



**UEPB**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

**LARYSSA MIRELLE DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS LIOFILIZADAS DE  
QUITOSANA COM INDOMETACINA**

**CAMPINA GRANDE  
2019**

**LARYSSA MIRELLE DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS LIOFILIZADAS DE  
QUITOSANA COM INDOMETACINA**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado ao Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima.

**CAMPINA GRANDE  
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586d Silva, Laryssa Mirelle da.  
Desenvolvimento e caracterização de esponjas liofilizadas de quitosana com indometacina [manuscrito] / Laryssa Mirelle da Silva. - 2019.  
38 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.  
"Orientação : Profa. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."  
1. Anti-inflamatório. 2. Biomateriais. 3. Polímeros. 4. Indometacina. I. Título

21. ed. CDD 615.1

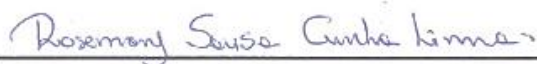
**LARYSSA MIRELLE DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS LIOFILIZADAS DE QUITOSANA COM INDOMETACINA**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado ao Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 27/05/2019.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima (Orientadora)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Lidiane Pinto Correia  
Universidade Maurício de Nassau (UNINASSAU)

Ao meu pai e minha mãe, por não medirem esforços para que eu conquistasse meus sonhos, DEDICO.

“É graça divina começar bem. Graça maior, persistir na caminhada certa. Mas graças das graças é nunca desistir.”

(Dom Helder Câmara)

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química da quitosana. ....	11
Figura 2 – Fotografias das EQ (1) e EQI (2): 1A e 2A – Face da esponja; 1B e 2B – Dorso da esponja. ....	15
Figura 3 – Micrografias das EQ (1) e EQI (2) obtidas por MO, no aumento de 140x. ....	16
Figura 4 – Micrografias das EQ (1) e EQI (2) obtidas por MEV: 1A e 2A – Escala de 1:500; 1B e 2B – Escala de 1:200; 1C e 2C – Escala de 1:50. ....	17
Figura 5 – Imagens topográficas (1A e 2A) e perfil de rugosidade (1B e 2B) das EQ (1) e EQI (2). ....	18
Figura 6 – Curvas calorimétricas da IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI. ....	20
Figura 7 – Curvas TG/DTG da IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI. ....	22
Figura 8 – Difrátogramas das amostras de IND e QTS em pó, EQ e EQI. ....	24
Figura 9 – Difrátograma das EQI com destaque para as reflexões típicas da QTS e IND. ....	25
Figura 10 – Espectros de infravermelho das amostras de IND e QTS em pó, EQ e EQI. ....	26

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Dados dos eventos calorimétricos e decomposições termogravimétricas das amostras de IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI. ....	21
--	----



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
CERTBIO	Laboratórios de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais
COX-1	Cicloxigenase-1
$d_m$	Diâmetro médio
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EQ	Esponjas de quitosana
EQI	Esponjas de quitosana/índometacina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
IND	Índometacina
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MO	Microscopia Óptica
QTS	Quitosana
Ra	Rugosidade média
TG/DTG	Termogravimetria e sua derivada
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>Material</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>Desenvolvimento das esponjas</b> .....	12
<b>2.3</b>	<b>Caracterização organoléptica</b> .....	12
<b>2.4</b>	<b>Caracterização morfológica</b> .....	13
2.4.1	Microscopia Óptica (MO) e análise topográfica.....	13
2.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	13
<b>2.5</b>	<b>Caracterização físico-química</b> .....	13
2.5.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	13
2.5.2	Termogravimetria (TG) e sua derivada (DTG).....	14
2.5.3	Difração de raios-X (DRX).....	14
2.5.4	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	14
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	14
<b>3.1</b>	<b>Desenvolvimento das esponjas</b> .....	14
<b>3.2</b>	<b>Aspectos microscópicos</b> .....	15
<b>3.3</b>	<b>Análise topográfica</b> .....	18
<b>3.4</b>	<b>Comportamento térmico</b> .....	19
<b>3.5</b>	<b>Avaliação dos difratogramas</b> .....	23
<b>3.6</b>	<b>Análise espectroscópica</b> .....	25
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	27
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29

## ESPONJAS LIOFILIZADAS DE QUITOSANA COM INDOMETACINA PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS

### CHITOSAN FREEZE-DRIED SPONGES WITH INDOMETHACIN FOR CUTANEOUS LESIONS

Laryssa Mirelle da Silva<sup>1</sup>  
Rosemary Sousa Cunha Lima<sup>2</sup>

#### RESUMO

A indometacina (IND) é amplamente prescrita para o tratamento da dor, inflamação e edema, mas seu uso prolongado apresenta efeitos colaterais gástricos de mecanismos conhecidos. O desenvolvimento de biomateriais de quitosana (QTS), em particular as esponjas, possui características atrativas à clínica e despertou o interesse recente da área farmacêutica na administração de medicamentos transdérmicos. Neste contexto, o estudo objetivou desenvolver esponjas de quitosana e quitosana/indometacina e avaliar suas características morfológicas e físico-químicas utilizando Microscopia Óptica (MO), Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG) e sua derivada (DTG), Difração de raios-X (DRX) e Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As esponjas foram desenvolvidas por liofilização e demonstraram aspectos visuais, porosidade, rugosidade e microambientes diferentes, através da análise por MO e MEV. As curvas de DSC indicaram compatibilidade entre QTS e IND e as TG/DTG apresentaram perfis de perda de massa semelhante entre as amostras. As reflexões cristalinas observadas nos difratogramas apontaram o estado polimórfico  $\gamma$  do fármaco e semicristalino do polímero e a amorficidade das esponjas. Os espectros de FTIR exibiram bandas comuns da QTS e da IND na mesma região de absorção, sugerindo ausência de incompatibilidade química entre os componentes da matriz. As técnicas utilizadas para obtenção e caracterização de esponjas de QTS e IND revelaram uma forma farmacêutica promissora e que pode representar-se como proposta alternativa à via oral no tratamento de inflamações cutâneas.

**Palavras-chave:** Anti-inflamatório. Biomateriais. Polímeros.

#### ABSTRACT

Indomethacin (IND) is widely prescribed for the treatment of pain, inflammation and edema, but its prolonged use has gastric adverse effects of known mechanisms. The development of chitosan biomaterials (CHI), particularly sponges, has attractive characteristics to clinic and has aroused interest of pharmaceutical field for the administration of transdermal drugs. In this context, the study aimed to develop chitosan and chitosan/indomethacin sponges and to evaluate its morphological and physical-chemical characteristics using optical microscopy (OM), scanning electron microscopy (SEM), differential exploration calorimetry (DSC), thermogravimetry and its derivative (TG/DTG), X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The sponges were developed by freeze-drying and demonstrated visual aspects, porosity, roughness and different microenvironments by

---

<sup>1</sup> Discente de Graduação em Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba – Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil, e-mail: lary.msilva@hotmail.com.

<sup>2</sup> Docente de Graduação em Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba – Campus I, Campina Grande, Paraíba, Brasil, e-mail: rosysousa1@hotmail.com.

observation using OM and SEM. DSC curves indicated compatibility between CHI and IND and TG/DTG showed similar mass loss profiles between the samples. The crystal reflections observed in the diffractograms indicated the polymorphic state  $\gamma$  of the drug and semi-crystalline profile of polymer and the sponges amorphousness. FTIR spectra exhibited common bands of CHI and IND in the same absorption region, suggesting absence of chemical incompatibility between the components of the matrix. The techniques used to obtain and characterize sponges of CHI and IND have revealed a promising pharmaceutical form that can be represented as an alternative for the treatment of cutaneous inflammations.

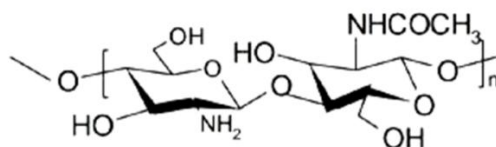
**Keywords:** Anti-inflammatory. Biomaterial. Polymers.

## 1 INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória faz parte dos mecanismos para manutenção da homeostase e morfostase do hospedeiro às infecções ou lesões. Entretanto, a produção excessiva de agentes inflamatórios contribui para respostas patológicas agudas e crônicas (IGLESIAS et al., 2019). Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são prescritos para o tratamento da dor, inflamação e edema, mas seu uso prolongado apresenta efeitos adversos gástricos de mecanismos conhecidos. A indometacina (IND), representante desta classe farmacológica, é amplamente utilizada no tratamento de dermatites, osteoartrites, doenças autoimunes e dor crônica. Embora sua terapia oral seja eficaz, este fármaco torna a mucosa gástrica susceptível a agressões exógenas e endógenas devido inibição da cicloxigenase-1 (COX-1), envolvida na produção de prostaglandinas (ARAÚJO et al., 2018; GHITMAN et al., 2018; ISHII et al., 2019; KHODER et al., 2019). Nesse contexto, é importante o emprego da IND incorporada em novos sistemas de liberação de fármacos para reduzir os efeitos adversos e melhorar sua ação (MIRGORODSKAYA et al., 2018).

Dentre os dispositivos médicos, os biomateriais poliméricos se destacam por possuírem características biológicas e mecânicas desejáveis à clínica, substituindo um tecido danificado ou uma função fisiológica ineficiente (THAKUR, SINGH, SINGH, 2016; OTHMAN et al., 2018; PASELA et al., 2019). A quitosana (Figura 1) é um copolímero policatiônico formado por unidades  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)D-glicosamina e N-acetil-D-glicosamina e caracteriza-se por ser biodegradável, biocompatível, mucoadesiva, não imunogênica, bacteriostática, hemostática, antioxidante, hipolipemiante e anticancerígena (DRAGOSTIN et al., 2015; HOZUMI; NOMIZU, 2018; NADY; KANDIL, 2018; XU et al., 2019a; ZHONG et al., 2019).

Figura 1 – Estrutura química da quitosana.



Fonte: IRIMIA et al., 2018.

A quitosana é uma quitina parcialmente desacetilada, derivada do exoesqueleto de animais marinhos (ZÁRATE-TRIVIÑO et al., 2018). Devido à facilidade de moldagem dos seus grupamentos amino, é uma excelente plataforma de matrizes poliméricas estáveis em condições fisiológicas *in vitro* e que sofrem degradação gradual por lisozima ou quitinase *in vivo* (HOZUMI; NOMIZU, 2018). Por isto, apresenta características motivadoras para pesquisa de formulações farmacêuticas que visam melhorar o desempenho farmacocinético de fármacos, tais como nanopartículas (RAGUSA et al., 2018), microesferas (NANAKI et al., 2017), hidrogéis (LOW et al., 2016), nanofibras (ZAHEDI et al., 2019), membranas (LIN et al., 2018) e esponjas (IKEDA et al., 2014).

As esponjas são matrizes poliméricas que se configuram como andaimes porosos com redes interconectadas para facilitar a interação com as células e permitir a difusão de fármacos ou nutrientes (CHAUDHARI et al., 2016). Elas podem ser produzidas pela técnica da liofilização, a qual permite obter estruturas com arquitetura 3D por desidratação rápida de cristais de gelo (KACZMAREK; SIONKOWSKA; OSYCZKA, 2018a; LI et al., 2019).

Embora sejam amplamente utilizadas na engenharia de tecidos (XU et al., 2019b), despertaram o interesse recente da área farmacêutica para administração de medicamentos transmucosos (FREAG, SALEH, ABDALLAH, 2018), sendo aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de feridas de vários graus (WELLS et al., 2018). Isto porque oferecem vantagens sobre outros sistemas de liberação de fármacos, como absorção efetiva, potencial entrega local e sistêmica e maior carga de dose, se comparada a géis e filmes (KASSEM; ELMESHAD; FARES, 2015). Logo, este tipo de apresentação farmacêutica tem sido estudada como curativo e para liberação transdérmica de fármacos, a fim de melhorar a eficácia terapêutica ou diminuir reações adversas, facilitando o processo de cicatrização (YAN et al., 2017; MARIN et al., 2018; XU et al., 2018).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver esponjas de quitosana, incorporar a IND neste biomaterial e avaliar suas características morfológicas e físico-químicas como

proposta inovadora para o tratamento de lesões cutâneas (curativo), reduzindo os efeitos adversos no trato gastrointestinal.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

A indometacina foi adquirida na Roval<sup>®</sup> (Campina Grande, Brasil). A quitosana de baixo peso molecular (50-190kDa, grau de desacetilação 75-85%, viscosidade 20-300cP) foi adquirida da Sigma Aldrich<sup>®</sup> (Saint Louis, Estados Unidos da América). Todos os outros produtos químicos utilizados foram de grau analítico.

### **2.2 Desenvolvimento das esponjas**

As esponjas de quitosana (EQ) e esponjas de quitosana/indometacina (EQI) foram preparadas por liofilização, conforme Zimoch-Korzycka et al. (2016), Wang et al. (2017) e Marin et al. (2018). As EQ foram obtidas a partir da dissolução de QTS em solução de ácido acético (1% v/v), sob agitação magnética durante 24 horas. Em seguida, foram vertidos 25 mL dessa solução em placas de Petri com 8 cm de diâmetro. Para obtenção de EQI foram adicionados 250 mg de IND, previamente solubilizadas em etanol e dispersas sob agitação magnética durante 1 hora, em 100 mL de solução de QTS 1% (m/v), seguindo as mesmas etapas para as esponjas sem o fármaco. Ambas as soluções foram congeladas por 7 dias a -40 °C em ultra freezer, modelo CL 120-86V (ColdLab<sup>®</sup>, Piracicaba, Brasil), e submetidas a secagem em liofilizador, modelo L108 (Liotop<sup>®</sup>, São Carlos, Brasil), por 48 horas à temperatura de -55 °C e vácuo de 214 Pa. Os materiais foram congelados no Laboratório de Ecologia Aquática da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e liofilizados no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais (CERTBIO) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

### **2.3 Caracterização organoléptica**

As esponjas desenvolvidas foram avaliadas visualmente quanto a sua aparência física, cor, textura, forma e plasticidade e fotografadas com câmera 12 Mp.

## 2.4 Caracterização morfológica

Os métodos para caracterização morfológica dos materiais foram realizados no CERTBIO da UEPB.

### 2.4.1 Microscopia Óptica (MO) e análise topográfica

Utilizou-se o microscópio óptico digital, modelo KH7700 (Hirox<sup>®</sup>, Tóquio, Japão), com aumentos de 140x, acoplado a uma estação de análise de imagens. As micrografias obtidas por MO foram utilizadas para obtenção do perfil topográfico tridimensional e avaliação da rugosidade média (Ra) das EQ e EQI, com auxílio do software Gwyddion<sup>®</sup>.

### 2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo VEGA3 (TESCAN<sup>®</sup>, Brn, República Checa), nas escalas de 1:500, 1:200 e 1:50, com energia fixa de 8KV e sem recobrimento metálico. As micrografias obtidas por MEV foram utilizadas para avaliação do diâmetro médio ( $d_m$ ) dos poros das EQI e EQI, com auxílio do software Image J<sup>®</sup>.

## 2.5 Caracterização físico-química

Os métodos para caracterização físico-química dos materiais foram realizados no CERTBIO da UFCG.

### 2.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC da IND, QTS, QTS+IND (1:1), EQ e EQI foram obtidas no módulo exploratório diferencial do calorímetro DSC Q20 (TA<sup>®</sup> – Instruments, New Castle, Delaware, EUA). Utilizaram-se  $2,0 \pm 0,05$  mg das amostras, acondicionadas em cadinhos de alumínio hermeticamente fechados e analisadas na razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , com temperatura de 30 a  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  e sob uma atmosfera de  $\text{N}_2$  com fluxo de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O DSC Q20 estava devidamente calibrado, usando o índio como padrão.

### 2.5.2 Termogravimetria (TG) e sua derivada (DTG)

As curvas termogravimétricas da IND, QTS, QTS+IND (1:1), EQ e EQI foram obtidas no módulo termogravimétrico Pyris 1 TGA (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Boston, Massachusetts, EUA). Utilizaram-se  $5,00 \pm 0,05$  mg das amostras, acondicionadas em cadinhos de alumina e analisadas na razão de aquecimento de  $10^\circ \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ , com temperatura de  $30^\circ \text{C}$  a  $900^\circ \text{C}$  e sob uma atmosfera de  $\text{N}_2$  com fluxo de  $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . A derivada da curva termogravimétrica foi utilizada para auxiliar na interpretação do número de etapas e o equipamento estava devidamente calibrado com oxalato de cálcio.

### 2.5.3 Difração de raios-X (DRX)

Foi utilizado o difratômetro XRD-6000 (Shimadzu<sup>®</sup>, Quioto, Japão), com varredura angular  $5^\circ < 2\theta < 35^\circ$ , fonte de radiação de cobre Cu ( $\text{K}\alpha_1$ ), varredura no passo de  $0,02 (2\theta)$  e intervalo de  $0,6$  segundos para IND, QTS, EQ e EQI.

### 2.5.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Esta análise utilizou o espectrômetro Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR (Perkin Elmer<sup>®</sup>, Boston, Massachusetts, EUA) com resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , velocidade de varredura de  $0,2 \text{ cm}^{-1}$  e varredura de  $4000$  a  $650 \text{ cm}^{-1}$  para obter os dados de infravermelho da IND, QTS, EQ e EQI.

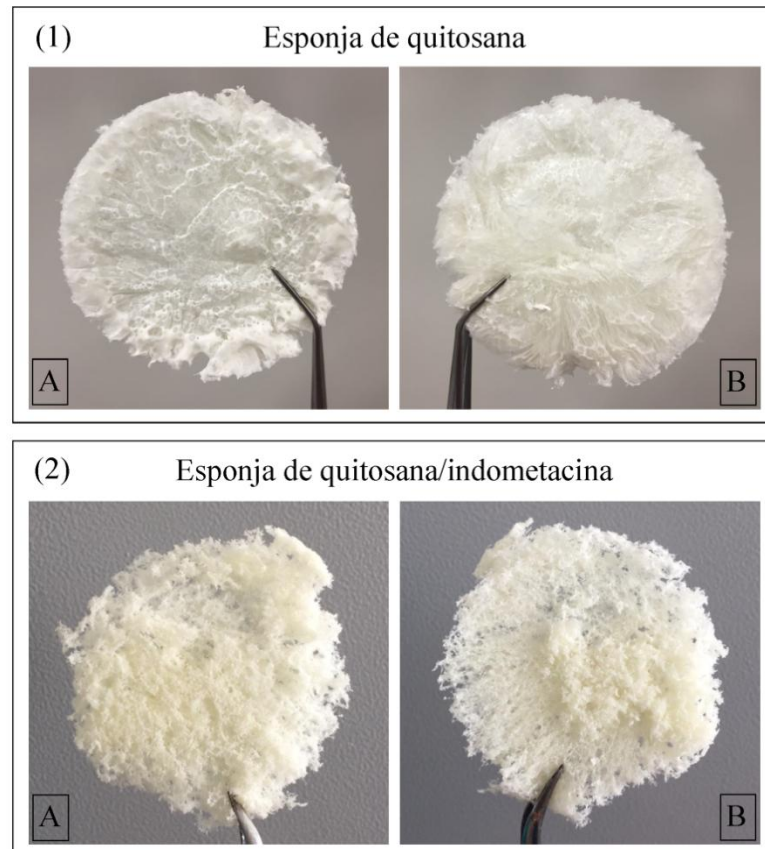
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desenvolvimento das esponjas

Neste trabalho, as esponjas obtidas por liofilização (Figura 2) apresentaram, macroscopicamente, coloração branca, aspecto fibroso, macio e flexível. Ambas exibiram requisitos necessários a este tipo de biomaterial: (I) integridade física; (II) estrutura flexível; (III) plasticidade suficiente para não ser quebradiça; (IV) massa, textura e espessura uniformes e (V) aspecto macio para facilitar a adesão do paciente (TADROS; FAHMY, 2014). Entretanto, as EQI mostraram-se menos resistentes à fragmentação do que as EQ. A espessura, diâmetro e geometria evidenciaram-se características moldáveis, proporcionais à quantidade de solução e recipiente destinado à secagem, permitindo a personalização do biomaterial para tratamento de lesões cutâneas complexas.



Figura 2 – Fotografias das EQ (1) e EQI (2): 1A e 2A – Face da esponja; 1B e 2B – Dorso da esponja.



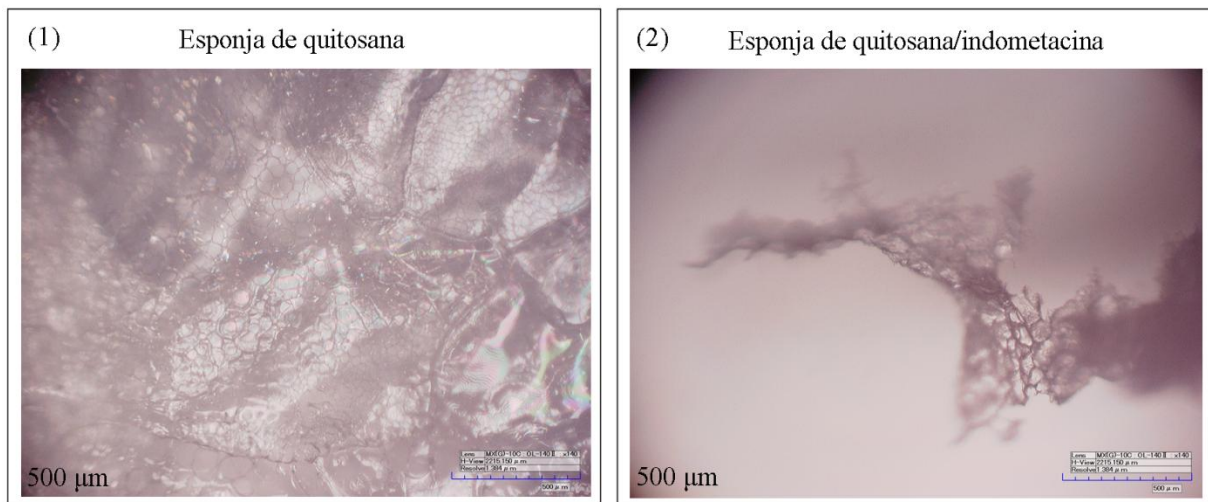
Fonte: dados da pesquisa.

### 3.2 Aspectos microscópicos

A morfologia e a porosidade são parâmetros importantes para os curativos, pois influenciam na sua capacidade de absorção de exsudatos (SHAO et al., 2017). A sublimação dos cristais de gelo, através da liofilização de soluções de QTS, reproduz materiais micro porosos (KASSEM; ELMESHAD; FARES, 2015), como observado na figura 3. Tal estrutura confere ao biomaterial uma grande área de superfície de contato, melhor adesão e favorece interações com proteínas, células e organismos vivos (GUO; LI, 2016).

As micrografias obtidas por MO também demonstraram que a incorporação da IND na matriz polimérica modificou o microambiente das EQI, verificando-se diminuição da interconexão entre os poros, quando comparadas com as EQ. Ressalta-se que os volumes das soluções de QTS e QTS+IND e os recipientes destinados à secagem foram padronizados para ambas as esponjas, visto que a porosidade deste biomaterial é dependente destes fatores, segundo Chen et al. (2013).

Figura 3 – Micrografias das EQ (1) e EQI (2) obtidas por MO, no aumento de 140x.

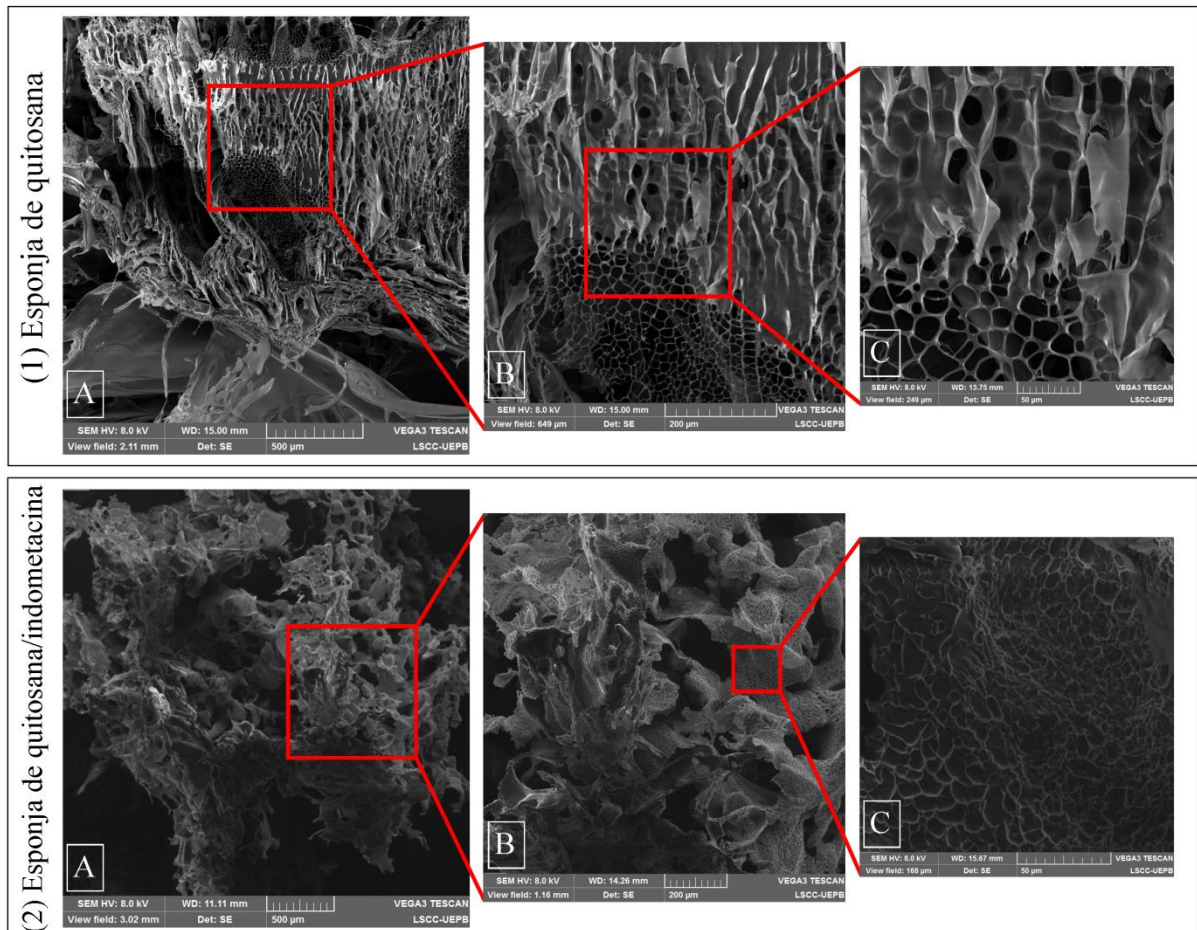


Fonte: dados da pesquisa.

Para compreender melhor a morfologia porosa superficial das esponjas desenvolvidas, a MEV foi utilizada. Os arcabouços das EQ e EQI, observados na figura 4, apresentaram redes tridimensionais com cavidades poliédricas interligadas por poros lisos e heterogêneos, semelhantes à estrutura de uma colmeia, aspecto também descrito por Saporito et al. (2018). Esta interconexão de poros em ambas é necessária para permitir o fluxo de nutrientes e proliferação celular, aumentar a área da superfície de contato com os fluidos corporais e favorecer a fixação local (ANGULO; SOBRAL, 2016; KACZMAREK; SIONKOWSKA; OSYDZKA, 2018b).

A porosidade e diâmetros de poros ideais dependem da aplicação, tipo e composição do biomaterial (KACZMAREK et al., 2018). Porém, as propriedades mecânicas das esponjas são diretamente proporcionais ao tamanho dos seus poros. Tamanhos de poros diminuídos e paredes de poros espessas resultam em aumento da resistência à tração e compressão. Logo, poros e irregularidades maiores resultam na ausência da rede fibrilar das esponjas (IKEDA et al., 2014; ZIMOCH-KORZYCKA et al., 2016; RACINE et al., 2017). Dessa forma, o maior diâmetro dos poros das EQI ( $d_m = 97,49 \mu\text{m}$ ) e a redução da rede fibrilar observada na MO, se comparados com as EQ ( $d_m = 15,09 \mu\text{m}$ ), justificam a maior fragilidade das esponjas após a incorporação do fármaco.

Figura 4 – Micrografias das EQ (1) e EQI (2) obtidas por MEV: 1A e 2A – Escala de 1:500; 1B e 2B – Escala de 1:200; 1C e 2C – Escala de 1:50.



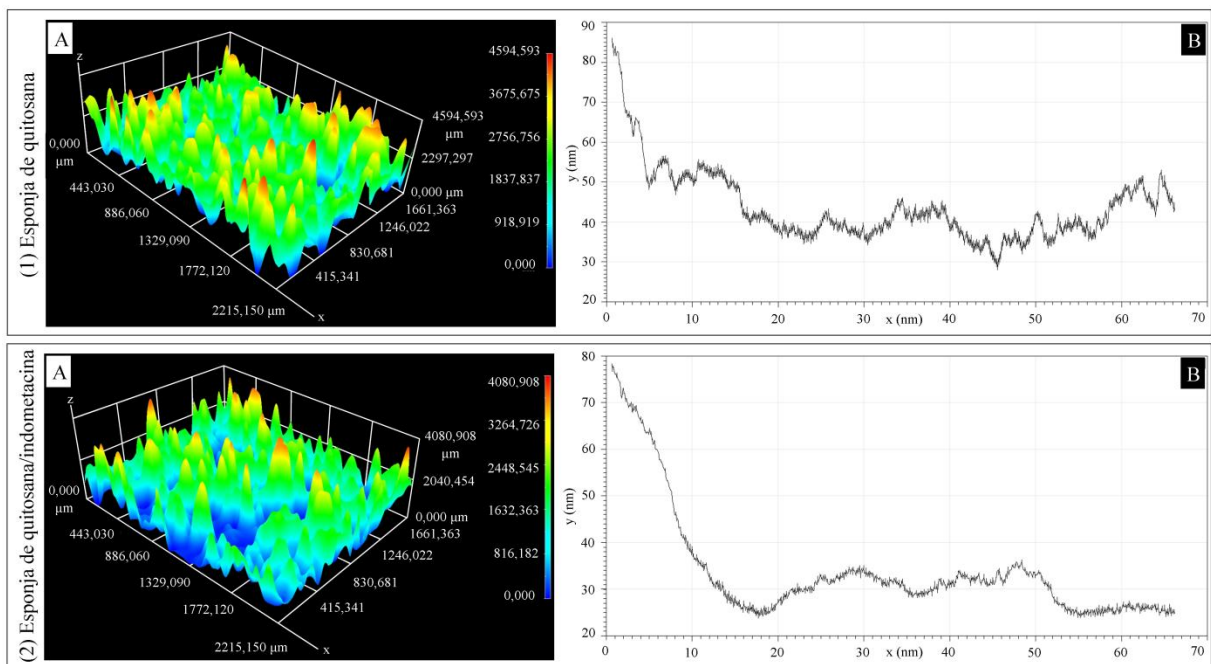
Fonte: dados da pesquisa.

O desempenho das matrizes esponjosas em relação à taxa e capacidade de absorção de água, mucoadesão e perfil de liberação do fármaco também são atribuídos ao tamanho e distribuição dos poros (TADROS, FAHMY, 2014). As EQ apresentaram diâmetros abaixo de  $26\mu\text{m}$ , ótimos para neovascularização, crescimento de fibroblastos e hepatócitos (ANGULO, SOBRAL, 2016), tornando-as satisfatórias para uso como curativos. Para as EQI foram observados muitos poros com diâmetros entre  $50$  e  $200\mu\text{m}$ , ideais para o desenvolvimento de um novo sistema de liberação de fármacos, corroborando com os resultados de vários pesquisadores (CHEN et al., 2013; IKEDA et al., 2014; LI et al., 2015; LU et al., 2016; PETCHSOMRIT; SERMKAEW; WIWATTANAPATAPEE, 2017; SAPORITO et al., 2018; KACZMAREK, SIONKOWSKA, OSYCZKA, 2018b).

### 3.3 Análise topográfica

Em geral, a topografia da superfície também influencia na adsorção de proteínas e, consequente, mucoadesão (SARAVANAN, LEENA, SELVAMURUGAN, 2016). A figura 5 apresenta as imagens topográficas tridimensionais das esponjas, obtidas por MO, e seus respectivos perfis de rugosidade. Foi observada alteração da superfície das esponjas após a incorporação da IND na matriz polimérica, bem como redução da Ra de  $43,6 \pm 9,1\text{nm}$  para  $33,9 \pm 11,8\text{nm}$ , o que pode representar diferentes condições adesivas ao tecido epitelial.

Figura 5 – Imagens topográficas (1A e 2A) e perfil de rugosidade (1B e 2B) das EQ (1) e EQI (2).



Fonte: dados da pesquisa.

Espera-se que o maior tamanho dos poros e rugosidade das EQI permita uma hidratação rápida do biomaterial, disponibilizando boas taxas de liberação do fármaco e favorecendo a aderência, como relatado por Tadros e Fahmy (2014), Saher, Ghorad, Mursi (2016) e Racine et al. (2017). A absorção de exsudados é útil para manter a ferida úmida, promover a proliferação celular no local e cicatrização da mesma (ZHANG et al., 2019), tornando a EQI adequada como curativo transdérmico.

### 3.4 Comportamento térmico

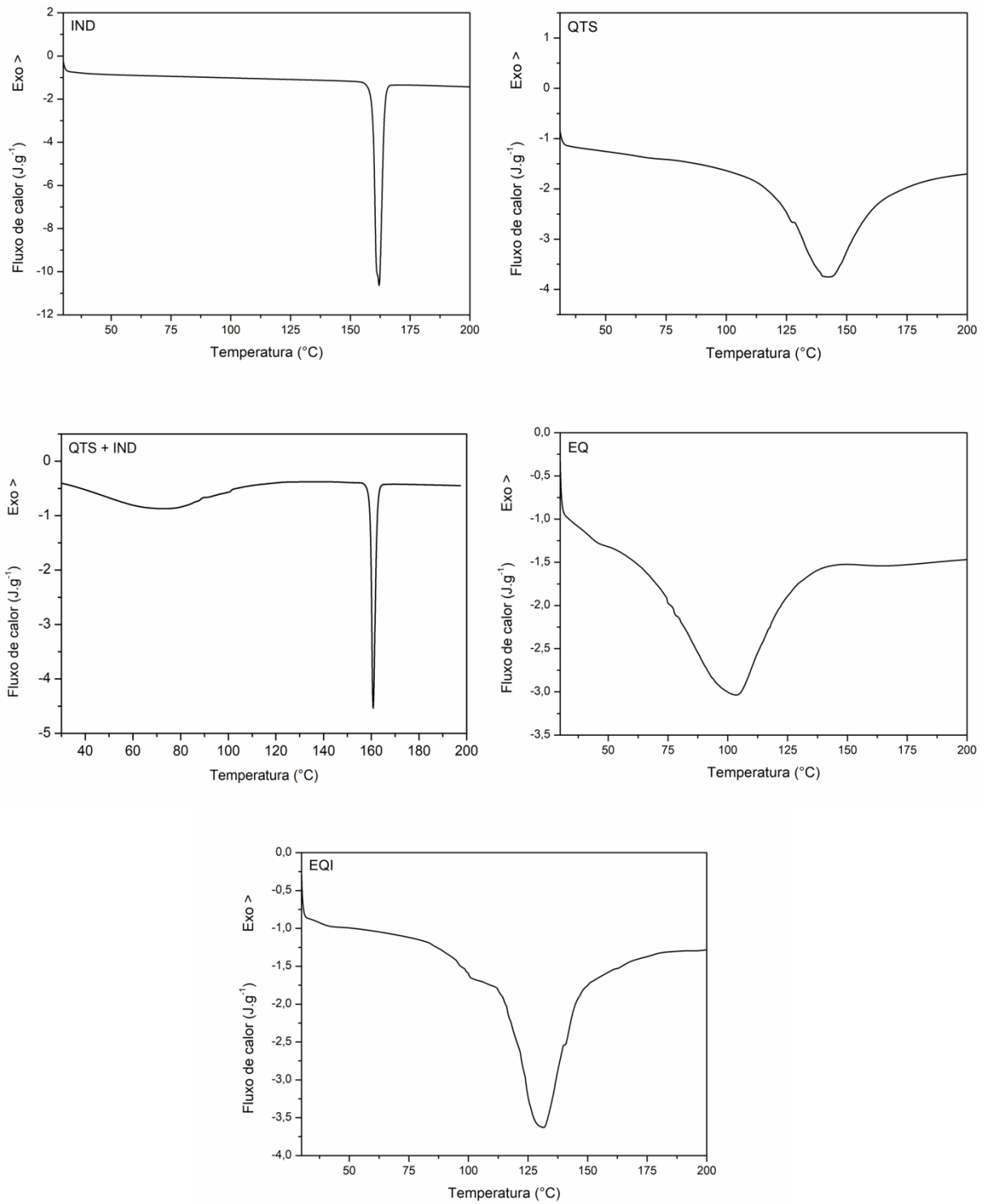
A DSC, por meio da avaliação dos eventos térmicos, pode ser utilizada para reconhecer a formação de um complexo de inclusão e avaliar a compatibilidade entre substâncias (ZAFAR et al., 2017). As curvas e eventos calorimétricos do fármaco, polímero, mistura física e das esponjas desenvolvidas estão apresentados na figura 6 e tabela 1, respectivamente.

A curva calorimétrica da IND em pó apresentou um pico endotérmico ( $T_{\text{pico}} = 162,01$  °C e  $\Delta H = 195,90$  J.g<sup>-1</sup>), correspondente ao ponto de fusão do seu polimorfo  $\gamma$ , indicando seu estado cristalino (RASEKH et al., 2014; RUDRANGI et al., 2015; KIM, YEO, 2016; COLOMBO et al., 2018; ASARE-ADDO, 2019). A amostra de QTS em pó mostrou um amplo evento endotérmico ( $T_{\text{pico}} = 142,02$  °C e  $\Delta H = 211,00$  J.g<sup>-1</sup>), atribuído à volatilização de substâncias (SILVA et al., 2016; KACZMAREK et al., 2018). Este perfil térmico também foi observado na curva das EQ e EQI e relatado por Tadros e Fahmy (2014) para biomateriais esponjosos de QTS desenvolvidos por liofilização. Na mistura física (QTS+IND) mantiveram-se as duas transições endotérmicas verificadas nos componentes isolados, propondo ausência de interação química entre eles.

A curva de DSC das EQI apresentou um evento endotérmico ( $T_{\text{pico}} = 131,62$  °C e  $\Delta H = 299,50$  J.g<sup>-1</sup>), que pode ser referente à remoção de água fisicamente adsorvida nas esponjas liofilizadas ou alteração do estado do polímero de vítreo a emborrachado (TADROS, FAHMY, 2014; SHAKER et al., 2018). A diminuição da intensidade e mudança de aspecto de pico, se comparada com as curvas de DSC dos componentes isolados, podem ser relacionadas à menor massa de IND incorporada à matriz (TADROS, FAHMY, 2014) e perda da cristalinidade com dispersão molecular do fármaco na matriz polimérica, respectivamente (RUDRANGI et al., 2015; COLOMBO et al., 2018; SHAKER et al., 2018). Além disso, a semelhança deste sistema à curva da EQ e ausência de eventos endotérmicos isolados do fármaco e polímero pode indicar incorporação da IND na matriz polimérica com interação entre as duas substâncias e desenvolvimento de um novo arranjo intermolecular após liofilização.



Figura 6 – Curvas calorimétricas da IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI.



Fonte: dados da pesquisa.

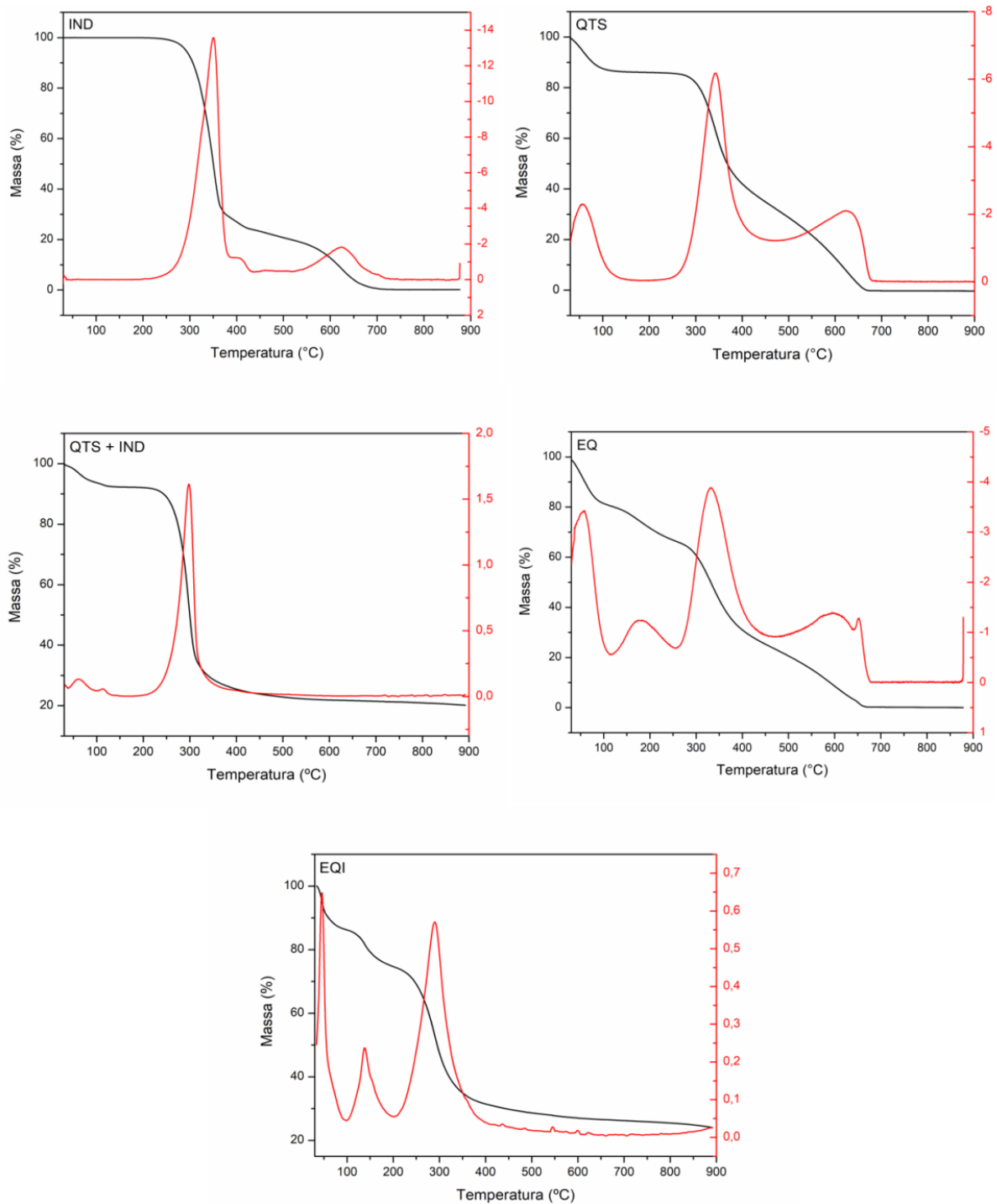
Tabela 1 – Dados dos eventos calorimétricos e decomposições termogravimétricas das amostras de IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI.

Amostras	Eventos	DSC		Etapas de perda	TG		
		T <sub>pico</sub> (°C)	ΔH (J.g <sup>-1</sup> )		Faixa de temperatura (°C)	Massa (%)	Resíduo (%)
IND	1	162,01	195,90	1	30,00-401,88	72,95	0,17
				2	401,88-423,09	2,80	
				3	423,09-724,15	24,08	
QTS	1	142,02	211,00	1	30,00-164,67	13,83	0,47
				2	164,67-474,10	54,00	
				3	474,10-664,41	31,70	
QTS+IND	1	73,10	133,30	1	30,00-145,04	7,46	20,14
	2	160,81	48,02	2	145,04-455,10	68,58	
EQ	1	103,18	385,30	1	30,00-118,18	18,61	0,05
				2	118,18-259,11	14,10	
				3	259,11-484,29	44,05	
				4	484,29-702,14	22,07	
EQI	1	131,62	299,50	1	30,00-96,83	13,71	24,02
				2	96,83-200,82	11,70	
				3	200,82-433,36	44,32	

Fonte: dados da pesquisa.

O comportamento térmico do fármaco, polímero, mistura física e das esponjas desenvolvidas também foi avaliado por TG/DTG. A figura 7 apresenta as decomposições termogravimétricas das amostras e a tabela 1 descreve os respectivos eventos. A curva termogravimétrica da IND em pó apresentou três etapas de perda de massa (30,00-401,88 °C, Δm = 72,95 %; 401,88-423,09 °C, Δm = 2,80% e 423,09-724,15 °C, Δm = 24,08 %) e resíduo de 0,17 %. A amostra de QTS em pó mostrou três etapas de perda de massa (30,00-164,67 °C, Δm = 13,83 %; 164,67-474,10 °C, Δm = 54,00 % e 474,10-664,41 °C, Δm = 31,70 %), correspondentes a eliminação de compostos voláteis, quebra das ligações glicosídicas e degradação do polímero, respectivamente, corroborando com os achados de Lal, Arora e Sharma (2016) e Osório et al. (2018). Para a mistura física (QTS+IND) observaram-se duas etapas de degradação (30,00-145,04 °C, Δm = 7,46 % e 145,04-455,10 °C, Δm = 68,58 %), semelhantes ao perfil do polímero isolado.

Figura 7 – Curvas TG/DTG da IND e QTS em pó, mistura física QTS+IND (1:1), EQ e EQI.



Fonte: dados da pesquisa.

A curva TG/DTG das EQ mostrou quatro etapas de degradação (30,00-118,18 °C,  $\Delta m = 18,61\%$ ; 118,18-259,11 °C,  $\Delta m = 14,10\%$ ; 259,11-484,29 °C,  $\Delta m = 44,05\%$ ; 484,29-702,14 °C,  $\Delta m = 22,07\%$ ), referentes à perda de água adsorvida às esponjas, ruptura e degradação da cadeia principal da QTS e degradação oxidativa das moléculas orgânicas, respectivamente, também verificadas por Lan et al. (2015), Lu et al. (2016) e Yan et al.



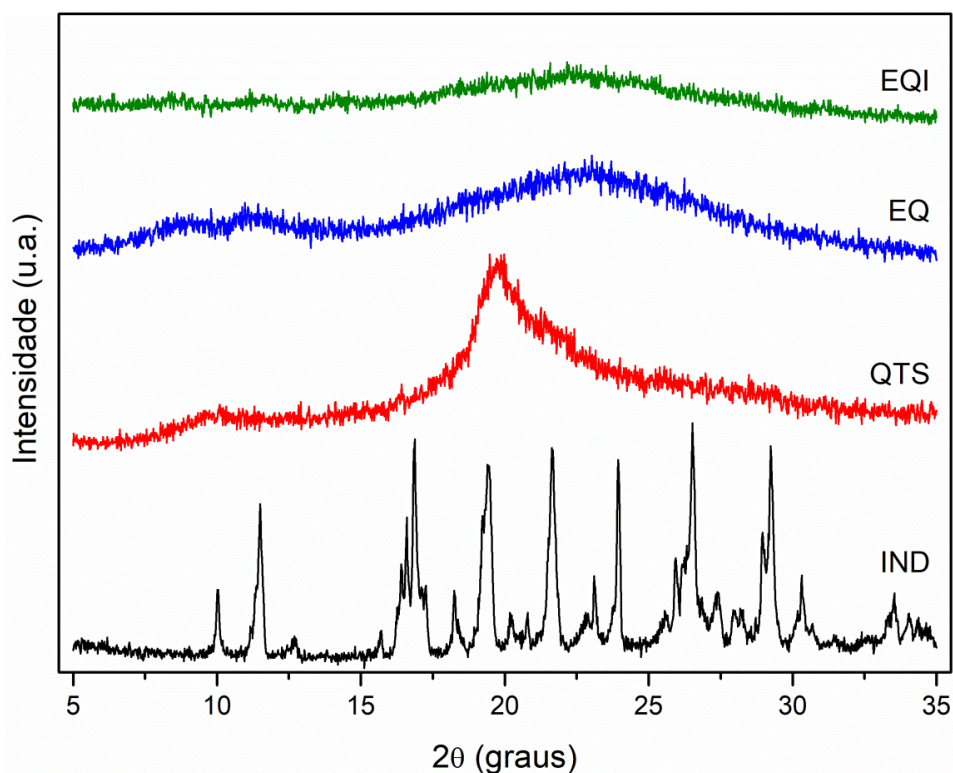
(2017). A antecipação da temperatura dos eventos é um comportamento comum de arcabouços de QTS e a redução da estabilidade de biomateriais esponjosos é atribuída à diminuição da cristalinidade e interações intermoleculares, por pontes de hidrogênio, entre grupos amina e hidroxila da QTS (XUE, WILSON, 2019). Entretanto, após a incorporação do fármaco na matriz polimérica foram observadas três etapas de degradação (30,00-96,83 °C,  $\Delta m = 13,71 \%$ ; 96,83-200,82 °C,  $\Delta m = 11,70 \%$ ; 200,82-433,36 °C,  $\Delta m = 44,32$ ) e um resíduo maior (24,02 %) que nas EQ (0,17%). Esta diminuição das etapas, temperaturas de degradação e a maior fração de resíduo, sugerem uma estrutura molecular estável e satisfatória para os requisitos de obtenção, armazenamento e uso como material curativo.

### 3.5 Avaliação dos difratogramas

O DRX é uma ferramenta que auxilia na investigação do arranjo e grau de cristalinidade, que podem afetar várias propriedades das esponjas, tais como absorção de água e biodegradabilidade do polímero (TADROS, FAHMY, 2014). Os padrões de DRX do fármaco, polímero e das esponjas desenvolvidas são mostrados na figura 8.

O difratograma da IND pura exibiu múltiplas reflexões cristalinas em 10,02°, 11,5°, 12,7°, 15,72°, 16,88°, 18,24°, 19,4°, 20,18°, 20,8°, 21,64°, 23,1°, 23,94°, 26,52°, 27,38°, 29,24°, 30,32° e 33, 54° 2 $\theta$ , que se referem ao seu polimorfo  $\gamma$  (RUDRANGI et al., 2015; COLOMBO et al., 2018; ASARE-ADDO et al., 2019). Para a QTS pura o espectro apresentou uma intensa e larga reflexão em 19,72° 2 $\theta$ , característica do perfil semicristalino do polímero (MAJI et al., 2018; FLORES et al., 2017; SHAO et al., 2017) e consequente das fortes interações inter e intramoleculares por pontes de hidrogênio entre os grupos amina, álcool e amida (SEGHIR, BENHAMZA, 2017). Esta reflexão típica da QTS também foi observada nas EQ em 22,78° 2 $\theta$  e EQI em 22,16° 2 $\theta$  e verificou-se, assim, a amorficidade das esponjas quando comparadas aos pós isolados, corroborando com os achados de Xie et al. (2018).

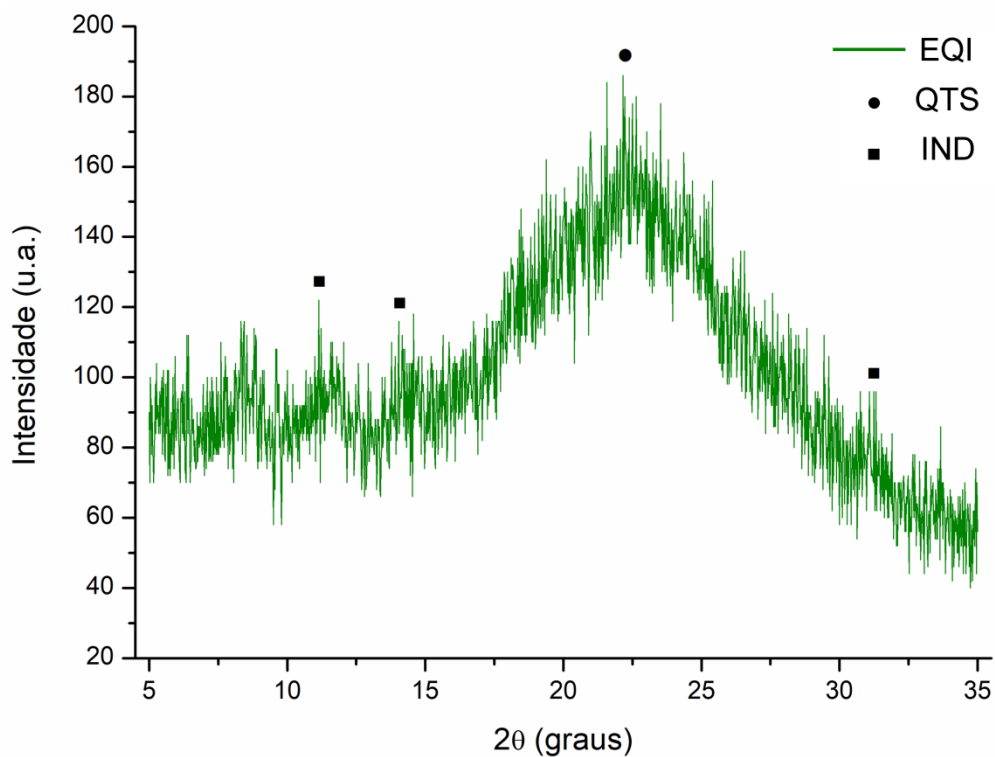
Figura 8 – Difratogramas das amostras de IND e QTS em pó, EQ e EQI.



Fonte: dados da pesquisa.

Picos característicos da IND e da QTS foram identificados no padrão de DRX das EQI, como visto na figura 9. Além da reflexão em  $22,16^\circ$   $2\theta$ , já discutida, o difratograma também demonstrou reflexões em  $11,14^\circ$ ,  $14,04^\circ$  e  $31,08^\circ$   $2\theta$ , características da IND. Entretanto, após a liofilização, observaram-se ausências de outras reflexões cristalinas típicas deste fármaco. Isto ocorreu porque o método adotado para obtenção dos biomateriais produz IND amorfa, sugerindo que a sua forma cristalina foi molecularmente dispersa dentro da solução liofilizada (COLOMBO et al., 2018; ASARE-ADDO et al., 2019). Além disso, a redução da cristalinidade e formação de um padrão difuso também pode indicar complexação da IND e QTS (RUDRANGI et al., 2015). Espera-se que a amorficidade e o aprisionamento da IND na matriz esponjosa desenvolvida aumentem a solubilidade do fármaco e ofereçam um perfil eficiente de liberação do mesmo (TADROS, FAHMY, 2014).

Figura 9 – Difratoograma das EQI com destaque para as reflexões típicas da QTS e IND.

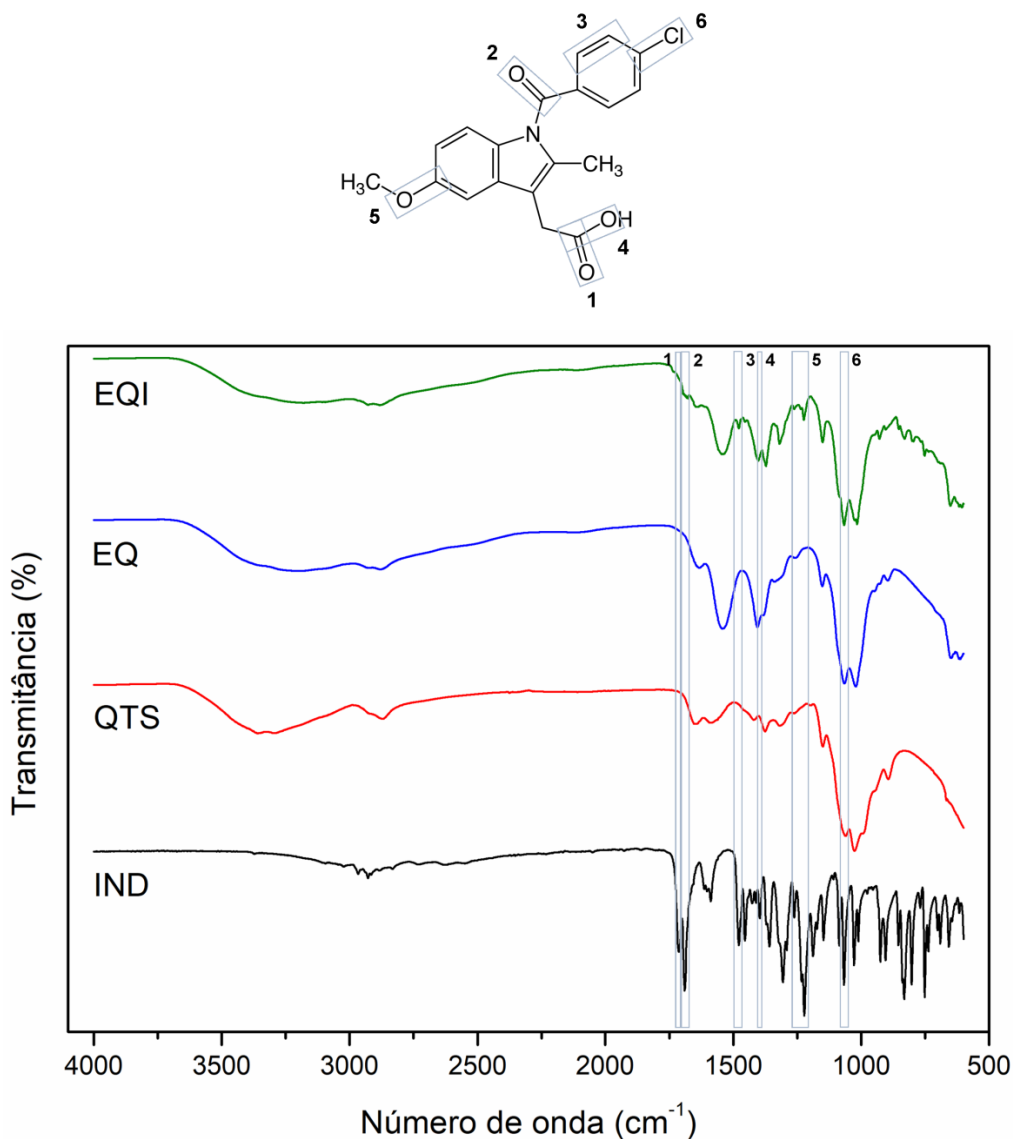


Fonte: dados da pesquisa.

### 3.6 Análise espectroscópica

O FTIR é uma técnica importante na avaliação das alterações químicas ao nível molecular, auxiliando na investigação da interação entre substâncias por meio de alterações no aspecto das bandas espectrais e posição dos picos (ANGULO, SOBRAL, 2016; ZAFAR et al., 2017; KACZMAREK et al., 2018). A figura 10 demonstra as principais bandas de absorção comuns nos espectros de FTIR obtidos para o fármaco, polímero e esponjas desenvolvidas.

Figura 10 – Espectros de infravermelho das amostras de IND e QTS em pó, EQ e EQI.



Fonte: dados da pesquisa.

O espectro de FTIR da IND em pó mostra um número grande de absorções devido às vibrações dos anéis aromáticos. As duas bandas intensas em  $1713$  e  $1690\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às vibrações do estiramento da carbonila do ácido carboxílico e carbonila da benzila e sugerem que o fármaco está presente na forma polimórfica  $\gamma$ , como já evidenciado pelas técnicas de DSC e DRX (ZAFAR et al., 2017; DALMORO et al., 2018). Outras bandas de absorção foram observadas em  $1478\text{ cm}^{-1}$  (C=C de anéis aromáticos),  $1306\text{ cm}^{-1}$  (C–O de grupos ácidos),  $1262$  a  $1222\text{ cm}^{-1}$  (C–O de éter) e  $1067\text{ cm}^{-1}$  (C–Cl) (RASEKH et al., 2014).

Para amostra de QTS observou-se uma banda larga entre  $3668$  e  $2987\text{ cm}^{-1}$ , sugestiva do estiramento de O–H, que sobrepôs às vibrações características do alongamento da amina (TADROS, FAHMY, 2014; SHAO et al., 2017; WANG et al., 2017; SUN et al., 2018). As

intensas absorções em 1063 e 1026  $\text{cm}^{-1}$  e vibrações em 893  $\text{cm}^{-1}$  são típicas deste polímero e referem-se ao estiramento C–O e alongamento das ligações glicosídicas C–O–C (SHAO et al., 2017; DALMORO et al., 2018; SAPORITO et al., 2018). A absorção em 1650  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento de C=O) associada com absorção em 2873  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento de N–H) é sugestiva de amida secundária. Entretanto, as absorções em 1589  $\text{cm}^{-1}$  e em 1374  $\text{cm}^{-1}$ , sugestivas de amins primárias e deformações simétricas de  $\text{CH}_3$ , respectivamente, evidenciam que a QTS exibiu um alto grau de desacetilação (LU et al., 2016; FLORES et al., 2017).

Bandas comuns do polímero estiveram presentes no espectro das esponjas desenvolvidas. As vibrações sugestivas de amida também foram observadas nas EQ e EQI devido presença de grupos que não interagiram com o íon acetato. Além disso, as bandas em 1542 e 1540  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas à amina protonada ( $\text{NH}_3^+$ ), e em 1405 e 1402  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas ao dobramento =C–H, para as EQ e EQI, respectivamente, sugerem interação entre a  $\text{NH}_3^+$  e o íon acetato em condições ácidas, corroborando com os achados de Wang et al. (2017) e Saporito et al. (2018).

A presença de IND nas esponjas foi identificada por bandas características do fármaco em 1478  $\text{cm}^{-1}$  (C=C de anéis aromáticos), 1262 a 1224  $\text{cm}^{-1}$  (=C–O de éter) e 1066  $\text{cm}^{-1}$  (C–Cl). A ausência de vibrações referentes ao alongamento da IND cristalina sugere que após a liofilização o fármaco apresenta-se amorfo para permitir interação com o polímero, ratificando os resultados do DSC e DRX, como verificado por Colombo et al., (2018). Portanto, os espectros mostraram evidências de interações intermoleculares e compatibilidade entre QTS e IND com mudanças leves nas bandas espectrais.

#### 4 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de esponjas de quitosana por liofilização se mostrou eficiente mediante a simplicidade e reprodutibilidade do método. Os resultados obtidos por microscopia demonstraram que o biomaterial apresentou características apropriadas para liberação de fármacos e que a incorporação da indometacina na matriz polimérica modificou o microambiente avaliado. A análise térmica por DSC e TG/DTG verificou compatibilidade entre a QTS e IND, corroborando com os resultados descritos no DRX e FTIR, que também sugeriram a amorficidade do sistema e interações intermoleculares entre o fármaco e o polímero, respectivamente.

Portanto, a forma farmacêutica desenvolvida apresentou pré-requisitos de qualidade que favorecem seu uso como uma proposta alternativa à via oral no tratamento de inflamações cutâneas com indometacina. Sugere-se que, em estudos subsequentes, sejam aperfeiçoadas as características mecânicas das EQ e EQI, bem como realizados ensaios de liberação *in vitro* e experimentos *in vivo* com animais, a fim de melhorar a flexibilidade e plasticidade do biomaterial e avaliar o perfil de liberação do fármaco.

## REFERÊNCIAS

ANGULO, D. E. L.; SOBRAL, P. J. A. Characterization of gelatin/chitosan scaffold blended with aloe vera and snail mucus for biomedical purpose. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 92, p. 654-653, 2016.

ARAÚJO, E. R. D.; GUERRA, G. C. B.; ARAÚJO, D. F. S.; ARAÚJO, A. A.; FERNANDES, J. M.; ARAÚJO JÚNIOR, R. F.; SILVA, V. C.; CARVALHO, T. G.; FERREIRA, L. S.; ZUCOLOTO, S. M. Gastroprotective and Antioxidant Activity of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* Leaf Juices against Indomethacin and Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 19, n. 1265, p. 1-25, 2018.

ASARE-ADDO, K.; ALSHAFIEE, M.; WALTON, K.; WARD, A.; TOTEA, A.; TAHERI, S.; MAWLA, N.; ADEBISI, A. O.; ELAWAD, S.; DIZA, C.; TIMMINS, P.; CONWAY, B. R. Effect of preparation method on the surface properties and UV imaging of indomethacin solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, New York, v. 137, p. 148-163, 2019.

CHAUDHARI, A. A.; VIG, K.; BAGANIZI, D. R.; SAHU, R.; DIXIT, S.; DENNIS, V.; SINGH, S. R.; PILLAI, S. R. Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 1974, p. 1-31, 2016.

CHEN, C.; LIU, L.; HUANG, T.; WANG, Q.; FANG, Y. Bubble template fabrication of chitosan/poly(vinyl alcohol) sponges for wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 62, p. 188-193, 2013.

COLOMBO, M.; MINUSSI, C.; ORTHMANN, S.; STAUFENBIEL, S.; BODMEIER, R. Preparation of amorphous indomethacin nanoparticles by aqueous wet bead milling and in situ measurement of their increased saturation solubility. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, New York, v. 125, p. 159-168, 2018.

DALMORO, A.; BOCHICCHIO, S.; NASIBULLIN, S. F.; BERTONCIN, P.; LAMBERTI, G.; BARBA, A. A.; MOUSTAFINE, R. I. Polymer-lipid hybrid nanoparticles as enhanced indomethacin delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, New York, v. 121, p. 16-28, 2018.

DRAGOSTIN, O. M.; SAMAL, S. K.; LUPASCU, F.; PÂNZARIU, A.; DUBRUEL, P.; LUPASCU, D.; TUCHILUS, C.; VASILE, C.; PROFIRE, L. Development and Characterization of Novel Films Based on Sulfonamide-Chitosan Derivatives for Potential Wound Dressing. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, p. 29843-29855, 2015.

FLORES, C.; LOPEZ, M.; TABARY, N.; NEUT, C.; CHAI, F.; BETBEDER, D.; HERKT, C.; CAZAUX, F.; GAUCHER, V.; MARTEL, B.; BLANCHEMAIN, N. Preparation and characterization of novel chitosan and  $\beta$ -cyclodextrin-polymer sponges for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 173, p. 535-546, 2017.

FREAG, M. S.; SALEH, W. M.; ABDALLAH, O. Y. Exploiting polymer blending approach for fabrication of buccal chitosan-based composite sponges with augmented mucoadhesive characteristics. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, New York, v. 120, p. 10-19, 2018.

GHITMAN, J.; STAN, R.; GHEBAUR, A.; CECOLTAN, S.; VASILE, E.; IOVU, H. Novel PEG-Modified Hybrid PLGA-Vegetable Oils Nanostructured Carriers for Improving Performances of Indomethacin Delivery. **Polymers**, Basel, v. 10, n. 579, p. 1-18, 2018.

GUO, M.; LI, X. Development of porous Ti6Al4V/chitosan sponge composite scaffold for orthopedic applications. **Materials Science and Engineering C**, Washington, v. 58, p. 1177-1181, 2016.

HOZUMI, K.; NOMIZU, M. Mixed Peptide-Conjugated Chitosan Matrices as Multi-Receptor Targeted Cell-Adhesive Scaffolds. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 19, n. 2719, p. 1-16, 2018.

IGLESIAS, N.; GALBIS, E.; DÍAZ-BLANCO, M. J.; LUCAS, R.; BENITO, E.; PAZ, M. V. Nanostructured Chitosan-Based Biomaterials for Sustained and Colon-Specific Resveratrol Release. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 398, p. 1-16, 2019.

IKEDA, T.; IKEDA, K.; YAMAMOTO, K.; ISHIZAKI, H.; YOSHIZAWA, Y.; YANAGIGUCHI, K.; YAMADA, S.; HAYASHI, Y. Fabrication and Characteristics of Chitosan Sponge as a Tissue Engineering Scaffold. **BioMed Research International**, New York, p. 1-8, 2014.

IRIMIA, T.; CHICA, M. V.; POPA, L.; ANUTA, V.; ARSENE, A.; DINU-PÎRVU, C. Strategies for Improving Ocular Drug Bioavailability and Corneal Wound Healing with Chitosan-Based Delivery Systems. **Polymers**, Basel, v. 10, n. 1221, p. 1-24, 2018.

ISHII, M.; FUKUOKA, Y.; DEGUCHI, S.; OTAKE, H.; TANINO, T.; NAGAI, N. Energy-Dependent Endocytosis Is Involved in the Absorption of Indomethacin Nanoparticles in the Small Intestine. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 476, p. 1-14, 2019.

KACZMAREK, B.; SIONKOWSKA, A.; KOZŁOWSKA, J.; OSY CZKA, A. M. New composite materials prepared by calcium phosphate precipitation in chitosan/collagen/hyaluronic acid sponge cross-linked by EDC/NHS. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 107, p. 247-253, 2018.

KACZMAREK, B.; SIONKOWSKA, A.; OSY CZKA, A. M. Scaffolds based on chitosan and collagen with glycosaminoglycans crosslinked by tannic acid. **Polymer Testing**, New York, v. 65, p. 163-168, 2018b.

KACZMAREK, B.; SIONKOWSKA, A.; OSY CZKA, A. M. The application of chitosan/collagen/hyaluronic acid sponge cross-linked by dialdehyde starch addition as a matrix for calcium phosphate *in situ* precipitation. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 107, p. 470-477, 2018a.



- KASSEM, M. A. A.; ELMESHAD, A. N.; FARES, A. R. Lyophilized Sustained Release Mucoadhesive Chitosan Sponges for Buccal Bupirone Hydrochloride Delivery: Formulation and In Vitro Evaluation. **AAPS PharmSciTech**, New York, v. 16, n. 3, p. 537-547, 2015.
- KHODER, M.; GBORMOI SR., H. K.; RYAN, A.; KARAM, A.; ALANY, R. G. Potential Use of the Maillard Reaction for Pharmaceutical Applications: Gastric and Intestinal Controlled Release Alginate-Albumin Beads. **Pharmaceutics**, Washington, v. 11, n. 83, p. 1-11, 2019.
- KIM, D.; YEO, S. Modification of indomethacin crystals using supercritical and aqueousantisolvent crystallizations. **The Journal of Supercritical Fluids**, Amsterdam, v. 108, p. 96-103, 2016.
- LAL, S.; ARORA, S.; SHARMA, C. Synthesis, thermal and antimicrobial studies of some Schiff of chitosan. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapeste, v. 124, p. 909-916, 2016.
- LAN, G.; LU, B.; WANG, T.; WANG, L.; CHEN, J.; YU, K.; LIU, J.; DAI, F.; WU, D. Chitosan/gelatin composite sponge is an absorbable surgicalhemostatic agent. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, New York, v. 136, p. 1026-1034, 2015.
- LI, X.; CHEN, Z.; ZHANG, H.; ZHUANG, Y.; SHEN, H.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; CHEN, B.; XIAO, Z.; DAI, J. Aligned Scaffolds with Biomolecular Gradients for Regenerative Medicine. **Polymers**, Basel, v. 11, n. 341, p. 1-19, 2019.
- LI, X.; MA, X.; FENG, Y.; WANG, L.; WANG, C. A novel composite scaffold consisted of porous titanium and chitosan sponge for load-bearing applications: Fabrication, characterization and cellular activity. **Composites Science and Technology**, New York, v. 117, p. 78-84, 2015.
- LIN, C.; CHEN, Y.; LU, M.; LOU, K.; YU, J. Photo-Crosslinked Keratin/Chitosan Membranes as Potential Wound Dressing Materials. **Polymers**, Basel, v. 10, n. 987, p. 1-14, 2018.
- LOW, W. L.; KENWARD, M. A.; AMIN, M. C. I. M.; MARTIN, C. Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for the Controlled Release of Antimicrobial Essential Oils and Metal Ions for Wound Management Applications. **Medicines**, Basel, v. 3, n. 8, p. 2-22, 2016.
- LU, B.; WANG, T.; LI, Z.; DAI, F.; LV, L.; TANG, F.; YU, K.; LIU, J.; LAN, G. Healing of skin wounds with a chitosan–gelatin sponge loaded with tannins and platelet-rich plasma. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 82, p. 884-891, 2016.
- MAJI, K.; DASGUPTA, S.; PRAMANIK, K.; BISSOYI, A. Preparation and characterization of gelatin-chitosan-nano $\beta$ -TCP based scaffold for orthopaedic application. **Materials Science and Engineering C**, Washington, v. 86, p. 83-94, 2018.
- MARIN, S.; KAYA, M. G. A.; CHICA, M. V.; DINU-PÎRVU, C.; POPA, L.; UDEANU, D. I.; MIHAI, G.; ENACHESCU, M. Collagen-Polyvinyl Alcohol-Indomethacin Biohybrid Matrices as Wound Dressings. **Pharmaceutics**, Washington, v. 10, n. 224, p. 1-16, 2018.

MIRGORODSKAYA, A. B.; KUSHNAZAROVA, R. A.; NIKITINA, A. V.; SEMINA, I. I.; NIZAMEEV, I. R.; KADIROV, M. K.; KHUTORYANSKIY, V. V.; ZAKHAROVA, L. Y.; SINYASHIN, O. G. Polyelectrolyte nanocontainers: Controlled binding and release of indomethacin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 72, p. 982-989, 2018.

NADY, N.; KANDIL, S. H. Novel Blend for Producing Porous Chitosan-Based Films Suitable for Biomedical Applications. **Membranes**, Basel, v. 8, n. 2, p. 1-18, 2018.

NANAKI, S.; TSEKLIMA, M.; CHRISTODOULOU, E.; TRIANTAFYLLIDIS, K.; KOSTOGLU, M.; BIKIARIS, D. N. Thiolated Chitosan Masked Polymeric Microspheres with Incorporated Mesocellular Silica Foam (MCF) for Intranasal Delivery of Paliperidone. **Polymers**, Basel, v. 9, n. 617, p. 1-21, 2017.

OSÓRIO, L. R.; MENEGUIN, A. B.; SILVA, H. B.; BARRETO, H. M.; OSAJIMA, J. A.; FILHO, E. C. S. Evaluation of physico-chemical properties and antimicrobial synergic effect of ceftazidime-modified chitosan. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 134, n. 3, p. 1629-1636, 2018.

OTHMAN, Z.; PASTOR, B. C.; RIJT, S.; HABBOVIC, P. Understanding interactions between biomaterials and biological systems using proteomics. **Biomaterials**, New York, v. 167, p. 191-204, 2018.

PASELA, B. R.; CASTILLO, A. P.; SIMON, R.; PULIDO, M. T.; MANA-AY, H.; ABIQUIBIL, M. R.; MONTECILLO, R.; THUMANU, K.; TUMACDER, D.; TAACA, K. L. Synthesis and Characterization of Acetic Acid-Doped Polyaniline and Polyaniline-Chitosan Composite. **Biomimetics**, New York, v. 4, n. 15, p. 1-16, 2019.

PETCHSOMRIT, A.; SERMKAEW, N.; WIWATTANAPATAPEE, R. Alginate-Based Composite Sponges as Gastroretentive Carriers for Curcumin-Loaded Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems. **Scientia Pharmaceutica**, Wien, v. 85, n. 11, p. 1-16, 2017.

RACINE, L.; COSTA, G.; BAYMA-PECIT, E.; TEXIER, I.; AUZÉLY-VELTY, R. Design of interpenetrating chitosan and poly(ethylene glycol) sponges for potential drug delivery applications. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 170, p. 166-175, 2017.

RAGUSA, A.; PRIORE, P.; GIUDETTI, A. M.; CICCARELLA, G.; GABALLO, A. Neuroprotective Investigation of Chitosan Nanoparticles for Dopamine Delivery. **Applied Sciences**, Basel, v. 8, n. 474, p. 1-10, 2018.

RASEKH, M.; KARAVASILI, C.; SOONG, Y. L.; BOUROPOULOS, N.; MORRIS, M.; ARMITAGE, D.; LI, X.; FATOUROS, D. G.; AHMAD, Z. Electrospun PVP-indomethacin constituents for transdermal dressings and drug delivery devices. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 473, p. 95-104, 2014.

RUDRANGI, S. R. S.; BHOMIA, R.; TRIVEDI, V.; VINE, G. J.; MITCHELL, J. C.; ALEXANDER, B. D.; WICKS, S. R. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of indomethacin and methyl- $\beta$ -cyclodextrin complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 479, p. 381-390, 2015.

- SAHER, O.; GHORAB, D. M.; MURSI, N. M. Levofloxacin hemihydrate ocular semi-sponges for topical treatment of bacterial conjunctivitis: Formulation and in-vitro/in-vivo characterization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 31, p. 22-34, 2016.
- SAPORITO, F.; SANDRI, G.; ROSSI, S.; BONFERONI, M. C.; RIVA, F.; MALAVASI, L.; CAMELLA, C.; FERRARI, F. Freeze dried chitosan acetate dressings with glycosaminoglycans and traxenamic acid. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 184, p. 408-417, 2018.
- SARAVANAN, S.; LEENA, R. S.; SELVAMURUGAN, N. Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 93, p. 1354-1365, 2016.
- SEGHIR, B. B.; BENHAMZA, M. H. Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. **Journal of Food Measurement and Characterization**, Nova Iorque, v. 11, n. 3, p. 1137-1147, 2017.
- SHAKER, D. S.; ISMAIL, S.; HAMED, S.; EL-SHISHTAWY, E. M. Butoconazole nitrate vaginal sponge: Drug release and antifungal efficacy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 48, p. 274-287, 2018.
- SHAO, W.; WU, J.; WANG, S.; HUANG, M.; LIU, X.; ZHANG, R. Construction of silver sulfadiazine loaded chitosan composite sponges as potential wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 157, p. 1963-1970, 2017.
- SILVA, P. C. D.; PORTELA, A. S.; LIMA, R. S. C.; SANTANA, C. P.; MEDEIROS, A. C. D.; SIMÕES, M. O. S. Compatibility study between lipoic acid with polymers used in controlled drug release systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapeste, v. 123, p. 965-971, 2016.
- SUN, W.; CHEN, G.; WANG, F.; QIN, Y.; WANG, Z.; NIE, J.; MA, G. Polyelectrolyte-complex multilayer membrane with gradient porous structure based on natural polymers for wound care. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 181, p. 183-190, 2018.
- TADROS, M. I.; FAHMY, R. H. Controlled-release triple anti-inflammatory therapy based on novel gastroretentive sponges: Characterization and magnetic resonance imaging in healthy volunteers. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 472, p. 27-39, 2014.
- THAKUR, G.; SINGH, A.; SINGH, I. Chitosan-Montmorillonite Polymer Composites: Formulation and Evaluation of Sustained Release Tablets of Aceclofenac. **Scientia Pharmaceutica**, Wien, v. 83, p. 604-617, 2016.
- WANG, C.; LUO, W.; LI, P.; LI, S.; YANG, Z.; HU, Z.; LIU, Y.; AO, N. Preparation and evaluation of chitosan/alginate porous microspheres/Bletilla striata polysaccharide composite hemostatic sponges. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 174, p. 432-442, 2017.
- WELLS, C. M.; BEENKEN, K. E.; SMELTZER, M. S.; COURTNEY, H. S.; JENNINGS, J. A.; HAGGARD, W. O. Ciprofloxacin and Rifampin Dual Antibiotic-Loaded Biopolymer

Chitosan Sponge for Bacterial Inhibition. **Military Medicine**, Oxford, v. 183, p. 433-444, 2018.

XIE, Y.; YI, Z.; WANG, J.; HOU, T.; JIANG, Q. Carboxymethyl konjac glucomannan - crosslinked chitosan sponges for wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 112, p. 1225-1233, 2018.

XU, J.; HU, X.; JIANG, S.; WANG, Y.; PARUNGAO, R.; ZHENG, S.; NIE, Y.; LIU, T.; SONG, K. The Application of Multi-Walled Carbon Nanotubes in Bone Tissue Repair Hybrid Scaffolds and the Effect on Cell Growth In Vitro. **Polymers**, New York, v. 11, n. 230, p. 1-16, 2019b.

XU, N.; WANG, L.; GUAN, J.; TANG, C.; HE, N.; ZHANG, W.; SHIPING, F. Wound healing effects of a *Curcuma zedoaria* polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 117, p. 102-107, 2018.

XU, Q.; JI, Y.; SUN, Q.; FU, Y.; XU, Y.; JIN, L. Fabrication of Cellulose Nanocrystal/Chitosan Hydrogel for Controlled Drug Release. **Nanomaterials**, Basel, v. 9, n. 253, p. 1-13, 2019a.

XUE, C.; WILSON, L. D. A structural study of self-assembled chitosan-based sponge materials. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 206, p. 685-693, 2019.

YAN, T.; CHENG, F.; WEI, X.; HUANG, Y.; HE, J. Biodegradable collagen sponge reinforced with chitosan/calciumpyrophosphate nanoflowers for rapid hemostasis. **Carbohydrate Polymers**, New York, v. 170, p. 271-280, 2017.

ZAFAR, N.; ROBIN, S.; VIENNET, C.; HUMBERT, P.; VALOUR, J. P.; AGUSTI, G.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Sponge like microparticles for drug delivery and cosmeo-textile use: Formulation and human skin penetration. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 532, p. 623-634, 2017.

ZAHEDI, E.; ESMAEILI, A.; ESLAHI, N.; SHOKRGOZAR, M. A.; SIMCHI, A. Fabrication and Characterization of Core-Shell Electrospun Fibrous Mats Containing Medicinal Herbs for Wound Healing and Skin Tissue Engineering. **Marine drugs**, Basel, v. 17, n. 27, p. 1-13, 2019.

ZÁRATE-TRIVIÑO, D. G.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, S. P.; BOLLAIN-Y-GOYTIA-DE-LA-ROSA, J. J.; FRANCO-MOLINA, M. A.; ELIZALDE-PEÑA, E. A.; HERNÁNDEZ-VILLEGAS, M. I.; RANGEL-OCHOA, G. A.; RODRÍGUEZ-PADILLA, C. Development of a Novel Scaffold of Chitosan, Type IV Collagen and Integrin  $\alpha_3\beta_1$  As Alternative Scaffold for Primary Culture of Podocytes. **Applied Sciences**, Basel, v. 8, n. 930, p. 1-13, 2018.

ZHANG, K.; BAI, X.; YUAN, Z.; CAO, X.; JIAO, X.; LI, Y.; QIN, Y.; WEN, Y.; ZHANG, X. Layered nanofiber sponge with an improved capacity for promoting blood coagulation and wound healing. **Biomaterials**, New York, v. 204, p. 70-79, 2019.

ZHONG, Q.; WU, Z.; QUIN, Y.; HU, Z.; LI, S.; YANG, Z.; LI, P. Preparation and Properties of Carboxymethyl Chitosan/Alginate/Tranexamic Acid Composite Films. **Membranes**, Basel, v. 9, n. 11, p. 1-8, 2019.

ZIMOCH-KORZYCKA, A.; KULIG, D.; JARMOLUK, A.; MARYCZ, K.; MATUSZCZAK, W. Study of Enzymatically Treated Alginate/Chitosan Hydrosols in Sponges Formation Process. **Polymers**, New York, v. 8, n. 8, p. 1-13, 2016.

## **AGRADECIMENTOS**

### **A Deus.**

Pelo dom da vida, anjos que colocou em meu caminho, força para me manter de pé quando pensei em desistir e por se fazer onipresente nos detalhes da minha caminhada. Fonte da minha sabedoria, a ti toda honra e glória!

### **Aos meus pais, José Juarez da Silva e Maria de Lourdes Varela da Silva.**

Pela minha formação moral, por acreditarem nas minhas vitórias antes que eu pudesse enxergar, por serem meu refúgio no caos e pelo apoio incondicional. Vocês são minhas referências de vida, meus verdadeiros mestres. Por dedicarem sua vida à mim, serei eternamente grata. Minhas fortalezas, este título também é de vocês!

### **Aos meus irmãos, José Juarez da Silva Júnior e João Gabriel da Silva.**

Por serem incentivadores dos meus sonhos, compreenderem minha ausência, pelo companheirismo que precisou se privar de desejos para que eu continuasse meus estudos e pela felicidade compartilhada com minhas conquistas. À vocês também devo tudo que alcancei, obrigada por tudo!

### **Ao meu noivo, Joaquim Marcelo Vasconcelos Valdevino.**

Pela confiança no meu amor, paciência em me esperar, por me amar nas imperfeições, me mostrar a leveza da vida no caos, ter sido alicerce nos momentos difíceis, me respeitar como mulher e fazer dos meus os seus sonhos. Estar ao seu lado me dá forças para continuar a superar os obstáculos da vida. Amo-te!

**À minha orientadora, Rosemary Sousa Cunha Lima.**

Por me acolher em sua linha de pesquisa, pelas oportunidades que me confiou, pelas orientações, conselhos e amizade.

**Aos membros da banca examinadora, Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno e Lidiane Pinto Correia.**

Pelo suporte científico, contribuições e enriquecimento neste estudo.

**Aos meus companheiros de laboratório, Demis Ferreira de Melo, Wesley Castro da Silva e Davidson Marrony Santos Wanderley.**

Pela oportunidade em trabalhar com vocês, por compreenderem minhas limitações, estarem sempre solícitos para me ajudar e pelo apoio durante toda graduação. Vocês também têm os créditos como parceiros no desenvolvimento deste trabalho em várias etapas. Desejo bênçãos de Deus na vida de todos vocês!

**Às minhas amigas e companheiras de curso e vida, Thamyres Assíria, Raquel Késsia, Maria Luísa, Maria Aline, Mércia Amaro, Carla Sousa, Beatriz Cardoso e Ana Thayse.**

Por estimularem meus sonhos, torcerem pelo meu sucesso, pela amizade, confidências, paciência e carinho que têm por mim. Vocês foram importantes para a realização desta conquista.

**Aos que fizeram parte da melhor turma que já tive: Farmácia 2014.1.**

Por tornarem esses anos mais leves, pela contribuição acadêmica e palavras de conforto nos momentos difíceis. Vocês foram família quando precisei. Que Deus os ajude na construção dos seus sonhos!

**Ao Laboratório de Certificação de Biomateriais (Certbio) da UEPB e UFCG.**

Pela acessibilidade à estrutura e equipamentos para realizar este trabalho. Aos técnicos destes laboratórios, minha gratidão pelos ensinamentos e disponibilidade.

**Aos que passaram por minha vida e deixaram, de alguma maneira, incentivo para conclusão deste ciclo.**

Sem a ajuda de vocês, este trabalho não teria sido possível.

**A todos meus sinceros agradecimentos!**