

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

MYLENA DE ARAÚJO RÉGIS

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA/
DYSPHANIA AMBROSIOIDES (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS LIOFILIZADAS PARA
APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

**PATOS - PB
2018**

MYLENA DE ARAÚJO RÉGIS

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA/
DYSPHANIA AMBROSIOIDES (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS LIOFILIZADAS PARA
APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Professora Dra. Rosana Araújo Rosendo.

**PATOS - PB
2018**

R337d

Régis, Mylena de Araújo.

Desenvolvimento e avaliação de esferas de quitosana/*Dysphania ambrosioides* (L.)Mosyakin & clemants liofilizadas para aplicação como biomaterial / Mylena de Araújo Régis. – Patos, 2018.

56 f. : il. color.

Monografia (Bacharelado em Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018. "Orientação: Profa. Dra. Rosana Araújo Rosendo". Referências.

1. Odontologia - Plantas Mediciniais. 2. Quitosana. 3. Regeneração Óssea. I. Rosendo, Rosana Araújo. II. Título.

CDU 616.314:582.661.15(043)

MYLENA DE ARAÚJO RÉGIS

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA/
DYSPHANIA AMBROSIOIDES (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS LIOFILIZADAS
PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado à Coordenação do Curso de
Odontologia da Universidade Federal de
Campina Grande - UFCG, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Bacharel
em Odontologia

BANCA EXAMINADORA

Rosana Araújo Rosendo

Prof^ª. Dr^ª. Rosana Araújo Rosendo – Orientadora
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Gymenna Maria Tenório Guênes

Prof^ª. Dr^ª. Gymenna Maria Tenório Guênes – 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Isabel Portela Rabello

Prof^ª. Dr^ª. Isabel Portela Rabello – 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

*A Deus, sentido da minha existência.
Ao maior e mais puro amor dessa vida, minha avó Joana Cele
(in memoriam).*

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Por me conceder a graça de acordar todos os dias com forças e saúde para desfrutar o dom da vida que me foi dado por Ele, por não me desamparar nunca, mesmo eu sendo tão pecadora, por não deixar minha Fé abalar mesmo nos momentos mais difíceis. Senhor, só Tua graça me basta e só Tua presença é meu prazer.

À Nossa Senhora,

Por interceder por mim a Seu filho todos os momentos que eu supliquei e por me agraciar com a devoção ao amor da minha mãezinha do céu.

Aos meus pais Myrna e Ricardo,

Por toda educação e amor que me deram desde que eu nasci, por nunca terem deixado me faltar nada, mesmo diante das atribulações, por serem meu alicerce e por estarem sempre de braços abertos me esperando voltar para seus colos. Todo meu amor e gratidão.

Aos meus irmãos José Régis e Nycole,

Por serem os maiores presentes que eu já pude ganhar, nenhuma riqueza se compara ao amor dos meus irmãos, meus companheiros e melhores amigos, meus exemplos de determinação, força, sabedoria, humildade e Fé. Seguiremos unidos até o fim.

Ao meu namorado Rodrigo Rabello,

Por sempre segurar minhas mãos, enxugar minhas lágrimas, dividir sorrisos e compartilhar saudades; por ser meu companheiro, meu amigo, meu ídolo, meu mestre e meu amor.

Aos demais familiares,

Por acreditarem e apoiarem meus sonhos.

Ao CERTBIO,

Por todo ensino a mim oferecido e pela oportunidade da realização desse projeto.

À minha orientadora Profa. Dra. Luanna Abílio Diniz Melquiedes de Medeiros,

Pelo convite e oportunidade de me passar seus ensinamentos acadêmicos e de vida, por ser essa professora admirável e atenciosa e essa mulher de coração gigante e caráter admirável. Toda gratidão do mundo, levarei a senhora sempre em meu coração.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Rosana Araújo Rosendo,

Por me dar a honra de conviver com uma pessoa tão pura que transmite Deus em cada olhar e palavra, por me ajudar com tanto prazer sempre que precisei, minha eterna gratidão e carinho.

À professora e amiga Gymenna Maria Tenório Guênes,

Por ter me indicado para fazer parte desta pesquisa e por ser esse ser humano tão doce e amável que me fez aprender a importância da serenidade, paciência e zelo em tudo que for fazer na vida acadêmica e pessoal. A senhora estará sempre em meu coração.

À Isabel Portela Rabello,

Por ter me alegrado com seu sim ao meu convite de compor minha banca, mesmo em outra cidade, e por ser exemplo para mim de determinação, profissionalismo e paciência.

Aos Professores Dr. Marcus Vinícius Lia Fook e Rossembergue,

Por todo apoio e contribuição dados a essa pesquisa.

À Dayana Kelly Marques de Oliveira e Seu Sérgio,

Pela ajuda insubstituível para realização dessa pesquisa.

Aos demais membros do CERTBIO,

Por estarem sempre dispostos a ajudar, sem vocês nada disso seria possível.

A todos os professores que fizeram parte da minha graduação,

Em especial Elizandra Penha, Camila Machado, Rodrigo Rodrigues, Rodrigo Alves, Fátima Roneiva e Maria Carolina; por dividirem comigo trabalhos, projetos e experiências de vida. Serei eternamente grata e levarei todos em meu coração.

Ao meu querido amigo Damião,

Por estar sempre disposto a me ajudar.

A minha dupla Walter Morais,

Por contribuir diretamente na minha formação acadêmica e na realização dessa pesquisa. Por me amparar sempre que precisei. Palavras me faltam para lhe demonstrar minha gratidão.

Aos meus amigos diários,

Em especial Mirla, Marcela, Natália, Joab, Maria Luiza, Carol Souza, Geisa, Monalisa, Tainá Marques e Alexandra; por serem minha família em Patos.

Aos meus companheiros de pesquisa Ana Beatriz, Alberto e Rafael,

Por todo companheirismo, apoio, união e ajuda. Minha eterna gratidão.

Aos demais,

Que não foram citados, mas que de alguma forma, contribuíram para a realização deste grande sonho. O meu muito obrigado.

Sonhar, viver e todos os dias agradecer!

Minha Vocação é o Amor!
Santa Teresinha

RESUMO

Objetivou-se produzir e avaliar esferas de quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz) liofilizadas para uso como biomaterial. A planta foi coletada e identificada botanicamente e obtido extrato alcoólico bruto de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (EAB). Para produção das esferas de quitosana e quitosana com EAB utilizou-se a técnica de Gelificação Ionotrópica. As esferas foram divididas em três grupos: um grupo de quitosana pura, outro com 5% de EAB e o terceiro com 20% de EAB. Estas foram caracterizadas por Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise do Grau de Intumescimento (GI). A MO evidenciou nas superfícies externa e interna, esferas com limites definidos e com mudança de cor à medida que o percentual do EAB foi aumentado, tornando-se mais escuras. A MEV revelou, em esferas de maior concentração, quando comparado as de menor concentração: uma diminuição no tamanho e aumento da quantidade e da intercomunicação dos poros, além da alteração do formato geométrico tanto das esferas quanto dos seus poros. Na análise do Grau de intumescimento não houve diferenças significativas entre os grupos. Conclui-se que foi possível a produção de esferas de quitosana e quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz), que no grupo com maior percentual de EAB as amostras apresentaram-se mais escuras e com maior quantidade e intercomunicação dos poros e que embora tenha havido o intumescimento, não foi observada diferença significativa entre os grupos.

Palavras-chave: Quitosana. Plantas medicinais. Regeneração óssea.

ABSTRACT

The objective was to produce and evaluate of chitosan spheres/ *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz) to use as biomaterial. Plant specimens were collected, identified botanically and crude alcohol extract (CAE) were obtained. For the production of the chitosan and chitosan spheres with CAE, the Ionotrope Gellification technique was used. The spheres were divided into three groups: one exemple group of pure chitosan; a second exemple group with low CAE concentration and a third exemple group with a higher CAE concentration; and them characterized by Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM) and swelling degree (SD). OM showed on the external and internal surfaces, spheres with defined limits and with color change as the percentage of CAE was increased, becoming darker. The SEM showed, in spheres with higher CAE concentration, in comparison with the ones with low CAE concentration: A decrease in size, increase in the quantity and intercommunication of the pores, and the alteration of the geometric shape of both the spheres and their pores. In the analysis of the swelling degree, there were no significant differences between the groups. Its possible to produce chitosan spheres / *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz) which in the group with the highest percentage of CAE the samples were darker and with higher amounts and intercommunication pores and that although there was swelling, no significant difference was observed between the groups.

Keywords: Chitosan. Medicinal Plants. Bone Regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Espécie vegetal no Horto de Plantas Medicinais do IPeFarmM (A); Excisata depositada no Herbário CSTR (B) (AUTOR, 2017)	38
Figura 2 – Adição do etanol 95% (A) e o vegetal com etanol deixados em repouso (B)	38
Figura 3 – Algodão colocado dentro do percolador para filtragem (A) e Balão volumétrico com líquido verde resultante (B)	39
Figura 4 – Recipiente contendo o extrato (A) e imagem superior do recipiente contendo o extrato (B)	39
Figura 5 – Pesagem da Quitosana (A), Medição de 15 mL do ácido acético glacial 1% (B), e Solução de Quitosana com ácido acético sob agitação mecânica (D)	40
Figura 6 – Conjunto (seringa/agulha/solução) acoplado a bomba de infusão e formação das esferas (A), Esferas de quitosana em repouso na solução de TTP 5% (B), Esferas de quitosana com 5% de EAB em repouso na solução de TTP 5%(C), Esferas de quitosana com 20% de EAB em repouso na solução de TTP 5% (D)	40
Figura 7 – Solução/Esferas de quitosana e soluções/esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB em papel filtro (A), Esferas de quitosana inseridas em tubos Falcon (B), Esferas de quitosana com 5% de EAB inseridas em tubos falcon em visão aproximada (C).	41
Figura 8 – Amostras organizadas em <i>ependorf</i> (A) e identificadas (B)	41
Figura 9 – Imagens das esferas no MO com aumento de 40X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB.....	43
Figura 10 – Imagens das esferas no MO com aumento de 100X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB	43
Figura 11 – Imagens das esferas no MO com aumento de 160X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB	43
Figura 12 – Imagens da superfície interna no MO com aumento de 100X e 160X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB.....	44
Figura 13 – Imagens do MEV com aumento de 50X, 180X,1000X e 2000X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB.....	45

Figura 14 - Gráfico mostrando o nível de intumescimento dos grupos Q0, Q5 e Q20..... 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos grupos formados.....	41
Tabela 2 – Cálculos individuais de cada esfera da amostra e médias obtidas após análises (Q0S- esferas de quitosana secas; Q0I- esferas de quitosana intumescidas; Q5S e Q20S esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB secas; Q5I e Q20I esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB intumescidas)	46

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ANOVA Técnica de Análise de Variância

BSA Albumina de Soro Bovino

CAE Crude Alcohol Extract

CERTBIO Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

CNPQ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CSTR Centro de Saúde e Tecnologia Rural

EAB Extrato Alcolico Bruto

EBH Extrato Bruto Hidroalcolico

EGDE Etileno Glicol Éter Diglicidilico

GI Grau de Intumescimento

IPeFarmM Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos

MEV Microscopia Eletrônica de Varredura

MO Microscopia Ótica

OM Optical Microscopy

PB Paraíba

PBS Phosphate Buffered Saline

PIBIC Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

Q0 Esferas de quitosana

Q20 Esferas de quitosana + 20% do EAB

Q5 Esferas de quitosana + 5% do EAB

SD Swelling Degree

SEM Scanning Electron Microscopy

SUS Sistema Único de Saúde

TPP Tripolifosfato de Sódio

UFMG Universidade Federal de Campina Grande

UFPB Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1 TECIDO ÓSSEO.....	16
2.2 REGENERAÇÃO ÓSSEA E ENXERTOS ÓSSEOS.....	16
2.3 BIOMATERIAIS.....	17
2.4 QUITOSANA.....	19
2.5 ESFERAS DE QUITOSANA.....	21
2.6 PLANTAS MEDICINAIS.....	22
2.7 DYSPHANIA AMBROSIOIDES (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS - MASTRUZ.....	24
REFERÊNCIAS.....	27
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	35
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
ANEXO A.....	51

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais são definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos); com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de origem sintética ou natural, e a utilização dos mesmos na área da saúde vem se tornando cada vez mais comum, sendo estimada uma média de 300 mil em cerca de 10 anos (MORAES, PIRES e BIERHALZ, 2015).

Defeitos com perda de massa óssea frequentemente são reparados com enxertos ósseos autógenos. No entanto, eles apresentam algumas desvantagens, como morbidade da área doadora, reabsorção pós-operatória, contornos irregulares dos enxertos angulares e complicações como dor crônica e lesões vasculares durante o procedimento cirúrgico (PINHEIRO et al., 2008). Diante disto, tem-se buscado biomateriais hábeis para promover esta substituição, evitando o uso de enxertos ou transplantes ósseos (COSTA et al., 2015). Esses biomateriais podem ser de fácil dissolução e absorção, ao mesmo tempo em que permitem e estimulam a formação óssea (WAN et al., 2006; CHEN et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010).

Nesse âmbito, a quitosana, um polissacárido proveniente da desacetilação da quitina, obtida essencialmente da carapaça de caranguejo e camarão apresenta-se como uma possibilidade. Sendo considerada uma macromolécula não tóxica, biocompatível e com comprovadas propriedades anti-inflamatória e cicatrizante (TAVARIA et al., 2009). O interesse por este biopolímero tem aumentado ainda mais pela maior capacidade cicatrizante da quitosana quando comparado à quitina, visto que quanto maior o grau de desacetilação, maior a resistência das feridas à ruptura e mais fibroblastos ativos aparecem no local (MINAGAWA et al., 2007). Nos últimos anos, a quitosana tem sido vastamente utilizada na veiculação de medicamentos, bem como na engenharia de tecidos aplicada à odontologia (TAVARIA et al., 2013).

Os fitoterápicos também têm despertado o interesse da comunidade científica (LAPA et al., 2007), pois quando utilizados em combinação com biomateriais osteoindutores, podem acelerar o processo de formação do tecido ósseo funcionando como um agente potencializador (SOUSA e MIRANDA, 2003). O principal intuito na indicação do uso de fitoterápicos não é substituir os

medicamentos registrados e já comercializados, mas aumentar as opções terapêuticas dos profissionais de saúde; ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos, com mecanismos de ação mais adequados e com indicações terapêuticas complementares às medicações já existentes (LAPA et al., 2007).

Dentre as plantas medicinais estudadas, o mastruz (*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) apresenta propriedades que despertam o interesse na área médica-odontológica; como a capacidade de acelerar o reparo ósseo (PENHA et al., 2017); bem como o efeito anti-inflamatório e cicatrizante nos tecidos pulpar e periodontal, diminuindo a intensidade de polimorfonucleares, o abscesso, a necrose e estimulando o reparo ósseo alveolar (SOUSA, 2010).

Esta planta produz diversos metabólitos secundários responsáveis por suas atividades farmacológicas, tais como compostos fenólicos, catequinas, esteróides, flavonóides, taninos, triterpenóides e óleo essencial, sendo considerados os princípios ativos responsáveis por suas propriedades terapêuticas (MARINS et al., 2011). Sendo assim, este trabalho objetivou desenvolver e avaliar esferas de quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants liofilizadas para aplicação como biomaterial, com ênfase na regeneração óssea.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é o principal constituinte do esqueleto humano, o qual serve de suporte para os tecidos moles e protege os órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. O mesmo ainda abriga a medula óssea, formadora das células do sangue (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Do ponto de vista histológico, o tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, innervado e vascularizado, constituído por células e uma matriz extracelular calcificada. Está estruturado em lâminas e a disposição destas lâminas é que determina se o osso é compacto (cortical) ou esponjoso (MORAES JÚNIOR, 2002).

O tecido ósseo se modifica ao longo da vida do indivíduo e possui uma capacidade peculiar de remodelação e reparação sem a presença de cicatrizes, porém em algumas situações devido à extensão do defeito causado, o tecido ósseo não se regenera por completo (LUDWING, KOWALSKI e BODEN, 2000).

2.2 REGENERAÇÃO ÓSSEA E ENXERTOS ÓSSEOS

O tecido ósseo apresenta resistência às pressões e dureza, atribuídas à presença da hidroxiapatita e, ao mesmo tempo, plasticidade conferida pelas fibras colágenas do tipo I. Por essas características, o mesmo remodela-se de forma contínua, de acordo com as demandas funcionais a que está submetido (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017), porém, esse potencial regenerativo é limitado.

Um situação clínica pouco favorável ocorre com frequência no caso da exodontia, isto é, a remoção do elemento dentário do alvéolo, a qual resulta em perda de osso alveolar em decorrência da atrofia do rebordo edêntulo (CARVALHO e VASCONCELLOS, 2000), nesse caso ocorre o desencadeamento de um processo fisiológico de reabsorção de forma progressiva e cumulativa, influenciando negativamente nas funções do sistema

estomatognático e a estética do paciente e a vida social dos mesmos (CALASANS-MAIA, FERNANDES e GRANJEIRO, 2008).

A perda do osso alveolar pós exodontia, chamada de reabsorção do rebordo residual, ocorre logo após a remoção do dente e continua durante toda a vida do paciente. Essa atrofia pode ser um fator limitante à reabilitação com implantes dentários, pois é necessário um volume ósseo suficiente em largura, espessura e altura para instalação e osseointegração dos implantes dentários, sendo em muitos casos indicado a utilização de enxertos, a fim de viabilizar o tratamento (JUNG et al., 2003).

As técnicas para regeneração óssea incluem tanto a utilização de enxertos de origem animal ou humana, como de materiais sintéticos (polímeros e cerâmicas principalmente) na forma de cimentos, grânulos ou estruturas tridimensionais (TORO, 2005).

Os princípios biológicos propostos por Bränemark para reabilitação recomenda aguardar de seis a doze meses após as exodontias para a completa cicatrização do osso alveolar antes da instalação de implantes, esta espera corresponde ao período de completa calcificação do alvéolo para receber um implante. Além disto, o protocolo recomenda um período entre três a seis meses com o implante sem contato com a cavidade bucal, para que então a gengiva seja novamente incisada e a reabilitação protética seja iniciada (UGO et al., 2014).

Em alguns pacientes, esse tempo de espera para que ocorra osteointegração e a necessidade de longos períodos de uso de provisórios removíveis pode causar problemas psicológicos, sociais, fonéticos e/ou funcionais, sendo imprescindível a realização de uma restauração provisória na mesma consulta ou logo em seguida à instalação do implante (MISCH et al., 2004).

Por isso se buscam materiais e técnicas que possam reduzir o tempo de espera para a conclusão de uma reabilitação protética sobre implantes (JAVED e ROMANOS, 2010).

2.3 BIOMATERIAIS

Uma das definições estabelece que os Biomateriais são “materiais utilizados em dispositivos médicos ou em contato com sistemas biológicos” (RATNER, 2004), enquanto que na definição clássica, biomaterial é considerado “parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (HELMUS e TWEDEN, 1995). Um biomaterial deve apresentar um comportamento mecânico adequado, possuir o mínimo de reação com o organismo e ser biocompatível (WIDU et al., 1999).

No dia-a-dia clínico, os biomateriais utilizados induzem diferentes respostas do tecido e, em função do tipo de interface desenvolvida entre o tecido e o implante, podem ser classificados em: Bioinertes, Bioativos, Bioabsorvíveis e Biodegradáveis (HENCH e WILSON, 1993).

Os biomateriais Bioinertes são bem tolerados pelo organismo, praticamente sem liberação de nenhum tipo de componente e não causam reação. Esses materiais tendem a ser envolvidos por uma cápsula fibrosa que o isolam do meio biológico (HENCH e WILSON, 1993).

Já os Bioativos são os materiais que favorecem a ligação química entre o material implantado e o tecido ósseo (osseointegração), sem a presença de invólucros fibrosos. Em função da similaridade química entre tais materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo a osteocondução através de recobrimento por células ósseas. Os materiais bioativos podem ainda ser classificados em osteoindutores, que promovem resposta intracelular e extracelular na interface, e osteocondutores, que promovem uma superfície biocompatível favorecendo o desenvolvimento das células ósseas (HENCH e WILSON, 1993).

Os Bioabsorvíveis são os biomateriais fagocitados pelo organismo após certo período de contato com o tecido. Estes materiais possuem papel fundamental em algumas aplicações clínicas, pois são desnecessárias novas intervenções cirúrgicas para a retirada de material implantado (HENCH e WILSON, 1993).

E finalmente os materiais Biodegradáveis são aqueles degradados pelo organismo durante um período de tempo, e cujos produtos da degradação não são tóxicos (HENCH e WILSON, 1993).

Todas as classes de materiais, isto é; metais, cerâmicas, polímeros e compósitos são comumente utilizados em cirurgias reconstrutivas de órgãos ou tecidos danificados (VOLKMER, BREUER e SANTOS, 2006). Dentre os poliméricos, alguns estudos relataram que a quitosana, um polímero de origem natural tem sido muito estudado devido as suas propriedades de favorecer neoformação óssea por estimular a liberação de citocinas, favorecendo a angiogênese e osteogênese (MUZZARELI et al., 1994; UENO et al., 2001; WANG et al., 2002; GORZELANNY et al., 2010).

2.4 QUITOSANA

A quitosana é um polissacarídeo derivado da quitina, sendo esta última o segundo biopolímero mais abundante na natureza, sendo o primeiro a celulose. A quitina pode ser encontrada nas carapaças dos crustáceos, nos exoesqueletos dos insetos e nas paredes celulares de fungos (TORRES et al., 2005). Para que possa ser produzida em escala industrial, a quitosana é obtida através da desacetilação alcalina da quitina (THARANATHAN e KITTUR, 2003).

Durante a desacetilação alcalina da quitina para obtenção da quitosana, observa-se a transformação parcial dos grupos acetamidos (NHCOCH_3) em grupos aminos (NH_2). Essa transformação faz com que a quitosana apresente características interessantes como, por exemplo, melhor solubilidade e maior reatividade (CAMPANA FILHO et al., 2007).

Evans e Kent (1962) observaram que a quitosana, devido a sua estrutura policatiônica diametralmente oposta, quanto à carga elétrica, a das estruturas celulares que apresentam a superfície aniônica, proporcionava a capacidade de se ligar a um grande número de células de mamíferos, representando os primeiros indícios de sua possível aplicabilidade na área da saúde.

A quitosana possui grande aplicabilidade no campo da engenharia biomédica e de biomateriais, por ser um material biocompatível, atóxico e biodegradável (GE et al., 2004; AZEVEDO, 2007; FRAGA et al., 2011), como também devido a sua habilidade em acelerar a cicatrização de lesões cutâneas (JAYAKUMAR et al., 2011). Alguns estudos indicam também propriedades antimicrobianas (DEVLIEGHERE, VERMEULEN, DEBEVERE, 2004; WANG et al., 2004; JAYAKUMAR et al., 2011) e seus metabólitos residuais também são

atóxicos tornando-a um material de grande potencial de aplicação na área médica-farmacêutica (HIRANO, 1996).

Estudos realizados apontam que a quitosana tem também a capacidade de favorecer neoformação óssea. Segundo Pogorelov, Sikora e Bumeyster (2011), o compósito quitosana/hidroxiapatita, implantados na tíbia de ratos, apresentou boas propriedades de osteocondução e ainda apresentou a propriedade de biodegradação praticamente completa. Tais autores sugeriram que a substituição completa do implante de quitosana-hidroxiapatita porosa por tecido ósseo recém-formado no interior da falha óssea em ratos ocorre até 24 dias de implantação.

Borah, Scott e Wortham (1992) foram os primeiros a descrever o potencial da quitosana em promover osteogênese em defeitos ósseos de coelhos e, nesse estudo, todos os defeitos foram preenchidos por tecido ósseo regenerado, reforçando o interesse da comunidade científica pela aplicabilidade da quitosana como biomaterial na regeneração óssea. A partir de então, muitos trabalhos passaram a avaliar o seu potencial osteocondutor e osteoindutor.

Em um estudo realizado por Azevedo et al. (2013) foi avaliado o processo de regeneração óssea em coelhos utilizando hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea. Foi possível observar por meio de avaliação histológica descritiva e comparativa que nos grupos nos quais se utilizou a quitosana associada ou não à medula óssea, em ambos os momentos estudados, isto é 30 e 60 dias, houve maior deposição de tecido ósseo, bem como reações celulares mais evidentes que nos grupos comparados. Concluindo-se dessa forma que a quitosana acelerou e maximizou o reparo ósseo, atuando como um biomaterial osteoindutor.

Jung et al. (2007) avaliaram *in vivo* o efeito do tratamento de membranas de quitosana sobre o processo de regeneração óssea em defeitos criados em calvária de rato. Foi observado que no grupo controle, preenchido apenas com coágulo sanguíneo, ocorreu uma pequena formação de tecido conjuntivo e pouca neoformação óssea reparativa nas margens do defeito. Enquanto que nos grupos que tiveram a inserção da quitosana, no período de 2 semanas, foi encontrado um número residual de fibras envolvido por tecido conjuntivo e no grupo avaliado após 8 semanas; já havia osso em estágio de maturação. Esses

resultados, também comprovaram que a quitosana, colaborou para a formação de tecido ósseo.

Esse efeito pode ser explicado pelas características da quitosana, que é um polissacarídeo catiônico que apresenta estrutura semelhante aos glicosaminoglicanos, os quais são os principais componentes da matriz extracelular de ossos e cartilagens. Outra explicação para tal resultado é o fato da quitosana atuar atraindo íons cálcio, favorecendo assim, o processo de cicatrização óssea (KHOR e LIM, 2003). A quitosana tem ainda a capacidade de ativar os macrófagos, que liberam fatores de crescimento, promovendo a cicatrização dos tecidos (UENO et al., 2001; GORZELANNY et al., 2010).

A quitosana apresenta ainda vantagens para a formação de sistemas de liberação de fármacos, tais como, a habilidade de controlar a liberação dos agentes ativos e dispensar o uso de solventes orgânicos durante a síntese de partículas, devido à sua solubilidade em meio aquoso ácido (DASH et al., 2011).

Pesquisadores utilizam a quitosana, com diferentes apresentações, associada a outras substâncias; como fatores de crescimento, fitoterápicos ou associado a outros biomateriais, na tentativa de agrupar as vantagens isoladas de cada um, resultando em um biomaterial com propriedades desejadas, favorecendo a aplicação clínica do mesmo (GE et al., 2004; AZEVEDO et al., 2013).

2.5 ESFERAS DE QUITOSANA

A seleção e desenho-de-produto de um polímero são tarefas bastante complexas, devido à diversidade própria das estruturas e necessidade do completo entendimento da superfície e propriedades do polímero que podem fornecer as funções químicas, interfacial, mecânica e biológica desejadas (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001).

Dentre essas diversas apresentações, destacam-se as micropartículas de sistemas matriciais poliméricos (SUAVE et al., 2006). Essas micropartículas são subdivididas em esferas e cápsulas, de acordo com sua estrutura. São consideradas esferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica na qual a substância ativa se encontra distribuída. Enquanto que são consideradas cápsulas, as partículas formadas por um núcleo contendo o agente

ativo recoberto por uma camada de polímero de espessura variável (BATYCKY et al., 1997).

Ma e Liu (2010) fabricaram esferas de quitosana pelo método da gelificação ionotrópica, para tanto, fizeram a quitosana fluir por uma agulha formando gotículas, as quais eram recebidas em uma solução de coagulação onde as esferas eram formadas. Os mesmos usaram o TPP como agente de coagulação, por considerarem que outros agentes de coagulação comumente usados; como o glutaraldeído e o etileno glicol éter diglicídico (EGDE), apresentam toxicidade fisiológica, já o TPP é um agente de ligação cruzada não tóxico.

As moléculas de TPP carregadas negativamente podem reagir com os grupos amino positivos da quitosana, resultando na formação das esferas. Os autores consideram essa técnica simples e de fácil operação.

2.6 PLANTAS MEDICINAIS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define plantas medicinais como sendo as espécies vegetais que possuem em um de seus órgãos, ou em toda a planta, substâncias que se administradas ao ser humano ou a animais, por qualquer via e sob qualquer forma, exercem algum tipo de ação farmacológica (OMS, 2003).

O Brasil possui uma flora bastante diversificada e com grande potencial para exploração de plantas medicinais, entretanto, apesar do interesse crescente da sociedade e da comunidade científica pelo assunto, as pesquisas desenvolvidas ainda são insuficientes para preencher as lacunas deixadas pela utilização popular de tais substâncias. Sendo assim, a maior parte das plantas medicinais nativas continua sendo empregada da mesma forma tradicional e apenas baseada na experiência de uso, sendo raros os exemplos de produtos registrados do Brasil contendo plantas (ALMEIDA, 2003).

No entanto, é importante a informação de que uma planta tem sido usada por um determinado grupo por um longo período de tempo, pois isso pode sugerir a existência de uma droga potencialmente adequada (MACIEL et al., 2007a). Sendo assim, é fundamental a identificação da planta, seu registro fotográfico e catalogação em laboratório, bem como testes biológicos específicos para

avaliação precisa do uso terapêutico da espécie vegetal em questão (ALBUQUERQUE e HANAZARI, 2006; MACIEL et al., 2007a).

Na Odontologia, pesquisas com plantas medicinais são ainda mais recentes, destacando-se os estudos com substâncias fitoderivadas que tem estimulado a avaliação de diferentes produtos vegetais com possíveis propriedades terapêuticas (BORBA et al., 2008; SOUSA, 2010; MATOS, 2011; SOUZA, OLIVEIRA e NICOLETE, 2011).

O principal intuito na indicação do uso de fitoterápicos não é substituir os medicamentos registrados e já comercializados, mas aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos, com mecanismos de ação mais adequados e com indicações terapêuticas complementares às medicações já existentes (LAPA et al., 2007).

O modo de utilização desses produtos é muito variado, podendo ser empregado em aplicações internas ou externas. As internas podem ser: chás, sucos, xaropes, tinturas (extração de ervas com solução alcoólica ou hidroalcoólica) ou em forma também de extrato (preparação concentrada). As aplicações externas podem ser: na forma de cataplasma (erva pulverizada ou macerada), unguento (similar a cataplasma, porém utiliza solventes com consistência mais pastosa), óleos (dissolução simples da tintura em um óleo fixo, azeite, girassol, algodão), pomadas, pasta, creme, loções, sabões e gel (ALBUQUERQUE e HAMAZAZI, 2006).

Os metabólitos secundários podem ser classificados em três classes: 1) compostos fenólicos, como os flavonóides, polifenóis, antocianinas, taninos e lignina; 2) terpenos, como óleos essenciais, piretróides, giberelinas, carotenóides, lactonas e saponinas; e 3) alcalóides, com várias substâncias com efeito sobre o sistema nervoso, como nicotina, cafeína, cocaína, atropina, morfina e codeína (PERES, 2004).

Esses produtos do metabolismo secundário ainda não possuem, completamente descritas suas funções para a própria planta, mas se sabe que está associada à defesa da mesma contra herbívoros, ataque de patógenos, radiação solar e ainda na atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes (MONTANARI, 2002).

Dessa forma, o crescente interesse mundial pelo uso de plantas medicinais vem incentivando pesquisadores de várias áreas a desenvolverem projetos multidisciplinares envolvendo, plantas medicinais dentre estas, a *Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants - Mastruz (LEAL, 2008).

2.7 DYSPHANIA AMBROSIOIDES L. MOSYAKIN & CLEMANTS – MASTRUZ

Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants é descrita botanicamente como uma planta herbácea de até 1 m de altura, ramificada, caule sulcado, geralmente glabro, e folhas simples de filotaxia alterna. Esta planta possui uma ampla distribuição pelo mundo e a Organização Mundial da Saúde elenca a mesma como sendo uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro (LORENZI e MATOS, 2002).

Estudos demonstram que a espécie possui atividades moluscicida (HMAMOUCI et al., 2000), fungicida (DELESPAUL et al., 2000), antibacteriana (TÔRRES et al., 2005; BRITO, CARVALHO e ALBUQUERQUE, 2007), antineoplásica (NASCIMENTO et al., 2006), cicatrizantes (BRITO, CARVALHO e ALBUQUERQUE, 2007; MATOS, 2011), antihelmínticas (ALMEIDA et al., 2007; BRITO, CARVALHO e ALBUQUERQUE, 2007), antiedematogênica (GRASSI, 2011).

No Brasil, o *Chenopodium ambrosioides* L, atualmente chamado de *Dysphania ambrosioides* (L.), possui vários nomes populares: Ambrósia, Quenopódio, Erva-de-Santa Maria, Erva-Pomba-Rola, Erva-Formigueira, Chádo-México, Mastruço, Mastruz, Erva-Matapulga e Uzaidela (DI STASI et al., 1989; LIMA, MAGALHÃES e SANTOS, 2011).

Esta planta produz diversos metabólitos secundários responsáveis por suas atividades farmacológicas, tais como compostos fenólicos, catequinas, esteróides, flavonóides, taninos, triterpenóides e óleo essencial, sendo considerados os princípios ativos responsáveis por suas propriedades terapêuticas (MARINS et al., 2011).

Um estudo com o extrato de acetato de etila das folhas frescas de *C. ambrosioides* L, obteve os flavonóides campferol e um até então desconhecido, o qual foi nomeado ambroside (ARISAWA et al., 1971). Campferol é um

flavonóide antioxidante com conhecida ação na saúde óssea (PANG et al., 2006).

No Nordeste do Brasil, onde são largamente utilizadas, as folhas do mastruz são batidas no liquidificador com leite para tratamentos de gripe e fraturas ósseas. As folhas também são utilizadas, amarradas no local fraturado com a intenção de agilizar o reparo ósseo (MORAIS et al., 2005).

Estudo realizado por Sousa (2010) sugere que o extrato de mastruz é favorável ao processo de reparo de dentes de ratos reimplantados, quando comparado ao extrato de Aroeira (*Schinus Terebinthifolius* Raddi) e ao soro fisiológico. Uma vez que o extrato do mastruz apresentou efeitos antiinflamatório e cicatrizante nos tecidos pulpar e periodontal, pois foi capaz de reduzir os polimorfonucleares (PMNs), abscesso e necrose no ligamento periodontal, além de estimular o reparo ósseo alveolar por meio da proliferação fibroblástica e induzir a osteogênese do osso alveolar.

Em outro estudo cujo objetivo foi avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico do mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no processo de reparo ósseo de ratos, comparando-o com a esponja de fibrina e coágulo sanguíneo, concluiu-se que a regeneração óssea ocorreu de forma mais acelerada no grupo em que foi utilizado o extrato de mastruz, já que foi o único que apresentou osso neoformado fechando as feridas ósseas em todas as amostras do seu grupo (PENHA, 2017).

Pinheiro Neto et al. (2015), avaliaram em coelhos, o efeito do cataplasma de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* (L.)) aplicado diretamente no defeito ósseo, comparando-o com o diclofenaco de sódio e o soro fisiológico. A evolução da reparação óssea foi verificada após 30 e 45 dias por meio da análise histológica. Essa análise revelou aos 30 dias uma maior formação de tecido ósseo maduro no grupo do cataplasma do mastruz comparado aos demais grupos. Por tanto, concluíram que o *Chenopodium ambrosioides* é um agente terapêutico promissor para regeneração óssea.

Silva et al. (2006), avaliaram o perfil da utilização e da prescrição de fitoterápicos no município de Maracanaú (CE) por meio de um levantamento no Programa Farmácias Vivas do Sistema Público de Saúde (SUS). Constataram que o laboratório de manipulação produz 15 especialidades fitoterápicas e que o gel de mastruz a 10%, produzido a partir das folhas da planta, é empregado como

anti-inflamatório tópico usado, por meio de massagem da região afetada, para tombos e luxações.

Outros estudos avaliados, como Pereira (2009) concluíram que a dose terapêutica de 5mg/Kg do EBH de *Chenopodium ambrosioides* não promove toxicidade, e ainda apresenta efeito antiinflamatório tanto para inflamação aguda como crônica, sendo assim um fitoterápico com efeitos satisfatórios quando utilizado na dosagem correta.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; HAMAZAZI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brasil, v. 16, p. 678-689, 2006.

ALMEIDA, M. A. O. DE; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, G. N.; SIMAS, M. M. DOS S.; BOTURA, M. B.; CRUZ, A. C. F. G. DA; SILVA, A. V. A. F. DA; MENEZES, T. P.; BATATINHA, M. J. M. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita* L. e de *Chenopodium ambrosioides* L. sobre cultivos de larvas infectantes de neumatóides gastrintestinais de caprinos. **Rev. Bras. Parasit. Vet.** v. 16, n. 1, p. 57-59, 2007.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 2ª edição. Editora EDUFBA, p.3139,147,181. 2003.

ARISAWA, M.; MINABE, N.; SAEKI, R.; TAKAKUWA, T.; NAKAOKI, T. Studies on unutilized resources. V. Components of the flavonoids in *Chenopodium* genus plants. 1. Flavonoids of *Chenopodium ambrosioides*. **Yakugaku Zasshi**, v. 91, n. 5, p. 522-524, 1971.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK M. V. L.; COSTA; A. C. F. M. Quitina e Quitosana: Aplicações como Biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Brasil, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

AZEVEDO, A. S.; SÁ, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; NÓBREGA NETO P. I.; SOUSA, O. B.; AZEVEDO, S. S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos: Estudo histológico e morfométrico. **Ciência Rural**, Brasil, v.43, n.7, p.1265-1270, 2013.

BATYCKY, R. P.; HANES, J.; LANGER, R. E.; EDWARDS, D. A. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 86, n. 1, p. 464- 477, 1997.

BORAH, G.; SCOTT, B.; WORTHAM K. Bone induction by chitosan in endochondral bonés of extremities In: BRINE, C. J., SANDFORD, P. A., ZIKAKIS, J.P. **Advances in chitin and chitosan**: Elsevier, p. 206-215,1992.

BORBA, A. M.; MACEDO, M.; WALTER, L. R. F. Odontologia alternativa com plantas medicinais na Chapada dos Guimarães - Mato Grosso - Brasil. **Rsbo**, v. 5, n. 1, p. 43-49, 2008.

BRITO, M. V. H.; CARVALHO, D. S.; ALBUQUERQUE, A. M. M. Efeito do extrato de mastruz em culturas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Paraense De Medicina**, Pará, v. 21, n. 1, p. 21-25, 2007.

- CALASANS-MAIA, M. D.; FERNANDES, G. V. O.; GRANJEIRO, J. M. Preservação alveolar com enxertos após exodontias e previamente à instalação de implantes. **Implant News**, v. 5, n. 6, p. 583-590, 2008.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, C.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.
- CARVALHO, P. S. P.; VASCONCELLOS, L. W.; PI, J. Influence of bed preparation on the incorporation of autogenous bone grafts: a study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Impl.** v. 15, n. 4, p. 565-570, 2000.
- CHEN, K-Y. et al. Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite. **Biomaterials**, v. 30, n. 9, p. 1682-1688, 2009.
- COSTA, B. D. et al. Neoformação e acesso a osteointegração por meio de biomateriais micro e nanoestruturados em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, p. 177-187, 2015.
- DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITEB, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981-1014, 2011.
- DELESPAUL, Q.; BILLERBECK, V. G.; ROQUES, C. G.; MICHEL, G.; MARQUIER-VINUALES, C.; BESSSIÈRE, J. M. The antifungal activity of oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, v.12, n. 2, p. 256-266, 2000.
- DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v. 21, n. 6, p. 703-714, 2004.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Plantas medicinais da Amazônia e na Mata Atlântica. **Revista e ampliada**. São Paulo, v. 2, 2003.
- EVANS, E., KENT, S. P. The use of basic polysaccharides in histochemistry and cytochemistry: precipitation and agglutination of biological materials by *aspergillus* polysaccharide and deacetylated chitin. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 10, p. 24-28, 1962.
- FRAGA A. F.; ALMEIDA FILHO E.; RIGO E. C. D.; BOSCHI A. O. Synthesis of chitosan/hydroxyapatite membranes coated with hydroxycarbonate apatite for guided tissue regeneration purposes. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 9, p. 3888-3892, 2011.
- GE, Z.; BAQUENARDS, S.; LIM, L. Y.; WEE, A.; KHOR, E. Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. **Biomaterials**, v. 25, n. 6, p.1049-1058, 2004. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br/ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3>>.

Acesso em: 12 maio 2016.

GORZELANNY, C.; POPPLELMANN, B.; PAPPLELBAUM, K.; MOERSCHBACHE, B. M.; SCHNEIDER, S. N. Human macrophage activation triggered by chitotriosidase-mediated chitin and chitosan degradation. **Biomaterials**, v. 31, p. 8556-8563, 2010. Disponível em: <http://link.periodicos.capes.gov.br/ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3?url_ver=Z39.88-2004>. Acesso em: 12 jan. 2016.

GRASSI, L. T. *Chenopodium ambrosioides* L. Erva de Santa Maria (amaranthaceae): estudo do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante. 2011. 147 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2011.

HELMUS, M. N.; TWEDEN K. "Materials Selection", In: **Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering**, Part A, v.1, p.27-59, 1995.

HENCH, L. L. e WILSON, J. Bioactive Glasses. An Introduction to Bioceramics, **World Scientific**, Singapore, Cap.3, p.41-62, 1993.

HIRANO, S. Biotechnology. **Annual Research**, v. 2, 237-258, 1996.

HMAMOUCHE, M.; LAHLOU, M.; AGOUMI. A. Molluscicidal activity of some Moroccan medicinal plants. **Fitoterapia**, v.71, p.308-14, 2000. JAVED, F.; ROMANOS G. E. The role of primary stability for success ful immediate loading of dental implants. A literature review. **Journal of dentistry**, v.38, n. 8, p. 612-620, 2010.

JAYAKUMAR, R.; RAMACHANDRAN, R.; P.T. KUMAR, S.; DIVYARANI, V. V.; SRINIVASAN, S.; CHENNAZHI, K. P.; TAMURA, H.; NAIR, S. V. Fabrication of chitin-chitosan/nano ZrO₂ composite scaffolds for tissue engineering applications. **Int J Biol Macromol**, v. 49, n. 3, p. 274-280, 2011.

JUNG, U. W.; SONG, K. Y., KIM, C. S.; LEE, Y. K.; CHO, K. S.; KIM, C. K.; CHOI, S. H. Effects of chitosan membrane coated with polylactic and polyglycolic acid on bone regeneration in rat calvarial defect. **Biomed. Mater.** v. 2. p. S101-S105, 2007.

JUNG, Y. S.; KIM, H. J.; CHOI, S. W.; KANG, J. W.; CHA, I. H. Regional thickness of parietal bone in Korean adults. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v. 32; n. 6, p. 638-641, 2003.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 13^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, 556p.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 24, p. 2339-2349, 2003. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br/ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3?urlver=Z39.88-2004>>. Acesso em: 14 ago. 2011. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00026-7.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; NOGUEIRA, T. C. M. L. 2003. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. (org.) **Farmacognosia: da Planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis, p.247-262, 2007.

LEAL, J. S. Estudo etnofarmacológico das espécies medicinais *Cleome spinosa*, *Pavonia varians* e *Croton cajucara*. 2008. 130 f. **Tese** (Doutorado em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

LIMA, A. L.; MAGALHÃES, S.A.; SANTOS, M.R.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas na cidade de Vilhena, Rondônia. **Revista Pesquisa & Criação**, v.10, p.165-179, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LUDWIG, S. C., KOWALSKI, J. M.; BODEN, S. D. Osteoinductive bone graft substitutes. **Eur Spine J.**, v. 9, n. 1, p.119-25, 2000.

MA, L.; LIU, C. Colloids and Surfaces: **Biointerfaces**, v.75, n.448, 2010.

MACIEL, M. A. M.; MARTINS, J. R.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R.; ESTEVESOUZA, A.; ECHEVARRIA, A. Natural and semi-synthetic clerodanes of *Croton cajucara* and their cytotoxic effects against Ehrlich carcinoma and human k562 leukemia cells. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 2, p. 391-396, 2007a.

MARINS, A. K.; VIEIRA, D. F.; QUADROS, I. P. S.; PINHEIRO, P. F.; QUEIROZ, V. T.; COSTA, A. V. Prospecção fitoquímica das partes aéreas da Erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). In: **Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**, Alegre, Espírito Santo, v. 15, p.1-5, 2011.

MATOS, J. A. L. **Potencial biológico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Erva - de - Santa - Maria)**. 2011. Dissertação (mestrado) - Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.

MINAGAWA, T.; OKAMURA, Y.; SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S.; OKAMOTO, Y. Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing. **Carbohydrate Polymers**, 2007; Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.007>>. Acesso em 10 de fev. De 2017

MISCH, C. E. et al. Rationale for the application of immediate load in implant dentistry: Part I. **Implant Dentistry**, Baltimore, Maryland, v. 13, n. 3, p. 207-217, Sep. 2004.

MONTANARI JR., I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. 2002. Disponível no site:

<<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/index.html>> Acesso em 28 de Fevereiro de 2015.

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

MORAES JÚNIOR, E. F. Enxerto autógeno para aumento em espessura e ou altura do processo ósseo alveolar, transtornos de técnica cirúrgica, complicações e sobrevivência dos implantes. 2002. 136 f. **Tese** (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de Aracatuba, 2002.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.15, n.2, p.169-177, 2005.

MUZZARELI, R. A. A.; MATTIOLI-BELMONTE, M.; TIETZ, C.; BIAGINI, R.; FERIOLI, G.; BRUNELI, M. A.; FINI, M.; GIARDINO, R.; ILARI, P.; BIAGINI, G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. **Biomaterials**, v. 15, p. 1075-1081, 1994. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br/ez15>>.

NASCIMENTO, F. R.; CRUZ, G. V.; PEREIRA, P. V.; MACIEL, M. C.; SILVA, L. A.; AZEVEDO, A. P.; BARROQUEIRO, E. S.; GUERRA R. N. Ascitic and solid Ehrlich tumor inhibition by *Chenopodium ambrosioides* L. treatment. **Life Sciences**, v. 78, n. 22, p. 2650-2653, 2006.

OLIVEIRA, L. S.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, s. 1, p. 37-44, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales, Ginebra, 2003.

PANG, J. L.; RICUPERO, D. A.; HUANG, S.; DHIRENDRA, N. F.; SINGH P.; ROMERO, J. R.; CHATTOPADHYAY, N. Differential activity of kaempferol and quercetin in attenuating tumor necrosis factor receptor family signaling in bone cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 71, 2006.

PENHA, E. S.; LACERDA, S. R.; CARVALHO, M. G. F.; OLIVEIRA, P. T. **Effect of *Chenopodium ambrosioides* on the healing process of the in vivo bone tissue**. *Microsc Res Tech*. v. 0, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jemt.22913> . Acesso em: 10 de outubro de 2017.

PEREIRA, W. S. *Chenopodium ambrosioides* L. Avaliação toxicológica e ação na resposta inflamatória. 2009. 93 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2009.

PERES, L.E.P. Metabolismo secundário. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, p.1-26. 2004. Disponível em: <http://docentes.esalq.usp.br/lazaropp/FisioVegGrad Bio/MetSec.pdf>. Acesso em: 26 de outubro de 2010.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery, **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, p. 447-451, 2001.

PINHEIRO NETO, V. F.; RIBEIRO, R. M.; MORAIS, C. S.; VIEIRA, D. A.; GUERRA, P. C.; ABREU-SILVA, A. L.; SILVA-JÚNIOR, J. R.; BORGES, M. O. R.; BORGES, A. C. R. *Chenopodium ambrosioides* in the repair of fractures in rabbits. **International Journal of Pharmacology**, v. 11, n. 7, p. 732-737, 2015.

PINHEIRO, T. C. et al. Implantes de hidroxiapatita em falhas reduzidas no fêmur em ratos submetidos ao tabagismo passivo. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 43, p. 433-441, 2008.

POGORELOV M. V.; SIKORA V.Z.; BUMEYSTER V.I. In-vivo tests of new chitosan–hydroxyapatite composite biomaterials. **Bone**, v. 48, n.2, p.167, 2011.

RATNER, B. D. A history of Biomaterials. In: Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., Lemos J. E. (Eds), **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**, 2 ed., 2004.

SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F. S.; SOUSA, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 455-462, 2006.

SOUSA, J. A.; MIRANDA, E. M. Plantas medicinais e fitoterápicos: alternativas viáveis. Acre, 18 dez. 2003. Disponível em: <<http://www.cpaufac.embrapa.br>>. Acesso em 28 de janeiro de 2016.

SOUSA, J. N. L. Ação da aroeira (*schinus terebinthifolius raddi*) e do mastruz (*chenopodium ambrosioides l*) no processo de reparo de dentes de ratos reimplantados. 2010. 131 f. **Dissertação** (Mestrado em Odontologia). Universidade Potiguar. Natal, 2010.

SOUZA, W. F. M.; OLIVEIRA, J. F. F.; NICOLETE, R. Plantas Mediciniais com potencial atividade anti-inflamatória utilizadas pela população: um guia prático e ilustrativo. **Florence em Revista.**, v. 1, n. 1, p. 1-23, 2011.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal**, v. 7, p.12-20, 2006.

TAVARIA, F. K.; COSTA E.M.; PINA-VAZ, I.; CARVALHO, M. F.; PINTADO, M. M. A. quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira de engenharia Biomédica**, v. 29, n. 1, p. 110-120, 2013.

- TAVARIA, F. K.; JORGE, M.; MARCHETTI, G.; SOUZA, V.; RUÍZ, A. L.; MALCATA, X.; PINTADO, M. M. A.; CARVALHO, J. E. **Wound healing, antiulcerogenic, anti-inflammatory and anti-proliferative properties of chitosan**. *New Biotechnology*. 2009; disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2009.06.027>>. Acesso em 10 de fev. De 2017
- THARANATHAN R. N.; KITTUR F. S. Chitin – The undisputed biomolecule of great potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 61–87, 2003.
- TORRES, M. A.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de esferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Associação Brasileira de Polímeros: São Carlos. v.15; n. 4, p. 306-312, 2005.
- TORO, M. E. N. Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea. 2005. 295 f. **Tese** (Doutorado em Ciências) - Universitat Politècnica de Catalunya, 2005.
- UGO, C. et al. Tissue Stability of Implants Placed in Fresh Extraction Sockets: A 5-Year Prospective Single-Cohort Study. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 9, p. e323-e332, 2014.
- UENO, H. et al. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. **Biomaterials**, v. 22, p. 2125-2130, 2001. Disponível em: <http://link.periodicos.capes.gov.br/ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3?url_ver=Z39.88-2004>. Acesso em: 10 jul. 2015.
- VOLKMER, T. M.; BREUER, D.; SANTOS, L. A. Avaliação da Microestrutura de Blocos Porosos Obtidos por Gelcasting de Espumas. IN: **Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**, Agosto, 2006.
- W, T.-H. W.; YINDEE, K. Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem like cell culture: An approach to tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 80B, n. 1, p. 92-101, 2006.
- WAN, D. C.; NACAMULI, R. P.; LONGAKER, M. T. Craniofacial Bone Tissue Engineering. **Dent. Clin. N. Am.**, v. 50, n. 2, p. 175-190, 2006.
- WANG, X.; MA, J.; WANG, Y.; HE, B. Bone repair in radii and tibias of rabbits with phosphorylated chitosan reinforced calcium phosphate cements. **Biomaterials**, v. 23, n. 21, p. 4167-4176, 2002.
- WIDU, F.; DRESCHER, D.; JUNKER, R.; BOURAUUEL, C. Corrosion and biocompatibility of orthodontic wires. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v.10, n. 5, p. 275-281, May, 1999.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Desenvolvimento, avaliação de esferas de quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants para aplicação como biomaterial

Production and evaluation of chitosan spheres/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants for use as biomaterial

Mylena de Araújo Régis¹, Rosana Araújo Rosendo², Luanna Abílio Diniz Melquiades de Medeiros³, Marcus Vinícius Lia Fook⁴, Rossemberg Cardoso Barbosa⁵, Ana Beatriz Maximo Figueiredo⁶, Walter Gleybson Antas de Moraes⁷, Rafael Rodrigues de Siqueira⁸, Arthur Willian de Lima Brasil⁹

¹ Aluno de graduação do curso de bacharelado em Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB e-mail: mylenaregis@outlook.com

² Professora Adjunto da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua João Soares, nº 127 Bairro Brasília; CEP. 58.700-318, Patos-PB e-mail: cesprodonto@hotmail.com

³ Professora Adjunto da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua João Soares, nº 127 Bairro Brasília; CEP. 58.700-318, Patos-PB e-mail: luannaabiliod@gmail.com

⁴ Professor Doutor do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais/DEMa/UFCG Coordenador do Laboratório CERTBIO/DEMa/UFCG, Bolsista de Produtividade do CNPq e-mail: viniciusliafook@gmail.com

⁵ Doutor Pesquisador do Programa Nacional de Pós Doutorado - PNPd/UFCG e-mail: rcbvet@gmail.com

⁶ Aluno de graduação do curso de bacharelado em Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB email: anabiamf22@yahoo.com

⁷ Aluno de graduação do curso de bacharelado em Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB email: walter_morais18@hotmail.com

⁸ Aluno de graduação do curso de bacharelado em Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB email: rrodriguesdesiqueira@mail.rooseelt.edu

⁹ Professor Doutor, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB email: arthurwillian7@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivou-se produzir e avaliar esferas de quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz) para uso como biomaterial. A planta foi coletada e identificada botanicamente e obtido extrato alcoólico bruto de *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (EAB). Para produção das esferas de quitosana e quitosana com EAB utilizou-se a técnica de Geleificação Ionotrópica. As esferas foram divididas em três grupos: um grupo de quitosana pura, outro com concentração menor de EAB e o terceiro com a maior concentração de EAB. Estas foram caracterizadas por Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise do Grau de Intumescimento (GI). A MO evidenciou nas superfícies externa e interna, esferas com limites definidos e com mudança de cor à medida que o percentual do EAB foi aumentado, tornando-se mais escuras. A MEV revelou, em esferas de maior concentração, quando comparado as de menor concentração: uma diminuição no tamanho e aumento da quantidade e da intercomunicação dos poros, além da alteração do formato geométrico tanto das esferas quanto dos seus poros. Na análise do Grau de intumescimento não houveram diferenças significativas entre os grupos. Conclui-se que foi possível a produção de esferas de quitosana e quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz), que no grupo com maior percentual de EAB as amostras apresentaram-se mais escuras e com maior quantidade e intercomunicação dos poros e que embora tenha havido o intumescimento, não foi observada diferença significativa entre os grupos.

Palavras-chave: Quitosana. Plantas medicinais. Regeneração óssea.

ABSTRACT

The objective was to produce and evaluate of chitosan spheres/ *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz) to use as biomaterial. Plant specimens were collected, identified botanically and crude alcohol extract (CAE) were obtained. For the production of the chitosan and chitosan spheres with CAE, the Ionotrope Gellification technique was used. The spheres were divided into three groups: one exemple group of pure chitosan; a second exemple group with low CAE concentration and a third exemple group with a higher CAE concentration; and them characterized by Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM) and swelling degree (SD). OM showed on the external and internal surfaces, spheres with defined limits and with color change as the percentage of CAE was increased, becoming darker. The SEM showed, in spheres with higher CAE concentration, in comparison with the ones with low CAE concentration: A decrease in size, increase in the quantity and intercommunication of the pores, and the alteration of the geometric shape of both the spheres and their pores. In the analysis of the swelling degree, there were no significant differences between the groups. It is possible to produce chitosan spheres / *Dysphania ambrosioides* (L.) *Mosyakin & Clemants* (mastruz) which in the group with the highest percentage of CAE the samples were darker and with higher amounts and intercommunication pores and that although there was swelling, no significant difference was observed between the groups.

Keywords: Chitosan. Medical Plants. Bone Regeneration.

1. INTRODUÇÃO

Biomateriais são definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos); com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de origem sintética ou natural, e a utilização dos mesmos na área da saúde vem se tornando cada vez mais comum, sendo estimada uma média de 300 mil em cerca de 10 anos [1].

Defeitos com perda de massa óssea frequentemente são reparados com enxertos ósseos autógenos. No entanto, eles apresentam algumas desvantagens, como morbidade da área doadora, reabsorção pós-operatória, contornos irregulares dos enxertos angulares e complicações como dor crônica e lesões vasculares durante o procedimento cirúrgico [2]. Diante disto, têm-se buscado biomateriais hábeis para promover esta substituição, evitando o uso de enxertos ou transplantes ósseos [3]. Esses biomateriais podem ser de fácil dissolução e absorção, ao mesmo tempo em que permitem e estimulam a formação óssea [4, 5, 6].

Nesse âmbito, a quitosana, um polissacárido proveniente da desacetilação da quitina, obtida essencialmente da carapaça de caranguejo e camarão apresenta-se como uma possibilidade. Sendo considerada uma macromolécula não tóxica, biocompatível e com comprovadas propriedades anti-inflamatória e cicatrizante [7], o interesse por este biopolímero tem aumentado, ainda mais pela maior capacidade cicatrizante na quitosana quando comparado à quitina, visto que quanto maior o grau de desacetilação, maior a resistência das feridas à ruptura e mais fibroblastos ativos aparecem no local [8], 2007. Nos últimos anos, a quitosana tem sido vastamente utilizada na veiculação de medicamentos, bem como na engenharia de tecidos aplicada à odontologia [9].

Os fitoterápicos são outras substâncias que tem despertado o interesse da comunidade científica [10], quando utilizados em combinação com biomateriais osteoindutores, podem acelerar o processo de formação do tecido ósseo funcionando como um agente potencializador [11]. O principal intuito na indicação do uso de fitoterápicos não é substituir os medicamentos registrados e já comercializados, mas aumentar as opções terapêuticas dos profissionais de saúde; ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos, com mecanismos de ação mais adequados e com indicações terapêuticas complementares às medicações já existentes [10].

Dentre as plantas medicinais estudadas, o mastruz (*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) apresenta propriedades que despertam o interesse na área médica-odontológica; como a capacidade de acelerar o reparo ósseo [12]; bem como o efeito anti-inflamatório e cicatrizante nos tecidos pulpar e periodontal, diminuindo a intensidade de polimorfonucleares, o abscesso, a necrose e estimulando o reparo ósseo alveolar [13].

Esta planta produz diversos metabólitos secundários responsáveis por suas atividades farmacológicas, tais como compostos fenólicos, catequinas, esteróides, flavonóides, taninos, triterpenóides e óleo essencial, sendo considerados os princípios ativos responsáveis por suas propriedades terapêuticas [14]. Sendo assim, este trabalho objetivou desenvolver e avaliar esferas de quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants liofilizadas para aplicação como biomaterial, com ênfase na regeneração óssea.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Os materiais utilizados foram quitosana de médio peso molecular – com grau de desacetilação em torno de 90% e grau de cristalinidade de aproximadamente 50% (CERTBIO); ácido Acético Glacial - Neon (Lote 21352), tripolifosfato de sódio - Sigma Aldrich® (Lote 12421JIV), extrato alcoólico de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants e phosphate Buffered Saline (PBS) - pH 7.4 Sigma Aldrich® (Lote SLBC5890).

2.2 Métodos

2.2.1 Tipo de pesquisa

A pesquisa foi do tipo laboratorial *in vitro*.

2.2.2 Coleta da planta, identificação botânica e obtenção do extrato vegetal

A planta é cultivada e foi coletada no Horto de Plantas Medicinais do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarmM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em João Pessoa- PB (Figura 1A).

No intuito de fazer a identificação botânica da espécie vegetal utilizada no estudo, partes aéreas (caule, folhas e frutos) de plantas adultas frescas foram prensadas, em seguida postas em estufa artesanal, para secagem, por 72 horas, para confecção de exsiccatas.

O técnico F.E.M.A realizou a identificação botânica no herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da UFCG, localizado na cidade de Patos-PB, onde amostras representativas das exsiccatas foram depositadas no Herbário CSTR (FIGURA 1B).



Figura 1 – Espécie vegetal no Horto de Plantas Medicinais do IPeFarmM (A); Exsiccata depositada no Herbário CSTR (B) (AUTOR, 2017).

Para obtenção do extrato vegetal de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz), a metodologia para produção foi baseada no trabalho de Brasileiro et al.[15]. O mesmo foi preparado a partir das partes aéreas (caule, folhas e frutos) de plantas adultas frescas. Após coletadas, foram cortadas em pequenos pedaços com auxílio de tesoura e em seguida pesadas, totalizando 4870g.

A planta cortada foi colocada em um percolador de aço inox a temperatura ambiente (26°C) com etanol a 95% (FIGURA 2 A), e deixada em repouso por 72 horas (FIGURA 2 B).

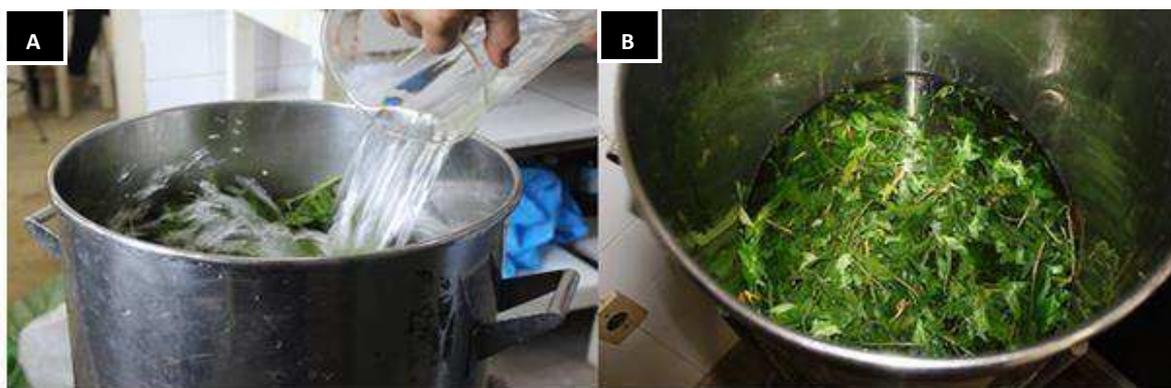


Figura 2 – Adição do etanol 95% (A) e o vegetal com etanol deixados em repouso (B) (AUTOR, 2017).

No momento da extração, já era realizada a filtragem, por meio da inserção do algodão na parte inferior do percolador (FIGURA 3A), resultando em um líquido de cor verde o qual foi acondicionado em béquer e transferido para balões volumétricos (FIGURA 3B).



Figura 3 – Algodão colocado dentro do percolador para filtragem (A) e Balão volumétrico com líquido verde resultante (B) (AUTOR, 2017).

Posteriormente, o filtrado foi colocado em um rota evaporador R-210 BUCHI, à pressão de 64 Bar com temperatura de 50°C por 48 horas.

Ao final dessa etapa, foi obtido 100,7217g de um material escuro, pastoso, denominado extrato alcoólico bruto (EAB) (FIGURA 4A e 4B).



Figura 4 – Recipiente contendo o extrato (A) e imagem superior do recipiente contendo o extrato (B) (AUTOR, 2017).

2.2.3 Preparação das esferas de quitosana e quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants

Todas as etapas para confecção das esferas foram realizadas no CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Para tanto, foi preparada uma solução de quitosana 2% (m/v) por meio da dissolução de 30g de quitosana (FIGURA 5A) em 1,5 litro de solução de ácido acético glacial 1%(v/v) (FIGURA 5B), no agitador durante 24 h a 435 rpm (FIGURA 5C). A quitosana utilizada foi de médio peso molecular, com grau de desacetilação em torno de 90% e grau de cristalinidade de aproximadamente 50%, desenvolvida no próprio CERTBIO com tecnologia local. A solução preparada foi distribuída para várias pesquisas, sendo utilizada nessa pesquisa 300 mL.



Figura 5 – Pesagem da Quitosana (A), Medição de 15 ml do ácido acético glacial 1% (B), e Solução de Quitosana com ácido acético sob agitação mecânica (C) (AUTOR, 2017).

Em seguida foram retiradas porções menores da solução da quitosana às quais foram adicionadas o EAB, resultando 100 mL de cada solução com 5% e 20% de EAB com relação a massa do polímero empregado, e uma porção que não foi adicionado EAB também de 100mL. Para obtenção da solução de quitosana com diferentes percentuais de EAB foram feitos os seguintes cálculos: Se em 1500mL de solução de quitosana à 2% há 30g de quitosana, em 100mL de quitosana à 2% há 2g de quitosana. Sendo assim, para se conseguir 100mL de solução de quitosana à 2% com 5% de extrato do mastruz em relação à massa da quitosana, foi necessário adicionar 0,1g do EAB e obtenção de 100mL de uma solução de quitosana à 2% com 20% de extrato em relação a massa da quitosana, foi necessário adicionar 0,4g do EAB.

Os passos para dissolução do EAB na solução de quitosana se iniciam na pesagem do EAB em balança analítica, que foi feita colocando-o em um Becker e posteriormente adicionando a solução de quitosana, sendo a mistura realizada sob agitação mecânica por 30 minutos a 435 rpm, obtendo-se então soluções de quitosana com 5% e 20% de EAB.

Posteriormente às diluições, foi utilizada a técnica de Gelificação Ionotrópica com finalidade de se obter as esferas. Para tanto, foram adicionados separadamente, 10 mL de cada solução (0%, 5% e 20% de EAB) em seringas de 10mL (Descarpack) equipadas com uma agulha de 25 milímetros de comprimento e 0,80 milímetros de diâmetro (NIPRO). O conjunto (seringa/agulha/solução) foi então acoplado a uma bomba de infusão com velocidade de 20 mL/h (FIGURA 6A). As gotículas formadas foram recolhidas em um béquer contendo 100mL de solução de TPP (Tripolifosfato de Sódio) a 5%, formando as esferas. As mesmas permaneceram na solução de TPP por 30 segundos.

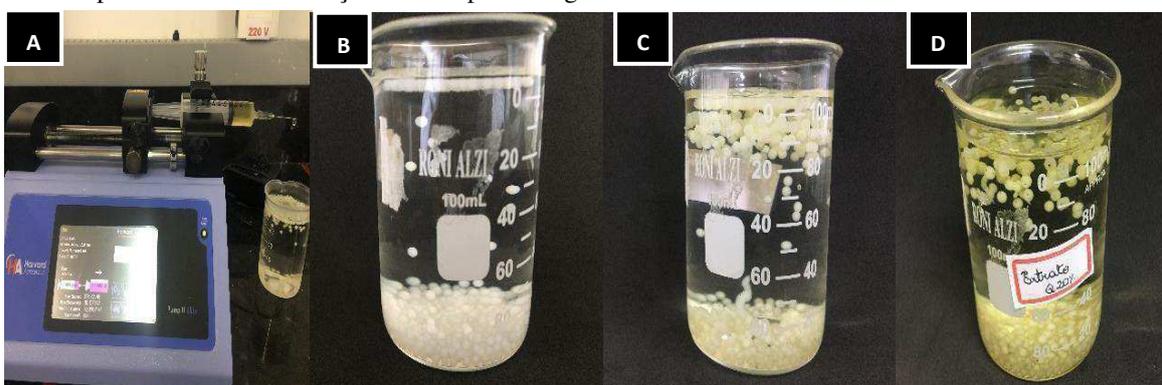


Figura 6 – Conjunto (seringa/agulha/solução) acoplado a bomba de infusão e formação das esferas (A), Esferas de quitosana em repouso na solução de TPP 5% (B), Esferas de quitosana com 5% de EAB em repouso na solução de TPP 5%(C), Esferas de quitosana com 20% de EAB em repouso na solução de TPP 5% (D) (AUTOR, 2017).

Decorrido esse tempo, as esferas foram lavadas em 10mL de água destilada, permanecendo imersas por cinco minutos, depois foram despejadas em uma peneira. Esse processo de lavagem foi realizado por mais duas vezes, totalizando três ciclos para cada um dos grupos.

Concluído o terceiro ciclo de lavagem, as esferas de quitosana e quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants foram dispostas em discos de papel filtro para remover o excesso de água

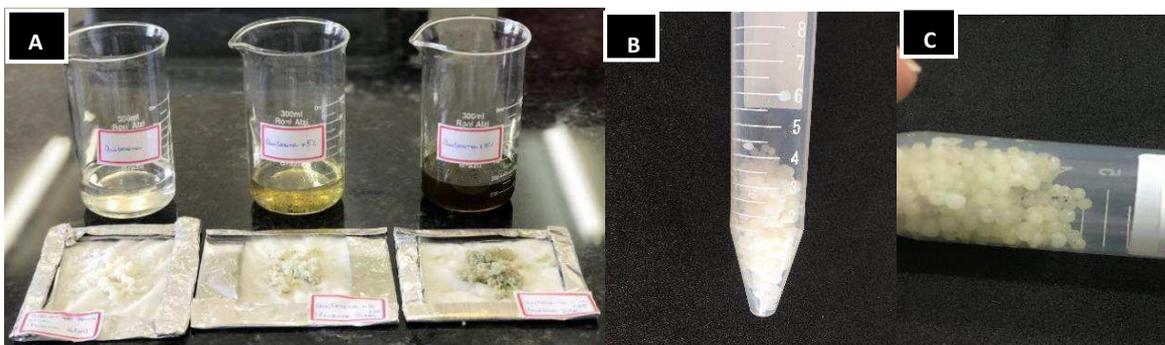


Figura 7 – Solução/Esferas de quitosana e soluções/esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB em papel filtro (A), Esferas de quitosana inseridas em tubos Falcon (B), Esferas de quitosana com 5% de EAB inseridas em tubos falcon em visão aproximada (C) (AUTOR, 2017).

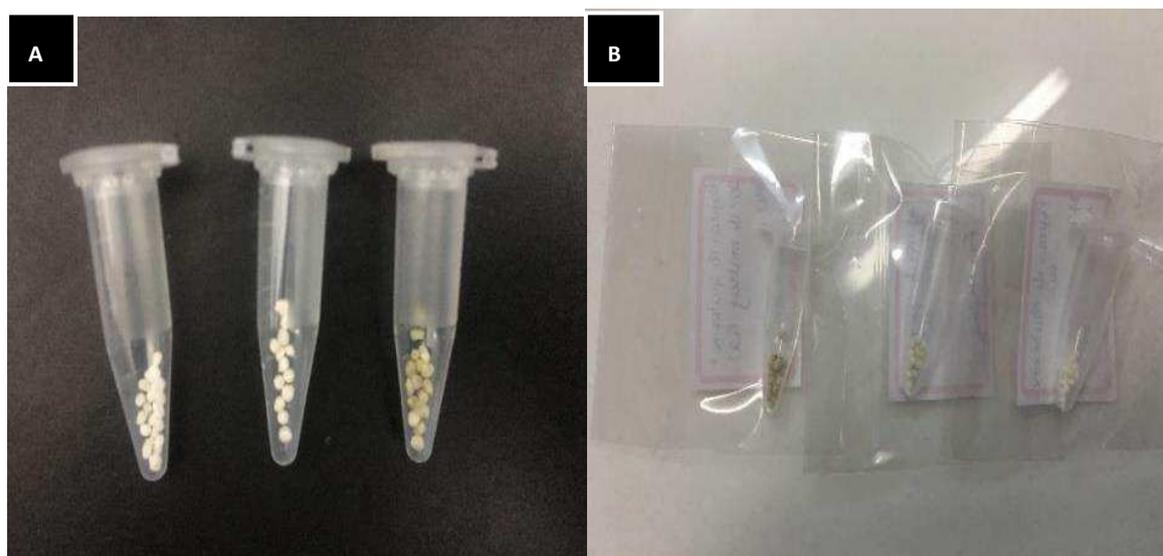


Figura 8 – Amostras organizadas em *ependorf* (A) e identificadas (B) (AUTOR, 2017).

Para a preparação das esferas de quitosana pura, foram seguidas as mesmas etapas utilizadas para a confecção das esferas de Quitosana/*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, exceto a adição do extrato alcoólico do mastruz. A Tabela 1 demonstra a identificação dos grupos formados para pesquisa.

Tabela 1 – Identificação dos grupos formados.

Esferas	Grupos
Quitosana	Q0
Quitosana + 5% de EAB	Q5
Quitosana + 20% de EAB	Q20

2.3 Técnicas de Caracterização

As esferas de quitosana (Q0) e quitosana com o extrato de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants em diferentes concentrações (Q5 e Q20), foram caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Grau de Intumescimento.

2.3.1 Microscopia Óptica (MO)

Para caracterização por microscopia óptica das esferas de quitosana sem e com o extrato *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants em diferentes concentrações, foi utilizado um Microscópio Ótico da marca Hirox, modelo (SHX- 13M).

Foram realizadas imagens com o aumento de 40X, 100X e 160X tanto da superfície externa quanto da superfície transversal de corte; estas últimas superfícies foram obtidas a partir do corte das esferas em duas partes, utilizando-se uma lâmina de bisturi nº 15C.

2.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para esse ensaio, foram realizadas imagens da superfície externa das esferas com os aumentos de 1000X e 2000X e 5000X, como também da superfície interna transversal de corte com aumentos de 200 e 2000X; estas últimas superfícies foram obtidas a partir do corte das esferas em duas partes utilizando-se uma lâmina de bisturi nº 15C (Solidor), sendo utilizado o equipamento modelo TM-1000 da marca Hitachi.

2.3.3 Grau de Intumescimento

Para execução do ensaio, um conjunto de 5 esferas representou uma amostra, onde cada uma foi então devidamente pesada, a seco, em balança analítica de precisão da BEL ENGINEERING, antes da imersão em solução de PBS (Sigma Aldrich).

Cada amostra foi então imersa em 5 mL da solução de PBS por um período de 24 horas.

Posteriormente, foram removidas da solução, secas por 30 segundos em papel absorvente para eliminar o excesso da solução, e o peso úmido de cada amostra foi novamente aferido na mesma balança. O cálculo do grau de intumescimento foi realizado segundo a equação abaixo.

$$GI = \frac{M}{M_0} f - M_0$$

Onde: GI - Grau de intumescimento M_f
 - Massa final (intumescida)
 M_0 - Massa seca

2.4 Análise dos Dados

Os resultados das caracterizações no MO e MEV foram avaliados qualitativamente, já os resultados do grau de intumescimento foram tabulados e apresentados de forma quantitativa e submetidos à análise estatística ANOVA.

3. RESULTADOS

3.1 Microscopia óptica (MO)

3.1.2 Superfície externa

A Figura 9 ilustra a superfície externa das esferas utilizando-se um aumento de 40X no MO, na qual se observa que as esferas são bem delimitadas; e que se tornaram mais escuras, à medida que o percentual do extrato de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants foi aumentado, evidenciando a incorporação deste.



Figura 9 – Imagens das esferas no MO com aumento de 40X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB (AUTOR, 2017).

As imagens das esferas com o aumento de 100X e 140X no MO confirmam o que foi relatado anteriormente com relação à delimitação, e ainda a cor e ainda evidencia áreas verde escuras nas esferas pertencentes aos grupos Q5 e Q20, sugestivas do extrato não dissolvido (Figura 10 e 11).



Figura 10 – Imagens das esferas no MO com aumento de 100X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB (AUTOR, 2017).



Figura 11 – Imagens das esferas no MO com aumento de 160X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB (AUTOR, 2017).

Trabalhando com esferas de quitosana com albumina de soro bovino (BSA), Ma e Liu [16], observaram que a eficiência de encapsulação diminuiu com o aumento da proporção de BSA com relação à quitosana. Sendo eficiência de encapsulação inferior a 40% quando a razão em peso de BSA para quitosana atingiu 20%, com as concentrações de EAB utilizadas no presente trabalho não se observou, por meio do MO, perda na eficiência de encapsulação.

De acordo com Bitencourt [17], a incorporação de substâncias ativas pode influenciar a estrutura superficial e interna dos materiais devido a diversos fatores como, tamanho, peso molecular, interações com a matriz polimérica, dentre outros.

3.1.3 SUPERFÍCIE INTERNA

A Figura 12 ilustra a superfície interna das esferas, obtidas por meio do corte das mesmas, utilizando-se no MO um aumento de 100X e 160X, nela é possível observar também que as esferas se tornaram mais escuras à medida que o percentual do extrato de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants foi aumentado. Destacam-se nessas imagens, aglomerados do EAB de diversos tamanhos que denotam que o mesmo não foi dissolvido de maneira uniforme.

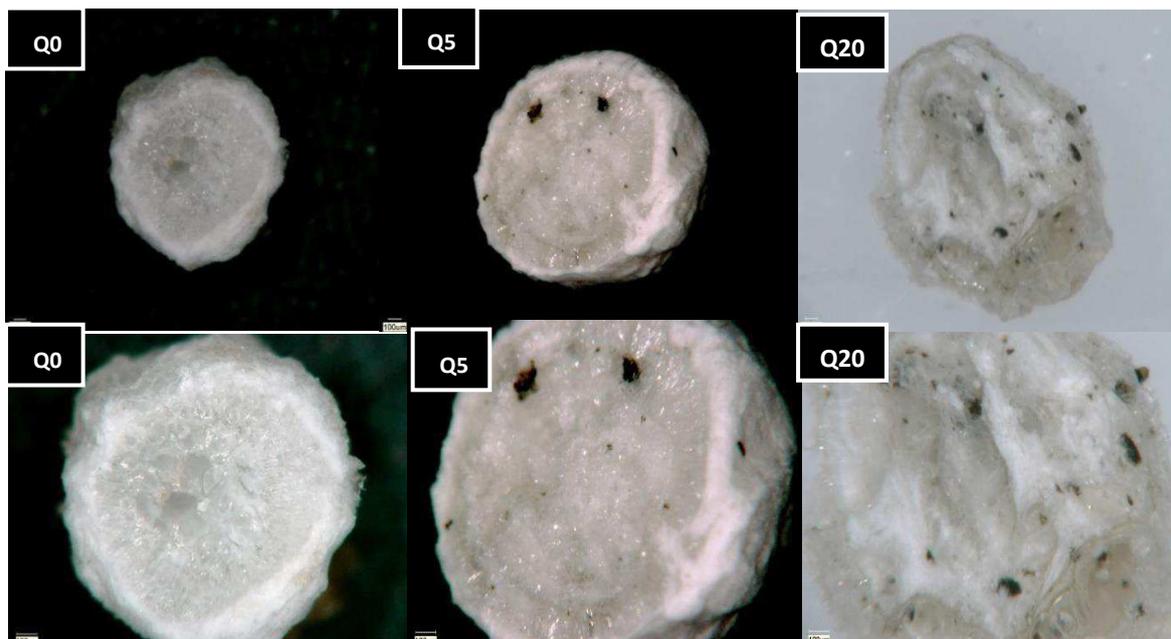


Figura 12 – Imagens da superfície interna no MO com aumento de 100X e 160X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB (AUTOR, 2017).

3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Foram realizadas imagens da superfície externa das esferas com o MEV utilizando aumentos de 50X, 180X, 1000X e 2000X (Figura13).

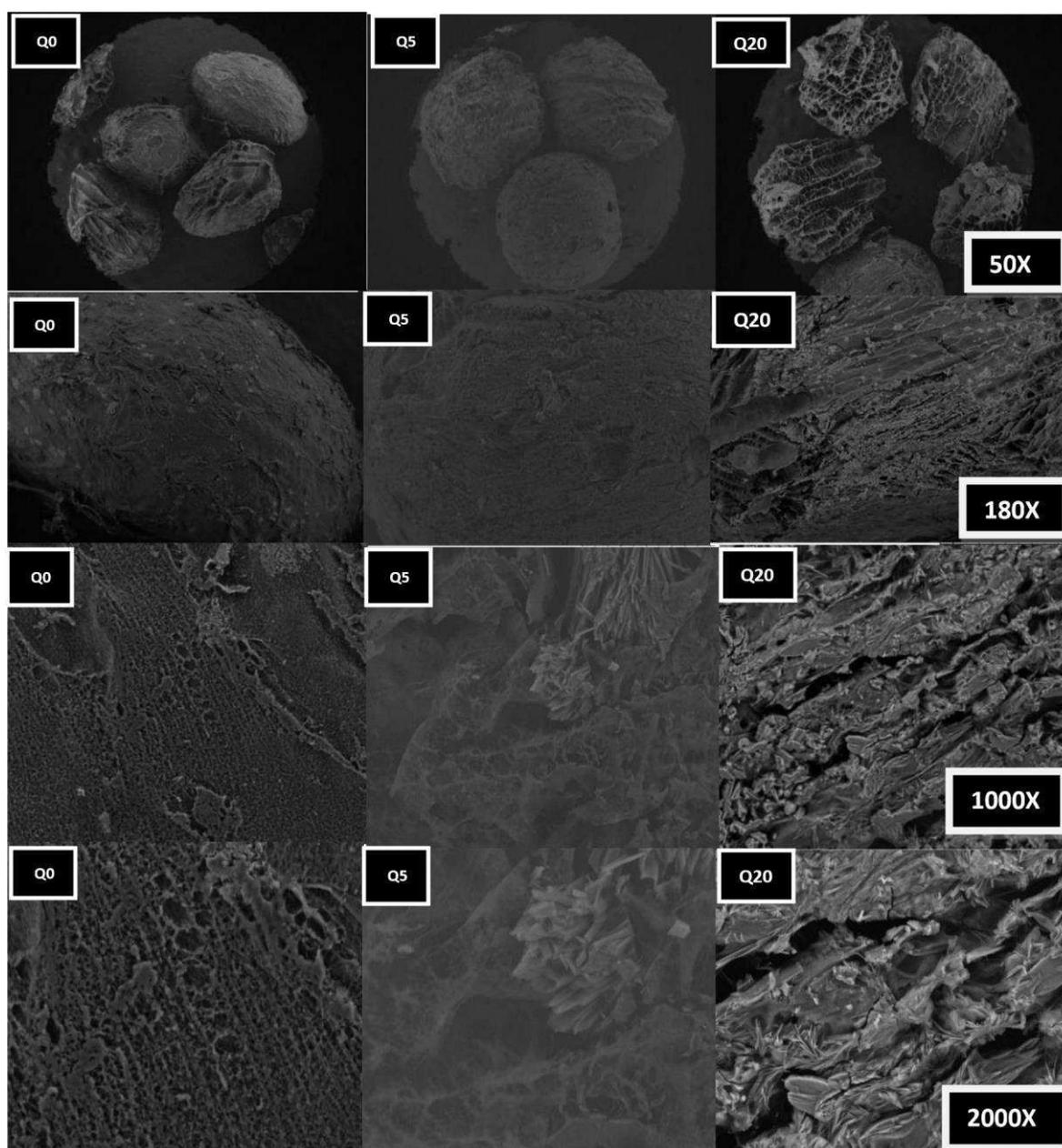


Figura 13 – Imagens do MEV com aumento de 50X, 180X,1000X e 2000X. (Q0) Esferas de quitosana, (Q5) Esferas quitosana +5% EAB e (Q20) Esferas quitosana +20% EAB (AUTOR, 2017).

As micrografias denotam que ocorreu uma diminuição do tamanho dos poros na amostra Q5 em relação à Q0, já na amostra Q20 evidenciamos maior quantidade dos poros. O aumento da quantidade de poros gera uma diminuição na densidade das esferas que se dá devido ao processo de liofilização, onde a água presente na quitosana é evaporada, logo, quanto menor o teor de quitosana na esfera, menos água será liberada, menos contração ocorrerá e maior será o tamanho da partícula [18], ao contrário das esferas levadas à estufa onde se tratam de um material denso, sem a presença de poros, decorrente desse processo de secagem, que tem como intuito retirar a umidade e também diminuir o tamanho das esferas [19].

Alguns autores observaram a presença de poros intercomunicantes em estruturas tridimensionais de quitosana, em casos que foram realizados o processo de congelamento e liofilização [20, 21, 22], sendo assim, com o intuito de observar se havia presença de poros nas esferas produzidas no atual trabalho quando não submetidas ao processo de secagem, procedeu-se a metodologia de congelamento e liofilização das amostras em substituição a secagem na estufa, onde podemos observar esse aumento de intercomunicação dos poros à medida que se adicionou o EAB.

Uma explicação para o surgimento dos poros é o congelamento da água presente em cada esfera, ocorrendo difusão de moléculas de água e agregação em cristais que depois de sublimados na liofilização deixam o espaço vazio observado como poro [23].

Nas amostras, podemos observar algumas variações com relação às características físicas dos poros presentes nas esferas: em Q0 os poros são grandes em forma de lamelas e o material tem formato ovalado. Já na amostra Q5 observa-se que o material apresenta mais esférico e denso com diminuição no tamanho dos poros. Na amostra Q20 observa-se forma esférica, com muitos poros menores quando comparado a Q0, os poros são uniformes e retangulares com aspecto célula vegetal circundada pela parede celular.

O tamanho e a forma do poro afetam a capacidade de fixação e de crescimento das células e, portanto, influencia a regeneração de tecidos em biomateriais com finalidade osteocondutora [19].

3.3 Grau de intumescimento

Na quitosana, há predominância dos grupos amino caracterizados por ligações covalentes (N-H), onde a eletronegatividade das ligações gera sítios de alta polaridade, tornando, assim, favorável o rearranjo das moléculas e água em torno desses sítios. Essa característica estrutural, associada aos grupos acetamidos, caracterizam um material com alto grau de afinidade e retenção de água [24]. A determinação do grau de intumescimento das microsferas é um fator importante, pois pode ajudar a entender o mecanismo de liberação dos ingredientes ativos, a absorção de fluidos corpóreos e a transferência de nutrientes e metabólitos [25].

Para obtenção do GI das esferas de Quitosana e Quitosana/*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz) foi realizado o cálculo do intumescimento de acordo com a fórmula (intumescimento final- intumescimento inicial/ intumescimento inicial) para todas as amostras, em seguida foi realizada a análise da normalidade pelo teste Shapiro-wilk e a comparação das médias através da ANOVA com nível de significância de 95%, com valor p do teste de 0,1945. Sendo assim na análise das amostras esferas Q0 obteve média de 3,421053, Q5 de 2,780488 e Q20 de 2,54902 (Tabela 1), não havendo diferenças significativas no grau de intumescimento entre os grupos Q0, Q5 e Q20 (Figura 14).

Tabela 2 - Cálculos individuais de cada esfera da amostra e médias obtidas após análises (Q0S- esferas de quitosana secas; Q0I- esferas de quitosana intumescidas; Q5S e Q20S esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB secas; Q5I e Q20I esferas de quitosana com 5% e 20% de EAB intumescidas). (AUTOR, 2017).

Q0S	Q0I	Intumescimen to	Q5S	Q5I	Intumescimen to	Q20S	Q20I	Intumescimen to
0,0008	0,0044	4,5	0,0007	0,0033	3,714286	0,001	0,0032	2,2
0,0007	0,0036	4,142857	0,0007	0,0032	3,571429	0,001	0,0029	1,9
0,0007	0,0024	2,428571	0,0008	0,0026	2,25	0,001	0,0039	2,9
0,0008	0,0031	2,875	0,0009	0,0032	2,555556	0,0011	0,004	2,636364
0,0008	0,0033	3,125	0,001	0,0032	2,2	0,001	0,0041	3,1
0,00076	0,00336	3,421053	0,00082	0,0031	2,780488	0,00102	0,00362	2,54902

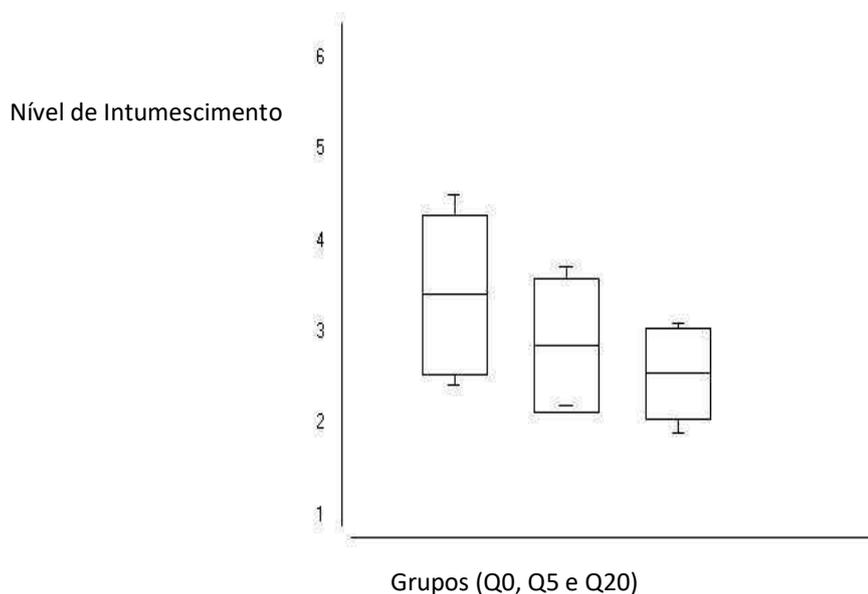


Figura 14 - Gráfico mostrando o nível de intumescimento dos grupos Q0, Q5 e Q20. (AUTOR, 2017).

Tal análise mostra que a adição do EAB não influenciou no grau de intumescimento da quitosana, que, segundo Muzzarelli *et al.*[26] se destaca por adsorver grande quantidade de água, o que resulta em acentuados intumescimento e aumento de volume. O intumescimento provoca o aumento da porosidade e, portanto, leva à liberação do fármaco.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que foi possível o desenvolvimento de esferas quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz), que no grupo com maior percentual de EAB as amostras apresentaramse mais escuras e com maior quantidade e intercomunicação dos poros e que, embora tenha havido o intumescimento, não foi observada diferença significativa entre os grupos após o aumento da quantidade de EAB.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Ao PIBIC/CNPq-UFCG pela oportunidade dada para o desenvolvimento do projeto.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] MORAES, A. M.; PIRES, A. L. R.; BIERHALZ A. C. K., *Biomateriais: tipos, aplicações e mercado*, Quim. Nova, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.
- [2] PINHEIRO, T. C. et al. *Implantes de hidroxiapatita em falhas reduzidas no fêmur em ratos submetidos ao tabagismo passivo*. Revista Brasileira de Ortopedia, v. 43, p. 433–441, 2008.
- [3] COSTA, B. D. et al. *Neoformação e acesso a osteointegração de biomateriais micro e nanoestruturados em ovinos*. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 35, p. 177–187, 2015.
- [4] WAN, D.C.; NACAMULI, R.P.; LONGAKER, M.T. *Craniofacial Bone Tissue Engineering*. Dent. Clin. N. Am., v.50, n.2, p.175-190, 2006.
- [5] CHEN, K-Y. *et al. Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite*. Biomaterials, v.30, n.9, p.1682-1688, 2009.

- [6]OLIVEIRA, L.S.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. *Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras*. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, v.9, s. 1, p.37-44, 2010.
- [7]TAVARIA, F. K.; JORGE, M.; MARCHETTI, G.; SOUZA, V.; RUÍZ, A. L.; MALCATA, X.; PINTADO, M. M. A.; CARVALHO, J. E. *Wound healing, anti-ulcerogenic, anti-inflammatory and anti-proliferative properties of chitosan*. New Biotechnology. 2009; disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2009.06.027>>. Acesso em 10 de fev. de 2017
- [8]MINAGAWA, T.; OKAMURA, Y.; SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S.; OKAMOTO, Y. *Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing*. Carbohydrate Polymers, 2007; disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.007>>. Acesso em 10 de fev. De 2017
- [9]TAVARIA, F. K.; COSTA E.M.; PINA-VAZ, I.; CARVALHO, M. F.; PINTADO, M. M. A. *Quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte*. Revista Brasileira de engenharia Biomédica, v.29, n. 1, p. 110-120, 2013.
- [10]LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; NOGUEIRA, T. C. M. L. 2003. *Farmacologia e toxicologia de produtos naturais*. In: SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. (org.) *Farmacognosia: da Planta ao medicamento*.5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da FSC, p.247-262, 2007.
- [11]SOUSA, J. A.; MIRANDA, E. M. *Plantas medicinais e fitoterápicos: alternativas viáveis*. Acre, 18 dez. 2003. Disponível em: <<http://www.cpfac.embrapa.br> >. Acesso em 28 jan. 2015.
- [12]PENHA ES, LACERDA SR, CARVALHO MGF, OLIVEIRA PT. *Effect of Chenopodium ambrosioides on the healing process of the in vivo bone tissue*. Microsc Res Tech. 2017; 00:1–7. <https://doi.org/10.1002/jemt.22913>
- [13]SOUSA, J. N. L. *Ação da aroeira (schinus terebinthifolius raddi) e do mastruz (chenopodium ambrosioides l) no processo de reparo de dentes de ratos reimplantados*. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Potiguar. Natal, 131f., 2010.
- [14]MARINS, A. K.; VIEIRA, D. F.; QUADROS, I. P. S.; PINHEIRO, P. F.; QUEIROZ, V. T.; COSTA, A. V. *Prospecção fitoquímica das partes aéreas da Erva-de-Santa-Maria (Chenopodium ambrosioides L.)*. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Alegre, Espírito Santo, v. 15, p.1-5, 2011.
- [15]BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. *Antimicrobial and cytotoxic activities screen in some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 2, p. 195-202, 2006.
- [16]MA. L.; LIU, C. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, v.75, n.448, 2010.
- [17]BITENCOURT, C.M. *Desenvolvimento e aplicação de filmes á base de gelatina aditivados com extrato etanólico de cúrcuma (Curcuma longa L.)*. Dissertação (Mestrado em Ciência da Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga – São Paulo, 107f, 2013.
- [18]DANTAS, L. M.; FIDÉLIS, T.; CARRODEGUAS, R.; LIA FOOK, M. *Obtenção e caracterização de esferas de quitosana/hidroxiapatita gerada in situ*. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, América do Sul, v.11, p.20, 2017.
- [19]MEDEIROS, L.A.D.M.; *Desenvolvimento de esferas de quitosana/ dysphania ambrosioides(L.) Mosyakin & clemants para aplicação como biomaterial*. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Centro de Ciência e Tecnologia. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2016.
- [20]FÁVERE, V. T.; LARANJEIRA, M. C. M. *Quitosana: Biopolímero Funcional com Potencial Industrial Biomédico*. Quim. Nova, v. 32, n. 3, p.672-678, 2009.
- [21]FOOK, A. C. B. M. *Produção e caracterização de arcabouços compósitos HA/Biopolímero para engenharia de tecidos*. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Centro de Ciência e Tecnologia. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

- [22] CRUZ, J. B. *Arca-bouços de quitosana/ agente antineoplásico: síntese, caracterização e aplicação*. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Centro de Ciência e Tecnologia. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 118f, 2015.
- [23] W, T.-H. W.; YINDEE, K. *Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem-like cell culture: An approach to tissue engineering*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, v. 80B, n. 1, p. 92–101, 2006.
- [24] ASSIS, O.B.G. et al; “*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, pp 223-228.
- [25] W, T.-H. W.; YINDEE, K. *Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem-like cell culture: An approach to tissue engineering*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, v. 80B, n. 1, p. 92–101, 2006.
- [26] MUZZARELI, R. A. A.; MATTIOLI-BELMONTE, M.; TIETZ, C.; BIAGINI, R.; FERIOLI, G.; BRUNELI, M. A.; FINI, M.; GIARDINO, R.; ILARI, P.; BIAGINI, G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. Biomaterials, v.15. p.1075-1081,1994. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br.ez15>>.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Foi possível o desenvolvimento de esferas quitosana/ *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz);
- ✓ No grupo com maior percentual de EAB as amostras apresentaram-se mais escuras e com maior quantidade e intercomunicação dos poros;
- ✓ Embora tenha havido o intumescimento, não foi observada diferença significativa entre os grupos após o aumento da quantidade de EAB.

ANEXO A– EDITORIAL DA REVISTA METÉRIA

Descrição dos estilos MSWord usados na revista Matéria

Description of MSWord styles used in the journal Matéria

Nome Sobrenome do Autor ¹, Nome Sobrenome do Autor ¹,
Nome e Sobrenome do Autor ²

² Laboratório de Hidrogênio - Labh2 – PEMM/COPPE/UFRJ CP: 68505 – 21941-972, Rio de Janeiro, RJ
e-mail: materia@labh2.coppe.ufrj.br ³ Endereço dos outros autores 2 e 3 e-mail:
outro.autor2@outros.autores.com; outro.autor⁴⁵@outros.autores.com

RESUMO

Todo este documento está formatado com os estilos que devem ser usados. Os comentários ao lado são especificações dos estilos e servem de auxílio para a formatação em caso de dúvida.

A descrição seguinte detalha os estilos de formatação de texto usados no arquivo modelo da revista Matéria (arquivo modelo.dot), devendo ser usado em arquivos do MSWord, versão 6.0 ou mais recentes. Preferencialmente, os artigos gerados devem ser salvos em extensão .doc.

O resumo deverá conter um número entre 200 e 300 palavras no total, evitando o uso de palavras repetitivas. Seu conteúdo deverá dar uma ideia geral do assunto tratado no artigo e objetivo, informando sucintamente a metodologia, principais resultados e conclusões, não devendo conter referências bibliográficas, equações, figuras ou tabelas.

Usar formato de parágrafo justificado para todo o texto e letras corpo/tamanho 10pt com espaço entre as linhas (entrelinha) de 12pt. Esta seção de “resumo” deverá existir apenas para artigos em português ou espanhol. Não há necessidade de espaço duplo entre parágrafos, o estilo de texto já está configurado com essa característica.

Palavras-chave: máximo de 05 (cinco) palavras-chave.

ABSTRACT

This text describes all styles present in template “Arquivo_Modelo.dot”, to be used with MSWord 6.0 or newer. This document begins with a general description of the format followed by a description of each style. A number between 200 and 300 words in the total for the abstract is suggested, preventing itself to use repetitive words.

Keywords: A maximum of 05 (five) keywords.

5. Conclusão;
6. Agradecimentos;
7. Bibliografia; 8. Anexo.

¹ . INTRODUÇÃO

A introdução deverá apresentar o tema do trabalho realizado, justificando o interesse baseado na literatura. Ele deverá ainda apresentar os objetivos do artigo.

Utilizar preferencialmente como estrutura geral a seguinte sequência:

- ² . Introdução;
- ³ . Materiais e Métodos;
- ⁴ . Resultados;
- ⁵ . Discussão;

7. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção deverá descrever todos os materiais, procedimentos e métodos usados na parte experimental ou teórica do trabalho.

Um ou mais anexos podem ser usados para descrever detalhes do arranjo experimental, de fabricação ou desenvolvimentos matemáticos usados no decorrer do trabalho.

Alguns artigos podem incluir uma revisão bibliográfica entre a introdução e os materiais e métodos.

2.1 Formatação

Todo o corpo de texto deverá ser escrito em uma coluna, no tipo Times New Roman com letras corpo/tamanho 10pt. Os títulos serão grafados em maiúsculas (CA, CAIXA ALTA) e os subtítulos em maiúsculas e minúsculas (Cab, Caixa alta e baixa), no tipo Arial Negrito, com letras corpo/tamanho 9pt. Nesses casos o espaço entre as linhas (entrelinhas) será sempre de 12pt.

As aberturas entre títulos ou subtítulos e o início dos textos, recuos e espaços entre parágrafos constam dos seus estilos específicos e estão configuradas neste documento.

O modelo preferencial de apresentação de tabelas está exemplificado na Tabela 1, cuja configuração consta dos seus estilos específicos, conforme comentários ao lado.

Tabela 1: Dimensões das páginas para todo o texto.

NOME	DIMENSÃO	UNIDADE
Papel A4	210 x 297	milímetros (mm)
Margem superior	2,5	centímetros (cm)
Margem inferior	2,5	centímetros (cm)
Margem esquerda	3,0	centímetros (cm)
Margem direita	2,5	centímetros (cm)
Cabeçalho	1,25	centímetros (cm)
Rodapé	1,25	centímetros (cm)

8. RESULTADOS

Esta seção deverá apresentar todos os resultados obtidos com as informações necessárias para se verificar com segurança os valores medidos e correspondente significância. Muito embora os resultados possam ser apresentados juntos com a discussão do seu significado, é sugerido que uma profunda discussão, baseada em informações da literatura seja apresentada em uma seção separada.

Cuidar para que na apresentação de todos os resultados experimentais tenha uma análise estatística, incluindo desvio padrão das medidas e barras de erro nos gráficos.

Um ou mais anexos podem ser usados para mostrar detalhes dos resultados analisados que venham a tornar a seção sobrecarregada.

3.1 Modelos de formatação no MSWord

Todos os estilos configurados neste documento para formatação dos artigos publicados na revista Matéria constam da Tabela 2, com as características básicas de cada um.

Tabela 2: Resumo dos formatos de cada estilo.

ESTILO	TIPO DA LETRA	CORPO/ ENTRELINHA	GRAFIA	ENTRELINHA ANTES	ENTRELINHA DEPOIS
01. título do artigo	Arial negrito	13pt/15pt	Maiúscula e minúscula (CAb) Caixa Alta e Baixa	28 pt	-

01. título do artigo_ idioma	Arial regular	13pt/15pt	Maiúscula e minúscula (CAB) Caixa Alta e baixa	15 pt	-
01. autor	Times New Roman	10pt/12pt	Maiúscula e minúscula (CAB) Caixa Alta e baixa	15 pt	-
01. informações do autor	Times New Roman	9 pt/12pt	Maiúscula e minúscula (CAB) Caixa Alta e baixa	28 pt	-
02. resumo/ abstract_título	ARIAL NEGRITO	9pt /12pt	MAIÚSCULA (CA) CAIXA ALTA	15 pt	3 pt
02. resumo/ abstract_texto	Times New Roman	10pt / 12pt	Sentença, texto corrido	-	3 pt
00. título	ARIAL NEGRITO	9pt / 12pt	MAIÚSCULA (CA) CAIXA ALTA	15 pt	3 pt
00. título_introdução	ARIAL NEGRITO	9pt / 12pt	MAIÚSCULA (CA) CAIXA ALTA	15 pt	3 pt
00. subtítulo normal	Arial Negrito	9pt / 12pt	Maiúscula e minúscula (CAB) Caixa Alta e baixa	15 pt	3 pt
00. texto sem entrada	Times New Roman	10pt /12pt	Sentença, texto corrido	-	3 pt
00. texto com entrada	Times New Roman	10pt /12pt	Sentença, texto corrido	-	3 pt
03. tabela títulos	ARIAL NEGRITO	8pt/11pt	MAIÚSCULA (CA) CAIXA ALTA	-	-
03. tabela básica	Times New Roman	9pt /11pt	Maiúscula e minúscula (CAB) Caixa Alta e baixa	-	-
03. tabela_legenda	Times New Roman	9pt /11pt	Sentença	15 pt	9 pt
04. figura	Times New Roman	9pt /12pt	-	6 pt	-
04. figura_legenda	Times New Roman	9pt /12pt	-	9 pt	15 pt
05. bibliografia	Times New Roman	10pt /12pt	Sentença, texto corrido	-	3 pt
06. retranca	Times New Roman	8 pt/ 11 pt	Sentença	-	-
06. rodapé	Times New Roman	8 pt/ 11 pt	Sentença	-	-
07. lista	Times New Roman	10pt /12pt	Sentença	-	-

3.2 Figuras

As figuras são apresentadas na revista *Matéria* com o título em negrito/bold e a legenda deverá ser posicionada após a figura, como mostrado na Figura 1.



Figura 1: Logotipo da revista.

Para garantir uma boa legibilidade, as figuras que forem geradas como imagens deverão ser salvas em formato jpg., com resolução mínima de 300 dpi, formato mínimo de 1024 pixels pelo lado maior. Os originais devem ser enviados em anexo aos arquivos dos artigos para que possamos fazer eventuais acertos. A figura deverá estar localizada e dimensionada no corpo do artigo.

9. DISCUSSÃO

Esta é a seção adequada do artigo para se adicionar conteúdo científico, pela análise dos resultados apresentados com o devido suporte da literatura e pelo modelamento e simulação de comportamentos e condições específicas.

4.1 Equação

Este estilo é usado para alinhar o objeto MS Equation e o seu respectivo número. Seu estilo é baseado no estilo “Texto”, com a diferença que ele apresenta uma dupla tabulação: a primeira para o objeto MS Equation, ajustada para a margem esquerda, e a segunda para a numeração de equação, ajustada para a margem direita. A tabulação é realizada por meio de uma tabela sem bordas e sem preenchimentos. O espaçamento entre linhas é simples; o espaço antes e depois é de 12 pt. É possível introduzir espaço entre parágrafos do mesmo estilo. Cada parágrafo seguinte possui o mesmo estilo.

Toda equação deverá estar inserida como figura alinhada à esquerda com recuo de 10 mm. A numeração da equação deverá estar alinhada pela direita tabulada na mesma linha da equação, como mostra o exemplo abaixo.

$$y = ax + b \tag{1}$$

Para inserir duas equações seguidas, pode-se copiar a linha anterior e colar na seguinte, o estilo estará automaticamente aplicado. Todas as equações deverão ser numeradas sequencialmente.

10. CONCLUSÕES

As conclusões deverão ser concisas e representar os aspectos mais importantes encontrados durante o desenvolvimento do trabalho reportado. Elas devem tentar apontar os avanços científicos e/ou tecnológicos e/ou teóricos efetivamente realizados.

11. AGRADECIMENTOS

Nesta seção podem ser dados os créditos aos suportes recebidos no trabalho.

12. BIBLIOGRAFIA

A revista *Matéria* utiliza referências numeradas: as citações dos trabalhos devem ser indicadas no texto pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es), em letras maiúsculas (CA), seguido(s) pelo número da referência entre colchetes, quando o(s) sobrenome(s) fizer(em) parte da frase. Caso contrário, apenas pelo número entre colchetes. Exemplos:

Para artigo com autor único:

“... IESAN [2] mostrou que ...” ou “... foi mostrado [2] que...” Para artigo com dois autores:

“...IESAN e ABRAHAM [1] encontraram que ...” ou “... foi encontrado [1] ...” Para artigo com mais de dois autores:

ABRAHAM *et al.* [1] calcularam ...” ou “... foi calculado [1] ...” Para tema relativo a mais de um artigo:

“... o problema de radiação térmica foi tratado [8, 9] de acordo com ...”

A lista de referências, ao final do artigo, deve fornecer ao leitor as informações precisas para facilitar qualquer consulta. Tais informações devem estar separadas por vírgula e não ponto ou ponto-e-vírgula. Para citações feitas no corpo do texto, a expressão *et al.* é usada para todos os artigos que possuem mais de dois autores.

Diversas informações devem ser dadas de acordo com o tipo de publicação, como veremos a seguir. Além do(s) nome(s) do(s) autor(es) que devem ser grafadas como mostram os exemplos ao final de cada subitem, as informações que devem figurar na bibliografia são:

7.1 Citação de livros

título (itálico)
edição (1ª, 2ª, etc.)
local editora ano
da publicação

Exemplo:

- [1] ABRAHAM, R., MARSDEN, J.E., RATIU, T., *Manifolds, tensor analysis and applications*, 2 ed., New York, Springer-Verlag, 1988.

7.2 Citação de artigos em periódicos

título
do artigo, entre aspas
nome do periódico (sem abreviações e em itálico)
volume número páginas inicial e final do artigo, após
a abreviatura pp. mês e ano da publicação Exemplo:

- [2] IESAN, D., “Existence theorems in the theory of mixtures”, *Journal of Elasticity*, v. 42, n. 2, pp. 145163, Feb. 1996.

7.3 Citação de relatórios de pesquisa

título (itálico)
In: identificação da procedência do relatório (só use “In” quando o relatório tiver mais de um trabalho) ano da publicação

Exemplo:

- [3] GARRET, D.A., *The microscopic detection of corrosion in aluminum aircraft structures with thermal neutron beams and film imaging methods*, In: Report NBSIR 79-1434, National Bureau of Standards, Washington, D.C., 1977.

7.4 Citação de artigos em anais

título
do artigo, entre aspas
In: *anais do congresso*. . . (iniciais em maiúsculo e em itálico)
volume páginas inicial e final do artigo, após a abreviatura
pp.
local mês e ano da
publicação Exemplo:

- [4] GURTIN, M.E., “On the nonlinear theory of elasticity”, In: *Proceedings of the International Symposium on Continuum Mechanics and Partial Differential Equations: Contemporary*

Developments in Continuum Mechanics and Partial Differential Equations, pp. 237-253, Rio de Janeiro, Aug. 1977.

7.5 Citação de artigo em congresso sem publicação em anais

título do artigo, entre aspas
nome do congresso (iniciais em maiúsculo e em itálico) número
do artigo
local mês e ano da
publicação

Exemplo:

- [5] BERNUSSI, A.A., IIKAWA, F., MOTISUKE, P., *et al.*, “Photorefectance characterization of δ doped p-GaAs”, In: *International Conference on Modulation Spectroscopy*, 1286-32, San Diego, California, USA, 19-21 March 1990.

7.6 Citação de artigo em livro (série) título

do artigo, entre aspas
In: *título do livro* (iniciais em maiúsculo e em itálico) volume
título da série (itálico) editora páginas inicial e final
do artigo, após a abreviatura pp. ano da publicação
Exemplo:

- [6] COWIN, S.C., “Adaptive anisotropy: An example in living bone”, In: *Non-Classical Continuum Mechanics*, v. 122, *London Mathematical Society Lecture Note Series*, Cambridge University Press, pp. 174-186, 1987.

7.7 Citação de capítulo de livro título do capítulo, entre

aspas In: editor do livro, editor ou editores *título do livro* (iniciais em maiúsculo e em itálico)
edição capítulo local editora ano da publicação

Exemplo:

- [7] EDWARDS, D.K. “Thermal radiation measurements”, In: Eckert, E.R.G., Goldstein, R.J. (eds), *Measurements in Heat Transfer*, 2 ed., chapter 10, New York, USA, Hemisphere Publishing Corporation, 1976.

7.8 Citação de tese

título (itálico) grau
M.Sc./ D.Sc.
instituição
local ano da
defesa

Exemplo:

- [8] PAES JUNIOR, H.R., *Influência da espessura da camada intrínseca e energia do fóton na degradação de células solares de silício amorfo hidrogenado*, Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1994.

7.9 Citação de referências de páginas na Internet nome do(s) autor(es) em

Maiúsculas e Minúsculas (Cab), quando houver nome do website em
letras maiúsculas (CA) endereço eletrônico completo da informação
citada data de consulta

Exemplo:

- [9] Editoria, REVISTA MATÉRIA, <http://www.materia.coppe.ufrj.br>. Acessado em setembro de 2004.

7.10 Para informações adicionais, consultar as publicações citadas abaixo

ANÔNIMO (1989), NB-66: *Referências Bibliográficas*. Rio de Janeiro, ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas.

CAMARINHA, M., BRAYNER, S. (1993), *Manual de normas técnicas de editoração: teses, monografias, artigos, papers*. 2 ed., Rio de Janeiro, Editora UFRJ.