



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



GILDÊNIA PINTO DOS SANTOS TRIGUEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE QUITOSANA COM INSULINA PARA
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO**

CAMPINA GRANDE

2015

GILDENIA PINTO DOS SANTOS TRIGUEIRO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE QUITOSANA COM INSULINA PARA
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Área de concentração: polímeros como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Hélio de Lucena Lira

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook

Campina Grande

2015

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

T828d Trigueiro, Gildênia Pinto dos Santos .
Desenvolvimento de filmes de quitosana com insulina para liberação controlada de fármaco / Gildênia Pinto dos Santos Trigueiro. – Campina Grande, 2015.
47 f : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2015.

"Orientação: Prof. Dr. Hélio de Lucena Lira, Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".

Referências.

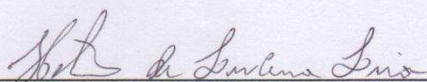
1. Quitosana. 2. Insulina. 3. Liberação Controlada de Fármacos. I. Lira, Hélio de Lucena. II. Fook, Marcus Vinicius Lia. III. Título.

CDU 62:677.473(043)

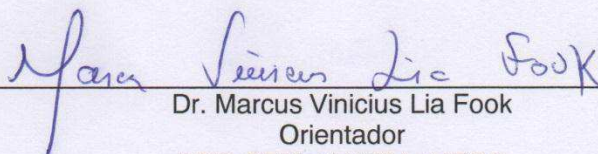
**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE QUITOSANA COM INSULINA PARA
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO**

GILDÊNIA PINTO DOS SANTOS TRIGUEIRO

Dissertação aprovada em 19/06/2015 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



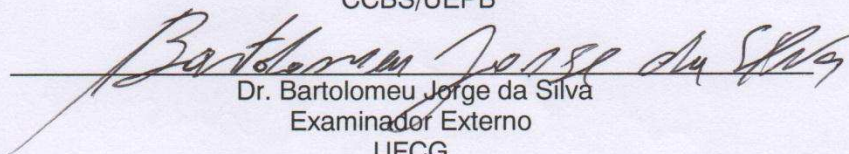
Dr. Hélio de Lucena Lira
Orientador
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr.ª Waldênia Pereira Freire
Examinadora Externa
CCBS/UEPB



Dr. Bartolomeu Jorge da Silva
Examinador Externo
UFCG

A todas as pessoas que amo e que me apoiaram durante esta jornada;

A minha mãe avó Lucia Trigueiro, que sempre me amou muito,

A minha mãe Mavis Lucia, que esteve presente em todos os momentos da minha vida e até hoje me apoia, pelo apoio incondicional, por nunca desistir de mim, por todo carinho e por estar ao meu lado em todas as situações.

A meu esposo e amigo Demostenes, que sempre cuida de nossa família com tanto zelo, paciência e amor, colocando-se como uma personalidade marcante em todos os momentos. Uma bênção que Deus me deu.

A meus filhos Annelise e Davi, por te-los em minha vida como herança do Senhor.

DEDICO

AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar agradeço a **Deus** por tudo. Sem a presença dele, nada seria possível na minha vida.

Ao **Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook**, que se mostra sempre um excelente profissional com muita humildade, simplicidade e sabedoria, sempre amando o que faz. Professor, obrigado por ser um dos responsáveis pela minha entrada no mundo científico.

A minha amiga e irmã **Paula Maia**, pela amizade, incentivo e encorajamento. Você é um exemplo do amor incondicional de Deus aqui na terra.

As minhas colegas de Mestrado **Ieda Xavier** e **Maria Aparecida**, por tornar os momentos de dúvidas e estresse em momentos de construção do aprendizado.

Aos pesquisadores **Dr. Rosseberg** e **Wladymyr**, pela oportunidade de conhecê-los e desfrutar da convivência. Obrigado por toda dedicação que tiveram a mim, durante toda a pesquisa e principalmente na fase final.

Ao **Prof. Dr. Bartolomeu** que me ensinou muito, um exemplo de profissional, que tem zelo pelo que faz.

Aos **técnicos** do CERTBIO, que nos trataram com dedicação, paciência e muita atenção, vocês são referência de servidor público, o Brasil precisa de cidadãos como vocês.

Não te mandei eu? Esforça-te e tem bom ânimo;
não pasmes, nem te espantes, porque o SENHOR,
teu Deus, é contigo, por onde quer que andares.

Josué 1:9

RESUMO

O envelhecimento populacional, fenômeno mundial, é um processo iniciado no momento do nascimento e modifica a vida de indivíduos e das estruturas familiares na sociedade. Com o aumento da longevidade há uma tendência ao aparecimento de doenças crônicas, como é o caso do Diabetes Mellitus, um dos principais problemas de saúde pública na atualidade, que abrange elevado número de pessoas acometidas, com mortalidade prematura, além dos custos envolvidos no controle, tratamento e de recuperação das complicações. Este estudo foi realizado com o objetivo de desenvolver membranas de quitosana sem neutralização com incorporação de insulina para liberação controlada deste fármaco. As membranas foram desenvolvidas pelo método de evaporação de solvente e caracterizadas pelas técnicas de Difração de raios-X (DRX), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Tensão Superficial e Intumescimento. A técnica de DRX demonstrou que a não neutralização das membranas atribuiu às mesmas um perfil mais cristalino quando comparado ao perfil da quitosana em pó e que tanto a insulina quanto a reticulação com tripolifosfato de sódio diminuiu o perfil cristalino das mesmas. Com o ensaio de FTIR foi possível perceber um aumento da intensidade dos picos nas regiões entre 1250 e 1600. Através das técnicas de MO e MEV foi possível confirmar a presença da insulina nas membranas encapsuladas pela quitosana. No ensaio de molhabilidade, a presença da insulina e do agente reticulante proporcionou uma diminuição da molhabilidade das membranas quando comparado ao de quitosana sem a insulina e o agente reticulante. Já no de intumescimento ocorreu redução tanto por efeito da adição da insulina quanto da reticulação. Os resultados sugerem que houve a incorporação da insulina na membrana.

Palavras-chaves: Quitosana. Insulina. Liberação controlada de fármacos.

ABSTRACT

Population aging, worldwide phenomenon, is a process that began at birth and changes the lives of individuals and family structures in society. With increasing longevity there is a tendency to the appearance of chronic diseases, such as Diabetes Mellitus, one of the major public health problems today which covers large number of people affected with premature mortality and the costs involved in control treatment of complications and recovery. This study was conducted in order to develop chitosan membranes without neutralization with insulin incorporation for controlled release of the drug. The membranes were developed by the solvent evaporation method and characterized by powder Diffraction X-ray (XRD), spectroscopy in the infrared region Fourier transform (FTIR) spectroscopy, optical microscopy (MO), Scanning Electron Microscopy (SEM), Surface Tension and Swelling. The XRD technique showed that no neutralization of the membrane attributed to a more crystalline same profile when compared to the profile of the chitosan powder, and that both insulin as crosslinking with sodium tripolyphosphate decreased the lens profile of the same. With FTIR test was possible to realize an increase of peak intensity in the regions between 1250 and 1600. Through the OM and SEM techniques it was possible to confirm the presence of insulin encapsulated in the chitosan membranes. In the wetting test, the presence of insulin and crosslinker provided a decrease in wettability compared to the membranes of insulin and chitosan without the crosslinker. Already in the reduction of swelling occurred both as a result of addition of insulin as halftone. The results suggest that insulin was incorporated in the membrane.

Key Words: Chitosan. Insulin. Drug release.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 GERAL.....	15
2.2 ESPECÍFICO	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 BIOMATERIAIS.....	16
3.2 QUITOSANA.....	16
3.3 INSULINA	19
3.3.1 Formação da insulina	19
3.4 DIABETES MELLITUS.....	21
3.4.1 Classificação do Diabetes Melitus	22
3.4.2 Manifestações Clínica do Diabete Melitus	23
3.4.2 Complicações do Diabete Melitus	24
3.5 LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 LOCAIS DA PESQUISA.....	27
4.2 MATERIAIS.....	27
4.3 MÉTODOS.....	27
4.4 CARACTERIZAÇÕES.....	29
4.4.1 Difração de raios X (DRX)	29
4.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	29
4.4.3 Microscopia Ótica (MO)	29
4.4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	30
4.4.5 Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato (molhabilidade) ..	30
4.4.6 Ensaio de Intumescimento	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	31
5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	33
5.3 MICROSCOPIA ÓTICA (MO).....	36
5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	39

5.5 TENSÃO SUPERFICIAL POR MEDIDAS DO ÂNGULO DE CONTATO (MOLHABILIDADE).....	40
5.6 INTUMESCIMENTO	41
CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	44

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura Química da Quitina e Quitosana.....	17
Figura 2 - Representação esquemática da obtenção da quitosana.....	17
Figura 3 - Esquema da desacetilação da Quitina, originando a Quitosana.	18
Figura 4 - Fisiologia das Ilhotas	20
Figura 5 – Esquema do metabolismo da glicose.....	21
Figura 6 - Receptores da glicose na célula sanguínea.....	23
Figura 7 - Desenvolvimento de Ulcera Diabética.....	24
Figura 8 - Perfil de liberação de fármacos convencional e controlada em função do tempo.....	26
Figura 9 – Fluxograma da elaboração das membranas	28
Figura 10 - Difratograma de Raios X do pó de quitosana.....	31
Figura 11 - Difratogramas de Raios X das Membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.....	32
Figura 12 - Espectros da Quitosana em Pó.....	33
Figura 13 -Espectro da Insulina	34
Figura 14 - Espectros do TPP.....	35
Figura 15 - Espectrogramas das Membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.	36
Figura 16 – Micrografia da membrana de quitosana com aumento de 350x e 700x.	37
Figura 17 – Micrografia óptica da insulina com aumento de 350x e 700x.....	37
Figura 18 – Micrografia óptica da membrana de quitosana com insulina com aumento de 350x e 700x.....	38
Figura 19 – Micrografia das membranas Q1%, QI1%, QR e QIR. Aumento de 3000x.	39
Figura 20 - Medida de ângulo de contato para os diferentes tipos de membranas. ...	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de insulina fornecida pela Rede Pública- SUS.....	21
Tabela 2 - Denominação das amostras.....	28
Tabela 3 - Bandas de absorção do pó de quitosana.	34
Tabela 4 – Grau de intumescimento das membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA American Diabetes Association

CERTIBIO Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

CME Concentração Mínima e Eficaz

CMT Concentração Mínima Tóxica

DMID Diabetes melitus insulino dependente

DMNID Diabetes melitus não insulino dependente,

DNA Ácido Desoxirribonucleico

DRX Difração de Raio X

FTIR Espectroscopia na Região do Infra Vermelho com transformada de Fourier

GA Grau de Acetilação

GD Grau de desacetilação

GP Grau de Polimerização

kV- Quilovolt

MO Microscópio Ótico

MEV Microscopia Eletrônica de Varredura

NPH Neutral ProtamineHagedorn

Rpm Rotação por minutos

Q quitosana

QI Quitosana Insulina

QR quitosana Reticulada

QIR Quitosana Insulina Reticulada

UFCG Universidade Federal de Campina Grande

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida dos seres humanos tem apontado desafios às ciências em todas as áreas. Desafios que vão desde o processo de senescência à capacidade de convivência com a limitação, que ocorre em função da falência e ou perda de órgãos; alterações nos tecidos, como ao uso de fármaco de uso contínuo.

Este segmento populacional apresenta um importante aumento, no caso o de idosos, com taxas de crescimento em torno de 4% ao ano no período de 2012 a 2022 na população com 60 anos ou mais de idade, que passou de 14,2 milhões, em 2000, para 19,6 milhões, em 2010, podendo atingir 41,5 milhões, em 2030, e 73,5 milhões, em 2060. Espera-se, para os próximos 10 anos, um incremento médio de mais de 1 (um) milhão de idosos por ano. Esse contexto de envelhecimento populacional é uma consequência da queda de fecundidade no país, além da influência na queda da mortalidade (IBGE, 2015). Mediante os investimentos em saúde e na mudança de estilo de vida, na melhoria da qualidade de vida, há uma estimativa que a população idosa no Brasil ocupe a 6ª posição no ranking mundial em número de indivíduos acima de 60 anos (BRASIL 2014).

O aumento da longevidade na população brasileira necessita que as políticas públicas se voltem com mais intensidade para o contingente de idosos, sendo necessária a pesquisa e a produção de biomateriais com tecnologia que favoreçam o envelhecimento e a convivência com as limitações, e com patologias crônicas e que tenha aceitabilidade dos usuários.

Um Biomaterial deve ser biocompatível em meio fisiológico, quimicamente estável, economicamente favorável e reprodutível. Em indivíduos portadores de Diabetes Mellitus insulino dependentes, deverá ser produzido de forma a facilitar o autocuidado, melhorando a adesão a tratamentos injetáveis, com doses fracionadas em horários diferentes para que não ocorra erro na aplicação ou na dosagem da insulina (MORATO; NARVAEZ; TORIBIO, 2004).

A quitosana é um poliaminossacarídeo derivado das carapaças de crustáceos, onde fornece resistência e estabilidade. Os biomateriais a base de quitosana estão sendo desenvolvidos e avaliados quanto às suas características físico-químicas, apresentando-se com fácil capacidade filmogênica e boas propriedades mecânicas (ASSIS; SILVA, 2003; KRAJEWSKA, 2004).

Algumas pesquisas vêm utilizando biomateriais à base de quitosana com a finalidade da liberação de fármacos, especialmente a insulina, com obtenção de bons resultados. A insulina é hormônio que atua no controle do metabolismo da glicose, sendo essencial para geração de energia (RANG; DALE; RITTER, 2007).

Desta forma, o objetivo desse estudo foi o desenvolvimento de uma membrana de quitosana sem neutralização, e incorporação de insulina para possível liberação controlada.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Desenvolver membranas de quitosana sem neutralização e com incorporação de insulina para liberação controlada de fármaco.

2.2 ESPECÍFICO

- Estabelecer metodologia para confecção de membranas de quitosana não neutralizadas e incorporadas com insulina e Tripolifosfato de Sódio;
- Avaliar a incorporação da insulina nas membranas de quitosana não neutralizadas, com e sem Tripolifosfato de Sódio;
- Analisar, comparativamente, a molhabilidade e grau de intumescimento das membranas de quitosana, quitosana/insulina e quitosana/insulina/tripolifosfato;
- Comparar as propriedades físico-químicas das membranas com e sem reticulação;
- Estabelecer relações das propriedades físico-químicas com os trabalhos que utilizam quitosana neutralizadas;
- Estabelecer uma perspectiva de liberação controlada de insulina a partir das membranas desenvolvidas;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 BIOMATERIAIS

Biomateriais são substâncias ou combinações destas, de origem natural ou sintética, produzidas para serem utilizados no corpo por um período de tempo limitado ou definitivamente, objetivando desempenhar uma função comprometida no organismo, como também ser um veículo para incorporar outras substâncias. Em contato com o organismo não devem liberar substâncias tóxicas e devem ser biocompatíveis (CALISTER, 2002; WILLIAM, 2008).

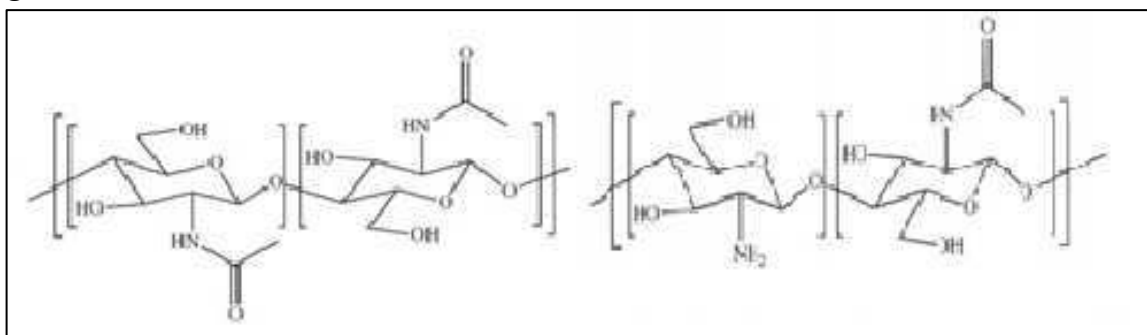
A seleção de um biomaterial deve ser baseada nas suas propriedades e aplicações, sendo determinada pela composição e tipo de material utilizado na produção. Essa avaliação das propriedades e características deve ser realizada através de parâmetros científicos e de engenharia, considerando a interação complexa de fatores físicos, biológicos, clínicos e tecnológicos desejáveis (OREFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

Biomateriais a base de quitosana constituem uma classe de materiais com diversas aplicações, dentre elas, a regeneração tecidual. Têm sido aplicados em vários campos, desde a liberação controlada de fármacos até a engenharia de tecido; de forma que a presença da quitosana nos biomateriais tem um grande potencial devido sua versatilidade de aplicações (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009; SPIN-NETO et al., 2008).

3.2 QUITOSANA

A quitosana é um abundante biopolímero de origem natural, sendo um dos principais constituintes das conchas de crustáceos. É obtida por uma reação de desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina é inerte e insolúvel, já a quitosana é reativa e solúvel em ácidos fracos. A quitosana tem sua estrutura formada pela repetição de unidades beta (1-4) 2-amino-2-desoxi-D-glicose (ou Dglucosamina) e beta (1-4) 2 acetamida-2 desoxi-Dglicose, apresentando uma cadeia polimérica similar à da celulose (sendo a diferenciação pela mudança dos grupos hidroxila na posição 2 por grupos acetamido) (KRAJEWSKA, 2004). A Figura 1 ilustra a estrutura da quitina e quitosana.

Figura 1 - Estrutura Química da Quitina e Quitosana

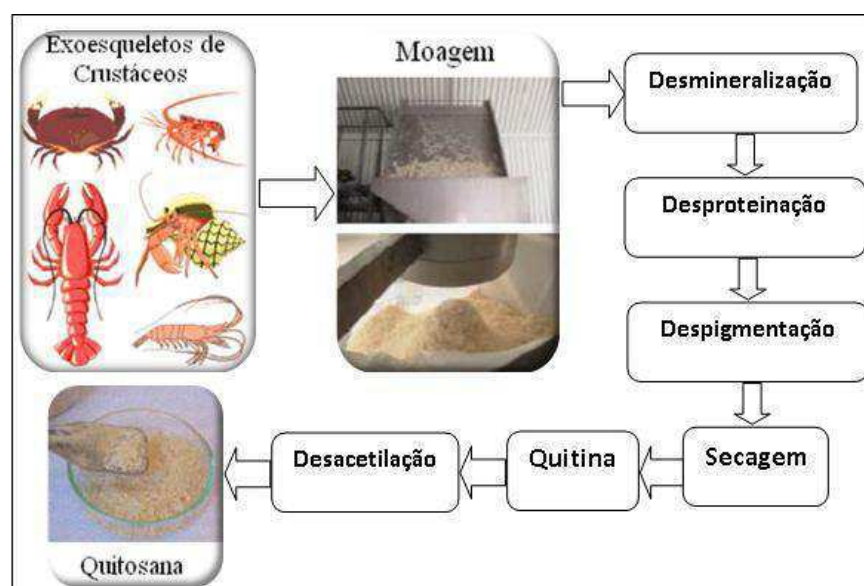


Fonte: CROISIER; JÉRÔME, 2013.

A quitina é separada dos componentes da carapaça, através da desmineralização e desproteinização através de soluções diluídas de HCl e NaOH, sendo descolorida, posteriormente é desacetilada resultando dessa forma na quitosana. As características e propriedades da quitosana são influenciadas através do seu processamento (AZEVEDO, 2011; BEZERRA, 2011). As características e propriedades da quitosana são influenciadas através do seu processamento (BEZERRA, 2011).

A Figura 2 representa a obtenção de quitosana através dos exoesqueletos dos crustáceos.

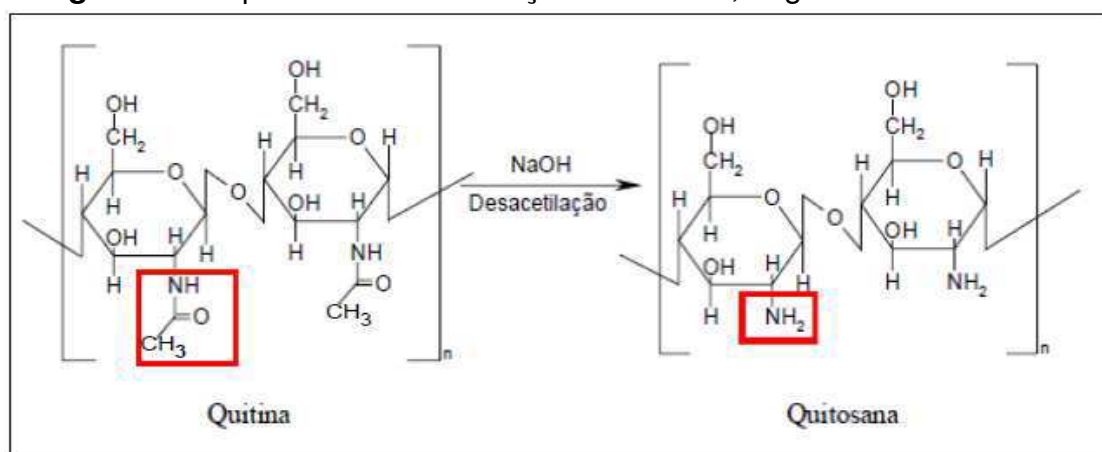
Figura 2 - Representação esquemática da obtenção da quitosana.



Fonte: MELO, 2010.

As propriedades físico-químicas da quitina e dos derivados N-desacetilados (quitosana), podem ser diferentes, tendo uma variação de 70 a 95% no seu grau de desacetilação, como a massa molar. Sendo assim, torna-se imprescindível determinar esses parâmetros, uma vez que as propriedades destes polissacarídeos estão intimamente relacionadas (CANELLA; GARCIA, 2001). Na Figura 3 pode ser observado o esquema da desacetilação da quitina.

Figura 3 - Esquema da desacetilação da Quitina, originando a Quitosana.



Fonte: Adaptado por STAMFORD, 2006.

A quitosana é um polímero natural que pode ser utilizada para desenvolver biomateriais como filmes, fibras, lâminas e géis; conservando suas propriedades biológicas, fisiológicas, e farmacológicas importantes. Apresenta resultados importantes como melhora do processo de cicatrização e ação antimicrobiana; sendo apontada como um suporte polimérico para liberação controlada de fármacos (AZEVEDO et al., 2007; KURITA, 2006).

Regielet al. (2013) refere que a ação antimicrobiana da quitosana está ligada ao seu grau de desacetilação; quanto mais alto for esse grau, maior o número de grupos protonados que se ligam às paredes dos microrganismos que estão carregados negativamente.

A quitosana tem se mostrado atraente como uma matriz para a liberação controlada de fármacos, pela sua decomposição por enzimas, e pelo resultado de sua degradação não apresentar substâncias tóxicas. A insolubilidade da quitosana em meio aquoso e em alguns solventes orgânicos limita seu uso como suporte de drogas. Também está sendo utilizada na produção de membranas

para hemodiálise, materiais odontológicos e biomembranas artificiais para a encapsulação de enzimas (MUZZARELLI, 1996).

Holanda; Fook; Swarnakar, (2014) avaliaram o uso de insulina com concentrações variadas incorporadas às membranas de quitosana para uso em via transdérmica ou oral, com liberação controlada do fármaco, propondo ser uma alternativa para o uso de insulina de maneira mais segura e confortável.

3.3 INSULINA

A insulina foi descoberta em 1921, sendo considerado um dos fatos mais importantes para medicina, mesmo com a ocorrência de efeitos colaterais devido às impurezas. Na década de 60, com uso de tecnologia mais avançada, obteve-se uma insulina mais pura, com redução dos efeitos colaterais; porém com o surgimento de tecnologia do DNA recombinante, que introduz um gen da insulina no genoma de uma bactéria e a mesma produziu a insulina idêntica a humana (PORTAL FATOR BRASIL, 2015).

Insulina é um hormônio secretado pelas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas, apresenta papel importante no armazenamento de excesso de energia. A secreção desta insulina associasse a abundância de energia; quando há um consumo de alimentos muito energéticos, há um aumento na produção desta insulina (GUYTON; HALL, 2011).

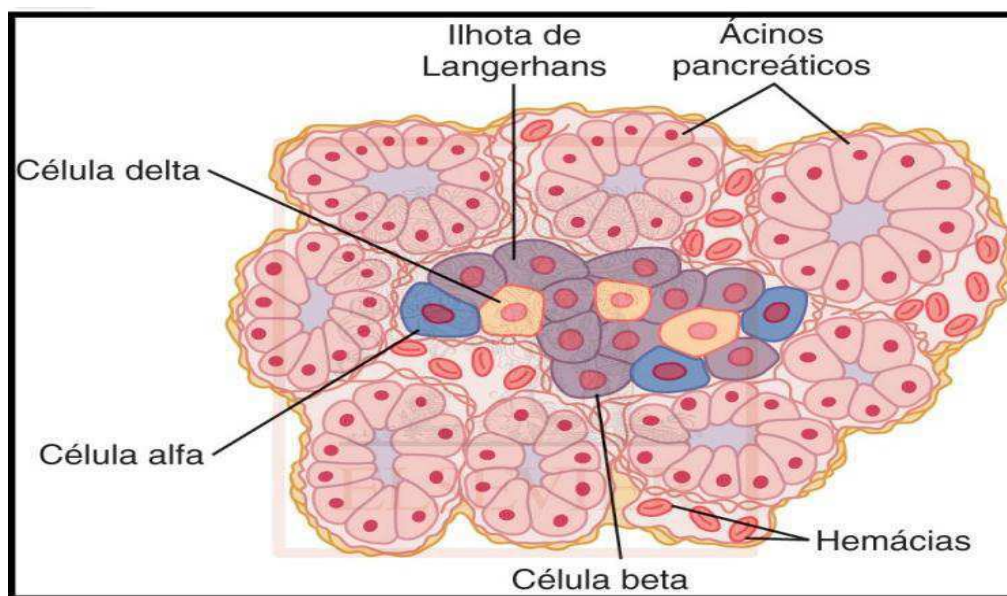
3.3.1 Formação da insulina

O pâncreas é formado por diferentes tecidos que além de secretar suco digestivo e glucagon também secreta a insulina, entre outros. A insulina é uma proteína pequena, com peso molecular de 5.808 (GUYTON; HALL; 2011). A Figura 4 ilustra as ilhotas de Langerhans.

O efeito mais importante da insulina é o aumento da velocidade de transporte da glicose para dentro das células musculares e do tecido adiposo. Sendo a glicose, captada e não catabolizada, é gerado glicogênio nos músculos e triglicerídeos no tecido adiposo (BAYNES; DOMINICZAK, 2007). Esses triglicerídeos são resultados dos carboidratos que não foram armazenados em forma de glicogênio, depois de

estimulados pela insulina são transformados em gordura e depositados em tecido adiposo (GUYTON;HALL, 2011) .

Figura 4 - Fisiologia das Ilhotas de Langerhans



Fonte: GUYTON; HALL, 2012.

O transporte da glicose para o interior das células hepáticas depende de mecanismos distintos. A permeabilidade da membrana celular do fígado é alta podendo a glicose difundir através dela nos dois sentidos, tanto para dentro como para fora das células. Na presença de insulina várias enzimas celulares são ativadas promovendo o encarceramento da glicose no interior das células. A insulina secretada na corrente sanguínea circula quase inteiramente como sua forma livre; sua vida plasmática é próxima de 6 minutos, desta forma grande parte é eliminada da circulação dentro de 10 a 15 minutos. A glicemia é o principal fator de controle da síntese e secreção da insulina; as células beta atuam como resposta à glicemia absoluta e na alteração da glicemia, podendo também ser estimuladas para liberação de insulina através dos aminoácidos, ácidos graxos, estimulação parassimpática do sistema nervoso, hormônios peptídicos e fármacos (RANG; DALE; RITER, 2007; GUYTON; HALL 2011; (VILLAR, 2013).

A insulina para iniciar os efeitos sobre as células-alvo, ela se liga a receptores protéicos da membrana, que levaram a efeitos subsequentes (VILLAR, 2013). A Tabela 1 ilustra os tipos de insulina fornecidos pela rede pública.

Tabela 1 - Tipos de insulina fornecida pela Rede Pública- SUS

INÍCIO		PICO	DURAÇÃO	POSOSLOGIA	ASPECTO
AÇÃO RÁPIDA					
REGULAR	30-60 MIN	2-3 HS	8-10 h	30 minutos antes das refeições	Cristalino
AÇÃO INTERMEDIÁRIA					
NPH	2-4 h	4-10 h	12-18 h	Recomendar dose noturna as 22 h	Turvo

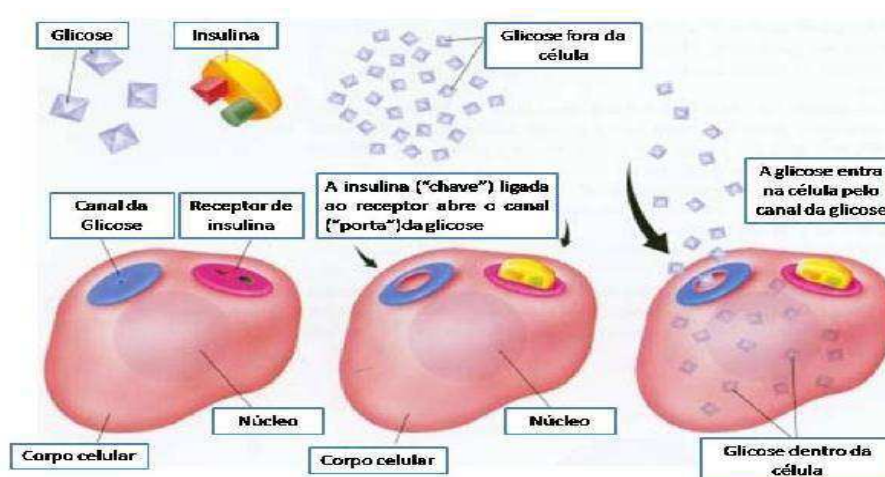
Fonte: BRASIL, 2014.

A via subcutânea é a via de administração usada para a insulina NPH, porém a via endovenosa e intramuscular poderá ser usada na insulina regular em caso que se necessite efeito imediato (BRASIL, 2014).

3.4 DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus é definida como uma alteração metabólica, que é caracterizada por aumento dos níveis de glicose e por um desordenamento no metabolismo dos carboidratos, das proteínas e gordura (BRASIL, 2014). A Figura 5 ilustra o Metabolismo da glicose.

Figura 5—Esquema do metabolismo da glicose.



Fonte: www.clinicaq.com.br, 2015

O metabolismo alterado de carboidratos, lipídios e proteínas ocorre devido à ausência de secreção de insulina, ou pela redução da sensibilidade dos tecidos a insulina (HALL, 2011).

O metabolismo de todos os nutrientes fica alterado, pois o efeito básico da falta de insulina ou da resistência à insulina no metabolismo altera a captação e a utilização da glicose pelas células. Tendo um aumento da concentração de glicose na corrente sanguínea e uma diminuição do uso celular da glicose levando a uma utilização maior dos lipídeos e das proteínas (GUYTON, 2011).

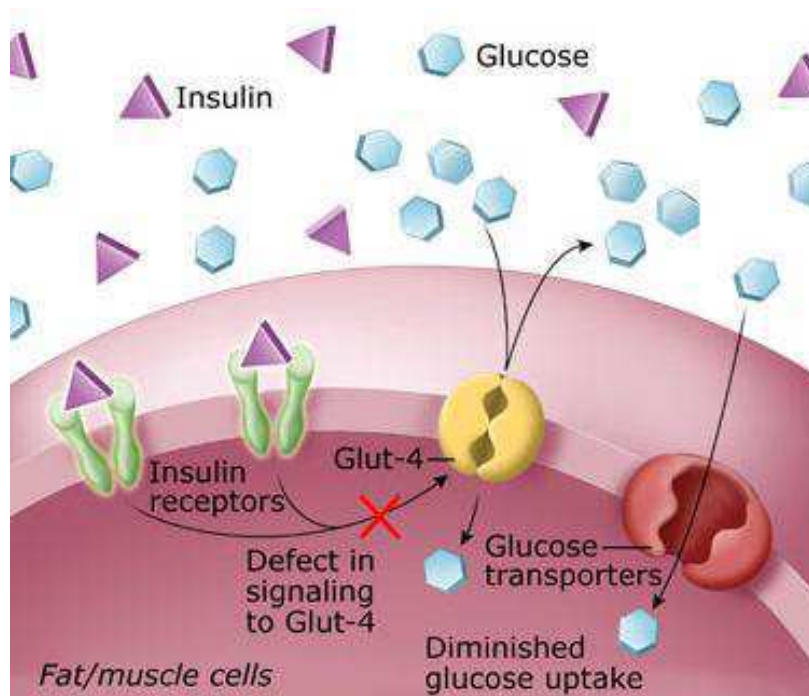
3.4.1 Classificação do Diabetes Mellitus

A *American Diabetes Association* (2007), alterou a classificação do diabetes tipos 1 e 2 que recebiam essa nomenclatura, como diabetes melito insulino-dependente (DMID) e diabetes melito não insulino-dependente (DMNID), respectivamente. Com este tipo de classificação tornava-se difícil diferenciar portadores com DMID de pacientes com DMNID que por vezes necessitavam de tratamento com insulina para controle da hiperglicemia. Ficando a classificação atual, tomando como referência a etiologia, em vez do modo de tratamento, colocando maior ênfase na história e nas características dos pacientes para determinar a etiologia e o tipo prováveis de diabetes.

O diabetes tipo I, é caracterizado pela destruição das células beta pancreáticas. Acredita-se que os fatores genéticos, imunológicos e possivelmente, ambientais combinados que contribuem para a destruição das células beta. O diabetes tipo II tem como característica a resistência à insulina e a secreção de insulina comprometida (BRASIL 2014).

A resistência à insulina é caracterizada pela redução tecidual à insulina, normalmente a insulina liga-se aos receptores nas superfícies celulares e inicia uma série de reações envolvidas no metabolismo da glicose. No diabetes tipo II, essas reações intracelulares estão diminuídas, tornando, assim, a insulina menos efetiva na estimulação da captação da glicose pelos tecidos e na regulação da liberação da glicose pelo fígado (GUYTON; HALL, 2011). A Figura 6 ilustra os receptores da glicose na célula sanguínea.

Figura 6 - Receptores da glicose na célula sanguínea.



Fonte: Associação de diabetes, 2007.

O Diabetes mellitus vem recebendo uma atenção maior devido a sua crescente prevalência e que habitualmente está associado à dislipidemia, à hipertensão arterial e a disfunção endotelial (BRASIL, 2014).

Villar (2013) mostra que a prevalência mundial dessa doença vem crescendo em proporções epidêmicas. Segundo estimativas da Federação Internacional de Diabetes, atualmente existe em torno de 285 milhões de diabéticos no planeta, cerca de 6,4% da população adulta, podendo aumentar para 440 milhões até 2030. Sendo essa patologia uma das principais causas de morte e complicações em diversos países.

3.4.2 Manifestações Clínicas do Diabete Melitus

Alguns sinais e sintomas são característicos do diabetes que podem sugerir o diagnóstico. As manifestações clínicas de diabetes incluem polifagia, polidipsia, perda de peso; poliúria; vulvovaginites de repetição; disfunção erétil. Em indivíduos assintomáticos devem ser avaliados fatores como idade acima de 45 anos,

obesidade, hipertensão, história familiar de diabetes, dislipidemia, diagnóstico prévio de diabetes gestacional (ADA, 2012).

Outros indivíduos podem apresentar sinais que surgem como consequência da hiperglicemia, levando o portador referir fadiga, fraqueza, alterações visuais súbitas, formigamento ou dormências nas mãos e pés, pele seca, lesões cutâneas ou feridas que apresenta cicatrização lenta, além de infecções recorrentes (BRASIL, 2014).

3.42 Complicações do Diabete Melitus

A história natural dos portadores de diabetes pode ser demarcada pelo surgimento de complicações crônicas, que podem ser microvasculares, específicas do diabetes, como a retinopatia, a nefropatia e a neuropatia diabética (GUYTON; HALL, 2011).

As complicações crônicas mais prevalentes são as úlceras de pés e a amputação de extremidades; são consideradas como mais graves e de impacto sócio econômico importante. Apresentam uma incidência anual de 2%, deixando o portador de diabetes exposto a um risco de 25% para desenvolver úlcera nos pés durante a vida (BOULTON, 2008). A Figura 7 ilustra o desenvolvimento de úlcera diabética em dez dias.

Figura 7 - Desenvolvimento de Úlcera Diabética



Fonte:The New England Journal of medicine, 2013.

Os níveis elevados de glicose na corrente sanguínea por anos são considerados fator condicionante na etiologia da neuropatia, que devido a sua

progressão os membros vão perdendo a sensibilidade e ficam dormentes. Além de levar a uma alteração na marcha e problemas nos pés e pernas (BRASIL, 2014)

Dados indicam que 50 a 75% das amputações de membros inferiores realizadas são em portadores de diabetes. Há evidências que mais de 50% dessas amputações sejam evitáveis. (ADA, 2003).

A Doença vascular periférica favorece a uma cicatrização incapaz contribuindo para uma complicação. O imunocomprometimento devido aos níveis elevados de glicose compromete a capacidade dos leucócitos para eliminar as bactérias (GUYTON; HALL, 2011).

3.5 LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO

O conceito de "liberação controlada" teve início em meados 1930 na Inglaterra através de experimentos, com a implantação de estrogênios em aves masculinas, observando então o aparecimento de características femininas. Logo após, outro cientista observou que implantes de estrogênios em mulheres, minimizaram sintomas da menopausa prematura (SHALABY;SHALABY, 2005).

A busca por um sistema de liberação de fármaco deve ser biocompatível, que mantenha uma liberação fácil, que as taxas de distribuição sejam controladas de forma que não mude a ação do fármaco. Materiais de origem natural como a quitosana vêm sendo usado topicamente nos sistemas de liberação de fármacos e com índices melhores em relação aos materiais de origem sintéticos, pois a degradação acontece de acordo com os sistemas fisiológicos (FELDMAN et al., 2003). É crescente a pesquisa nos sistemas de liberação controlada de fármaco, pois é necessário prolongar a liberação de fármacos (AZEVEDO, 2011).

Lee; Robinson, (2000) referem que qualquer sistema de administração de fármacos, consiste em colocar uma substância no organismo, e que tenha uma distribuição espacial e temporal, ou seja, é fornecer a substancia mantendo dentro de uma concentração esperada por um período de tempo. Desta forma um sistema de liberação controlada de fármacos tem o objetivo de manter a velocidade de liberação da droga que perpassem as barreiras biológicas e consigam atingir o órgão alvo.

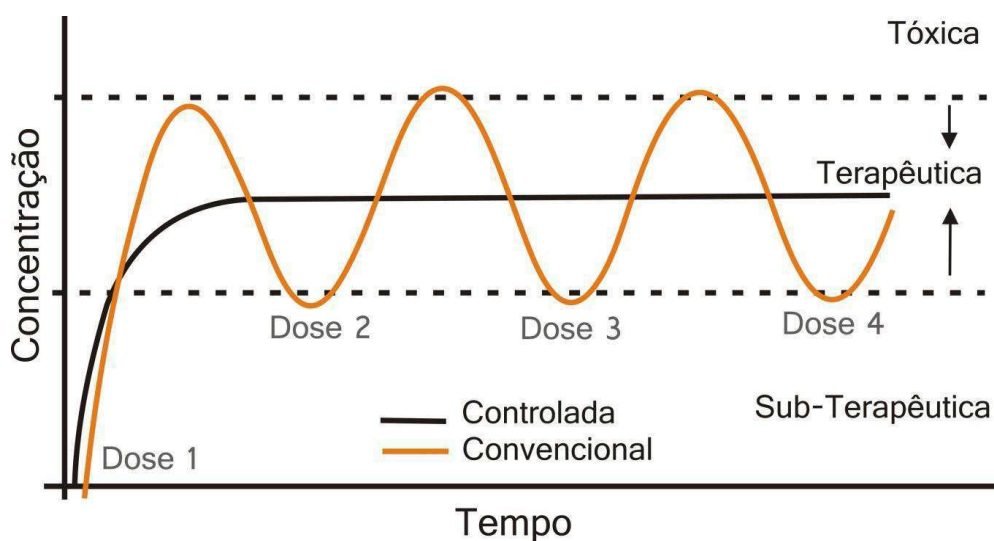
A introdução de um novo medicamento é mais abrangente do que a descoberta de uma substancia, ou seja, é necessário que ele tenha uma atividade direcionada.

A mesma importância que se dá a forma de como as moléculas seguirá do seu sitio de administração até o de ação. Desejando que o fármaco tenha uma biodisponibilidade no momento e no local necessário. (PANDIT, 2008).

Segundo Vitaline 2010, os sistemas de liberação controlada de fármacos, são definidos como um agente ativo que é liberado independente de fatores externos e que tenha uma cinética bem definida.

Desta forma, um sistema efetivo de liberação controlada de fármaco, caracteriza-se por manter um nível de liberação constante no sitio de sua aplicação. A Figura 8 ilustra um sistema de liberação de fármacos.

Figura 8 - Perfil de liberação de fármacos convencional e controlada em função do tempo.



Fonte: VITALINE, 2010.

Analisando o gráfico, percebe-se que a curva de liberação convencional, apresenta variações consideráveis na concentração do fármaco no plasma sanguíneo, podendo levar a uma intoxicação ou mesmo não ter o efeito desejável. No método de liberação controlada apresenta uma pequena variação na concentração do fármaco com o tempo, permitindo uma liberação constante do fármaco, tornando um efeito desejável.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAIS DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, localizado na Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, na Universidade Federal de Campina Grande/ UFCG.

4.2 MATERIAIS

- Quitosana fornecida na forma de pó pela SigmaAldrich – de médio peso molecular com grau de desacetilação entre 75- 85%.
- Ácido acético glacial P.A., fornecido pela Vetec.
- Insulina – Insulina Humana comercial líquida-NPH
- Tripolifosfato de Sódio ($\text{Na}_5\text{O}_{10}\text{P}_3$) - Sigma Aldrich®, massa molar (367,86).

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Membranas de Quitosana/ Quitosana-Insulina/ Quitosana-TPP/ Quitosana-Insulina-TPP.

A solução de quitosana com concentração 1%*m/v* foi obtida através da técnica de evaporação do solvente, pela adição de 10g de quitosana em pó em uma solução de 1000 mL de ácido acético glacial 1% *v/v*, sob agitação constante em agitador mecânico – Nova Ética modelo M 110-VER-4K3 por um período de 2h em temperatura de 40° a uma velocidade de 620 rpm.

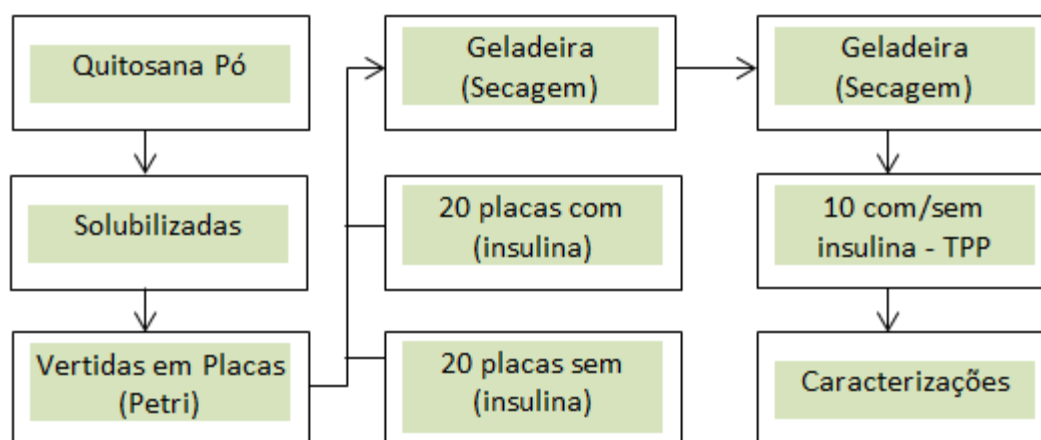
Posteriormente foram colocados 10 mL em 40 placas de Petri de 5,5 cm; em 20 destas amostras incorporamos 2ml de insulina, misturando a solução polimérica com a ajuda do bastão de vidro de forma lenta por 1 min.

A secagem dos filmes foi realizada usando-se a técnica de evaporação de solvente, em temperatura entre 2° e 8° C (refrigerador), por 7 dias, sem neutralização.

Posteriormente a secagem, 10 amostras com e sem insulina foram colocados numa placa de petri de vidro contendo solução de tripolifosfato de sódio 2% (m/v), pH 8,5, por um período de 30 minutos. Em seguida, foram realizadas diversas lavagens com água destilada a fim de alcançar o pH de 6,0 a 6,2. As medidas do pH foram realizadas em um pHmetro digital previamente calibrado com as soluções padrão. Em seguida as membranas foram acondicionados na geladeira com temperatura entre 2° e 8° novamente por 7 dias. Em seguida todos as membranas foram separados, identificados e submetidos aos processos de caracterização.

A Figura 9 ilustra de maneira simplificada o fluxograma da elaboração das membranas desde o seu processo inicial até a sua caracterização.

Figura 9 – Fluxograma da elaboração das membranas



Fonte: Própria

A Tabela 2 ilustra as codificações das respectivas amostras, quitosana insulina reticulada com tripolifosfato (QIR).

Tabela 2 - Denominação das amostras.

CÓDIGO	AMOSTRAS
Q1%	Quitosana 1%
QI1%	Quitosana 1% com insulina
QR	Quitosana 1%Reticulada com TPP
QIR	Quitosana 1%com insulina e reticulada com TPP

Fonte: Própria

4.4 CARACTERIZAÇÕES

As membranas foram caracterizadas por Difração de raios-X (DRX), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Tensão Superficial e Intumescimento.

4.4.1 Difração de raios X (DRX)

As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho XRD-6000 Shimadzu, utilizando radiação $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å), tensão de 40 kV e corrente 30 mA. Os filmes foram examinados em um intervalo de 2θ entre 1,5 e 40,0 graus a uma velocidade de $2^\circ/\text{min}$.

4.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises utilizando a técnica de espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier dos filmes foram realizadas em temperatura ambiente e o equipamento utilizado foi um Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi usada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nos filmes utilizando a faixa de varredura de 4000 a 600 cm^{-1} .

4.4.3 Microscopia Ótica (MO)

Para materiais que são opacos a luz visível, como é o caso dos metais, da maioria dos cerâmicos e polímeros, somente a superfície pode ser observada e deve ser criteriosamente preparada de maneira que venham a revelar a microestrutura (FOOK, 2005). A microscopia Ótica foi utilizada para avaliação da morfologia das membranas.

4.4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para realização das análises de microscopia eletrônica de varredura foram retirados fragmentos de aproximadamente 0,5cm² de cada filme. Foi utilizado microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo TM-1000, marca Hitachi, com aumento de 5000x, profundidade de foco de 1 mm, resolução de 30 nm, 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), sem recobrimento metálico, mesmo em amostras não condutoras.

4.4.5 Tensão Superficial por Medidas do Ângulo de Contato (molhabilidade)

Essa técnica consiste no cálculo da tensão superficial do filme baseada na análise do formato da gota. O ângulo de molhabilidade entre a gota de água destilada com tensão superficial conhecida e a superfície sólida depende da relação entre as forças adesivas, que fariam a gota se espalhar sobre a superfície. Na realização desta análise foi utilizado um goniômetro desenvolvido por técnicos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG e encontra-se instalado no CERTBIO.

4.4.6 Ensaio de Intumescimento

Este ensaio foi realizado em solução de tampão fosfato salino (PBS). Triplicatas do material foram analisados, seco, inicialmente pesados, em seguida foram colocadas em imersão em PBS, por 1 hora. A medida de massa foi feita 1 hora após as amostras dos filmes serem colocados em solução. O grau de intumescimento foi calculado pela equação 1.

$$\%I = \left[\frac{m_f - m_i}{m_i} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde: m_i = massa inicial

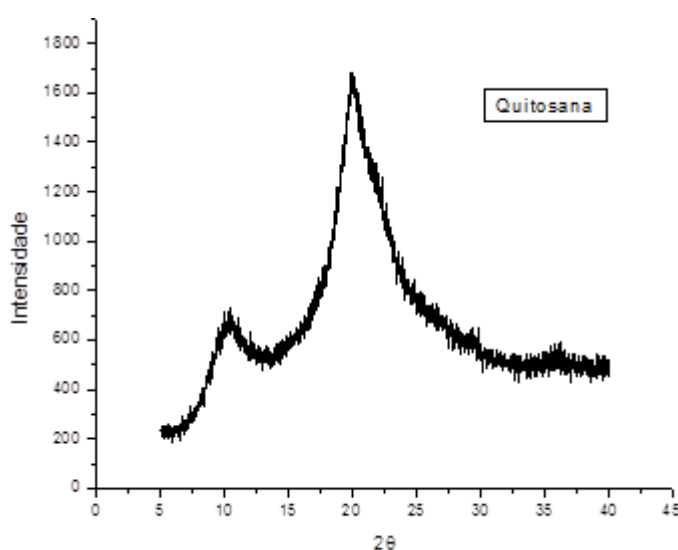
m_f = massa intumescida

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

O difratograma de Raios X obtido do pó de quitosana está ilustrado na Figura 10. Observou-se um comportamento típico de polímeros semicristalinos, com picos de bases largas iniciados aproximadamente entre 7º e 10º e entre 17 e 20º, condizentes com os difratogramas apresentados por Barbosa (2011) e Lima (2010).

Figura 10 - Difratograma de Raios X do pó de quitosana.

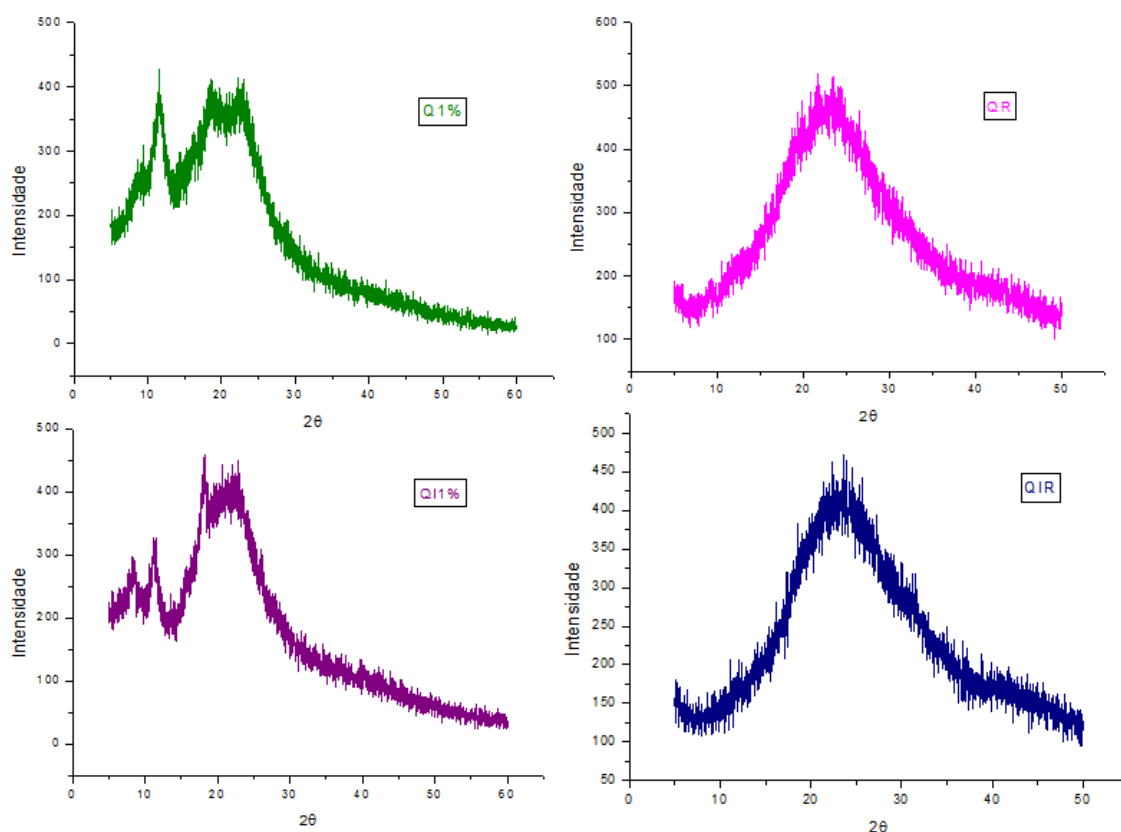


Fonte: Própria

A quitosana tem um perfil semicristalino proveniente das fortes interações intra e intermolecular, caracterizado pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, álcool, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana. As fortes interações provem uma certa organização à estrutura cristalina da quitosana (URAGAM; TOKURA, 2006).

A Figura 11 ilustra os difratogramas das membranas contendo quitosana 1% (Q1%), quitosana 1% -insulina (QI1%), quitosana reticulada com tripolifosfato (QR), quitosana insulina reticulada com tripolifosfato (QIR).

Figura 11 -Difratogramas de Raios X das Membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.



Fonte: Própria

O difratograma de Raios X da membrana de quitosana a 1% sem neutralizar, continua apresentando uma estrutura típica de um polímero semicristalino com dois picos de reflexão (Figura 10, Q1%), característico dos difratogramas da quitosana corroborando com Aimoli (2007). Entretanto nota-se que ocorreu um estreitamento no pico em torno de 10° o que indica que a quitosana com o ácido acético tem uma tendência de se tornar mais cristalina.

Ao analisar o difratograma da membrana quitosana com insulina (Figura 11, QI1%), constatou-se que a insulina diminuiu discretamente a cristalinidade da quitosana tornando a membrana mais amorfa corroborando com o estudo de Holanda (2011).

Já na membrana contendo tripolifosfato ocorreu uma diminuição na cristalinidade, sugerindo que o TPP provoca redução da cristalinidade da quitosana. Resultado semelhante foi obtido por Laus et al (2006) trabalhando com microesferas de quitosana reticulada com TPP. O Tripolifosfato funciona como agente reticulante

iônico e as reticulações iônicas são caracterizadas por produzir ligações reversíveis (HOLANDA, 2011).

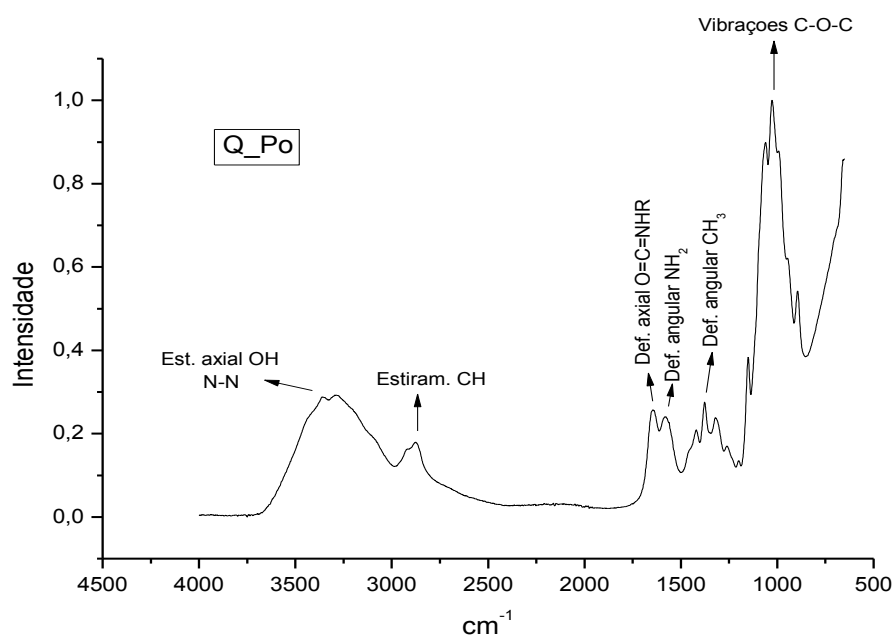
Quando observado o difratograma da quitosana – Insulina e tripolifosfato (QIR) verifica-se uma redução na cristalinidade, tornando assim a membrana com um perfil mais amorfo. O ensaio de DRX confirmou a interação química ocorrida entre a quitosana, a insulina e o TPP, observada no ensaio de FTIR.

5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).

A técnica de FTIR foi proposta como uma maneira possível para avaliar se ocorreu a interação entre os grupos funcionais das moléculas que compõem essas substâncias. Neste caso estudaram-se membranas de quitosana com TPP e Insulina.

Analisando o espectro de infravermelho obtido do filme de quitosana verificou-se que ele está de acordo com Barbosa (2011) e Ponciano (2010), (Tabela 3), pois o espectro apresentou todas as absorções relativas à quitosana podendo ainda afirmar que a mesma não é 100% desacetilada, pois possui uma banda característica da amida ($O = C - NHR$), como pode ser visualizado na Figura 12.

Figura 12 - Espectros da Quitosana em Pó



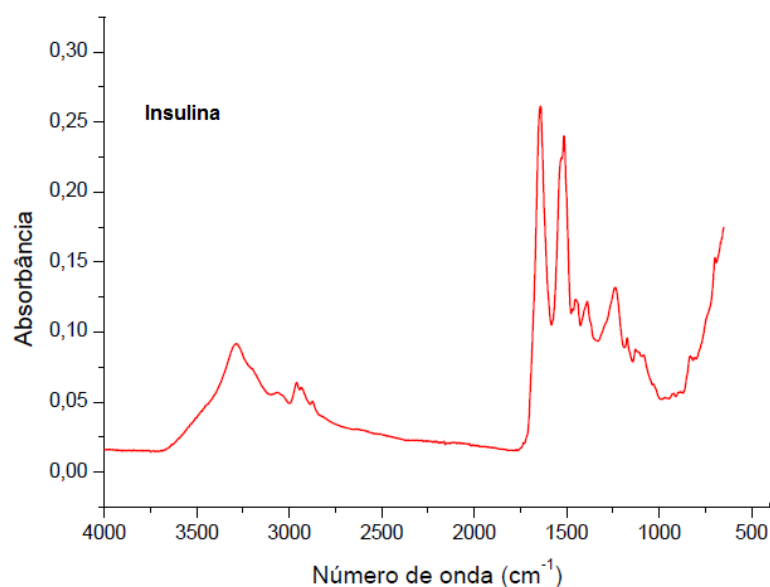
Fonte: Própria

Tabela 3 - Bandas de absorção do pó de quitosana.

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH_2
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH_2 e CH_3
1652	Deformação axial de RHN-C=O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH_2 (amina)
1423 e 1319	Deformação angular de O-H e deformação angular de C-H do anel glicosídico
1377	Deformação angular do C-H de CH_3
1150,1062 e1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: PONCIANO, 2010.

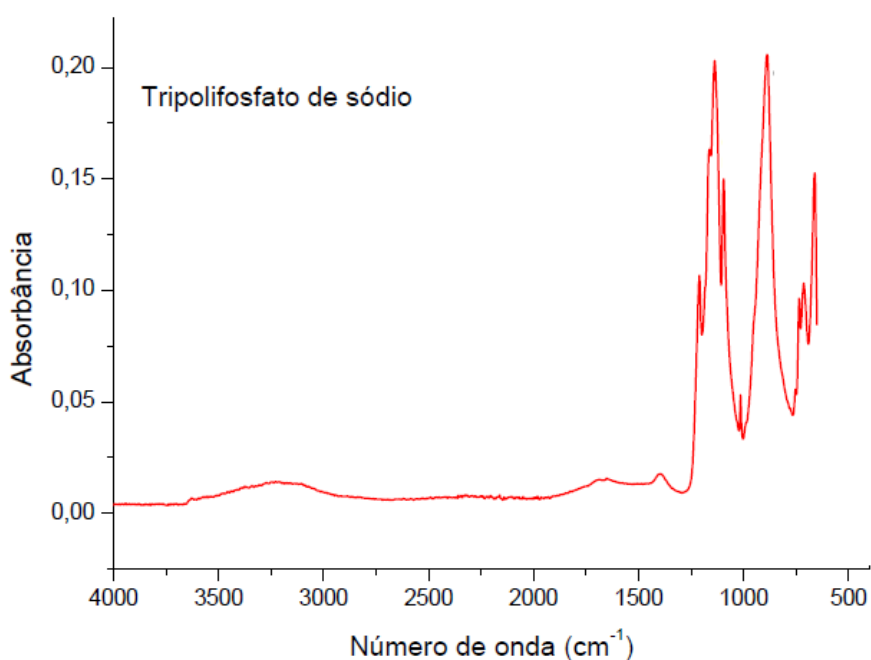
O espectro de FTIR da insulina (Figura 13) revela duas intensas bandas de absorção referentes à amida I em 1642 cm^{-1} e a amida II em 1512 cm^{-1} . Sarmento et al (2006) encontraram resultados semelhantes em seu estudo sobre desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de polissacarídeos contendo insulina. No espectro da insulina do referido estudo, bandas em 1650 cm^{-1} (Amida I) e em 1540 cm^{-1} (Amida II) foram descritas como bandas características de espectros de proteínas.

Figura 13 - Espectro da Insulina

Fonte: Própria

Observando-se a Figura 14, referente ao espectro de FTIR do Tripolifosfato de Sódio (TPP), as seguintes bandas características foram percebidas: 1210 cm^{-1} (estiramento $\text{P}=\text{O}$), 1137 cm^{-1} (vibrações de estiramento simétricas e antisimétricas no grupo PO_2), 1095 cm^{-1} (vibrações de estiramento simétricas e antisimétricas no grupo PO_3), 888 cm^{-1} (estiramento antisimétrico $\text{P}-\text{O}-\text{P}$). Esses resultados corroboram os encontrados por Gierszewska-Drużyńska e Ostrowska-Czubenko (2010) em seu estudo sobre o efeito de interações iônicas nas propriedades térmicas de membranas de quitosana.

Figura 14 - Espectros do TPP

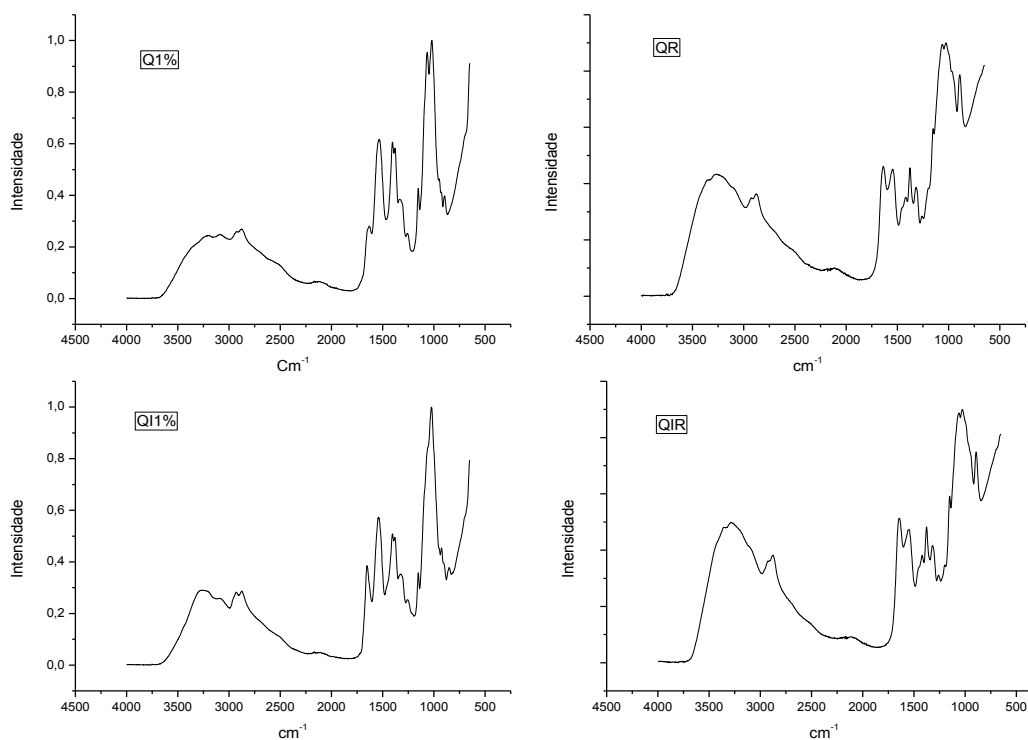


Fonte: Própria

A Figura 15 ilustra o espectro de infravermelho das membranas contendo quitosana 1% (Q1%), quitosana 1% -insulina (QI1%), quitosana reticulada com tripolifosfato (QR), quitosana insulina reticulada com tripolifosfato (QIR).

Observando os espectros Q1% e QI1% percebeu-se, um aumento da intensidade dos picos nas regiões entre 1250 e 1600, este fato pode está relaciona ao acetado de quitosana, já que as membranas não foram neutralizadas. Já nos espectros das membranas com o TPP foi possível observar uma diminuição destas bandas, isso devido a interação entre a quitosana e o agente reticulante, TPP.

Figura 15 - Espectrogramas das Membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.



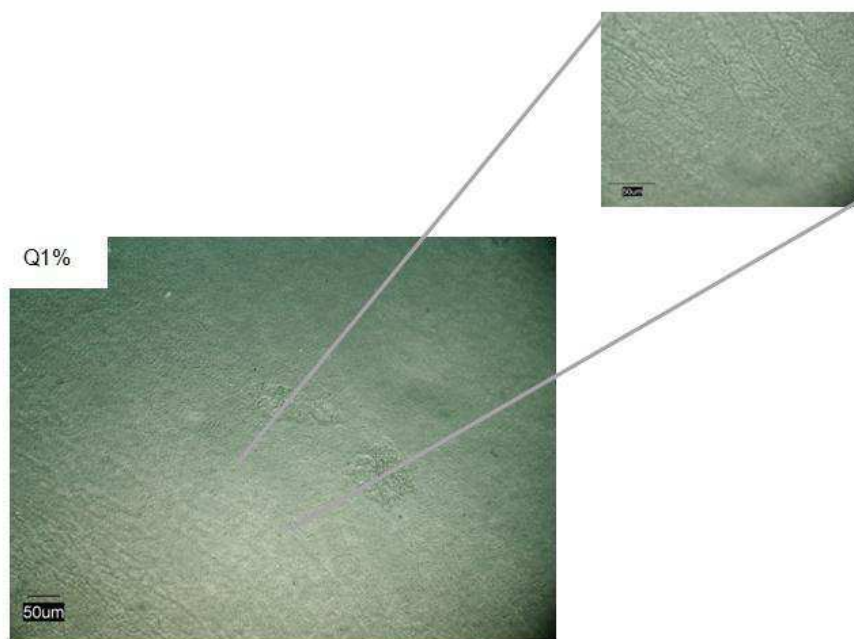
Fonte: Própria

Em seus estudos Boonsongrit, Mueller e Mitrejev (2007) estudando a interação entre quitosana e alguns fármacos encontraram, nos espectros de FTIR de micropartículas de quitosana-insulina, bandas de quitosana sobrepostas com insulina resultando em um aumento de intensidade das bandas de carbonila (1654 cm^{-1}) e amina (1540 cm^{-1}), comportamento atribuído a interação entre a quitosana e a insulina.

5.3 MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

Na Figura 16, pode-se verificar a imagem de uma superfície uniforme, sem presença de poros caracterizando um material denso. Estes resultados corroboram com Holanda (2011) que sintetizou e caracterizou membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina; Ponciano (2010) que desenvolveu membranas bioabsorvíveis de quitosana para aplicação como biomaterial e Fidelis (2010) que obteve filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial.

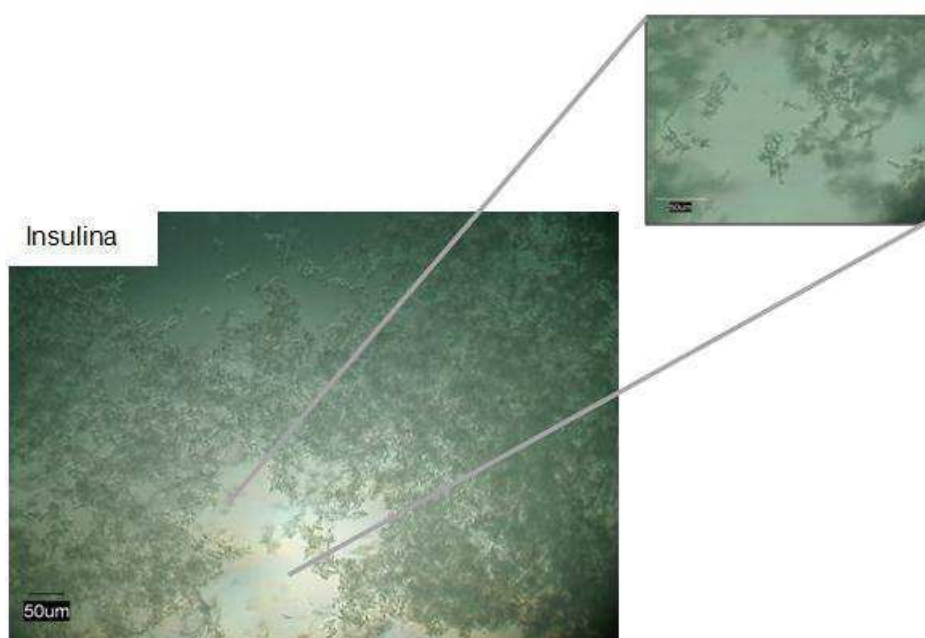
Figura 16 – Micrografia da membrana de quitosana com aumento de 350x e 700x.



Fonte: Própria

Nos resultados de MO foi possível observar a estrutura e organização das partículas de insulina, que lembram o aspecto de espículas com tendência a formação de aglomerados conforme Figura 17.

Figura 17 – Micrografia óptica da insulina com aumento de 350x e 700x.

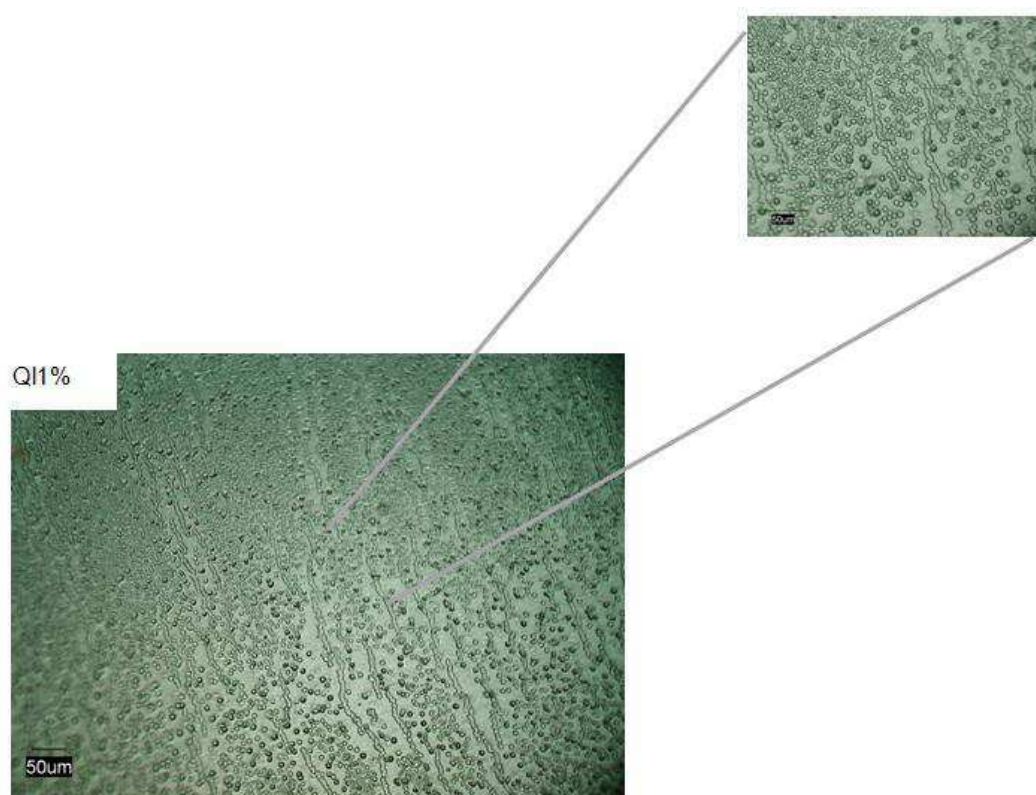


Fonte: Própria

Observando-se a membrana com a incorporação da insulina constata-se a dispersão de uma nova fase na matriz de quitosana quando comparado à imagem da Figura 17. São encontradas na Figura 18 estruturas esféricas distribuídas em toda superfície da amostra que tentem a formação de aglomerados de aspectos filamentosos. Este comportamento de aglomeração pode ser atribuído a presença da insulina que foi encapsulada pela matriz polimérica, a quitosana, já que também foi verificado o mesmo comportamento na Figura 16.

A alteração da morfologia da superfície da membrana é um indicativo que a insulina está presente no material obtido e que, possivelmente a acidez não interferiu na estrutura da mesma.

Figura 18 – Micrografia óptica da membrana de quitosana com insulina com aumento de 350x e 700x.



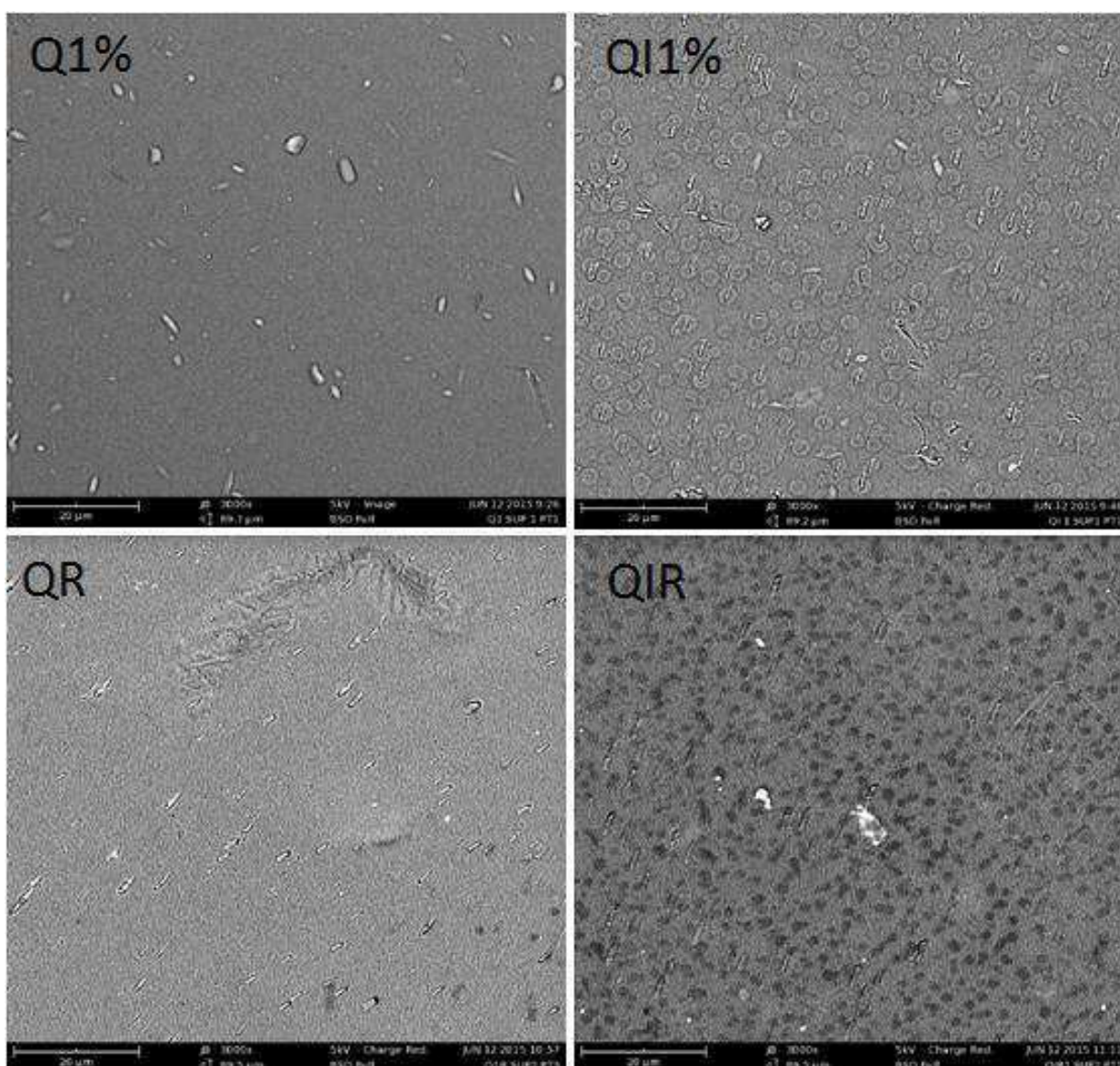
Fonte: Própria

A morfologia de superfície da membrana de quitosana/ insulina, na qual se observa a presença de estruturas esféricas de tamanho uniforme, foi confirmada pelo ensaio de microscopia eletrônica de varredura.

5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Na microscopia eletrônica de varredura foi analisada a morfologia das superfícies das membranas de quitosana (Q1%), de quitosana com insulina (QI1%), de quitosana reticulada (QR) e de quitosana com insulina reticulada, como ilustrado na Figura 19.

Figura 19 – Micrografia das membranas Q1%, QI1%, QR e QIR. Aumento de 3000x.



Fonte: Própria

Ao analisar a morfologia da membrana de quitosana pura (Q1%), sem a introdução de insulina, observa-se uma superfície uniforme, lisa e plana, sem a

presença de poros visíveis, caracterizando as membranas como densa. Este perfil também foi encontrado por Holanda (2011) e Lima (2010) que desenvolveu sistema de liberação controlada fármaco utilizando filmes de quitosana com insulina. Já na membrana de quitosana com insulina (QI1%) são observadas estruturas esféricas de tamanho uniforme que corroboram com as imagens observadas por MO da Figura 18. As mesmas estruturas foram observadas nas membranas de quitosana com insulina que foram reticuladas (QIR), sendo que a reticulação promoveu a diminuição do tamanho das esferas e em contrapartida aumentou a densidade destas.

Comparando as membranas de quitosana sem (Q1%) e com reticulação (QR), observou-se que o processo de reticulação promoveu o enrugamento da superfície e conseqüentemente, diminuição da estrutura (membrana).

5.5 TENSÃO SUPERFICIAL POR MEDIDAS DO ÂNGULO DE CONTATO (MOLHABILIDADE)

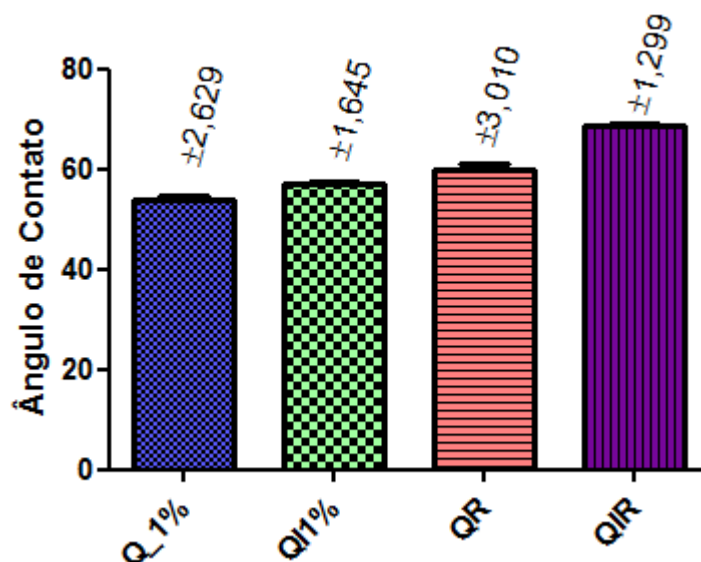
A Figura 20 ilustra o resultado do teste de molhabilidade das membranas contendo quitosana 1% (Q1%), quitosana 1% -insulina (QI1%), quitosana reticulada com tripolifosfato (QR), quitosana insulina reticulada com tripolifosfato (QIR).

. Foram utilizadas três amostras de cada tipo de membrana e realizado cinco medições em cada uma delas. Os resultados expressos na Figura 20 foram obtidos a partir da média dos ângulos de contatos encontrados nas amostras.

De acordo com os resultados, verifica-se que todas as membranas apresentaram as medidas de ângulo de contato menor que 70° o que indica hidrofiliabilidade. Este resultado era desejável devido às membranas serem confeccionadas para um posterior contato com o corpo humano.

Observa-se na Figura 20 que a presença da insulina e do tripolifosfato nas membranas de quitosana alteraram os valores médios de ângulo, ou seja com o aumento acrescido deles diminuiu a molhabilidade, logo verificou-se que na membrana QIR, a molhabilidade da membrana foi reduzido.

Figura 20 - Medida de ângulo de contato para os diferentes tipos de membranas.



Fonte: Própria

5.6 INTUMESCIMENTO

Na Tabela 4, observa-se o grau de intumescimento e seus respectivos desvio das amostras de quitosana 1% (Q1%), quitosana 1% -insulina (QI1%), quitosana reticulada com tripolifosfato (QR), quitosana insulina reticulada com tripolifosfato (QIR).

Tabela 4 – Grau de intumescimento das membranas Q1%, QI1%, QR e QIR.

Amostra	Grau de Intumescimento	Desvio Padrão
Q1%	2175,18	±49,63
QI1%	1432,57	±143,3
QR	456,47	±9,21
QIR	251,58	±8,43

Fonte: Própria

Analisando os dados da Tabela 4, verifica-se que o grau de intumescimento da amostra de quitosana 1% sem neutralizar foi o mais elevado. Com a inserção da insulina ocorreu uma diminuição no grau de intumescimento assim como na amostra com

tripolifosfato. A amostra QIR foi a de menor grau de intumescimento. Quanto menor o grau de intumescimento menor a absorção de água pela amostra. Este resultado corrobora com o resultado de ângulo de contato visto que a amostra QIR foi a menos hidrofílica.

CONCLUSÕES

Os resultados de DRX demonstraram que a não neutralização das membranas atribuiu as mesmas um perfil mais cristalino quando comparado ao perfil da quitosana em pó. Este fato ocorreu devido a formação do acetato de quitosana. Foi observado também que, tanto a insulina quanto a reticulação com tripolifosfato de sódio diminuiu o perfil cristalino das mesmas.

Nos resultados de FTIR percebeu-se, um aumento da intensidade dos picos nas regiões entre 1250 e 1600, este fato também está relacionado com a presença do acetado de quitosana, já que estas variações só ocorreram nas membranas que não foram neutralizadas. Já nos espectros das membranas com o TPP foi possível observar uma diminuição destas bandas, isso devido a interação entre a quitosana e o agente reticulante, TPP.

Nos ensaios de MO e MEV foi possível confirmar a presença da insulina nas membranas, encapsulada pela quitosana.

No ensaio de molhabilidade a presença da insulina e do agente reticulante proporcionou uma diminuição da molhabilidade das membranas quando comparado de quitosana sem a insulina e o agente reticulante. Já no de intumescimento ocorreu redução tanto por efeito da adição da insulina quanto da reticulação, sendo perceptível o efeito, principalmente, pela adição da insulina, evidenciando uma interação dos constituintes e confirmado pelos demais ensaios realizados

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. DIAGNOSIS and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2007 Jan;30Suppl 1:S42-7..

ADA - American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2012; 35(suppl):S64-71

AIMOLI, C. G. Investigação da Adequação de Membranas de Quitosana Quimicamente Modificadas para Uso como Biomaterial: Estudo da Calcificação *in vitro*. 2007. 187f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Química. 2007.

ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção em água em filmes finos de quitosana processadas em diversas concentrações. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

AZEVEDO, J.R. et. al. Physical and chemical characterization insulin-loaded chitosan-TPP nanoparticles. *J Therm Anal Calorim*, 2011.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK M. V. L.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.2.3, p. 27-34, 2007.

AZEVEDO, V.V.C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.2.3, p. 27-34. 2007.

BARBOSA, R. C. Compósitos quitosana/carbonato de cálcio para utilização em cânulas de fístula ruminal. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande, 2011, 119 f.

BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. *Bioquímica Médica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

BEZERRA, A.M. Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular. 2011. Tese de mestrado – Universidade de São Paulo. SP.

BOONSONGRIT, Y.; MUELLER, B.W.; MITREJEV, A. Characterization of drug-chitosan interaction by H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 69, p.388-395, 2008.

BOULTON, A. J. M. et al. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the Task Force of the Foot Care Interest Group of the American Diabetes Association, with endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists. *Diabetes Care*, Alexandria, v. 31, p.1679-1685, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36)

CALLISTER JR., W.D. Ciência e engenharia de materiais. Uma introdução. 5ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

CANELA, K. M. N.C.; GARCIA, R.B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel: influência do método de preparação e do solvente. Química Nova, v.24, n.1, p.13-17, 2001.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 2013. ISSN 0014-3057

FELDMAN, D. et al. Biomaterial-Enhance Regeneration for Skin Wounds. In: WISE, D.L. *Biomaterials and Bioengineering Handbook*. Cap. 36. p.807-836, 2003.

FIDÉLES, T. B. Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010.

FOOK, M. V. L. Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial. 2005. 128f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química. Araraquara, 2005.

GIERSZEWSKA-DRUZZNSKA, M.; OSTROWSKA-CZUBENKO, J. The Effect of ionic crosslinking on thermal properties of hydrogel chitosan membranes. *Progress on Chemistry and Application of Chitin*. v. 15, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2011

HOLANDA, A. L. Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2011, 113 p.

HOLANDA ADRIANA LIMA, FOOK MARCUS VINÍCIUS LIA, SWARNAKAR RAMDAYAL. Preparation and Characterization of Chitosan-Insulin-Tripolyphosphate Membrane for Controlled Drug Release: Effect of Cross Linking Agent. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2014, 5, 211-219.

http://www.clinicaq.com.br/site/index.php?option=com_content&task=view&id=163&Itemid=28, 2015. Acesso em 10 de fevereiro de 2015.

KRAJEWSKA, Bárbara. Application of chitin-and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, v.35, p.126–139, 2004

KURITA ,K.; KAJI, Y.; MORI, T.; NISHIYAMA, Y. Enzymatic degradation of b-chitin: susceptibility and the influence of deacetylation. *Carbohydrate Polymers*, v.42, p.19-21, 2000.

LARANJEIRA,M.C.; FAVÉRE,V.T. Quitosana: Biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. *Química Nova*, v.32, p.672-678, 2009.

LAUS, R.; LARANJEIRA, M. C. M.; MARTINS, A. O.; FAVÉRE. V. T.; PEDROSA R. C.; BENASSI, J. C.; GEREMIAS R. Microesfera de quitosana Reticuladas com Tripolifosfato Utilizadas para Remoção de Acidez, Ferro (III) e Manganês (II) de Águas Contaminadas pela Mineração de Carvão. *Quím.Nova*, vol.29, nº 1, 2006.

LEE, T. W.; ROBINSON, J. R. Controlled-release drugdelivery systems. In: GENARO, A. R. ed. *Remington: the science and practice of pharmacy*. 20.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.47, p.903-929.

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

MELO, F. M. A. D. Uso da Quitosana como surfactante policatiônico paramodificação de bentonita. 2010. 56f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB..

MORATO; A.; NARVAÉZ,I.; TORIBIO;C. *Ciencias de lasaludel futuro de losbiomateriales: tendencias tecnológicas a medio y largo plazo*. Madri: Cyan, Proyectos e ProduccionesEditoriales, 2004.

MUZZARELLI, R. A. A. Chitosan-baseddietaryfoods. *Carbohydr. Polym.*, v. 29, p. 309-316, 1996.

ORÉFICE, R.L., PEREIRA, M.M., MANSUR, H.S. *Biomateriais – fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 1.ed. 2012

PANDIT, N.K. *Introdução às Ciências Farmacêuticas*. Porto Alegre: Artmed, 2008.

PONCIANO, J. J. In: *Desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis com variado nível de orientação molecular para aplicação como biomaterial*. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010

PORTAL FATOR BRASIL. A evolução da insulina humana e a revolução no tratamento da diabetes. Disponível em: <http://www.revistafatorbrasil.com.br>. Acesso em 20.05.2015.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. *O Pâncreas endócrino e o controle da glicemia*. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

REGIEL, A.; IRUSTA, S.; KYZIOL, A.; ARRUEBO, M.; SANTAMARIA, J. "Preparation and characterization of chitosan-silver nanocomposite films and their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*". *Nanotechnology*, 2013. DOI: 10.1088/0957-4484/24/1/015101.

SANTOS, R. M. M. O futuro aponta para novas formas de administrar medicamentos. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=102. Acesso em 12 janeiro. 2015.

SARMENTO, B.; RIBEIRO, A.; VEIGA, F.; FERREIRA, D. Development and characterization of new insulin containing polysaccharide nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. v. 53, p.193-202, 2006.

SHALABY, M.; SHALABY W.S. Implantable Insulin Controlled Release System for treating Diabetes Mellitus. In; SHALABY W.S.; BURG K Absorbable biodegradable polymers. CRS PRESS: Boca Raton London, New York, Washington, p 206-226, 2005.

SITIO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA- IBGE .
Disponível em
<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv93322.pdf>
<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv93322.pdf>.
Acesso em 02/06/2015.

SPIN-NETO, R. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.37, p. 155-161, 2008.

STAMFORD, T, C, M, Produção, caracterização e atuação anticariogênica de quitosana extraída de *Cunninghamella elegans* UCP 542. 153f. Tese (doutorado em ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco- UFPE- Recife, 2006.

UENO H, MURAKAMI M, OKUMURA M, KADOSAWA T, UEDE T, FUJINAGA T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. *Biomaterials*. 2001;22:1667-73.

URAGAMI T.; TOKURA S. *Material Science of Chitin and Chitosan*, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

VILAR, Lucio. Kater, Claudio Elias. *Endocrinologia Clínica*. 2013. Guanabara Kogan Rio de Janeiro

VITALINE C. GERBRAS. *Química Farmacêutica*. Disponível em: http://www.gerbras.com.br/produtos/vitaline_c.asp. Acesso em 23 nov. 2010.

WILLIAM, D. F. On the Mechanisms of Biocompatibility. *Biomaterials*. Elsevier, 2008 p. 2941-2953.