



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



**Geceane Dias**

**ESTUDO DA LIBERAÇÃO DA VANCOMICINA EM HIDROGEL  
QUITOSANA/GENIPINA PARA USO NA PREVENÇÃO DE BACTÉRIA EM  
IMPLANTES BIOMÉDICOS**

Campina Grande - PB

2020

**Geceane Dias**

**ESTUDO DA LIBERAÇÃO DA VANCOMICINA EM HIDROGEL  
QUITOSANA/GENIPINA PARA USO NA PREVENÇÃO DE BACTÉRIA EM  
IMPLANTES BIOMÉDICOS**

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

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Agência Financiadora: CAPES/FAPESQ - BRASIL

Campina Grande - PB

2020

D541e

Dias, Geceane.

Estudo da liberação da vancomicina em hidrogel quitosana/genipina para uso na prevenção de bactéria em implantes biomédicos/Geceane Dias. - Campina Grande, 2020.

96 f. : il. Color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2020.

“Orientação: Profa. Dra Ana Cristina Figueiredo de Melo.”

Referências.

1. Quitosana. 2. Genipina. 3. Liberação de Fármaco. 4. Vancomicina.  
I. Melo, Ana Cristina Figueiredo de. II. Título.

CDU 547.995(043)

## **CURRÍCULO VITAE**

- Graduada em Ciência e engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande (2016).

GECEANE DIAS

ESTUDO DA LIBERAÇÃO DA VANCOMICINA EM HIDROGEL  
QUITOSANA/GENIPINA PARA USO NA PREVENÇÃO DE BACTÉRIA EM  
IMPLANTES BIOMÉDICOS

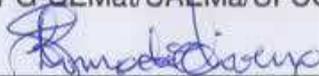
Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciência e  
Engenharia de Materiais como requisito  
parcial à obtenção do título de **Mestre  
em Ciência e Engenharia de  
Materiais.**

Aprovado em: 20/07/2020



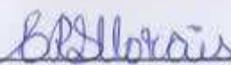
---

Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa  
Orientadora  
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



---

Dr<sup>a</sup>. Líbia de Sousa Conrado Oliveira  
Examinadora Externa  
UAEQ/CCT/UFCG



---

Dr<sup>a</sup>. Crislene Rodrigues da Silva Moraes  
Examinadora Interna  
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



---

Dr<sup>a</sup>. Elvia Leal  
Examinadora Externa  
UAEMA/PNPD/CAPES/UFCG

## AGRADECIMENTOS

Ao Nosso Senhor Deus por todas as oportunidades vivenciadas até o presente momento.

À Minha mãe, Maria do Céu Dias e ao meu namorado, Lindivaldo Nunes do Nascimento por todo o amor incondicional, parceria, amizade, confiança e muita paciência. Aos meus irmãos, sobrinhos, avó e ao meu fiel amigo Scooby.

Minha eterna gratidão à professora Dr.<sup>a</sup> Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, pela orientação, amizade, conselhos, por estar a bastante tempo presente em minha vida me ajudando no enfrentamento de dificuldades internas e externas, pela compreensão e a oportunidade de fazer o mestrado em sua equipe de pesquisa no LabSMaC. Ao meu Coorientador, Rossemberg Cardoso Barbosa, por todo o apoio e contribuições a este trabalho.

À banca, com muito carinho: Dr.<sup>a</sup> Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa; Dr.<sup>a</sup> Líbia de Sousa Conrado Oliveira; Dr.<sup>a</sup> Crislene Rodrigues da Silva Moraes e Dr.<sup>a</sup> Elvia Leal que contribuíram brilhantemente para o meu crescimento profissional e pessoal.

A Samuel Brito, com muito amor, minha gratidão por toda a paciência e ensinamentos tanto da parte laboratorial quanto aos que levarei para minha vida pessoal, pelo carinho e atenção. Muito obrigada por tudo meu grande amigo.

Ao médico ortopedista, Dr. Fábio Gondim Nepomuceno, pelo conhecimento e materiais de pesquisa compartilhados.

À Agência Financiadora: CAPES/FAPESQ – BRASIL

Ao Laboratório de Engenharia Bioquímica - LEB, da unidade acadêmica de Engenharia Química (LEQ), da UFCG, com a supervisão da professora/pesquisadora Dr.<sup>a</sup> Libia Conrado, a quem tenho muita gratidão por ter estado ao meu lado em momentos bons e difíceis. E gratidão a todos do LEB, em especial, Rebeca e Raphael. Fui muito bem acolhida por todos e os levarei em meu coração.

Aos amigos, funcionários e todos que fazem parte do LabSMaC, em especial: Dr.<sup>a</sup> Elvia Leal, Dr.<sup>a</sup> Ana Flávia, Ms. Adriano Lima, Dr.<sup>a</sup> Joelda Dantas, Ms. Julyanne Rodrigues, eterna gratidão pelos momentos vividos no LabSMaC.

Ao programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPG-CEMat), a todos os professores do UAEMA da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), pelo aprendizado, crescimento pessoal e profissional, e aos secretários André e Márcia pelos profissionais altamente capacitados, por serem tão atenciosos e solícitos.

## RESUMO

A proposta do uso de sistema de liberação controlada como alternativa aos tratamentos convencionais voltados à administração de antibióticos tem ganhado força nas últimas décadas. O hidrogel à base de quitosana, um biopolímero antimicrobiano, oferece a possibilidade de controle da liberação do fármaco ao ser reticulado por agentes como a genipina. No entanto, ainda é limitado o conhecimento quanto às características envolvidas, como por exemplo, a taxa e mecanismos de transporte de massa, envolvidos na liberação controlada de vancomicina em hidrogel de quitosana. Diante o exposto, o objetivo deste trabalho consiste em sintetizar uma matriz polimérica quitosana/genipina para avaliar as características quanto à taxa e os mecanismos de transporte de massa envolvidos no controle da liberação da vancomicina em função do tempo. Para tanto, foi preparada uma solução base aquosa de quitosana 1,5 % (m/v) em ácido láctico, a qual foi mantida sob agitação magnética, e então para efeito comparativo, a adição do fármaco vancomicina foi realizada por três vias de procedimentos: no primeiro, foi adicionando à solução base a vancomicina juntamente com a genipina (H1); no segundo, no terceiro, foi adicionando a vancomicina antes da reticulação (H2); e após a reticulação da solução base (H3). As amostras foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); difração de raios X (DRX), e análise termogravimétrica (TG). Por último, foi realizado o ensaio de liberação da vancomicina no hidrogel, análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey ou teste t com significância de 5 % de probabilidade com o auxílio do software estatístico PAST versão 3.23 e de modelos matemáticos. Com base nos resultados foi possível observar que os espectros de FTIR apresentaram as bandas características dos materiais estudados. Os difratogramas de DRX confirmaram a formação das fases semi-cristalinas da quitosana e cristalinas da genipina. A vancomicina mostrou-se com característica amorfa. Por meio dos resultados obtidos nas análises termogravimétricas, foi possível observar comportamentos térmicos característicos dos materiais estudados. Confirmados pelo surgimento de eventos que são característicos de alterações mássicas do material diante exposição à temperatura. Por meio do perfil cinético de liberação do fármaco vancomicina pode-se observar que a liberação ocorre mais rapidamente no início, até 150 minutos, e que em seguida essa liberação se torna mais lenta até o final do tempo observado de 300 minutos. A partir da análise de variância (ANOVA) e do teste de Tukey foi possível observar que a ordem com que a vancomicina é adicionada ao sistema carreador hidrogel não é um fator preponderante para alterar ou modificar a quantidade final liberada do mesmo, bem como, o período de armazenamento. Quanto ao estudo da cinética de liberação de fármaco previu um mecanismo fickiano baseado em difusão. Podemos concluir que pelos testes realizados, que a utilização de um sistema carreador a base de quitosana e genipina para liberação controlada da vancomicina ocorre de forma promissora, uma vez que possivelmente evitará a adesão, colonização e posterior proliferação bacteriana.

**Palavras-chave:** Quitosana. Genipina. Liberação de fármaco. Vancomicina.

## ABSTRACT

The proposal to use a controlled release system as an alternative to conventional treatments aimed at administering antibiotics has gained strength in recent decades. The chitosan-based hydrogel, an antimicrobial biopolymer, offers the possibility of controlling the release of the drug when it is cross-linked by agents such as genipin. However, knowledge about the characteristics involved, such as the rate and mass transport mechanisms, involved in the controlled release of vancomycin in chitosan hydrogel is still limited. Given the above, the objective of this work is to synthesize a polymeric chitosan / genipin matrix to evaluate the characteristics regarding the rate and the mechanisms of mass transport involved in the control of vancomycin release over time. For this purpose, an aqueous solution of chitosan 1.5% (w/v) in lactic acid was prepared, keeping under stirring on a magnetic stirrer and for comparison purposes the addition of the crosslinking agent genipin and the drug vancomycin was performed by three procedures: the first was adding vancomycin together with genipin (H1), and the second and third method was adding vancomycin before crosslinking (H2), and after crosslinking the base solution (H3). The samples were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR); X-ray diffraction (XRD), and thermogravimetric analysis (TG) and finally, the vancomycin release test in the hydrogel, analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test or t test with a 5% probability significance were performed with the help of the statistical software PAST version 3.23 (Hammer et al., 2001) and mathematical models. Based on the results it was possible to observe that the FTIR spectra showed the characteristic bands of the studied materials. The XRD diffractograms confirmed the formation of the semi-crystalline phases of chitosan and crystalline of the genipin. Vancomycin proved to be amorphous. Through the results obtained in the thermogravimetric analyzes, it was possible to observe thermal behaviors characteristic of the studied materials. Confirmed by the appearance of events that are characteristic of mass changes in the material upon exposure to temperature. Through the kinetic profile of the vancomycin drug release, it can be observed that the release occurs more quickly at the beginning, up to 150 minutes, and that then this release becomes slower until the end of the observed time of 300 minutes. From the analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test, it was possible to observe that the order in which vancomycin is added to the hydrogel carrier system is not a major factor in altering or modifying the final quantity released, as well as the storage period. Regarding the study of drug release kinetics, it predicted a Fickian mechanism based on diffusion. We can conclude that from the tests carried out, that the use of a carrier system based on chitosan and genipin for controlled release of vancomycin occurs promisingly, since it will possibly prevent adhesion, colonization and subsequent bacterial proliferation.

**Keywords:** Chitosan. Genipin. Drug release. Vancomycin

## PUBLICAÇÕES

DIAS, G.; SANTOS, S. B. F.; LEAL, E.; COSTA, A. C. F. M. Efeitos do grau de reticulação com genipina em hidrogéis à base de quitosana para potencial uso como biomaterial. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 15, n. 1, p. 26 - 34, 2020.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O uso de NiTi em <i>stents</i> vasculares é baseado em sua superelasticidade e efeito de memória de forma (Chen e Thouas, 2015).....	20
Figura 2 - Várias cabeças femorais de alumina e componentes do acetábulo (Ben-Nissan et al., 2018). .....	20
Figura 3 - Desenho esquemático da estrutura do implante oral, compósito reforçado com fibra e partículas bioativas de vidro na superfície de contato com o osso (Vallittu et al., 2015). .....	21
Figura 4 - Representação esquemática de infecções de biofilme relacionadas ao tecido humano vs. infecções de biofilme relacionadas a dispositivos médicos (Madalina Mihai et al., 2015). .....	23
Figura 5 - Etapas da formação e da dispersão de um biofilme bacteriano (Tremblay et al., 2014). .....	25
Figura 6 - Fórmula estrutural da vancomicina (Schäfer et al., 1996).....	26
Figura 7 - Faixa terapêutica dos perfis de concentração de fármaco no plasma mostrando o impacto da liberação rápida, liberação pulsátil, e liberação controlada em relação à concentração efetiva e concentração tóxica (Liechty et al., 2010).....	28
Figura 8 - Liberação do fármaco a partir de uma matriz (comprimido) feita de hidrogel dilatável. Os fenômenos de absorção de água, intumescimento, relaxamento da cadeia polimérica, difusão de fármaco, desemaranhamento da cadeia polimérica e erosão do polímero (Caccavo et al., 2016).....	29
Figura 9 - (A) Comportamento do hidrogel em meio aquoso e processo de desidratação evidenciando a permanência do formato. (B) e (C) Microgéis com moléculas imobilizadas codificadas por cores, de modo a destacar as possibilidades de entrega de drogas em hidrogel injetável. (D) Microgel para uso na liberação de células para regeneração de tecidos. (E) Células encapsuladas de fibroblastos em um microgel de PEG - fibrinogênio semi - sintético, para estudo do comportamento celular (Seliktar, 2012).....	36
Figura 10 - Esquemas propostos para retículos de um hidrogel no estado seco e intumescimento. Note a expansão dos retículos ocasionada pela absorção de água (Aouada e Mattoso, 2009). .....	37

Figura 11 - Esquema estrutural dos hidrogéis químicos e físicos (Aouada e Mattoso, 2009).....	37
Figura 12 - Representação esquemática da reticulação química: (A) radical livre, (B) condensação, e (C) reação de adição, adaptado de (Pellá et al., 2018).....	38
Figura 13 - Representação esquemática da reticulação física por: (A) moléculas aniônicas, (B) poliânios e (C) pontes de hidrogênios ou associação hidrofóbica, adaptado de (Pellá et al., 2018). ....	38
Figura 14 - Esquema de tamanho de malha em hidrogéis em estados inchados ou encolhidos (Lin e Metters, 2006). ....	39
Figura 15 - Obtenção da genipina a partir do geniposide e reação com aminoácidos ou proteína com formação do pigmento azul (Butler <i>et al.</i> , 2003).....	40
Figura 16 - Estrutura da quitina (A) e da quitosana (B) (Rinaudo, 2006).....	44
Figura 17 - Ilustração esquemática da versatilidade da quitosana (Dash <i>et al.</i> , 2011). ....	45
Figura 18 - Gráfico estatístico de publicações referentes à aplicação dos hidrogéis antibacterianos a base de quitosana como sistema carreador de fármaco do ano de 2017 até 2020 (Autoria própria, 2020).....	46
Figura 19 - Fluxograma de preparação dos hidrogéis H1, H2 e H3. ....	52
Figura 20 - Fluxograma para quantificação da vancomicina no espectrofotômetro UV-Visível.....	54
Figura 21 - Espectro de FTIR: (a) quitosana (Qs); (b) genipina (Gp); (c) vancomicina (V); (d) hidrogel quitosana/genipina(HQG); (e) hidrogel quitosana/genipina/vancomicina (HQGV).....	57
Figura 22 - Espectro de difração de Raios X da quitosana. ....	63
Figura 23 - Espectro de difração de Raios X da genipina. ....	64
Figura 24 - Espectro de difração de raios X da vancomicina. ....	65
Figura 25 - Análises Termogravimétricas das matérias-primas: quitosana (Qs), genipina (Gp) e vancomicina (V).....	66

Figura 26 - Perfil cinético da liberação do fármaco vancomicina adsorvido nas matrizes dos hidrogéis H1, H2, H3; (A) 1° leitura (B) 2° leitura. ....	68
Figura 27 - Modelagem matemática da liberação do fármaco vancomicina adsorvido nas matrizes dos hidrogéis: (a) quantidade liberada de vancomicina (%), (b) Ordem zero, (c) Modelo Higuchi, (d) Modelo Korsmeyer-Peppas, (e) modelo de Kopcha e (f) Modelo de Makoid-Banakar, (g) Modelo Hixson–Crowel, (h) Modelo Hopfenberg. ....	71
Figura 28 - Curva de calibração do fármaco vancomicina.....	94

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Polímeros usados em sistemas de liberação de fármacos. ....	42
Tabela 2 - Atividades antimicrobianas da quitosana. ....	45
Tabela 3 - Número de onda e bandas de absorção referente à (Qs). ....	58
Tabela 4 - Número de onda e bandas de absorção referente à (Gp). ....	59
Tabela 5 - Número de onda e bandas de absorção referente à (V). ....	60
Tabela 6 - Número de onda e bandas de absorção referente aos hidrogéis. ....	62
Tabela 7 - Percentual de liberação do fármaco vancomicina. ....	68
Tabela 8 - Teste Análise de Variância (ANOVA) para ordem de adição do fármaco vancomicina. ....	70
Tabela 9 - Comparação entre as médias dos métodos de adição do fármaco vancomicina aos hidrogéis. ....	70
Tabela 10 - Resultados dos Ajustes dos Modelos Matemáticos dos perfis de liberação do Fármaco Vancomicina. ....	73

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1	Biomateriais.....	19
2.2	Implantes e complicações causadas por bactérias .....	22
2.3	Liberção Controlada de Fármaco .....	27
2.4	Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação.....	30
2.5	Hidrogel.....	35
2.6	Reticulação.....	39
2.7	Biopolímeros .....	41
2.8	Quitosana.....	43
2.9	Estado da Arte.....	46
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	50
3.1	Materiais.....	50
3.2	Metodologia.....	50
3.2.1	Preparação dos Hidrogéis .....	50
3.3	Caracterização .....	52
3.3.1	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	52
3.3.2	Difração de Raios X (DRX).....	53
3.3.3	Análise Termogravimétrica (TG).....	53
3.3.4	Ensaio de Liberação do Fármaco Vancomicina.....	53
3.3.5	Análise Estatística .....	55
3.3.6	Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação do Fármaco Vancomicina <i>in vitro</i> .....	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56

4.1	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	56
4.2	Difração de raios X (DRX) .....	62
4.3	Análise Termogravimétrica (TG) .....	65
4.4	Ensaio de Liberação do Fármaco Vancomicina .....	67
4.5	Análise Estatística .....	69
4.6	Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação de Fármacos .....	70
5	CONCLUSÃO .....	76
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78
	APÊNDICES.....	95
	Apêndice A - Curva de calibração do fármaco vancomicina.....	95
	Apêndice B - Cálculos utilizados para determinação da porcentagem liberada do fármaco vancomicina no hidrogel. ....	96

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de novos implantes e outros dispositivos revolucionou a medicina (Mcintyre e Healey, 2017; Greenhalgh *et al.*, 2019). Porém, os casos de contaminações tem sido uma das complicações mais frequentes e graves associadas ao uso de biomateriais durante o procedimento cirúrgico, chegando a atingir aproximadamente mais de um milhão de casos por ano no mundo (Hetrick e Schoenfisch, 2006). Os agentes microbianos mais comuns causadores das infecções em casos cirúrgicos envolvendo materiais implantáveis são as bactérias *Staphylococcus* e mais especificamente o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus epidermidis* (Mantripragada e Jayasuriya, 2016; Raphel *et al.*, 2016).

Como alternativa para evitar ou minimizar os quadros clínicos com complicações bacterianas durante o procedimento cirúrgico, os pacientes são submetidos ao uso de antibióticos via oral, alternativa com limitações, uma vez que o uso difundido de antibióticos acarreta em microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais. A escolha do antibiótico utilizado na profilaxia irá depender dos agentes contaminantes em questão. A vancomicina é um potente antibiótico utilizado há mais de 60 anos para tratar infecções causadas por bactérias gram-positivas, especificamente em quadros de infecções mais graves causadas por *Staphylococcus aureus* (Argenziano *et al.*, 2017; Uhl *et al.*, 2017; Unagolla e Jayasuriya, 2018).

Estima-se que, nos últimos 20 anos, 6% a 14% de todos os pacientes hospitalizados desenvolveram infecção associada à utilização de implantes (Greenhalgh *et al.*, 2019). Diante das complicações advindas de infecções causadas por aderência de bactérias e formação de biofilmes na superfície do implante, vários pesquisadores têm estudado formas para amenizar ou combater esse problema.

A proposta do uso de sistema de liberação controlada de antibiótico vem como uma busca desenfreada por tratamentos terapêuticos voltados à administração do fármaco que tragam melhores desempenhos clínicos ao paciente, uma vez que consiste em manter os níveis de sua concentração dentro da faixa terapêutica, pois elevadas concentrações acima dessa faixa podem conduzir a toxicidade, enquanto que concentrações abaixo dessa faixa são ineficazes e podem

levar a casos de resistência ao antibiótico (Kidane e Bhatt, 2005; Bhattarai *et al.*, 2010; Hickok e Shapiro, 2012).

Porém nas últimas décadas importantes estudos foram realizados em busca de entender os mecanismos de transporte de massa envolvidos no controle da liberação de fármacos que possibilitassem análises quantitativas dos fenômenos físicos, químicos e potencialmente biológicos, envolvidos no controle da liberação de fármacos e substâncias bioativas (Fu e Kao, 2010; Krstić *et al.*, 2014).

Com isso, surgem os modelos matemáticos auxiliando na elucidação dos mecanismos envolvidos na liberação de fármacos, possibilitando assim o desenvolvimento de sistemas com características de desempenho desejáveis, quanto à composição necessária do fármaco para se alcançar a faixa de efeito terapêutico, o tempo estimado para a liberação e a escolha das matrizes poliméricas adequadas para cada forma farmacêutica, dessa forma, contribuindo com a redução significativa dos custos e tempo de produção, dos testes *in vivo* e dos efeitos colaterais intrínsecos aos sistemas (Siepmann e Siepmann, 2008; Peppas e Narasimhan, 2014).

A proposta do uso de sistema de liberação controlada de antibiótico utilizando hidrogéis à base de biopolímeros a exemplo da quitosana promete ser uma alternativa viável (Anjum *et al.*, 2016; Biao *et al.*, 2017; He *et al.*, 2017; Iftime *et al.*, 2017; Kamoun *et al.*, 2017; Laskar *et al.*, 2017; Mohamed *et al.*, 2017; Neufeld e Bianco-Peled, 2017; Wahid *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017; Zhang, X. *et al.*, 2017; Pellá *et al.*, 2018).

A quitosana é um polissacarídeo que pode ser utilizado na forma de hidrogéis, filmes, esferas, membranas, fios, dentre outras (Mi *et al.*, 2000; Madhumathi *et al.*, 2010; Iftime *et al.*, 2017; Manzoor *et al.*, 2018). O uso de hidrogéis de quitosana em sistema de liberação de fármaco tem demonstrado ser eficaz no tratamento de feridas crônicas e isso indica possibilidades de uso em sistema de liberação de antibióticos para ser aplicado na prevenção de biofilmes em implantes. Os métodos de obtenção desses hidrogéis são variáveis e têm sido alcançados com sucesso por meio de rotas de reticulação físicas ou químicas (Pellá *et al.*, 2018).

A questão mais importante quanto à liberação de antibiótico, é o controle de como ocorre, e qual o mecanismo envolvido na transferência de massa, uma vez que a eficácia da administração da droga depende fortemente de ambas as

características (Wang *et al.*, 2009; Peppas e Narasimhan, 2014; Lv *et al.*, 2017). Estes são requisitos muito importantes que vem sendo estudados nesses sistemas carreadores, pois quando liberada em níveis abaixo da concentração inibitória mínima (CIM) pode provocar resistência bacteriana no local de liberação e intensificar as complicações infecciosas (Wu e Grainger, 2006; Lv *et al.*, 2017).

Tendo em vista a taxa de liberação e o mecanismo envolvido na transferência de massa de antibiótico serem requisitos importantes na eficácia ao combate e controle de quadros infecciosos, o estudo da liberação da vancomicina em um sistema carreador a base de quitosana para ser utilizado, por exemplo, na superfície de implantes durante o procedimento cirúrgico, é de suma importância, pois possui inúmeros benefícios, dentre eles a não toxicidade sistêmica e o desenvolvimento de sistemas com características de desempenho desejáveis, quanto à composição necessária do fármaco para se alcançar a faixa de efeito terapêutico.

No entanto, ainda é limitado o conhecimento quanto às características envolvidas como, a taxa e mecanismos de transporte de massa, envolvidos na liberação controlada de vancomicina em hidrogel de quitosana. Diante o exposto, buscando melhor entender como ocorre o comportamento da liberação do antibiótico vancomicina no sistema hidrogel quitosana/genipina, o objetivo deste trabalho consiste em sintetizar uma matriz polimérica de hidrogel quitosana/genipina para avaliar as características quanto à taxa e os mecanismos de transporte de massa envolvidos no controle da liberação da vancomicina com o passar do tempo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biomateriais

Biomateriais podem ser descritos como materiais de origem natural ou sintética com a finalidade de substituir parcial ou total, órgãos ou funções do corpo (Chen e Thouas, 2015; Triplett e Budinskaya, 2017). A evolução no campo de biomateriais tem influenciado no aumento da expectativa de vida da população e isso é o resultado de anos de estudos nas áreas das Ciências Biológicas, Médicas, Veterinária e Engenharias (Oréfice et al., 2012; Chen e Thouas, 2015).

Progressos são observados na área de biomateriais desde 1940 e um desenvolvimento substancial foi visto em tecnologias médicas terapêuticas (Rahimtoola, 2003; Bhat e Kumar, 2013). Os biomateriais podem ser metálicos, cerâmicos, poliméricos ou compósitos (Bhat e Kumar, 2013; Triplett e Budinskaya, 2017).

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com a sua resposta ao tecido hospedeiro, podendo ser: bioinertes, bioativos e bioreabsorvíveis. Os bioinertes são bem aceitos pelo tecido causando respostas mínimas ou nulas. Os bioativos interagem estimulando a ligação com os tecidos vizinhos. Os materiais reabsorvíveis, ou degradáveis, sofrem degradação por ações químicas ou biológicas, são incorporadas no tecido vizinho (De Azevedo *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2017; Triplett e Budinskaya, 2017).

Biomateriais metálicos possuem atrativas propriedades mecânicas, tais como resistência ao desgaste e a corrosão, elevada tenacidade e baixo custo, propriedades estas advindas de sua composição, microestrutura e fases, fazem com que possibilite uma variedade de confecções de implantes e conseqüentemente maior abrangência em sua utilização em diferentes partes do corpo (Chen e Thouas, 2015; Saleh *et al.*, 2016).

Os aços inoxidáveis, as ligas à base de cobalto, o titânio, o ouro e a platina são bastante aplicados na fabricação dos biomateriais metálicos, muito utilizados na área ortopédica como, por exemplo, em materiais estruturais, em dispositivos para fixação de fraturas e nas substituições totais ou parciais de articulações, e também na fabricação de instrumentos cirúrgicos e hospitalares (Chen e Thouas, 2015). A Figura 1 ilustra um *stent* fabricado a partir da liga de memória de forma NiTi aplicados no sistema intravascular.

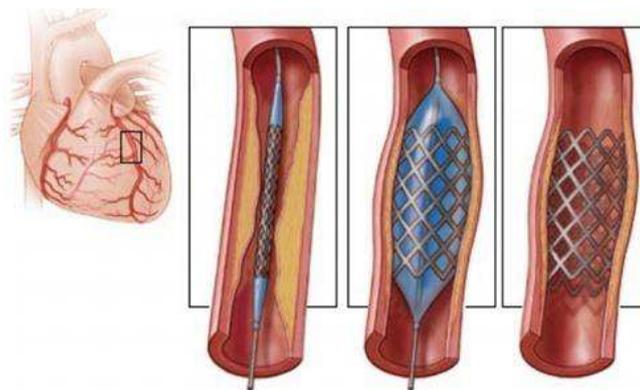


Figura 1 - O uso de NiTi em *stents* vasculares é baseado em sua superelasticidade e efeito de memória de forma (Chen e Thouas, 2015).

Biomateriais cerâmicos são compostos inorgânicos, não metálicos, que apresentam fortes ligações de caráter iônico ou covalente que conferem alto módulo de elasticidade e alto ponto de fusão. Os materiais cerâmicos quanto à aplicação na área biomédica têm atraído bastante atenção, devido à elevada estabilidade química, biocompatibilidade, excelentes propriedades tribológicas e semelhança com o componente mineral do osso o que favorece a osteointegração (interação entre o osso e o implante) atuando como suporte para o crescimento ósseo neoformado (Ratner et al., 2004; Gao et al., 2017; Triplett e Budinskaya, 2017).

Aplicações intracorpóreas como materiais de regeneração óssea, fibras ópticas para endoscopia, termômetros, olhos de vidro são alguns dos exemplos da utilização de materiais cerâmicos no campo da medicina (Ben-Nissan et al., 2018). A Figura 2 ilustra cabeças femorais a base de alumina.



Figura 2 - Várias cabeças femorais de alumina e componentes do acetábulo (Ben-Nissan et al., 2018).

Biomateriais compósitos caracterizam-se pela combinação de dois ou mais materiais. Essa junção permite adequar propriedades mecânicas superiores aos componentes unitários a depender da aplicação desejada (Gasser, 2000). Os materiais compósitos diante as várias vantagens observadas têm ganhado bastante destaque na área biomédica, a exemplo da área odontológica em pinos endodônticos baseados em epóxi reforçado com fibras de carbono (Vallittu et al., 2015).

A Figura 3 ilustra o desenho esquemático da estrutura do implante oral, compósito reforçado com fibra e partículas bioativas de vidro na superfície de contato com o osso (Vallittu *et al.*, 2015).

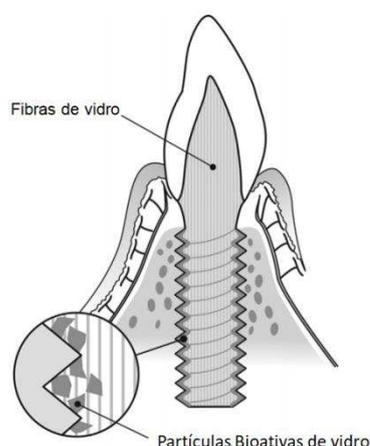


Figura 3 - Desenho esquemático da estrutura do implante oral, compósito reforçado com fibra e partículas bioativas de vidro na superfície de contato com o osso (Vallittu et al., 2015).

Os biomateriais poliméricos são bastante utilizados na área biomédica por conta de variedades de composições, propriedades, características físico-químicas e versatilidade estrutural, o que permite maiores possibilidades de adequação em termos de propriedades a cada aplicação específica, baixo custo e leveza (Banoriya *et al.*, 2017).

O desenvolvimento destes novos materiais, já proporcionou a produção de mais de 2 milhões de dispositivos implantados anualmente, com semelhança entre propriedades físicas, material e tecido substituído, e com o mínimo de rejeição e toxicidade. A biocompatibilidade é um dos parâmetros mais importantes que precisam ser considerados ao projetar os materiais para aplicações biomédicas,

juntamente com as propriedades mecânicas, físicas e químicas, seja o material bioativo, bioinerte ou biodegradável, pois a ausência de substâncias tóxicas e agentes sensibilizantes causadoras de reações sistêmicas indesejáveis e reações alérgicas, respectivamente, e nem a presença de potencial carcinogênico contribuem com a estabilização entre as interfaces tecido-biomaterial (Orapiriyakul *et al.*, 2018).

Todavia os casos de contaminação ocorridos durante o procedimento cirúrgico, na implantação dos biomateriais, ocasionando as infecções constituem, atualmente, um grande entrave que traz consigo graves problemas ao paciente, submetendo os mesmos a repetidas intervenções com a necessidade de trocar o implante em uma nova cirurgia (Orapiriyakul *et al.*, 2018).

## **2.2 Implantes e complicações causadas por bactérias**

Infecções associadas à utilização de implantes são uma das complicações mais severas e frequentes que envolvem interações complexas entre o agente contaminante, o biomaterial e a resposta imune do hospedeiro (Madalina Mihai *et al.*, 2015; Arciola *et al.*, 2018).

Na Figura 4 encontram-se exemplos de quadros infecciosos observados em pacientes relacionadas à utilização de dispositivos médicos e quadros infecciosos crônicos relacionados ao não uso de implantes.

Os biofilmes também estão envolvidos em infecções crônicas devastadoras associadas a uma grande variedade de dispositivos médicos implantados (Nusbaum *et al.*, 2012; Madalina Mihai *et al.*, 2015; Malheiro e Simões, 2017; Greenhalgh *et al.*, 2019).

Uma verdadeira competição ocorre após a implantação do biomaterial entre a integração do material ao tecido circundante e a adesão de bactérias à superfície do implante (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Arciola *et al.*, 2018). Isso acontece devido ao fato do biomaterial funcionar como um corpo estranho, que conseqüentemente acaba desencadeando inflamações como uma resposta tecidual, tornando-se uma região propícia à colonização e infecção microbiana (Schierholz e Beuth, 2001). Essas complicações bacterianas podem ocorrer imediatamente no pré ou pós-cirúrgico ou ainda por casos isolados onde as bactérias são trazidas de outra região pela corrente sanguínea até o local da cirurgia. Uma vez ocorrido o quadro de

contaminação, falhas e doenças crônicas surgem e acabam levando à necessidade de um novo procedimento cirúrgico para substituição do implante (Montanaro *et al.*, 2011; Arciola *et al.*, 2018).

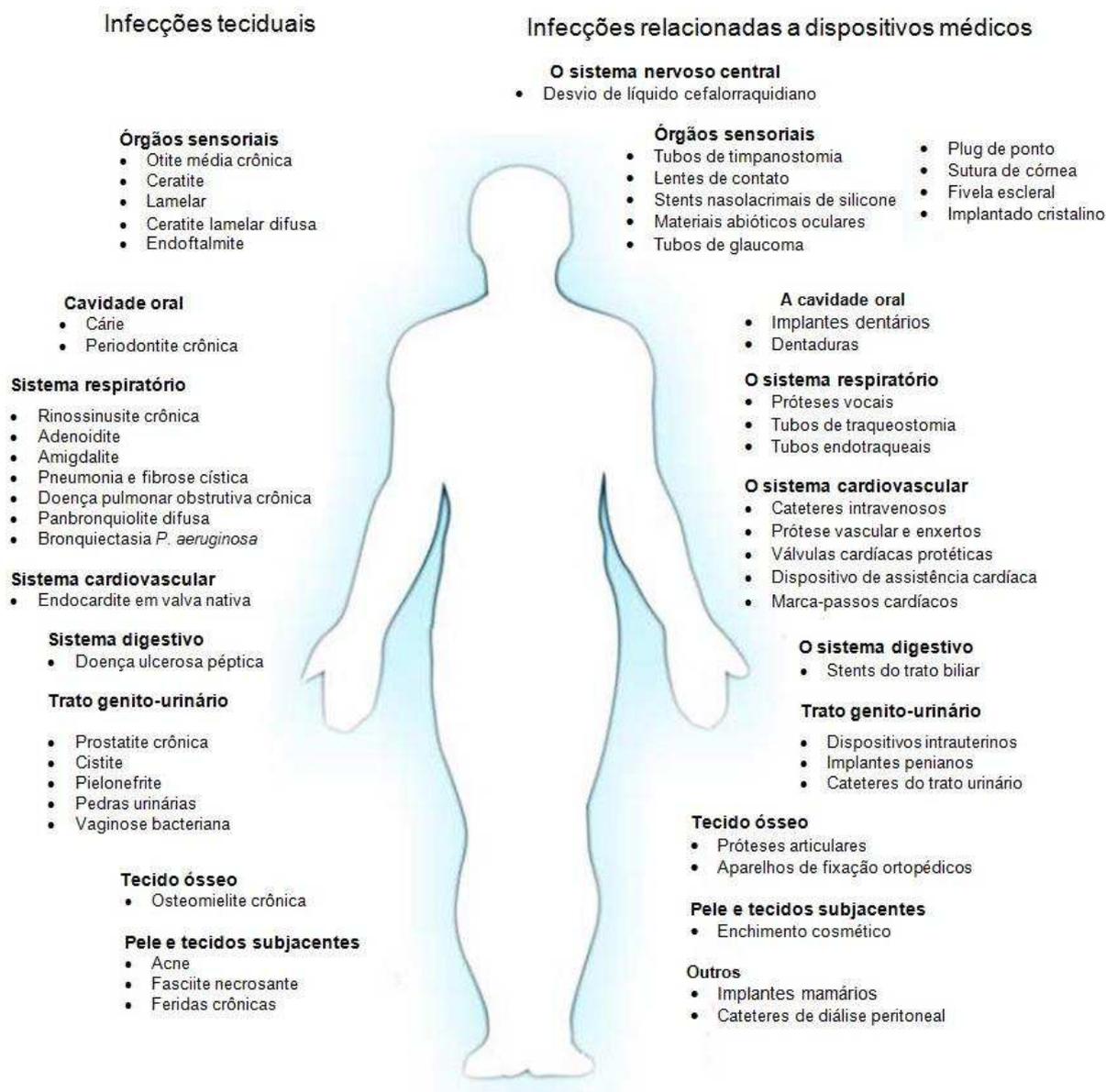


Figura 4 - Representação esquemática de infecções de biofilme relacionadas ao tecido humano vs. infecções de biofilme relacionadas a dispositivos médicos (Madalina Mihai *et al.*, 2015).

A maioria dos casos de contaminação ocorre por contato direto do biomaterial com o meio externo, onde os microrganismos podem estar presentes no ambiente e/ou equipamentos cirúrgicos, nas vestimentas médicas e até mesmo bactérias já presentes no corpo do paciente. Importante salientar que estas fontes

de contaminações ocorrem mesmo com a utilização de técnicas de esterilização (An e Friedman, 1996; Nablo *et al.*, 2005; Hetrick e Schoenfisch, 2006).

A adesão celular após o contato ocorre em duas fases distintas: a primeira denominada de reversível consiste na atração física entre o microorganismo e o implante, nessa etapa a adesão ainda não é definitiva, conseqüentemente não há formação do biofilme e ocorre nas primeiras horas (1 - 2 h) após a implantação; a segunda fase denominada de irreversível após 2 - 3 h da implantação, e é caracterizada pela interação molecular e celular do microorganismo com a superfície do biomaterial, nessa etapa predominam a adesão firme da bactéria à superfície do implante com a conseqüente formação do biofilme. No caso de dispositivos internos, esse processo de interação é uma função da superfície da célula microbiana e da natureza da superfície aderente e ocorre quase instantaneamente após a implantação (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Li e Webster, 2018; Greenhalgh *et al.*, 2019).

O biofilme constitui-se de uma camada de matriz extracelular que age protegendo as microcolônias de bactérias aderidas sobre superfícies sólidas. A fixação da superfície bacteriana ocorre através de múltiplos mecanismos, incluindo interações hidrofóbicas e eletrostáticas. Sua formação se inicia com a adesão à superfície do implante pela bactéria, em seguida ocorre à proliferação e acúmulo da matriz extracelular em múltiplas camadas e resulta em uma comunidade bacteriana que se mantém sob a matriz produzida, logo o desenvolvimento do biofilme é a principal causa de infecção associada ao implante (Nagel *et al.*, 1996; Hetrick e Schoenfisch, 2006; Greenhalgh *et al.*, 2019). A Figura 5 ilustra as etapas da formação do biofilme.

As microcolônias já formadas começam o processo de propagação bacteriana para outras áreas, acarretando uma infecção crônica e resistente, onde nesses casos a única solução se dá a partir da retirada do implante. Com a adesão, colonização e formação do biofilme, cria-se um microambiente que permite obtenção de nutrientes, proteção contra fagócitos, interferência na resposta celular do sistema imune, além de funcionar como barreira para a penetração de antibióticos (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Arciola *et al.*, 2018).

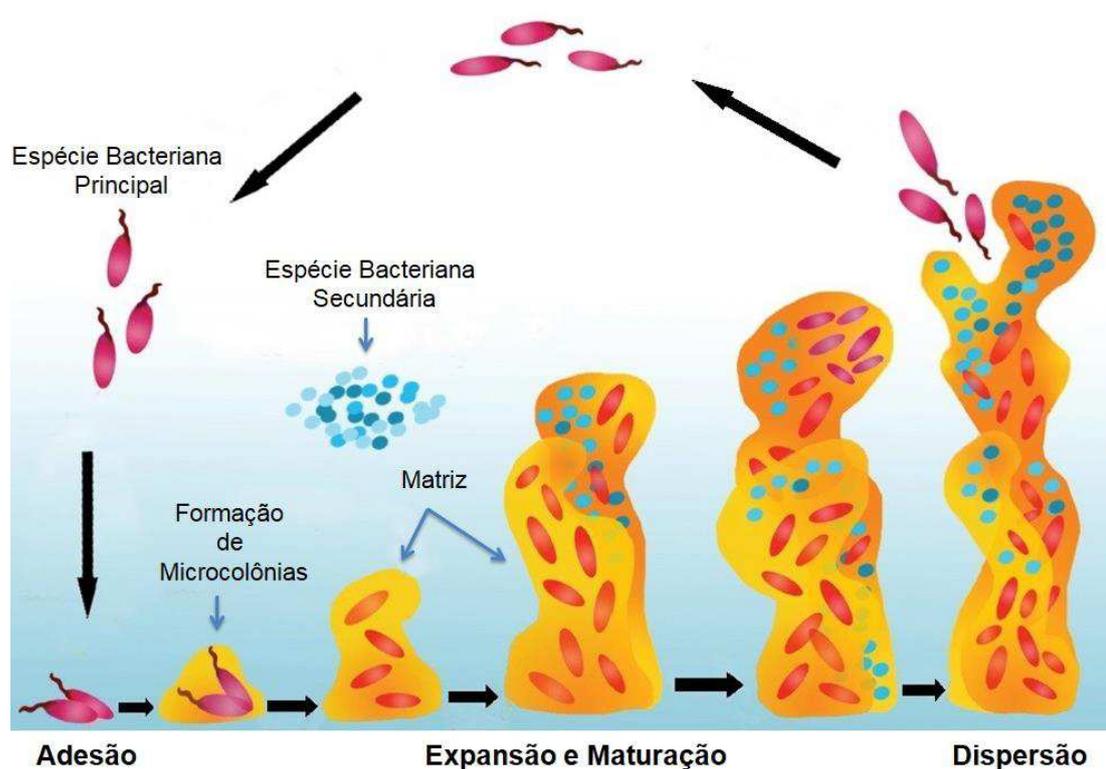


Figura 5 - Etapas da formação e da dispersão de um biofilme bacteriano (Tremblay *et al.*, 2014).

Os *Staphylococcus* são os microrganismos mais diagnosticados nas infecções associadas aos implantes ortopédicos, sendo *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* responsáveis por cerca de 60 a 90% dos casos (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Ordikhani *et al.*, 2014; Raphel *et al.*, 2016).

Como alternativa para evitar ou minimizar os quadros clínicos com complicações bacterianas no pré e pós-cirúrgico, os pacientes são submetidos ao uso de antibióticos via oral ou intravenoso, alternativa esta com limitações, uma vez que o uso difundido de antibióticos acarretou em microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais. Mesmo com o uso de profilaxia antimicrobiana perioperatória e um ambiente cirúrgico bem higienizado, o risco de infecção intraoperatória ainda é de cerca de 1% para a substituição do quadril e ombro e 2% após a substituição do joelho (Zimmerli *et al.*, 2004; Smith, 2005).

A escolha do antibiótico utilizado na profilaxia irá depender dos agentes contaminantes em questão. A vancomicina é um glicopeptídeo complexo, como pode-se observar na Figura 6, desenvolvido há quase cinco décadas, que tem atividade contra a maioria dos patógenos Gram-positivos (Moellering Jr, 1984; Schäfer *et al.*, 1996; Hetrick e Schoenfisch, 2006).

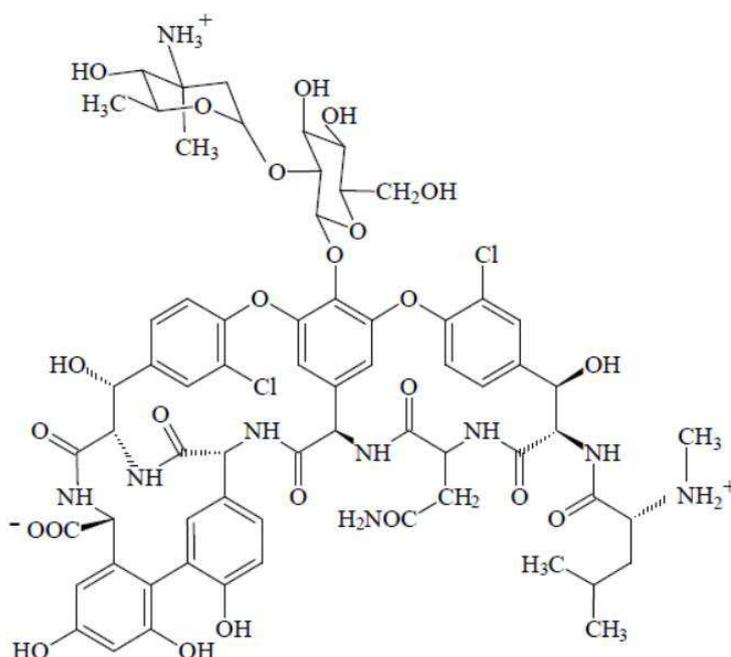


Figura 6 - Fórmula estrutural da vancomicina (Schäfer *et al.*, 1996).

A vancomicina é um dos antibacterianos mais utilizados no mundo para o tratamento de infecções Gram-positivas graves, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (Marsot *et al.*, 2012; Uhl *et al.*, 2017). A única via de administração possível da vancomicina é a intravenosa, uma vez que possui uma absorção muito fraca pelo trato gastrointestinal (Moellering Jr, 1984; Marsot *et al.*, 2012; Argenziano *et al.*, 2017), exceções de sua administração por via oral, só em casos associados à pacientes com diarreia a *clostridium difficile* (Surawicz *et al.*, 2000).

O surgimento de patógenos resistentes a múltiplas drogas é sempre um risco quando antibióticos são usados tanto na profilaxia e terapia de longo prazo como na terapia aguda convencional. O uso profilático ou prolongado de antibióticos pode favorecer a seleção de variantes resistentes e também levar à toxicidade renal e hepática com alguns agentes, como os aminoglicosídeos (Hetrick e Schoenfisch, 2006).

A terapia antimicrobiana convencional vem mostrando menor eficácia contra infecções associadas à utilização de implantes, por exemplo, em dispositivos como articulações artificiais, válvulas cardíacas protéticas e cateteres, devido à formação de biofilmes. Alguns estudos demonstram que a taxa de colonização bacteriana em *stents* uretrais não é reduzida por antibióticos profiláticos (Riedl *et al.*, 1999; Riedl *et*

*al.*, 2002). Essa resistência à terapia convencional de antibiótico levou ao desenvolvimento de pesquisas voltadas para soluções que evitem a aderência bacteriana e conseqüentemente a formação do biofilme como, por exemplo, a modificação do material com a incorporação da droga no dispositivo.

Riedl *et al.* (2002) observaram que os *stents* uretrais de poliuretano e os tubos de nefrostomia de silicone com revestimento de heparina inibiram efetivamente toda a formação de biofilme durante um período de seis semanas. A grande questão na incorporação da droga no dispositivo é quanto à permanência das propriedades, pois não deve danificar as propriedades do dispositivo como vida útil e compatibilidade do hospedeiro, outro fator que preocupa com esse método preventivo é a questão de que baixos níveis de antimicrobianos possam favorecer a aquisição de organismos resistentes a antibióticos (Smith, 2005).

Logo, tendo em vista a resistência bacteriana e dificuldades encontradas em outros métodos antibacterianos, levou-se ao desenvolvimento de pesquisas voltadas para um novo sistema que objetiva sistematizar a liberação de agentes antibacterianos em altas taxas iniciais durante um curto período crítico de pós-implantação para inibir a adesão inicial de bactérias, e posterior liberação continuada estável, pois a formação de cápsulas fibrosas protetoras e a integração de tecidos ocorrem em um período de tempo mais distante, semanas a meses, após a implantação do biomaterial (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Greenhalgh *et al.*, 2019).

### **2.3 Liberação Controlada de Fármaco**

A busca desenfreada por tratamentos terapêuticos voltados à administração de antibióticos que tragam melhores desempenhos clínicos ao paciente vem crescendo, uma vez que o grande desafio dos métodos convencionais como *spray*, injeções e pílula utilizados na administração de fármacos ou agente ativo consiste em manter os níveis de sua concentração dentro da faixa terapêutica, pois elevadas concentrações acima dessa faixa podem conduzir a toxicidade, enquanto que concentrações abaixo dessa faixa são ineficazes e podem levar a casos de resistência ao antibiótico (Kidane e Bhatt, 2005; Bhattarai *et al.*, 2010; Hickok e Shapiro, 2012).

O fármaco ao ser administrado apresenta variações quanto à sua concentração, atingindo o nível máximo de concentração (pico) na corrente sanguínea e posterior o declínio dessa dissolução, sendo necessária a administração de uma nova dosagem para manter os níveis de fármaco. Na Figura 7 é possível observar a análise comparativa quanto às variações de concentrações de fármacos administradas por liberação controlada e terapia convencional.

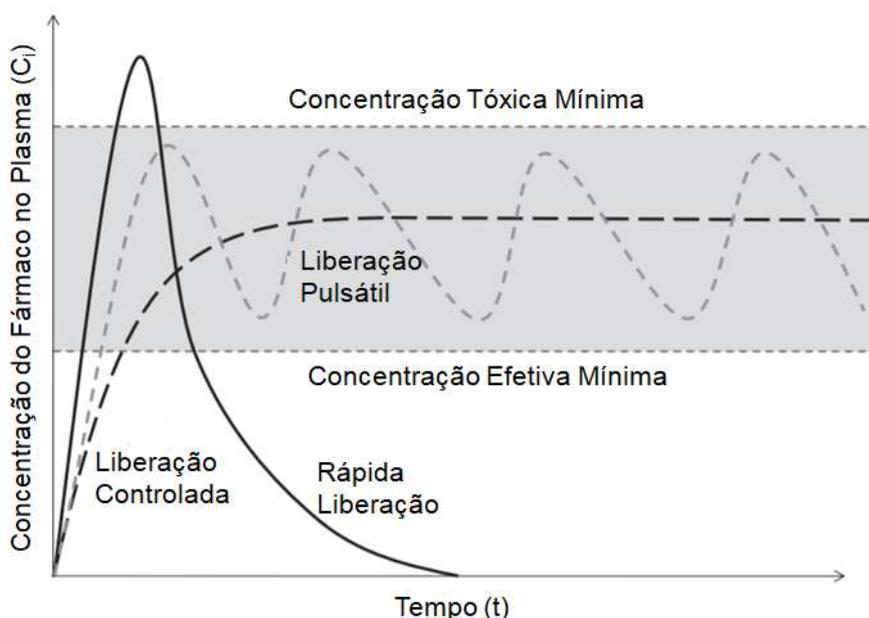


Figura 7 - Faixa terapêutica dos perfis de concentração de fármaco no plasma mostrando o impacto da liberação rápida, liberação pulsátil, e liberação controlada em relação à concentração efetiva e concentração tóxica (Liechty *et al.*, 2010).

Diante das limitações relacionadas aos métodos convencionais de tratamento terapêuticos, o avanço de pesquisas nas últimas décadas tornou possível o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de antibióticos, que traz como a principal vantagem a administração do antibiótico em altas doses sem exceder o nível de toxicidade sistêmica da droga, isso devido à possibilidade de aplicação diretamente no local de implantação garantindo com isso maior eficácia no procedimento (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Hickok e Shapiro, 2012).

Esse novo sistema objetiva sistematizar a liberação do antibiótico na faixa terapêutica, melhorando o tempo de liberação e estabilidade do mesmo na presença de certos fluidos biológicos possibilitando com isso uma maior potencialidade na inibição de biofilmes, maior biodisponibilidade e fazendo com que a quantidade de fármaco total administrada seja menor do que os métodos convencionais terapêuticos reduzindo assim o efeito colateral sistêmico uma vez que o tratamento

é direcionado ao alvo a ser tratado e conseqüentemente evitando reações colaterais potencialmente prejudiciais em outras partes do corpo diminuindo riscos ao paciente (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Wu e Grainger, 2006; Bhattarai *et al.*, 2010; Jacob *et al.*, 2018).

A eficácia da liberação de antibiótico é fortemente dependente da taxa e da maneira pela qual o medicamento é liberado. Estas propriedades são determinadas em parte pelo sistema carreador na qual o antibiótico é dopado ou carregado. Alguns dos mais comuns sistemas carreadores de fármaco utilizados são: hidrogel (Sheikhpour *et al.*, 2017; Sami *et al.*, 2018), lipossomas (Nguyen *et al.*, 2017; Sheikhpour *et al.*, 2017), polímeros carreadores (Masood, 2016; Sheikhpour *et al.*, 2017), micelas (Alper Isoglu *et al.*, 2017; Sheikhpour *et al.*, 2017), dendrímeros (Sheikhpour *et al.*, 2017; Zhang, T. *et al.*, 2017) e nanopartículas (Mandal *et al.*, 2016). Todos estes sistemas descritos envolvem alguns princípios básicos como, por exemplo, a liberação de fármaco realizada via hidrogel esquematizado na Figura 8.

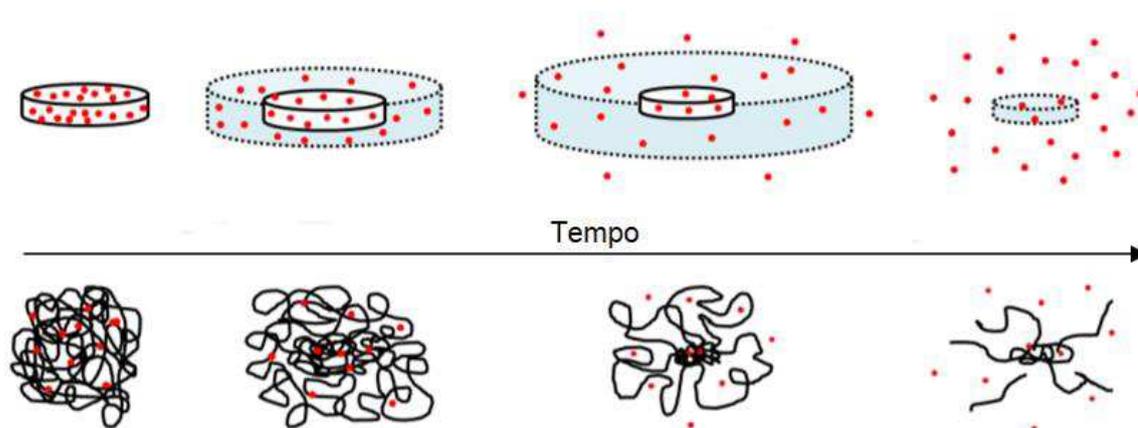


Figura 8 - Liberação do fármaco a partir de uma matriz (comprimido) feita de hidrogel dilatável. Os fenômenos de absorção de água, intumescimento, relaxamento da cadeia polimérica, difusão de fármaco, desemaranhamento da cadeia polimérica e erosão do polímero (Caccavo *et al.*, 2016).

De acordo com a Figura 8 pode-se observar que a matriz à base de hidrogel ao entrar em contato com água envolve as seguintes etapas: 1 - A água se difunde na matriz; 2 - A água atua como um plastificante, diminuindo a temperatura de transição vítrea,  $T_g$ , e conseqüentemente, a mudança de estado, a formação de gel e o inchaço do polímero (relaxamento da cadeia polimérica); 3 - A droga (solúvel) se dissolve e se difunde através da camada do hidrogel; e, 4 - Finalmente, o polímero se dissolve (degrada) na superfície da matriz. Entretanto,

nas últimas décadas vários estudos vêm sendo realizados no intuito de compreender os mecanismos envolvidos na liberação de fármacos. Sendo assim, os modelos matemáticos surgem como auxílio na elucidação desses mecanismos de transporte de massa envolvidos no controle da liberação de drogas.

## 2.4 Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação

Nos últimos 50 anos, inúmeras modelagens matemáticas foram descritas na literatura para o estudo farmacocinético de novas formas farmacêuticas (Higuchi, 1961; Ritger e Peppas, 1987; Siepmann e Siepmann, 2008; Fu e Kao, 2010; Peppas e Narasimhan, 2014), o que possibilitou análises quantitativas dos fenômenos físicos, químicos e potencialmente biológicos, envolvidos no controle da liberação de fármacos e substâncias bioativas.

Com a elucidação dos mecanismos envolvidos na liberação de fármacos, com o auxílio dos modelos matemáticos, foi possível o desenvolvimento de sistemas com características de desempenho desejáveis, quanto à composição necessária do fármaco para se alcançar a faixa de efeito terapêutico, tempo estimado para a liberação e a escolha das matrizes poliméricas adequadas para cada forma farmacêutica, dessa forma, contribuindo com a redução significativa dos custos e tempo de produção, dos testes *in vivo* e com os efeitos colaterais intrínsecos aos sistemas (Siepmann e Siepmann, 2008; Peppas e Narasimhan, 2014).

A modelagem matemática da cinética de liberação de fármacos fornece uma base para o estudo de mecanismos de transporte de massa envolvidos no controle da liberação de drogas. Em geral, os mecanismos de difusão e associados à convecção (difusão-convecção), como erosão e degradação, são os mecanismos mais importantes para o transporte de substâncias bioativas a partir de matrizes poliméricas (Fu e Kao, 2010; Krstić *et al.*, 2014).

O uso da modelagem matemática acaba sendo útil na previsão da cinética de liberação de sistemas de liberação em diferentes condições, por meio de simulações, sem que sejam necessárias novas análises experimentais. Mais frequentemente, permite a medição de parâmetros físicos importantes, como o coeficiente de difusão e a taxa de liberação do medicamento. Assim, a modelagem matemática, cujo desenvolvimento requer a compreensão de todos os fenômenos

que afetam a cinética de liberação de medicamentos, tem um valor muito importante na otimização do processo das formulações.

Em 1961, após o pioneirismo do professor Takeru Higuchi, a modelagem matemática da farmacocinética de diferentes formas farmacêuticas passa a ser estudada e diversos novos modelos são propostos desde então, passando a serem observados os fenômenos físicos associados aos processos de liberação de fármaco.

Existem vários modelos utilizados para o estudo farmacocinético e ajuste dos dados de liberação de fármaco como, por exemplo, os seguintes:

### 1. Ordem Zero

O modelo de ordem zero define a dissolução de formas farmacêuticas que não sofrem desagregação e liberam o fármaco lentamente, sem que haja a influência da concentração do medicamento remanescente na forma farmacêutica.

Considera-se que não haja alteração da área de transferência de massa e que não se estabeleça um equilíbrio como, por exemplo, na dissolução do fármaco a partir de sistemas transdérmicos com fármacos de baixa solubilidade, formas osmóticas e comprimidos revestidos (Dash *et al.*, 2010; Rezk *et al.*, 2019). O modelo de ordem zero pode ser representado pela Equação 1:

$$Q_t = Q_0 + K_0 \cdot t \quad (1)$$

em que  $K_0$  é a constante de liberação de ordem zero, expressa em unidades de concentração/tempo,  $Q_0$  e  $Q_t$  são as quantidades de fármaco liberadas no tempo zero e no tempo  $t$ , respectivamente.

### 2. Modelo de Higuchi

Em 1961, Takeru Higuchi publicou o modelo que descreve a liberação de medicamentos a partir de uma matriz insolúvel como sendo a raiz quadrada de um processo dependente do tempo, com base na difusão

Fickiana (Higuchi, 1961; Siepmann e Siepmann, 2008; Dash *et al.*, 2010; Krstić *et al.*, 2014; Rezk *et al.*, 2018; Rezk *et al.*, 2019). Esse modelo pode ser representado de forma simplificada pela Equação 2:

$$\frac{Q_t}{Q_{inf}} = K_H * \sqrt{t} \quad (2)$$

onde  $K_H$  é a constante de dissolução de Higuchi,  $Q_t$  e  $Q_{inf}$  são as quantidades liberadas no tempo  $t$  e no infinito respectivamente (Krstić *et al.*, 2014; Rezk *et al.*, 2018).

### 3. Modelo de Korsmeyer-Peppas

Muito usado, o modelo não linear de Korsmeyer-Peppas descreve a liberação de fármaco a partir de sistemas poliméricos em que o mecanismo de liberação é desconhecido ou quando mais de um mecanismo está envolvido (Peppas, 1985; Siepmann e Siepmann, 2008; Peppas e Narasimhan, 2014; Rezk *et al.*, 2019). É representado pela Equação 3:

$$\frac{Q_t}{Q_{inf}} = K_{KP} * t^n \quad (3)$$

onde  $Q_t$  e  $Q_{inf}$  são as quantidades de fármaco liberado no momento  $t$ , e no tempo no infinito, respectivamente,  $n$  é o expoente indicativo do mecanismo de transporte do fármaco, e  $K_{KP}$  é a constante de Korsmeyer-Peppas, que incorpora as características da rede macromolecular ou do sistema de partículas que compõe a formulação (Siepmann e Siepmann, 2008; Krstić *et al.*, 2014; Teimouri e Kasapis, 2020).

Nesse modelo, o valor de  $n$  caracteriza o mecanismo de transporte do medicamento, quando se tem o expoente de liberação  $n = 0,5$  ou  $n \leq 0,5$ , corresponde a um mecanismo de difusão fickiano qual a penetração do solvente na matriz da forma farmacêutica é a etapa limitante da taxa;  $0,5 < n < 1$  está relacionado à liberação não-fickiana, ou transporte anômalo do fármaco, significando que a liberação do medicamento segue os mecanismos

de difusão e erosão (Hernandez-Montelongo *et al.*, 2014; Rezk *et al.*, 2019; Teimouri e Kasapis, 2020).

#### 4. Modelo Kopcha

O modelo de Kopcha descreve formas farmacêuticas cujo transporte de fármaco ocorre em função das contribuições da difusão e do relaxamento de polímeros (Kopcha *et al.*, 1991; Teimouri e Kasapis, 2020). Pode ser representada pela Equação 4:

$$\frac{Q_t}{Q_{inf}} = A \cdot \sqrt{t} + B \cdot t \quad (4)$$

onde A é o expoente difusional e B é a constante erosiva,  $Q_t$  e  $Q_{inf}$  são as quantidades de fármaco liberado no momento t, e no tempo no infinito, respectivamente. Se A for muito maior que o valor de B, a proporção da razão A/B será alta e a liberação do medicamento seguirá o mecanismo de difusão; se o valor de B for maior que o valor de A, a proporção da razão A/B será baixa, significando que o mecanismo dominante de liberação do medicamento é o mecanismo de erosão ou relaxamento do polímero (Kopcha *et al.*, 1991; Krstić *et al.*, 2014; Teimouri e Kasapis, 2020).

#### 5. Modelo Makoid-Banakar

O modelo farmacocinético de dissolução proposto por Makoid-Banakar, é representado pela Equação 5:

$$\frac{Q_t}{Q_{inf}} = K_{MB} \cdot t^{n \cdot c} \cdot e^{-ct} \quad (5)$$

onde  $K_{MB}$  é constante de Makoid-Banakar, n e c são parâmetros relacionados à restrição do modelo, que requer que a dissolução total da substância liberada ocorra no momento em que a função Makoid-Banakar se aproxima do valor máximo,  $Q_t$  e  $Q_{inf}$  são as quantidades de fármaco liberado no

momento  $t$ , e no tempo no infinito, respectivamente (Krstić *et al.*, 2014; Nešović *et al.*, 2019).

## 6. Modelo Hixson - Crowel

O modelo de Hixson-Crowell descreve sistemas em que o mecanismo de liberação ocorre pela dissolução da substância da forma, seja de dosagem convencional, dispersível ou liberação imediata, e não pelo processo de difusão que pode ocorrer na matriz polimérica. O modelo considera que o formato permanece o mesmo durante todo o processo, apenas com uma diminuição proporcional do seu tamanho, ou seja, quando o diâmetro da área superficial sofre alguma alteração, o que determina que a taxa de erosão da matriz é o principal fator no transporte do medicamento (Krstić *et al.*, 2014; Rezk *et al.*, 2019).

Exemplo desse sistema são as formas farmacêuticas sólidas, como os comprimidos e os comprimidos revestidos. O modelo é representado pela Equação 6:

$$(Q_t - Q_{inf})^{1/3} = K_{HC} * t \quad (6)$$

Onde  $Q_t$  é a quantidade inicial do fármaco,  $Q_{inf}$  é a quantidade liberada do fármaco no tempo infinito, e  $K_{HC}$  é a constante de Hixson-Crowell (Krstić *et al.*, 2014; Rezk *et al.*, 2019). Portanto, para sistemas descritos pelo modelo farmacocinético de Hixson-Crowell, pode-se interpretar que a mudança na área da superfície durante o processo de dissolução tem um efeito significativo na liberação do fármaco.

## 7. Modelo de Hopfenberg

O modelo matemático semi-empírico de Hopfenberg possibilita uma descrição quantitativa da liberação de fármaco a partir de sistemas de administração de medicamentos degradáveis, exibindo uma taxa de liberação proporcional à área superficial da forma farmacêutica e dependente do tempo

(Siepmann e Siepmann, 2008; Dash *et al.*, 2010). A fração cumulativa do medicamento liberado no momento  $t$  esta descrita na Equação 7:

$$\frac{Q_t}{Q_{inf}} = 1 - \left(1 - \frac{k_{HG} * t}{C_0 a_0}\right)^n \quad (7)$$

Onde  $C_0$  é a concentração inicial do medicamento em todo o sistema,  $a_0$  é a meia-espessura de um sistema plano, ou o raio de uma esfera ou cilindro, e  $n$  é o expoente “fator de forma” que varia com a geometria,  $n = 1, 2$  e  $3$  que representa a geometria plana, cilíndrica e esférica, respectivamente,  $Q_t$  e  $Q_{inf}$  são as quantidades de fármaco liberado no momento  $t$ , e no tempo no infinito, respectivamente (Siepmann e Siepmann, 2008; Dash *et al.*, 2010). Supõe-se que todos os processos de transferência de massa envolvidos na liberação controlada do fármaco resultem em um único processo de ordem zero, representados pela constante de taxa  $k_{HG}$ , que é confinada à área de superfície do sistema. Esse processo de ordem zero pode corresponder a um único fenômeno físico ou químico, mas também pode resultar da superposição de vários processos, como dissolução, intumescimento e/ou clivagem da cadeia polimérica.

Embora a modelagem matemática venha sendo aplicada a vários sistemas carreadores, o sistema que tem aumentado consideravelmente o interesse dos pesquisadores para elucidação do mecanismo envolvido é a utilização de hidrogéis como superfícies antibacterianas, que agem liberando o agente antimicrobiano diretamente na superfície do implante atuando de forma preventiva na proteção do biomaterial evitando a adesão, a colonização, o biofilme, e posteriormente a proliferação bacteriana, uma vez que as características superficiais do implante também influenciam quanto à adesão bacteriana, uma vez que facilitam a liberação do fármaco na faixa terapêutica e no alvo a ser tratado (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Wu e Grainger, 2006; Neufeld e Bianco-Peled, 2017).

## 2.5 Hidrogel

Os hidrogéis são redes tridimensionais de polímeros hidrofílicos de origem natural ou sintética capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, dissolvidos em condições fisiológicas o que o tornam bastantes semelhantes às células e tecidos vivos naturais. A Figura 9 ilustra a capacidade de absorção do hidrogel até milhares de vezes seu peso seco em água, com os destaques às possibilidades em entrega de drogas.

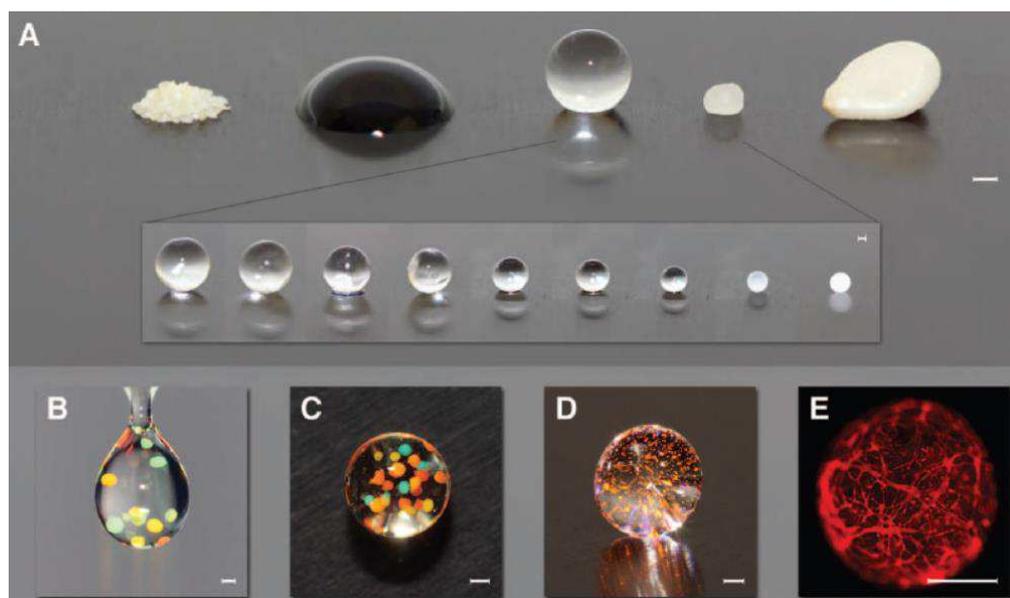


Figura 9 - (A) Comportamento do hidrogel em meio aquoso e processo de desidratação evidenciando a permanência do formato. (B) e (C) Microgéis com moléculas imobilizadas codificadas por cores, de modo a destacar as possibilidades de entrega de drogas em hidrogel injetável. (D) Microgel para uso na liberação de células para regeneração de tecidos. (E) Células encapsuladas de fibroblastos em um microgel de PEG - fibrinogênio semi - sintético, para estudo do comportamento celular (Seliktar, 2012).

Os hidrogéis podem ser formados *in vitro* ou *in situ*, e serem implantáveis ou injetáveis (Wu *et al.*, 2017; Pellá *et al.*, 2018). A capacidade de intumescimento dos hidrogéis por absorção de água ou fluidos biológicos é devido à presença de grupos funcionais, tais como hidroxila (-OH), carboxila (COOH), amina (NH<sub>2</sub>), amidas (-CONH<sub>2</sub>), sulfônico (-SO<sub>3</sub>H), podendo ser moldados em praticamente qualquer formato, tamanho ou forma.

Além do alto teor de água e insolubilidade, outras características como flexibilidade, porosidade e consistência macia o tornam muito interessante em questões de biocompatibilidade com o tecido vivo (Seliktar, 2012; Ahadian *et al.*, 2015; Caló e Khutoryanskiy, 2015; Sheikhpour *et al.*, 2017).

Assim sendo, os polímeros formadores do hidrogel quando em contato com um meio que favoreça o seu intumescimento como, por exemplo, a água, acaba provocando uma expansão de suas cadeias como mostrado na Figura 9 e mais intrinsecamente na Figura 10.



Figura 10 - Esquemas propostos para retículos de um hidrogel no estado seco e intumescimento. Note a expansão dos retículos ocasionada pela absorção de água (Aouada e Mattoso, 2009).

Quanto à formação das cadeias dos hidrogéis, estes podem ser produzidos a partir de uma reação envolvendo um ou mais monômeros, classificados como homopolímero ou copolímero respectivamente, interligados por ligações covalentes (reticulações) ou interações físicas, processo comumente denominado de reticulação, onde esses entrelaçamentos afetam o grau de insolubilidade do mesmo. Tendo em base o tipo de reticulação, os hidrogéis podem ser classificados quanto a duas categorias: físicos e químicos (Peppas *et al.*, 2000).

Na Figura 11 pode-se observar a diferença estrutural existente entre os dois tipos de interações ou redes formadas dos hidrogéis químicos e físicos.

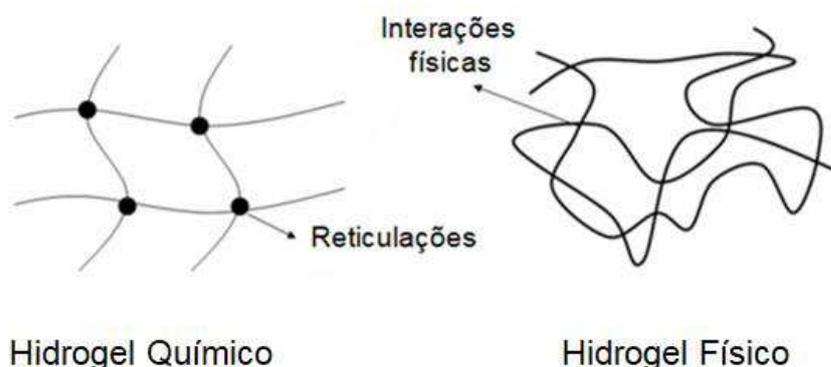


Figura 11 - Esquema estrutural dos hidrogéis químicos e físicos (Aouada e Mattoso, 2009).

Hidrogéis uma vez obtidos por reticulações não poderão mais ser dissolvidos, assim comumente conhecidos como hidrogéis permanentes ou químicos, onde nesse caso podem ser obtidos por: polimerização via radical livre, reações de condensação e reação de adição conforme Figura 12 (Caló e Khutoryanskiy, 2015; Pellá *et al.*, 2018).

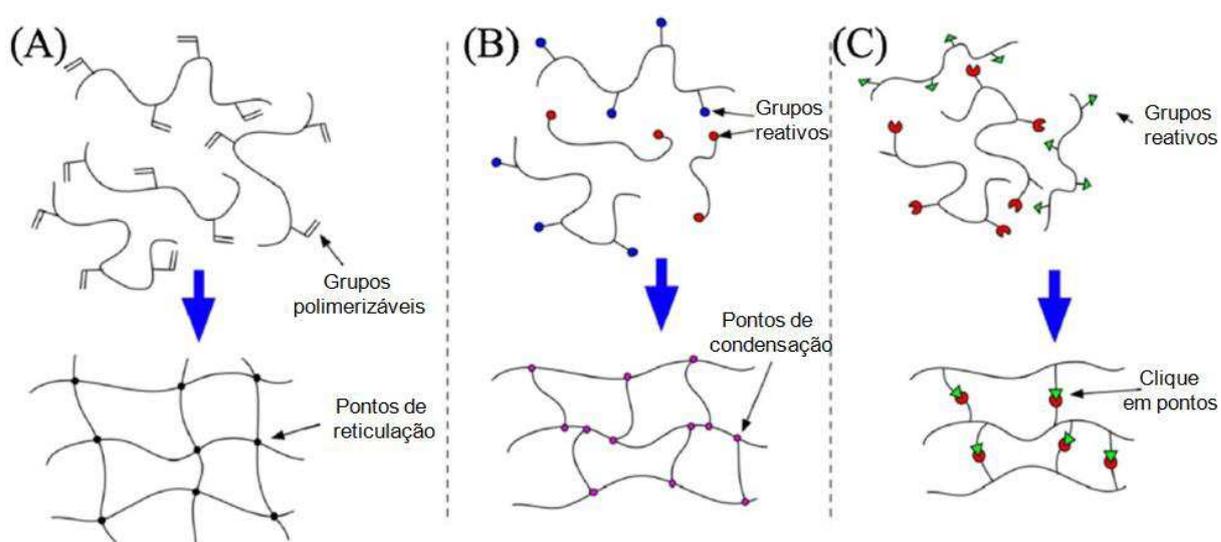


Figura 12 - Representação esquemática da reticulação química: (A) radical livre, (B) condensação, e (C) reação de adição, adaptado de (Pellá *et al.*, 2018).

Já os hidrogéis conhecidos como reversíveis ou físicos podem ser obtidos por associação com pequenas moléculas aniônicas, por poliânions, por pontes de hidrogênio ou por associações hidrofóbicas como pode-se observar na Figura 13 (Caló e Khutoryanskiy, 2015; Pellá *et al.*, 2018).

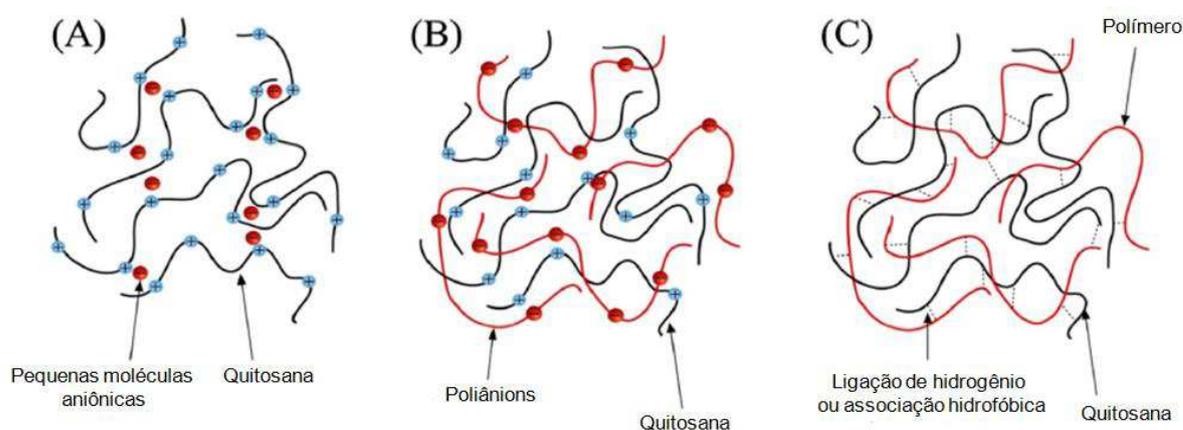


Figura 13 - Representação esquemática da reticulação física por: (A) moléculas aniônicas, (B) poliânions e (C) pontes de hidrogênios ou associação hidrofóbica, adaptado de (Pellá *et al.*, 2018).

Os hidrogéis respondem a estímulos de origem física e química, fatores estes muito importantes quando relacionado à difusão do soluto na matriz em sistemas carreadores de fármaco, assim como também o grau de reticulação e a estrutura química dos monômeros que compõem o sistema como mostrado na Figura 14.

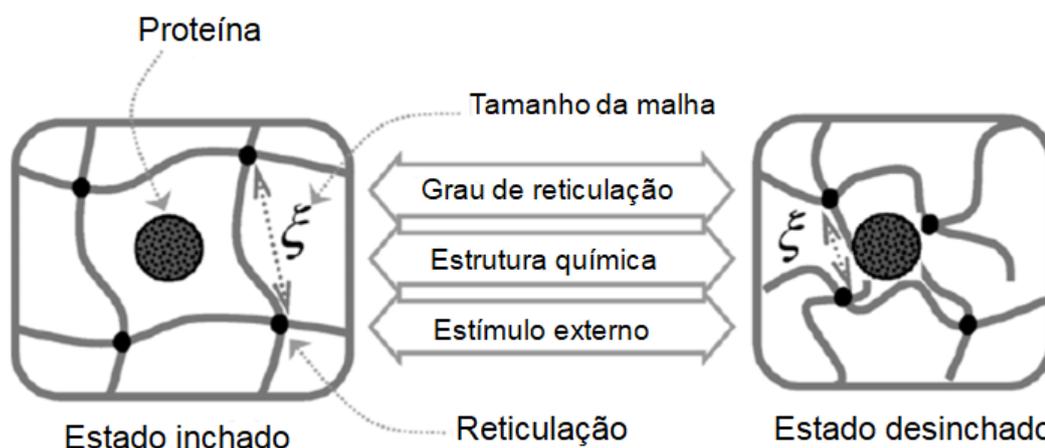


Figura 14 - Esquema de tamanho de malha em hidrogéis em estados inchados ou encolhidos (Lin e Metters, 2006).

Dentre os estímulos de origem física tem-se: luz, campo elétrico e magnético e pressão; e de origem química: temperatura, presença de moléculas específicas e alteração na concentração das mesmas e pH (Lin e Metters, 2006; Ullah *et al.*, 2015). A estabilidade entre as cadeias do polímero alcançada pelo processo de reticulação é altamente necessária para atingir as propriedades desejadas na liberação de fármaco. Os agentes reticulantes são os responsáveis por estas interações químicas ou físicas.

## 2.6 Reticulação via Genipina

A reticulação ou as interações químicas ou físicas consistem na estabilidade entre as cadeias da rede polimérica para formação dos hidrogéis a fim de melhorar suas propriedades mecânicas e obter um material com potencial para aplicações na liberação controlada de fármacos. Suas redes podem ser dissolvidas através de um determinado estímulo externo, por exemplo, temperatura, solução salina e pH (Caló e Khutoryanskiy, 2015; Ullah *et al.*, 2015).

A reticulação química de hidrogéis envolve a utilização de agentes reticulantes como glutaraldeído, formaldeído ou compostos epóxi, mas devido ao fato de apresentarem citotoxicidade, outras alternativas menos danosas vêm sendo utilizadas como é o caso da genipina (Akao *et al.*, 1994; Mi *et al.*, 2000).

A genipina é obtida a partir do seu composto geniposide, via hidrólise enzimática com  $\beta$ -glucosidase. O geniposide é isolado dos frutos da *Genipa americana* e *Gardenia jasminoides J. Ellise* constituindo cerca de 4-6% dos frutos secos. A genipa americana é encontrada na América tropical, do México e do Caribe à Argentina. Já as *Gardenias jasminoides* são cultivadas no Extremo Oriente, e seus frutos são usados há muito tempo na medicina chinesa por apresentarem, por exemplo, propriedades diuréticas e anti-inflamatórias (Akao *et al.*, 1994; Butler *et al.*, 2003). Estudos relatam que a genipina pode reagir espontaneamente com aminoácidos ou proteínas para formar pigmentos azuis escuros e essa pigmentação é de suma importância, pois são altamente estáveis ao calor, pH e luz (Paik *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2003). A Figura 15 ilustra a obtenção da genipina a partir do geniposide e sua característica azulada após reação com aminoácido ou proteína.

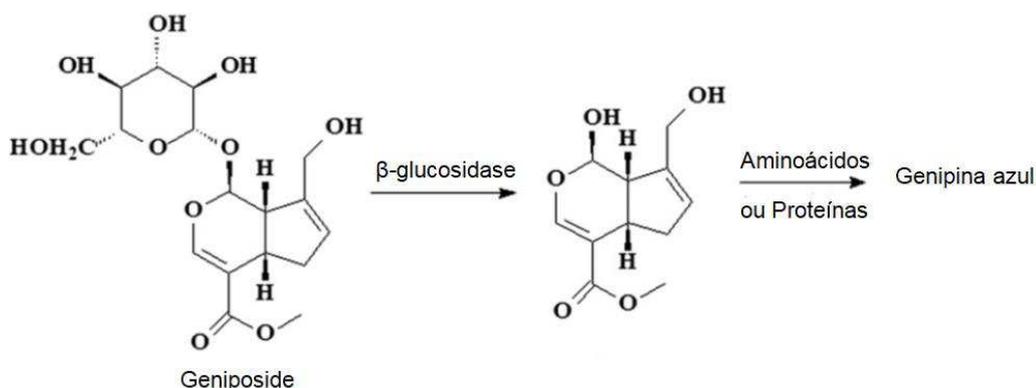


Figura 15 - Obtenção da genipina a partir do geniposide e reação com aminoácidos ou proteína com formação do pigmento azul (Butler *et al.*, 2003).

Este reticulador natural é 5000-10000 vezes menos citotóxico do que o glutaraldeído (Sung *et al.*, 1998; Butler *et al.*, 2003).

Novos estudos têm sido desenvolvidos aplicando biopolímeros reticulados com genipina para o desenvolvimento de hidrogéis com ação antibacteriana para serem utilizados em superfícies de implantes (Hetrick e Schoenfisch, 2006; Pellá *et al.*, 2018), por conta de variedades de composições, características físico-químicas e versatilidade estrutural, o que permite maiores possibilidades de adequação em

termos de propriedades a cada aplicação específica, a sua biocompatibilidade (He et al., 2017), por serem biologicamente ativos (Iftime et al., 2017), apresentarem atividade antibacteriana (Bio et al., 2017; Laskar et al., 2017; Mohamed et al., 2017; Wahid et al., 2017) e apresentarem baixo custo (Pellá *et al.*, 2018; Banoriya *et al.*, 2017).

## 2.7 Biopolímeros

Os biopolímeros são de origem natural e constituem macromoléculas formadas pela repetição de uma ou mais unidades denominadas de monômeros, ligadas entre si por ligações covalentes (Kulkarni Vishakha *et al.*, 2012). Como biomaterial pode ser utilizado na engenharia de tecido, devido à sua versatilidade mecânica e semelhança com as características estruturais do tecido (Chen e Liu, 2016).

O polímero utilizado como carreador de fármaco é classificado quanto à sua permeabilidade em reservatório ou matriz. No primeiro caso o fármaco fica armazenado em um reservatório recoberto por uma membrana polimérica, onde sua liberação ocorre pela difusão do fármaco através da membrana; e no segundo caso, o fármaco se encontra dissolvido ou disperso homogeneamente na forma de partículas sólidas na matriz polimérica (Comyn, 1985). Os polímeros têm importante utilização na área biomédica devido a sua estabilidade térmica, boa propriedade mecânica, por poderem ser processados em uma ampla variedade de formas, por apresentarem características constantes como a resistência, tempo de degradação e microestrutura (Wang *et al.*, 2004; Sionkowska, 2011; Banoriya *et al.*, 2017).

Na Tabela 1, pode-se observar uma listagem com polímeros usados em sistemas de liberação de fármacos e sua classificação em biodegradáveis e não-biodegradáveis (Pillai e Panchagnula, 2001).

Hidrogéis elaborados a partir de polímeros sintéticos apresentam alta resistência mecânica o que resulta em uma lenta taxa de degradação, e com isso uma alta durabilidade, porém a baixa biocompatibilidade acaba acarretando em muitos casos reações inflamatórias que acabam limitando o seu uso em dispositivos biomédicos (Wang *et al.*, 2004). Diante essa limitação na utilização dos polímeros sintéticos, os polímeros naturais como a quitosana e colágeno vêm ganhando bastante destaque na utilização como biomateriais devido uma maior interação ou

biocompatibilidade com os tecidos vivos, pois apresentam monômeros semelhantes aos encontrados nas matrizes orgânicas dos organismos, reduzindo assim reações inflamatórias crônicas (Kulkarni Vishakha *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Polímeros usados em sistemas de liberação de fármacos.

<b>Classificação</b>	<b>Polímero</b>
<b>Polímeros naturais</b>	
Polímeros a base de proteínas Polissacarídeos	Colágeno, albumina, gelatina Agarose, alginato, carragenina, ácido hialurônico, dextran, quitosana, ciclodextrinas
<b>Polímeros sintéticos</b>	
<i>Biodegradáveis</i>	
Poliéster	Poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), poli(hidroxitirato), poli( $\epsilon$ -caprolactona), poli(ácido $\beta$ -málico), poli(dioxanonas)
Polianidrido	Poli(ácido sebácico), poli(ácido adípico), poli(ácido terftálico) e vários copolímeros
Poliamidas	Poli(imino carbonatos), poliaminoácidos
Polímeros fosforosos	Polifosfatos, polifosfonatos, polifosfazenos
Outros	Poli(cianoacrilatos), poliuretanos, éster poliorto, polidihidropirans, poliacetais
<i>Não biodegradáveis</i>	
Derivados de celulose	Carboximetil celulose, etilcelulose, celulose acetato, celulose acetato propionato, hidroxipropilmetilcelulose
Silicones	Polidimetilsiloxano, sílica coloidal
Polímeros Acrílicos	Polimetacrilatos, poli(metilmetacrilato), poli hidro(etilmetacrilato)
Outros	Polivinilpirrolidona, etilvinilacetato, poloxameros, poloxaminas

Fonte: Adaptado de PILLAI; PANCHAGNULA, 2001.

Uma característica intrínseca dos polímeros naturais é a sua capacidade de serem degradados por enzimas, garantindo, deste modo, que o implante seja metabolizado por mecanismos fisiológicos. Uma característica muito importante quando se espera a degradação completa do implante por processos metabólicos normais. Este tipo de sistema vem sendo estudado por diversos pesquisadores a exemplo de: Tihan *et al.* (2016) estudaram a liberação do fármaco ibuprofeno utilizando como sistema carreador o biomaterial à base de colágeno na forma de esponjas; Lin *et al.* (2016) desenvolveram um método nanoparticulado de albumina como carreador para estudo dos fármacos paclitaxel (PTX) e fenretinide. Os polissacarídeos são exemplos de polímeros de origem natural que têm ganhado muito destaque na fabricação de hidrogéis para a área biomédica, por apresentarem características como: materiais derivados de fontes renováveis, não tóxicos, biocompatíveis, biodegradabilidade, baixa imunogenicidade e atividade antibacterina (Ding *et al.*, 2017; Pellá *et al.*, 2018).

Além das características citadas, a capacidade dos polissacarídeos formarem uma estrutura em gel, mesmo a baixas concentrações, constitui uma das propriedades funcionais mais importantes e mais atraentes deste grupo de polímeros. E dentre o grupo dos polissacarídeos, a quitosana tem sido bastante estudada em comparação aos hidrogéis convencionais em aplicações que envolvam o tratamento de superfícies de implantes por possuir entre outras características, a atividade antimicrobiana (Yadollahi *et al.*, 2015; Solé *et al.*, 2017).

### 2.7.1 Quitosana

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da quitina, é catiônico na presença de soluções diluídas de ácidos, obtido principalmente a partir da N-desacetilação parcial da quitina, a partir dos exoesqueletos dos crustáceos, como camarões e caranguejos, como também de algumas algas, e da parede celular de certos fungos. Com graus típicos de desacetilação entre 70 e 95% e pesos moleculares entre 10 e 1.000 kDa (Esmaeili *et al.*, 2010; Hamman, 2010; Biao *et al.*, 2017; He *et al.*, 2017; Manzoor *et al.*, 2018). A quitina e a quitosana são constituídas por unidades de 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosose (unidade acetilada) e 2-amina-2-desoxi-D-glucopiranosose (unidade desacetilada) respectivamente, unidas por ligações glicosídicas do tipo ( $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 4) -N-acetil-D-glucosamina) conforme ilustradas

na Figura 16 (Esmaeili *et al.*, 2010; Hamman, 2010; Sionkowska, 2011; Manzoor *et al.*, 2018).

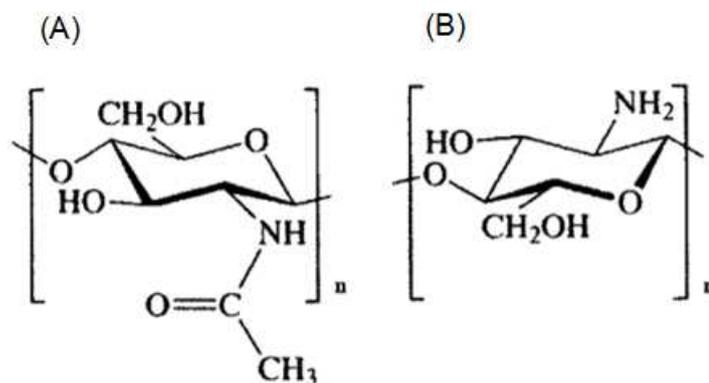


Figura 16 - Estrutura da quitina (A) e da quitosana (B) (Rinaudo, 2006).

Devido às variadas propriedades da quitosana, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade antibacteriana, não toxicidade, baixa imunogenicidade e a presença de grupos funcionais bioativos como, OH e NH<sub>2</sub>, responsáveis pela reatividade do polímero, e facilidade de processamento nas mais variadas formas, como géis (Iftime *et al.*, 2017), membranas (Madhumathi *et al.*, 2010), nanopartículas (NPs) (Anitha *et al.*, 2009), *scaffolds* (Peter *et al.*, 2010) dentre outros, a quitosana tem atraído amplo interesse em uma variedade de aplicações biomédicas e farmacêuticas, tais como, agente de entrega de drogas, cosméticos e engenharia de tecidos (Garg *et al.*, 2015; Manzoor *et al.*, 2018).

Sendo que as propriedades físico-químicas e biológicas da quitosana são afetadas diretamente pelo o seu peso molecular e o grau de desacetilação, por exemplo, propriedades como a biodegradabilidade é afetada pelo grau de desacetilação, uma vez que atua sobre a solubilidade, hidrofiliabilidade, viscosidade e capacidade de reticulação do polímero. O maior grau dedesacetilação determina uma maior quantidade de grupos aminos livres na cadeia do polissacarídeo e conseqüentemente o maior número de grupos amina protonados em solução. Maior número de cargas positivas possibilita, por exemplo, no caso da característica antibacteriana da quitosana, uma maior e mais forte atividade (Dash *et al.*, 2011; Sionkowska, 2011; Hosseinnejad e Jafari, 2016).

Na Figura 17 observa-se um esquema da versatilidade da quitosana.

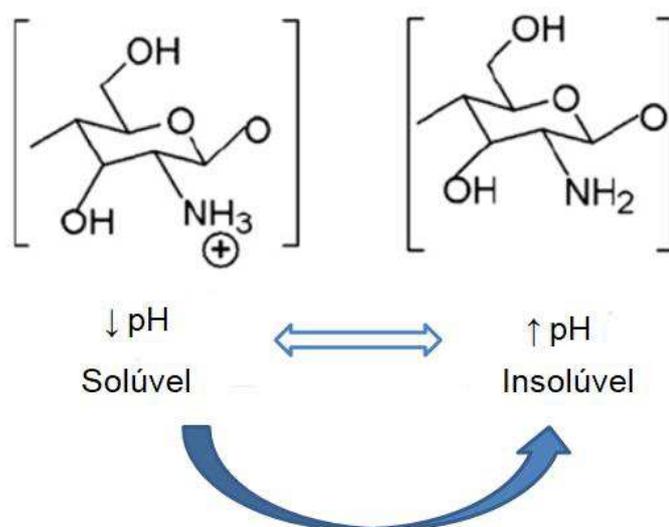


Figura 17 - Ilustração esquemática da versatilidade da quitosana (Dash *et al.*, 2011).

Em pH baixo (menor que cerca de 6), os grupos amina de quitosana são protonados conferindo comportamento policatiónico à quitosana. Em pH mais alto (acima de cerca de 6,5), as aminas de quitosana são desprotonadas e reativas (Dash *et al.*, 2011).

Na Tabela 2 observa-se a propriedade antibacteriana da quitosana contra uma ampla gama de espécies microbianas.

Tabela 2 - Atividades antimicrobianas da quitosana.

Bacteria	CMI <sup>a</sup> (ppm)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	100
<i>Bacillus cereus</i> 295	1000
<i>Corine bacterium michiganence</i>	10
<i>Erwinia sp.</i>	500
<i>Erwinia carotovora subsp.</i>	200
<i>Escherichia coli</i>	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700
<i>Micrococcus luteus</i>	20
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	500
<i>Staphylococcus aureus</i>	20
<i>Xanthomonas campestris</i>	500

<sup>a</sup>CMI: concentração mínima inibitória de crescimento (Fei Liu *et al.*, 2001).

Isso faz com que a quitosana seja alvo de grande interesse na área biomédica, embora o modo exato de como ocorra essa atividade antimicrobiana ainda não é bem esclarecida, supõem-se que a quitosana carregada positivamente interaja com a membrana celular bacteriana carregada negativamente, levando ao vazamento de constituintes intracelulares vitais (Muzzarelli *et al.*, 1990; Fei Liu *et al.*, 2001; Rabea *et al.*, 2003). Rabea *et al.* (2003) observaram que os cateteres de polietileno revestidos de quitosana inibiram a formação de biofilme.

## 2.8 Estado da Arte

Nos últimos anos, a literatura reporta a obtenção de hidrogéis antibacterianos à base de quitosana para aplicação como sistemas carreadores de fármaco. Para tanto, foi realizado uma pesquisa de publicações a partir do ano 2017 até meados de 2020 na plataforma online “*science direct*”, utilizando como palavras chave “*antimicrobial, chitosan, hydrogels*”. A distribuição dessas publicações referentes à aplicação dos hidrogéis a base de quitosana como sistema carreador de antibiótico entre os anos de 2017 até 2020 encontra-se ilustrada na Figura 18.

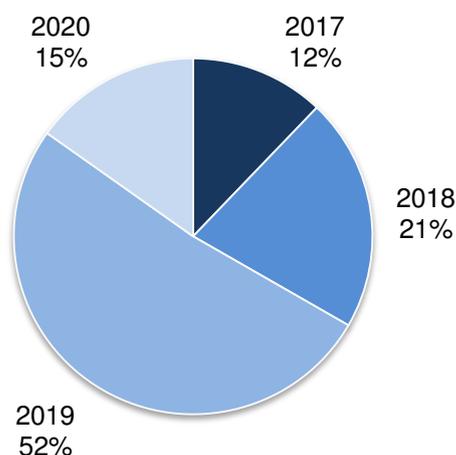


Figura 18 - Gráfico estatístico de publicações referentes à aplicação dos hidrogéis antibacterianos a base de quitosana como sistema carreador de fármaco do ano de 2017 até 2020 (Autoria própria, 2020).

Dentre esta gama de publicações um breve resumo foi realizado sobre alguns trabalhos que se mostram promissores na utilização da quitosana como sistema carreador de antibiótico.

Ferreira *et al.* (2019) desenvolveram um gel a base de quitosana associado à clorexidina para o estudo da atividade antibacteriana e cicatrizante. A partir do teste antimicrobiano puderam constatar que realmente o gel é eficaz na ação contra a bactéria *Staphylococcus aureus* e com relação aos testes de ação cicatrizante puderam observar uma boa ação cicatrizante e de contração da ferida com a utilização do gel com 2% de clorexidina quando comparado com os grupos de controle.

Rasool *et al.* (2019) desenvolveram um hidrogel sensível ao pH baseado em quitosana (CS) e poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) para a liberação controlada da sulfadiazina de prata para aplicação na cicatrização de feridas. Os pesquisadores observaram a partir da análise antimicrobiana a atividade contra a bactéria *Escherichia coli* e quanto aos testes de liberação *in vitro* os hidrogéis apresentaram-se promissores para liberação prolongada e controlada da sulfadiazina de prata, onde uma de suas amostras, T6 pvp 0,5, exibiu em tampão fosfato-salino (PBS), 91,2% de liberação do fármaco de modo controlado ao longo de 80 min.

Zhang *et al.* (2018) desenvolveram hidrogéis de carboximetil quitosana com diferentes propriedades de cationicidade através da reticulação com diferentes concentrações de genipina (1%, 2,5%, 5% e 10%). Observaram que a concentração de genipina influenciou fortemente as respostas das células-tronco mesenquimais (CTM) e a atividade de coagulação sanguínea para amostras de quitosana-hidroxiapatita, aumentou os efeitos osteogênicos e hemostáticos. Em particular, a cationicidade demonstrou um profundo efeito de modulação nas atividades hemostáticas de amostras de quitosana, através da influência de três diferentes aspectos dos processos de coagulação, incluindo a via de coagulação intrínseca, agregação e ativação de plaquetas e ativação de eritrócitos. O ajuste do grau de reticulação proporcionou, assim, uma abordagem simples e eficaz para alcançar funções osteogênicas e hemostáticas combinadas, que tem grande potencial na modificação da superfície de implantes cirúrgicos.

Tylyszczak *et al.* (2017) desenvolveram hidrogel a base de quitosana modificado com nanopartículas de prata, e puderam concluir com base nos testes realizados que o hidrogel modificado com 3 mL dessas nanopartículas apresentaram um elevado potencial na atividade antibacteriana relacionado ao *Staphylococcus aureus* e que essa modificação não proporcionou atividade tóxica às células da derme.

Hanna e Saad (2019) desenvolveram um hidrogel polieletrólítico à base de N-trimetilquitosana (CMT)/goma xantana carboximetil de sódio (GXMC) para investigar o desempenho de carga e liberação do fármaco ciprofloxacina (CFX) para ação antibacteriana. Observaram a partir do teste de liberação *in vitro* realizado que a eficiência do hidrogel aumentou quando a concentração de fármaco atingiu cerca de  $93,8 \pm 2,1\%$  com concentração de (CFX)  $250 \mu\text{g} / \text{mL}$  e que a liberação é mais rápida e maior no gel com alta eficiência de carga de fármaco. Também observaram a eficácia do hidrogel carregado com (CFX) na inibição contra as estirpes bacterianas gram positivas e negativas com maior diâmetro da zona de inibição em comparação com antibióticos de referência (gentamicina e ampicilina). Com relação ao ensaio de citotoxicidade, o hidrogel não mostrou evidências de toxicidade celular, onde o hidrogel preparado apresentou a maior viabilidade celular de  $97,0 \pm 0,5\%$  na concentração de  $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Puderam assim concluir de forma geral que o hidrogel polieletrólítico a base de N-trimetilquitosana (CMT) / goma xantana carboximetil de sódio (GXMC) é altamente promissor para a utilização no campo biomédico, especialmente para a liberação controlada de drogas.

George *et al.* (2020) ao formularem um hidrogel nano-híbrido funcionalizado utilizando quitosana conjugada com L-Histidina (HIS), nanopartículas de óxido de zinco fito-sintetizadas (ZNPs) e aldeído celulose (DAC) para liberação controlada dos fármacos polifenóis - naringenina (NRG), quercetina (QE) e curcumina (CUR). E puderam observar, por exemplo, nas propriedades do estudo feito nas liberações, uma liberação sustentada máxima do medicamento com tempo de saturação prolongado de 12 horas iniciais em condições ideais de carregamento e pH.

Mostrando assim a eficiência no sistema carreador hidrogel nano-híbrido funcionalizado com quitosana conjugada com L-Histidina (HIS), (ZNPs) e (DAC) para liberação dos fármacos polifenóis - (NRG), (QE) e (CUR), como uma opção terapêutica promissora para a administração de medicamentos polifenóis para tratamento contra infecções microbianas e terapia contra câncer.

Benltoufa *et al.* (2020) ao produzirem um hidrogel à base de quitosana para ser aplicado como revestimento em tecido celulósico (algodão) com a finalidade de conferir sensibilidade ao pH e atividade antibacteriana, puderam observar resultados promissores ao constatarem o aumento da atividade antibacteriana, porém dependente do tipo de bactéria e do processo de funcionalização feito no tecido de algodão.

Jayaramudu *et al.* (2020) ao sintetizarem nanopartículas de cobre para serem incorporadas em hidrogéis na proporção 1:1 de quitosana e plurônico F127 para inibir o surgimento de bactérias *Escherichia coli* (gram-negativas) e *Staphylococcus aureus* (gram-positivas) em protótipos. Os autores puderam observar que os hidrogéis nanocompósitos de quitosana-plurônico \ F127 de cobre apresentaram resultados eficazes quanto à atividade antimicrobiana, e com isso, potencial promissor para aplicação em tratamento de feridas.

Por meio das pesquisas descritas anteriormente, observa-se que a comunidade científica tem dado ênfase ao desenvolvimento de hidrogéis antimicrobianos. Pode-se, portanto, a partir de um estudo de revisão de literatura, evidenciar a importância que se tem dado à obtenção de hidrogéis de quitosana antimicrobianos obtidos por várias rotas para diversas aplicações, o que motivou o desenvolvimento e aplicação nesta dissertação em obter um sistema quitosana/genipina para estudo da taxa de liberação de vancomicina para ser utilizado como, por exemplo, na prevenção de biofilmes em implantes biomédicos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

Dentre os materiais utilizados na preparação do hidrogel, o processo de reticulação e adição do fármaco, temos:

- Quitosana com grau de desacetilação de 75-85% (CERTBIO);
- Genipina com P. A. 98% (Sigma-Aldrich®);
- Ácido láctico P. A. 98% (Sigma-Aldrich®);
- Tampão fosfato-salino (PBS) pH 7,4;0,1M;
- Cloridrato de vancomicina, pó liofilizado (TEUTO);
- Água destilada
- Fosfato de sódio bibásico P. A. (Dinâmica);
- Fosfato de sódio monobásico monohidratado P.A. (Vetec).

#### 3.2 Metodologia

##### 3.2.1 Preparação dos Hidrogéis

Para a produção do hidrogel foi tomando como referência a metodologia descrita por Solé *et al.* (2017) nas “Patents Translate” CN105920675 e CN105968388 e por Mi *et al.* (2000) a qual faz uso de uma solução de quitosana a 1,5% (m/v), onde 1,5 g de quitosana foram dissolvidas em 100 mL de solução de ácido láctico a 1% (v/v), e posterior adição do fármaco vancomicina fazendo uso da metodologia descrita por Talebian e Mansourian (2017).

Sendo assim, para a produção do hidrogel, primeiramente uma solução base foi preparada por meio da dissolução do polímero quitosana em ácido láctico (1% v/v), para uma concentração final da solução polimérica (1,5% m/v), sob agitação magnética, modelo Fisatom a 840 rpm/1h, sob temperatura de 25°C e, posteriormente, mantidas em repouso por 30 min. Essa foi a solução base usada para formação do hidrogel.

A reticulação da solução base, pelo agente reticulante genipina e a adição do fármaco vancomicina, para a formação dos hidrogéis, foram feitas de três formas distintas, que estão descritas a seguir:

- Hidrogel 1 (H1) - O fármaco foi adicionado junto com o agente reticulante à solução base. Da solução base foi retirado 20 mL e sob agitação foi adicionado 0,2 g do fármaco vancomicina e 0,012g do agente reticulante genipina dissolvidos em 2mL de água destilada. A solução permaneceu sob agitação magnética de 840 rpm por 12 h. Terminado todo esse processo foi obtido 20 g do hidrogel de composição: 1,5% (m/m) de quitosana; 1% (m/m) de fármaco e 0,06% (m/m) de genipina.
- Hidrogel 2 (H2) - O fármaco foi adicionado primeiro à solução base e depois foi realizado a reticulação. Da solução base foi retirado 20 mL e sob agitação foi adicionado 0,2 g do fármaco vancomicina dissolvido em 1 mL de água destilada, mantendo sob agitação por 4 h. Passado esse tempo, ainda sob agitação, foi adicionado 0,012 g do agente reticulante genipina dissolvido em 1 mL de água destilada e permanecendo sob agitação por 12 h a 840 rpm. No final do processo foi obtido 20 g de hidrogel de composição: 1,5% (m/m) de quitosana; 1% (m/m) de fármaco e 0,06% (m/m) de genipina.
- Hidrogel 3 (H3) - O agente reticulante foi adicionado primeiro a solução base e depois foi realizado a adição do fármaco vancomicina. Da solução base foi retirado 20 mL e sob agitação foi adicionado 0,012 g do agente reticulante genipina dissolvido em 1mL de água destilada, mantendo sob agitação por 4 h. Em seguida foi adicionado 0,2 g do fármaco vancomicina dissolvido em 1 mL de água destilada. A agitação continuou por mais 12 h a 840 rpm. Terminado todo esse processo foi obtido 20 g de hidrogel de composição: 1,5% (m/m) de quitosana; 1% (m/m) de fármaco e 0,06% (m/m) de genipina.

Os hidrogéis foram armazenados sob refrigeração de 6°C. Na Figura 19 encontra-se o fluxograma de preparação dos hidrogéis.

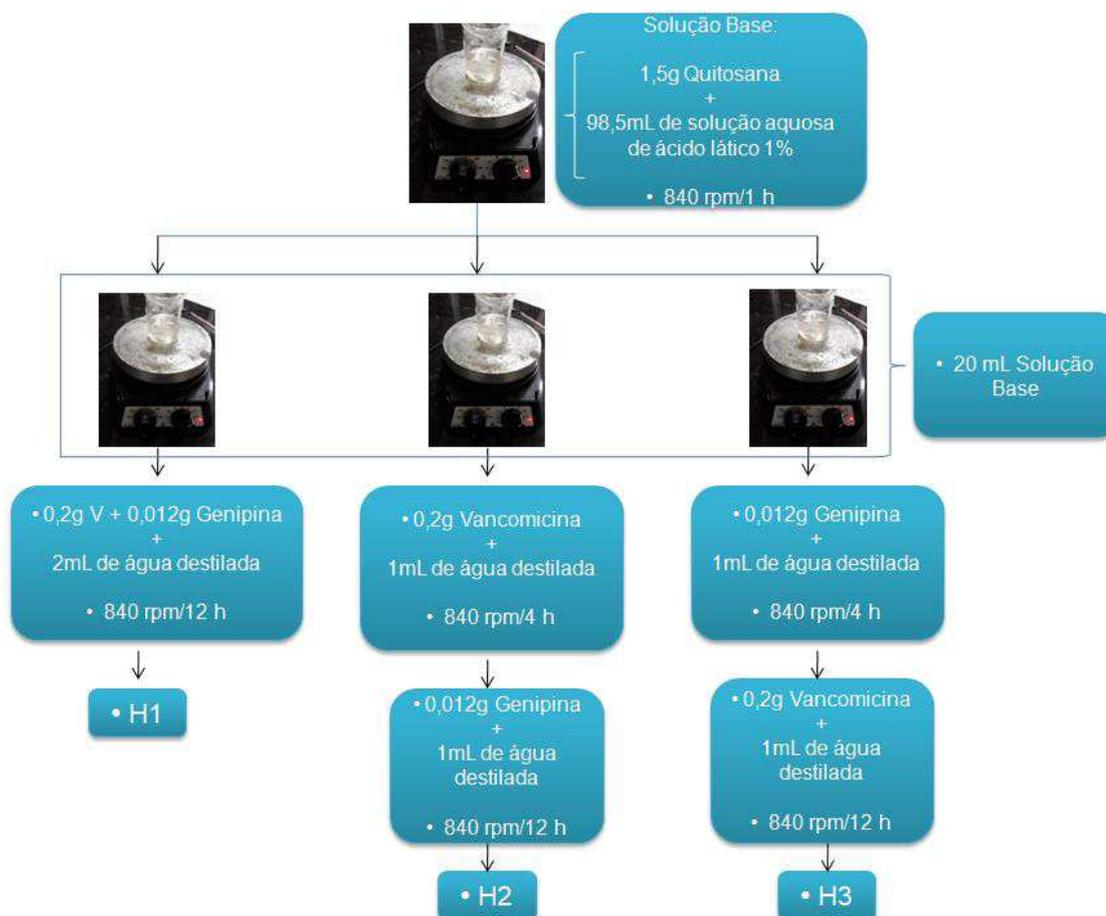


Figura 19 - Fluxograma de preparação dos hidrogéis H1, H2 e H3.

### 3.3 Caracterização

As caracterizações foram realizadas no Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC) da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa/UFCG) e os experimentos de liberação foram realizados no Laboratório de Engenharia Bioquímica - LEB, da Unidade Acadêmica de Engenharia Química (UAEQ/UFCG).

#### 3.3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das matérias-primas e dos hidrogéis foram obtidos usando um espectrômetro modelo Vertex 70 da Bruker, entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , pertencente ao Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC) da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UAEMa/UFCG).

### 3.3.2 Difração de Raios X (DRX)

As matérias-primas utilizadas na obtenção dos hidrogéis foram caracterizadas por difração de raios X utilizando um difratômetro de raios X modelo D2 Phaser da BRUKER, radiação Cu K $\alpha$ , tensão de 40 kV, 30 mA de corrente, com varredura  $5^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$  com o incremento de  $0,016^\circ$ .

### 3.3.3 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas TG foram obtidas por meio de um sistema de análise térmica marca SHIMADZU, modelo DTG-60H, em atmosfera de nitrogênio, a uma vazão de  $50\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , numa faixa de temperatura entre a ambiente até  $800^\circ\text{C}$  e utilizando um cadinho de alumina.

### 3.3.4 Ensaio de Liberação do Fármaco Vancomicina

Os testes de liberação do fármaco foram realizados em duplicata, sendo que para a segunda leitura realizada com intervalo de 7 dias, o hidrogel foi mantido em refrigeração a  $6^\circ\text{C}$ . Para os experimentos de liberação do fármaco vancomicina foi montado um sistema descontínuo onde, em cada erlenmeyer de 250 mL foi colocado 20 mL do tampão fosfato-salino (PBS) 0,1 M e pH 7,4, e então, adicionado 1g do hidrogel. Posteriormente os recipientes foram colocados em uma incubadora Shaker Solab com agitação orbital de 200 rpm a  $36^\circ\text{C}$ . Nos intervalos que variaram entre 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240 e 300 minutos, o sistema (hidrogel + PBS) dos erlenmeyers foram filtrados em peneira comercial comum, para separar o hidrogel da solução tampão, de forma a obter um filtrado translúcido que permitisse a quantificação da vancomicina pela técnica de espectrofotometria na região de absorvância ultra visível. Na Figura 20 pode-se observar o fluxograma da quantificação da vancomicina no espectrofotômetro.

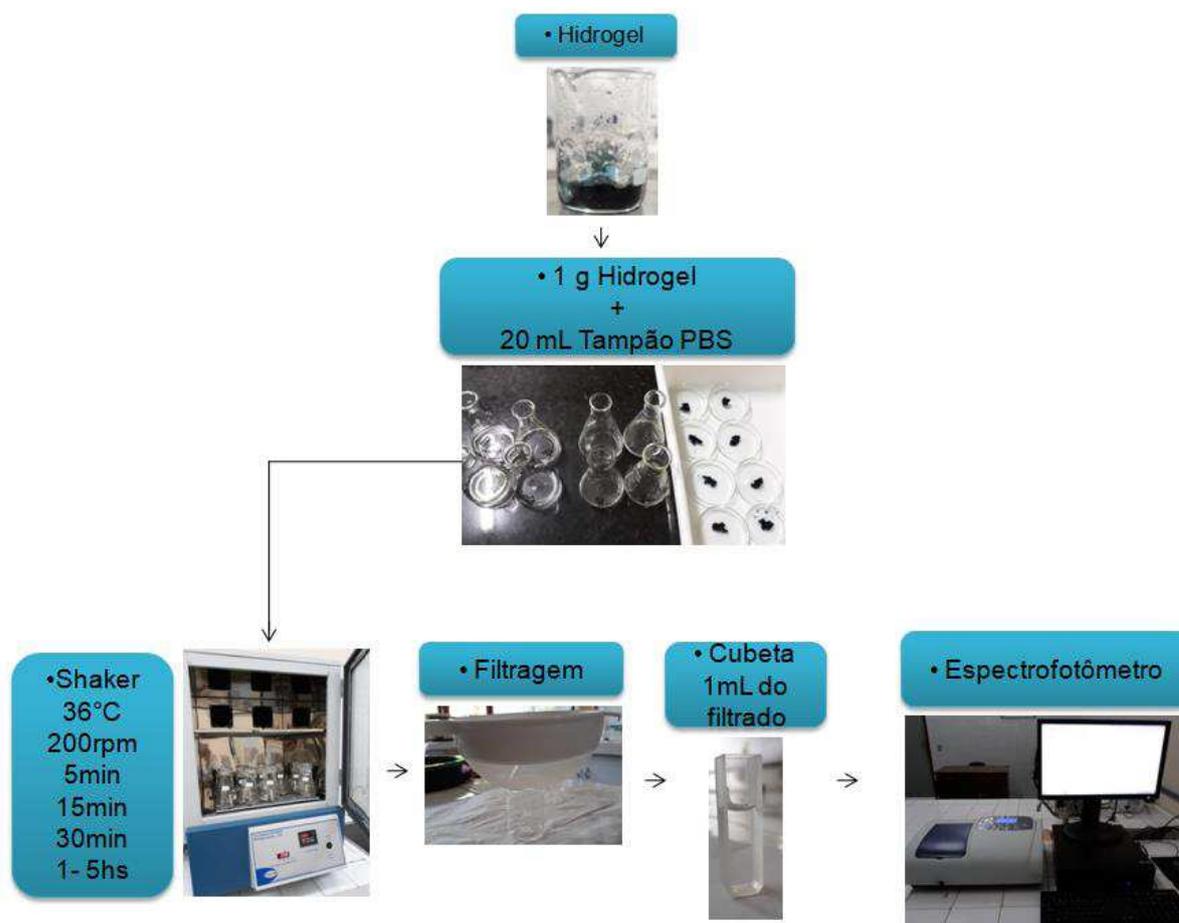


Figura 20 - Fluxograma para quantificação da vancomicina no espectrofotômetro UV-Visível.

As leituras das absorvâncias do hidrogel (carreadores de fármaco) foram realizadas em espectrofotômetro Bel Photonics 2000 UV, na região do comprimento de onda máximo de 284 nm. Este comprimento foi determinado após *scanner* da solução do fármaco no espectrofotômetro no intervalo entre 210 a 300 nm, conforme detalhado no Apêndice A. Com base nessa leitura, a curva de calibração foi obtida e a correlação na faixa linear da lei de Lambert-Beer, Absorvância x Concentração, foi utilizada para quantificar a concentração do fármaco nos experimentos de liberação.

A quantidade máxima de cloridrato de vancomicina (vancomicina) que deve ser liberada em cada hidrogel (sistema carreador) pode ser igual a quantidade de massa inicialmente colocada em cada composição. Assim, pode-se determinar a massa de fármaco que é liberada, por meio de um balanço de massa aplicado entre a solução tampão e o hidrogel, de massa conhecida, usado para a liberação. Os cálculos detalhados se encontram no Apêndice B. Desta forma, para o cálculo da porcentagem liberada do fármaco (% liberada) tem-se a seguinte Equação 8:

$$\% \text{ Liberada} = \frac{M_t * 100}{M_i} \quad (8)$$

Onde:

% Liberada - porcentagem de fármaco liberado no tempo t;

M<sub>t</sub>- massa de fármaco liberado na solução tampão no tempo t;

M<sub>i</sub>- massa de fármaco inicialmente colocado no hidrogel.

### 3.3.5 Análise Estatística

Para sabermos se houve diferença significativa quanto aos métodos utilizados na adição da vancomicina ao hidrogel, os resultados das médias das análises da metodologia de adição do fármaco vancomicina com o tempo de 300 minutos no ensaio de liberação foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e pelo teste de Tukey ou teste t. Ambos os testes com nível de significância de 5% de probabilidade e com 95% de confiabilidade com o auxílio do software estatístico PAST versão 3.23 (Hammer et al., 2001).

### 3.3.6 Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação do Fármaco Vancomicina *in vitro*

O mecanismo envolvido na liberação do fármaco vancomicina a partir das formulações foi previsto ajustando os dados de liberação do fármaco vancomicina a vários modelos de cinética de liberação do fármaco usando o software Origin Pro8.5. Os modelos matemáticos analisados incluem ordem zero, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Kopcha, Makoid-Banakar, Hixson-Crowel, Hopfenberg, conforme descrito pelos respectivos cientistas. Os valores do coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>), do expoente indicativo do mecanismo de liberação do fármaco (n) dos modelos Korsmeyer-Peppas e Makoid-Banakar, K (constante de taxa) foram calculados para cada formulação relacionada a todos os modelos e, finalmente, o possível mecanismo de liberação do medicamento foi identificado.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 21 encontra-se os espectros de infravermelho das matérias-primas quitosana (Qs), genipina (Gp), vancomicina (V) e dos hidrogéis quitosana/genipina (HQG) e quitosana/genipina/vancomicina (HQGV).

Pode-se observar no espectro referente à quitosana (Qs) (Figura 21a) uma larga banda em torno de 3000 - 3600  $\text{cm}^{-1}$  com intensidade máxima em 3255  $\text{cm}^{-1}$  atribuída às vibrações de alongamento axial dos grupos OH que sobrepõe à banda de alongamento dos grupos N-H, assim como as ligações de hidrogênio intermoleculares das cadeias do polissacarídeo. A banda em 1649  $\text{cm}^{-1}$  está associado à vibração de alongamento do grupo carbonilo C=O dos grupos amida (amida I), presentes nas unidades acetiladas da quitosana, e a banda de absorção em torno de 1581  $\text{cm}^{-1}$  é referente à sobreposição de duas vibrações: a vibração do grupo amida (designada por amida II) e a vibração de deformação da ligação N-H das aminas primárias presentes nas unidades desacetiladas.

A existência das bandas C=O e N-H conjuntamente indicam a presença de grupos amidas. A banda em torno de 1150  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao alongamento assimétrico do grupo C-O-C que é característico da estrutura de polissacarídeo (Lai *et al.*, 2010; Dimida *et al.*, 2017). Bandas em 1066 e 1028  $\text{cm}^{-1}$  são referentes à vibração envolvendo alongamento C-O. Na faixa de 1384 - 1308  $\text{cm}^{-1}$  ocorre uma absorção que pode ser atribuída à deformação simétrica de C-H.

As vibrações ente 1233 e 1000  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas, ao estiramento (C-O-) de alcoóis. A absorção ocorrida 900  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada à presença de C-H. Em aproximadamente 1422  $\text{cm}^{-1}$ , pode ser detectado um sinal referente à absorção de alongamento simétrico de sais de ácido carboxílico. As bandas em torno de 2960 e 2876  $\text{cm}^{-1}$  são ocasionadas por vibrações de alongamento do grupo C-H (Demetgül e Beyazit, 2018).

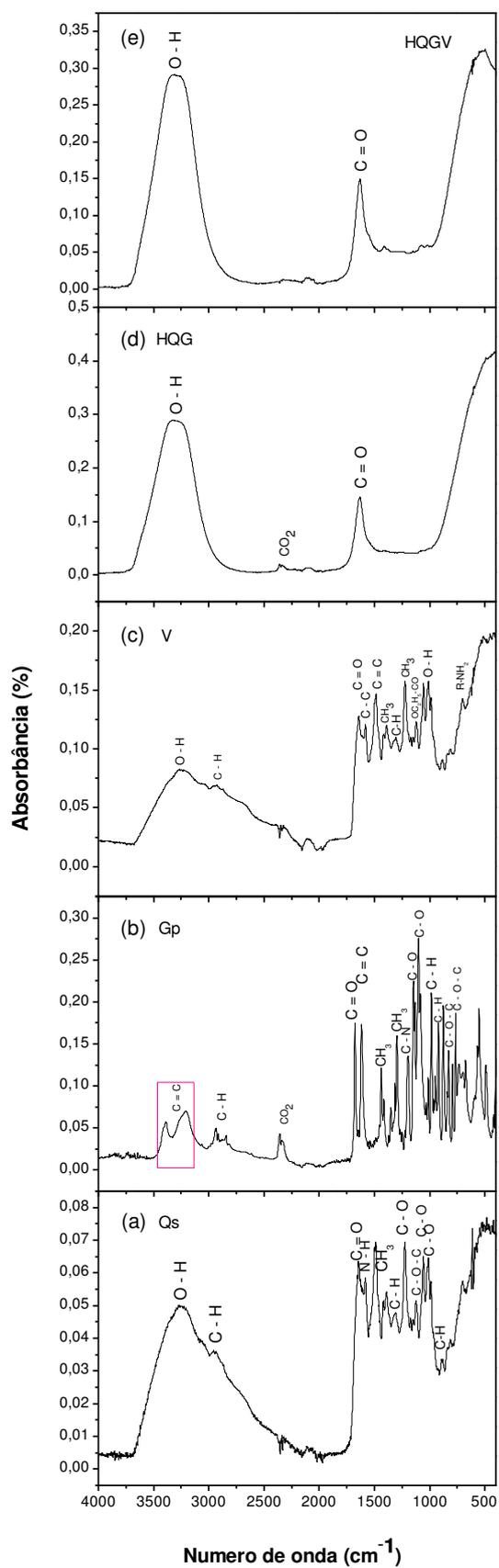


Figura 21 - Espectro de FTIR: (a) quitosana (Qs); (b) genipina (Gp); (c) vancomicina (V); (d) hidrogel quitosana/genipina (HQG); (e) hidrogel quitosana/genipina/vancomicina (HQGV).

Todas as absorções e atribuições referentes à (Qs) estão resumidas na Tabela 3.

Tabela 3 - Número de onda e bandas de absorção referente à (Qs).

<b>Número de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atribuição</b>
3600 - 3000	Vibração de alongamento OH e NH associados a aminas
2960 - 2876	Alongamento C - H
1649	Vibração de alongamento C = O
1581	Flexão angular NH
1384 - 1308	Deformação simétrica C - H
1233 - 1000	Alongamento de alcoóis C - O
1150	Alongamento assimétrico C - O- C
1066	Alongamento C - O
1018	Alongamento C - O
900	C - H

Essas bandas características de FTIR para a (Qs) foram também observadas por: Delgadillo-Armendariz *et al.* (2014) ao investigarem as características de absorção do fármaco glibenclamidano hidrogel quitosana/genipina. Sami *et al.* (2018) ao formularem um hidrogel à base dos biopolímeros quitosana e goma guar para estudo avaliativo da liberação controlada do analgésico Paracetamol. Bakshi *et al.* (2018) ao realizarem um estudo comparativo da atividade antimicrobiana e a biocompatibilidade de derivados N-seletivos de quitosana.

Relacionado ao espectro de FTIR apresentado na Figura 21b referente à genipina, pode-se observar a banda de absorção a 1680 cm<sup>-1</sup> que é atribuído à vibração de alongamento da ligação C=O nos grupos carboxílicos esterificados com o grupo metilo, enquanto a absorção a 1619 cm<sup>-1</sup> está relacionada à vibração de alongamento do alceno da ciclo-olefina  $\nu(C=C)$  do núcleo da molécula de genipina. As absorções em 2343 e 1200 cm<sup>-1</sup> são atribuídas ao grupo CO<sub>2</sub> presente no ar atmosférico durante a análise e vibração de alongamento do grupo C-N, respectivamente. A banda de absorção em 1445 cm<sup>-1</sup> corresponde à flexão da ligação CH<sub>3</sub> e as absorções a 1150 e 1104 cm<sup>-1</sup> estão associadas às vibrações de

alongamento do grupo  $\nu(\text{C-O})$  do éter cíclico da estrutura. A absorção em  $2942\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao alongamento do grupo C-H. Na faixa entre  $3397 - 3211$  é atribuído ao grupo C=C. A banda de absorção entre  $997 - 925\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao modo de curvatura fora do plano do anel C-H, e a absorção em  $1308\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à flexão  $\text{CH}_3$ .

A absorção em  $771\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao modo de curvatura do C-O-C fora do plano. A atribuição das bandas características do espectro de FTIR para a Gp foram também observadas por Dimida *et al.* (2017) quando produziram *scaffolds* para regeneração e reparo ósseo de quitosana reticulada com diferentes concentrações de genipina para avaliação de propriedades físicas, químicas e biológicas; e por Delgadillo-Armendariz *et al.* (2014) ao investigarem as características de absorção do fármaco glibenclamidano hidrogel quitosana/genipina. Todas as absorções e atribuições referentes à genipina estão ilustradas resumidamente na Tabela 4.

Tabela 4 - Número de onda e bandas de absorção referente à genipina (Gp).

<b>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Atribuição</b>
3397 - 3211	C=C
2942	Alongamento do grupo C-H
2343	Deformação de alongamento $\text{CO}_2$
1680	Vibração de alongamento C=O
1619	Alongamento $\nu$ C=C
1445	Flexão $\text{CH}_3$
1308	Flexão $\text{CH}_3$
1200	Vibração de alongamento C-N
1150	Vibração de alongamento C-O
1104	Vibração de alongamento C-O
987 - 925	Flexão fora do anel C-H
771	Flexão fora do plano C-O-C

Por meio do espectro de FTIR da vancomicina (Figura 21c) pode-se observar as absorções ocorridas em  $3270$ ,  $1649$  e  $1490\text{ cm}^{-1}$ , as quais estão

relacionadas à presença dos grupos O-H, C=O, C=C, respectivamente. As bandas de absorção em 2936 e 1310  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à deformação axial do grupo C-H. Na faixa de absorção entre 1420 - 1393 está relacionada à deformação assimétrica de  $\text{CH}_3$ . As bandas de absorção em 1125 e 1233  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao grupo  $\text{OC}_2\text{H}_5\text{-CO}$  e ao alongamento fenólico C-O, respectivamente, enquanto a absorção em 1589  $\text{cm}^{-1}$  está relacionado à vibração aromática C-C. As absorções ocorridas em 1014 e 718  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas aos grupos O-H e R-NH<sub>2</sub> respectivamente. Essas mesmas principais bandas da vancomicina foram observadas por Yao *et al.* (2013) ao desenvolverem *scaffolds* pela técnica de replicação usando 45S5 Bioglass® (BG) revestidos com policaprolactona e quitosana carregada com vancomicina para aplicação na área de engenharia de tecido ósseo e por López-Iglesias *et al.* (2019) ao realizarem estudos avaliativos quanto à capacidade de aerogéis de quitosana carregadas com vancomicina para atuarem como uma formulação potencial para tratar e prevenir infecções em feridas crônicas. Todas as absorções e atribuições referentes à vancomicina estão ilustradas resumidamente na Tabela 5.

Tabela 5 - Número de onda e bandas de absorção referente à vancomicina (V).

<b>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Atribuição</b>
3270	O-H
2936	Deformação axial C-H
1649	C=O
1589	Vibração aromática C-C
1490	C=C
1420 - 1393	Deformação assimétrica de $\text{CH}_3$
1310	C-H
1228	$\text{CH}_3$
1125	$\text{OC}_2\text{H}_5\text{-CO}$
1014	O-H
718	R-NH <sub>2</sub>

É possível observar no espectro de FTIR resultante das interações e/ou reações ocorridas entre a quitosana e o agente reticulante genipina (HQG) (Figura

21d), alterações importantes como crescimento e desvios das bandas correspondentes à vibração de alongamento do grupo carbonila C=O dos grupos amidas (amida I), presentes nas unidades acetiladas da quitosana em  $1649\text{ cm}^{-1}$  que passou para  $1634\text{ cm}^{-1}$ . A absorção em  $1634\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao alongamento do grupo C=O sugere que o grupo carbonil da genipina reagiu com o grupo amina primária da quitosana para formar uma amida secundária de acordo com a literatura (Mi *et al.*, 2000; Dimida *et al.*, 2015; Dimida *et al.*, 2017).

A intensidade da banda de absorção em torno de  $3600 - 3000\text{ cm}^{-1}$  para os grupos amina da quitosana é aumentada no espectro do hidrogel HQG. Na faixa de absorção entre  $3600 - 300\text{ cm}^{-1}$  ocorre o surgimento de uma banda atribuída ao grupo O-H. A banda de absorção em torno de  $1581\text{ cm}^{-1}$  é referente à sobreposição das vibrações do grupo amida (designada por amida II) diminuiu no espectro do hidrogel HQG o que pode estar associado a reação dos grupos amina da quitosana com a molécula da genipina, e a vibração de deformação da ligação N-H das aminas primárias presentes nas unidades desacetiladas da quitosana não aparece no espectro do (HQG). A absorção em  $2343\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação de alongamento  $\text{CH}_3$  observada no espectro da genipina também pode ser observado nos hidrogéis quitosana/genipina.

Essas mesmas observações foram obtidas por Dimida *et al.* (2015) que sintetizaram um hidrogel a base de quitosana reticulada com a genipina para estudo da cinética de reação em diferentes condições térmicas e diferentes concentrações do agente reticulante sem utilização de outros solventes para dissolver o mesmo, e com isso também avaliaram características relacionadas à estrutura. Mi *et al.* (2000) sintetizaram uma nova rede baseada em quitosana reticulada com o agente genipina para investigarem o mecanismo de reação que ocorre no processo de formação da rede reticulada entre ambos.

Com relação ao espectro de FTIR do hidrogel quitosana/genipina/vancomicina (HQGV) (Figura 21e) pode-se observar que houve crescimento da banda de absorção em  $1649\text{ cm}^{-1}$  e um desvio observado referente à mesma banda de  $1634\text{ cm}^{-1}$  para  $1649\text{ cm}^{-1}$  correspondente à vibração de alongamento do grupo carbonilo C=O dos grupos amida (amida I), presentes nas unidades acetiladas da quitosana. A absorção em  $1634\text{ cm}^{-1}$  relacionada ao alongamento do grupo C=O sugere que o grupo carbonila presente na estrutura da genipina reagiu com o grupo amina primária da quitosana para formar uma amida

secundária, característica essa que corrobora com a literatura (Dimida *et al.*, 2017; López-Iglesias *et al.*, 2019).

As bandas de absorção em torno de 1581 e 1589  $\text{cm}^{-1}$  referentes à vibração de deformação da ligação N-H das aminas primárias presentes nas unidades desacetiladas da quitosana e à vibração aromática do grupo C-C presente na vancomicina não aparecem no espectro do (HQGV) indicando possivelmente que ocorreu uma reação entre os grupos N-H e C-C da quitosana e vancomicina, respectivamente. As principais bandas da vancomicina O-H, C=O, C=C, C-O, C-C em 3270, 1649, 1490, 1233 e 1589  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, não podem ser observadas no espectro do (HQGV) devido à sobreposição com as bandas da quitosana.

A absorção em 2343  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao grupo  $\text{CO}_2$  referente ao ar atmosférico presente durante a análise observada no espectro da genipina também pode ser observado nos hidrogéis quitosana/genipina, porém quanto aos hidrogéis quitosana/genipina/vancomicina essa absorção em 2343  $\text{cm}^{-1}$  presente no espectro da genipina não foi mais observada.

Segundo Dhawade e Jagtap (2012) e Ordikhani *et al.* (2014) a água forma uma ligação de hidrogênio intermolecular com a quitosana através dos grupos amina e hidroxila, o que pode vir a causar deslocamentos de picos. A ligação de hidrogênio entre a quitosana e o glicopeptídeo vancomicina causa apenas uma leve mudança na posição do pico. Portanto, sugere-se que não ocorreram interações químicas importantes entre a matriz e a droga, o que levaria a uma mudança estrutural nos constituintes. O alongamento hidroxílico foi mais pronunciado no hidrogel o que pode estar associado às pontes de hidrogênio presentes tanto na quitosana quanto na vancomicina (Yao *et al.*, 2013). Todas as absorções e atribuições referentes à (HQG) e (HQGV) estão ilustradas resumidamente na Tabela 6.

Tabela 6 - Número de onda e bandas de absorção referente aos hidrogéis.

<b>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Atribuição</b>
3600 - 3000	Aumento Intensidade O-H
1634	Alongamento C=O

## 4.2 Difração de raios X (DRX)

Na Figura 22 encontra-se o difratograma de raios X da quitosana. De acordo com o difratograma pode-se observar dois picos cristalinos, um em  $2\theta = 10,7^\circ$  menos intenso e com aspecto mais largo, e o outro em  $2\theta = 20,6^\circ$  de maior intensidade, ambos observados na ficha padrão (JCPDS: 00-068-1181) da quitosana. De acordo com essas características, pode-se dizer que a quitosana é considerada um material semicristalino.

Segundo Saita *et al.* (2012), Huang *et al.* (2017), Bakshi *et al.* (2018) e Fan *et al.* (2018), a cristalinidade observada na quitosana é explicada pelo fato de sua estrutura molecular apresentar certa regularidade e também a presença dos grupos  $\text{NH}_2$  e  $\text{OH}$  que conferem fortes ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular, o que acaba acarretando mais estabilidade e ordenação na estrutura da cadeia polimérica, e como resultado a presença de regiões cristalinas na estrutura molecular da quitosana.

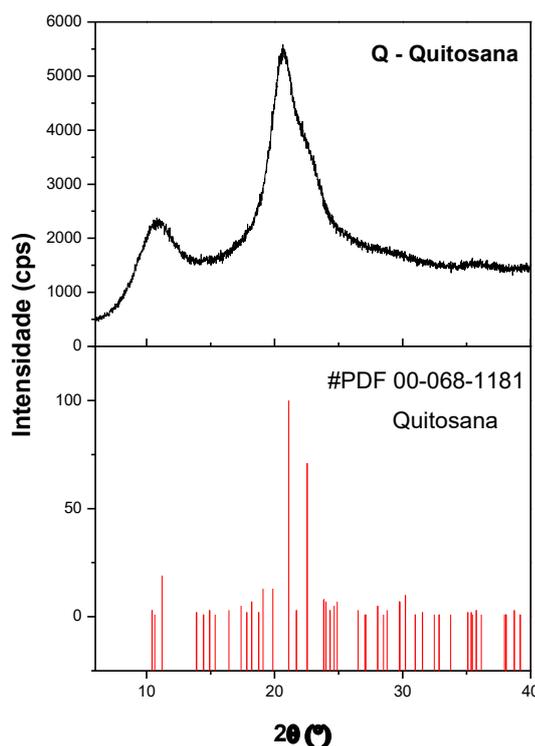


Figura 22 - Espectro de difração de raios X da quitosana.

Estes mesmos picos e características também foram observados nos difratogramas obtidos por Fan *et al.* (2018) ao realizarem a síntese de derivados de quitosana a partir da enxertia de grupos poliaminoetila e dietoxifosforila como estratégia de melhorar o potencial de protonação e com isso aumentar a atividade

antifúngica da quitosana, e por Li *et al.* (2013) ao sintetizarem um complexo de quitosana reticulada com glutaraldeído com o intuito de avaliar a atividade antibacteriana contra o *Complexo Burkholderia cepacia* (Bcc). Demetgül e Beyazit (2018) também ao sintetizarem uma quitosana modificada com anel de cromona de Base de Schiff (CSCH) e seu derivado reticulado com tereftaldeído (TP) para avaliar o seu efeito antioxidante observaram também esses picos.

Na Figura 23 encontra-se o difratograma de raios X do agente reticulante genipina. Pode-se observar picos mais agudos e intensos representando uma maior cristalinidade da genipina em estudo, e estando de acordo com a ficha padrão (JCPDS: 00-008-0508). Pouco é falado na literatura a respeito da caracterização estrutural por DRX da genipina, mas essas mesmas características foram observadas por Zeng *et al.* (2015) ao sintetizarem microesferas de fibroína de seda (SF) com quitosana (CS) utilizando diferentes concentrações do agente reticulante genipina, e realizando um estudo comparativo com microesferas de quitosana pura quanto à eficiência de encapsulação e taxa de liberação controlada, e com isso buscando também analisar as propriedades físicas e químicas das microesferas.

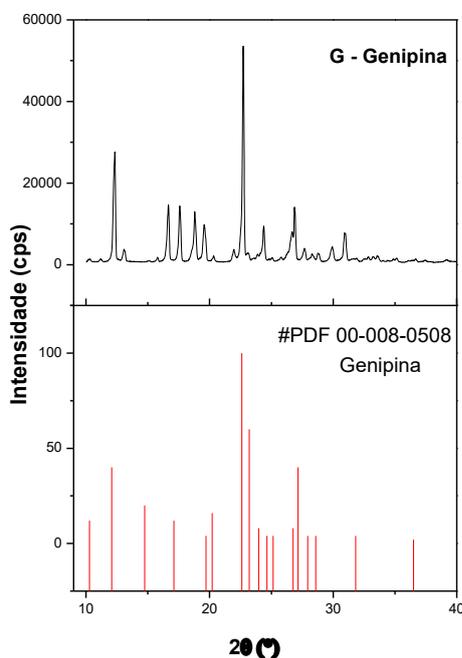


Figura 23 - Espectro de difração de Raios X da genipina.

Luo *et al.* (2015) ao prepararem microesferas de quitosana (CsMs) pelo método de reticulação de emulsão com uso da genipina (Gp) para estudos *in vitro* da liberação controlada de salidroside (SAL) e Zhang *et al.* (2011) ao realizarem uma

investigação comparativa quanto à absorção intestinal do complexo de inclusão genipina/hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP- $\beta$ -CD) com o da genipina também observaram os mesmos picos característicos na difração de raios X da genipina.

Na Figura 24 encontra-se o difratograma de raios X da vancomicina. Pode-se observar uma banda larga em  $2\theta = 15^\circ$  a  $30^\circ$  indicando a característica amorfa do material. Essa mesma observação foi reportada por Jarquín-Yáñez *et al.* (2017) ao realizarem uma otimização por experimento fatorial  $2^3$  em micropartículas de quitosana para servir como carreador da vancomicina para possível aplicação no tratamento de doenças periodontais; e por Saidykhan *et al.* (2016) ao desenvolverem um sistema com nanopartículas de aragonita, derivadas da casca de berbigão, carregadas com vancomicina (VANPs) para tratamento da osteomielite.

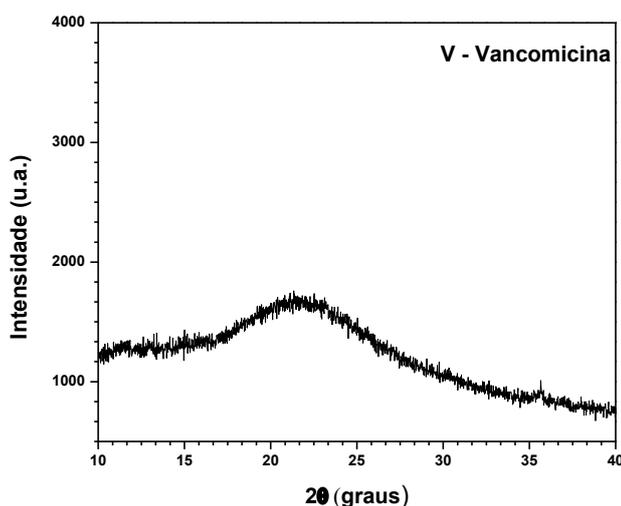


Figura 24 - Espectro de difração de raios X da vancomicina.

### 4.3 Análise Termogravimétrica (TG)

Na Figura 25 encontra-se a análise termogravimétrica TGA das matérias-primas: quitosana (Qs), genipina (Gp) e vancomicina (V).

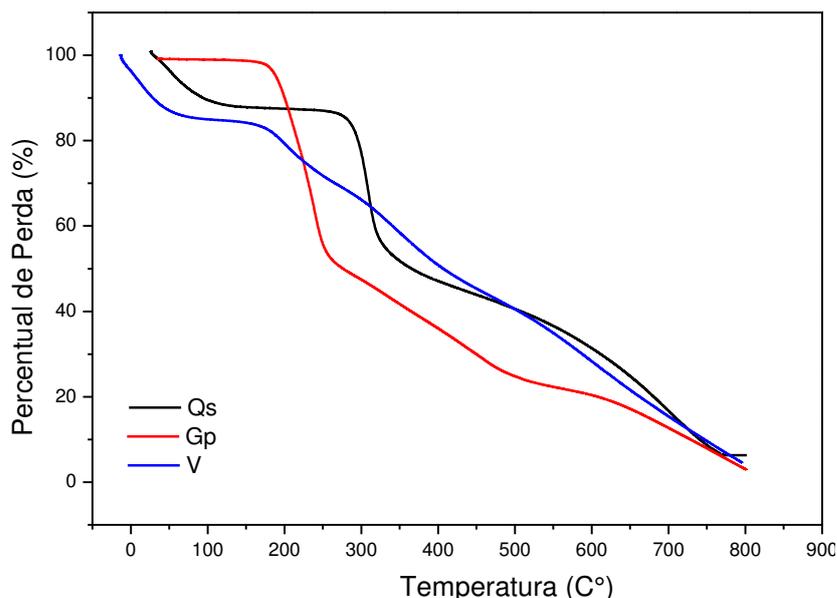


Figura 25 - Análises termogravimétricas das matérias-primas: quitosana (Qs), genipina (Gp) e vancomicina (V).

Pode-se observar na curva TG referente à quitosana (Qs) (Figura 25) que a amostra apresenta dois eventos principais de decomposição. O primeiro evento ocorre na faixa de 30 a 152°, apresentando uma perda de massa de 13%, e com relação ao segundo evento que ocorre na faixa de 239 a 384°C apresenta uma perda de massa de aproximadamente 50%.

O primeiro evento presente em Qs é atribuído à evaporação da água (Kumari e Dutta, 2010), e o segundo evento pode estar relacionado à decomposição que pode ser atribuída à desidratação complexa dos anéis de sacarídeos, despolimerização e decomposição pirolítica da estrutura do polissacarídeo (Paulino *et al.*, 2006; Klein *et al.*, 2016; Liang *et al.*, 2019).

Essas observações estão compatíveis com a literatura: Kumari e Dutta (2010) ao prepararem *scaffolds* de quitosana reticulados com a genipina pelo método de secagem com dióxido de carbono supercrítico para estudo da atividade físico-química e biológica dessas estruturas para aplicações de engenharia de tecidos. Liang *et al.* (2019) ao produzirem um filme a base de quitosana com plaquetas de montmorilonita (MMT) baseados na estrutura em camadas do nácar. Felfel *et al.* (2019) ao produzirem *scaffolds* 3D a partir de misturas de quitosana-agarose (Ch-Agrs) para investigação da correlação entre propriedades de características estruturais e mecânicas.

Com relação à análise termogravimétrica referente à genipina (Gp) (Figura 25), pode-se observar a ocorrência de um evento principal de decomposição que ocorre em uma faixa de 152 a 272° com 44% de perda de massa. Esta etapa de decomposição está relacionada à etapa de desidratação (Flores *et al.*, 2019). Essas mesmas características termográficas também foram obtidas e observadas por Meena *et al.* (2007) ao prepararem um hidrogel de kappa-carragenina com utilização do agente reticulador genipina e por Zhao *et al.* (2013) ao utilizarem a técnica de precipitação com o anti-solvente n-hexano para produção de pó micromizado de genipina.

Por meio da curva termogravimétrica da vancomicina (Figura 25) pode - se observar a ocorrência de três eventos em diferentes aquecimentos e com distintas perdas de massas, o que também foi observado por Ghaffar *et al.* (2019) ao sintetizarem estruturas orgânicas metálicas (MOFs) revestidas com quitosana para atuar como sistema carreador do antibiótico vancomicina e potencializar sua ação no tratamento contra cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*. O primeiro evento ocorre em uma faixa de 37 a 151° com 14% de perda de massa, em seguida o segundo em uma faixa que vai de 176 a 314°C com uma perda de massa de 19%, e por fim o terceiro evento que ocorre em uma faixa de 317 a 480°C com uma perda de massa de 34%.

#### **4.4 Ensaio de Liberação do Fármaco Vancomicina**

Na Tabela 7 estão expressas as porcentagens liberadas do fármaco nos hidrogéis H1, H2, H3 nos intervalos de tempo de 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240 e 300 minutos. Pode-se observar que decorridos uma semana (7 dias) de armazenamento do hidrogel, a liberação do fármaco após os 300 minutos foram próximos indicando que não ocorreu degradação do fármaco em virtude do armazenamento nas condições realizadas no presente trabalho.

Tabela 7 - Percentual de liberação do fármaco vancomicina.

Tempo (min)	%Liberação					
	H1		H2		H3	
	1ª Leitura	2ª Leitura	1ª Leitura	2ª Leitura	1ª Leitura	2ª Leitura
5	15,62	18,72	20,59	22,64	21,30	30,49
15	35,21	24,13	26,71	48,16	36,51	41,85
30	47,29	48,12	34,58	60,83	41,28	47,07
60	78,47	45,47	60,06	61,43	63,38	70,49
120	75,15	83,63	66,25	74,53	82,44	61,38
180	84,90	76,89	78,12	89,49	75,38	78,60
240	89,17	82,05	96,99	92,94	95,10	93,93
300	87,69	89,38	95,30	87,68	91,21	96,54

Na Figura 26 encontra - se o comportamento cinético das liberações do fármaco.

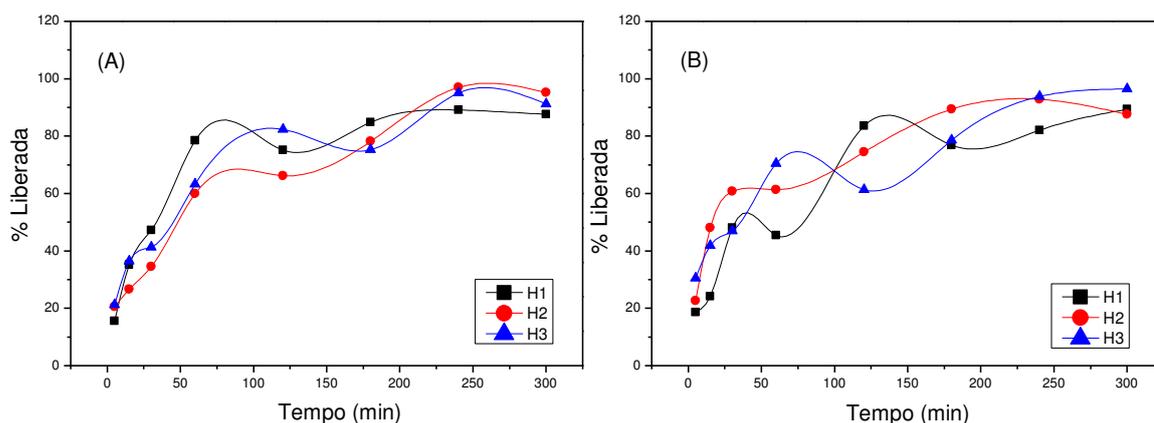


Figura 26 - Perfil cinético da liberação do fármaco vancomicina adsorvido nas matrizes dos hidrogéis H1, H2, H3; (A) 1º leitura (B) 2º leitura.

Pode-se observar na Figura 26 que o comportamento da liberação do fármaco foi similar independente da forma como foi adicionado, bem como, do período de armazenamento. Foi possível observar por meio dos perfis cinéticos de liberação do fármaco vancomicina que ocorreu inicialmente uma liberação mais rápida, nos 150 minutos, (2,5 h), e que logo após esse período, a liberação se tornou mais lenta até ao final do tempo observado de 300 min (5 h).

A literatura reporta que um sistema de liberação de fármaco ideal é aquele que fornece doses efetivas de fármaco ao local de tratamento, atuando de forma preventiva na proteção do biomaterial, evitando a adesão, a colonização, o biofilme, e posteriormente, a proliferação bacteriana, e que ao mesmo tempo possibilite uma liberação contínua em períodos prolongados, pois a formação de cápsulas fibrosas

protetoras e a integração de tecidos ocorrem em um período de tempo mais distante, semanas a meses, após a implantação do biomaterial (Liu *et al.*, 2002; Wu e Grainger, 2006; Neufeld e Bianco-Peled, 2017).

No entanto, os ensaios realizados mostraram que não houve 100% de liberação de vancomicina mesmo em tempos maiores. A mesma observação foi feita por López-Iglesias *et al.* (2019) quando desenvolveram esferas de aerogel de quitosana carregadas com vancomicina testadas como uma formulação potencial para tratar e prevenir infecções em feridas, indicando que tal fato pode estar associado à interação do fármaco com a estrutura da quitosana através de ligações de hidrogênio.

Observação também verificada por Zhao *et al.* (2014) que produziram um hidrogel baseado em quitosana reticulado com Dextran enxertado com ácido maleíco pela reação de adição de Michael, utilizando como fármaco a vancomicina para prevenção de infecções em feridas, e observaram que à medida que a quantidade do polissacarídeo Dextran diminuía nos hidrogéis a quantidade de fármaco liberado aumentava, indicando que ocorre interação entre vancomicina/polissacarídeo, acarretando com isso alteração no comportamento de liberação do fármaco. O que pode estar relacionado fortemente à interação dos grupos hidroxilas presente na estrutura da vancomicina com o Dextran.

#### **4.5 Análise Estatística**

Para sabermos se houve diferença significativa quanto aos métodos utilizados na adição da vancomicina ao hidrogel, os resultados das médias das análises da metodologia de adição do fármaco vancomicina com o tempo de 300 minutos no ensaio de liberação foram submetidos à análise de variância (ANOVA) (Tabela 8), e ao teste de Tukey ou teste t. Ambos os testes com nível de significância de 5% de probabilidade e com 95% de confiabilidade com o auxílio do software estatístico PAST versão 3.23 (Hammer *et al.*, 2001) descritos na Tabela 9.

Tabela 8 - Teste Análise de Variância (ANOVA) para ordem de adição do fármaco vancomicina.

Causas da Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Valor de P	F Crítico (F $\alpha$ )
Ordem	2	28,66	14,33	0,9627	0,4754	9,5521
Outros fatores	3	44,65	14,88			
Total	5	73,31				

Com a análise de variância ou ANOVA é possível investigar e comparar a existência de diferenças significativas entre as médias de amostras. Em caso em que o valor de F observado seja maior que o F crítico (F $\alpha$ ), e que o valor de significância  $P < 0,05$  pode-se concluir que as médias amostrais estudadas apresentam diferenças significativas. Porém a análise de variância diz se existe ou não diferenças entre os tratamentos ou fatores, mas não diz quais fatores difere(m) um do(s) outro(s). Sendo assim, o teste de Tukey foi utilizado para confirmar se houve diferença entre as metodologias de adição do fármaco vancomicina aos hidrogéis (Tabela 9).

Tabela 9 - Comparação entre as médias dos métodos de adição do fármaco vancomicina aos hidrogéis.

Ordem	Média
H1	88,54 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>
H2	91,49 $\pm$ 5,39 <sup>a</sup>
H3	93,88 $\pm$ 3,77 <sup>a</sup>

\*Valor obtido por diferença a partir da análise prévia individual dos métodos de adição da vancomicina. Letras minúsculas sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre as formulações estudadas ( $P > 0,05$ ).

Diante os resultados obtidos podemos observar que a ordem com que a vancomicina é adicionada ao sistema carreador hidrogel não é um fator preponderante para alterar ou modificar a quantidade final liberada do mesmo, ou seja, não há alteração significativa quanto à quantidade de fármaco liberada quando alterado sua ordem de colocação ao hidrogel. Resultado confirmado pelo teste de Tukey (Tabela 9) onde pode-se observar pelos valores das médias que não houve diferença observada entre as metodologias de adição do fármaco.

#### 4.6 Modelos Matemáticos para Cinética de Liberação de Fármacos

Na Figura 27 estão expressos os modelos matemáticos para cinética de liberação do fármaco vancomicina.

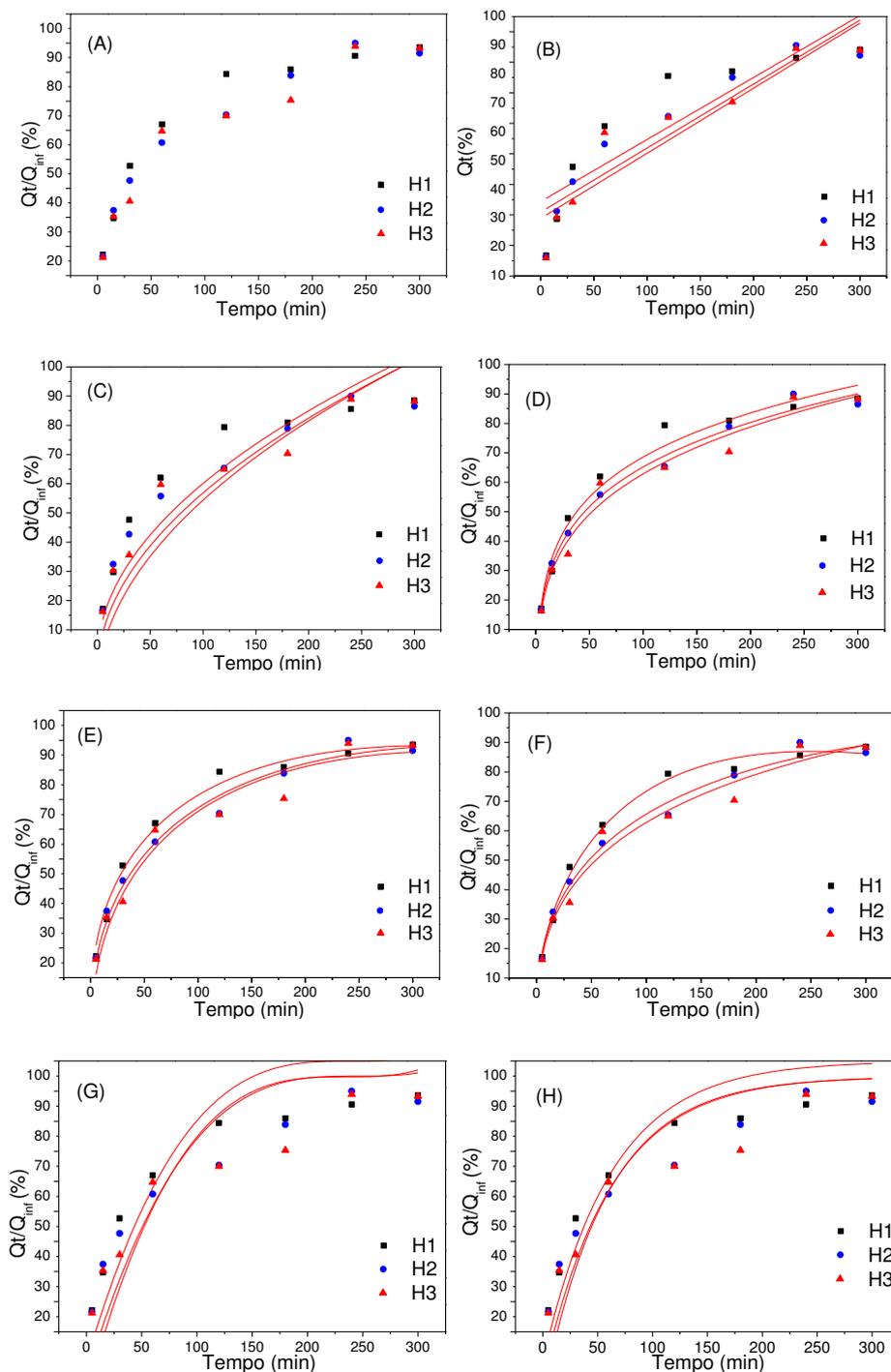


Figura 27 - Modelagem matemática da liberação do fármaco vancomicina adsorvido nas matrizes dos hidrogéis: (A) quantidade liberada de vancomicina (%), (B) Ordem zero, (C) Modelo Higuchi, (D) Modelo Korsmeyer-Peppas, (E) modelo de Kopcha e (F) Modelo de Makoid-Banakar, (G) Modelo Hixson-Crowel, (H) Modelo Hopfenberg.

O comportamento da porcentagem liberada da vancomicina sugere características de uma liberação que alcança uma saturação marcada pelo equilíbrio da concentração do medicamento, como apresentada na Figura 27a. A aplicação dos modelos cinéticos de ordem zero, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Kopcha, Makoid-Banakar, Hixson-Crowell e Hopfenberg são apresentados nas Figuras 27b, 27c, 27d, 27e, 27f, 27g e 27h, respectivamente.

A partir da Figura 27b, observa-se que o modelo de ordem zero, uma vez que é um modelo linear, não descreve o processo de liberação da vancomicina presente na matriz dos hidrogéis. As outras modelagens matemáticas foram realizadas com parâmetros de uma função não linear, e pôde-se observar ajustes mais próximos entre as observações experimentais e as funções não lineares.

A Tabela 10 apresenta os resultados alcançados aplicando os modelos de Ordem zero, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Kopcha, Makoid-Banakar, Hixson-Crowell e Hopfenberg aos hidrogéis.

Os resultados dos estudos de ajuste de curva revelaram que o fármaco vancomicina (V) liberado pela matriz polimérica do hidrogel pode ser descritos por alguns dos modelos anteriores. O maior coeficiente de correlação ( $R^2$ ) determinou o modelo matemático mais adequado que segue a cinética de transporte do fármaco da matriz polimérica (Gouda *et al.*, 2017). Sendo assim, o modelo matemático que apresentou o melhor ajuste de modelo para as formulações H1, H2 e H3, com  $R^2$  na faixa de 0,97-0,99 foi o modelo Makoid-Banakar, e posteriormente o modelo de Korsmeyer-Peppas e o de Kopcha (Figura 27 e Tabela 10).

A partir da classificação difusional de fluidos em hidrogéis, pode-se entender e classificar perfis cinéticos de liberação de fármacos a partir de polímeros (Ritger e Peppas, 1987; Krstić *et al.*, 2014). O expoente indicativo do mecanismo de liberação (n) do modelo Korsmeyer-Peppas conforme evidenciado na Tabela 10 foi menor que 0,5 ( $n < 0,5$ ) para H1, H2 e H3, sendo assim, a liberação do fármaco vancomicina nas matrizes dos hidrogéis estudados são realizados pelo mecanismo de difusão Fickiana, mediante confirmação obtida na literatura (Fu e Kao, 2010; Hernandez-Montelongo *et al.*, 2014; Duarah *et al.*, 2017; Nešović *et al.*, 2019; Teimouri e Kasapis, 2020).

Tabela 10 - Resultados dos Ajustes dos Modelos Matemáticos dos perfis de liberação do Fármaco Vancomicina.

Materiais	Ordem zero		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$K_0$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$K_H$ ( $\%/ \text{min}^{1/2}$ )	$R^2$	$K_{KP}$ ( $\%/ \text{min}^n$ )	$R^2$	n
<b>H1</b>	0,2151	0,77	6,0099	0,81	14,7605	0,95	0,32564
<b>H2</b>	0,2221	0,86	6,1863	0,83	15,5767	0,98	0,32062
<b>H3</b>	0,2133	0,87	6,1906	0,76	17,1076	0,97	0,30231
	Kopcha		Makoid-Banakar				
	A ( $\%/ \text{min}^{1/2}$ )	B ( $\%/ \text{min}$ )	$R^2$	$K_{MB}$ ( $\%/ \text{min}$ )	$R^2$	c	n
<b>H1</b>	9,9574	-0,2811	0,99	7,9079	0,99	0,00211	0,52965
<b>H2</b>	9,7833	-0,2561	0,98	12,7245	0,99	6,9291	0,38724
<b>H3</b>	10,0103	-0,2719	0,95	15,7742	0,97	2,9002	0,3295
	Hixson-Crowell		Hopfenberg				
	$K_{HC}$ ( $\%/ \text{min}^{1/3}$ )	$R^2$	$K_{HG}$	$R^2$	$n \cdot 10^4$		
<b>H1</b>	$4,17 \cdot 10^{-3}$	0,76	9,6801	0,86	1,6484		
<b>H2</b>	$4,07 \cdot 10^{-3}$	0,70	9,6356	0,81	1,6680		
<b>H3</b>	$4,27 \cdot 10^{-3}$	0,59	9,7674	0,73	1,7416		

De acordo com Krstić *et al.* (2014), o valor de  $n < 0,5$  pode estar associado à taxa de difusão que foi controlada pela taxa de transporte de massa devido ao gradiente de concentração do fármaco, o que é característico de um sistema de difusão Fickiana. No entanto, houve uma pequena diferença entre os valores de  $K_{KP}$  quando eles são comparados em função da ordem de adição do fármaco vancomicina à solução base de quitosana.

Os perfis do fármaco vancomicina no H3 mostraram valores de  $K_{KP}$  significativamente mais altos do que os hidrogéis H1 e H2, o que pode estar coerente com uma liberação um pouco mais rápida. Além disso, como  $K_{KP}$  está relacionado à interação fármaco / polímero (Hernandez-Montelongo *et al.*, 2014), esses resultados confirmariam que existe uma interação diferente dependente da ordem de adição do fármaco vancomicina na solução base de quitosana.

Esse resultado quanto ao mecanismo de liberação envolvido no sistema é apoiado pela avaliação das proporções dos termos  $A / B$  oriundos do modelo Kopcha (Tabela 10), pois este mesmo modelo de Kopcha também pode ser usado para quantificar as contribuições relativas da difusão e relaxamento do polímero para a liberação do fármaco vancomicina, ou seja, o mecanismo subjacente de transporte de massa. Sendo assim, os dados da Tabela 10 mostram claramente que o valor de  $A$  foi muito superior ao de  $B$  para todos os hidrogéis investigados; isso sugeriu que a liberação do fármaco vancomicina era predominantemente controlada por um processo difusivo (Krstić *et al.*, 2014).

O modelo Makoid-Banakar é considerado semelhante ao de Korsmeyer-Peppas quando o valor do parâmetro  $C$  se aproxima de zero (Nešović *et al.*, 2019). O modelo Makoid-Banakar proporcionou um melhor ajuste para os dados experimentais, como mostrados pelos valores mais altos de  $R^2$  (Tabela 10). Obviamente, os valores do parâmetro  $C$  para H1 (0,00211), H2 (6,9291), e H3 (2,9002) foram bem distintos, com o valor mais baixo e mais próximo de zero o H1, indicando uma semelhança com o modelo de Korsmeyer-Peppas.

É possível observar a partir da (Tabela 10) que o parâmetro  $n$  Makoid-Banakar decresceu H1 (0,52965), H2 (0,38724), e H3 (0,3295) a medida que os valores de  $k_{MB}$  aumentaram para H1 (7,9079), H2 (12,7245), e H3 (15,7742) indicando liberação mais rápida da vancomicina no hidrogel H3. O que pode estar associado ao fato de que a adição da vancomicina ao mesmo tempo, ou antes, à adição do agente reticulante (H1 e H2) proporcionou um maior encapsulamento do fármaco na matriz polimérica formada durante a reticulação da quitosana, limitando o transporte de massa da vancomicina. Enquanto que, para a amostra H3, onde o fármaco foi adicionado após a reticulação, o medicamento encontra-se absorvido na matriz polimérica, não apresentando limitação na liberação em função da cadeia reticulada.

Duarah *et al.* (2017) também observaram o mesmo comportamento quanto ao parâmetro  $n$  e os valores de  $k_{MB}$  ao desenvolverem uma formulação onde a vitamina C foi encapsulada com nanopartículas poliméricas de etil celulose (EC) e, posteriormente, incorporada nas preparações de gel hidroxilpropilmetilcelulose (HPMC), obtiveram o valor de  $K$  para as formulações de gel 2,82, 2,521 e 2,142 para G1, G2 e G3, respectivamente, valores estes considerados altos pelos autores. Concluíram que os valores obtidos revelam que as liberações realizadas nos géis

não se baseiam em nenhum mecanismo de liberação única. O valor de  $k_{MB}$  superior pode indicar que a liberação no sistema também ocorra por um rebento da matriz, ou seja, outros mecanismos envolvidos na liberação.

Nešović et al. (2019) ao sintetizarem nanopartículas de prata (AgNPs) por redução eletroquímica *in situ* de íons  $Ag^+$ , em matrizes de poli (álcool vinílico)/quitosana/grafeno (PVA / CHI / Gr), formando hidrogéis com diferentes concentrações de quitosana, destinado a aplicações biomédicas como curativos antibacterianos, também observaram que o parâmetro  $n$  decresce à medida que os valores de  $k_{MB}$  aumentam, onde o parâmetro  $n$  Makoid-Banakar foi menor para 3.9Ag/PVA/0.1CHI /Gr (0.130) do que para 3.9Ag/PVA/0.5CHI/Gr hidrogel (0.581), indicando liberação mais rápida de prata do hidrogel com menor quantidade de quitosana.

## 5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

- Com base nos resultados dos espectros de FTIR os materiais estudados apresentaram as bandas de absorção das ligações características de cada material. Os difratogramas de DRX confirmaram a formação das fases semi-cristalinas da quitosana e cristalinas da genipina. A vancomicina mostrou-se com característica amorfa. Quanto aos dados das análises termogravimétricas revelaram comportamentos térmicos característicos dos materiais estudados, cujos eventos são característicos de alterações mássicas do material quando submetidos ao tratamento térmico.
- O comportamento das liberações do fármaco foram similares independentes da ordem que foi adicionado o fármaco e o reticulante.
- As liberações do fármaco após os 7 dias foram próximas indicando que não ocorreu degradação do fármaco.
- Os modelos matemáticos que apresentaram o melhor ajuste às observações experimentais foram os que apresentaram funções não-lineares por melhor descreverem o comportamento da liberação da vancomicina nas matrizes poliméricas desenvolvidas.
- O modelo de dissolução farmacocinética de Makoid-Banakar apresentou os melhores valores de coeficiente de correlação ( $R^2$ ), seguido do modelo de Kopcha e Korsmeyer-Peppas.
- A partir do expoente indicativo do mecanismo de liberação do fármaco ( $n$ ) dos modelos de Makoid-Banakar e Korsmeyer-Peppas, e das razões do termo  $A/B$ , derivadas do modelo de Kopcha, foi possível concluir que a liberação do fármaco vancomicina no sistema hidrogel segue o mecanismo de liberação pelo processo de difusão, ou seja, a taxa de transporte de massa é devido ao gradiente de concentração do fármaco vancomicina (difusão Fickiana).

- A utilização de um sistema carreador a base de quitosana e genipina para liberação controlada da vancomicina é promissor, uma vez que, possivelmente o biomaterial produzido evitará a adesão, colonização e posterior proliferação de bacteriana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHADIAN, S.; SADEGHIAN, R. B.; SALEHI, S.; OSTROVIDOV, S.; BAE, H.; RAMALINGAM, M.; KHADEMHOSEINI, A. Bioconjugated hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine. **Bioconjugate Chemistry**, v. 26, n. 10, p. 1984-2001, 2015.

AKAO, T.; KOBASHI, K.; ABURADA, M. Enzymic studies on the animal and intestinal bacterial metabolism of geniposide. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, n. 12, p. 1573-1576, 1994.

ALPER ISOGLU, I.; OZSOY, Y.; DINCER ISOGLU, S. Advances in micelle-based drug delivery: cross-linked systems. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 13, p. 1469-1489, 2017.

AN, Y.; FRIEDMAN, R. Prevention of sepsis in total joint arthroplasty. **Journal of Hospital Infection**, v. 33, n. 2, p. 93-108, 1996.

ANITHA, A.; RANI, V. D.; KRISHNA, R.; SREEJA, V.; SELVAMURUGAN, N.; NAIR, S.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, O-carboxymethyl and N, O-carboxymethyl chitosan nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 4, p. 672-677, 2009.

ANJUM, S.; ARORA, A.; ALAM, M.; GUPTA, B. Development of antimicrobial and scar preventive chitosan hydrogel wound dressings. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 508, n. 1-2, p. 92-101, 2016.

ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. **Nature Reviews Microbiology**, 2018 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0019-y>.

ARGENZIANO, M.; BANCHE, G.; LUGANINI, A.; FINESSO, N.; ALLIZOND, V.; GULINO, G. R.; KHADJAVI, A.; SPAGNOLO, R.; TULLIO, V.; GIRIBALDI, G. Vancomycin-loaded nanobubbles: A new platform for controlled antibiotic delivery against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, n. 1, p. 176-188, 2017.

BAKSHI, P. S.; SELVAKUMAR, D.; KADIRVELU, K.; KUMAR, N. Comparative study on antimicrobial activity and biocompatibility of N-selective chitosan derivatives. **Reactive and Functional Polymers**, v. 124, p. 149-155, 2018.

BANORIYA, D.; PUROHIT, R.; DWIVEDI, R. Advanced Application of Polymer based Biomaterials. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 2, p. 3534-3541, 2017.

BENLTOUFA, S.; MILED, W.; TRAD, M.; SLAMA, R. B.; FAYALA, F. Chitosan hydrogel-coated cellulosic fabric for medical end-use: Antibacterial properties, basic mechanical and comfort properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115-352, 2020.

BHAT, S.; KUMAR, A. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. **Biomatter**, v. 3, n. 3, p. e24717, 2013.

BHATTARAI, N.; GUNN, J.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 83-99, 2010.

BIAO, L.; TAN, S.; WANG, Y.; GUO, X.; FU, Y.; XU, F.; ZU, Y.; LIU, Z. Synthesis, characterization and antibacterial study on the chitosan-functionalized Ag nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, v. 76, p. 73-80, 2017.

BUTLER, M. F.; NG, Y. F.; PUDNEY, P. D. Mechanism and kinetics of the crosslinking reaction between biopolymers containing primary amine groups and genipin. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 41, n. 24, p. 3941-3953, 2003.

CALÓ, E.; KHUTORYANSKIY, V. V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. **European Polymer Journal**, v. 65, p. 252-267, 2015.

CHEN, F.-M.; LIU, X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 53, p. 86-168, 2016.

CHEN, Q.; THOUAS, G. A. Metallic implant biomaterials. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 87, p. 1-57, 2015.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

DASH, S.; MURTHY, P. N.; NATH, L.; CHOWDHURY, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 3, p. 217-23, 2010.

DE AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; COSTA, A. C. F. D. M. Materiais cerâmicos utilizados para implantes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 3, n. 1, p. 31 - 39, 2008.

DELGADILLO-ARMENDARIZ, N. L.; RANGEL-VAZQUEZ, N. A.; MARQUEZ-BRAZON, E. A.; GASCUE, R.-D. Interactions of chitosan/genipin hydrogels during drug delivery: a QSPR approach. **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1503-1509, 2014.

DEMETGÜL, C.; BEYAZIT, N. Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 812-817, 2018.

DHAWADE, P. P.; JAGTAP, R. N. Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. **Advances in Applied Science Research**, v. 3, n. 3, p. 1372-1382, 2012.

DIMIDA, S.; BARCA, A.; CANCELLI, N.; DE BENEDICTIS, V.; RAUCCI, M. G.; DEMITRI, C. Effects of genipin concentration on cross-linked chitosan scaffolds for bone tissue engineering: Structural characterization and evidence of biocompatibility features. **International Journal of Polymer Science**, v. 2017, 2017.

DIMIDA, S.; DEMITRI, C.; DE BENEDICTIS, V. M.; SCALERA, F.; GERVASO, F.; SANNINO, A. Genipin-cross-linked chitosan-based hydrogels: Reaction kinetics and structure-related characteristics. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 28, 2015.

DING, F.; SHI, X.; WU, S.; LIU, X.; DENG, H.; DU, Y.; LI, H. Flexible Polysaccharide Hydrogel with pH-Regulated Recovery of Self-Healing and Mechanical Properties. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 302, n. 11, p. 1700221, 2017.

DUARAH, S.; DURAI, R. D.; NARAYANAN, V. B. Nanoparticle-in-gel system for delivery of vitamin C for topical application. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 7, n. 5, p. 750-760, 2017.

ESMAEILI, F.; HEUKING, S.; JUNGINGER, H.; BORCHARD, G. Progress in chitosan-based vaccine delivery systems. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 53-61, 2010.

FAN, Z.; QIN, Y.; LIU, S.; XING, R.; YU, H.; CHEN, X.; LI, K.; LI, P. Synthesis, characterization, and antifungal evaluation of diethoxyphosphoryl polyaminoethyl chitosan derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 190, p. 1-11, 2018.

FEI LIU, X.; LIN GUAN, Y.; ZHI YANG, D.; LI, Z.; DE YAO, K. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 79, n. 7, p. 1324-1335, 2001.

FELFEL, R. M.; GIDEON-ADENIYI, M. J.; HOSSAIN, K. M. Z.; ROBERTS, G. A.; GRANT, D. M. Structural, mechanical and swelling characteristics of 3D scaffolds

from chitosan-agarose blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 204, p. 59-67, 2019 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.002>.

FERREIRA, M. O. G.; DE LIMA, I. S.; MORAIS, A. Í. S.; SILVA, S. O.; DE CARVALHO, R. B. F.; RIBEIRO, A. B.; OSAJIMA, J. A.; SILVA FILHO, E. C. Chitosan associated with chlorhexidine in gel form: Synthesis, characterization and healing wounds applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, p. 375-382, 2019.

FLORES, E. E. E.; CARDOSO, F. D.; SIQUEIRA, L. B.; RICARDI, N. C.; COSTA, T. H.; RODRIGUES, R. C.; KLEIN, M. P.; HERTZ, P. F. Influence of reaction parameters in the polymerization between genipin and chitosan for enzyme immobilization. **Process Biochemistry**, v. 84, p. 73-80, 2019.

FU, Y.; KAO, W. J. Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 7, n. 4, p. 429-444, 2010.

GAO, C.; PENG, S.; FENG, P.; SHUAI, C. Bone biomaterials and interactions with stem cells. **Bone Research**, v. 5, p. 17059, 2017.

GARG, A.; SHUKLA, A.; GARG, A. Design and characterization of Gaur gum coated chitosan nanoparticles for delivery of 5-Fluorouracil for effective treatment of colon cancer. **Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences (July\_2015)**, v. 28, p. 28-45, 2015.

GEORGE, D.; MAHESWARI, P. U.; BEGUM, K. M. S. Chitosan-cellulose hydrogel conjugated with L-histidine and Zinc oxide nanoparticles for sustained drug delivery: Kinetics and in-vitro biological studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116-101, 2020.

GHAFFAR, I.; IMRAN, M.; PERVEEN, S.; KANWAL, T.; SAIFULLAH, S.; BERTINO, M. F.; EHRHARDT, C. J.; YADAVALLI, V. K.; SHAH, M. R. Synthesis of chitosan coated metal organic frameworks (MOFs) for increasing vancomycin bactericidal potentials against resistant *S. aureus* strain. **Materials Science and Engineering: C**, v. 105, p. 110111, 2019.

GOUDA, R.; BAISHYA, H.; QING, Z. Application of mathematical models in drug release kinetics of carbidopa and levodopa ER tablets. **Journal of Developing Drugs**, v. 6, n. 02, 2017 DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.4172/2329-6631.1000171>.

GREENHALGH, R.; DEMPSEY-HIBBERT, N. C.; WHITEHEAD, K. A. Antimicrobial strategies to reduce polymer biomaterial infections and their economic implications and considerations. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 136, p. 1-14, 2019.

HAMMAN, J. H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. **Marine Drugs**, v. 8, n. 4, p. 1305-1322, 2010.

HANNA, D. H.; SAAD, G. R. Encapsulation of ciprofloxacin within modified xanthan gum-chitosan based hydrogel for drug delivery. **Bioorganic Chemistry**, v. 84, p. 115-124, 2019.

HE, M.; HAN, B.; JIANG, Z.; YANG, Y.; PENG, Y.; LIU, W. Synthesis of a chitosan-based photo-sensitive hydrogel and its biocompatibility and biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 228-235, 2017.

HERNANDEZ-MONTELONGO, J.; NAVEAS, N.; DEGOUTIN, S.; TABARY, N.; CHAI, F.; SPAMPINATO, V.; CECONE, G.; ROSSI, F.; TORRES-COSTA, V.; MANSO-SILVAN, M. Porous silicon-cyclodextrin based polymer composites for drug delivery applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 238-252, 2014.

HETRICK, E. M.; SCHOENFISCH, M. H. Reducing implant-related infections: active release strategies. **Chemical Society Reviews**, v. 35, n. 9, p. 780-789, 2006.

HICKOK, N. J.; SHAPIRO, I. M. Immobilized antibiotics to prevent orthopaedic implant infections. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 12, p. 1165-1176, 2012.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 10, p. 874-875, 1961.

HOSSEINNEJAD, M.; JAFARI, S. M. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 467-475, 2016.

HUANG, B.; LIU, M.; ZHOU, C. Chitosan composite hydrogels reinforced with natural clay nanotubes. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, p. 689-698, 2017.

IFTIME, M.-M.; MORARIU, S.; MARIN, L. Salicyl-imine-chitosan hydrogels: Supramolecular architecturing as a crosslinking method toward multifunctional hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 39-50, 2017.

JACOB, J.; HAPONIUK, J. T.; THOMAS, S.; GOPI, S. Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 43-55, 2018.

JARQUÍN-YÁÑEZ, K.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, P.; FAUSTINO-VEGA, A.; CASTELL-RODRÍGUEZ, A. E.; PIÑÓN-ZÁRATE, G.; MACÍN-CABRERA, S.; QUIRINO-BARREDA, C.; MIRANDA-CALDERÓN, J. E. In vitro characterisation of optimised

chitosan microparticles loaded with vancomycin by factorial experiment design. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, v. 48, n. 4, p. 43-51, 2017.

JAYARAMUDU, T.; VARAPRASAD, K.; REDDY, K. K.; PYARASANI, R. D.; AKBARI-FAKHRABADI, A.; AMALRAJ, J. Chitosan-pluronic based Cu nanocomposite hydrogels for prototype antimicrobial applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 825-832, 2020.

KAMOUN, E. A.; KENAWY, E.-R. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 3, p. 217-233, 2017.

KIDANE, A.; BHATT, P. P. Recent advances in small molecule drug delivery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 9, n. 4, p. 347-351, 2005.

KLEIN, M. P.; HACKENHAAR, C. R.; LORENZONI, A. S.; RODRIGUES, R. C.; COSTA, T. M.; NINOW, J. L.; HERTZ, P. F. Chitosan crosslinked with genipin as support matrix for application in food process: Support characterization and  $\beta$ -d-galactosidase immobilization. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 184-190, 2016.

KOPCHA, M.; LORDI, N. G.; TOJO, K. J. Evaluation of release from selected thermosoftening vehicles. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 43, n. 6, p. 382-387, 1991.

KRSTIĆ, J.; SPASOJEVIĆ, J.; RADOSAVLJEVIĆ, A.; PERIĆ-GRUJIĆ, A.; ĐURIĆ, M.; KAČAREVIĆ-POPOVIĆ, Z.; POPOVIĆ, S. In vitro silver ion release kinetics from nanosilver/poly (vinyl alcohol) hydrogels synthesized by gamma irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 11, 2014.

KULKARNI VISHAKHA, S.; BUTTE KISHOR, D.; RATHOD SUDHA, S. Natural polymers—A comprehensive review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1579-1613, 2012.

KUMARI, R.; DUTTA, P. Physicochemical and biological activity study of genipin-crosslinked chitosan scaffolds prepared by using supercritical carbon dioxide for tissue engineering applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 2, p. 261-266, 2010.

LAI, J.-Y.; LI, Y.-T.; WANG, T.-P. In vitro response of retinal pigment epithelial cells exposed to chitosan materials prepared with different cross-linkers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 12, p. 5256-5272, 2010.

LASKAR, K.; FAISAL, S. M.; RAUF, A.; AHMED, A.; OWAIS, M. Undec-10-enoic acid functionalized chitosan based novel nano-conjugate: An enhanced anti-

bacterial/biofilm and anti-cancer potential. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 14-23, 2017.

LI, B.; SHAN, C.-L.; ZHOU, Q.; FANG, Y.; WANG, Y.-L.; XU, F.; HAN, L.-R.; IBRAHIM, M.; GUO, L.-B.; XIE, G.-L. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of cross-linked chitosan-glutaraldehyde. **Marine Drugs**, v. 11, n. 5, p. 1534-1552, 2013.

LI, B.; WEBSTER, T. J. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. **Journal of Orthopaedic Research®**, v. 36, n. 1, p. 22-32, 2018.

LIANG, B.; SHU, Y.; WAN, P.; ZHAO, H.; DONG, S.; HAO, W.; YIN, P. Genipin-enhanced nacre-inspired montmorillonite-chitosan film with superior mechanical and UV-blocking properties. **Composites Science and Technology**, v. 182, p. 107747, 2019.

LIECHTY, W. B.; KRYSCIO, D. R.; SLAUGHTER, B. V.; PEPPAS, N. A. Polymers for Drug Delivery Systems. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 1, p. 149-173, 2010.

LIN, C.-C.; METTERS, A. T. Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, n. 12-13, p. 1379-1408, 2006.

LIN, T.; ZHAO, P.; JIANG, Y.; TANG, Y.; JIN, H.; PAN, Z.; HE, H.; YANG, V. C.; HUANG, Y. Blood-brain-barrier-penetrating albumin nanoparticles for biomimetic drug delivery via albumin-binding protein pathways for antiglioma therapy. **ACS Nano**, v. 10, n. 11, p. 9999-10012, 2016.

LIU, S. J.; WEN-NENG UENG, S.; LIN, S. S.; CHAN, E. C. In vivo release of vancomycin from biodegradable beads. **Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 63, n. 6, p. 807-813, 2002.

LÓPEZ-IGLESIAS, C.; BARROS, J.; ARDAO, I.; MONTEIRO, F. J.; ALVAREZ-LORENZO, C.; GÓMEZ-AMOZA, J. L.; GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A. Vancomycin-loaded chitosan aerogel particles for chronic wound applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 204, p. 223-231, 2019.

LUO, M.; PENG, H.; DENG, Z.; YIN, Z.; ZHAO, Q.; XIONG, H. Preparation and characterization of genipin-crosslinked chitosan microspheres for the sustained release of salidroside. **International Journal of Food Engineering**, v. 11, n. 3, p. 323-333, 2015.

LV, J.; LI, X.; YIN, H.; WANG, L.; PEI, Y.; LV, X. Controlled release of vancomycin hydrochloride from a composite structure of polymeric films and porous fibers on implants. **Chemical Engineering Journal**, v. 325, p. 601-610, 2017.

MADALINA MIHAI, M.; MARIA HOLBAN, A.; GIURCANEANU, C.; GABRIELA POPA, L.; MIHAELA OANEA, R.; LAZAR, V.; CARMEN CHIFIRIUC, M.; POPA, M.; IOAN POPA, M. Microbial biofilms: impact on the pathogenesis of periodontitis, cystic fibrosis, chronic wounds and medical device-related infections. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 16, p. 1552-1576, 2015.

MADHUMATHI, K.; KUMAR, P. S.; ABHILASH, S.; SREEJA, V.; TAMURA, H.; MANZOOR, K.; NAIR, S.; JAYAKUMAR, R. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, n. 2, p. 807-813, 2010.

MALHEIRO, J.; SIMÕES, M. Antimicrobial resistance of biofilms in medical devices. In: (Ed.). **Biofilms and Implantable Medical Devices**: Elsevier, 2017. p. 97-113. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100382-4.00004-6>.

MANDAL, B.; MITTAL, N. K.; BALABATHULA, P.; THOMA, L. A.; WOOD, G. C. Development and in vitro evaluation of core-shell type lipid-polymer hybrid nanoparticles for the delivery of erlotinib in non-small cell lung cancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 162-171, 2016.

MANTRIPRAGADA, V. P.; JAYASURIYA, A. C. Effect of dual delivery of antibiotics (vancomycin and cefazolin) and BMP-7 from chitosan microparticles on *Staphylococcus epidermidis* and pre-osteoblasts in vitro. **Materials Science and Engineering: C**, v. 67, p. 409-417, 2016.

MANZOOR, K.; AHMAD, S.; SOUNDARAJAN, A.; IKRAM, S.; AHMED, S. Chitosan Based Nanomaterials for Biomedical Applications. In: (Ed.). **Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications**: Elsevier, 2018. p. 543-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00031-6>.

MARSOT, A.; BOULAMERY, A.; BRUGUEROLLE, B.; SIMON, N. Vancomycin. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 51, n. 1, p. 1-13, 2012.

MASOOD, F. Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. **Materials Science and Engineering: C**, v. 60, p. 569-578, 2016.

MCINTYRE, W. F.; HEALEY, J. S. Cardiac implantable electronic device infections: From recognizing risk to prevention. **Heart Rhythm**, v. 14, n. 6, p. 846-847, 2017.

MEENA, R.; PRASAD, K.; SIDDHANTA, A. Effect of genipin, a naturally occurring crosslinker on the properties of kappa-carrageenan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, n. 1, p. 94-101, 2007.

MI, F. L.; SUNG, H. W.; SHYU, S. S. Synthesis and characterization of a novel chitosan-based network prepared using naturally occurring crosslinker. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 38, n. 15, p. 2804-2814, 2000.

MOELLERING JR, R. C. Pharmacokinetics of vancomycin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 14, n. suppl\_D, p. 43-52, 1984.

MOHAMED, R. R.; ELELLA, M. H. A.; SABAA, M. W. Cytotoxicity and metal ions removal using antibacterial biodegradable hydrogels based on N-quaternized chitosan/poly (acrylic acid). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 302-313, 2017.

MONTANARO, L.; SPEZIALE, P.; CAMPOCCIA, D.; RAVAIOLI, S.; CANGINI, I.; PIETROCOLA, G.; GIANNINI, S.; ARCIOLA, C. R. Scenery of Staphylococcus implant infections in orthopedics. **Future Microbiology**, v. 6, n. 11, p. 1329-1349, 2011.

MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILIPPINI, O.; GIOVANETTI, E.; BIAGINI, G.; VARALDO, P. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 10, p. 2019-2023, 1990.

NABLO, B. J.; ROTHROCK, A. R.; SCHOENFISCH, M. H. Nitric oxide-releasing sol-gels as antibacterial coatings for orthopedic implants. **Biomaterials**, v. 26, n. 8, p. 917-924, 2005.

NAGEL, J. A.; DICKINSON, R. B.; COOPER, S. L. Bacterial adhesion to polyurethane surfaces in the presence of pre-adsorbed high molecular weight kininogen. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 7, n. 9, p. 769-780, 1996.

NEŠOVIĆ, K.; JANKOVIĆ, A.; PERIĆ-GRUJIĆ, A.; VUKAŠINOVIĆ-SEKULIĆ, M.; RADETIĆ, T.; ŽIVKOVIĆ, L.; PARK, S.-J.; RHEE, K. Y.; MIŠKOVIĆ-STANKOVIĆ, V. Kinetic models of swelling and thermal stability of silver/poly (vinyl alcohol)/chitosan/graphene hydrogels. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 77, p. 83-96, 2019.

NEUFELD, L.; BIANCO-PELED, H. Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 852-861, 2017.

NGUYEN, H. T.; TRAN, T. H.; THAPA, R. K.; PHAM, T. T.; JEONG, J.-H.; YOUN, Y. S.; CHOI, H.-G.; YONG, C. S.; KIM, J. O. Incorporation of chemotherapeutic agent and photosensitizer in a low temperature-sensitive liposome for effective chemohyperthermic anticancer activity. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 2, p. 155-164, 2017.

NUSBAUM, A. G.; KIRSNER, R. S.; CHARLES, C. A. Biofilms in dermatology. **Skin Therapy Lett**, v. 17, n. 7, p. 1-5, 2012.

ORAPIRIYAKUL, W.; YOUNG, P. S.; DAMIATI, L.; TSIMBOURI, P. M. Antibacterial surface modification of titanium implants in orthopaedics. **Journal of Tissue Engineering**, v. 9, p. 1-16, 2018.

ORDIKHANI, F.; TAMJID, E.; SIMCHI, A. Characterization and antibacterial performance of electrodeposited chitosan–vancomycin composite coatings for prevention of implant-associated infections. **Materials Science and Engineering: C**, v. 41, p. 240-248, 2014.

PAIK, Y.-S.; LEE, C.-M.; CHO, M.-H.; HAHN, T.-R. Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of gardenia fruits: effects of pH, temperature, and light. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 430-432, 2001.

PAULINO, A. T.; SIMIONATO, J. I.; GARCIA, J. C.; NOZAKI, J. Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 1, p. 98-103, 2006.

PELLÁ, M. G.; LIMA-TENÓRIO, M. K.; TENÓRIO-NETO, E. T.; GUILHERME, M. R.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Chitosan-based hydrogels: from preparation to biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 233-245, 2018.

PEPPAS, N. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 60, n. 4, p. 110-111, 1985.

PEPPAS, N.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27-46, 2000.

PEPPAS, N. A.; NARASIMHAN, B. Mathematical models in drug delivery: How modeling has shaped the way we design new drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 190, p. 75-81, 2014.

PETER, M.; GANESH, N.; SELVAMURUGAN, N.; NAIR, S.; FURUIKE, T.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Preparation and characterization of chitosan–gelatin/nanohydroxyapatite composite scaffolds for tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 687-694, 2010.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, n. 4, p. 447-451, 2001.

RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.-T.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAHIMTOOLA, S. H. Choice of prosthetic heart valve for adult patients. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 6, p. 893-904, 2003.

RAPHEL, J.; HOLODNIY, M.; GOODMAN, S. B.; HEILSHORN, S. C. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. **Biomaterials**, v. 84, p. 301-314, 2016.

RASOOL, A.; ATA, S.; ISLAM, A. Stimuli responsive biopolymer (chitosan) based blend hydrogels for wound healing application. **Carbohydrate Polymers**, v. 203, p. 423-429, 2019.

REZK, A. I.; OBIWELUOZOR, F. O.; CHOUKRANI, G.; PARK, C. H.; KIM, C. S. Drug release and kinetic models of anticancer drug (BTZ) from a pH-responsive alginate polydopamine hydrogel: Towards cancer chemotherapy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 141, p. 388-400, 2019.

REZK, A. I.; UNNITHAN, A. R.; PARK, C. H.; KIM, C. S. Rational design of bone extracellular matrix mimicking tri-layered composite nanofibers for bone tissue regeneration. **Chemical Engineering Journal**, v. 350, p. 812-823, 2018.

RIEDL, C. R.; PLAS, E.; HÜBNER, W. A.; ZIMMERL, H.; ULRICH, W.; PFLÜGER, H. Bacterial colonization of ureteral stents. **European Urology**, v. 36, n. 1, p. 53-59, 1999.

RIEDL, C. R.; WITKOWSKI, M.; PLAS, E.; PFLUEGER, H. Heparin coating reduces encrustation of ureteral stents: a preliminary report. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 19, n. 6, p. 507-510, 2002.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, 1987.

SAIDYKHAN, L.; BAKAR, M. Z. B. A.; RUKAYADI, Y.; KURA, A. U.; LATIFAH, S. Y. Development of nanoantibiotic delivery system using cockle shell-derived aragonite nanoparticles for treatment of osteomyelitis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 661, 2016.

SAITA, K.; NAGAOKA, S.; SHIROSAKI, T.; HORIKAWA, M.; MATSUDA, S.; IHARA, H. Preparation and characterization of dispersible chitosan particles with borate crosslinking and their antimicrobial and antifungal activity. **Carbohydrate Research**, v. 349, n. 2, p. 52-58, 2012.

SALEH, M. M.; TOUNY, A.; AL-OMAIR, M. A.; SALEH, M. Biodegradable/biocompatible coated metal implants for orthopedic applications. **Bio-medical Materials and Engineering**, v. 27, n. 1, p. 87-99, 2016.

SAMI, A. J.; KHALID, M.; JAMIL, T.; AFTAB, S.; MANGAT, S. A.; SHAKOORI, A.; IQBAL, S. Formulation of novel chitosan guar gum based hydrogels for sustained drug release of paracetamol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 324-332, 2018.

SCHÄFER, M.; SCHNEIDER, T. R.; SHELDRIK, G. M. Crystal structure of vancomycin. **Structure**, v. 4, n. 12, p. 1509-1515, 1996.

SCHIERHOLZ, J.; BEUTH, J. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. **Journal of Hospital Infection**, v. 49, n. 2, p. 87-93, 2001.

SELIKTAR, D. Designing cell-compatible hydrogels for biomedical applications. **Science**, v. 336, n. 6085, p. 1124-1128, 2012.

SHEIKHPOUR, M.; BARANI, L.; KASAEIAN, A. Biomimetics in drug delivery systems: A critical review. **Journal of Controlled Release**, v. 253, p. 97-109, 2017.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 328-343, 2008.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 9, p. 1254-1276, 2011.

SMITH, A. W. Biofilms and antibiotic therapy: is there a role for combating bacterial resistance by the use of novel drug delivery systems? **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 10, p. 1539-1550, 2005.

SOLÉ, I.; VÍLCHEZ, S.; MIRAS, J.; MONTANYÀ, N.; GARCÍA-CELMA, M. J.; ESQUENA, J. DHA and l-carnitine loaded chitosan hydrogels as delivery systems for topical applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 525, p. 85-92, 2017.

SUNG, H. W.; HUANG, R. N.; HUANG, L. L.; TSAI, C. C.; CHIU, C. T. Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. **Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for**

**Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials**, v. 42, n. 4, p. 560-567, 1998.

SURAWICZ, C. M.; MCFARLAND, L. V.; GREENBERG, R. N.; RUBIN, M.; FEKETY, R.; MULLIGAN, M. E.; GARCIA, R. J.; BRANDMARKER, S.; BOWEN, K.; BORJAL, D. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n. 4, p. 1012-1017, 2000.

TALEBIAN, A.; MANSOURIAN, A. Release of Vancomycin from electrospun gelatin/chitosan nanofibers. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 7, p. 7065-7069, 2017.

TEIMOURI, S.; KASAPIS, S. Morphology of genipin-crosslinked BSA networks yields a measurable effect on the controlled release of vitamin B6. **Food Chemistry**, v. 314, p. 126-204, 2020.

TIHAN, G. T.; RĂU, I.; ZGĂRIAN, R. G.; GHICA, M. V. Collagen-based biomaterials for ibuprofen delivery. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 3, p. 390-394, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2015.09.008>.

TREMBLAY, Y. D.; HATHROUBI, S.; JACQUES, M. Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 78, n. 2, p. 110-116, 2014.

TRIPLETT, R. G.; BUDINSKAYA, O. New frontiers in biomaterials. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics**, v. 29, n. 1, p. 105-115, 2017.

TYLISZCZAK, B.; DRABCZYK, A.; KUDŁACIK-KRAMARCZYK, S.; BIALIK-WĄS, K.; KIJKOWSKA, R.; SOBCZAK-KUPIEC, A. Preparation and cytotoxicity of chitosan-based hydrogels modified with silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 325-330, 2017.

UHL, P.; PANTZE, S.; STORCK, P.; PARMENTIER, J.; WITZIGMANN, D.; HOFHAUS, G.; HUWYLER, J.; MIER, W.; FRICKER, G. Oral delivery of vancomycin by tetraether lipid liposomes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 108, p. 111-118, 2017.

ULLAH, F.; OTHMAN, M. B. H.; JAVED, F.; AHMAD, Z.; AKIL, H. M. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 57, p. 414-433, 2015.

UNAGOLLA, J. M.; JAYASURIYA, A. C. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte

microparticles as a controlled drug delivery system. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 114, p. 199-209, 2018.

VALLITTU, P. K.; NÄRHI, T. O.; HUPA, L. Fiber glass–bioactive glass composite for bone replacing and bone anchoring implants. **Dental Materials**, v. 31, n. 4, p. 371-381, 2015.

WAHID, F.; WANG, H.-S.; ZHONG, C.; CHU, L.-Q. Facile fabrication of moldable antibacterial carboxymethyl chitosan supramolecular hydrogels cross-linked by metal ions complexation. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 455-461, 2017.

WANG, L.; CHEN, D.; SUN, J. Layer-by-layer deposition of polymeric microgel films on surgical sutures for loading and release of ibuprofen. **Langmuir**, v. 25, n. 14, p. 7990-7994, 2009.

WANG, Y.-X.; ROBERTSON, J. L.; SPILLMAN, W. B.; CLAUS, R. O. Effects of the chemical structure and the surface properties of polymeric biomaterials on their biocompatibility. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 8, p. 1362-1373, 2004.

WU, P.; GRAINGER, D. W. Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis. **Biomaterials**, v. 27, n. 11, p. 2450-2467, 2006.

WU, S.; DONG, H.; LI, Q.; WANG, G.; CAO, X. High strength, biocompatible hydrogels with designable shapes and special hollow-formed character using chitosan and gelatin. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 147-152, 2017.

YADOLLAHI, M.; FARHOUDIAN, S.; NAMAZI, H. One-pot synthesis of antibacterial chitosan/silver bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 37-43, 2015 DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.032.

YAO, Q.; NOOEID, P.; ROETHER, J. A.; DONG, Y.; ZHANG, Q.; BOCCACCINI, A. R. Bioglass®-based scaffolds incorporating polycaprolactone and chitosan coatings for controlled vancomycin delivery. **Ceramics International**, v. 39, n. 7, p. 7517-7522, 2013.

ZENG, S.; YE, M.; QIU, J.; FANG, W.; RONG, M.; GUO, Z.; GAO, W. Preparation and characterization of genipin-cross-linked silk fibroin/chitosan sustained-release microspheres. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 2501, 2015.

ZHANG, N.; YAO, R.; GUO, J.; HE, J.; MENG, G.; WU, F. Modulation of osteogenic and haemostatic activities by tuning cationicity of genipin-crosslinked chitosan hydrogels. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 166, p. 29-36, 2018.

ZHANG, T.; ZHANG, C.; XING, J.; XU, J.; LI, C.; WANG, P. C.; LIANG, X.-J. Multifunctional dendrimers for drug nanocarriers. In: (Ed.). **Materials Science and Engineering: Concepts, Methodologies, Tools, and Applications**: IGI Global, 2017. p. 439-470.

ZHANG, X.; XIAO, G.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; SU, H.; TAN, T. Preparation of chitosan-TiO<sub>2</sub> composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 169, p. 101-107, 2017.

ZHANG, Y.; MENG, F.-C.; CUI, Y.-L.; SONG, Y.-F. Enhancing effect of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on the intestinal absorption process of genipin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 20, p. 10919-10926, 2011.

ZHAO, X.; SONG, K.; WANG, S.; ZU, Y.; LI, N.; YU, X. Micronization of the pharmaceutically active agent genipin by an antisolvent precipitation process. **Chemical Engineering & Technology**, v. 36, n. 1, p. 33-42, 2013.

ZHAO, Y.; ZHANG, X.; WANG, Y.; WU, Z.; AN, J.; LU, Z.; MEI, L.; LI, C. In situ cross-linked polysaccharide hydrogel as extracellular matrix mimics for antibiotics delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 63-69, 2014.

ZIMMERLI, W.; TRAMPUZ, A.; OCHSNER, P. E. Prosthetic-joint infections. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 16, p. 1645-1654, 2004.

### CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

	2018.1	2018.2	2019.1	2019.2	2020.1
Revisão da literatura	X	X	X	X	X
Disciplinas	X	X	X		
Projeto		X			
Trabalho experimental e caracterizações		X	X	X	X
Seminário			X		
Artigo				X	X
Defesa					X

## APÊNDICES

### Apêndice A - Curva de calibração do fármaco vancomicina

Para a curva de calibração do fármaco (Figura 28), uma quantidade de 0,01 g do fármaco foi diluída em 50 mL da solução tampão PBS com pH 7.4, obtendo assim uma solução de concentração 200 µg/mL. A partir desta solução foram feitas diluições obtendo soluções do fármaco nas seguintes concentrações: 200 µg/mL; 100 µg/mL; 50 µg/mL; 25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 6,25 µg/mL; 3,125 µg/mL; 1,5625 µg/mL; 0,78125 µg/mL; 0,390625 µg/mL. Essas concentrações foram então utilizadas para a construção da curva de calibração do fármaco vancomicina.

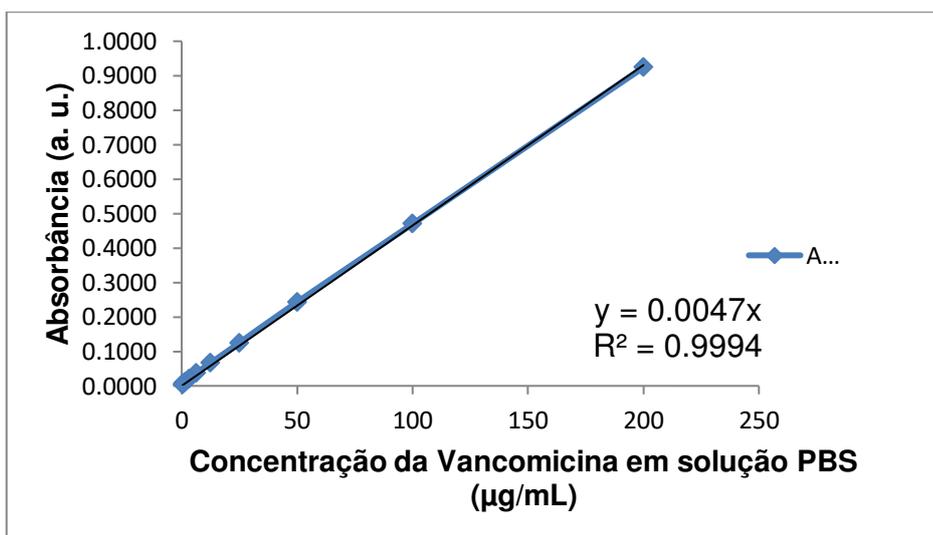


Figura 28 - Curva de calibração do fármaco vancomicina.

Pelo gráfico da curva de calibração do fármaco foi possível encontrar a equação da reta:  $y = 0,004x$ . Onde o  $y$  representa a absorbância e  $x$  a concentração. O coeficiente angular é 0,004. Podendo-se afirmar que nessa faixa linear aplica-se a lei de Lambert Beer. Qualquer valor de absorbância fora do intervalo estudado deve-se diluir a solução líquida contendo o fármaco para conseguir obter valores confiáveis de absorbância e conseqüentemente das concentrações. As leituras das absorbâncias dessas concentrações, foram realizadas em espectrofotômetro Bel Photonics 2000 UV, na região do ultra visível no comprimento de onda máximo de

284 nm. Este comprimento foi determinado após a leitura da solução do fármaco no espectrofotômetro no intervalo entre 210 a 300nm.

**Apêndice B** - Cálculos utilizados para determinação da porcentagem liberada do fármaco vancomicina no hidrogel.

### **Cálculo da Absorbância (ABS) corrigida:**

ABS corrigida = (ABS amostra - ABS branco)

O branco é a solução tampão PBS em pH 7.4

### **Cálculo da concentração:**

$$y = 0,004x$$

Onde y e x são os valores da absorbância e da concentração respectivamente. As absorbâncias encontradas na leitura feita pelo espectrofotômetro em cada tempo estudado são substituídas na equação da reta  $y = 0,004x$ .

### **Cálculo da concentração corrigida**

Para o cálculo da concentração corrigida, foram pegos os valores das absorbâncias fora do intervalo estudado e feito a diluição das soluções líquidas contendo o fármaco para conseguir obter valores confiáveis de absorbância e consequentemente das concentrações.

Concentração corrigida = Fator de diluição \* Concentração

\*Fator de diluição utilizado  $= \frac{10\text{mL}}{1\text{mL}}$ , logo o Fator de diluição = 10

### **Cálculo da Massa**

M = Concentração corrigida do sistema \* Volume do sistema

O volume do sistema utilizado foi de 20mL do tampão PBS com pH 7.4

### **Cálculo da % Liberada**

Cálculos estequiométricos para os três hidrogéis: H1, H2 e H3.

### **Hidrogel H1:**

Peso total do hidrogel: 21,08 g de Hidrogel

Peso do fármaco: 0,2 g do Fármaco

Relação de Massa de Hidrogel e Fármaco: RFH

$$RFH = \frac{0,2 \text{ g de Fármaco}}{21,08 \text{ g de Hidrogel}} = 0,00948766 \frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$$

Massa de FH = 1 g de Hidrogel \* 0,00948766  $\frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$ , logo

Massa de FH = 0,00948766 g de Fármaco  $\longrightarrow$  é a massa total que pode ser liberada no sistema.

### Hidrogel H2

Peso total do hidrogel: 21,92 g de Hidrogel

Peso do fármaco: 0,2 g do Fármaco

Relação de Massa de Hidrogel e Fármaco: RFH

$$RFH = \frac{0,2 \text{ g de Fármaco}}{21,92 \text{ g de Hidrogel}} = 0,0091240876 \frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$$

Massa de FH = 1 g de Hidrogel \* 0,0091240876  $\frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$ , logo

Massa de FH = 0,0091240876 g de Fármaco  $\longrightarrow$  é a massa total que pode ser liberada no sistema.

### Hidrogel H3

Peso total do hidrogel: 22,22 g de Hidrogel

Peso do fármaco: 0,2 g do Fármaco

Relação de Massa de Hidrogel e Fármaco: RFH

$$RFH = \frac{0,2 \text{ g de Fármaco}}{22,22 \text{ g de Hidrogel}} = 0,0090009001 \frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$$

Massa de FH = 1 g de Hidrogel \* 0,0090009001  $\frac{\text{g de Fármaco}}{\text{g de Hidrogel}}$ , logo

Massa de FH = 0,0090009001 g de Fármaco  $\longrightarrow$  é a massa total que pode ser liberada no sistema.