

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

WALTER GLEYBSON ANTAS DE MORAIS

**OBTENÇÃO DE MEMBRANAS POROSAS DE QUITOSANA / *Cissus verticillata*
(L.) Nicolson & C. E. Jarvis PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

**PATOS - PB
2018**

WALTER GLEYBSON ANTAS DE MORAIS

**OBTENÇÃO DE MEMBRANAS POROSAS DE QUITOSANA / *Cissus verticillata*
(L.) Nicolson & C. E. Jarvis 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 a obtenção do título de bacharel em odontologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Rosana Araújo Rosendo.

**PATOS - PB
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

M827o Morais, Walter Gleybson Antas de
 Obtenção de membranas porosas de quitosana / *Cissus verticillata* (L.)
Nicolson & C. E. Jarvis para aplicação como biomaterial / Walter Gleybson
Antas de Morais. – Patos, 2018.
 44f.; il.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

 "Orientação: Profa. Dra. Rosana Araújo Rosendo."

Referências.

1. Biomateriais. 2. Quitosana. 3. Membranas. I. Título.

CDU 616.314

WALTER GLEYBSON ANTAS DE MORAIS

**OBTENÇÃO DE MEMBRANAS POROSAS DE QUITOSANA *Cissus verticillata*
(L.) Nicolson & C. E. Jarvis 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 a obtenção do título de bacharel em odontologia.

Aprovado em: 28/06/18.

BANCA EXAMINADORA

Rosana Araújo Rosendo.

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

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

Prof.^a Dr.^a Maria Angélica Sátyro Gomes Alves – 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Ana Carolina Lyra de Albuquerque

Prof.^a Dr.^a Ana Carolina Lyra de Albuquerque – 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

DEDICO

A Deus,

por toda proteção, benção e por me mostrar sempre o caminho certo a seguir.

À minha avó,

Maria Helena de Moraes por todo apoio, incentivo e confiança. Por ser um exemplo e acreditar em mim com tanto amor, fazendo de meus sonhos seus sonhos.

À minha família,

pai, mãe e irmãs, por todo apoio, carinho e cuidado. Pela compreensão da ausência e pelos sacrifícios realizados para me manter na universidade distante de casa.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, *Prof^{ta}. Dr^a. Rosana Araújo Rosendo*, pela escolha e confiança a mim designada. Por toda dedicação, paciência e incentivo. É um exemplo de profissional e ser humano, e sou grato a Deus pela sua existência em minha vida.

À minha dupla e amiga *Mylena Régis*, pela amizade e companheirismo durante esses anos.

A minhas grandes amigas *Marcela Tavares, Mirla Lays e Geisa Maciel*, pela amizade construída, pelo carinho, amor e sentimento que nos fez família.

Ao meu grupo de pesquisa Lbio, *Elizandra Penha, Luanna Abílio, Rafael Rodrigues, Antonielson do Santos, Alberto Souza, Ana Beatriz Máximo, Denis Candeia*, pelo companheirismo e sucesso conquistado.

À Prof^a. Dr^a. *Ana Carolina Lyra de Albuquerque*, pelo exemplo de profissional e dedicação à docência.

À Prof^a. Dr^a. *Maria Angélica Sátyro Gomes Alves*, por todo carinho e atenção, por ter estado sempre disposta a ajudar e me acolher na primeira experiência com o Programa de Extensão.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. *Maria Carolina Bandeira Macena e Fátima Roneiva Alves Fonseca* pela convivência em três períodos com a ortodontia, disciplina dos meus olhos, através do programa de monitoria. Por estarem disponíveis e dispostas a ajudar no que fosse preciso.

A minha amiga *Karol Lins*, por ter me recebido sempre que precisei ir à Campina Grande para realização da pesquisa. Por todo amor e carinho que envolve essa irmandade.

Por fim, a *todos os docentes desta casa, amigos e colegas* que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento pessoal e profissional, inculcando-me o gosto pela Odontologia e mostrando-me que posso ser maior e melhor que já sou.

"Nada é tão nosso quanto nossos sonhos".

Nietzsche

RESUMO

O presente trabalho objetivou desenvolver e avaliar comparativamente membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis (insulina) para aplicação como biomaterial. Foi realizada a coleta, identificação botânica da planta e obtenção do extrato alcoólico bruto (EAB) da mesma. Utilizou-se a técnica de evaporação do solvente para obtenção das membranas de quitosana e quitosana com EAB. As membranas foram neutralizadas com o hidróxido de amônio, postas para secar à temperatura ambiente e armazenadas individualmente. Foram formados três grupos de membranas: MQ – Membrana de Quitosana, MQ5 - Membrana de Quitosana com 5% de EAB e MQ20 - Membrana de Quitosana com 20% de EAB. As membranas foram caracterizadas através dos Testes de Molhabilidade e do Grau de Intumescimento. O teste de molhabilidade revelou que todas as membranas apresentaram valores do ângulo de contato menores que 90°, caracterizando um perfil hidrofílico, e que a presença da droga vegetal promoveu um aumento na hidrofilicidade das mesmas. A análise de intumescimento demonstrou que as médias das massas foram correspondentemente mais elevadas na forma intumescida do que na condição seca, havendo diferenças significativas entre os grupos. Concluiu-se, através das caracterizações realizadas, que as membranas apresentaram características favoráveis e esperadas para a utilização das mesmas como biomaterial.

Palavras-chave: Biomateriais, Membranas, Quitosana.

ABSTRACT

The present work aimed to develop and comparatively evaluate chitosan porous membranes with different concentrations of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis (insulin) to be applied as a biomaterial. The collection, botanic identification of the plant and obtainment of the crude ethanolic extract (CEE) was carried out. The solvent evaporation technique was used in order to obtain the chitosan membranes and membranes with CEE. The membranes were neutralized with ammonium hydroxide, placed to dry at room temperature and stored individually. Three groups of membranes were formed: CM – Chitosan membrane, CM5 – Chitosan membrane with 5% of CEE and CM20 – Chitosan membrane with 20% of CEE. The membranes were characterized by means of the Wettability and the Swelling Degree Tests. The wettability test revealed that all the membranes presented contact angle values lower than 90°, characterizing a hydrophilic profile, and that the presence of the plant drug promoted an increase in their hydrophilicity. The analysis of the swelling demonstrated that the averages of the masses were correspondingly higher in the swollen form than in the dry condition, and there were significant differences between the groups. It is concluded, by the characterizations carried out, that the membranes presented favorable and expected characteristics for use as a biomaterial.

Keywords: Biomaterials, Membranes, Chitosan.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - (a) Apresentação das folhas e frutos de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis; (b) Prensa utilizada (1) e Imagem da espécie vegetal antes do processo de secagem na estufa artesanal (2).....25
- Figura 2 - (a) Pó das folhas da planta *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis; (b) Percolador de aço inox com o pó das folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis e álcool a 95%.....26
- Figura 3 - Evaporador rotatório R-210 BUCHI; (b) Extrato alcoólico bruto de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis.....27
- Figura 4 - (a) 30 g de quitosana; (b) 15 mL de ácido acético glacial para preparo da solução a 1%; (c) 1,5L de solução a 1% (v/v) de ácido acético glacial; (d) Solução de quitosana com ácido acético glacial sob agitação mecânica.....28
- Figura 5 - (a) Pesagem da droga vegetal; (b) Solução e droga vegetal nas concentrações de 5% e 20%; (c) Agitação mecânica para dissolução da droga vegetal em solução de quitosana.....29
- Figura 6 - (a) Deposição de 20 mL de cada solução obtida em placas de Petri; (b) Solução de quitosana em placas de Petri, acondicionadas em estufa bacteriológica a 37°C.....29
- Figura 7 - (a) Hidróxido de amônio utilizado no preparo da solução; (b) Membranas porosas sob atmosfera da capela de exaustão; (c) Amostras após secagem em temperatura ambiente; (d) Amostras armazenadas individualmente.....30
- Figura 8 - (a) Goniômetro desenvolvido por alguns pesquisadores do CERTBIO; (b) Gota de água destilada sob a superfície da amostra.....31
- Figura 9 - (a) Membranas porosas cortadas na dimensão de 1,0 x 1,0 cm; (b) Amostras na estufa microprocessada para redução da umidade das mesmas; (c) Pesagem das amostras a seco; (d) Amostras imersas em solução de PBS.....32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 DIABETES MELITO	14
2.1.1 CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA.....	14
2.1.2 CLASSIFICAÇÃO E ETIOLOGIA.....	14
2.1.3 TRATAMENTOS E CUSTOS GLOBAIS COM O DIABETES.....	15
2.2 FITOTERAPIA.....	15
2.2.1 PLANTAS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DO DIABETES MELITO / <i>CISSUS VERTICILLATA</i> (L.) NICOLSON & C. E. JARVIS	16
2.3 QUITOSANA	16
REFERÊNCIAS.....	18
6 ARTIGO CIENTÍFICO	21
7CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
ANEXO A – EDITORIAL DA REVISTA POLÍMEROS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Os biomateriais podem ser definidos como materiais não vivos que são utilizados na área médica ou biomédica, com o objetivo de interagir com o sistema biológico (SPIN-NETO et al., 2008). O uso de polímeros naturais para aplicações biomédicas é crescente, isso se deve à diversa capacidade de aplicação que possuem, sobretudo como biomateriais. Estes, por sua vez, podem estar associados a fármacos e serem utilizados como curativo para reparação tecidual (TOCCE et al., 2012). Nesse contexto, os biopolímeros naturais, como a quitosana, oriunda da desacetilação da quitina, obtida particularmente da carapaça de camarão, têm apresentado um grande potencial de utilização devido às suas características biológicas e funções terapêuticas (TAVARIA et al., 2013).

A quitosana tem sido considerada um biomaterial acelerador da reparação tecidual, com a capacidade de elevar a produção de matriz extracelular pelo aumento de produção de fatores de crescimento. Além disso, tem a capacidade de acelerar a infiltração de linfócitos polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização melhorando, desta forma, o processo cicatricial (SPIN-NETO et al., 2008).

Os sistemas de liberação de fármacos “Drug-delivery systems”, surgidos na década de oitenta, representam biomateriais usados na indústria como moderadores na transferência de drogas sistêmicas ou locais, com a capacidade de proporcionar controladas taxas de liberação da droga por um determinado tempo, com o mínimo de efeitos colaterais. Estudos têm demonstrado que a quitosana por ser permeável, pode ser usada para a liberação de medicamentos, sobretudo quando se requer uma liberação lenta e controlada dos mesmos (SPIN-NETO et al., 2008).

Diante da capacidade de estímulo à cicatrização associado à terapia através da liberação controlada de fármacos, a quitosana configura-se em uma opção terapêutica pra diferentes doenças, como por exemplo o diabetes melito, que é definido como uma patologia em que os níveis de glicose plasmática apresentam-se anormais, com elevações constantes, o que resulta da deficiência total ou parcial de insulina e prevalência excessiva total ou parcial do glucagon (MARTINS, 2001).

Por outro lado, muitas espécies vegetais têm sido utilizadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar os sintomas da diabetes melito, devido à atividade hipoglicemiante que possuem (BRAGA, 2008). Essa

atividade farmacológica está muitas vezes relacionada aos flavonóides constituintes das plantas, que atuam no aumento da liberação de insulina e estimulam os efeitos da insulina nas células (HAVSTEEN, 2002). A *Cissus verticillata* (L.) conhecida como “insulina vegetal” é um exemplo dessas plantas, sendo citado na literatura o uso do chá das suas folhas na medicina caseira em diversas regiões do país, motivando assim estudos botânicos, químicos e farmacológicos no Brasil e no exterior (LINO, 2008).

Mediante a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, prevendo o tratamento com plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde – SUS, conforme disposto na Portaria 971 de 3 de Maio de 2006 do Ministério da Saúde; e da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos através do Decreto nº 5.813, de 22 de Junho de 2006, este trabalho se propôs à obtenção de membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis, a fim de avaliar sua possível aplicação como biomaterial em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DIABETES MELITO

2.1.1 Conceito e epidemiologia

O diabetes melito (DM) é uma doença crônica que ocorre quando o corpo não produz insulina ou não consegue empregar de maneira adequada a insulina que produz. A insulina é o hormônio que regula a quantidade de glicose obtida pelo organismo através da alimentação como fonte de energia. O diabético não produz insulina ou não consegue utilizar a glicose adequadamente. Com isso, o nível de glicose sanguínea se eleva (hiperglicemia) e se o quadro permanecer por muito tempo podem haver danos em órgãos, vasos sanguíneos e nervos (SBD, 2018).

O Brasil está em 4º lugar no ranking mundial de ocorrência da doença, atrás apenas dos Estados Unidos, China e Índia. A Federação Internacional de Diabetes (FID) estima que o número de pessoas com diabetes no Brasil pode alcançar 19,2 milhões de pessoas em 2035 (FID, 2016).

2.1.2 Classificação e etiologia

A classificação do diabetes melito inclui quatro classes clínicas: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, outros tipos específicos de diabetes e diabetes gestacional (WHO, 2012). O diabetes tipo 1 representa 10% dos diabéticos (HOSSAIN, KATAR, EL NAHAS, 2007). Embora menos comum esse tipo de diabetes é o mais agressivo, estando sua etiologia diretamente relacionada à destruição das células beta do pâncreas (NEIVA, 2005).

O diabetes tipo 2 é o tipo adulto, isto é, o início geralmente ocorre após os 45 anos, representando 80% dos casos; embora já se tenha descrito que o diabetes tipo 2 está se manifestando mais precocemente, até mesmo na adolescência (ADA, 2000). A etiologia do tipo 2 de diabetes não está claramente estabelecida, mas a destruição auto-imune do pâncreas não está envolvida (ERBERLY et al., 2003).

A categoria outros tipos de diabetes melito contém várias formas de DM decorrentes de defeitos genéticos associados com outras doenças ou com o uso de fármacos diabetogênicos (OLIVEIRA, MILECH, 2004).

2.1.3 Tratamento e Custos Globais com o Diabetes

A insulinoaterapia constitui o item principal no tratamento do diabetes melito tipo 1, sendo essencial para a vida desses pacientes, mas pode vir a ser necessária, também, para o tratamento do diabetes melito tipo 2 (MATHEUS, AHMED, VILLAR, 2001).

Quanto ao tratamento do diabetes melito tipo 2, a prevenção primária, no que se refere aos fatores de risco, se faz com um regime alimentar saudável e atividade física regular. Essas ações preventivas reduzem ou adiam as necessidades de atenção à doença. A prevenção secundária inclui diagnóstico precoce e tratamento apropriado (OPAS, 2003).

Os custos do DM afetam o indivíduo, a família e a sociedade, porém não são apenas econômicos. Os custos intangíveis (p. ex., dor, ansiedade, inconveniência, e perda de qualidade de vida) também apresentam grande impacto na vida das pessoas com diabetes e seus familiares, o que é difícil de quantificar (SBD, 2015).

O uso de terapias menos onerosas para o tratamento de enfermidades crônico-degenerativas representa ganho importante nos investimentos humanos e financeiros empregados na área de saúde no Brasil. Assim, os fitoterápicos podem atuar como forma opcional de terapêutica levando em consideração o menor custo, e cujos benefícios adicionam-se aos da terapia convencional (BORGES, BAUTISTA, GUILERA, 2008).

2.2 FITOTERAPIA

As plantas são uma fonte de medicamentos para os seres humanos desde tempos imemoriais (RIZVI, MISHRA, 2013). O consumo de medicamentos de origem vegetal decorre, basicamente, do fato desses produtos representarem terapias de menor custo em relação àquelas normalmente oferecidas pela indústria farmacêutica. Atualmente, pode-se verificar um aumento do uso de fitoterápicos como recurso medicinal, isso devido ao alto custo dos medicamentos sintéticos, ao

difícil acesso à assistência médica e à cultura do uso de produtos naturais já estabelecida na sociedade (BEDAK et al., 2012).

2.2.1 Plantas utilizadas no tratamento do diabetes melito / *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis

Muitas espécies de plantas têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar os sintomas do diabetes melito. *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis é uma planta originária da República Dominicana. O gênero *Cissus* é o maior da família Vitaceae, sendo constituído de cerca de 350 a 400 espécies de trepadeiras, com uma distribuição pantropical (CANO, VOLPATO, 2004).

Na medicina popular, o chá das partes aéreas do *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis é utilizado como antiinflamatório, antiepiléptico, antihipertensivo, antitérmico, antireumático e antidiabético (SILVA, AKISUE, OGA, 1996).

No norte do Paraná, a *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis é conhecida como “insulina vegetal” e o chá das partes aéreas é utilizado no tratamento do diabetes melito tipo 2. O uso popular da *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis ocorre concomitantemente ou em substituição ao tratamento médico convencional (BELTRAME et al., 2001).

Rosendo (2009), analisando a eficácia da planta *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis, em pacientes com diagnóstico de diabetes melito tipo 2, através da concentração de glicose na saliva e no sangue, constatou que o infuso da *Cissus verticillata* (L.), foi capaz de produzir um efeito hipoglicemiante quando administrado por um período de oito semanas.

2.3 QUITOSANA

A quitosana é um biopolímero hidrofílico, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental (SPIN-NETO et al., 2008). Segundo Bruce (2006), trata-se de um polissacarídeo natural, derivado do processo de desacetilação da quitina, composta de unidades β -(1→4) D-glicosamina e β -(1→4) N-acetil-D-glicosamina.

A quitosana tem propriedades interessantes para aplicação em engenharia de tecido tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, acelera a recuperação de lesões, tem ação analgésica, reduz o nível do colesterol sanguíneo auxiliando na redução do peso, estimula os efeitos do sistema imunológico, além de ter se mostrado um composto bacteriostático e fungistático. Além disso, os resultados de sua degradação em organismos vivos que são as glicosaminas representam substâncias não tóxicas (BERGER et al., 2004).

A quitosana possui ainda propriedade imunomoduladora, o que se deve à sua capacidade de ativar quase que exclusivamente os macrófagos. Isto explica não só o papel da quitosana na aceleração da cicatrização de lesões, mas também a degradação desse polímero no organismo (FERNANDES, 2009). Sendo assim, vários estudos sobre a quitosana com aplicação em implantes, reconstituição de tecidos e liberação controlada de fármacos demonstraram o uso promissor desse material (LIMA, 2010).

REFERÊNCIAS

- ADA. American Diabetes Association. Type 2 diabetes in children and adolescents. **Diabetes Care**, v. 23, p. 381-389, 2000.
- BEDAK, M. R. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto Contexto Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 363-370, 2012.
- BELTRAME, F. L. et al. Estudo fitoquímico e avaliação do potencial antidiabético do *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 783-785, 2001.
- BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, 2004.
- BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes - utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p.12-20, 2008.
- BRAGA, T. V. **Avaliação da atividade farmacológica de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. verticillata como antioxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008, 202f.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos - Departamento de Assistência Farmacêutica. p. 60. Distrito Federal, 2006.
- BRUCE, P. K. **Química Orgânica**. Volume I e II. Editora Prentice Hall. 4. ed, 2006.
- CANO, J. H.; VOLPATO, G. Herbal mixtures in the traditional medicine of eastern Cuba. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 293-316, 2004.
- ERBERLY, L. E.; COHEN, J. D.; PRINEAS, R.; YANG, L. Impact of incident diabetes and incident nonfatal cardiovascular disease on 18-year mortality: the multiple risk factor intervention trial research group. **Diabetes Care**, v. 26, n. 3, p. 848-854, 2003.
- FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. **IDF Diabetes Atlas**. 6th ed. Brussels: International Diabetes Federation. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso em: 20 mai. 2018.
- FERNANDES, L. L. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e de quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. Projeto de Graduação do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009, 63f.
- HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, p. 67-202, 2002.

HOSSAIN, P.; KATAR, B.; EL NAHAS, M. Obesity and diabetes in the developing world - a growing challenge. **New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 63, p. 213-215, 2007.

LIMA, R. S. C. **Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Curso de Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010, 112f.

LINO, C. S. **Efeitos antidiabético, antioxidante, analgésico e antiinflamatório da fração solúvel em metanos e tiramina isolados de *Cissus verticillata***. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008, 190f.

MARTINS, D. V. Metabolismo dos carboidratos. In CORONHO, V. et al. (Ed). **Tratado de Endocrinologia e cirurgia endócrina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p. 918-923.

MATHEUS, D. R.; AHMED, S.; VILAR, L. Tratamento Farmacológico do Diabetes Tipo 2. In: VILLAR L.; CASTELLAR, E.; MOURA, E.; LEAL, E.; MACHADO, A. C.; TEIXEIRA, L.; CAMPOS, R. **Endocrinologia Clínica**. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda, 2001, p. 535-557.

NEIVA, P. Diabetes: o início de uma revolução. **Revista VEJA**. São Paulo: Editora Abril, n. 39, set., 2005.

OLIVEIRA, J. E. P.; MILECH, A. **Diabetes: passado, presente e futuro**. In: OLIVEIRA, J. E. P.; MILECH, A. Diabetes Mellitus: clínica, diagnóstico, tratamento interdisciplinar. São Paulo: Atheneu, 2004, p. 1-6.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde**/ Organização Pan-Americana de Saúde. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.opas.org.br>>. Acesso em: 18 mai. 2018.

RIZVI, S.; MISHRA, N. Traditional Indian Medicines Used for the Management of Diabetes Mellitus. **Journal of Diabetes Research**, p. 1-11, 2013.

ROSENDO, R. A. **Avaliação da eficácia da *Cissus verticillata* (L.), em portadores de diabetes melito tipo 2, através da concentração de glicose na saliva e no sangue**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Odontologia), Universidade Federal da Paraíba/CCS, João Pessoa, 2009, 95f.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2014-2015**/Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: AC Farmacêutica, p. 1-3, 2015.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. **O que é diabetes?**. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/oque-e-diabetes>>. Acesso em: 10 jun. 2018.

SILVA, G. A.; AKISUE, G.; OGA, S. Ensaio Farmacológico de Ação Hipoglicemiante dos Extratos Fluidos de *Cissus sicyoides* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 144-155, 1996.

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

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.

TOCCE, E. J. et al. Functionalization of reactive polymer multilayers with RGD and an anti-fouling motif: RGD density provides control over human corneal epithelial cell-substrate interactions. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. Hoboken, v. 100, n. 1, p. 84-93, 2012.

WHO, (2012). **World Health Organization**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

3 ARTIGO CIENTÍFICO



OBTAINMENT MEMBRANES OF CHITOSAN/*Cissus verticillata* (L.) FOR APPLICATION AS BIOMATERIAL

Journal:	<i>Polimeros</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Morais, Walter; Universidade Federal de Campina Grande, UACB Siqueira, Rafael; Universidade Federal de Campina Grande, UACB Rosendo, Rosana; Universidade Federal de Campina Grande, UACB Medeiros, Luanna ; Universidade Federal de Campina Grande, UACB Fook, Marcus ; Universidade Federal de Campina Grande, CERTBIO/DEMa/UFCG Barbosa, Rossemberg ; Universidade Federal de Campina Grande, CERTBIO/DEMa/UFCG Régis, Mylena ; Universidade Federal de Campina Grande, UACB Neto, Antônio ; Universidade Federal de Campina Grande, UACB
Keyword:	Biomaterials, Chitosan, Membranes

SCHOLARONE™
Manuscripts

OBTAINMENT MEMBRANES OF CHITOSAN/*Cissus verticillata* (L.) FOR APPLICATION AS BIOMATERIAL

Walter Gleybson Antas de Moraes^{1*}, Rosana Araújo Rosendo², Luanna Abílio Diniz Melquiades de Medeiros³, Marcus Vinícius Lia Fook⁴, Rosemberg Cardoso Barbosa⁵, Mylena de Araújo Régis⁶, Antônio Alberto Souza Neto⁷, Rafael Rodrigues de Siqueira⁸

1 Undergraduate Student of the Bachelor's Degree in Dentistry, Academic Unit of Biological Sciences (Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Dr. José Genúino Street, N° 124, apt 15, Centro; Zip code. 58700-050, Patos, Paraíba, Brazil)

2 Adjunct professor of the Biological Sciences academic Unit (Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Pedro Firmino Street, No Number, Salgadinho; Zip code. 58700-350, Patos, Paraíba, Brazil)

3 Adjunct professor of the Biological Sciences academic Unit (Universidade Federal de Campina Grande,, Campus de Patos, João Soares Street, N° 127, Brasília; Zip Code.58700-318, Patos, Paraíba, Brazil)

4 Professor of the Graduate program in Science and Materials Engineering/DEMA/UFCG (Coordinator of the laboratory CERTBIO/DEMa/UFCG, student of productivity of CNPQ, Benecio Ribeiro de Brito Street, N° 88, apt. 101, Itarare; Zip code. 58411-040, Campina Grande, Paraíba, Brazil)

5 Doctor researcher of the National program of post doctorate (PNPD/UFCG, São Paulo Street, N° 507, Liberdade; Zip code. 58414-075 Campina Grande, Paraíba, Brazil)

6 Undergraduate Student of the Bachelor's Degree in Dentistry, Academic Unit of Biological Sciences (Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Coronel Américo Porto Street, N° 303, Alto Branco; Zip code.58401-381, Campina Grande, Paraíba, Brazil)

7 Undergraduate Student of the Bachelor's Degree in Dentistry, Academic Unit of Biological Sciences (Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Dr. Manoel de França Street, No number, Centro; Zip code. 521600-00, Coreaú, Ceará, Brazil).

8 Undergraduate Student of the Bachelor's Degree in Dentistry, Academic Unit of Biological Sciences (Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Jeová Bezerra Street, N° 56-a, Centro; Zip code. 58700-090, Patos, Paraíba, Brazil).

*walter_morais18@hotmail.com

Abstract

The present work aimed to develop and comparatively evaluate chitosan porous membranes with different concentrations of *Cissus verticillata* (L.)

Nicolson & C. E. Jarvis (insulin) to be applied as a biomaterial. The collection, botanic identification of the plant and obtainment of the crude ethanolic extract (CEE) was carried out. The solvent evaporation technique was used in order to obtain the chitosan membranes and membranes with CEE. The membranes were neutralized with ammonium hydroxide, placed to dry at room temperature and stored individually. Three groups of membranes were formed: CM – Chitosan membrane, CM5 – Chitosan membrane with 5% of CEE and CM20 – Chitosan membrane with 20% of CEE. The membranes were characterized by means of the Wettability and the Swelling Degree Tests. The wettability test revealed that all the membranes presented contact angle values lower than 90°, characterizing a hydrophilic profile, and that the presence of the plant drug promoted an increase in their hydrophilicity. The analysis of the swelling demonstrated that the averages of the masses were correspondingly higher in the swollen form than in the dry condition, and there were significant differences between the groups. concluded, by the characterizations carried out, that the membranes presented favorable and expected characteristics for use as

Keywords: Biomaterials, Chitosan, Membranes.

1. Introduction

Biomaterials can be defined as non-living materials that are used in the medical or biomedical field, with the objective of having interactions with the biological system (SPIN-NETO et al., 2008). Among the biomaterials, the polymers are highlighted, whose biomedical applications have been increasing, due to the diverse applications they possess. Biomaterials may be associated with drugs and be used as a curative for tissue repair (TOCCE, et al; 2012). In this context, natural biopolymers, such as Chitosan, derived from the deacetylation of the chitin, obtained particularly from the shell of shrimp, have presented a great potential for use due to their biological characteristics and therapeutic functions (TAVARIA et al., 2013).

Biomaterials have been employed in drug release systems as moderators in the transfer of systemic or local drugs, with the ability to provide controlled drug release rates for a given time, with minimal side effects. Studies have shown that chitosan, because it is permeable, can be used for the release of medicines, especially when it requires a slow and controlled release of the same (SPIN-NETO et al., 2008).

Many plant species have been used experimentally to treat the symptoms of mellitus diabetes due to their hypoglycemic activities (BRAGA, 2008). This pharmacological activity is often related to plant constituent flavonoids, which act to increase insulin release and stimulate the effects of insulin on cells (HAVSTEEN, 2002). The *Cissus verticillata* (L.),

known as "vegetable insulin", is an example of these plants, being cited in the literature through the use of the tea of its leaves in home medicine in various regions of the country, motivating botanical, chemical and pharmacological studies in Brazil and abroad (LINO, 2008).

Mellitus Diabetes (DM) is a chronic disease that occurs when the body does not produce insulin or when it can not properly use the insulin it produces. Insulin is the hormone that regulates the amount of glucose obtained by the body through food as a source of energy. Diabetic patients does not produce this hormone or can not use the glucose properly. In this way, the blood glucose level rises (hyperglycemia) and if the frame remains for a long time there may be damage to organs, blood vessels and nerves (SBD, 2018).

In view of the approval of the National Policy of Integral and Complementary Practices, providing for the treatment with medicinal plants and herbal remedies in the Single Health System – SUS, as laid down in the 971 of May 3, 2006 of the Ministry of Health; and the National Policy of Medicinal and Herbal Plants through Decree n ° 5,813, of June 22, 2006, this work aimed at obtaining porous membranes of chitosan with different concentrations of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis, in order to assess its possible application as biomaterial in patients with diabetes mellitus type 2.

2. Materials and Methods

2.1 Research Type

It is a laboratory research, *in vitro* and quantitative.

2.2 Local

The research was developed at CERTBIO, located in the Academic Unit of Materials Engineering, at the Federal University of Campina Grande/UFCG.

2.3 Materials

- Chitosan of medium molecular mass, with a degree of deacetylation around 90% and crystallinity degree of approximately 50%; Produced in CERTBIO – UFCG.
- Glacial Acetic Acid P.A., Sigma Aldrich®.
- Ammonium hydroxide 28-30% P.A.-molar mass 35.05 g/mol, Neon.
- *Phosphate Buffered Saline* (PBS) - Sigma Aldrich®.
- Alcoholic extract of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis.

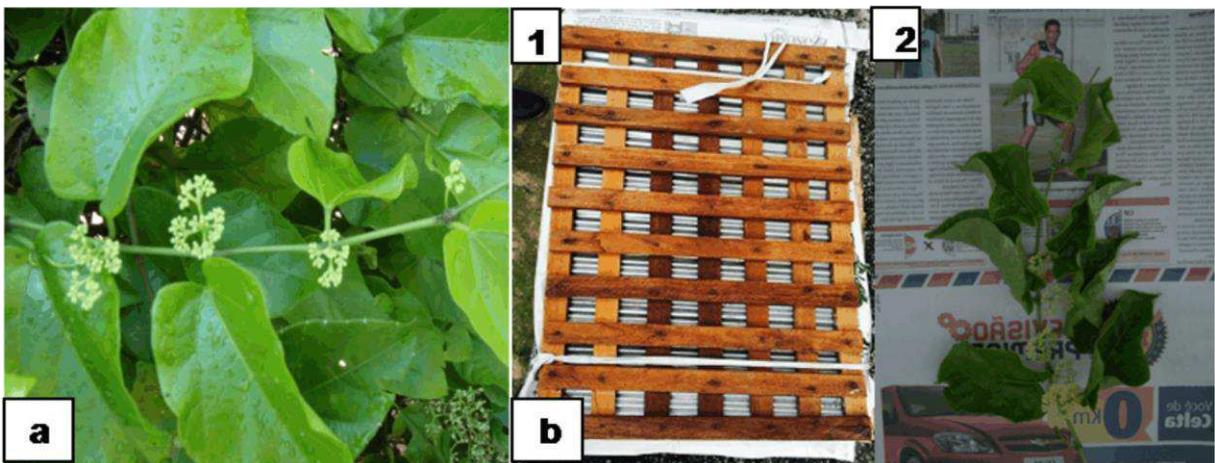
2.4 Vegetable Material

Cissus verticillata (L.) Nicolson & C. E. Jarvis.

2.4.1 Plant collection and identification

The vegetable drug was extracted from the plant *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis, obtained in the Medicinal Plant Nursery of the Institute of Pharmaceutical and Drug Research (IPEFarM) of the Federal University of Paraíba (UFPB), where the plant is cultivated. Air parts (leaves and fruits) of fresh adult plants were pressed and then placed for drying in a handmade kiln for 72 hours, for the preparation of exsiccates (Figure 1). The botanical identification of the plant was carried out, and representative samples of the exsiccates were deposited in the Herbarium of the CSTR, located at the Rural Health and Technology Center (CSTR/UFCG), under the tipping number – CSTR 5170.

Figure 1. (a) presentation of the leaves and fruits of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis; (b) press used (1) and image of the plant species before the drying process in the handmade greenhouse (2).



Source: ROSENDO, 2016.

2.4.2 Obtaining the plant extract

- **Drying Process**

The leaves were dehydrated in greenhouse with circulating air, at 38 °C, for 72 hours, and crushed in a Harley-like mill, following the methodology of Vasconcelos (2004).

- **Preparation of the vegetable extract**

The alcohol Extract (EA) of the dust from the leaves of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis was prepared through the method of re-maceration. The dry leaf

powder was extracted with alcohol at 95% at room temperature (26 ° C), in a stainless steel percolator, and left at rest for 72 hours. This method was chosen to obtain the exhaustive extraction of the constituents of the plant (Figure 2).

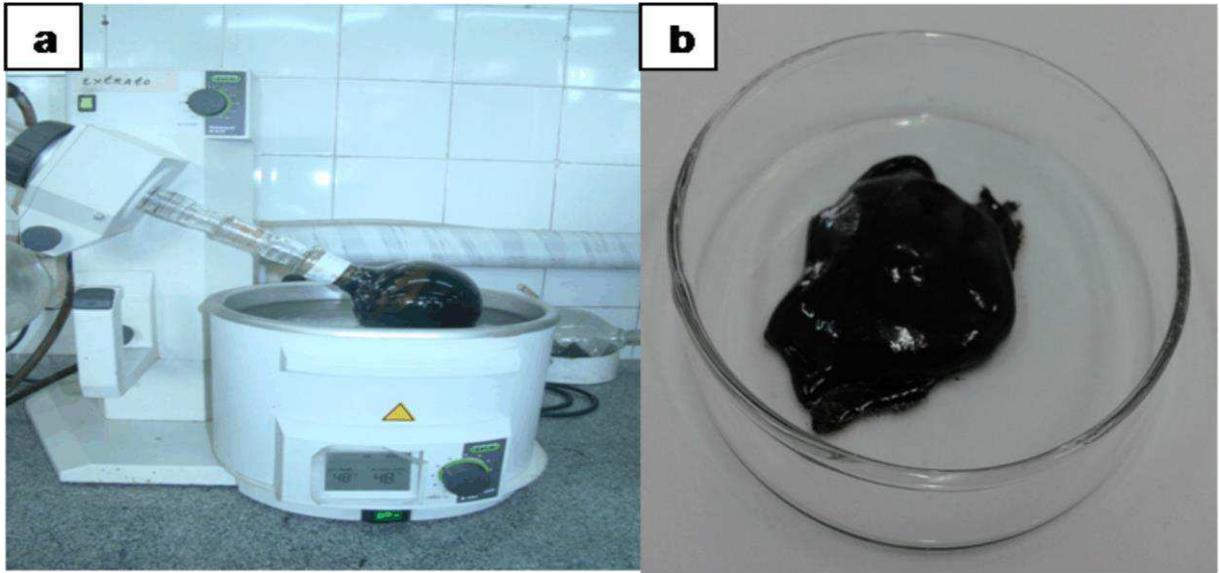
Figure 2. (a) Powder of the leaves of the plant *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis; (b) Stainless steel percolator with the powder of the leaves of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis and 95% alcohol.



Source: ROSENDO, 2016.

Then the material was filtered and subjected to a new extraction for 48 hours. Thus, this procedure was repeated for exhaustive extraction of the plant material. The PH of the filtrate obtained was measured and then placed in a rotating evaporator R-210 Buchi at the pressure of 64 Bar with temperature of 40 °C, for a period of 48 hours. In the end, it was obtained a dark material, hygroscopic, called crude alcoholic extract (EAB), in an amount of 85.8 g (Figure 3).

Figure 3. (a) Rotary evaporator R-210 BUCHI; (b) Crude alcoholic extract of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis.

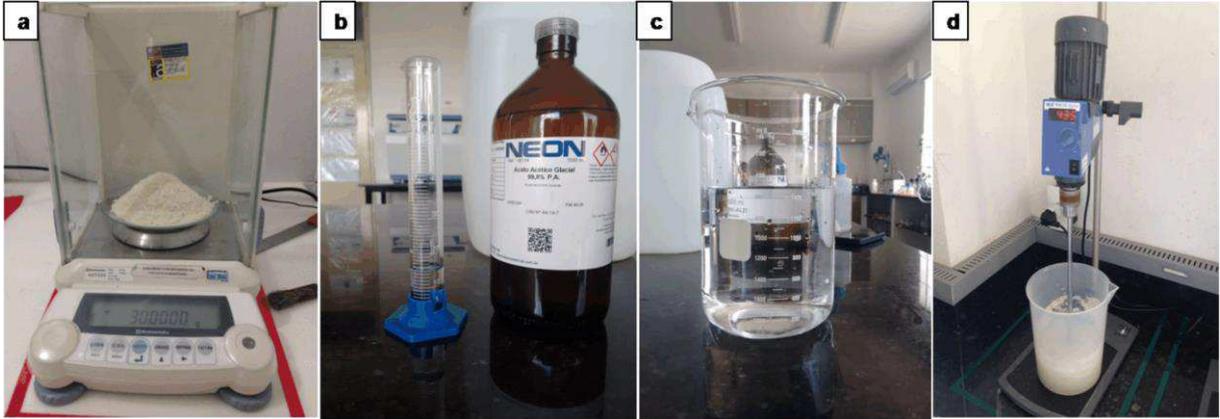


Source: ROSENDO, 2016.

2.4.3 Methodology of the preparation of the porous membranes of chitosan without and with the incorporation of the vegetable drug.

The Chitosan solution was prepared by the dissolution of 30g of chitosan in 1, 5l of a 1% (V/V) solution of glacial acetic acid under mechanical agitation for 24 h to 430 rpm (Figure 4). 20 mL of the solution was added in acrylic Petri dishes with diameters of 55x13mm. The chitosan of medium molecular mass, produced by CERTBIO, was employed for the preparation of the solution and the glacial acetic acid P. A. was employed as a solvent for the chitosan.

Figure 4. (a) 30 g of chitosan; (b) 15 ML of glacial acetic acid for preparation of 1% solution; (c) 1, 5l of 1% (V/V) glacial acetic acid solution; (d) Chitosan solution with glacial acetic acid under mechanical agitation.

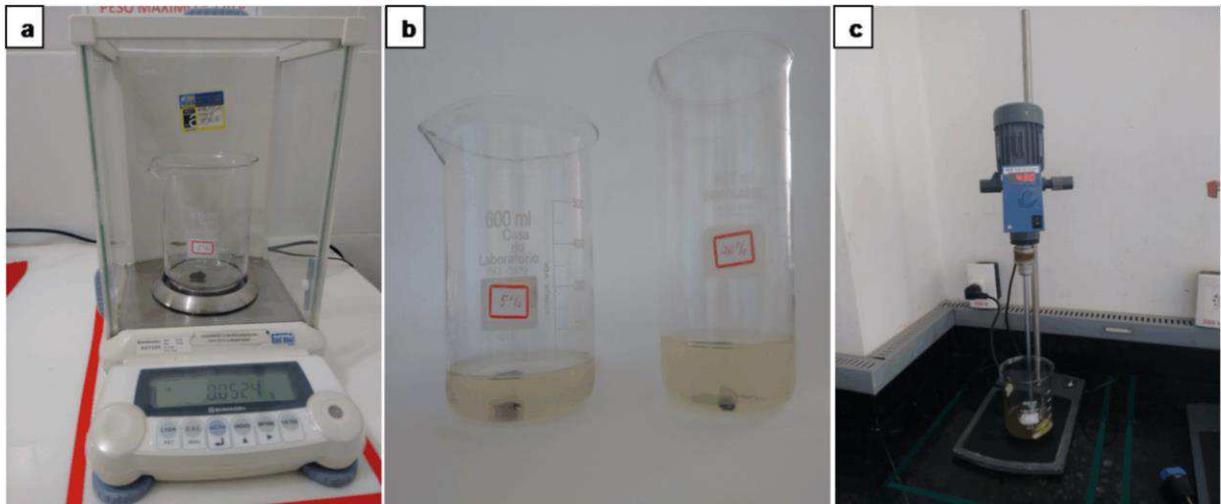


Source: MORAIS, 2017.

The preparation of the porous membranes containing the vegetable drug was performed by dissolving in 100 ML of the chitosan solution, 5% and 20% of the plant drug, in proportion to the concentration of chitosan employed. These solutions were also placed in the mechanical agitator for 2 h to 550 rpm, until the plant drug was dissolved homogeneously (Figure 5). The concentrations of the vegetable drug were selected based on the studies developed by Rosendo (2009) which used 1.0 gram of powder of the leaves of *Cissus verticillata* (L.) in patients, being this dosage considered ideal to be employed by the population as therapeutic.

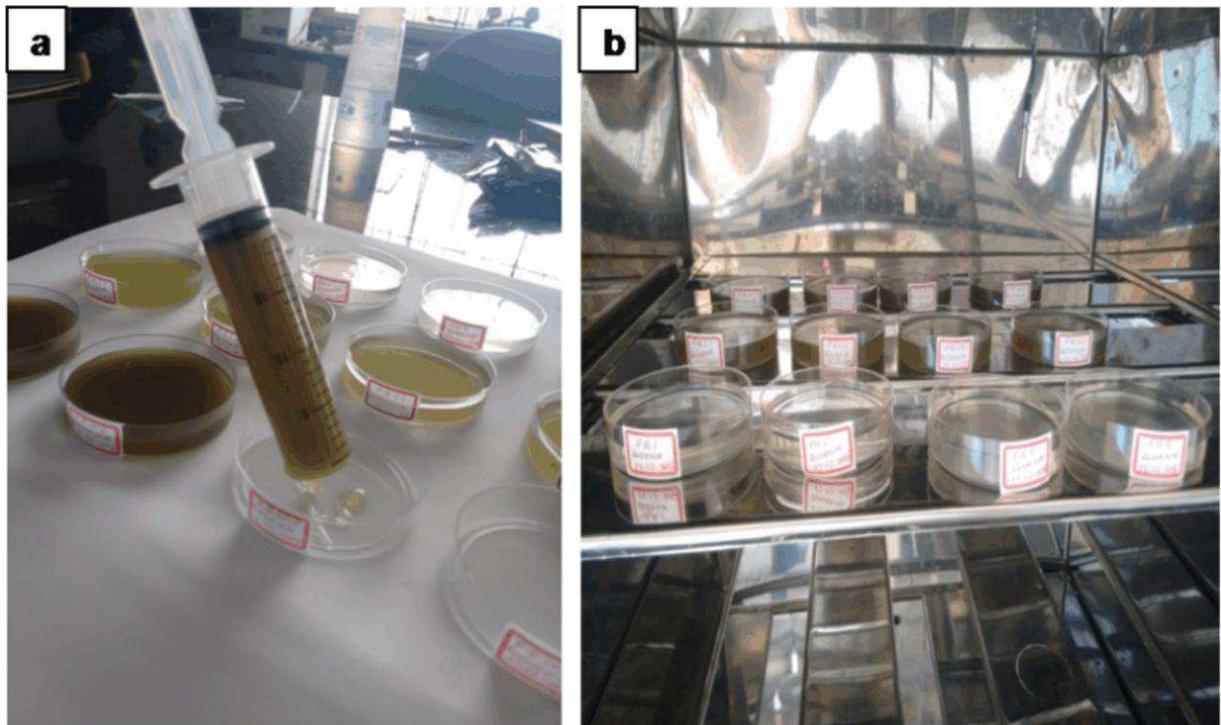
Similarly, 20 ML of each of the solutions obtained in acrylic Petri plates were shed. The plates were then packed in bacteriological greenhouse at 37°C for 7 days for acid evaporation and membrane formation (Figure 6). After the drying of the porous membranes of chitosan without and with the incorporation of the vegetable drug, in the concentrations of 5% and 20%, they were removed from the greenhouse for the neutralization.

Figure 5. (a) Weighing of the plant drug; (b) solution and drug plant in concentrations of 5% and 20%; (C) Mechanical agitation for the dissolution of the plant drug in chitosan solution.



Source: MORAIS, 2017.

Figure 6. (a) 20 ML deposition of each solution obtained in Petri plates; (b) Chitosan solution in Petri plates, packed in bacteriological greenhouse to 37°C.



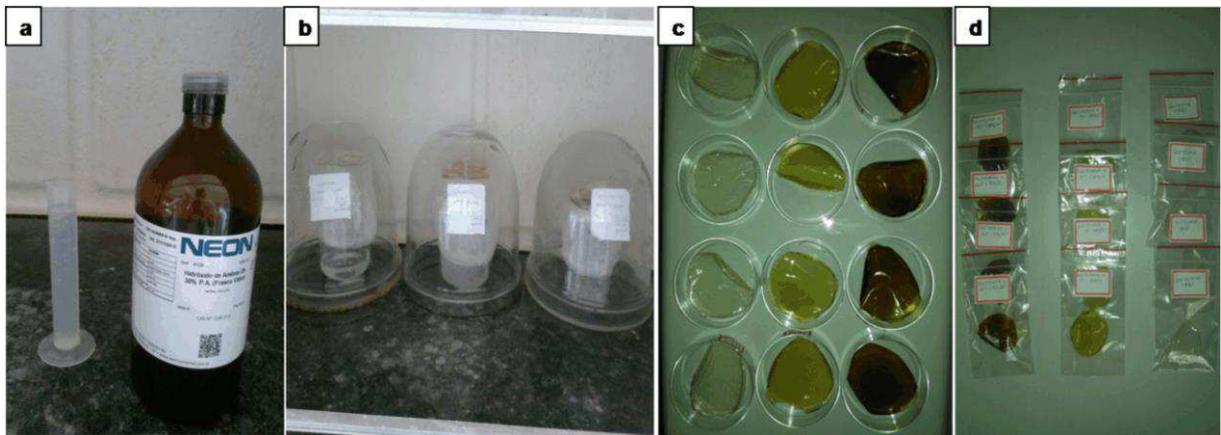
Source: MORAIS, 2017.

2.4.4 Neutralization process with Ammonium Hydroxide

In the preparation of the ammonium hydroxide solution, 500 mL of distilled water were dispensed in a flask for gas exhaustion of SPLabor in a volumetric flask, and 50 mL of

ammonium was added, completing with distilled water until the final volume of 1000 mL was reached. The porous membranes were neutralized with the ammonium hydroxide solution, remaining the samples under the atmosphere of this solution, with the exhaust chapel connected, for a period of 72 hours. The samples were then placed to dry at room temperature (23 ° C) and then identified and stored individually in plastic bags (Figure 7).

Figure 7. (a) Ammonium hydroxide used in the preparation of the solution; (b) porous membranes under the atmosphere in the exhaust chapel; (c) samples after drying at room temperature; (d) individually stored samples.



Source: MORAIS, 2017.

2.5 Characterization

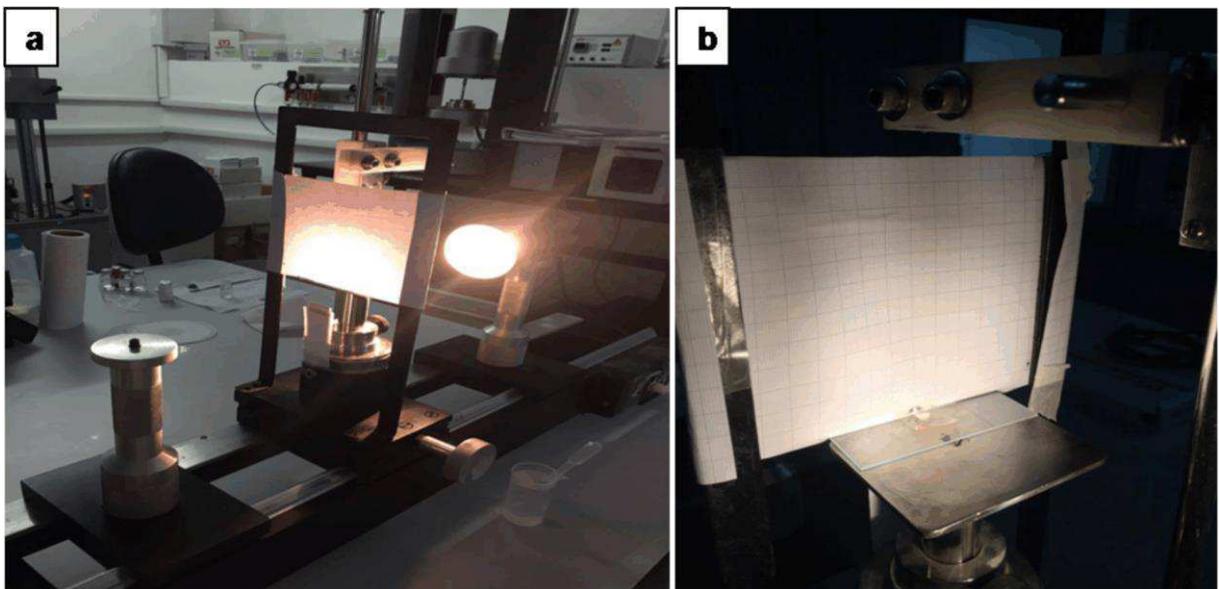
The porous chitosan membranes developed were characterized by the Test of Wettability and the Degree of Swelling with *Phosphate buffered saline* (PBS). The analyses were performed at CERTBIO/UFCG.

2.5.1 Watering test

The angle of contact is defined as the angle between a plane tangent to a drop of the liquid and a plane containing the surface where the liquid is deposited. The measurement of the contact angle is an indicator of the wet action of every substance tested. A low contact angle value indicates that the liquid wets well, understanding that a high value indicates a worse wetting. From this, it has been reported that if the value of the contact angle is less than 90°, the liquid wets the surface; If it is greater than 90 ° no watering happens; and a contact angle equal to zero represents complete wetting (LUZ, RIBEIRO e PANDOLFELLI, 2008).

For the performance of the assay, the porous membranes were cut into a dimension of approximately 25 x 5 mm, employing a goniometer developed by some researchers of the CERTBIO, three samples being obtained from each group of membranes. An undefined volume of distilled water has been placed in the pipette, leaving a drop dripping on the material to be evaluated. This procedure was repeated in triplicate for each variable, with photographic images being carried out in sequence. Then they were sent to the Angle Calculator program, which calculated the angle of the drop formed, checking whether the material is hydrophilic or hydrophobic (figure 8).

Figure 8. (a) Goniometer; (b) Drop of distilled water under the surface of the sample.



Source: MORAIS, 2017.

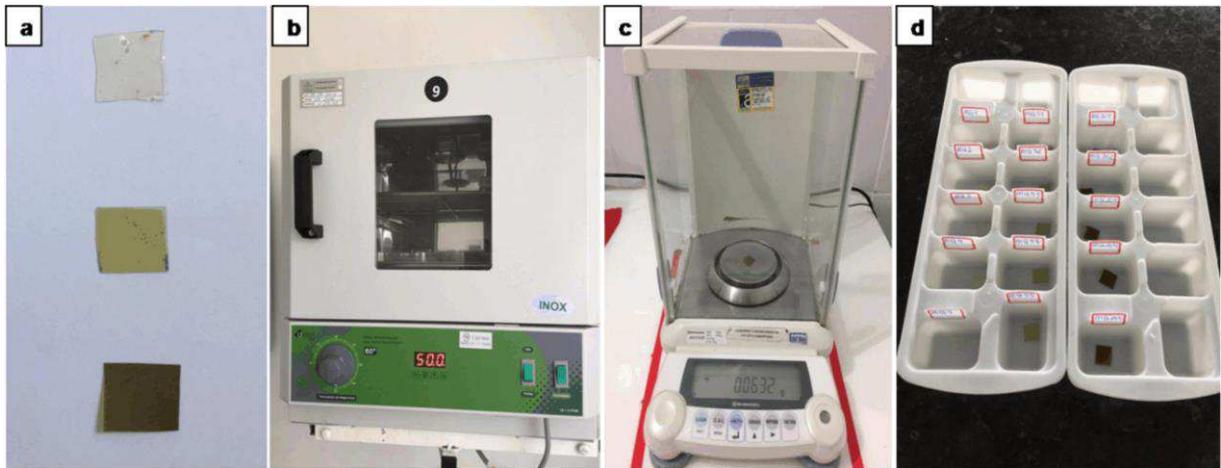
2.5.2 Degree of swelling

This test was intended to evaluate the behavior of the material when immersed in a solution with similar characteristics to the internal environment of the body. This is an great importance experiment, since the absorption of liquid by the material can be an important factor in the release of the drugs (CRUZ, 2015).

For the performance of the test, the porous membranes were cut with the aid of scissors in the dimension of 1.0 x 1.0 cm, obtaining five samples from each group. Then the samples were placed in the microprocessed greenhouse for STERILIFER bacteriological culture at a temperature of 50° C for a period of 30 minutes in order to reduce the moisture of the samples. Each sample was then properly weighed, dry, in precision analytical balance BEL ENGINEERING, under the number: 11.05.03, before immersion in PBS solution.

The PBS employed was that of Sigma Aldrich, the solution being prepared by dissolving in 600 mL of distilled water and 3 tablets of PBS until complete homogenization. Each sample will be immersed in 6mL of the PBS solution for a period of 24 h (Figure 9). In sequence, the samples were removed from the solutions, and then were slightly dried on absorbent paper to eliminate the excess of the solution, and the damp weight of each fragment was measured on the same scale.

Figure 9. (a) Porous membranes; (b) Microprocessed greenhouse; (c) Dry weighing of samples; (d) Samples immersed in PBS solution.



Source: MORAIS, 2017.

The calculation of the degree of swelling will be carried out according to the following equation:

$$GI = \frac{Mf - M0}{M0}$$

Where: GI - Degree of swelling

Mf - Final Mass (tumescent)

M0 - Dry Mass

2.6 Statistical analysis

After the characterization, the results of the survey will be tabulated and presented in a quantitative and qualitative way. The data generated will be transferred to EXCEL, where the tensions for flexion in Mpa will be calculated. The software Origin® (Origin Lab Corporation, Northampton, Maryland, USA), version 8.0, will also be employed in the construction of some graphics.

The Shapiro-Wilk tests were used to verify the normality of the data. The Anova analysis was then used, comparing the means between the three groups, and this test was significant. The Tukey test was still used with a significance level of 5%. Data analysis was done in the BioEstat 5.0 Program.

2.7 Ethical considerations

This research had a laboratory character and no procedures were included in patients/animals, nor the use of human teeth. Because of this, there will be no need for evaluation by the Ethics Committee.

3. Results and Discussions

Twelve samples of chitosan membranes, identified as MQ (Chitosan membranes), MQ5 (chitosan membranes with 5% of the vegetable drug extract) and MQ20 (chitosan membranes with 20% of the vegetable drug extract) were obtained.

The samples presented a smooth, flat, homogeneous and flexible aspect, with lighter color in the membranes of pure chitosan, which is associated with the absence of the *Cissus verticillata* (L.) vegetable extract, an intermediate color (light green) in the membranes with 5% of the Extract of the vegetable drug, and a darker green color on the membranes with 20% of the vegetable drug extract, thus demonstrating, the gradual increase of the extract is associated with the darkening of the tonality of the samples.

3.1 Watering test results

The results of the watering test revealed that all membranes showed contact angle values smaller than 90 °, indicating that the liquid wets the surface. The presence of the vegetable drug interfered directly in the hydrophilic profile of the samples, promoting the increase of the hydrophilic character of the same (Table 1).

Table 1. Average wetting angles membrane group.

Groups	Average
MQ	62,58°
MQ5	54,19°
MQ20	51,06°

Macêdo (2009), evaluating the modification of plasma chitosan membranes, under the atmosphere of different gases for biological use, it was found that the treatment of the samples, in most gaseous spheres, promoted the increase of wettability, compared with the membranes untreated. This increase was related to the chemical changes caused by the treatment of samples.

Fernandes (2009) observed in his studies that the membranes of pure chitosan, immersed in water, presented less swelling when compared with membranes of chitosan with chondroitin sulfate. The study reveals that the angle of contact between chitosan membranes and water tends to decrease with the increase in the degree of deacetylation of the chitosan, and that the affinity with the water is related to the presence of free amino groups, which are reduced by the addition of the sulphate of chondroitin.

In carrying out watering analysis in *scaffolds* with different concentrations of the *Cissus verticillata* (L.), Rosendo (2016) observed that all samples presented a measure of contact angle less than 90 °, revealing the hydrophilic profile of them. In addition, the study demonstrated that the presence of the vegetable drug has interfered in a positive manner in the hydrophilic character of these *scaffolds*. This data corroborates the present study.

The results of this analysis also corroborate those of Lima (2010) which, analyzing chitosan membranes and formulations of chitosan with the incorporation of insulin, verified a general tendency of reduction of the contact angle in the samples that possessed 50 IU of artificial insulin,, compared to those that did not have insulin, indicating a greater hydrophilic character of this material.

3.2 Swelling test Results

The swelling test revealed that the samples presented the averages of the correspondingly higher masses in the tumescent form than in the dry condition. The difference between these averages ranged from 0.0176 to 0.0351 grams. The chitosan has in its structure groupings amine (NH) and hydroxyl (OH) that give a hydrophilic character to the membrane (MACÊDO, 2009). In this way, it was evident that the samples presented a high absorption/retention capacity of the PBS solution, observing that the samples absorbed on average more solution than their own weights (Table 2).

Table 2. Swelling per group of membranes

Groups	Starting Weight	Final Weight	Swelling
MQ	0,02046g	0,04468g	0,02422g
MQ5	0,02012g	0,04514g	0,02502g
MQ20	0,0271g	0,0605g	0,0334g

Assis e Silva (2003), performing the characterization of the structure and capacity of water absorption in fine membranes of chitosan processed in various concentrations, by immersing in distilled water (PH 5.6) of these samples at room temperature, they observed, by the measured values, a considerable water absorption, and that the resulting mass gain is related to the concentration of chitosan in the samples presenting, in this way, an exponential type behavior.

Macêdo (2009) analyzing plasma-Modified chitosan membranes for biological use, found that: in samples treated with air, H₂, N₂, O₂ and immersed in distilled water at room temperature for 24 hours there was an increase in the degree of swelling; while in methane-treated membranes there has been a decrease in these indices, conferring hydrophobic character to these samples.

Studies of Llanos (2014) on the physical properties of chitosan films doped as ionic conductors, the swelling of membranes was observed neutralized with NaOH solution in three different concentrations, immersed in buffer solution phosphate with pH 5 and 9 and

compared with untreated membranes. After an initial and increasing mass gain due to water absorption, the membranes tended to weight stability and then there was a loss of mass for the solution, which was related to the pH of the immersion solution, and also to the concentration and type of base used for neutralization.

The results of this study corroborate those of Sampaio et al. (2012), which developed and characterized *scaffolds* of chitosan and chitosan reticulate with genipina in different concentrations, keeping them in contact with the PBS solution for 24 hours and Presenting, at the end of the analysis, a high capacity of swelling in all compositions.

4. Conclusions

- The process used to obtain the membranes of chitosan and chitosan/*Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. and Jarvis proved effective.
- The surface of the chitosan and chitosan / *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis membranes presented himself in a smooth, flat, and uniform manner.
- The degree of swelling evidenced that the averages of the masses of the chitosan and Chitosan/*Cissus verticillata* (L.) Nicolson and C. E. and Jarvis membranes were correspondingly higher in the tumescent form than in the dry condition.
- The wetting test demonstrated that all samples presented a hydrophilic profile and that the presence of the vegetable drug promoted an increase in the hidrofiliçidade of the membranes.
- In this way, after the characterisations, one can also conclude that the chitosan and chitosan/*Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. and Jarvis membranes, presented favorable and expected characteristics for the use of them as biomaterial in patients carrying diabetes mellitus type 2.

5. Acknowledgments

We greatly appreciate the CERTBIO/UFCG for the support given to the research, regarding the availability of the laboratory, the supply of chemicals, and other materials.

6. References

- ASSIS, O. B. G; SILVA, V. L. (2003). Caracterização Estrutural e da Capacidade de Absorção de Água em Filmes Finos de Quitosana Processados em Diversas Concentrações. *Revista Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 13, n. 4, p. 226-227.
- BRAGA, T. V.(2008). *Avaliação da atividade farmacológica de Cissus verticillata (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. verticillata como antoxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante.*(Master's dissertation) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, , 202f.
- BRASIL. Ministério da Saúde. (2006). *Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos*. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos - Departamento de Assistência Farmacêutica. p. 60. Distrito Federal.
- CRUZ, J. B. (2015). *Arcabouços de quitosana/agente antineoplásico: síntese, caracterização e aplicação.*(Doctoral thesis). Universidade Federal de Campina Grande, 114f.
- FERNANDES, L. L. (2009). *Produção e caracterização de membranas de quitosana e de quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas.* (Projeto de Graduação do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 63p.
- HAVSTEEN, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 96, p. 67-202.
- LIMA, R. S. C. (2010). *Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina.* (Doctoral thesis). Curso de Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 112f.
- LINO, C. S. (2008). *Efeitos antidiabético, antioxidante, analgésico e antiinflamatório da fração solúvel em metanos e tiramina isolados de Cissus verticillata.* (Doctoral thesis) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, , 190f.
- LLANOS, J. H. R. (2014)*Propriedades físicas de filmes de quitosana dopados como condutores iônicos.* (Master's dissertation) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014, 111f.
- LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. (2008). Uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. *Cerâmica*, v. 54, p. 174 - 183.
- MACÊDO, M.O.C. (2009). *Modificação de membranas de quitosana por plasma para uso biológico.* (Master's dissertation) – Centro de Ciência Exata e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 96f.
- ROSENDO, R. A. (2009). *Avaliação da eficácia da Cissus verticillata (L.) em portadores de diabetes melito tipo 2, através da concentração de glicose na saliva e no sangue.* (Master'sdissertation, Universidade Federal da Paraíba/CCS, João Pessoa, 95f.

ROSENDO, R. A. (2016). *Desenvolvimento e Caracterização de scaffolds de quitosana/Cissus Verticillata (L.)*. (Doctoral thesis), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 182f.

SAMPAIO, G. Y. H.; FOOK, A. C. B. M.; FIDÉLES, T. B.; FURTADO, G. T.; FOOK, M. V. L. (2012). Arcabouços biodegradáveis de quitosana: efeito da reticulação com genipina. In: *Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais.7.*, 2012, Natal. Anais... Natal: Colaob, Brazil.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. O que é diabetes?. *Web site.* (2018, 06,10) Retrieved from <http://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/oque-e-diabetes>.

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

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

TOCCE, E. J. et al. (2012). Functionalization of reactive polymer multilayers with RGD and an anti-fouling motif: RGD density provides control over human corneal epithelial cell-substrate interactions. *Biomed. Mater. Res. A. Hoboken*, v. 100, n. 1, p. 84-93.

VASCONCELOS, T. H. C. (2004). *Ensaio toxicológicos pré-clínico e clínico com as folhas de Cissus sicyoides L.* (Doctoral thesis), Universidade Federal da Paraíba/CCS, João Pessoa, 178f.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O processo utilizado para a obtenção das membranas de quitosana e de quitosana / *Cissusverticillata* (L.) Nicolson & C.E.Jarvis mostrou-se eficaz.
- A superfície das membranas de quitosana e de quitosana / *Cissusverticillata* (L.) Nicolson & C.E.Jarvis apresentou-se de maneira lisa, plana e uniforme.
- O grau de intumescimento evidenciou que as médias das massas das membranas de quitosana e de quitosana / *Cissusverticillata* (L.) Nicolson & C.E.Jarvis foram correspondentemente mais elevadas na forma intumescida do que na condição seca.
- O teste de molhabilidade demonstrou que todas as amostras apresentaram um perfil hidrofílico e que, a presença da droga vegetal, promoveu um aumento na hidrofiliabilidade das membranas.
- Desta forma, após as caracterizações, pode-se ainda concluir que as membranas de quitosana e de quitosana / *Cissusverticillata* (L.) Nicolson & C.E.Jarvis, apresentaram características favoráveis e esperadas para a utilização das mesmas como biomaterial em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2.

ANEXO A – EDITORIAL DA REVISTA POLÍMEROS

Polímeros - ISSN 1678-5169

Type of article: Review Articles / Original Articles / Short Communications**Title of the article with a maximum of 12 words**Name Last Name^{1*}, Name Last Name^{2#} and Name Last Name²*1 Affiliation (Laboratory, Department, University, ZIP Code City, State, Country)**2 Affiliation (Laboratory, Department, University, ZIP Code City, State, Country)*

*corresponding author's email

*The author's name must not be abbreviated.**The Affiliation must be in accordance with the language of the country of origin.***Author, please refer to Instructions to Authors where thorough guidelines can be found.
Manuscripts which do not conform to instructions will be returned.****Abstract (single space)**

The abstract must not exceed 150 words. The text should describe: what the study has introduced as a novelty to the subject investigated, the methodology used, the main results (quantitative information) and conclusions.

Keywords: from 3 to 5 keywords alphabetically ordered and separated by commas.

Present address: If an author's address is different from the one given in the affiliation line, this information may be included here.

The above-cited content should be placed in the front page.

Pages must be numbered in sequence at the bottom right end.

1. Introduction

The content of the article must be included in this part, with a double-spaced text in font Times New Roman size 12. We suggest writing a final paragraph with the aims of the research or the intended advancements of the work.

2. Materials and Methods

2.1 Subsection 1

Text paragraph within a first subsection.

2.2 Subsection 2

Text paragraph within a second subsection.

3. Results and Discussions

Text paragraph.

3.1 Subsection 1

Text paragraph within a first subsection.

etc.

Equations: make sure to use the Word equation editor or MathType (see example below).

$$A = \pi r^2(1)$$

Figures: Should be numbered in sequence and referred in the text. Must have maximum width and height of 8cm, i.e. they should fit in a column of the diagrammed article. Images outside of such a format (larger than 8×8 cm or with two columns) will only be accepted when the justification presented by the authors is likewise accepted.

In case any program is used for making graphs and figures, the original file must be sent with the corresponding specifications. Image files, drawings and graphs should be sent in the vector format (CDR, EPS, AI, WMF etc) whenever possible, otherwise the bitmap files

(TIF, BMP, JPG, PSD etc) must have good definition (normally from 1000 to 2000 pixels wide).

Color figures will be presented only in the electronic format (PDF and XML), whereas in the printed journal they will be reproduced in black and white. Thus, distinction among curves should also be clear in black and white. In micrographs, the bar for dimensional reference must be included. Micrographs must present a good contrast. All the illustrative material must have the corresponding file named clearly (e.g.: figure-1a, figure-1b, chart-1, table-1 etc).

Figures and Tables should be embedded in the text:

Figure 1. (a) insert here a descriptive caption of the figure; (b) insert here a descriptive caption of the figure.

Tables: Must be also numbered in sequence and referred in the text. They must follow the format below:

Table 1. Insert here a descriptive caption of the table.

Title	Value (units)	Value (units)	Value (units)
Line1	Line 1*	Line1	Line1
Line2	Line2	Line2	Line2
Line3	Line3	Line3	Line3

* Tablefootnote.

4. Conclusions

The conclusion should not be a repetition of the results, but a statement whether the aim of the research was reached. Text paragraph.

5. Acknowledgments (if applicable)

Full names of the supporting agencies with process or grant numbers, companies that supplied chemicals for the research, etc.

6. References(single space - left-align text)

References citations in the text must appear as a superscript index between brackets, listed according to the sequence of appearance in the text as well as at the end of the paper.

References must contain all authors and follow the format below:

1. Articles in journals (non-abbreviated titles - include issue number, DOI number or link the source (URL))

Author, A. A., Author, B. B., & Author, C. C. (year). Title of the article. *Title of Periodical*, xx(x), xx-xx. doi:10.xxxx/xxxxxx

Author, A. A., Author, B. B., & Author, C. C. (year). Title of the article. *Title of Periodical*, xx(x), xx-xx. Retrieved from <http://www.xxx.xxx>

Author, A. A., Author, B. B., & Author, C. C. (in press). Title of the article. *Title of Periodical*. Retrieved from <http://www.xxx.xxxx>

2. Books

Author, A. A., & Author, B. B. (year). *Title of work*. Location: Publisher.

Editor, A. A. (Ed.). (year). *Title of work*. Location: Publisher.

3. Chapters of books

Author, A. A., & Author, B. B. (year). Title of chapter or entry. In A. Editor, B. Editor, & C. Editor (Eds.), *Title of book* (pp. xx-xx). Location: Publisher.

4. Papers presented in scientific meetings

Author, A. A. (year). Title of paper. In *Title of Symposium* (pp. xx-xx). Location: Publisher.

5. Thesis and dissertations

Author, A. A. (year). *Title of doctoral dissertation or master's thesis* (Doctoral thesis or master's dissertation). Name of Institution, Location.

6. **Corporate author, government report**

Corporate Author. (year). *Title of work*. Location: Publisher.

7. **Patents**

Inventor, A. A. (year). *Patent number*. Location: Official source from which the patent information can be retrieved.

8. **Legal materials**

Title and number of the decree or law. (Year, Month Day). Publication data. Location: Publisher.

9. **Web sites (they should be cited in full with the date of assessment)**

Web site. (Year, Month Day). Retrieved from <http://www.xxx.xxx>

Please refer to Instructions to Authors