |
|---|----|
| estufa a 37°C, por 24horas. ....  | 45 |
| Figura 20 - (A) Cápsulas sem Aciclovir, e (B) Cápsulas com Aciclovir.....   | 46 |
| Figura 21 - Interação entre os materiais formadores das microcápsulas. ....   | 46 |
| Figura 22 - Sistema microcápsula/membrana após a secagem.....   | 47 |
| Figura 23 - Sistema microcápsula + membrana após a secagem (A) sistema com Aciclovir (B) sistema sem Aciclovir.....   | 47 |
| Figura 24 - Espectros de infravermelho para a) quitosana, b) quitosana/glicerol 10% (p/p) , c) quitosana/glicerol 20% (p/p) e d) quitosana/glicerol 30% (p/p) .....                     | 48 |
| Figura 25 - Espectro de infravermelho para o fármaco Aciclovir .....  | 50 |
| Figura 26 - Espectro de infravermelho para a (A) Aciclovir, (B) Membrana/glicerol 30% (p/p) e (C) Membrana/glicerol 30% (p/p)/Aciclovir.....  | 51 |
| Figura 27 - Difração de raios X para o fármaco Aciclovir .....  | 52 |
| Figura 28 - Difração de raios X para a quitosana.....   | 53 |
| Figura 29 - Difração de raios X para: (A) membrana/glicerol 30% (p/p), (B) membrana/glicerol 30%(p/p)/Aciclovir e (C) Aciclovir em pó.....  | 54 |
| Figura 30 - Microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana: A= membrana sem glicerol; B= membrana/glicerol 10%; C= membrana/glicerol 20%; D= membrana/glicerol 30%..... | 55 |
| Figura 31 - Análise termogravimétrica TGA e DTG do fármaco Aciclovir (A), quitosana em pó (B) e da membrana formada por quitosana pura (C).....   | 56 |
| Figura 32 - Análise termogravimétrica TG e DTG da membrana pura (A) e membrana com glicerol 10% (B), 20% (C) e 30% (D) (p/p).....   | 57 |
| Figura 33 - Resistência a tração de membranas de quitosana, quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30%/quitosana/glicerol 30%/Aciclovir. ....                                      | 58 |
| Figura 34 - Tensão versus deformação de membranas de quitosana, quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30%/Aciclovir.....                                 | 59 |
| Figura 35 - Teste de absorção de água (tampão pH 7,0).....  | 60 |
| Figura 36 - Perda de massa a temperatura ambiente .....   | 61 |
| Figura 37 – Espectro de absorbância na região do UV-Vís para o Aciclovir. ....  | 62 |
| Figura 38 – Espectros de UV-Vís para avaliar o efeito matriz .....  | 63 |
| Figura 39 - Curva de calibração para o Aciclovir.....   | 64 |
| Figura 40 - Perfil de liberação da membrana quitosana/glicerol 30%(p/p) / Aciclovir.....  | 65 |
| Figura 41 - Perfil de liberação de cápsulas de quitosana com aciclovir .....  | 66 |
| Figura 42 - Perfil de liberação da membrana quitosana/glicerol 30%(p/p)/cápsula/aciclovir. ....   | 67 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Sistemas orais de liberação controlada de drogas mais estudados utilizando quitosana como matriz. ....  | 28 |
| Tabela 2 - Estudos que utilizam filmes de quitosana e derivados aplicados ao sistema de liberação controlada. .... | 30 |
| Tabela 3 - Aplicações biológicas de materiais à base de quitosana (CS) distintos e modificados. ....               | 32 |
| Tabela 4 - Espectroscopia na região do infravermelho das membranas de quitosana. ....                              | 49 |

## Sumário

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>16</b> |
| <b>2 OBJETIVOS .....</b>   | <b>19</b> |
| 2.1 Objetivo geral .....   | 19        |
| 2.2 Objetivos específicos.....   | 19        |
| <b>3 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>  | <b>20</b> |
| 3.1 Quitina e quitosana.....   | 20        |
| 3.2 Aciclovir .....  | 22        |
| 3.3 Pele .....   | 24        |
| 3.4 Herpes simples (HS).....   | 25        |
| 3.5 Liberação controlada de fármacos utilizando quitosana .....              | 27        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>   | <b>34</b> |
| 4.1 Materiais .....  | 34        |
| 4.2 Produção das membranas.....  | 34        |
| 4.3 Produção das microcápsulas pelo método de gelatinização ionotrópica..... | 36        |
| 4.4 Produção do sistema microcápsulas/membranas .....                        | 37        |
| <b>5 Caracterizações .....</b>   | <b>39</b> |
| 5.1 Medidas de espessura.....  | 39        |
| 5.2 Absorção de água .....   | 39        |
| 5.3 Perda de massa por secagem.....  | 39        |
| 5.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR-ATR) .....               | 39        |
| 5.5 Análise térmica .....  | 40        |
| 5.6 Ensaio mecânico de tração .....  | 40        |
| 5.7 Peso médio.....  | 41        |
| 5.8 Difração de raios X .....  | 41        |
| 5.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....                           | 41        |
| 5.10 Perfil de liberação.....  | 42        |
| 5.11 Curva de calibração do Aciclovir.....                                   | 42        |
| 5.12 Avaliação do efeito matriz.....   | 42        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                | <b>43</b> |
| 6.1 Formações das membranas .....                                   | 43        |
| 6.2 Formação das Cápsulas.....                                      | 45        |
| 6.3 Formação do sistema microcápsula com Aciclovir e membrana ..... | 46        |
| 6.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR-ATR) .....      | 48        |
| 6.5 Difração de raios X (DRX) .....                                 | 51        |
| 6.8 Ensaio mecânicos de tração.....                                 | 58        |
| 6.9 Absorção de água e perda de massa .....                         | 60        |
| 6.10 Ensaio de liberação .....                                      | 61        |
| <br>  |           |
| <b>8 CONCLUSÕES.....</b>  | <b>68</b> |
| <br>  |           |
| <b>9 REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>70</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções por vírus herpes simples (HSV) são causadas por dois tipos do vírus, o tipo 1 (HSV-1) e o tipo 2 (HSV-2), sendo endêmicas em todo o mundo. Além disso, é uma das infecções mais prevalentes no mundo e no Brasil, configurando 640 mil novos casos de herpes genital anualmente (SANTOS, et al., 2012). Portanto, as infecções por HSV-1 e HSV-2 são frequente preocupação em saúde pública, e a análise da prevalência de anticorpos para HSV-1 e HSV-2 permite identificar a dinâmica dessa epidemia (CLEMENS; FARHAT, 2010). Através de exame clínico, a infecção pelo vírus causa pequenas vesículas amareladas, em geral agrupadas, na mucosa (bucal ou genital) e na pele, geralmente maiores e superficiais, que se rompem rapidamente formando úlceras que podem coalescer. São recobertas por membrana acinzentada e circundadas por um halo eritematoso (FERREIRA; MARTINS; ROMANOS, 2009). Entre as maiores dificuldades durante o percurso clínico da infecção estão: o dano estético, desconforto funcional que ocorre por meio de ardência, prurido e dor, além do trauma por contato (FERREIRA; MARTINS; ROMANOS, 2009).

Para tratamento desses dois tipos de herpes, a primeira escolha que age com uma real e potente ação antivirótica seletiva é o medicamento Aciclovir, que representa um inibidor específico e tolerável da polimerase do DNA viral (SANTOS, et al., 2012). O aciclovir é uma substância ativa que atua bloqueando os mecanismos de multiplicação do vírus *Herpes simplex*, *Herpes zoster*, *Varicela zoster*, *Esptein Barr* e *Citomegalovírus* impedindo que eles se multipliquem e infectem novas células. Deve-se iniciar a terapia imediatamente após o início de sintomas, como dormência, pontadas, prurido, eritema e dor, sendo esse período denominado período prodrômico. O fármaco pode ser administrado por via oral, endovenosa ou tópica, devendo ser mantido até o desaparecimento das lesões. A posologia indicada para adultos e crianças é de 200 mg cinco vezes ao dia, durante dez dias, em caso de episódio inicial e durante cinco dias, em caso de episódio recorrente. O Aciclovir em suspensão é disponível, podendo ser utilizado para bochechos seguidos de deglutição (SANTOS et al., 2011).

A utilização de biomateriais bem como da nanotecnologia na área da saúde é muito comum, sendo estimados cerca de 300 mil produtos desenvolvidos na área da

saúde nos últimos 10 anos (SOUZA NETO et al., 2019b). Essas substâncias podem ser definidas como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos), e que podem ser utilizadas em aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, dentre outras (SOUZA NETO et al., 2019b).

Biomateriais à base de quitosana vem sendo utilizados como bioadesivo, (SALOMON; GOYCOOLEA; MOERSCHBACHER, 2017) agente cicatrizador, agente antimicrobiano (KEKHASHARÚ TAVARIA et al., 2013), material de bandagem (curativos), molde para enxerto de pele, agente hemostático, material para sutura, sistemas de liberação controlada de fármacos (KAMALY et al., 2016) e até mesmo material para colírios (IRIMIA et al., 2018) lentes de contato (JEENCHAM et al., 2020), podendo ser manipulados e aplicados na forma de filmes, géis, cápsulas, microcápsulas (SOUZA et al., 2014) ou soluções (ROGALSKY; KWON; LEE-SULLIVAN, 2016).

Estudos recentes demonstram que lesões cutâneas têm o processo de cicatrização acelerado quando tratados com curativos modernos, desenvolvidos utilizando técnicas de manipulação em nanoescala na formação de membranas, filmes e hidrogéis. Em pacientes queimados, nos quais o processo de reepitelização é mais crítico, já existem substitutos temporários da pele, quer de origem animal (membrana amniótica), quer de origem sintética, como derivados do poliuretano (Tegaderm® , Opsite®, Epigard® e Biobrane®). Além da facilidade de administração por aposição sobre a área lesada, esses tipos de materiais funcionam como uma barreira física, que impede a desidratação do tecido e a infecção secundária da lesão por microrganismos oportunistas. Há, ainda, relatos de diminuição da dor local. Entretanto, quando filmes, membranas ou hidrogéis são empregados como matrizes de liberação de fármacos, o espectro de ação antimicrobiano do fármaco selecionado, somado à capacidade cicatrizante dos materiais utilizados para carreamento, potencializa o efeito terapêutico do novo sistema, ainda mais quando se consegue perfil de liberação prolongado do fármaco ao longo do tempo de contato com a pele (SOUZA; SATO; BORGES, 2017), atuando como sistemas de liberação de fármacos.

Ainda, a busca por um desenvolvimento sustentável de recursos naturais tem atraído muitos pesquisadores a utilizarem polissacarídeos como carreadores de fármacos com objetivo de obter “Sistemas de liberação de fármacos” (“*Drug-delivery systems*”). Além disso, vários grupos funcionais em sua estrutura molecular podem ser reposicionados por mudanças estruturais químicas para conferir funcionalidades

exclusivas para aplicação como excipientes em várias formas farmacêuticas para abordagens específicas de entrega de drogas (PADHI et al., 2022).

A quitosana, por ser um biomaterial seletivamente permeável, surgiu como bom candidato a meio de liberação de medicamentos no meio gastrointestinal, na mucosa oral, canais radiculares, dentinas cariadas ou bolsas periodontais, e os estudos realizados têm apresentado resultados que corroboram com o uso da quitosana nesta aplicação, visto que explicitam as qualidades dessa substância como agente de liberação de fármacos, principalmente quando se necessita de liberação lenta e controlada (SOUZA et al., 2020).

Diante do exposto, o presente estudo visou a produção e utilização de três sistemas de microestruturação (membranas, cápsulas e membranas + cápsulas) para encapsulamento e liberação controlada do fármaco Aciclovir. Os materiais utilizados para compor os sistemas foram escolhidos de modo a conferir biocompatibilidade, flexibilidade e que auxiliem na reparação da pele, aumentando a resposta terapêutica no tratamento da herpes.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Produzir e caracterizar diferentes microestruturas (membranas e cápsulas) à base de quitosana, é utilizá-las no encapsulamento e liberação controlada do fármaco Aciclovir.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Produzir e caracterizar membranas a base de quitosana utilizando a técnica *casting* (evaporação do solvente) de formação de filmes finos. As membranas serão produzidas puras e mistas com glicerol nas proporções de 10%, 20% e 30% (p/p).
- Produzir e caracterizar microcápsulas de quitosana obtidas através de ionotropia, utilizando Tripolifosfato de sódio (TPP) como agente reticulante.
- Utilizar as diferentes microestruturas formadas: membranas, cápsulas e membrana + cápsula para encapsulamento/aprisionamento do fármaco Aciclovir.
- Verificar o perfil de liberação do fármaco incorporado aos diferentes tipos de microestrutura desenvolvidos.

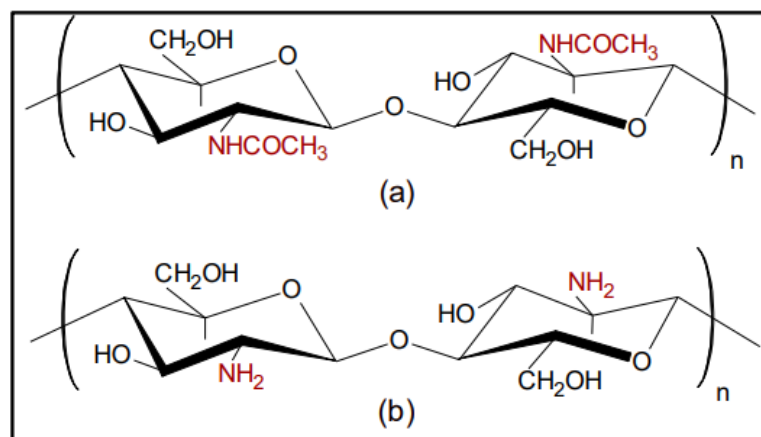
### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Quitina e quitosana

O polímero quitina foi isolado pela primeira vez em 1811, pelo francês Henri Braconnot, extraída de fungos superiores e por isso denominada “fungina”. O termo quitina apareceu em 1823, com Odier que a extraiu das carapaças de insetos (besouros e escaravelhos), sendo derivado do grego “chiton”, que significa túnica ou cobertura (AGULLÓ, et al., 2004) .

A quitina é um dos polissacarídeos naturais mais abundantes no mundo e é usada principalmente para a produção de quitosana, através de um processo de desacetilação. Quitina e quitosana são aminopolissacarídeos compostos por unidades monoméricas de 2-amino-2-desoxi-*D*-glucopiranosose (GlcN) e 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glucopiranosose (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) com propriedades multidimensionais, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades antibacterianas e não tóxicas, mucoadesividade, propriedades de adsorção, entre outras e, portanto, podem ser amplamente utilizados em uma variedade de áreas e aplicações (RAFIQUE *et al.*, 2016). A Figura 1 ilustra as estruturas químicas de quitina e quitosana. A quitosana é um polímero natural, de baixo custo, de fonte renovável e biodegradável, com grande importância econômica e ambiental. Por ser proveniente da quitina, que por sua vez provém de resíduos da indústria pesqueira, sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado (AZEVEDO et al., 2007).

Figura 1- Estruturas químicas da quitina (a) e quitosana (b).



Fonte: CARONI, 2019.

Quitosana tem sido utilizada em várias áreas de aplicação, devido principalmente às suas propriedades peculiares, mencionadas anteriormente, que a diferenciam de outros polímeros, como a biocompatibilidade e biodegradabilidade, atoxicidade e atividade antimicrobiana (KUMAR, 2000). Dentre as diversas aplicações, destaca-se seu emprego na indústria de cosméticos, biomedicina, indústria alimentícia, no tratamento de águas, na agricultura, indústria têxtil e biotecnologia (ZHANG et al., 2021). Na indústria alimentícia é um material promissor para a fabricação de filmes para embalagens de alimentos com atividade antimicrobiana, no entanto, apresentando algumas desvantagens como propriedades mecânicas e antimicrobianas limitadas e maior solubilidade em água (ZHANG et al., 2021). Por fim, as preocupações ambientais dos filmes à base de quitosana, considerando as etapas desde a extração da matéria-prima até o final da vida útil após o descarte, também são discutidas com o objetivo de encontrar alternativas mais ecologicamente corretas (MUXIKA et al., 2017).

O desenvolvimento de sistemas de distribuição de medicamentos com base na nanotecnologia é uma área atraente em laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) voltados para formulações, que torna viável a administração de medicamentos novos e complexos. Este desempenha um papel significativo no projeto de novas formas de dosagem, distribuição de drogas específicas ao alvo, liberação controlada de drogas, trazendo assim, maior segurança ao paciente e redução dos efeitos colaterais (JHAVERI et al., 2021).

Nas últimas décadas, houve uma grande evolução nas pesquisas envolvendo materiais nano e microestruturados à base de quitina e quitosana para uso como carreador de fármacos, sendo que tanto as nano quanto as microestruturas possuem excelentes características físicas, químicas e biológicas para tal aplicação. Vários métodos de obtenção de nanoestruturas, tais como solventes eutéticos (KHAJAVIAN et al., 2022), eletrospinning (“*electrospinning*”) (DE SOUZA; SATO; BORGES, 2017), automontagem (LIANG et al., 2020), moldagem por lixiviação (“*Solvent casting and particle leaching*”), liofilização (“*Freeze-drying*”), separação de fases termicamente induzidas (“*Thermally Induced Phase Separation*”), formação de espuma (“*gas foaming*”), formação a partir de pó (“*Power forming*”), sol-gel (MEDEIROS et al., 2017), são empregados na preparação de nanofibras, nanopartículas e filmes de quitosana com grande potencial para serem utilizados como sistemas de liberação de drogas, estruturas de engenharia de tecidos, materiais para curativos, agentes

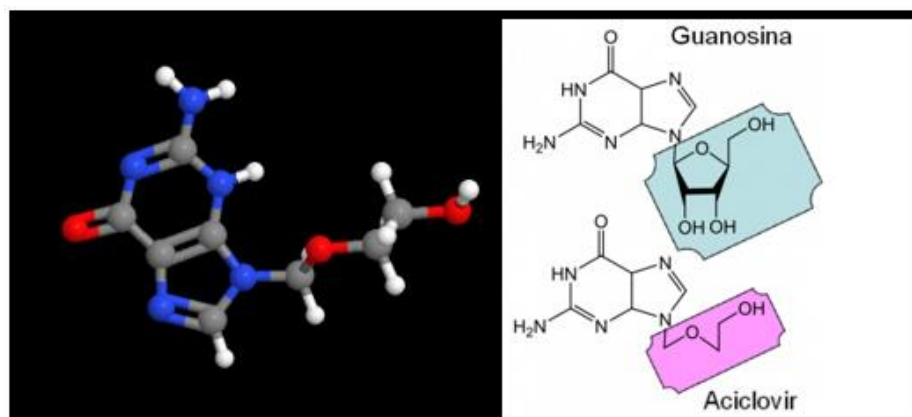
antimicrobianos e biossensores (PIASSI et al., 2013).

### 3.2 Aciclovir

O aciclovir (ACV) (9-[(2-hidroxi)etoxi]metil]-9H-guanina), fórmula  $C_8H_{11}N_5O_3$ , ( $220,20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) é um cristal branco a amarelo-pálido (T. F.  $256\text{-}257^\circ\text{C}$ ), e um análogo sintético da 2'-desoxiguanosina. Considerado o mais efetivo e seletivo agente contra os vírus do grupo da herpes existente na atualidade, o ACV é utilizado no tratamento de infecções causadas pelo vírus da Herpes simplex (HSV), vírus *Varicela Zoster* (VZV), vírus *Epstein-Barr* (EBV), *Citomegalovírus* (CMV) e *Herpesvírus Humano 6* (HHV-6) (WAGSTAFF et al., 1994) devido à sua alta seletividade pelo vírus causador da herpes e pela baixa citotoxicidade às células do hospedeiro, sendo particularmente ativo contra herpes labial e genital (BARBOZA et al., 2010).

A forma tópica do aciclovir apresenta ótimos resultados para o tratamento da ceratite herpética ocular e da infecção por herpes genital inicial primária, porém, pouco ou nenhum benefício clínico foi observado quanto as infecções genitais iniciais não primárias. Já em questões de manipulação, o uso de ACV em forma de pomada demonstrou poucos benefícios no herpes genital recorrente, mas sua utilização em forma de creme (emulsões) tópico reduz o desenvolvimento da infecção em um período de 1 a 2 dias (RICHARDS, 1984). A Figura 2 apresenta a estrutura molecular conformacional da molécula de ACV (A) e a comparação da sua estrutura química com a guanosina (B).

**Figura 2 - Estrutura molecular conformacional da molécula de ACV (A) e a comparação da sua estrutura química com a guanosina (B).**

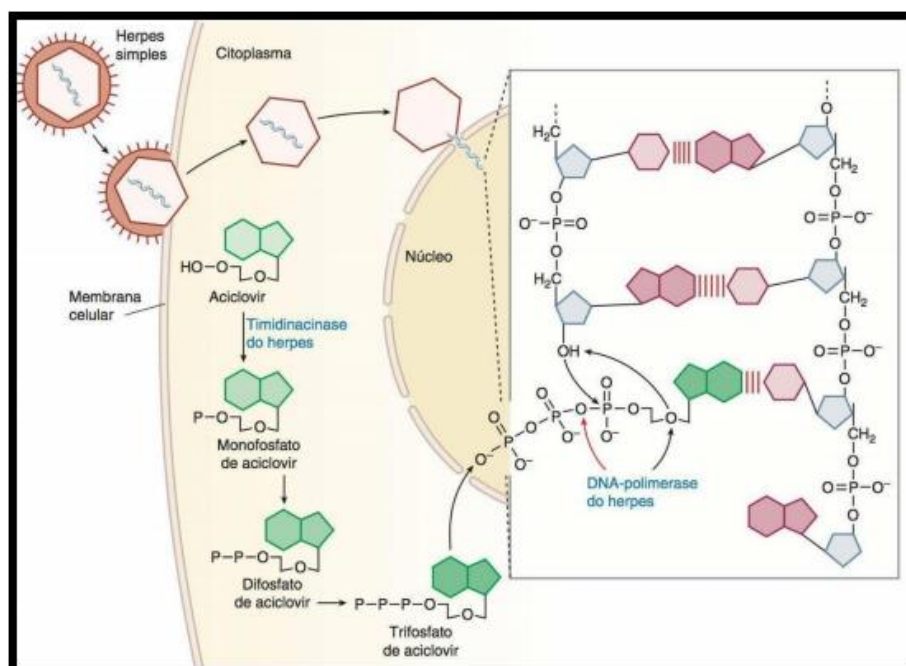


Fonte: MARSON, 2022.

No interior de cada célula epitelial em que os vírus estão se replicando, as moléculas do medicamento antiviral competem com as moléculas que iriam construir novos vírus. O ACV atua como agente antiviral após sua fosforilação, formando o aciclovir trifosfato e, assim, há inibição específica da DNA-polimerase do vírus sem afetar os processos celulares normais. Na linha de produção de novos vírus, os medicamentos entram no lugar de algumas moléculas nucleotídeas, como guaninas defeituosas por exemplo, e isso acaba fazendo com que o DNA viral seja diferente e não mais replicável, sem capacidade de infectar novas células e novos organismos, e sem conseguir se replicar em outras células (CONSOLARO, et al., 2009).

A administração tópica de ACV apresenta uma absorção percutânea reduzida. Em termos de efeitos adversos, o aciclovir é bem tolerado, mas quando inserido numa matriz de base de polietilenoglicol (PEG) pode ocorrer irritação das mucosas e queimaduras transitórias em lesões genitais (CASIMIRO, 2017). O mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo HSV está ilustrado na Figura 3.

**Figura 3- Mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo vírus simples da herpes (HSV).**

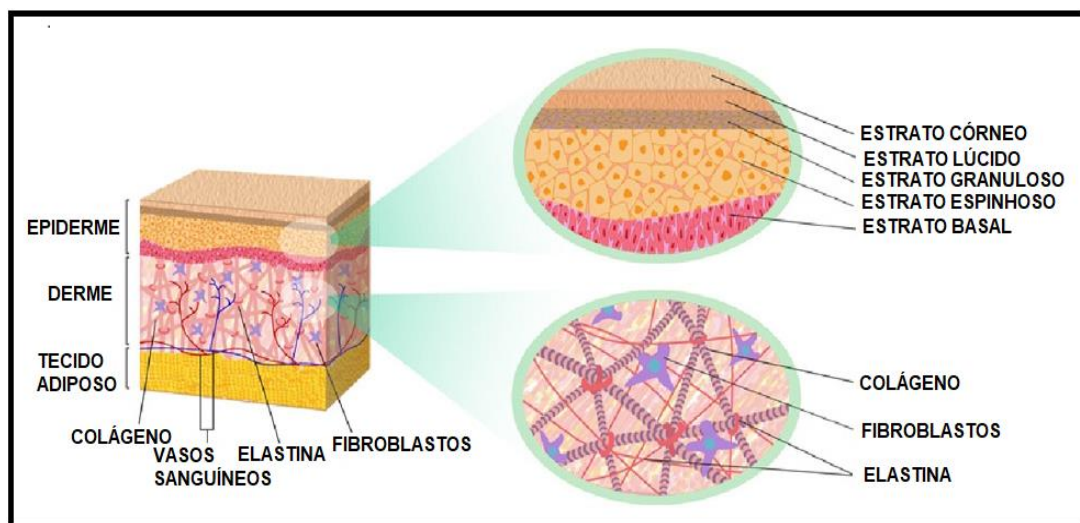


Fonte: CASIMIRO, 2017.

### 3.3 Pele

A pele ou tecido tegumentar é o maior órgão do corpo humano em extensão, correspondendo a 12 - 16% do peso corporal, tendo como principal função proteger as estruturas internas do corpo (órgãos externos) do ambiente externo, funcionando como barreira física. A pele pode ser dividida em três camadas: epiderme, derme e hipoderme ou tela subcutânea. A camada externa da pele é denominada epiderme, sendo avascular com espessura de 75 a 150  $\mu\text{m}$ , e 0,4 a 0,6 mm na palma das mãos e planta dos pés, a camada que maior contribui na proteção contra agentes externos. Constituída de células epiteliais achatadas sobrepostas que as considerando de dentro para fora, estão dispostas em; germinativa ou basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (BERNARDO, et al., 2019). A Figura 4 apresenta a estrutura tridimensional da pele e suas camadas.

Figura 4- Estrutura tridimensional da pele e suas camadas.



Fonte: (AVELAR, 2018).

A epiderme é, basicamente, um tecido epitelial estratificado queratinizado, com variações estruturais e funcionais significativas na dependência do seu local anatômico (MENDONÇA; RODRIGUES, 2011) constituída por quatro camadas, dentre elas a camada basal que é a mais profunda, delimitando-se com a derme. Os queratinócitos (tipo celular mais comum da pele) agrupam-se em quatro camadas, que sofrem constante diferenciação. Da base à superfície, temos: camada basal, estrato

espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo. Melanócitos, células de Langerhans e de Merkel compõem os 5% restantes da epiderme (BARCAUI et al., 2015).

A derme é a segunda camada da pele situada logo abaixo da epiderme, composta por colágeno denso tipo III e elastina produzidas pelos fibroblastos (principais células formadoras do tecido conjuntivo), que garantem a textura e elasticidade da pele. A epiderme contém queratinócitos próximos ao estrato germinativo (camada basal) , e estes garantem sua renovação. Os melanócitos, são células encontradas na epiderme e que são responsáveis pela pigmentação da pele e síntese de melanina. A melanina produzida é progressivamente transferida para os queratinócitos (SOUTO et al., 2006).

Abaixo e em continuidade com a derme encontra-se a hipoderme ou tecido celular subcutâneo, um tecido conjuntivo frouxo que pode conter pânículo adiposo (muitos adipócitos). No entanto, a hipoderme não faz parte da pele, apenas a une com os órgãos subjacentes (JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, 2008). Os anexos cutâneos são divididos em glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos (VIEIRA, et al., 2014)

### **3.4 Herpes simples (HS)**

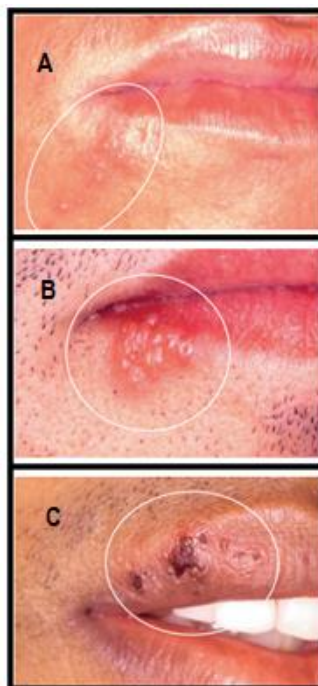
As infecções por vírus herpes simples (HSV) estão entre as infecções mais frequentemente encontradas nos humanos. Dois tipos de infecções por HSV foram identificados - HSV-1, que geralmente causa doença orolabial, e HSV-2, que está mais frequentemente associado a infecções genitais e neonatais. Normalmente, o HSV causa doença leve e autolimitada da boca e lábios ou nas áreas genitais. No entanto, em alguns casos, a doença pode ser fatal (WHITLEY, 2002).

Quando fatores desencadeantes atuam na puberdade e vida adulta, quebram o estado de latência e os vírus novamente “viajam” no nervo, agora de forma inversa, e chegam à pele e/ou mucosa voltando a parasitar as células epiteliais, nas quais se multiplicam novamente de forma exponencial. Assim, multiplicam o número de partículas que, em sua maioria, voltam a ficar latentes nos filetes e gânglios neurais da região, ou trigeminal, no caso da cabeça (CONSOLARO, et al., 2009)

Os herpesvírus humano são acelulares, assim, necessitam das células humanas para reproduzirem-se, sendo a sua transmissão por contato direto ou

indireto com fluidos contaminados. Após a penetração na célula, os vírions (partícula viral completa) podem provocar uma infecção primária, desencadeando a ocorrência de sintomas em graus e tipos variados, o que depende do tipo de vírus e da resposta imune do hospedeiro, ou podem entrar em estado de dormência e se estabelecerem no citosol como um epissoma (molécula de DNA extracromossômica), fase essa conhecida como latência, não sendo detectado e podendo permanecer aí por longos períodos, que varia de acordo com cada subtipo (ARDUINO; PORTER, 2008). Durante a replicação no interior das células, alguns subprodutos do gene HSV causam alterações no metabolismo, cujo efeito principal compreende adicional permeabilidade da membrana, promovendo lise e necrose celular, havendo a destruição da célula e a permanência do vírus. Para saírem da fase de latência e tornarem-se infecciosos, são necessários estímulos capazes de reativar os vírus latentes que vão re-infectar as células. Dentre os estímulos, o estresse, imunodepressão, radiação, neoplasias malignas, sensibilidade e gestação, são os mais frequentemente relatados (SANTOS, et al., 2012) . A Figura 5 apresenta os estágios clínicos da manifestação do HSV na pele peribucal e semimucosa labial humana.

**Figura 5- Períodos clínicos da manifestação do vírus do herpes simples (HSV) com ocorrência na pele peribucal e semimucosa labial: A = período prodrômico, B = período clínico ativo, C = período reparatório.**

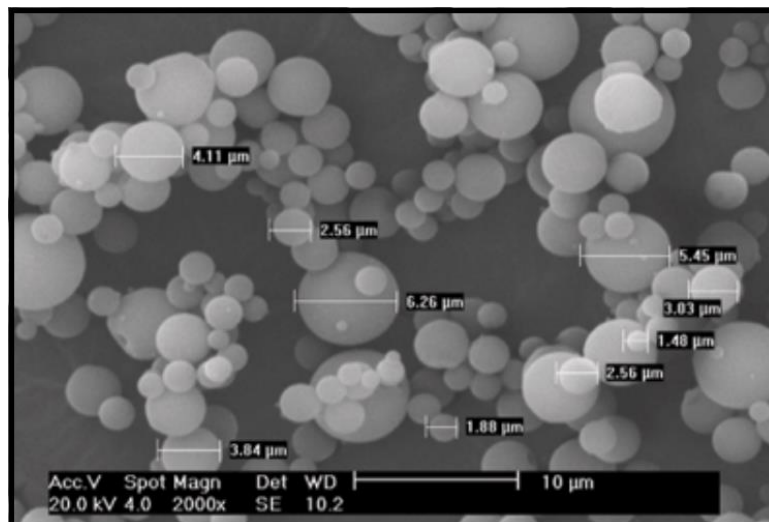


Fonte: CONSOLARO, et al., 2009.

### 3.5 Liberação controlada de fármacos utilizando quitosana

Diversos tipos de estruturas a base de quitosana (que utilizam quitosana como o componente de maior concentração) vem sendo desenvolvidas e utilizadas como carreadores de diferentes tipos de fármacos (SALATIN; JELVEHGARI, 2017). Dentre essas, podemos destacar a produção de pós, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colmeias, fibras maciças e fibras ocas utilizadas como matriz para a liberação controlada de fármaco (SILVA et al., 2016). A Figura 6 ilustra as micrografias de microesferas de quitosana reticuladas obtidas através da técnica de *spray drying*.

**Figura 6– Microscopia eletrônica de varredura das microesferas: quitosana reticulada com glutaraldeído.**



Fonte: OLIVEIRA et al., 2009.

A quitosana e seus derivados têm sido empregados na formulação de uma ampla variedade de sistemas de entrega de drogas para administração por diferentes vias (oral, parenteral, tópica, bucal, sublingual, etc.). Com relação aos sistemas orais de liberação controlada de drogas, os mais estudados são comprimidos de matriz, comprimidos revestidos, comprimidos flutuantes, cápsulas de liberação sustentada, cápsulas flutuantes hidrodinamicamente balanceadas, esferas e micropartículas flutuantes, esferas mucoadesivas e micropartículas, formas farmacêuticas combinadas bioadesivas flutuantes (na forma de comprimidos, grânulos,

micropartículas, etc.), nanopartículas, grânulos de hidrogel, sistemas núcleo-casca (NAYAK et al., 2018). Nanopartículas de quitosana têm sido empregadas para dosagem nasal de medicamentos e vacinas porque melhoram a penetração de macromoléculas através da barreira nasal (ZARGAR, et al., 2015). A Tabela 1 lista exemplos de sistemas orais de liberação de fármacos utilizando quitosana como carreador.

**Tabela 1 - Sistemas orais de liberação controlada de drogas mais estudados utilizando quitosana como matriz.**

| <b>Sistema de liberação</b>  | <b>Farmáco liberado</b> | <b>Principais resultados</b>   | <b>Referências</b>              |
|--|-------------------------|--|---------------------------------|
| <b>Complexo de polieletrólito formados por Goma karaya-quitosana</b> | Diclofenaco de sódio    | Liberação sustentada prolongada de diclofenaco de sódio, possui promissoras características biofarmacêuticas | (LANKALAPALLI; KOLAPALLI, 2012) |
| <b>Cápsulas de Quitosana-hidroxi-propil-metil-celulose</b>           | Moxifloxacina HCl       | Liberação controlada ao longo do tempo com boa flutuação em fluido gástrico simulado                         | (VERMA <i>et al.</i> , 2017)    |
| <b>Grânulos de Quitosana-alginato</b>                                | Ampicillina             | Liberação controlada por longo período   | (ANAL, STEVENS, 2005)           |

|   |              |  |                                       |
|---|--------------|--|---------------------------------------|
| <b>Micropartículas de Quitosana-polissacarídeo de semente de tamarindo</b>              | Aceclofenaco | Liberção sustentada de droga e atividade farmacodinâmica significativa em ratos usando modelo de edema de pata de rato | (JANA, NAYAK, 2013)                   |
| <b>Microesferas de Quitosana-hidroxietilcelulose</b>                                    | Isoniazida   | Liberção controlada  | (ANGADI, MANJESHWAR, AMINABHAV, 2010) |
| <b>Nanopartículas do complexo interpolímero utilizando Albumina de ovos e quitosana</b> | Alprazolam   | Liberção sustentada de droga por período mais longo  | (JANA, NAYAK, 2013)                   |

Fonte: NAYAK et al., 2018.

A formação de membranas de quitosana vem sendo muito estudada por grupos de pesquisa, especialmente para aplicação na engenharia de tecidos, devido a sua capacidade de acelerar a cicatrização tecidual, uma vez que envolve vários mecanismos como coagulação, síntese e deposição de matriz celular, fibroplasia, dentre outros (SOUZA NETO et al., 2019). Da mesma forma, o desenvolvimento e a utilização dessas membranas a base de quitosana ganhou espaço como sistema matriz para entrega de drogas (KLOSTER et al., 2018). A Tabela 2 lista exemplos de estudos que utilizam filmes (membranas) de quitosana e derivados como sistema de encapsulamento e liberação de fármacos. Os filmes têm sido utilizados como formas farmacêuticas, pois são constituídos por materiais que apresentam características desejáveis no controle da taxa de liberação de fármacos. Filmes de quitosana e derivados foram produzidos utilizando técnica de evaporação do solvente ou *casting* para aplicação em liberação controlada de fármacos, garantindo que os fármacos sejam liberados em doses regulares por longos períodos, tanto para fármacos hidrofílicos, quanto para hidrofóbicos (MATOS et al, 2020).

**Tabela 2 - Estudos que utilizam filmes de quitosana e derivados aplicados ao sistema de liberação controlada.**

| Sistema de entrega de medicamentos                | Formulação  | Metodo de fabricação             | Fármacos   | Eficácia  | Referência                          |
|---|---|----------------------------------|--|---|-------------------------------------|
| <b>Filme de quitosana e carboximetilquitosana</b> | Quitosana, Glicerol e Carboximetilquitosana                       | Casting                          | cefradina e penicilina   | Apresentou durabilidade de até 108h no processo de liberação do fármaco quando utiliza-se a carboximetilquitosana | (ZHANG, YANG, RAO, ZHANG, 2016)     |
| <b>Filmes mucoadesivos</b>                        | Hidroxipropilcelulose, quitosana, hialuronato de sódio e gelatina | Método de evaporação de solvente | Cloridrato de Ondansetron  | Mostrou resultados positivos na liberação prolongada da droga causando um impacto mínimo                          | (TRASTULLO <i>et al</i> , 2016)     |
| <b>Filmes bilaminados</b>                         | Quitosana e etilcelulose  | Evaporação de solvente           | Nifedipina e Cloridrato de propanolo                             | Concluiu-se que os filmes apresentam potencial promissor para a entrega de medicamentos em cavidade oral          | (REMUÑÁN-LÓPEZ <i>et al</i> , 1998) |
| <b>Filmes muco adesivos</b>                       | Glutamato de quitosana e Glicerol                                 | Casting                          | Ciclosporina A   | Apresentou resultados satisfatórios, visto que a quantidade de glicerol interfere na liberação do fármaco         | (HERMANS <i>et al</i> , 2014)       |
| <b>Filmes de hidrogel</b>                         | Quitosana, Genipin e Alginato                                     | Evaporação do solvente           | Metformina   | A taxa de liberação de metformina varia de acordo com a proporção dos materiais                                   | (UBAID, MURTAZA, 2018)              |
| <b>Filmes finos</b>                               | Quitosana e Alginato de sódio                                     | Casting/ camada-acamada          | Citocina $\beta$ , siRNA e fator de crescimento epidérmico (EGF) | Apresentou resultados positivos na cicatrização de feridas e na formação de cicatrizes                            | (MANDAPALLI <i>et al</i> , 2017)    |
| <b>Filmes</b>                                     | Quitosana, Carboximetilquitosana e glutaraldeído                  | Casting                          | Coenzima A   | Os resultados apontam para um dispositivo promissor para a liberação de fármaco e a coenzima A                    | (GUO, YUAN, GAO, 2008)              |
| <b>Filmes</b>                                     | Quitosana, genipina e poli(N-vinil-2-pirrolidona)                 | Casting                          | Cloridrato de propranolol  | Filmes promissores para aplicação em sistema de liberação de aplicação bucal                                      | (ALDANA <i>et al</i> , 2012)        |

Fonte: MATOS et al., 2020.

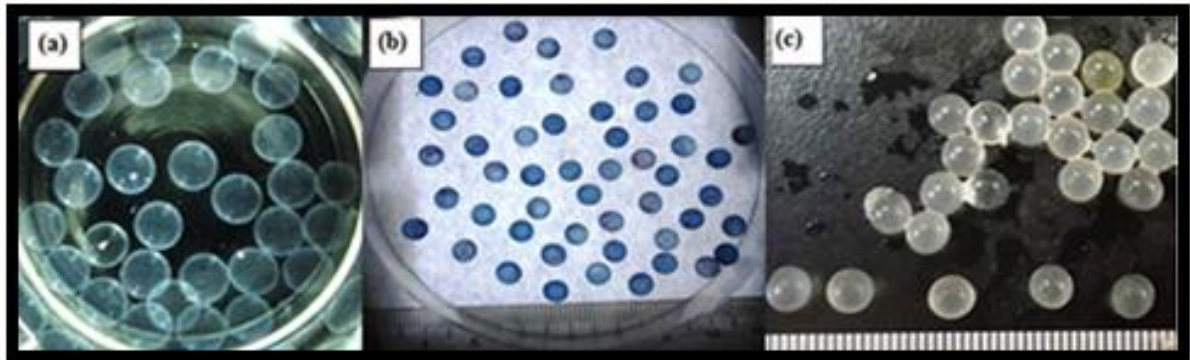
Os avanços recentes na produção de nanopartículas de quitosana preparadas por gelificação ionotrópica leva a produção de nanopartículas com uma distribuição de tamanho mais uniforme (GOUD et al., 2016). Drogas hidrofóbicas e hidrofílicas podem ser encapsuladas simultaneamente com alta eficiência por emulsificação seguida por gelificação iônica. Nanopartículas reticuladas ionicamente com base em quitosana nativa e quitosana modificada apresentaram excelente eficácia para aplicações de entrega de drogas controladas e direcionadas (GOUD et al., 2016).

Koukaras e colaboradores verificaram as interações moleculares da reticulação iônica da quitosana com o tripolifosfato (TPP) foram investigadas e elucidadas por meio da teoria do funcional da densidade de todos os elétrons. Os efeitos do solvente foram levados em consideração usando modelos implícitos. Neste trabalho, as configurações de reticulação iônica de interação primária foram definidas como H-link, T-link e M-link, e quantificadas as energias de interação correspondentes. H-links, que exibem altas energias de interação e também são amplamente acessíveis espacialmente, são as configurações de cross-linking mais prováveis. De perto, a transferência de prótons foi identificada, com energias de interação máximas variando de 12,3 a 68,3 kcal/mol, dependendo da protonação do polianião tripolifosfato e da coordenação relativa de quitosana com tripolifosfato. Com base nos resultados para os tipos de ligação (energias de interação e viés de torção), um mecanismo simples para o impacto no processo de formação de nanopartículas de quitosana / TPP foi proposto. Para tanto, introduziu-se a razão  $\beta$ , que é derivada da razão  $\alpha$  comumente usada, mas é mais fundamental, uma vez que, adicionalmente, leva em consideração os detalhes estruturais dos oligômeros (KOUKARAS et al., 2012).

Cápsulas de quitosana, que podem aumentar a estabilidade de materiais ativos e sustentar a taxa de liberação dos materiais encapsulados, receberam atenção especial na medicina biomédica, liberação controlada e indústria química (ZHANG et al., 2014). Um dos métodos mais simples e com menor impacto ao meio ambiente para de obtenção de microcápsulas é a extrusão invertida para a produção de microcápsulas de  $\text{Ca}^+$ -alginate-quitosana. No método invertido, a mistura de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e solução de quitosana é colocada na solução de alginate, obtendo assim, microcápsulas de núcleo líquido de  $\text{Ca}^+$ -alginate-quitosana, onde o núcleo líquido é circundado por camadas de membrana interfásica de alginate de  $\text{Ca}^+$  e alginate de quitosana (LIM; AHMAD, 2017). A Figura 7 mostra microcápsulas

formadas através desse processo.

**Figura 7– Microcápsulas de quitosana-alginato obtidas por extrusão invertida. Microcápsulas de Ca<sup>+</sup>-alginato-quitosana na forma úmida (a); microcápsulas tingidas (b); microcápsulas de Ca<sup>+</sup>-alginato-quitosana carregadas após quatro meses de liberação em água (c).**



Fonte: LIM; AHMAD, 2017.

Um outra aplicação para sistemas carreadores utilizando quitosana como matriz, são as estruturas gastrorresistentes, formadas visando aumentar a disponibilidade de fármacos que sofrem degradação em pH ácido, sendo assim, aumentando a eficácia terapêutica através da administração por via oral, possibilitando aplicações biológicas diversas. A Tabela 3 lista algumas aplicações biológicas de materiais a base de quitosana (SOUZA et al., 2020).

**Tabela 3 - Aplicações biológicas de materiais à base de quitosana (CS) distintos e modificados.**

| Classe terapêutica | Materiais/sistemas   | Observações   | Referências                       |
|--------------------|--|---|-----------------------------------|
| Antimicrobiano     | HTCC (cloreto de quitosana de N-(2-hidroxipropil)-3-trimetilamônio), grau de substituição de 57, 62, 63 e 77%. | O efeito inibitório do HTCC contra os vírus SARS-CoV-2 e MERS-CoV foi testado <i>in vitro</i> com células Vero e Vero 6, bem como <i>ex vivo</i> no epitélio das vias aéreas humanas (HAE). inibição mais forte por HTCC-62 ou HTCC-77 SARS-CoV-2: forte inibição 24 h após a inoculação do vírus. O HTCC bloqueia a interação entre o MERS-CoV com seu receptor de entrada celular DPP4. A inibição do vírus pode depender das unidades repetidas do polímero de quitosana | (MILEWSKA, CHI, SZCZEPANSK, 2020) |
|                    | nanopartícula e micropartículas de quitosana   | Baixo MW e DD apresentam maior atividade antimicrobiana. Em pH básico, o CS perde atividade antimicrobiana.   | (MA, GARRIDO-MAESTU, JEONG, 2017) |

|                                       |   |   |  |
|---------------------------------------|---|---|--|
|                                       | Quitosana com diferentes graus de desacetilação (DD =51,04%–100%) e MW ultra alto (Mw > 10 <sup>6</sup> g mol <sup>-1</sup> )                     | O valor ótimo de pH foi de 6,0 para a maior atividade bactericida, alta DD mais eficaz contra <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> . A MIC para DD 81% foi de 0,0625% ( <i>E. coli</i> ) e 0,0313% ( <i>S. aureus</i> ) A MIC para DD 100% foi de 0,0156% para ambos os microrganismos.  | (LI, WU, ZHAO, 2016)                                   |
| Anti-inflamatório                     | Quitosana com diferentes MWs e quitooligossacarídeo (COS)   | MC maiores (>29,2 kDa) geralmente exibem atividade anti-inflamatória. Os CS ligam-se ao receptor CR3 e aos receptores TLR4 e CR3 em macrófagos, regulando negativamente a fosforilação das proteínas de sinalização MAPK ERK, JNK e p38, inibindo a ativação de NF-κB induzida por LPS, abolindo a produção de TNF-α e IL-6 diminuindo NO produção, reduzindo a inflamação.                                 | (CHANG, LIN, WU <i>et al.</i> , 2019)                  |
|                                       | Teste <i>in vivo</i> (ratos) de atividade anti-inflamatória em modelo de úlcera de SC alto e baixo MW.  | Capacidade anti-ulcerativa e cicatrizante. LMW CS reduziu feridas ulcerativas. HMW CS ajudou a reter as dobras estomacais, proporcionando um efeito gastro protetor, também pode estimular a síntese de colágeno.   | (K. TAVARIA JORGE LÚCIA T.G RUIZ <i>et al.</i> , 2016) |
| Antioxidante                          | Quitosana de MW (0,5–1000 kDa) e DD (50% - baixo então 10%)   | A redução de DD e MW torna o CS mais eficiente na remoção de espécies reativas de oxigênio <i>in vitro</i> (ROS).   | (ANRAKU, GEBICKI, IOHARA, <i>et al.</i> , 2018)        |
|                                       | Gama irradiado (5–50 KGy) e não irradiado CS DD (72–75%), disperso em ácido láctico   | Redução do peso molecular do CS por irradiação gama a 50KGy, aumento da capacidade antioxidante da dispersão do CS  | (GARCÍA PÉREZ, DE LA PAZ <i>et al.</i> , 2015)         |
| Efeitos hipolipemiantes               | Suplementação dietética com quitosana (4% DD) quitooligossacarídeos COS < 1000 g mol <sup>-1</sup> , 4% DD COS < 3000 g mol <sup>-1</sup> , 9% DD | A SC e os quitooligossacarídeos têm a capacidade de regular o peso corporal, os índices hepático e cardíaco, a relação gordura/corpo, bem como os lipídios séricos, hepáticos e fecais. Simultaneamente, manter a atividade apropriada do fígado e soro superóxido dismutase (SOD), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), bem como fígado e ácidos biliares totais fecais (TBA) | (ZOU, YANG, WANG, <i>et al.</i> , 2016)                |
|                                       | Nanopartículas de quitosana carregadas de sinvastatina  | A CS induziu a formação de novo tecido osteóide, ilustrando biodegradabilidade e liberação controlada de sinvastatina. Após 14 dias, o CS promoveu aumento da enzima ALP (indicador de mineralização dos osteoblastos). Nanoestruturas de CS apresentaram porosidade adequada para angiogênese e nutrição óssea   | (XUE, WU, LIU, <i>et al.</i> , 2019)                   |
| Scaffolds para regeneração de tecidos | Quitosana e quitooligossacarídeos   | Redução de DD e MW de CS e seus derivados exibindo bons resultados <i>in vivo</i> , sendo eficiente contra câncer de próstata, células epiteliais basais alveolares humanas carcinômicas e carcinoma hepatocelular, sendo atóxico para células saudáveis  | (KIM, 2018)  |
| Anticâncer                            | Quitosana proveniente de Caranguejo ( <i>Chionoecetes opilio</i> ) CS e de cogumelo Shiitaki ( <i>Lentinula edodes</i> )                          | Shiitake CS teve o melhor efeito inibitório sobre o crescimento da linhagem celular de neuroblastoma humano (IMR 32, BCRC 60014) e da linhagem celular de carcinoma hepatocelular de fígado humano (Hep G2, BCRC 60025), ocorrendo porque Shiitake CS é mais desacetilado   | (CHIEN YEN, MAU, 2016)                                 |
|                                       | Hidrogel de quitosana contendo nano biovidro  | A coagulação foi duas vezes mais rápida do que o sangue puro no ensaio de hemocompatibilidade <i>in vitro</i> .<br>Teste <i>in vivo</i> revelou a redução para metade da perda de sangue e tempo de coagulação para ambos os órgãos e artérias  | (SUNDARAM, AMIRTHALINGAM, MONY, <i>et al.</i> , 2019)  |
| Hemostático,                          | Curativo hemostático à base de quitosana ChitoGauze®  | Um curativo hemostático comercial para controle externo temporário de feridas com sangramento grave. É um curativo CS composto por uma gaze médica não tecida de mistura de poliéster/rayon revestida com CS (HemCon Medical Technologies, Portland, OR, EUA).<br>pelas forças militares dos EUA, serviços médicos de emergência  | (BENNETT, 2014)  |

Fonte: SOUZA et al., 2020.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho são de grau analítico (PA), e foram utilizados sem purificação prévia. A quitosana utilizada possui massa molecular média e foi obtida da Sigma-Aldrich (São Paulo – SP, Brasil), o etanol absoluto, ácido acético glacial e o ácido clorídrico foram obtidos da Synth (São Paulo - SP, Brasil), a glicerina bidestilada da Neon ® e o tripolifosfato de sódio (TTP) da Sigma-Aldrich (São Paulo – SP, Brasil) . O fármaco Aciclovir foi obtido da empresa farmacêutica Eurofarma.

### 4.2 Produção das membranas

Para a produção da membrana de quitosana, foi preparada uma solução do polímero a 1% (m/m) em solução aquosa de ácido acético glacial 1% (v/v). Pesou-se inicialmente 5g de quitosana em balança analítica Shimadzu ATY224 e adicionou-se ao solvente sob agitação constante de 1500RPM com o auxílio de um agitador magnético IKA RTC BASIC, conforme ilustrado na Figura 8. A solução permaneceu sob agitação por 2h até obtenção de uma solução homogênea.

**Figura 8- Agitação de quitosana em solução aquosa de ácido acético 1%.**

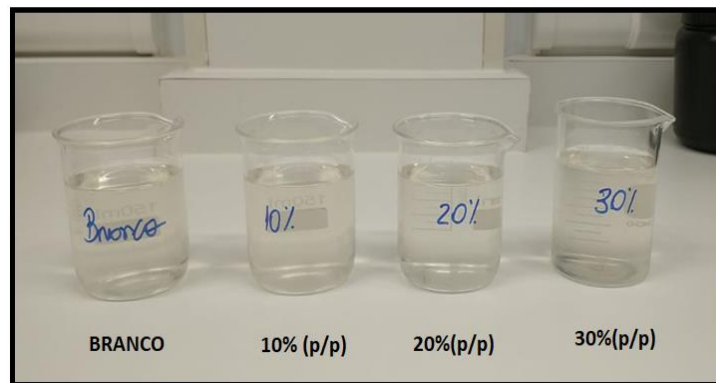


Fonte: Autor.

Após a obtenção da solução homogênea, o montante foi dividido em quatro partes iguais de 125g, conforme ilustrado na Figura 9, e a seguir com o auxílio de uma balança semianalítica (BELL M503) foi feita a adição do plastificante (glicerina

bidestilada). O plastificante foi adicionado em diferentes proporções (10%, 20% e 30%) em relação a massa de quitosana presente em cada fração (1,25g). Para tanto, utilizou-se uma pipeta automática de volume variável. Por se tratar de um material viscoso foi necessário esperar até que o líquido estabiliza-se dentro da ponteira e depois dispensar sobre as dispersões até que toda a glicerina fosse gotejada na solução de quitosana. A quantidade de plastificante adicionada foi determinada de acordo com resultados encontrados na literatura (CARONI et al., 2021) sendo utilizado a fim de que a membrana se torne mais flexível.

**Figura 9- Fracionamento da solução de quitosana para adição do plastificante.**



Fonte: Autor.

Após a adição do plastificante, as dispersões foram homogeneizadas com o agitador magnético IKA RTC BASIC por 5 minutos. Após esse período as membranas foram formadas através da evaporação do solvente em estufa ventilada LEMAQ, ilustrada na Figura 10, por 20 horas a 37°C.

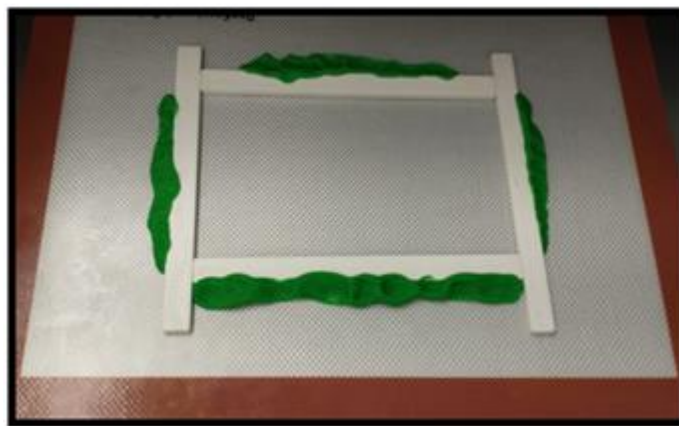
**Figura 10 - Estufa ventilada utilizada para secar as membranas.**



Fonte: Autor.

O suporte para secagem das membranas foi confeccionado utilizando um tapete de silicone com fibra de vidro antiaderente para forno SILPAT®, e como limitador do tamanho das membranas foi utilizada uma barrinha de plástico (1 x 0,3 cm), e massinha de modelar para selar as frestas, conforme está representado na Figura 11.

**Figura 11- Modelo do suporte utilizado para secar as membranas (18 x 11 cm)**



Fonte: Autor.

A adição do Aciclovir nas membranas foi realizada dissolvendo 50 mg do fármaco em solução aquosa de ácido acético 1%(v/v) e glicerol (plastificante) com o auxílio de um agitador magnético, utilizando a velocidade de 300RPM por 30 minutos. Após a completa solubilização do fármaco, a quitosana foi adicionada e a velocidade de agitação aumentada para 1500RPM, levando 2 horas para completa dissolução do polímero.

#### **4.3 Produção das microcápsulas pelo método de gelatinização ionotrópica**

As microcápsulas de quitosana reticuladas com tripolifosfato de sódio (TTP), foram preparadas de acordo com a metodologia descrita em (XUE et al., 2019). De maneira resumida, uma solução de 50 mL de quitosana 0,2% (p/v) em ácido acético 1%(v/v) foi preparada e gotejada sobre uma placa de petri contendo 20 mL de solução reticulante de TPP 0,1% (p/v) em hidróxido de sódio 0,05 M, com o auxílio de uma pipeta automática de volume variável de 1-10 mL. As microcápsulas obtidas ficaram

em contato com a solução de TPP por 10 minutos, conforme ilustrado na Figura 12, e posteriormente foi removido o sobrenadante. As microcápsulas formadas foram então submetidas a lavagem com água purificada e secas em estufa a 37°C por 24 horas. Após sua formação, as microcápsulas possuem baixa resistência mecânica, impossibilitando sua remoção do suporte antes do processo de secagem. A adição do Aciclovir nas microcápsulas foi realizada dissolvendo 50 mg do fármaco em solução aquosa de ácido acético 1%(v/v) e glicerol (plastificante) com o auxílio de um agitador magnético, utilizando a velocidade de 300 RPM por 30 minutos. Após a completa solubilização do fármaco, a quitosana foi adicionada e a velocidade de agitação aumentada para 1500 RPM, levando 2 horas para completa dissolução do polímero. A solução obtida foi então gotejada sobre a solução reticulante, formando as microcápsulas.

**Figura 12 - Processo de obtenção das microcápsulas.**

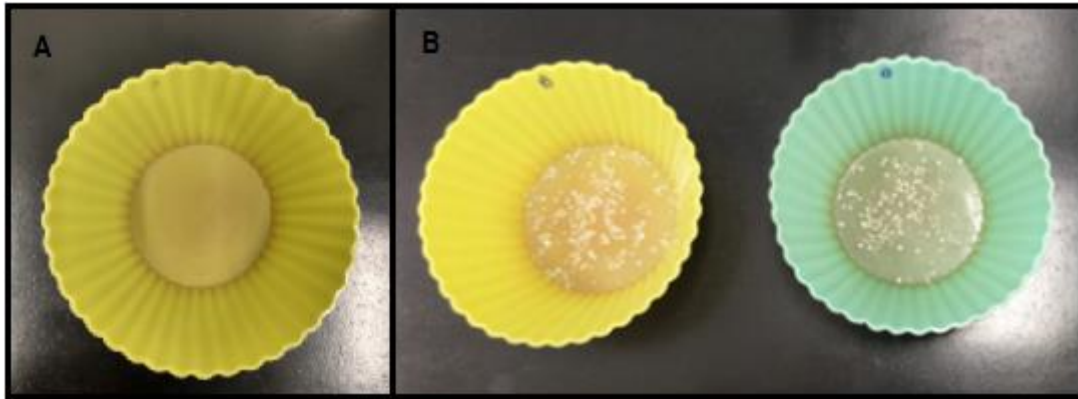


Fonte: Autor.

#### **4.4 Produção do sistema microcápsulas/membranas**

Para a produção do sistema microcápsulas/membrana, foram utilizados 300 mg de microcápsulas secas em estufa (contendo Aciclovir) sobre um suporte de silicone, conforme ilustrado na Figura 13.

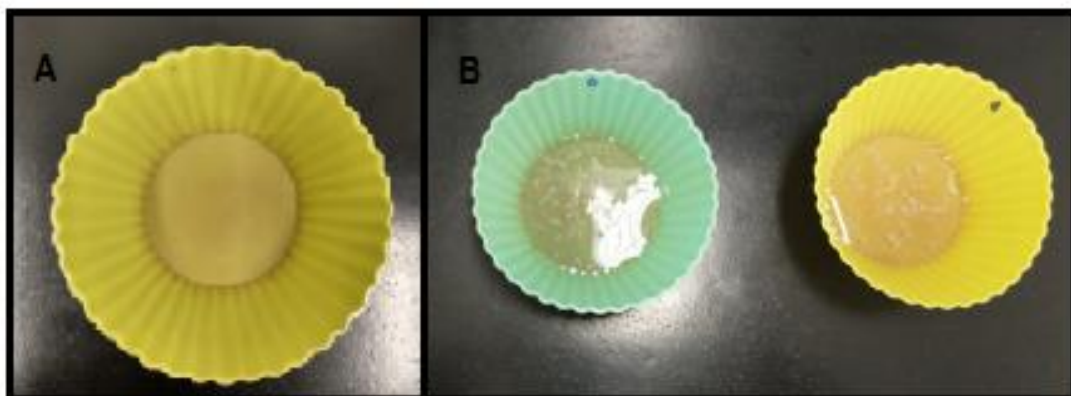
**Figura 13 – Suporte de silicone vazio (A) e (B) microcápsulas de quitosana e aciclovir sobre o suporte de silicone.**



Fonte: Autor.

Após a colocação das cápsulas ao substrato, foram adicionados 10 mL de solução de quitosana e aciclovir (quitosana 1%(p/v), 30% glicerina (p/p) em ácido acético 1%(v/v), conforme mostra a Figura 14. Em seguida, o sistema foi seco em estufa a 37°C por 6-8 horas.

**Figura 14 - Suporte de silicone vazio (A) e (B) microcápsulas de quitosana e aciclovir com solução quitosana sobre o suporte de silicone**



Fonte: Autor.

## **5 Caracterizações**

### **5.1 Medidas de espessura**

Para análise da espessura, as membranas foram colocadas no micrômetro e direcionadas na borda e na extremidade, cada medida foi feita em triplicata. Para tanto, foi utilizado o micrômetro da marca Mitutoyo M4 Checker.

### **5.2 Absorção de água**

O ensaio de absorção de água das membranas foi realizado a temperatura ambiente (25°C), utilizando como meio de hidratação tampão pH 7,0 e água purificada pH 9,18, utilizou-se 100 mL. O ensaio foi realizado em triplicata e o gráfico representa as médias dos valores encontrados. Para as medidas de massa obtidas em cada tempo, as membranas foram secas suavemente com lenços de papel macio para retirar o excesso de meio hidratante da superfície, em seguida, as amostras foram pesadas em balança analítica de precisão.

### **5.3 Perda de massa por secagem**

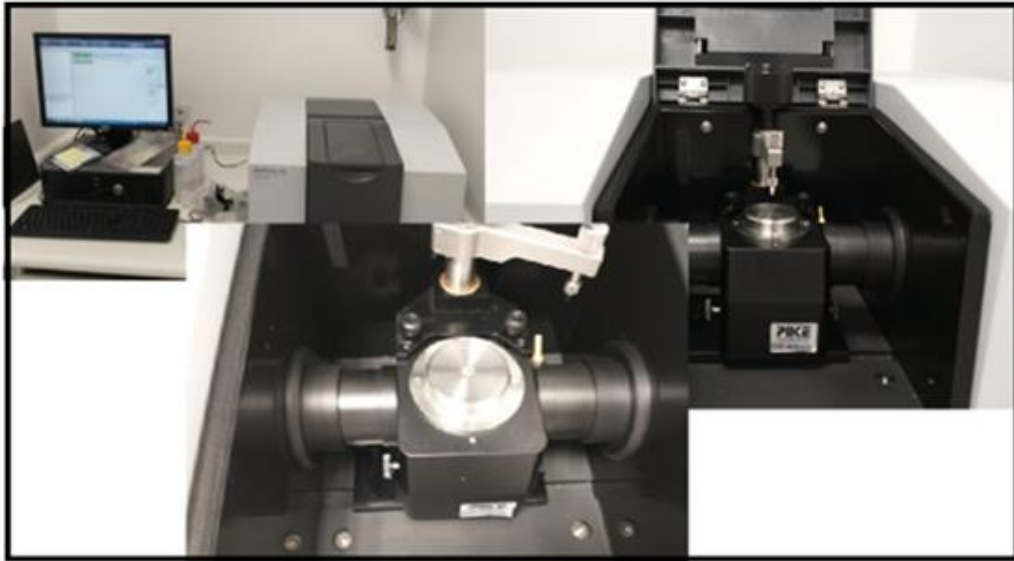
Para a medição de perda de massa das membranas resultante do teste de absorção de água, utilizou-se a temperatura ambiente (25°C). Os testes foram realizados em triplicata, sendo considerados os valores da média encontrada. As amostras foram pesadas em balança analítica de precisão utilizando como suporte um vidro de relógio de 10 cm de diâmetro.

### **5.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR-ATR)**

Espectros na região do Infravermelho (IV) com transformada de Fourier foram obtidos com acessório de ATR (reflectância atenuada), utilizando espectrofotômetro da marca Shimadzu modelo IR PRESTIGE-21, ilustrado na Figura 15. A aquisição de espectros de amostras líquidas (glicerina, propilenoglicol) foi obtida com uma gota do material, enquanto que para amostras sólidas (quitosana, aciclovir, e as membranas), a mesma foi inserida na superfície do prisma. Os espectros da membrana com o fármaco inserido foram obtidos em quatro regiões diferentes. Os resultados obtidos

em transmitância foram tratados com software ORINGIN® versão 8 para atribuição e comparação das bandas entre as amostras e seus componentes.

**Figura 15 - Espectrofotômetro na região do Infravermelho (IV) com transformada de Fourier e acessório de ATR (refletância atenuada).**



Fonte: Autor.

## 5.5 Análise térmica

Curvas termogravimétricas (TGA) foram obtidas em um analisador modelo TGA 2050 e curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) em um analisador calorimétrico modelo DSC 2100, acoplados a um analisador térmico TA 2000, todos fabricados pela empresa TA Instruments. As curvas TGA foram obtidas usando suporte de amostra de alumina, em torno de 7 mg de amostra foram utilizadas. As análises foram realizadas com razão de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em atmosfera dinâmica de ar e  $\text{N}_2$ , ambas com uma vazão de  $90\text{ mL min}^{-1}$ .

## 5.6 Ensaio mecânico de tração

Ensaio mecânicos de tração foram realizados para todas as amostras, utilizando corpo de prova de  $15\text{ mm} \times 10\text{ mm}$  (comprimento x largura). Os testes foram realizados em triplicata utilizando máquina de ensaio universal da marca Biopdi, modelo MBIO1

- portátil (São Carlos, São Paulo), com célula de carga de 50 N e taxa de deformação constante (velocidade de deslocamento do travessão) de 5 mm/min.

## 5.7 Peso médio

O peso médio das membranas foi obtido em uma balança analítica de precisão, da marca Gehaka®. O resultado do peso médio irá auxiliar na determinação da uniformidade da membrana obtida, bem como na uniformidade de dose, sendo comparada também com as medidas de espessura.

## 5.8 Difração de raios X

As matérias primas e todas as membranas foram caracterizados por medidas de difração de Raios X com a finalidade de observar a influência do Aciclovir na cristalinidade e, conseqüentemente, nas propriedades das membranas. O Aciclovir (pó), a quitosana (pó), as membranas de quitosana com diferentes concentrações de plastificante (10, 20 e 30% p/p) e a membrana de quitosana 30% (p/p) com Aciclovir foram analisadas em um intervalo de  $2\theta$  entre 5,0 e 70,0 graus a uma velocidade de 1°/min. As análises de difração de Raios X foram realizadas em difratômetro de raios X *Miniflex II – Desktop X-ray diffractometer*, da marca Rigaku, com radiação de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 0,154$  nm). As análises foram conduzidas em temperatura ambiente em aparelho com tensão de 40 kV e corrente 30 mA.

## 5.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Micrografias superficiais dos biofilmes foram obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para análises das superfícies de topo em alta escala de ampliação. A microscopia eletrônica de varredura analisa o material através da irradiação por um fino feixe de elétrons que interage com a superfície da amostra e origina uma série de radiações fornecendo, dessa forma, informação morfológica e topográfica de superfícies de sólidos, necessária para a compreensão do comportamento de superfícies (SOUZA NETO et al., 2019). A caracterização por MEV foi realizada utilizando equipamento modelo Hitachi - TM-3000, acoplado com sistema para microanálise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS, sendo obtidas imagens usando magnificação de 500x, 10000x e 30000x.

### **5.10 Perfil de liberação**

Para a avaliação do perfil de liberação do Aciclovir contido nas microestruturas obtida (membrana, cápsulas e membrana + cápsulas), utilizou-se como meio de dissolução o tampão pH 7,0 e temperatura constante de 37°C. A escolha do pH e da temperatura foi realizada de acordo com as características físico-químicas do material e também das condições fisiológicas do local de aplicação das microestruturas desenvolvidas.

### **5.11 Curva de calibração do Aciclovir**

Para construção da curva de calibração foi inicialmente verificado qual o comprimento de onda de maior absorbância para o Aciclovir através de uma varredura de 200 a 500 nm. Após a determinação do comprimento de onda necessário foi preparado uma solução de Aciclovir 0,0015% (p/v) de acordo com instruções da farmacopéia brasileira 6ª edição 2019.

A solução padrão foi preparada dissolvendo-se 10 mg de padrão de Aciclovir, precisamente pesado, em uma solução de HCl 0,1 M utilizando balão volumétrico de 100 mL. A partir dessa solução foram preparadas as amostras com diferentes concentrações. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro FEMTO® UV 700 e a solução HCl 0,1 M para ajuste da linha de base (zero).

### **5.12 Avaliação do efeito matriz**

A quantificação do composto de interesse em validação pode ser obtida através dos seguintes métodos: padronização externa; padronização interna; superposição de matriz; adição padrão. A primeira forma de se avaliar a seletividade é comparando a matriz isenta da substância de interesse e a matriz adicionada com esta substância (padrão), sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve possuir absorbância no mesmo comprimentos de onda da substância de interesse. Para tanto, espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vís) foram realizados com varreduras de 200 a 600 nm. Os espectros foram obtidos para as soluções formadoras das

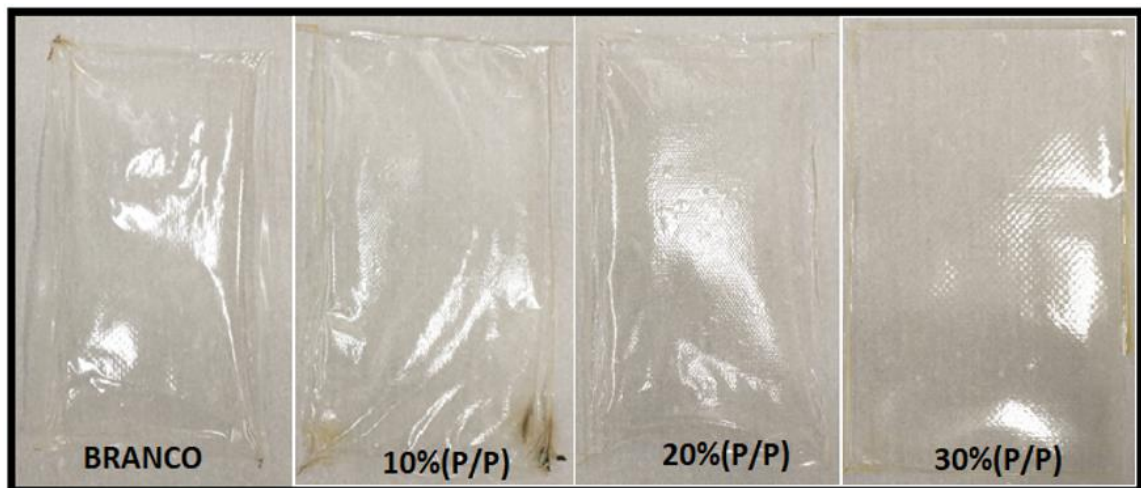
membranas e cápsulas (quitosana/glicerol 30%(p/p)/Aciclovir e quitosana/glicerol (30%(p/p)), além da solução do fármaco Aciclovir. As medidas foram feitas a fim de observar se algum dos componentes da amostra (quitosana, glicerol, ácido acético) absorvem no mesmo comprimento de onda do Aciclovir (249 nm), e se a varredura da amostra para o fármaco apresenta o mesmo perfil do Aciclovir padrão (BRASIL, 2017).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Formações das membranas

As membranas foram removidas das placas de silicone mostrando-se visualmente homogêneas, não apresentando bolhas, conforme ilustrado na Figura 16. Os valores de espessura obtidos para as membranas foram de 20  $\mu\text{m}$ , 35  $\mu\text{m}$ , 20  $\mu\text{m}$  e 16  $\mu\text{m}$  no centro e 25  $\mu\text{m}$ , 30  $\mu\text{m}$ , 35  $\mu\text{m}$  e 27  $\mu\text{m}$  na região das bordas para as membranas formadas por quitosana, quitosana / glicerol 10%, quitosana / glicerol 20% e quitosana / glicerol 30%, respectivamente.

**Figura 16- Membranas formadas por a) quitosana, b) quitosana/glicerol 10%, c) quitosana/glicerol 20% e d) quitosana/glicerol 30% secas em estufa a 50°C.**

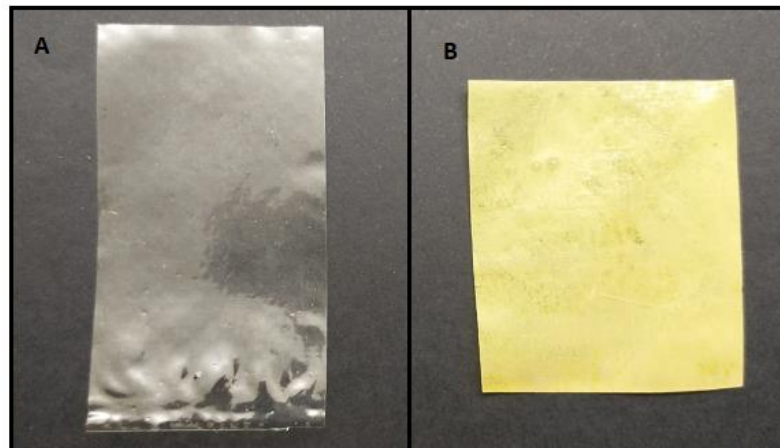


Fonte Autor.

A Figura 17 a seguir mostra a membrana com Aciclovir após 24 horas (A) e 48 horas (B) de secagem. É possível observar a diferença de coloração em função do tempo, o que sugere baixa estabilidade do Aciclovir quando incorporado a membrana.

O aspecto amarelado observado nesta estrutura sugere ainda a oxidação do fármaco através de seu álcool primário, que oxida em aldeído e em seguida para ácido carboxílico, o que pode ocorrer pela ação de oxigênio, umidade e temperatura (MEIRELLES, 2014)

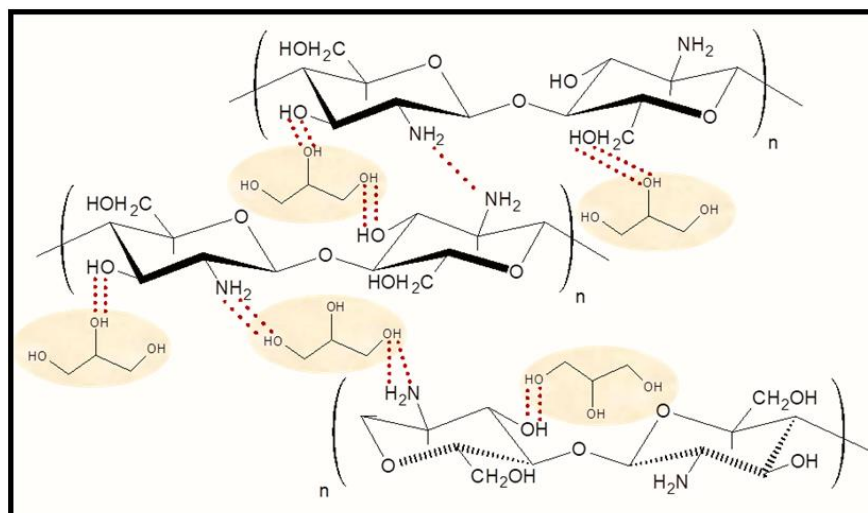
**Figura 17 - (A) Membrana com Aciclovir 24 horas após o preparo, e após a secagem (B) Membrana com Aciclovir após 48 horas após a secagem.**



Fonte: Autor.

A Figura 18 a seguir ilustra a hipótese de interação entre os materiais formadores das membranas. A principal ligação química existente são ligações de hidrogênio entre as cadeias de quitosana, bem como entre as moléculas de quitosana e glicerol.

**Figura 18 - Interação entre os materiais formadores da membrana.**



Fonte: Autor.

## 6.2 Formação das Cápsulas

A gelificação ionotrópica é um processo que tem por base a capacidade de polieletrólitos (quitosana) apresentarem ligações entrecruzadas na presença de contra-íons (tripolifosfato) e formarem estruturas gelatinosas, também denominadas microcápsulas. Neste sistema, a gelificação ocorre pela interação entre grupos fosfatos negativamente carregados, presentes na estrutura do TPP, com os grupos amino protonados da quitosana, positivamente carregados. As microcápsulas obtidas pelo processo de ionotropia estão apresentadas na Figura 19. Na Figura 19 B podemos observar que as estruturas possuem tamanho médio de 1 mm.

A vantagem observada na incorporação do fármaco às cápsulas foi a maior estabilidade apresentada, uma vez que, na membrana o mesmo apresentou aspecto amarelado rapidamente. A hipótese para tal fato é que o Aciclovir não está totalmente envolvido pela membrana, ficando mais susceptível a reações de oxirredução na presença da luz e oxigênio. Já na estrutura das cápsulas o encapsulamento do Aciclovir apresenta maior estabilidade, provavelmente devido ao fármaco estar melhor envolvido evitando contato com o oxigênio da atmosfera.

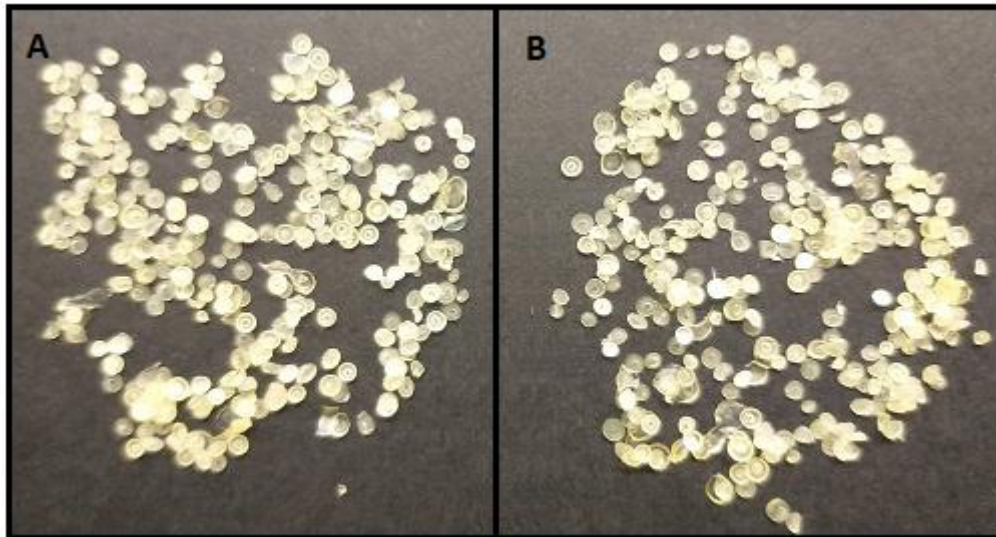
**Figura 19 – Tamanho e morfologia das cápsulas após o processo de secagem de em estufa a 37°C, por 24horas.**



Fonte: Autor.

A Figura 20 mostra as microcápsulas com e sem inserção de fármaco, conforme podemos observar nenhuma alteração morfológica significativa foi apresentada.

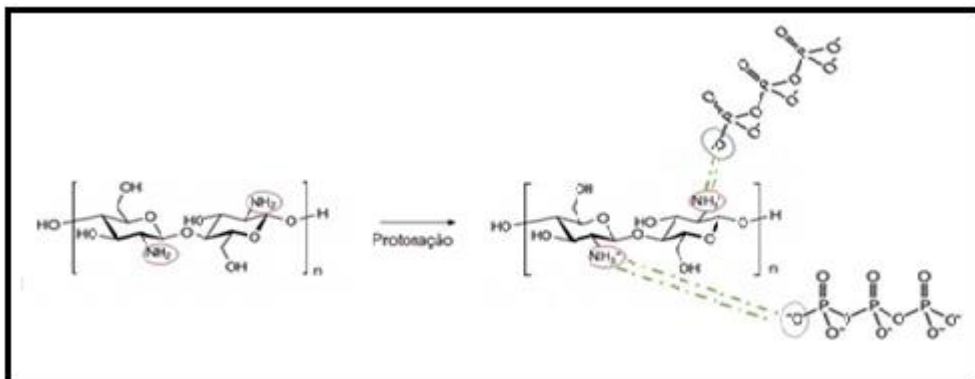
**Figura 20 - (A) Cápsulas sem Aciclovir, e (B) Cápsulas com Aciclovir.**



Fonte: Autor.

A Figura 21 ilustra a hipótese de interação entre os materiais formadores das microcápsulas. Conforme podemos observar, a principal ligação química existente são interações eletrostáticas entre as aminas protonadas ( $\text{NH}_3^+$ ) das cadeias de quitosana e grupos fosfato negativamente carregados do TPP.

**Figura 21 - Interação entre os materiais formadores das microcápsulas.**

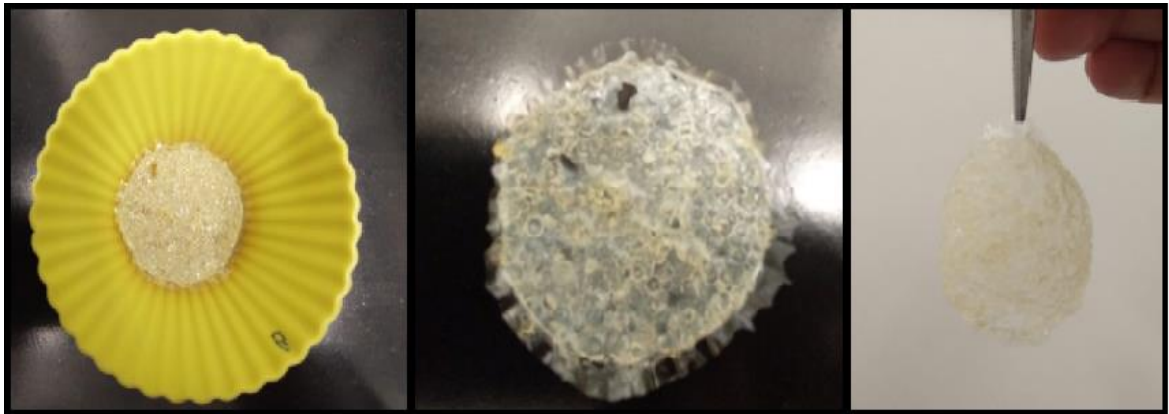


Fonte: Autor.

### 6.3 Formação do sistema microcápsula com Aciclovir e membrana

Buscando associar as melhores características de adesividade, resistência mecânica e elasticidade observadas na membrana, com a boa estabilidade físico-química conferida pelas microcápsulas ao fármaco Aciclovir, o sistema membrana + cápsula foi obtido, conforme ilustrado na Figuras 22.

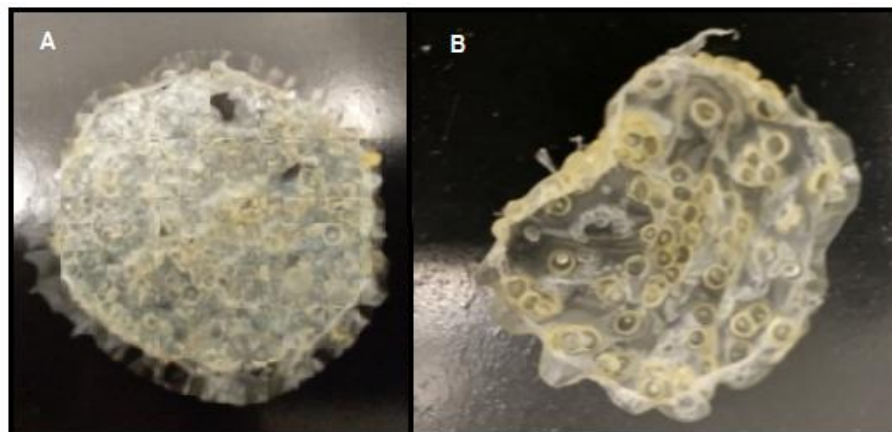
**Figura 22 - Sistema microcápsula/membrana após a secagem.**



Fonte: Autor.

É possível observar a estrutura com um aspecto esbranquiçado conferido pelas microcápsulas. Visualmente, a inserção das microcápsulas nas membranas acarreta em uma redução da elasticidade e apresenta ressecamento da amostra, conforme ilustrado na Figura 23.

**Figura 23 - Sistema microcápsula + membrana após a secagem (A) sistema com Aciclovir (B) sistema sem Aciclovir.**

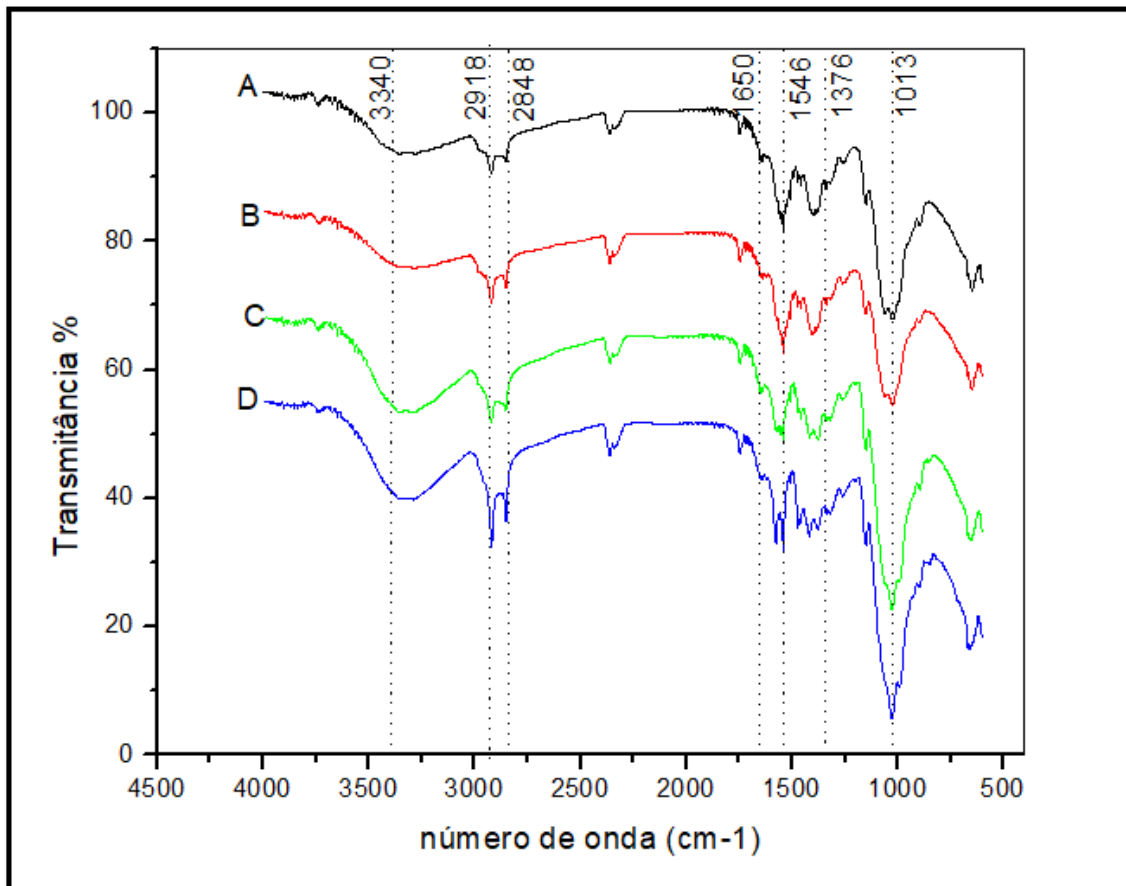


Fonte: Autor.

## 6.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR-ATR)

Espectros de infravermelho foram obtidos a fim de se caracterizar os grupos químicos de ambos os materiais nas membranas. Os espectros na região do infravermelho para as membranas, formadas por quitosana pura e membranas mistas formadas por quitosana/glicerol, são ilustrados na Figura 24. As bandas vibracionais típicas correspondentes aos grupos químicos formadores de ambos os materiais foram identificadas e estão listadas na Tabela 4 a seguir.

Figura 24 - Espectros de infravermelho para a) quitosana, b) quitosana/glicerol 10% (p/p) , c) quitosana/glicerol 20% (p/p) e d) quitosana/glicerol 30% (p/p)



Fonte: Autor.

É possível observar que as bandas centradas em  $3336\text{ cm}^{-1}$  (atribuídas à deformação OH) e aquelas centradas em  $2918\text{ cm}^{-1}$  e  $2848\text{ cm}^{-1}$  (atribuídas às cadeias alquílicas) têm sua intensidade aumentada com a adição de glicerol, sendo que nenhuma banda nova foi observada. Todas as bandas foram atribuídas em acordo com a literatura (CARONI et al., 2021).

**Tabela 4 - Espectroscopia na região do infravermelho das membranas de quitosana.**

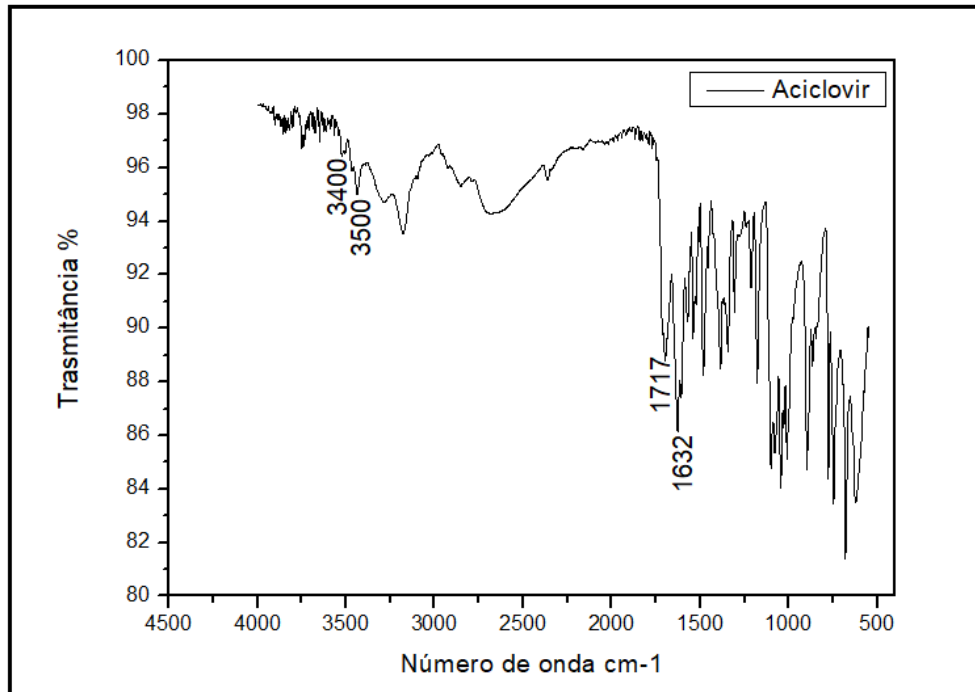
| <b>Nº de onda</b>                            | <b>Tipo de interação</b>  |
|--|---|
| <b><math>3200-3500\text{ cm}^{-1}</math></b> | Deformação de O-H sobrepostas a deformação N-H.                           |
| <b><math>2850-2970\text{ cm}^{-1}</math></b> | Vibrações de C-H.   |
| <b><math>1645\text{ cm}^{-1}</math></b>      | Grupo amida I (C = O alongamento) da quitosana.                           |
| <b><math>1550\text{ cm}^{-1}</math></b>      | Deformação angular do grupo $\text{CH}_2$ ligado ao grupo carbonila.      |
| <b><math>1585\text{ cm}^{-1}</math></b>      | Banda de amida II (deformação angular N-H) da quitosana.                  |
| <b><math>1376\text{ cm}^{-1}</math></b>      | Banda de amida III (C = O-NH <sub>2</sub> deformação axial) da quitosana. |
| <b><math>1012\text{ cm}^{-1}</math></b>      | Ligação peptídica, deformação angular do C-O da quitosana.                |

Fonte: Autor.

A Figura 25 ilustra o espectro na região do infravermelho do Aciclovir, onde as principais bandas vibracionais estão presentes, sendo elas: em  $1717\text{ cm}^{-1}$  e  $1632\text{ cm}^{-1}$ , relativos à deformação axial da ligação C=O (banda amida I) e à deformação angular da ligação N-H (banda amida II), respectivamente. As bandas em  $3400\text{ cm}^{-1}$  e  $3500\text{ cm}^{-1}$  são referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica do N-H, respectivamente. As atribuições de bandas do espectro foram

feitas de acordo com a literatura (ZEPON et al., 2013).

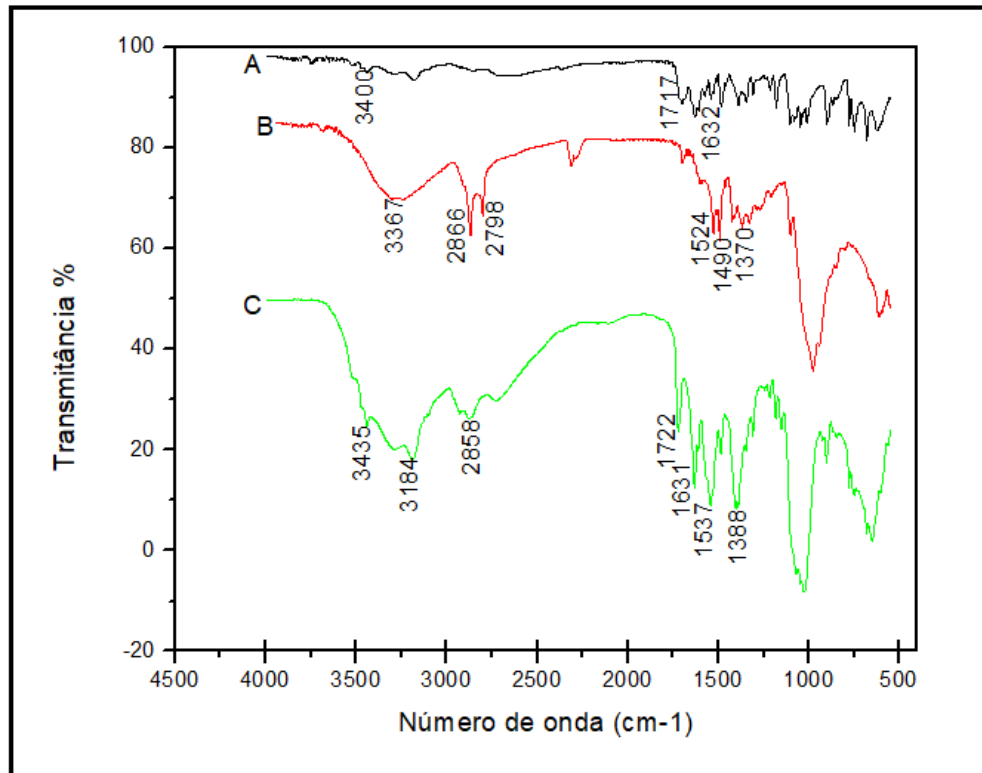
**Figura 25 - Espectro de infravermelho para o fármaco Aciclovir**



Fonte: Autor.

O comparativo dos espectros por FTIR das membranas/glicerol 30% (p/p), membrana/glicerol 30% (p/p) + Aciclovir e Aciclovir em pó é apresentado na Figura 26. A membrana/glicerol 30% (p/p) + Aciclovir apresenta bandas características da quitosana e também do Aciclovir, sendo elas: banda em  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao grupo OH sobrepostas a deformação N-H, banda em  $1722\text{ cm}^{-1}$  relativos à deformação axial da ligação C=O (banda amida I) e a banda  $1632\text{ cm}^{-1}$  referente a vibração do grupo N-H de amida II. Para o sistema membrana/glicerol 30% (p/p), é possível observar as bandas características da quitosana em  $3367\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao alongamento assimétrico da ligação OH<sup>-</sup> e em  $2866\text{ cm}^{-1}$  e  $2798\text{ cm}^{-1}$  deformação de CH dos grupos alquílicos, e as bandas as bandas  $1745\text{ cm}^{-1}$ ,  $1546\text{ cm}^{-1}$  e  $1370\text{ cm}^{-1}$  que correspondem a deformação angular de N-H da amida I, II e III, respectivamente. Como também é possível observar ocorreu um deslocamento nas bandas amino, amida tanto da quitosana quanto do acilovir sugerindo uma possível interação química entre estes grupos.

**Figura 26 - Espectro de infravermelho para a (A) Aciclovir, (B) Membrana/glicerol 30% (p/p) e (C) Membrana/glicerol 30% (p/p)/Aciclovir**



Fonte: Autor.

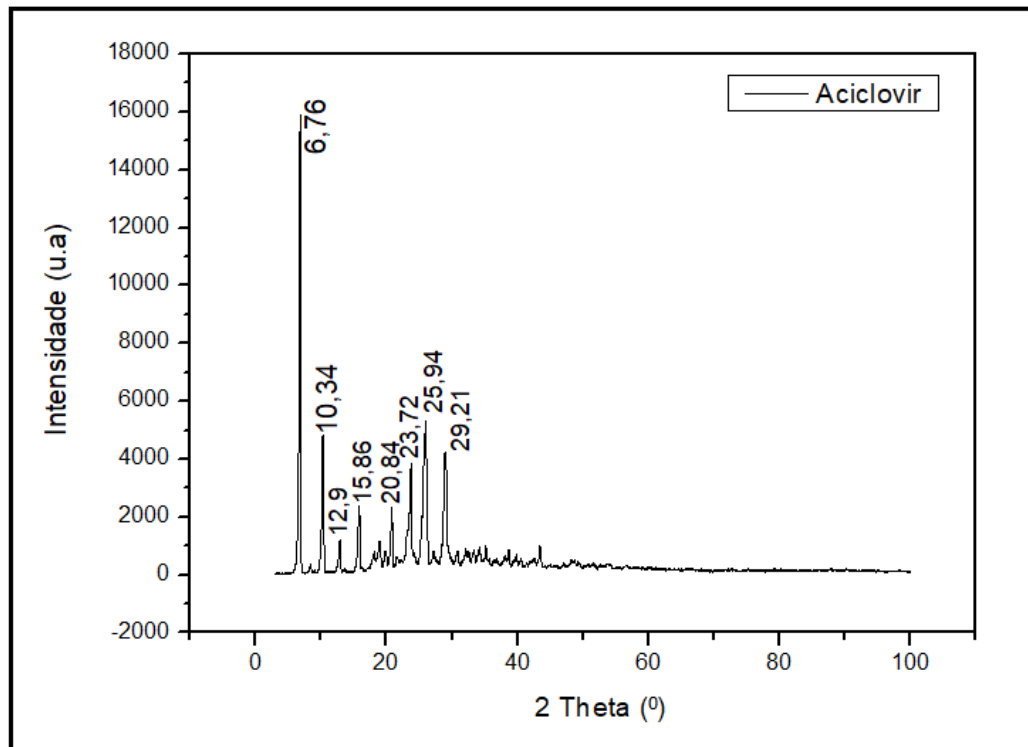
## 6.5 Difração de raios X (DRX)

Considerações entre estados cristalinos e amorfos são importantes em relação ao processo de absorção de líquidos (dissolução). Sólidos amorfos são, geralmente, mais facilmente dissolvidos que sólidos no estado cristalino (PRADO; ROCHA, 2015). Tal fato baseia-se na energia envolvida no processo de dissolução, pois em um sólido amorfo as moléculas são arranjadas ao acaso e, portanto, baixa energia é requerida para separá-las, conseqüentemente a dissolução é mais rápida. Assim, o desenvolvimento de formulações contendo o fármaco na forma amorfa é frequentemente benéfico em termos de dissolução e biodisponibilidade (STULZER et al., 2007)

O Aciclovir em pó possui características cristalinas, que no difratograma mostrado na Figura 27 se apresentam sob a forma de picos que foram aqui atribuídos de acordo com o encontrado na literatura. Neste estudo foram tomados como referência os picos

com maior intensidade relativa para o fármaco puro que se encontram em  $2\theta$ , sendo eles: em  $6,78^\circ$ ,  $10,34^\circ$ ,  $12,90^\circ$ ,  $15,86^\circ$ ,  $20,84^\circ$ ,  $23,72^\circ$ ,  $25,94^\circ$  e  $29,21^\circ$ , confirmando as características cristalinas do ativo (LUTKER et al., 2011).

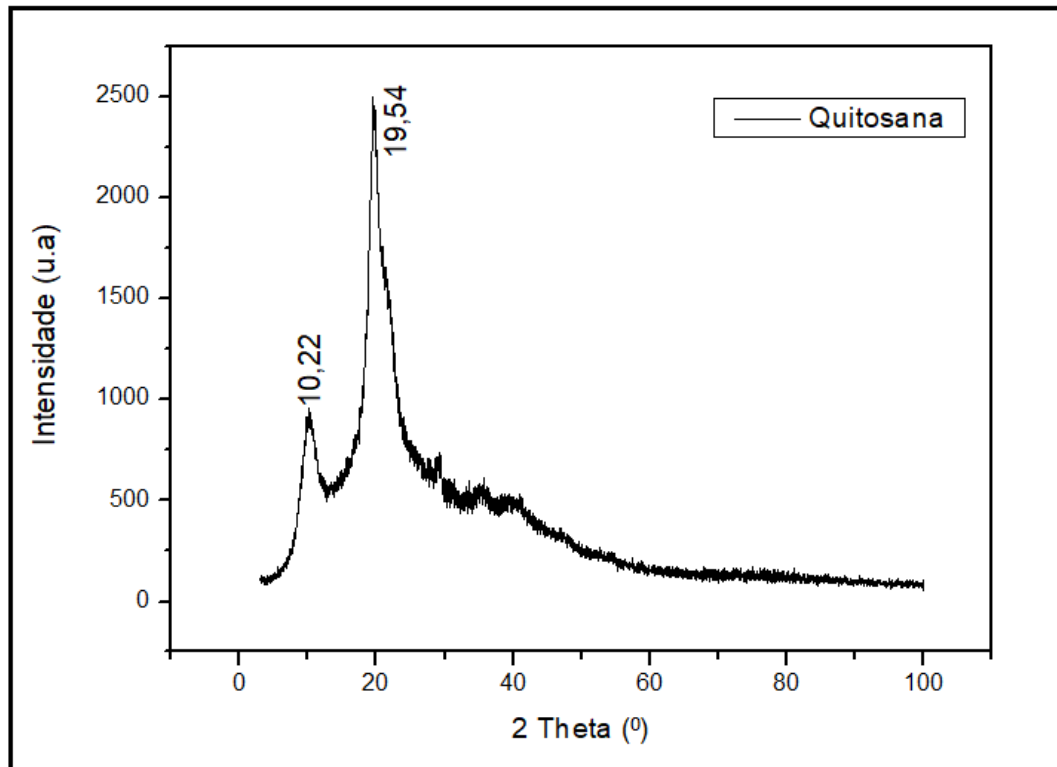
**Figura 27 - Difração de raios X para o fármaco Aciclovir**



Fonte: Autor.

A Figura 28 mostra o difratograma obtido para a quitosana em pó. Conforme podemos ver, o gráfico apresenta dois picos largos em  $2\theta$  centrados em  $10,22^\circ$  e  $19,54^\circ$ , referentes aos planos (010) e (020, 110), respectivamente, com grau de cristalinidade de 8,49%, evidenciando a estrutura semicristalina do polímero e corroborando com os valores encontrados na literatura que são picos entre  $10,10 - 10,99^\circ$  e  $19,98 - 20,21^\circ$  (COSTA; MANSUR, 2008).

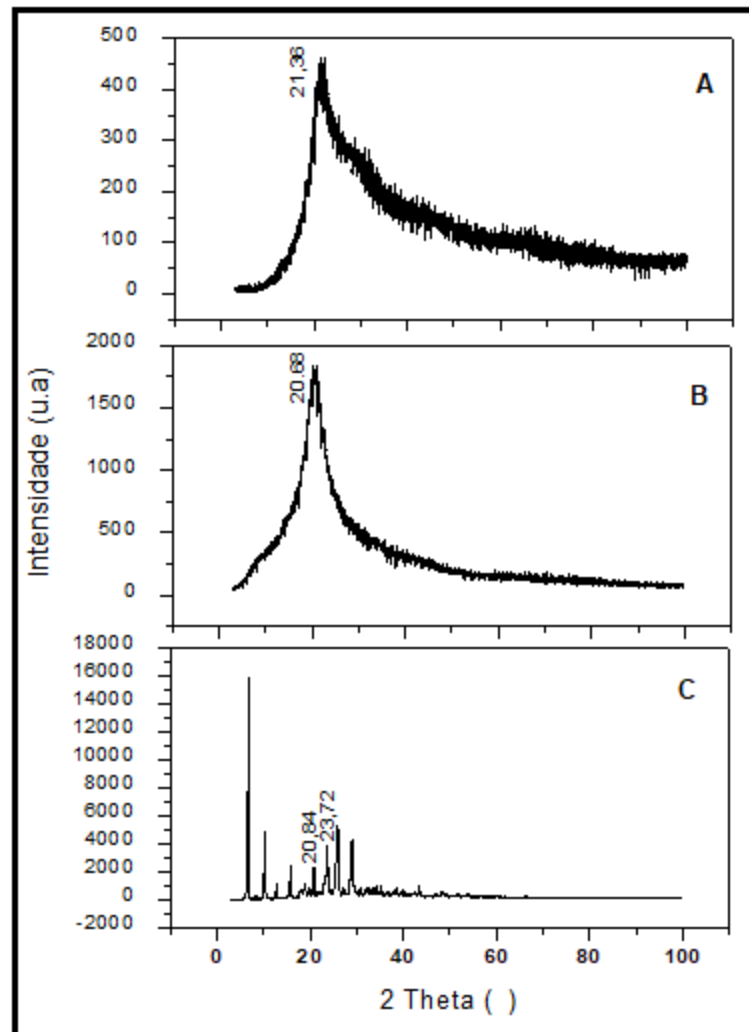
Figura 28 - Difração de raios X para a quitosana.



Fonte: Autor.

Com relação as membranas formadas por quitosana/glicerol 30% (p/p) e quitosana/glicerol 30% (p/p) + Aciclovir, a membrana sem o fármaco apresentou somente um dos picos característicos da quitosana em pó, o centrado em  $20,36^\circ$ , conforme ilustrado na Figura 29. Já a membrana contendo o fármaco apresentou um difratograma com pico mais estreito em aproximadamente  $2\theta = 20,68^\circ$ , quando comparado com a membrana de quitosana sem o fármaco, a presença do Aciclovir na superfície da membrana pode alterar a difração dos raios X que incidem sobre a superfície.

Figura 29 - Difração de raios X para: (A) membrana/glicerol 30% (p/p), (B) membrana/glicerol 30%(p/p)/Aciclovir e (C) Aciclovir em pó.

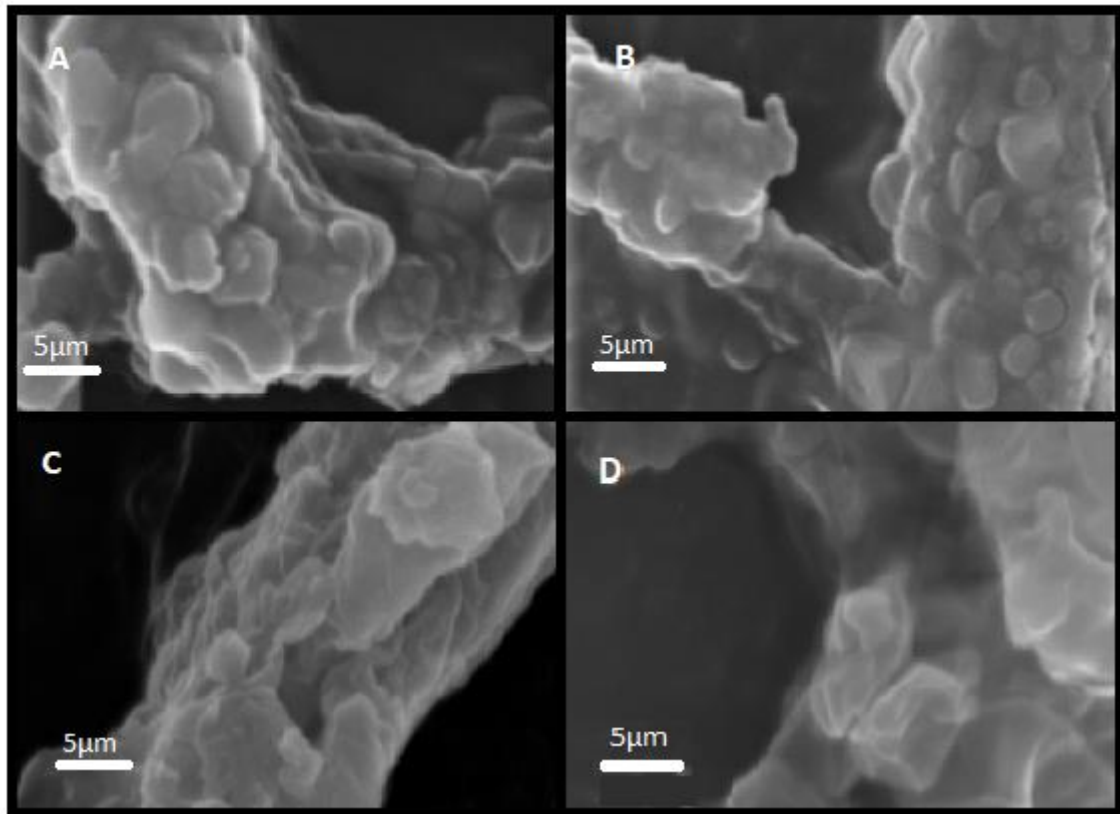


Fonte: Autor.

## 6.6 Microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana.

No aspecto macroscópico, as membranas apresentam maleabilidade que diminui conforme diminui proporção de glicerol em relação a quitosana. Já nas imagens micrográficas obtidas por MEV, apresentadas na Figura 30, o aspecto morfológico microscópico das membranas sem e com plastificante (10, 20 e 30%) podem ser observadas. Conforme podemos observar, a superfície das membranas mostram-se rugosa sem poros, sendo que a inserção de qualquer proporção de plastificante não altera a morfologia das membranas em relação a membrana de quitosana pura (Figura 30 A).

**Figura 30 - Microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana: A= membrana sem glicerol; B= membrana/glicerol 10%; C= membrana/glicerol 20%; D= membrana/glicerol 30%.**



Fonte: Autor.

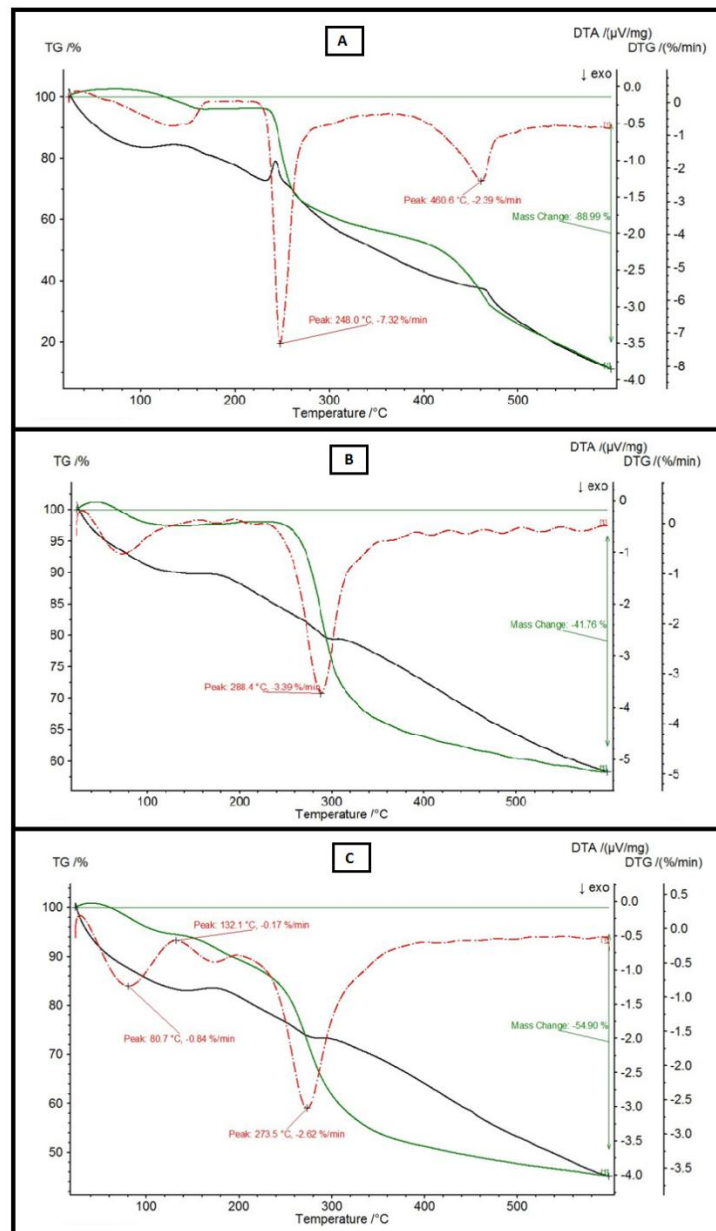
### 6.7 Análise termogravimétrica TG

A Figura 31 A-C mostra as curvas TGA para o Aciclovir, quitosana em pó e membrana formada por quitosana pura. A decomposição térmica do Aciclovir em pó Figura 31 A foi observada em dois eventos, o primeiro ocorreu em DTG pico = 248,0°C, e o segundo evento ocorreu em DTG pico = 471,9 °C. Após estes eventos, houve uma perda de massa constante, gerando um resíduo de cerca de 10% da massa inicial. Esses dados estão de acordo com resultados relatados na literatura para este fármaco (STULZER et al., 2007).

Para a quitosana em pó, a curva TG apresentada na Figura 31 B, um único e acentuado evento de perda de massa ocorre na faixa de temperatura compreendida

em DTG pico= 288,4°C. Já a curva termogravimétrica da membrana de quitosana pura (Figura 31 C) apresenta dois eventos térmicos importantes. O primeiro estágio corresponde a desidratação (perda de água) da quitosana, na faixa de DTG pico = 80°C e DTG pico = 122 °C, e o segundo estágio a degradação da amostra, que ocorre em DTG pico= 273 °C, correspondente a degradação dos sacarídeos que compõem a quitosana.

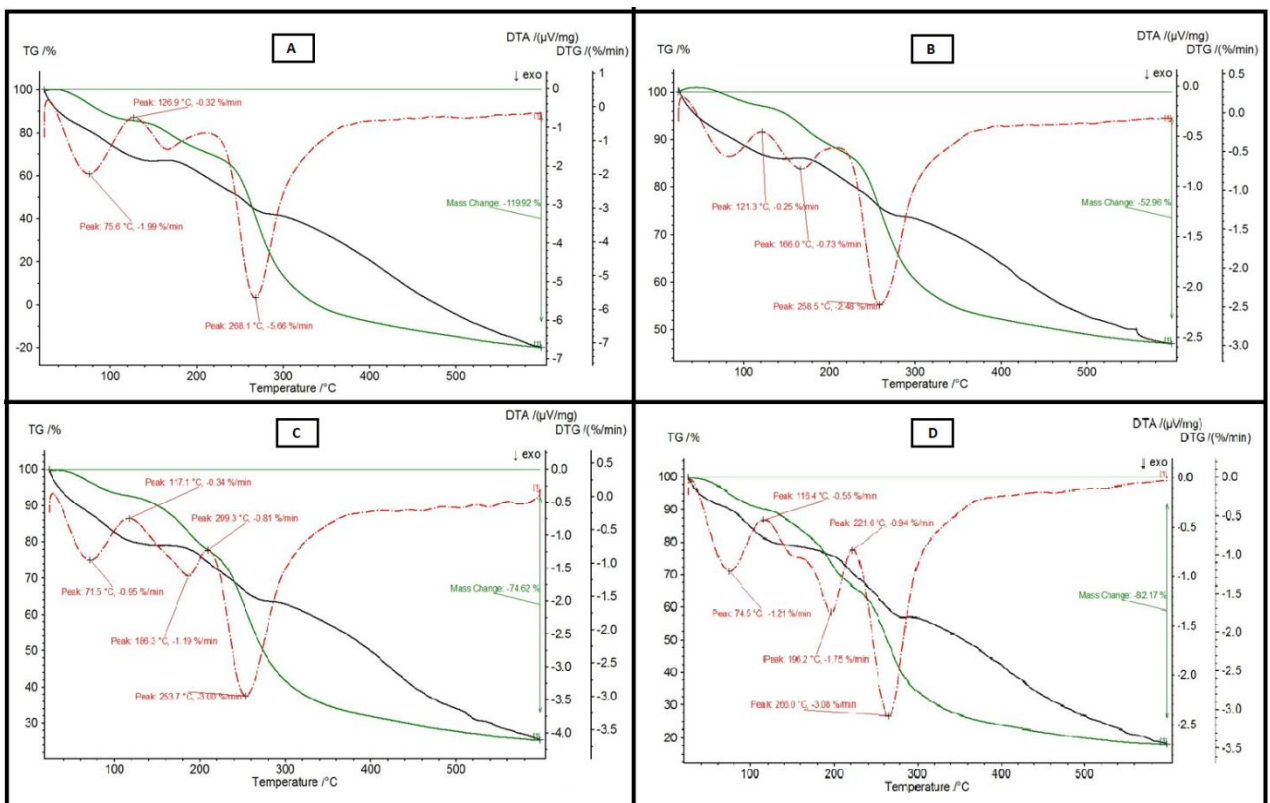
**Figura 31 - Análise termogravimétrica TGA e DTG do fármaco Aciclovir (A), quitosana em pó (B) e da membrana formada por quitosana pura (C).**



Fonte: Autor.

A Figura 32 A-D apresenta as curvas TG para as membranas com proporções de glicerol (10%, 20% e 30%) e membrana/glicerol 30% (p/p) + Aciclovir. A comparação das curvas obtidas por (TG) mostraram uma maior estabilidade térmica para membrana de quitosana pura quando comparada às membranas com proporções de glicerol (10%, 20% e 30%) e membrana/glicerol 30% (p/p) + Aciclovir. Podemos observar dois estágios de degradação para todas as membranas, sendo que a mais acentuada perda de massa ocorre na faixa de temperatura compreendida entre 250 a 270°C. Em resumo, todos os materiais formadores das membranas, fármaco e as membranas apresentaram-se termicamente estáveis até a temperatura de 200,0 °C, após esta iniciou-se um evento de decomposição mais acentuado até 500,0 °C. Dessa forma, sugere-se que não ocorreu uma diminuição significativa da estabilidade térmica das membranas em relação ao fármaco e a quitosana separadamente.

**Figura 32 - Análise termogravimétrica TG e DTG da membrana pura (A) e membrana com glicerol 10% (B), 20% (C) e 30% (D) (p/p).**

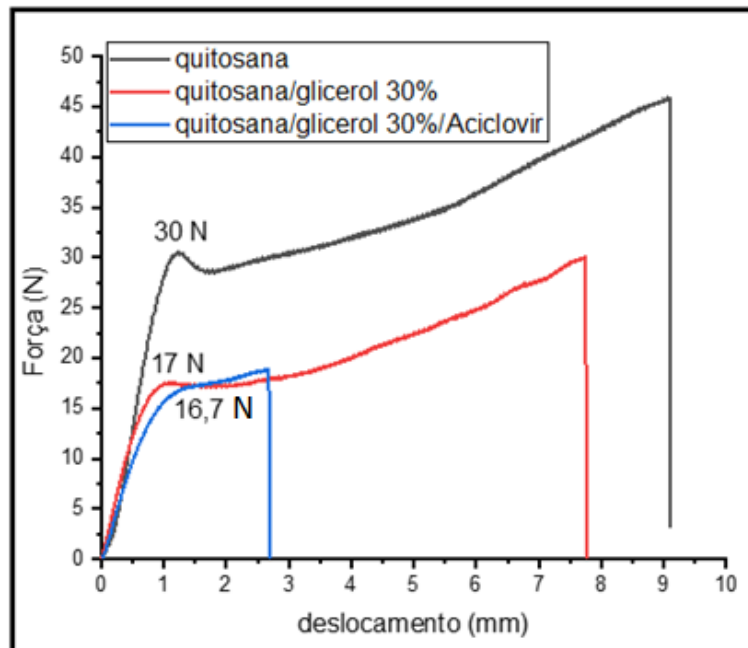


Fonte: Autor

## 6.8 Ensaio mecânicos de tração

A Figura 33 ilustra as curvas de força *versus* deslocamento obtidas a partir dos ensaios mecânicos de tração, realizados para todas as amostras. Conforme podemos observar, a resistência à tração é maior para a amostra de quitosana pura, onde um valor máximo de 30 N foi obtido antes da ruptura da amostra. Já para as outras amostras, menores valores de força foram encontrados antes da ruptura, conforme mostrado no gráfico.

**Figura 33 - Resistência a tração de membranas de quitosana, quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30%/quitosana/glicerol 30%/Aciclovir.**

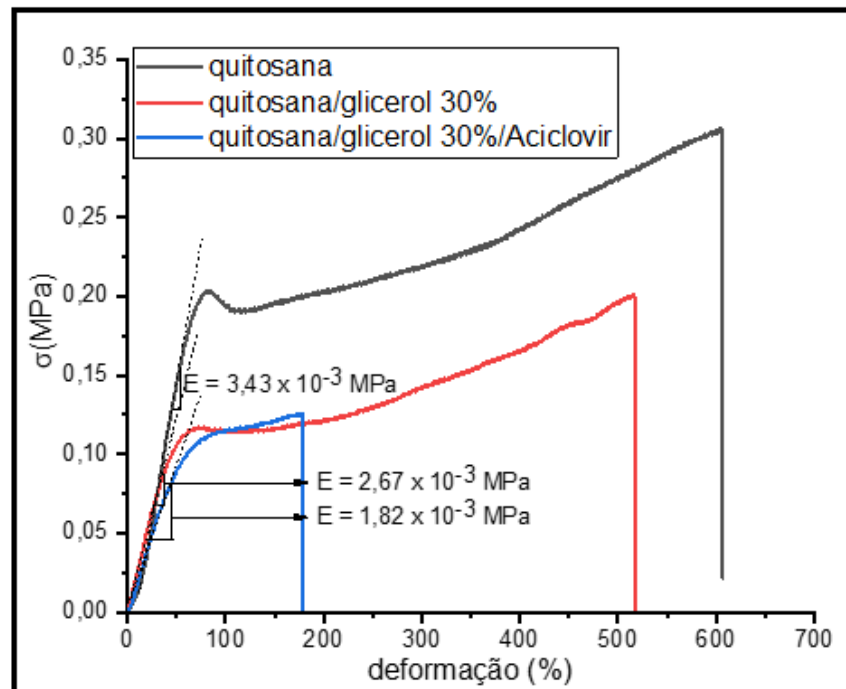


Fonte: Autor.

Gráficos de tensão *versus* deformação foram plotados e estão apresentados na Figura 34. Através desse gráfico é possível determinar o valor do módulo de elasticidade (E) (ou módulo de Young), que corresponde a inclinação (coeficiente angular) do segmento linear do gráfico e é calculado a partir da tangente traçada na região de deformação elástica das amostras, utilizando a equação (1). Sendo  $\sigma$  = valor da tensão (MPa),  $\varepsilon$  = deformação (mm) e E = módulo de elasticidade (MPa).

$$\sigma = E \times \varepsilon \quad \text{ou} \quad E = \sigma / \varepsilon \quad (\Delta\sigma / \Delta\varepsilon) \quad (1)$$

Figura 34 - Tensão versus deformação de membranas de quitosana, quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30%/Aciclovir.



Fonte: Autor.

O módulo de elasticidade ( $E$ ), também conhecido por módulo de Young está intrinsecamente correlacionada à deformação elástica dos materiais, determinando se o material é mais ou menos suscetível a esse tipo de deformação; logo, o módulo de elasticidade é fortemente associado à rigidez do material e pode ser definido como a resistência desse material à deformação elástica. Assim,  $E$  é uma grandeza proporcional à rigidez de um material quando este é submetido a uma tensão externa de tração ou compressão, correspondendo a maior tensão que o material suporta em sua deformação elástica (antes de deformar plasticamente).

Os módulos de elasticidade obtidos para as membranas de quitosana, quitosana/glicerol 30% e quitosana/glicerol 30%/Aciclovir foram  $3,43 \times 10^{-3}$ ,  $2,67 \times 10^{-3}$  e  $1,82 \times 10^{-3}$  MPa, respectivamente. Quanto maior o valor de  $E$ , mais rígido é o material ou menor será a deformação elástica para uma mesma carga aplicada. Sendo assim, comprova-se que a membrana de quitosana é mais rígida do que a membrana de quitosana plastificada com glicerol 30%. Nota-se ainda que a membrana que

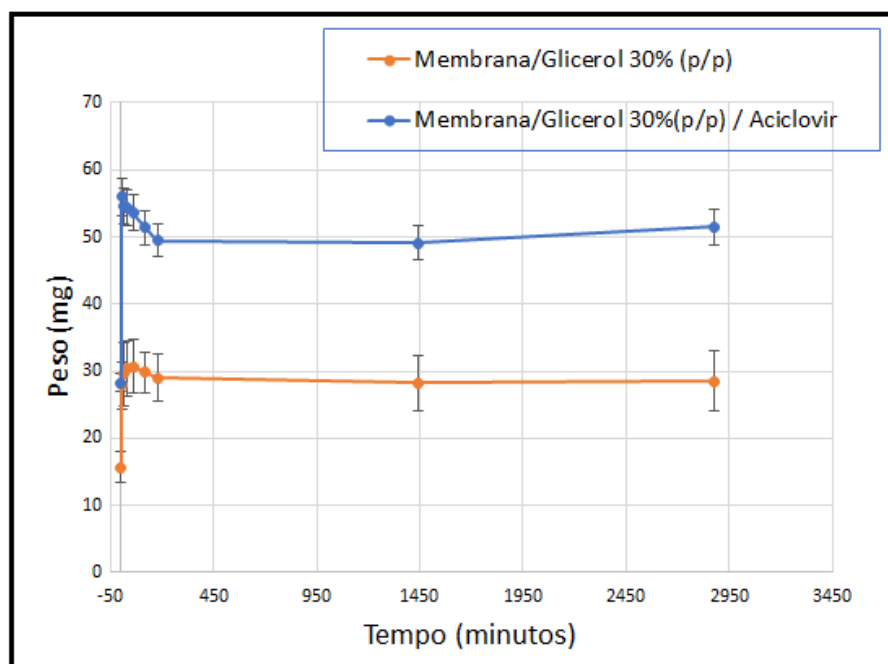
contém Aciclovir é a menos rígida (com menor valor de E) dentre as membranas formadas.

A menor rigidez demonstra maior elasticidade das membranas que contém glicerol. Tal resultado se deve ao fato das cadeias poliméricas de quitosana apresentarem forte ligações de hidrogênio intermoleculares, resultando na rigidez da membrana formada. A inserção do plastificante (glicerol) ocasiona a redução (quebra) dessas ligações, fazendo com que as cadeias tenham mais mobilidade em se afastar umas das outras e deslizarem umas sob as outras quando estão sob tração, refletindo em maior elasticidade da membrana (plastificada).

### 6.9 Absorção de água e perda de massa

A Figura 35 A e B apresenta os resultados de ganho de massa determinado através da absorção de água para membrana/glicerol 30% (p/p) (A) e membrana/glicerol 30% (p/p) +Aciclovir (B). Os gráficos foram obtidos através do monitoramento da imersão destas em tampão pH 7,0 durante 48 h. É possível observar que ambas as membranas apresentaram um ganho de massa inicial alto, que se estabiliza tornando-se constante após 15 minutos.

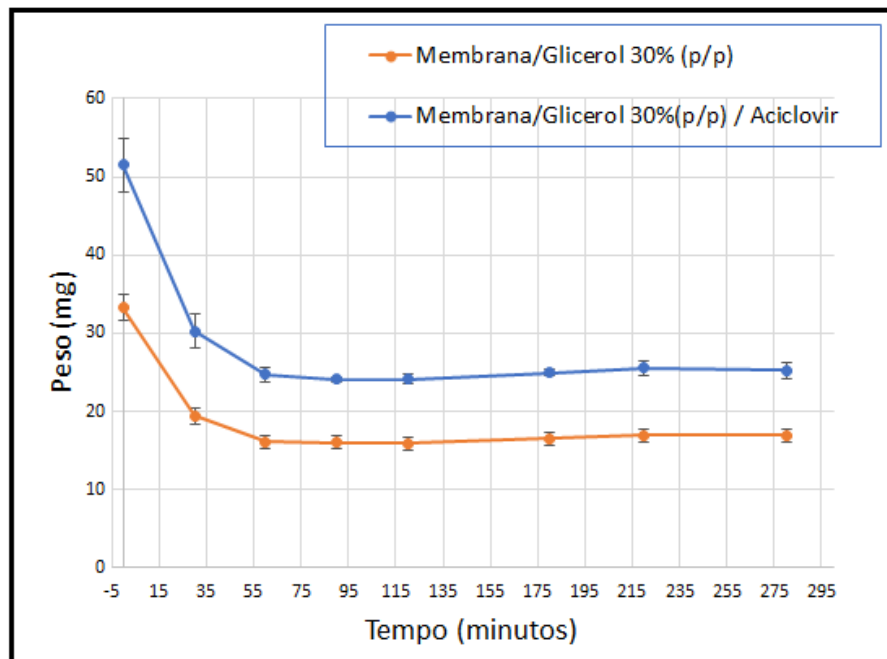
Figura 35 - Teste de absorção de água (tampão pH 7,0)



Fonte: Autor.

A taxa de ganho de massa nos sistemas avaliados a partir da absorção de água, nos permite verificar a estabilidade estrutural do polímero, onde a presença constante de umidade na estrutura do polissacarídeo provoca o intumescimento da matriz com conseqüente desagregação do filme (ODILIO *et al.*, 2003). Da mesma forma que a absorção de água foi verificada, a perda de massa através da evaporação da água absorvida também foi avaliada. Para tanto, as membranas foram colocadas em temperatura ambiente para secagem e o peso foi verificado em função do tempo, conforme ilustrado a Figura 36. Conforme podemos observar, o comportamento de perda de água foi semelhante para ambas as membranas, sendo observada uma redução de 61,4% em massa, sendo que em 60 minutos a perda de água se estabilizou.

**Figura 36 - Perda de massa a temperatura ambiente**



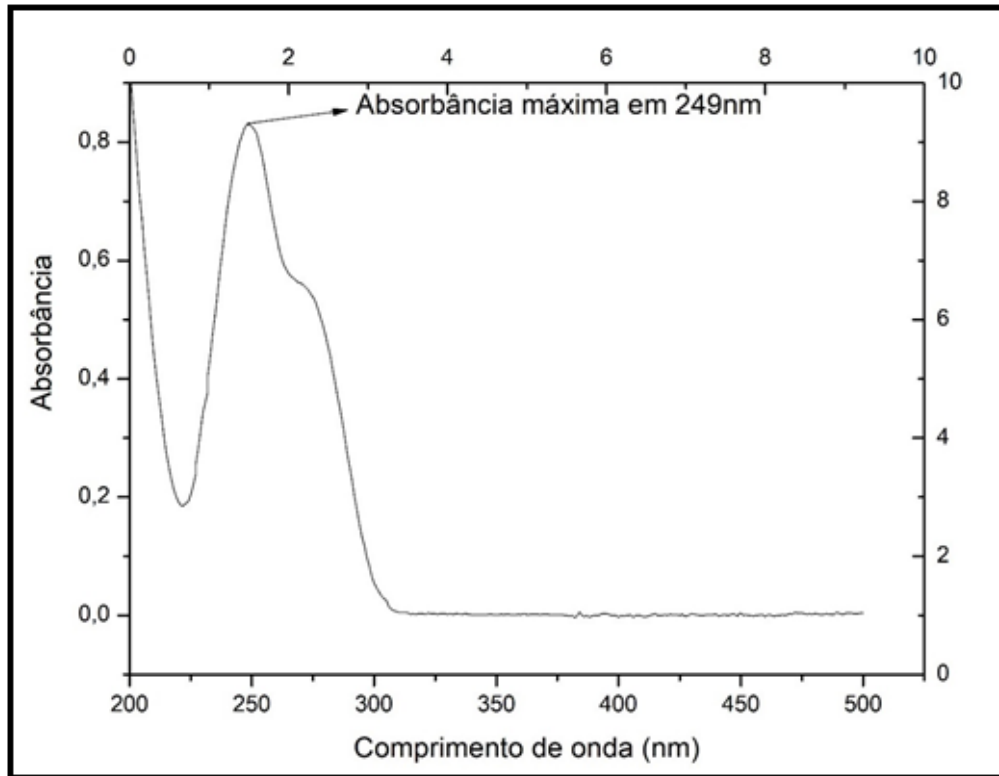
Fonte: Autor.

### 6.10 Ensaio de liberação

A Figura 37 mostra o espectro de absorbância na região de ultravioleta-visível (UV-Vís) para o Aciclovir. A varredura realizada no intervalo de 200 a 500 nm, mostra que a absorção máxima foi 0,8 de intensidade de absorbância com banda centrada

em 249 nm. Esta curva é característica para o Aciclovir e semelhante ao encontrado na literatura (BARBOSA, *et al.*, 2010).

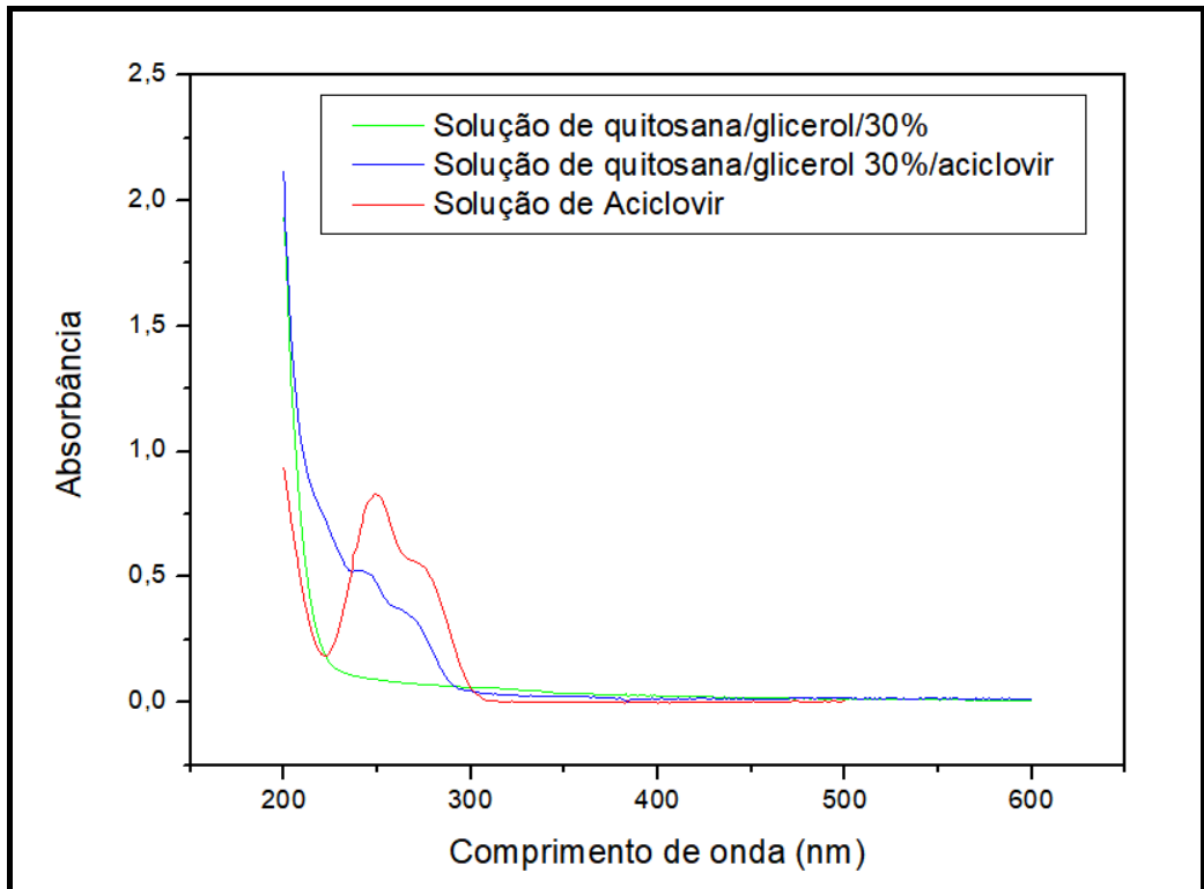
**Figura 37 – Espectro de absorvância na região do UV-Vís para o Aciclovir.**



Fonte: Autor.

A fim de verificar o efeito da matriz, ou seja, a influência de outras bandas de absorção que possa estar relacionada aos materiais componentes da membrana ou cápsulas, espectros de UV-Vís foram realizados. A Figura 38 mostra a comparação das varreduras. Conforme podemos observar, a única banda existente nos espectros é a referente ao fármaco, comprovando que não ocorre o efeito matriz.

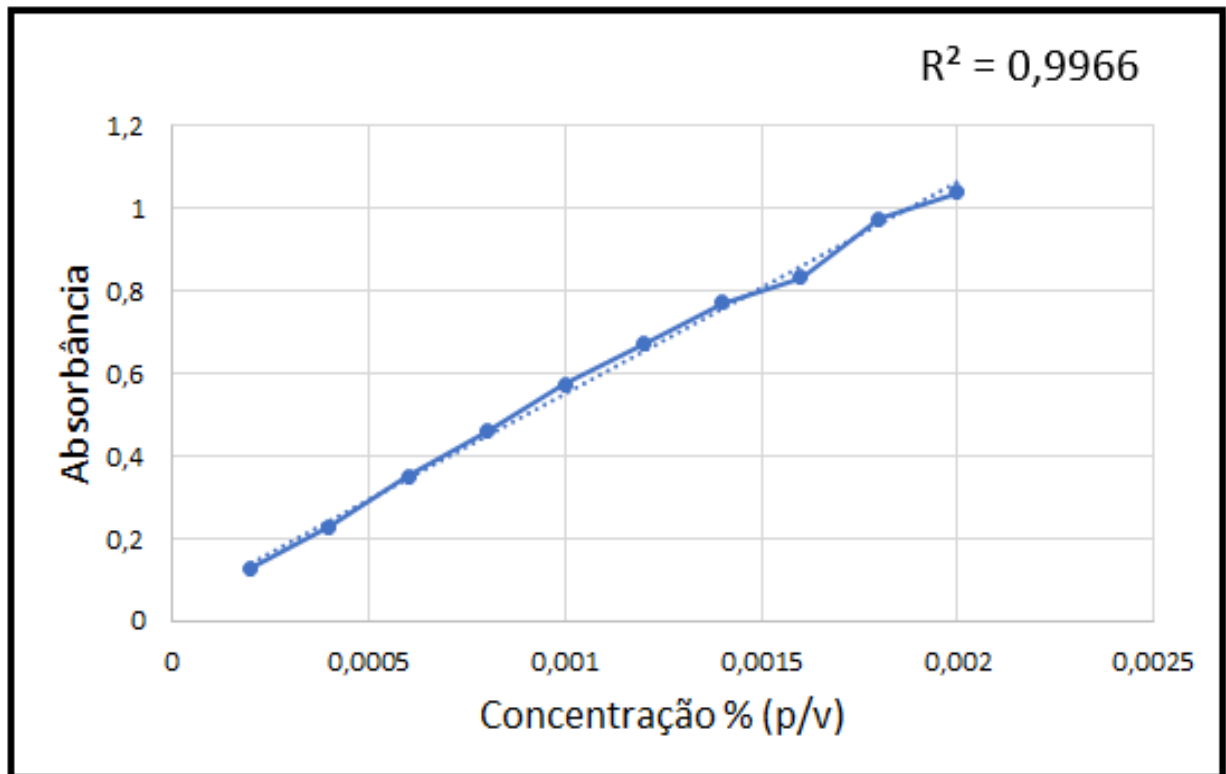
Figura 38 – Espectros de UV-Vís para avaliar o efeito matriz



Fonte: Autor.

Após a verificação de efeito de matriz nulo, a curva analítica de calibração utilizando o fármaco Aciclovir foi obtida e é mostrada na Figura 38. A Figura 39 ilustra a determinação gráfica da linearidade e precisão ( $R^2$ ) da curva analítica plotada utilizando a correlação dos sinais (absorbância) de espécies padrões (soluções padrões) com as respectivas concentrações. A partir do gráfico foi possível determinar que a linearidade é determinada pela seguinte equação da reta:  $y = 520,97x + 0,0083$ , onde  $y$  = sinal obtido em absorbância e  $x$  = concentração da amostra.

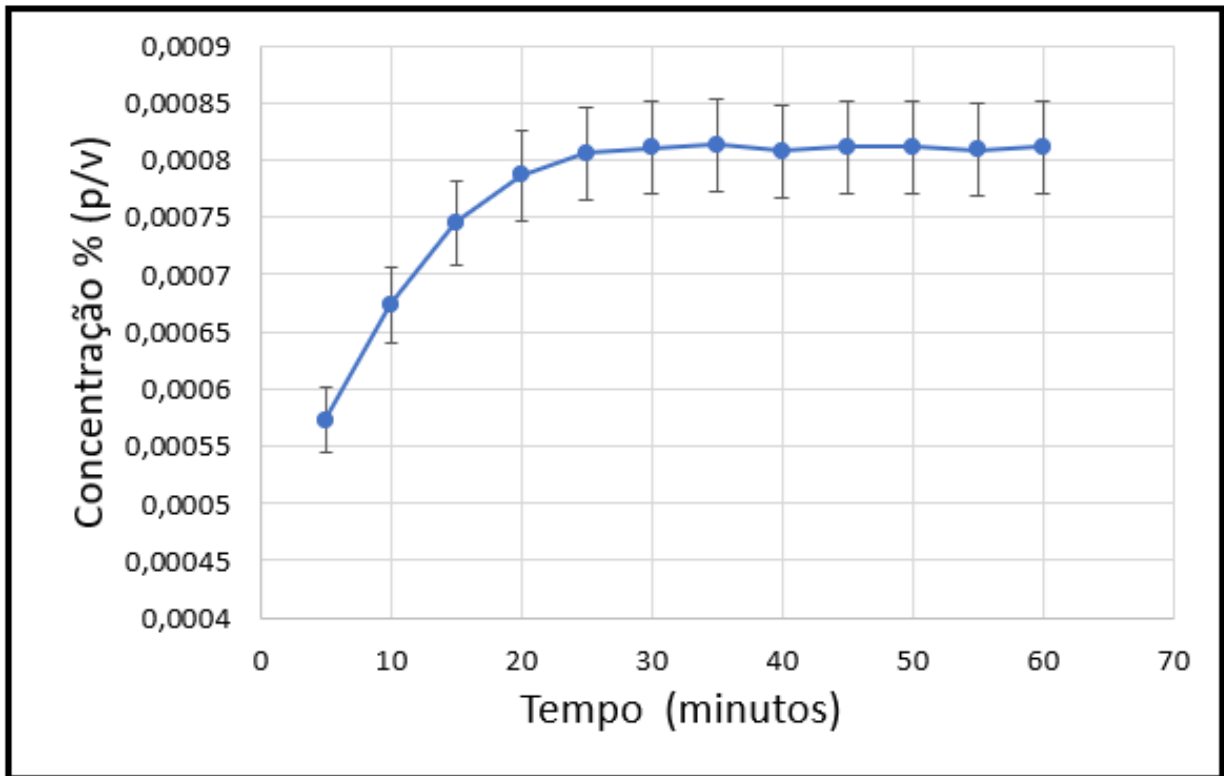
Figura 39 - Curva de calibração para o Aciclovir



Fonte: Autor.

De posse da curva de calibração, os ensaios de liberação do Aciclovir foram realizados e foi possível determinar a concentração do fármaco liberado em decorrência do tempo, para as três microestruturas utilizadas no encapsulamento do fármaco. A Figura 40 ilustra o perfil de liberação para a membrana composta por quitosana/glicerol 30% (p/p) / Aciclovir, onde cada ponto representa a média de três amostras com peso médio de  $29,63 \text{ mg} \pm 1,27$ . A concentração inicial de Aciclovir contido na estrutura era de 0,0008% (p/p) e ao final do teste de liberação foi de  $0,000812\% \pm 2,16 \times 10^{-5}$  no meio de dissolução. Demonstrando assim que ocorreu a liberação total da quantidade de Aciclovir contido na membrana (101,5%).

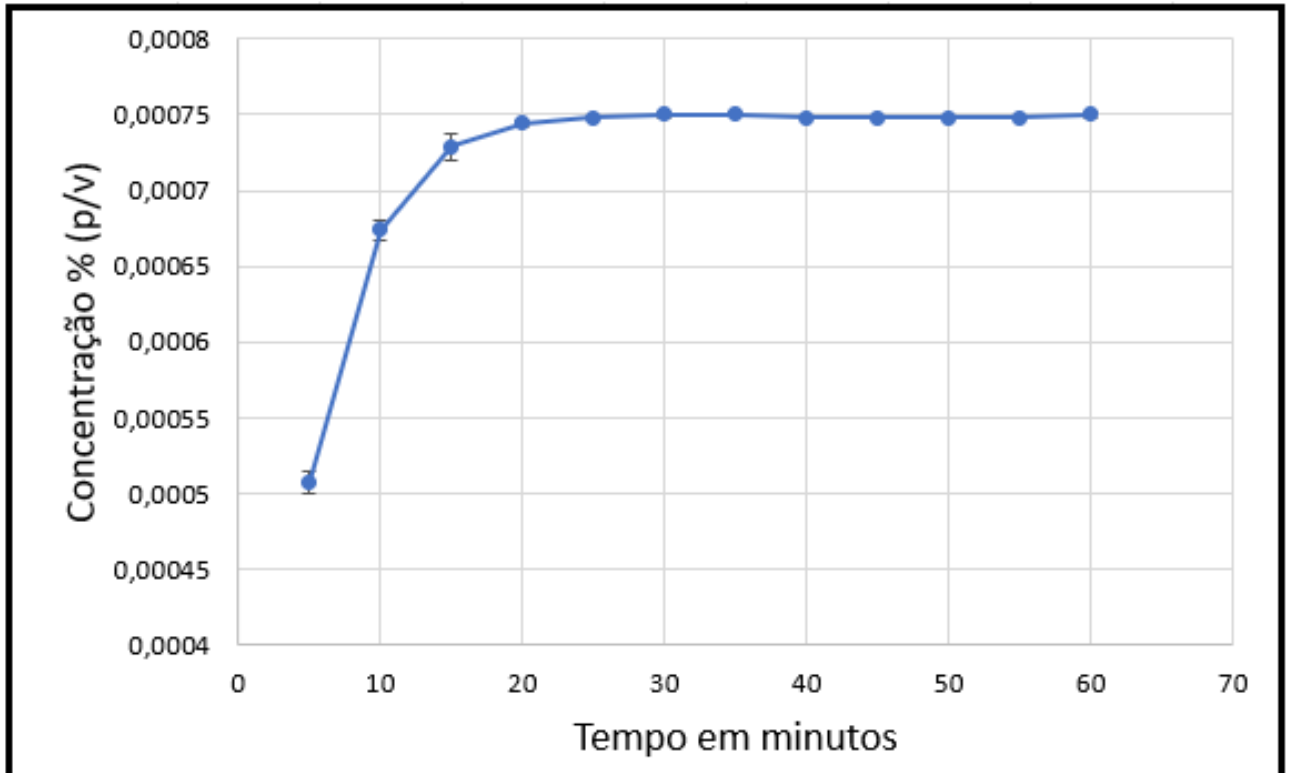
Figura 40 - Perfil de liberação da membrana quitosana/glicerol 30%(p/p) / Aciclovir



Fonte: Autor.

A Figura 41 ilustra o perfil de liberação para as cápsulas contendo Aciclovir, onde cada ponto representa a média de três amostras com peso médio de  $300\text{mg} \pm 1$ . A concentração inicial de Aciclovir na estrutura era de  $0,0008\%$  (p/p) e ao final do teste de liberação foi de  $0,00075\% \pm 1,96 \times 10^{-6}$  no meio de dissolução. Demonstrando assim que ocorreu a liberação quase que total da quantidade de Aciclovir contido na cápsula (93,75%). O perfil da curva de liberação para o sistema membrana quitosana/glicerol30%(p/p)/Aciclovir e cápsula/aciclovir ocorreram de forma convencional, atingindo o pico de concentração em 20 minutos. O tempo total do experimento foi de 1 hora. A não completa liberação do Aciclovir para o sistema cápsula/ Aciclovir pode ser devido a presença de um álcool primário na estrutura do Aciclovir que pode formar pontes de hidrogênio e outras interações eletrostáticas com a quitosana, glicerol e a própria água residual da estrutura, impedindo que ocorra a liberação completa na tempo avaliado.

Figura 41 - Perfil de liberação de cápsulas de quitosana com aciclovir

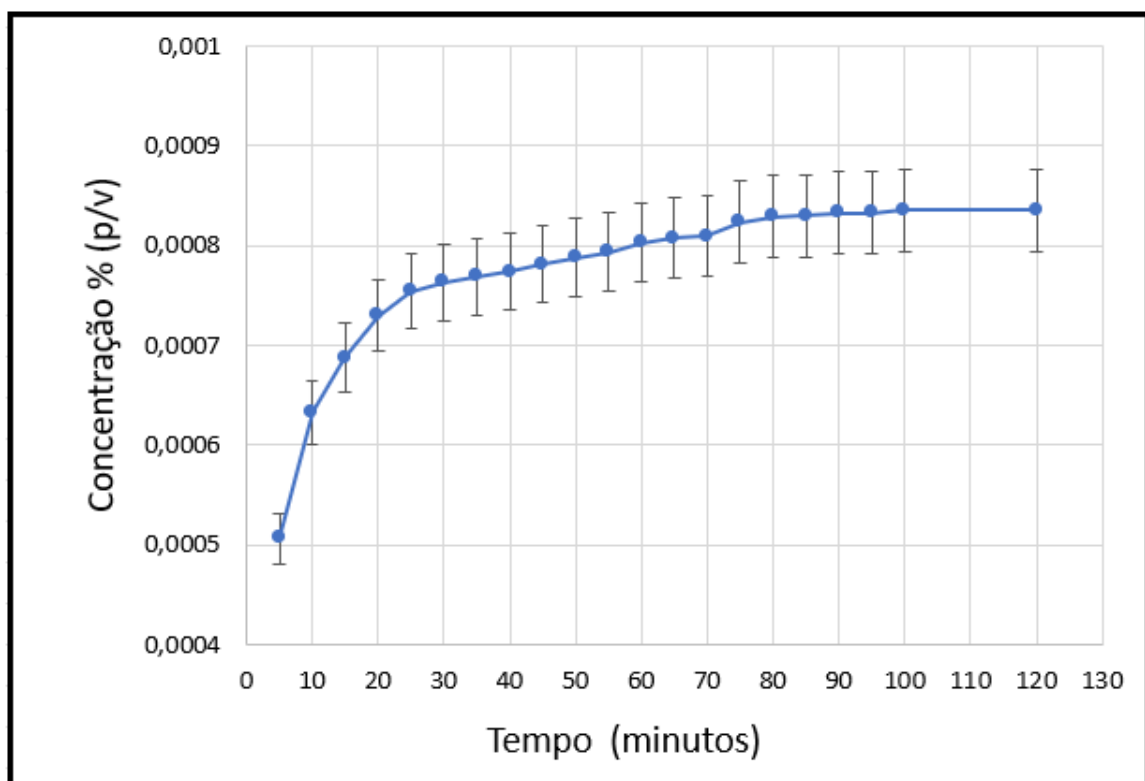


Fonte: Autor.

A Figura 42 ilustra o perfil de liberação para o sistema membrana quitosana/glicerol30%(p/p)/cápsulas/Aciclovir, onde cada ponto representa a média de três amostras com peso médio de  $0,4435 \text{ mg} \pm 2,9 \times 10^{-3}$ . Na composição do sistema, o peso médio das cápsulas/aciclovir foi de  $0,3098\% \pm 2,2 \times 10^{-3}$ . A concentração inicial de Aciclovir na estrutura era de  $0,0008\%$  (p/p) e ao final do teste de liberação foi de  $0,000848\% \pm 5,57 \times 10^{-3}$  no meio de dissolução. O resultado nos mostra que ocorreu a liberação acima da quantidade de Aciclovir contido no sistema (107,2%). O aumento da concentração liberada em relação a inicial, pode ser devido a quantidade em peso de cápsulas utilizadas não ser exatamente 300 mg e também pela não-uniformidade de dose em relação a cada cápsula, onde uma pode conter mais Aciclovir que outra em relação ao seu tamanho (espessura e largura) e peso. O perfil total de liberação foi mais lento em comparação com os dois sistemas anteriores, levando 1 h e 20 minutos para ocorrer o limiar de concentração e 2 horas para a liberação completa. Foi testada também a possível liberação de Aciclovir após 24 horas, porém, a concentração se apresentou estável em relação a concentração medida após 2 h.

O perfil de liberação foi melhor modulado (tempo prolongado de liberação do fármaco) utilizando o sistema composto por membrana + cápsula em comparação com os outros dois sistemas apresentados anteriormente (membrana/ de quitosana/glicerol 30%(p/p) e as cápsulas). Tal fato pode ser devido a maior interação entre a quitosana e fármaco, uma vez que nesse sistema tem-se uma maior concentração do polímero, presente na cápsula (onde o Aciclovir está encapsulado) e também na membrana. Assim, ligações de hidrogênio ou interações eletrostáticas intermoleculares podem ser formadas entre o grupamento de álcool primário do Aciclovir, com as hidróxilas e grupamento amino da quitosana, com as hidroxilas do glicerol, ou mesmo com os resíduos de molécula água que podem estar aprisionadas na estrutura da membrana de suporte.

Figura 42 - Perfil de liberação da membrana quitosana/glicerol 30%(p/p)/cápsula/aciclovir



Fonte: Autor.

## 8 CONCLUSÕES

Três diferentes sistemas microestruturados (membranas, microcápsulas e membrana + microcápsula) a base de quitosana foram desenvolvidos para incorporação do fármaco Aciclovir, visando liberação controlada e melhora em sua eficácia terapêutica, reduzindo a necessidade de reaplicação. As membranas foram obtidas através da técnica de formação de filmes casting e a adição de glicerina vegetal bidestilada como plastificante visou melhora na elasticidade, resistência mecânica e adesividade. Já as cápsulas, foram obtidas através de geleificação ionotrópica, onde a interação dos grupos aminos disponíveis protonados presentes na quitosana interagem com grupamentos fosfato do tripolifosfato de sódio (TPP) negativamente carregados, formando redes de reticulação na microestrutura. O sistema membrana + cápsula foi obtido misturando as cápsulas as membranas. Este sistema por sua vez, apresentou-se com aspecto mais ressecado e quebradiço após a secagem em estufa. Ambos os sistemas foram utilizados na incorporação (aprisionamento) de 50mg de Aciclovir. A estabilidade do fármaco nas membranas não foi satisfatória, oxidando rapidamente, e ficando com um aspecto amarelado, desprendendo-se em forma de pó na superfície da membrana. Já a estabilidade do aprisionamento do Aciclovir nas microcápsulas foi melhor, provavelmente devido a ausência de plastificante na formação das mesmas, evitando umectação.

A caracterização por FTIR para as estruturas obtidas mostraram que o aciclovir está parcialmente envolvido no polímero, permanecendo dentro e fora da estrutura da membrana. Já as análises de DRX, mostraram que o aciclovir não altera a estrutura amorfa da quitosana, talvez pela quantidade de fármaco utilizada ser muito menor do que a do polímero. As análises térmicas de TG mostraram boa estabilidade das estruturas obtidas, que apresentaram-se termicamente estáveis (com pouca perda de massa) em temperaturas de até 200°C. A inserção de glicerol e Aciclovir não alteram de maneira significativa esta propriedade. O ganho e perda de massa da membrana/glicerol 30% (p/p) apresentou o mesmo perfil que a membrana/glicerol 30% (p/p) + aciclovir, mostrando uma boa estabilidade da estrutura do polímero, provavelmente devido ao pH do tampão utilizado pH 7,0, que manteve os grupos amino da quitosana protonados, evitando assim o relaxamento da cadeia polimérica.

A associação entre microcápsulas contendo Aciclovir e a membrana de quitosana/glicerol 30% (p/p), apresentou a formação de microestrutura mais ressecada

e quebradiça após a secagem em estufa, mas com boa estabilidade físico-química para o encapsulamento do Aciclovir.

Quanto ao ensaio de perfil de liberação para as microestruturas desenvolvidas, a que apresentou melhores resultados foi a estrutura membrana de quitosana/glicerol 30%(p/p)/cápsula/Aciclovir, modulando a liberação em 1 hora e 20 minutos, com pico de concentração máxima em 2 horas. Quanto aos outros dois sistemas desenvolvidos e avaliados (membrana e cápsula), ambos tiveram o mesmo perfil de liberação convencional, sendo que entre 15 a 20 minutos foi liberada toda a concentração de fármaco.

Todas as estruturas obtidas nesta pesquisa mostraram-se promissoras para serem utilizadas como sistemas de liberação convencional e liberação controlada, o diferencial destas microestruturas é a junção das propriedades cicatrizantes, reparação tecidual, biocompatibilidade, biodegradabilidade e características físico-químicas e morfológicas avaliadas, associado a ação seletiva do Aciclovir no tratamento das lesões causadas pelo vírus da *Herpes Simplex*.

## 9 REFERÊNCIAS

- AGULLÓ, E. P. C.; TAPIA, C.; HERAS, Á.; ROMÁN, J. S.; ARGÜLLES, W.; GOYCOOLEA, F.; MAYORGA, A.; NAKAMATSU, J.; ABRAM, A. P. **Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones**. Perú: Pontificia Universidad Católica Del Perú/ Fondo Editorial, 2004.
- ARDUINO, P. G.; PORTER, S. R. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. **Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 37, n. 2, p. 107–121, fev. 2008.
- MEIRELLES, L. M. A. ESTABILIDADE DE MEDICAMENTOS: ESTADO DA ARTE. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 11, n. 4, p. 06, 31 dez. 2014.
- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27–34, 2007.
- BARBOZA, F. M. et al. Desenvolvimento e validação de um método analítico simples e rápido por espectroscopia UV para quantificação de aciclovir em matrizes hidrofílicas de liberação prolongada. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 747–749, 2010.
- BARCAUI, E. DE O. et al. Study of the skin anatomy with high-frequency (22 MHz) ultrasonography and histological correlation. **Radiologia Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 324–329, 1 set. 2015.
- BRASIL. **RESOLUÇÃO RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 - Imprensa Nacional**. Disponível em: <[https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412)>. Acesso em: 22 maio. 2022.
- CARONI, J. G. **Produção e caracterização de membranas à base de quitosana: sua ação bactericida e de interação com linhagem de fibroblastos** São Paulo Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biomédica, Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, , 2019. Disponível em: <[https://universidadebrasil.edu.br/portal/\\_biblioteca/uploads/20200316195210.pdf](https://universidadebrasil.edu.br/portal/_biblioteca/uploads/20200316195210.pdf)>
- CARONI, J. G. et al. Chitosan-based glycerol-plasticized membranes: bactericidal and fibroblast cellular growth properties. **Polymer Bulletin**, v. 78, n. 8, p. 4297–4312, 3 ago. 2021.
- CASIMIRO, N. M. F. **Desenvolvimento acelerado de formulações através de metodologias expeditas para análise qualitativa de formas sólidas e semi-**

**sólidas**LisboaDissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Farmacêutica, Técnico Lisboa, , 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/GERTI/Downloads/Tese de Mestrado\_Final (1).pdf. Acesso em: 17 abr. 2021.>

CLEMENS, S. A. C.; FARHAT, C. K. Soroprevalência de anticorpos contra vírus herpes simples 1-2 no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 4, p. 726–734, 2010.

CONSOLARO, A.; CONSOLARO, M. F. M.-O. Diagnóstico e tratamento do herpes simples recorrente peribucal e intrabucal na prática ortodôntica. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 3, p. 16–24, jun. 2009.

COSTA, 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.

DE MATOS, T. N.; LOPES, F. M.; SIGNINI, R. Uso de Quitosana Aplicada à Liberação Controlada de Fármacos: Uma Revisão Sistemática. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 3, p. 668–680, 2020.

DE SOUZA, J. R.; SATO, T. P.; BORGES, A. L. S. Scaffold architecture for dental biomaterials: influence of process parameters on the structural morphology of chitosan electrospun fibers. **Brazilian Dental Science**, v. 20, n. 4, p. 100–105, 15 dez. 2017.

FERREIRA, D. DE C.; MARTINS, F. O.; ROMANOS, M. T. V. Impacto do laser de baixa intensidade na supressão de infecções pelos vírus Herpes simplex 1 e 2: estudo in vitro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 1, p. 82–85, fev. 2009.

FLÁVIA CUNHA BERNARDO, A.; DOS SANTOS, K.; PARREIRAS SILVA, D. DA. PELE: ALTERAÇÕES ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DO NASCIMENTO À MATURIDADE. **Revista Saúde em Foco**, 2019.

FRÁGUAS, R. M. et al. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polimeros**, v. 25, p. 48–53, 1 dez. 2015.

GOUD, K.; DESAI, H. Chitosan Nanoparticles Prepared by Ionotropic Gelation: An Overview of Recent Advances. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 33, n. 2, p. 107–158, 2016.

IRIMIA, T. et al. Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. **Marine Drugs**, v. 16, n. 10, p. 373, 9 out. 2018.

JEENCHAM, R. et al. Novel daily disposable therapeutic contact lenses based on chitosan and regenerated silk fibroin for the ophthalmic delivery of diclofenac sodium.

**Drug delivery**, v. 27, n. 1, p. 782–790, 1 jan. 2020.

JHAVERI, J. et al. Chitosan Nanoparticles-Insight into Properties, Functionalization and Applications in Drug Delivery and Theranostics. **Molecules** **2021**, Vol. **26**, Page **272**, v. 26, n. 2, p. 272, 7 jan. 2021.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAMALY, N. et al. Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 4, p. 2602–2663, 24 fev. 2016.

KEKHASHARÚ TAVARIA, F. et al. Artigo de Revisão A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira Engenharia Biomédica**, v. 29, n. 1, p. 110–120, 2013.

KHAJAVIAN, M. et al. Chitin and derivative chitosan-based structures — Preparation strategies aided by deep eutectic solvents: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 275, p. 118702, 1 jan. 2022.

KLOSTER, A. P. et al. In Vitro Antimicrobial Effect of Bioadhesive Oral Membrane with Chlorhexidine Gel. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 4, p. 354–358, 1 jul. 2018.

KOUKARAS, E. N. et al. Insight on the formation of chitosan nanoparticles through ionotropic gelation with tripolyphosphate. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 10, p. 2856–2862, 1 out. 2012.

LIANG, H. et al. Chitosan coordination driven self-assembly for effective delivery of curcumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 2267–2274, 15 dez. 2020.

LIM, G. P.; AHMAD, M. S. Development of Ca-alginate-chitosan microcapsules for encapsulation and controlled release of imidacloprid to control dengue outbreaks. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 56, p. 382–393, 25 dez. 2017.

LUTKER, K. M. et al. Polymorphs and Hydrates of Acyclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 949–963, 1 mar. 2011.

MANUELLY PEREIRA DE MORAIS SANTOS; MARIANA PACHECO LIMA DE ASSIS MORAIS; DEBORAH DANIELA DINIZ FONSECA; ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA; IGOR HENRIQUE MORAIS SILVA; ALESSANDRA A. T. CARVALHO; JAIR CARNEIRO LEÃO. Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. **Odontol. Clín.-Cient. (Online)**, v. 11, n. 3, p. 8, 2012.

MARSON, G. A. **ACICLOVIR**. Disponível em:

<<http://qnint.s bq.org.br/novo/index.php?hash=molecula.61>>. Acesso em: 26 maio. 2022.

MEDEIROS, E. L. G. et al. Scaffolds de Vidros Bioativos: Desenvolvimento de Estruturas Bioativas Nanoestruturadas. **REMAP**, v. 12, n. 13, p. 152–167, 2017.

MENDONÇA, R. DA S. C.; RODRIGUES, G. B. DE O. As principais alterações dermatológicas em pacientes obesos. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 24, n. 1, p. 68–73, mar. 2011.

MUXIKA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 105, n. Pt 2, p. 1358–1368, 1 dez. 2017.

NAYAK, A. K. et al. Drug delivery: Present, past, and future of medicine. **Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery**, p. 255–282, 1 jan. 2018.

ODILIO B. G. ASSIS; VALMIR L. DA SILVA. Caracterização Estrutural e da Capacidade de Absorção de Água em Filmes Finos de Quitosana Processados em Diversas Concentrações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 223–228, 2003.

OLIVEIRA, I. R. W. Z. DE et al. Imobilização da lacase em micropartículas de quitosana obtidas por spray drying e usadas na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1195–1201, 2009.

PADHI, S. et al. Uses of chitosan in drug delivery. **Chitosan in Biomedical Applications**, p. 139–162, 1 jan. 2022.

PIASSI BERNARDO, M. et al. PROCESSAMENTO E APLICAÇÃO DE BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS: AVANÇOS RECENTES E PERSPECTIVAS. **Quim. Nova**, v. 44, n. 10, 2013.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Solid State in the Pharmaceutical Industry: A Brief Review. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2080–2112, 2015.

RAVI KUMAR, M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1–27, 2000.

RICHARDS, D. M. Acyclovir. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. **Current Therapeutics**, v. 25, n. 2, p. 13–20, 1984.

ROGALSKY, A.; KWON, H. J.; LEE-SULLIVAN, P. The rheological injectability of N-succinyl-chitosan solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 1082–1090, 20 out. 2016.

SALATIN, S.; JELVEHGARI, M. Natural polysaccharide based nanoparticles for

- drug/gene delivery. **Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 2, p. 84–94, 1 jun. 2017.
- SALOMON, C.; GOYCOOLEA, F. M.; MOERSCHBACHER, B. Recent Trends in the Development of Chitosan-Based Drug Delivery Systems. **AAPS PharmSciTech** 2017 **18:4**, v. 18, n. 4, p. 933–935, 28 mar. 2017.
- SILVA, M. C. et al. Avaliação do método de obtenção de scaffolds quitosana/curcumina sobre a estrutura, morfologia e propriedades térmicas Evaluation of the obtaining method of chitosan/ curcumin scaffolds on the structure, morphology and thermal properties. p. 560–568, 2016.
- SOUTO, L. R. M. et al. Model for human skin reconstructed in vitro composed of associated dermis and epidermis. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 124, n. 2, p. 71–76, 2006.
- SOUZA, M. P. C. DE et al. Highlighting the impact of chitosan on the development of gastroretentive drug delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 804–822, 15 set. 2020.
- SOUZA, J. M. et al. Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 691–698, 1 nov. 2014.
- SOUZA NETO, A. A. et al. Development and characterization of membranes of chitosan / *Cissus Verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis. **Revista Materia**, v. 24, n. 3, 2019a.
- SOUZA NETO, A. A. et al. Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana / *Cissus Verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 24, n. 3, 16 set. 2019b.
- STULZER, H. K. et al. Desenvolvimento, Avaliação e Caracterização Físico Química de Micropartículas Constituídas de Aciclovir/Quitosana Desenvolvidas pela Técnica de Spray-drying. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 866–871, 2007.
- VIEIRA, A.; SEGUNDO, L.; BRUNO. Extenso cisto dermóide em região submentoniana: Relato de caso Extensive dermoid cyst in the submental region: a case report. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac**, v. 14, n. 24, p. 45–50, 2014.
- WAGSTAFF, A. J. et al. DRUG EVALUATION A Reappraisal of its Antiviral Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. **Drugs**, v. 47, p. 153–205, 1994.
- WHITLEY, R. J. Herpes simplex virus infection. **Seminars in pediatric infectious diseases**, v. 13, n. 1, p. 6–11, 2002.
- XUE, Y. et al. In vitro and in vivo evaluation of chitosan scaffolds combined with

simvastatin-loaded nanoparticles for guided bone regeneration. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 30, n. 4, p. 1–13, 1 abr. 2019.

ZARGAR, V.; ASGHARI, M.; DASHTI, A. A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. **ChemBioEng Reviews**, v. 2, n. 3, p. 204–226, 1 jun. 2015.

ZEPON, K. M. et al. Influência do pH nas propriedades físico-químicas, térmicas e mecânicas de filmes de poli(vinil álcool)/poli(ácido acrílico)/aciclovir. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 215–219, 2013.

ZHANG, H. et al. Magnetic auto-fluorescent microspheres for a drug delivery system. **Materials Letters**, v. 119, p. 143–145, 15 mar. 2014.

ZHANG, X. et al. Preparation and characterization of chitosan/Nano-ZnO composite film with antimicrobial activity. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 44, n. 6, p. 1193–1199, 1 jun. 2021.