

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE ODONTOLOGIA

ANTONIO ALBERTO SOUZA NETO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS
POROSAS DE QUITOSANA / *CISSUS VERTICILLATA* (L.) Nicolson & C.E.
Jarvis

PATOS - PB
2017

ANTONIO ALBERTO SOUZA NETO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS
POROSAS DE QUITOSANA / *CISSUS VERTICILLATA* (L.) Nicolson & C.E.
Jarvis

Trabalho de conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia.

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

PATOS - PB
2017

ANTONIO ALBERTO SOUZA NETO

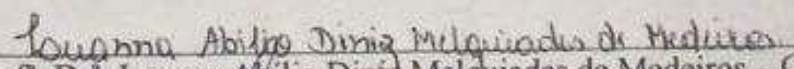
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS
POROSAS DE QUITOSANA / *CISSUS VERTICILLATA* (L.) Nicolson &
C.E. Jarvis

Trabalho de conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia.


Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luanna Abílio Diniz
Melquiades de Medeiros

Aprovado em: 05/12/17

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Luanna Abílio Diniz Melquiades de Medeiros - Orientadora
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG


Prof. Dr. João Nilton Lopes e Souza - 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG


Prof.^a Dr.^a Maria Angélica Satyro Gomes Alves - 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S237d Souza Neto, Antonio Alberto
Desenvolvimento e caracterização de membranas porosas de quitosana –
Cissus verticillata (L.) Nicolson & C.E. Jarvis / Antonio Alberto Souza
Neto. – Patos, 2017.
42f.; il.;Color.
Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2017.
"Orientação: Profa. Dra. Luanna Abílio Melquíades de Medeiros.”
Referências.
1. Quitosana. 2. Plantas medicinais. 3. Membranas. I. Título.

CDU 616.314

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por me guiar, proteger, e dar-me forças para conseguir superar todos os obstáculos que passei e que ainda irei passar.

Agradeço a meus pais **Valdemar** e **Vetânia**, por toda a educação que me deram, por ensinarem a mim, minhas irmãs e sobrinha a termos sempre humildade. Vocês são minhas inspirações, exemplos de coragem, fé, amor e paciência. Muito obrigado por vocês estarem sempre me apoiando em todas minhas decisões, esta vitória é nossa, pois superamos inúmeros obstáculos juntos, só nós sabemos e temos dimensão dessa conquista.

Agradeço a minha namorada, **Mariana**, por todo o apoio, paciência, dedicação que teve comigo ao longo de desses anos, exemplo de humildade, companheirismo, você irradia a mim e a todos que estão a sua volta com esse coração muito bonito. Que possamos viver infinitos momentos juntos.

Agradeço as minhas irmãs **Sabrina**, **Sabrcia**, **Suéllen**, por estarem sempre comigo, me apoiando sempre, mesmo a quilômetros de distância. Que nossa harmonia seja sempre assim, que não nos falte carinho e amor. Agradeço também a minha sobrinha **Maria Fernanda**, que veio para encher de mais amor nossa família, que me fez descobrir um novo sentimento, que é o amor de tio. Agradeço também a meu cunhado **Antônio Cumbuca**, por todo o apoio.

Agradeço a meus avós, maternos: **Antônio Alberto** e **Vera Lúcia**, e paternos: **Izeneuza (Mãezinha)**, por todo o apoio, carinho que só avô e avó conseguem dar, vocês são inspirações para todos os seus netos.

Agradeço ao amigo **Domingos Buião** (In memoriam) por todo o apoio, por ter sido uma pessoa magnífica e que está sempre em minha memória.

Agradeço a meu grande amigo - irmão **Washington**, grande irmão da vida, 19 anos de amizade, que nossa irmandade continue sempre assim, um apoiando o outro em todas as situações. Agradeço também a meus amigos - irmãos **Helder**, **Wellington**, **Marcos**, **Nicolas**, **Valdemir**, **Domingos**, pela amizade e irmandade ao longo de todos esses longos anos, que não são poucos.

Agradeço a família que construí em Patos, uma família que se Deus quiser, nem mesmo a distância irá diminuir nossa amizade. Agradeço a minha dupla **Henrique**, por todos esses anos de irmandade que com certeza irá se estender por toda a vida. Agradeço a minha amiga **Yasmin**, pessoa de um coração muito bonito e humilde, mulher de fé, obrigado por essa incrível amizade que irá se prolongar para sempre. Agradeço a minha amiga **Andreza**,

por todo o apoio dado a mim em todos esses anos, amizade que irei guardar para sempre. Agradeço ao meu amigo **Felipe Braga**, por essa amizade construída, que levarei para sempre, muitos Corinthians 6x1 São Paulo para a zoeira não acabar nunca. Agradeço aos meus parceiros **Nilo, Thiago Rafael e Décio** por todos os momentos compartilhados ao longo desses anos, levarei vocês comigo para sempre. Agradeço também a minha grande amiga **Gabi**, primeira pessoa que conheci em Patos, amizade que irei guardar sempre comigo. Agradeço também aos meus amigos **Gabriel, Zé Carlos, Beatriz, Thyago Gurjão e Izaac** pela amizade e carinho desde sempre.

Agradeço aos meus tios **Ismael, Meire, Milane, Simone e Ivaneide** por todo o carinho e amor de sempre.

Agradeço aos meus amigos que cuidaram de mim desde criança: **Valder, Leonília, Álvaro e Valderlane**, por todo o apoio que me deram para que eu realize meu sonho.

Agradeço aos meus padrinhos e sogros, **Nelson e Piedade**, exemplos de fé, companheirismo e humildade, obrigado por todo o apoio que me deram ao longo de todos esses anos.

Agradeço aos meus primos **Pedro, Fernando, Josiane, Josilaine, Janine, Sophia, Hudson, Socorro e Ana Luiza** por todo o apoio ao longo de todos esses anos.

Agradeço a minha orientadora **Rosana**, por ser esse exemplo de pessoa, mãe, profissional, me inspiro bastante em você, e pode ter certeza que levarei comigo todos os ensinamentos que me deu. Tenho muita sorte em ter você como orientadora. A quitosana vai longe, tenho certeza.

Agradeço às professoras **Luanna Abílio e Elizandra**, por todo o apoio dado e pela inspiração e exemplos de profissionais que são. Agradeço ao professor **João Nilton** por ter nos ajudado no processo de adiantamento de curso. Agradeço também a **todos** os professores que passaram por minha vida, por todos os ensinamentos e exemplos de vida repassados.

Agradeço a todos da **turma 2013.1** de Odontologia por me acolherem muito bem e pela amizade construída com todos os presentes nela.

Agradeço a todos os funcionários da UFCG, principalmente aos da Clínica-Escola de Odontologia.

Agradeço a todos que passaram por minha vida em Patos, e para aqueles que não foram citados e contribuíram para essa conquista, meu muito obrigado.

Que Deus ilumine e proteja a todos.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar comparativamente membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações da espécie vegetal *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (insulina), para uso em sistema de liberação controlada de fármaco. Foi realizada a coleta, identificação botânica e obtenção do extrato alcoólico bruto (EAB) da planta. Para produção das membranas de quitosana e quitosana com EAB utilizou-se a técnica de evaporação do solvente. As membranas foram divididas nos grupos: MQ (Membrana de quitosana), MQ5 (Membrana de quitosana com 5% de EAB) e MQ20 (Membrana de quitosana com 20% de EAB), sendo as amostras caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Teste de Tração e Ensaio de citotoxicidade. A MO evidenciou mudança de cor à medida que o percentual do EAB foi aumentado, tornando as amostras mais escuras. As análises de MO e MEV evidenciaram membranas com superfície lisa, regular, sendo possível observar aumento do número de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada. O ensaio mecânico de tração revelou diminuição na resistência à tensão quando acrescido 5% de EAB, e aumento desta com 20% de EAB. O teste de citotoxicidade mostrou que todas as amostras são viáveis para uso em sistemas biológicos. Logo, conclui-se que foi possível desenvolver membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de EAB, que as amostras apresentaram maior quantidade de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada; e que o grupo MQ possui uma maior resistência à tensão em relação aos demais grupos.

Palavras-chave: Membranas. Quitosana. Plantas medicinais.

ABSTRACT

This study aimed to develop and evaluate comparatively porous membranes of chitosan to different concentrations of the plant species *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (insulin), in order to use in a controlled drug delivery system. It was realized data collection, botanical identification and the obtaining of the crude alcohol extract of the plant. For the production of chitosan and crude alcohol extracted chitosan membrane, it is used the solvent evaporation technique. The membranes were divided into groups: CM (chitosan membrane), CM5 (5% of crude alcohol extracted chitosan membrane) e CM20 (20% of crude alcohol extracted chitosan membrane), being the samples characterized by the techniques of Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Traction Test and Cytotoxicity Test. The MO showed a change in color as the percentage of EAB increased, making the samples darker. The analyzes of OM and SEM revealed membranes with flat, regular surface, being possible to observe increase in the number of pores as the vegetal drug was incorporated. The mechanical tests revealed a decrease in tensile resistance when 5% of crude alcohol extract increased, and this increased to 20% of crude alcohol extract. The cytotoxicity test showed that all samples are viable for use in biological systems. Therefore, it was concluded that it was possible to develop porous chitosan membranes with different concentrations of crude alcohol extract, that the samples showed higher pores as the vegetal drug was incorporated; And that the CM group has a higher tensile resistance than the other groups.

Keywords: Membranes. Chitosan. Medicinal plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Apresentação das folhas e frutos de <i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis	25
Figura 2 - Extrato alcoólico bruto de <i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis	25
Figura 3 - 30 g de quitosana (a), 15 mL de ácido acético glacial (b), 1,5 L de solução a 1% (v/v) de ácido acético glacial (c) e solução de quitosana com ácido acético sob agitação mecânica (d)	26
Figura 4 - Soluções de quitosana com extrato vegetal a 5% (a) e 20% (b) no agitador mecânico, e respectivamente depois das 2 horas de agitação (c) e (d)	26
Figura 5 - Placas de Petri cada uma contendo 20 mL de solução, sendo quatro com solução de quitosana pura, quatro com solução de quitosana com 5% de EAB e quatro com solução de quitosana com 20% de EAB	27
Figura 6 - 500 mL de água destilada (a), 50 mL de hidróxido de Amônio (b) e hidróxido Amônio misturado à água destilada, com volume total de 1000 mL (c)	27
Figura 7 - Processo de Neutralização das membranas de quitosana pura (a), com 5% de extrato vegetal (b) e com 20% de extrato vegetal (c) na capela de exaustão	27
Figura 8 - Microscópio Óptico Digital Hirox Modelo KH-1300, de reflexão e transmissão, com canhão MX(G)2016Z	28
Figura 9 - Microscópio eletrônico de varredura modelo Phenom Pro X	28
Figura 10 - Equipamento universal de ensaios mecânicos INSTRON 3366.....	29
Figura 11 - Membranas confeccionadas no CERTBIO, observando-se as diferenças de coloração, à medida que a droga vegetal foi acrescentada	29
Figura 12 - Microscopia ótica das MQ no aumento de 80x, evidenciando a não presença de poros visíveis	30
Figura 13 - Microscopia ótica das MQ5 (a) e MQ20 (b) no aumento 80x, evidenciando que, à medida que tem uma maior concentração de EAB, tem-se uma maior quantidade de poros .	30
Figura 14 - Caracterização pela MEV das membranas de quitosana pura (MQ) nos aumentos 260x (a), 500x (b) e 1000x (c) respectivamente	30
Figura 15 - MEV das membranas de quitosana com a incorporação do EAB a 5% (MQ5), nos aumentos 260x, 500x e 1000x respectivamente	31
Figura 16 - MEV das MQ20, nos aumentos 260x, 500x e 1000x evidenciando a grande quantidade de poros e irregularidades	31

Figura 17 - Esforço (Mpa) e a Extensão (mm) máximas das amostras de MQ, MQ5 e MQ20
..... 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Módulo de elasticidade, deformação máxima e tensão das médias das amostras das membranas de quitosana com e sem extrato alcoólico bruto.....	32
Tabela 2 - Resultado em percentagem (%) da viabilidade das MQ, MQ5 e MQ20 em sistemas biológicos a nível celular	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
DM	Diabetes melito
EA	Extrato Alcólico
EAB	Extrato Alcólico Bruto
et al.	E outros colaboradores
FID	Federação Internacional de Diabetes
IPeFarM	Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Microscopia Ótica
MQ	Membrana de quitosana pura
MQ5	Membrana de quitosana com 5% de Extrato Alcólico Bruto
MQ20	Membrana de quitosana com 20% de Extrato Alcólico Bruto
P.A	Para Análise
SUS	Sistema Único de Saúde
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetro
g	Gramas
GlcN	Glucosamina
GlcNAc	N-Acetilglicosamina
h	Horas
KN	kiloNewton
L	Litros
Min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Mol	Quantidade de matéria microscópica
MPA	Megapascal
N	Newton
NH ₂	Grupo Amino
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
°C	Graus Celsius
v	Volume
x	Vezes
β	Beta
rpm	Rotações por minuto
%	Porcentagem
®	Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 DIABETES MELLITUS	16
2.1.1 CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA	16
2.1.2 CLASSIFICAÇÃO E ETIOLOGIA	16
2.1.3 TRATAMENTO E CUSTOS GLOBAIS COM O DIABETES	17
2.2 FITOTERÁPICO	17
2.2.1 PLANTAS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DO DIABETES MELITO / <i>CISSUS</i> <i>VERTICILLATA</i> (L.) NICOLSON & C.E. JARVIS	18
2.3 QUITOSANA	18
REFERÊNCIAS	20
3 ARTIGO	23
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
ANEXO A - NORMAS DA REVISTA MATÉRIA	35

1 INTRODUÇÃO

A utilização de biomateriais na área da saúde é muito comum, sendo estimada a utilização de cerca de 300 mil desses há cerca de 10 anos. Essas substâncias podem ser definidas como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos), com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, dentre outras (PIRES et al., 2015).

Em meio à diversidade dos biomateriais existentes, ganha destaque a quitosana, um polímero natural derivado da quitina. Esta substância tem inúmeras características tais como o fato de ser biodegradável, biocompatível, mucoadesiva, anti-fúngica não tóxico e com atividade antimicrobiana, somando a isso o fato de ter um baixo custo (KUNIOYOSHI, 2012).

Nos últimos anos, biomateriais originados da quitosana, são empregados em diversos mecanismos, tais como, regeneração tecidual, particularmente para cartilagem, dispositivos de liberação controlada de fármacos e sistemas de imobilização de células em gel (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009). Logo, este polímero tem sido vastamente utilizado na veiculação de medicamentos, bem como na engenharia de tecidos aplicada à odontologia e diversas áreas da saúde (TAVARIA et al., 2013).

Membranas de quitosana estão sendo bastante estudadas por grupos de pesquisa, devido a sua capacidade de acelerar a cicatrização tecidual, uma vez que envolve vários mecanismos como coagulação, síntese e deposição de matriz celular, fibroplasia, dentre outros (VEIGA, 2012).

Na literatura, o uso de biomateriais está em crescimento, uma vez que estes apresentam características capazes de controlar a liberação de substâncias como fármacos. Dentre os fármacos, têm-se os fitoterápicos, que são plantas medicinais e tem inúmeras aplicações na cura das doenças (THEODORO, 2017).

A Fitoterapia foi a primeira medicina do homem, sendo que as plantas são uma fonte de medicamentos para os seres humanos desde tempos imemoriais. Neste sentido, a terapia através das plantas é a forma mais antiga de cuidados de saúde conhecido pela humanidade (BHUSAN et al., 2010; RIZVI e MISHRA, 2013).

O Brasil é um país de imensa diversificação de espécies vegetais, que muitas vezes são utilizadas como matérias-primas para a fabricação de fitoterápicos que podem ser usados para

o tratamento de inúmeras enfermidades, como o diabetes melito (FIRMINO e BINSFELD, 2013).

Uma dessas espécies é a *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis, que pertence à família *Vitaceae*. Esta planta é conhecida como “Insulina vegetal” existindo, porém, outras nomenclaturas populares menos comuns como cortina japonesa, cipó jucá, anil trepador, uva braba, dentre outros (LEMOS, A. e LEMOS, H., 2014).

Tem-se buscado alternativas de administração da insulina de forma menos traumática, contribuindo para minimizar ou mesmo eliminar o incômodo sofrido por inúmeros indivíduos portadores de diabetes que já se encontram naturalmente sensibilizados em virtude das limitações impostas pela doença, sendo o emprego de fitoterápicos uma dessas formas opcionais de terapêutica (ROSENDO, 2016).

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

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DIABETES MELITO

2.1.1 Conceito e Epidemiologia

O diabetes melito (DM) é uma doença crônica que ocorre quando o pâncreas não é capaz de produzir insulina suficiente ou quando esta não é utilizada de forma correta pelo organismo. A insulina é o hormônio que regula a glicemia, ou seja, a concentração de glicose na corrente sanguínea. Desta forma, se esse hormônio não é produzido ou não é utilizado devidamente, tem-se um aumento da glicose sanguínea designada por hiperglicemia (RANG et al., 2008).

Estima-se que a população mundial com DM é de 387 milhões e, de acordo com pesquisas, este número pode alcançar 471 milhões em 2035. Aproximadamente 80% dessas pessoas moram em países em desenvolvimento (MILECH, OLIVEIRA e VENCIO, 2016).

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

2.1.2 Classificação e Etiologia

O DM pode ser classificado em quatro tipos distintos: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, outros tipos específicos de diabetes e diabetes gestacional (WHO, 2012). O diabetes melito tipo 1 é causado pela destruição das células beta-pancreáticas produtoras de insulina e é caracterizado pela grande quantidade de glicose no sangue, podendo progredir para problemas vasculares, renais, oculares, dentre outros (ANDRADE e ALVES, 2015).

O DM tipo 2 é o mais comum, normalmente tem início insidioso e sintomas mais brandos. Manifesta-se, na grande maioria dos casos, em adultos com longa história de excesso de peso e com história familiar da doença crônica. No entanto, com a epidemia de obesidade atingindo crianças, observa-se um aumento na incidência de diabetes em jovens, até mesmo em crianças e adolescentes (BRASIL, 2013).

2.1.3 Tratamento e Custos Globais com o Diabetes

É fundamental o controle dos níveis glicêmicos para o tratamento do diabetes melito. Com a realização do controle metabólico, o paciente mantém-se assintomático e previne-se das complicações agudas e crônicas, promovendo a qualidade de vida e reduzindo a mortalidade (BRASIL, 2013).

A insulínaterapia é o principal tratamento do DM tipo 1, sendo também empregada no diabetes tipo 2 de forma transitória, em casos específicos, como na ocasião de não resposta aos agentes orais por toxicidade à glicose ou em procedimentos cirúrgicos, e de forma definitiva quando células-beta não estão mais funcionando (DIOGENES et al., 2012).

O tratamento não medicamentoso para DM tipo 2 está bastante aceito. Esta forma de tratar consiste em diminuir os fatores de risco, fazendo atividades físicas e tendo uma alimentação saudável (CARVALHO, SILVA e COELHO, 2015). Além disso, o controle da hipertensão, do colesterol e dos níveis de glicemia, assim como o uso de hipoglicemiantes orais pode reduzir substancialmente o risco de complicações e desacelerar sua progressão (OPAS, 2003).

Os custos diretos com DM variam entre 2,5 e 15% do orçamento anual da saúde de um país, dependendo de sua prevalência e do grau de complexidade do tratamento disponível. Estimativas do custo direto para o Brasil oscilam em torno de 3,9 bilhões de dólares americanos, em comparação com 0,8 bilhão para a Argentina e 2 bilhões para o México (ADA, 2013).

O uso de terapias onerosas para o tratamento de enfermidades crônico-degenerativas representa ganho importante nos investimentos humanos e financeiros empregados na área de saúde no Brasil. Assim, os fitoterápicos podem atuar como forma opcional de terapêutica levando em consideração o menor custo, e cujos benefícios adicionam-se aos da terapia convencional. Para tanto, são necessários maiores investimentos para estudos científicos nessa área de maneira a levar à comprovação da eficácia dessas espécies como hipoglicemiantes, garantindo a segurança e eficácia na aplicação por parte dos profissionais de saúde (BORGES, BAUTISTA e GUILERA, 2008).

2.2 FITOTERÁPICO

As plantas são uma fonte de medicamentos para os seres humanos desde tempos imemoriais (RIZVI e MISHRA, 2013). Logo, é uma boa alternativa o consumo de um

medicamento fitoterápico por seu custo ser mais baixo quando comparado às drogas produzidas industrialmente (FIGUEIREDO, GURGEL, I. e GURGEL, G., 2014).

O conhecimento dos profissionais da saúde em relação ao uso dos fitoterápicos, suas ações e finalidades é bem precário. Grande parte do conhecimento obtido em relação ao uso de plantas medicinais é derivado do conhecimento popular. Pouca é a proporção de pessoas que conhecem o assunto através de periódicos e até mesmo por profissionais (BRUNING, MOSEGUI e VIANNA, 2012).

2.2.1 Plantas utilizadas no tratamento do Diabetes Melito / *Cissus Verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis

Muitas espécies de vegetais têm sido bastante utilizadas para tratamento de doenças como o diabetes melito, sendo uma delas a *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis, que possui hábito herbáceo, trepador ou escandente. É originária na América Tropical, mais precisamente na República Dominicana, sendo muito encontrada em grande parte do Brasil (SANTOS et al., 2014; DIAS et al., 2017).

Inúmeras pesquisas de ação hipoglicemiante e antilipêmico têm sido realizadas com extratos fluidos, decocto, infuso e extrato aquoso de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis, em ratos normais e diabéticos, verificando-se a queda da glicemia e dos triglicerídeos nos mesmos. Verificou-se nesses estudos que a composição química das folhas e talos não sofreu modificação com os processos para a obtenção dos extratos, infusos, dentre outros. Fato que justifica o uso dessa espécie vegetal para o tratamento alternativo do diabetes melito tipo 2 (BRAGANÇA, 1996; PEPATO et al., 2003).

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

2.3 QUITOSANA

A quitosana é um biopolímero originado da quitina, um componente bastante encontrado na casca de crustáceos, como o camarão. Devido a sua origem, é um polímero de

grande abundância. É de grande importância pelo fato de ser renovável e de baixo custo, fatos que podem fazer com que seja utilizada cada vez mais (KUNIOYOSHI, 2012).

A quitosana é um polissacarídeo originado da reação de desacetilação da quitina. Esse biomaterial se mostra na forma de um polímero composto por unidades estruturais de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcN) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4), no entanto, com a unidade de glicosamina (GlcN) sempre em maior proporção. Na confecção da quitosana por meio da desacetilação da quitina, os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) das unidades de N-acetilglicosamina (GlcNAc) remanescentes são convertidos em grupos amino ($-\text{NH}_2$), em quantidades variadas, para originar o heteropolissacarídeo com diferentes graus médios de substituição. Logo, o produto N-desacetilado da quitina só passa a ser considerado quitosana quando esse heteropolissacarídeo se torna igual ou superior a 60% (GONÇALVES et al., 2011).

A característica hidrofílica da quitosana é devido ao alto número de grupos hidroxila e grupos amino presentes na cadeia polimérica, permitindo sua utilização como biomaterial em várias formas, como: micropartículas, gel e membranas, que são utilizadas em várias aplicações, como veículo de liberação de fármacos, géis injetáveis, membranas, dentre outros (THONI, 2002).

A quitosana tem características louváveis para aplicação em engenharia de tecido tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, mucoadesividade, cicatrização de lesões, ação analgésica, reduz o nível do colesterol sanguíneo, auxiliando assim na redução do peso, estimulando os efeitos do sistema imunológico, além de ter se mostrado como bacteriostático e fungistático. Não obstante, os resultados de sua degradação em organismos vivos que são as glicosaminas, são substâncias atóxicas, ou seja, característica muito boa para vários estudos (BERGER et al., 2004).

REFERÊNCIAS

- ADA. Economic costs of diabetes in the USA in 2012. **Diabetes Care**, v. 36, p. 1033- 1046, 2013.
- ANDRADE, C. J. N.; ALVES, C. A. D. Análise comparativa do controle glicêmico de crianças com diabetes melito tipo 1 com base na distribuição de insumos: capital x interior da Bahia. **Revista Brasileira de Pesquisa Médica e Biológica**. Salvador, v. 13, n. 3, p. 274-279, mar, 2015.
- BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, 2004.
- BHUSAN, M. et al. An analytical review of plants for anti-diabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action. **Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, p. 29-45. 2010.
- BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes - utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p.12-20, 2008.
- BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar**. Niterói, Rio de Janeiro: Editora da Universidade Federal Fluminense, 1996, 300p.
- BRASIL. **Caderno de atenção básica: Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus**. Ministério da saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica, n. 36, 160p, Brasília, 2013.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.
- CARVALHO, S. S.; SILVA, T. M. A., COELHO, J. M. F. Contribuições do tratamento não farmacológico para diabetes mellitus tipo 2. **Revista Epidemiológica e Controle de Infecção**. Feira de Santana, v. 5, n. 2, p 59-64, Abr/Jun, 2015.
- DIAS, G.T. et al. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis**. v. 1, n. 1, p. 8-12, fev. 2017. Disponível em: <<http://revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/8>>. Acesso em: 20 de Maio de 2017.
- DIÓGENES, M. A. R. et al. Insulinoterapia: conhecimento e práticas utilizadas por portadores de diabetes mellitus tipo 2. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 20, n. 6, p. 746-751, Dez, 2012
- FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. **IDF Diabetes Atlas**. 6th ed. Brussels: International Diabetes Federation. Disponível em: <http://www.idf.org/diabetesatlas>. Acesso em: 22 de Maio de 2016.

FIGUEIREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL, G. D. J. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 381-400, Abr/Jun. 2014.

FIRMINO, F. C.; BINSFELD, P. C. **A biodiversidade brasileira como fonte de medicamentos para o SUS**. Disponível em: <<http://www.cppls.pucgoias.edu.br>> Acesso em: 12 de Janeiro de 2013

GONÇALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M.; SOARES, N. A.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.

KUNIYOSHI, J. N. La Quitosana. **Revista de Química PUCP (Pontificia Universidad Católica del Perú)**. Lima, Peru, v. 26, n. 1-2, p. 10-12, Ago. 2012

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: Biopolímero Funcional com Potencial Industrial Biomédico. **Química Nova**. Florianópolis, v. 32, n. 3, p. 672-678, Mar/Abr. 2009.

LEMOS, H. P. J.; LEMOS, A. L. A. Efetividade e segurança do vegetal *Cissus sicyoides* (“insulina vegetal”) como fitoterápico hipoglicemiante. **Revista Diagnóstico & Tratamento**. 3. ed. Santos. v. 19, p. 129-131, Jul/Set. 2014.

MILECH, A.; OLIVEIRA, J. E. P.; VENCIO, S. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes (2015-2016). **A. C. Farmacêutica**. São Paulo, 2016.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde/ Organização Pan-Americana de Saúde**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.opas.org.br>. Acesso em: 30 de Janeiro de 2013.

PEPATO, M.T; BAVIERA, A.M; VENDRAMINI, R.C; KETTELHUT, I.C; BRUNETTI, I.L. *Cissus sicyoides* (princess vine) in the long-term treatment of streptozotocin-diabetic rats. **Biotechnology and Applied Biochemistry**. V. 37, n.1, p. 15 – 20, Fev. 2003.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e Mercado. **Química Nova**. São Paulo, v. 38, n. 7, p. 957-971, Mai. 2015.

RANG, H.; DALE, M.; RITTER, J.; FLOWER, R. **Rang and Dale's Pharmacology**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

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

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

ROSENDO, R. A. Desenvolvimento e Caracterização de *Scaffolds* de Quitosana/ *Cissus verticillata* (L.). **Tese** (doutorado em Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 182f, 2016.

SANTOS, M. R. A.; ROCHA, J. F.; PAZ, E. S.; SMOZINSKI, C. V.; NOGUEIRA, W. O.; GUIMARÃES, M. C. M. Callus induction in leaf explants of *Cissus Verticillata* (L.) Nicolson & c. e. Jarvis. **Plant cell culture & micropropagation**. Lavras, v.10, n.2, p. 41-46, dez, 2014.

VEIGA, I. G. Produção e caracterização de membranas de quitosana associada com outros biopolímeros para liberação controlada de anti-inflamatórios. **Tese** (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 159 f, 2012.

TAVARIA, F. K. et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**. Brasil. v. 29, n. 1, p, 110-120, Mar. 2013.

THEODORO, L.N. Análise da biocompatibilidade e ação antimicrobiana da matriz de hidrogel associada ao extrato de *Stryphnodendron barbatiman*. **Tese** (Mestrado em Biopatologia Bucal). Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual de São Paulo, São José dos Campos, 44 f, 2017.

TONHI, E.; PEPLIS, A. M. G. Preparation and characterization of collagen-chitosan blends. **Química Nova**, v.25, n.6, p.943-948, 2002.

VASCONCELOS, T. H. C. Ensaios toxicológicos pré-clínico e clínico com as folhas de *Cissus sicyoides* L.. **Tese** (Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba/CCS, João Pessoa, 2004, 178p.

WHO, (2012). **World Health Organization**. [Online] Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>. Acesso em 22/05/2017.

3 ARTIGO

Desenvolvimento e caracterização de membranas porosas de Quitosana / *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis

Development and characterization of porous membranes of Chitosan / *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis

Rosana Araújo Rosendo ¹, Luanna Abílio Diniz Melquiades de Medeiros ², Antônio Alberto Souza Neto ³, Marcus Vinícius Lia Fook ⁴, Rossemberg Cardoso Barbosa ⁵, Walter Gleybson Antas de Moraes ⁶

¹ Professora Adjunto da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Rua Pedro Firmino, S/N Bairro Salgadinho; CEP. 58.700-350, Patos-PB
e-mail: cesprodonto@hotmail.com

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

³ Aluno de graduação do curso de bacharelado em Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Rua Dr. Manoel de França, s/n Bairro Centro; CEP. 521600-00, Coreau – CE.
email: albertosouza0355@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar comparativamente membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações da espécie vegetal *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (insulina), para uso em sistema de liberação controlada de fármaco. Foi realizada coleta, identificação botânica e obtenção do extrato alcoólico bruto (EAB) da planta. Para produção das membranas de quitosana e quitosana com EAB utilizou-se a técnica de evaporação do solvente. As membranas foram divididas nos grupos: MQ (Membrana de quitosana), MQ5 (Membrana de quitosana com 5% de EAB) e MQ20 (Membrana de quitosana com 20% de EAB), sendo as amostras caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Teste de Tração e Ensaio de citotoxicidade. A MO evidenciou mudança de cor à medida que o percentual do EAB foi aumentado, tornando as amostras mais escuras. As análises de MO e MEV evidenciaram membranas com superfície lisa, regular, sendo possível observar aumento do número de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada. O ensaio mecânico de tração revelou diminuição na resistência à tensão quando acrescido 5% de EAB, e aumento desta com 20% de EAB. O teste de citotoxicidade mostrou que todas as amostras são viáveis para uso em sistemas biológicos. Logo, conclui-se que foi possível desenvolver membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de EAB, que as amostras apresentaram maior quantidade de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada; e que o grupo MQ possui uma maior resistência à tensão em relação aos demais grupos.

Palavras-chave: Membranas. Quitosana. Plantas medicinais.

ABSTRACT

This study aimed to develop and evaluate comparatively porous membranes of chitosan to different concentrations of the plant species *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (insulin), in order to use in a controlled drug delivery system. It was realized data collection, botanical identification and the obtaining of the crude alcohol extract of the plant. For the production of chitosan and crude alcohol extracted chitosan membrane, it is used the solvent evaporation technique. The membranes were divided into groups: CM (chitosan

membrane), CM5 (5% of crude alcohol extracted chitosan membrane) e CM20 (20% of crude alcohol extracted chitosan membrane), being the samples characterized by the techniques of Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Traction Test and Cytotoxicity Test. The MO showed a change in color as the percentage of EAB increased, making the samples darker. The analyzes of OM and SEM revealed membranes with flat, regular surface, being possible to observe increase in the number of pores as the vegetal drug was incorporated. The mechanical tests revealed a decrease in tensile resistance when 5% of crude alcohol extract increased, and this increased to 20% of crude alcohol extract. The cytotoxicity test showed that all samples are viable for use in biological systems. Therefore, it was concluded that it was possible to develop porous chitosan membranes with different concentrations of crude alcohol extract, that the samples showed higher pores as the vegetal drug was incorporated; And that the CM group has a higher tensile resistance than the other groups.

Keywords: Membranes. Chitosan. Medicinal plants.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de biomateriais na área da saúde é muito comum, sendo estimados cerca de 300 mil desses há cerca de 10 anos. Essas substâncias podem ser definidas como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos), com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, dentre outras [1].

Em meio à diversidade dos biomateriais existentes, ganha destaque a quitosana, um polímero natural derivado da quitina. Esta substância tem inúmeras características tais como o fato de ser biodegradável, biocompatível, não tóxico e com atividade antimicrobiana, somando a isso o fato de ter um baixo custo [2].

Nos últimos anos, biomateriais originados da quitosana, são empregados em diversos mecanismos, tais como regeneração tecidual, particularmente para cartilagem, dispositivos de liberação controlada de fármacos e sistemas de imobilização de células em gel [3]. Logo, este polímero tem sido vastamente utilizado na veiculação de medicamentos, bem como na engenharia de tecidos aplicada à odontologia e diversas áreas médicas [4].

Membranas de quitosana estão sendo bastante estudadas por grupos de pesquisa, devido a sua capacidade de acelerar a cicatrização tecidual, uma vez que envolve vários mecanismos como coagulação, síntese e deposição de matriz celular, fibroplasia, dentre outros [5].

Na literatura, o uso de biomateriais está em crescimento, uma vez que estes apresentam características capazes de controlar a liberação de substâncias como fármacos. Dentre os fármacos, têm-se os fitoterápicos, que são plantas medicinais e tem inúmeras aplicações na cura das doenças [6].

A Fitoterapia foi a primeira medicina do Homem, sendo que as plantas são uma fonte de medicamentos para os seres humanos desde tempos imemoriais. Neste sentido, a terapia através das plantas é a forma mais antiga de cuidados de saúde conhecido pela humanidade [7];[8].

O Brasil é um país de imensa diversificação de espécies vegetais, que muitas vezes são utilizadas como matérias-primas para a fabricação de fitoterápicos que podem ser usados para o tratamento de inúmeras enfermidades, como o diabetes melito [9].

Uma dessas espécies é a *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis, que pertence à família *Vitaceae*. Esta planta é conhecida como “Insulina vegetal” existindo, porém, outras nomenclaturas populares menos comuns como cortina japonesa, cipó jucá, anil trepador, uva braba, dentre outros [10].

Tem-se buscado alternativas de administração da insulina de forma menos traumática, contribuindo para minimizar ou mesmo eliminar o incômodo sofrido por inúmeros indivíduos portadores de diabetes que já se encontram naturalmente sensibilizados em virtude das limitações impostas pela doença, sendo o emprego de fitoterápicos uma dessas formas opcionais de terapêutica [11].

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

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

- Quitosana - de média massa molecular, com grau de desacetilação em torno de 90% e grau de cristalinidade de aproximadamente 50%; produzida no CERTBIO (Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste) – UFCG.

- Ácido Acético Glacial P.A., Sigma Aldrich®.
- Hidróxido de amônio 28-30% P.A. - Massa molar 35,05 g/mol, Neon.
- Extrato alcoólico de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis.

2.2. Metodologia

2.2.1. Tipo e Local da Pesquisa

Foi desenvolvida uma pesquisa laboratorial, *in vitro* e quantitativa no CERTBIO, localizado na Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, na Universidade Federal de Campina Grande/ UFCG.

2.2.2. Material Vegetal

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

2.2.3. Coleta e Identificação da Planta

As folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (Figura 1) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPEFarM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), onde a planta é cultivada.



Figura 1: Apresentação das folhas e frutos de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis [10].

Com a finalidade de identificar botanicamente a espécie vegetal utilizada no estudo, partes aéreas (folhas e frutos) de plantas adultas frescas foram prensadas sendo, em seguida, postas para secagem em estufa artesanal a uma temperatura de 38°C por 72 horas, para confecção de exsiccatas. Amostras representativas dessas exsiccatas foram depositadas no Herbário CSTR, localizado no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR/UFCG), sob número de tombo – CSTR 5170.

O extrato alcoólico bruto (EAB) de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis empregado (Figura 2) foi obtido através do método de remaceração até a extração exaustiva do material vegetal, sendo obtido ao final um material escuro, higroscópico, denominado extrato alcoólico bruto (EAB), com massa de 85,5g (Figura 2).



Figura 2: Extrato alcoólico bruto de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis [10].

2.2.4. Metodologias da preparação das membranas porosas de quitosana sem e com a incorporação da droga vegetal

A solução de quitosana foi preparada pela dissolução de 30 g de quitosana em 1,5 L de uma solução a 1% (v/v) de ácido acético glacial sob agitação mecânica durante 24 h a 435 rpm (Figura 3). Foram adicionados 20 mL da solução em placas de Petri em acrílico com diâmetros de 55x13 mm. A quitosana empregada para o preparo da solução foi a de média massa molecular, produzida pelo CERTBIO. O ácido acético glacial P.A. foi empregado como solvente para a quitosana.

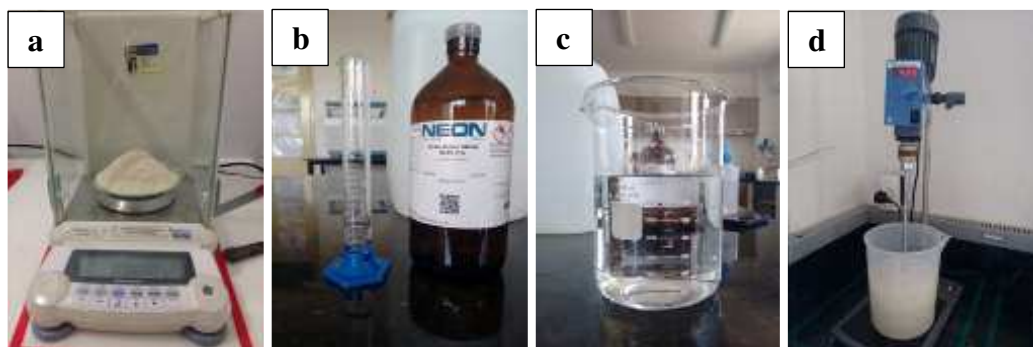


Figura 3: 30 g de quitosana (a), 15 mL de ácido acético glacial (b), 1,5 L de solução a 1% (v/v) de ácido acético glacial (c) e solução de quitosana com ácido acético sob agitação mecânica (d).

A preparação das membranas porosas contendo a droga vegetal foi realizada dissolvendo-se em 100 mL da solução de quitosana, 5% e 20% da droga vegetal, proporcionalmente à concentração de quitosana empregada. As concentrações da droga vegetal foram selecionadas tomando como base os estudos desenvolvidos por [12] que utilizou 1,0 grama de pó das folhas de *Cissus verticillata* (L.) em pacientes, sendo essa dosagem considerada ideal para ser empregada pela população como terapêutica.

Essa solução foi colocada também no agitador mecânico IKA RW20 durante 2 h a 550 rpm, até que a droga vegetal dissolvesse de forma homogênea (Figura 4). Da mesma forma, foram vertidos 20 mL de cada uma das soluções obtidas em placas de Petri em acrílico (Figura 5). As placas foram então acondicionadas em estufa bacteriológica a 35,7 °C por 7 dias para evaporação do ácido e formação da membrana.

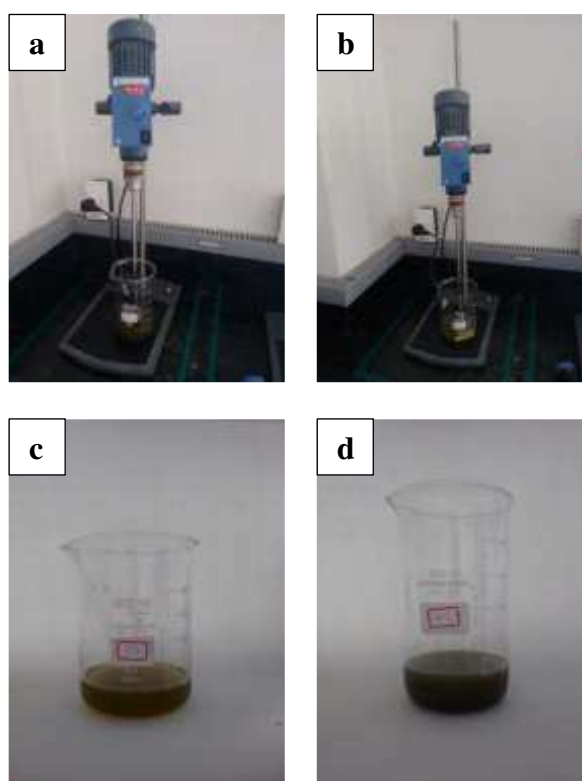


Figura 4: Soluções de quitosana com extrato vegetal a 5% (a) e 20% (b) no agitador mecânico, e respectivamente depois das 2 horas de agitação (c) e (d).

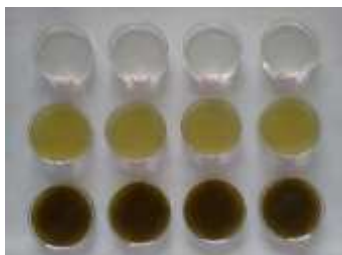


Figura 5: Placas de Petri cada uma contendo 20 mL de solução, sendo quatro com solução de quitosana pura, quatro com solução de quitosana com 5% de EAB e quatro com solução de quitosana com 20% de EAB.

Após a secagem das membranas porosas de quitosana sem e com a incorporação da droga vegetal, nas concentrações de 5% e 20%, as mesmas foram retiradas da estufa para a neutralização.

2.2.5 Processo de Neutralização com Hidróxido de Amônio

No preparo da solução de hidróxido de amônio, foi dispensado em um balão volumétrico 500 mL de água destilada, estando a capela para exaustão de gases da SPLabor ligada, e incorporado 50 mL de amônio; completando-se com mais água destilada até ser atingido o volume final de 1000 mL (Figura 6). As membranas porosas foram neutralizadas com a solução de hidróxido de amônio, permanecendo as amostras sob atmosfera dessa solução, por um período de 72 horas (Figura 7). Em seguida, as amostras foram colocadas para secar a temperatura ambiente (23°C).

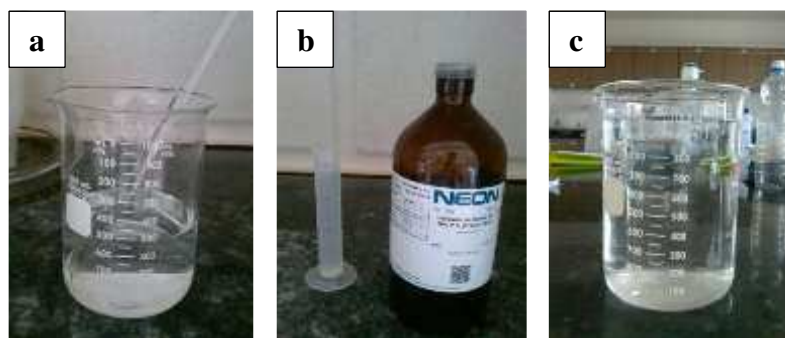


Figura 6: 500 mL de água destilada (a), 50 mL de hidróxido de Amônio (b) e hidróxido de Amônio misturado à água destilada, com volume total de 1000 mL (c).

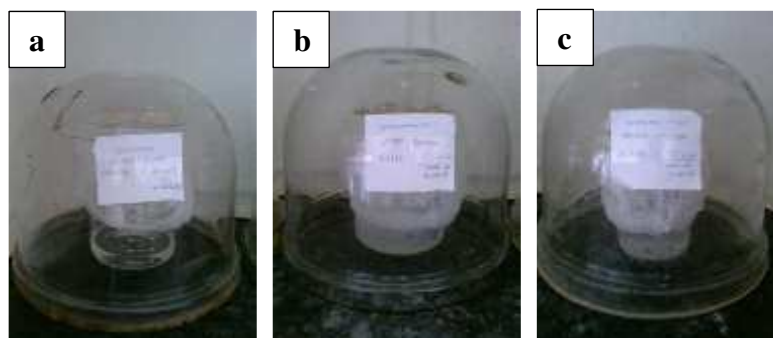


Figura 7: Processo de neutralização das membranas de quitosana pura (a), com 5% de extrato vegetal (b) e com 20% de extrato vegetal (c) na capela de exaustão.

2.3 Caracterização

As membranas porosas de quitosana desenvolvidas foram caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Teste de Tração e Ensaio de Citotoxicidade. As análises foram realizadas no CERTBIO / UFCG.

2.3.1 Microscopia Ótica (MO)

A caracterização por MO, para avaliação morfológica das membranas porosas, foi realizada em um Microscópio Óptico Digital Hirox Modelo KH-1300 (Figura 8), de reflexão e transmissão, com canhão MX(G)2016Z e aumentos de 40x e 80x, acoplado a uma estação de Análise de Imagens, empregando-se o software 2D Measure.



Figura 8: Microscópio Óptico Digital Hirox Modelo KH-1300, de reflexão e transmissão, com canhão MX(G)2016Z.

2.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura analisa o material através da irradiação por um fino feixe de elétrons que interage com a superfície da amostra e origina uma série de radiações fornecendo, dessa forma, informação morfológica e topográfica sobre superfícies de sólidos, necessária para a compreensão do comportamento de superfícies [13].

A caracterização por MEV foi realizada no equipamento modelo Phenom Pro X (Figura 9), acoplado com sistema para microanálise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS, sendo realizadas imagens usando aumentos de 260x, 500x e 1000x.



Figura 9: Microscópio eletrônico de varredura modelo Phenom Pro X.

Na análise de MEV, as membranas sem e com a incorporação da droga vegetal foram preparadas nas dimensões de 1 cm x 1 cm.

2.3.3 Teste de Tração

Esse tipo de análise é caracterizado pelo modo como as membranas porosas respondem às solicitações mecânicas aplicadas, podendo estas ser do tipo de tensão ou deformação. A natureza desta resposta depende da estrutura química, temperatura, tempo e das condições de processamento do polímero. As membranas porosas podem estar sujeitas a uma variedade de tensões durante o período de uso e sabe-se que as interações entre polímeros podem influenciar e modificar as propriedades de misturas em relação aos polímeros puros [14].

Nesse ensaio, as membranas foram inseridas no equipamento universal de ensaios mecânicos INSTRON 3366 (Figura 10), empregando-se dois pratos de compressão (um fixo e um móvel), com uma média de carga de 10KN, velocidade do travessão de 1,3 mm/min e uma deformação do corpo de prova de 90%.



Figura 10: Equipamento universal de ensaios mecânicos INSTRON 3366.

2.3.4 Ensaio de Citotoxicidade

Esse ensaio objetiva avaliar o potencial quantitativo de citotoxicidade de um material, ou seja, a capacidade que um material tem em produzir efeitos letais ou subletais em sistemas biológicos a nível celular, devendo ser realizado conforme a norma ISO 10993-5: 2009.

Para a realização do ensaio, as amostras de membranas porosas foram cortadas em dimensões aproximadas de 5 x 5 mm. Todas as soluções, vidros, pipetas, e demais materiais empregados na análise estavam devidamente estéreis e todos os procedimentos foram executados sob condições assépticas e em ambiente estéril de uma câmara de fluxo laminar.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As membranas obtidas foram denominadas de MQ (Membrana de quitosana pura), MQ5 (Membrana de quitosana com extrato vegetal a 5%) e MQ20 (Membrana de quitosana com extrato vegetal a 20%).

As membranas confeccionadas apresentaram aspecto liso, homogêneo e plano. Além disso, verificou-se que as membranas de quitosana pura apresentaram-se de cor clara e homogêneas, confirmando os resultados obtidos por [15] e [10].

Somando-se a isso, as membranas com 5% de extrato vegetal apresentaram coloração esverdeada, e as membranas com 20% de extrato vegetal se apresentaram com uma coloração verde de tonalidade mais escura que as MQ5, demonstrando que, à medida que a concentração do extrato de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis foi incorporado, a coloração das membranas tornou-se mais esverdeada (Figura 11), corroborando com [10].

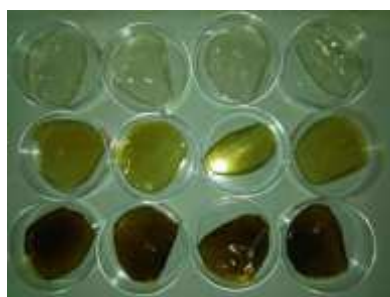


Figura 11: Membranas confeccionadas no CERTBIO, observando-se as diferenças de coloração, à medida que a droga vegetal foi acrescentada.

3.3 Resultados da Microscopia Ótica (MO)

Na microscopia ótica das MQ (Figura 12), percebe-se uma superfície lisa, regular e sem a presença visível de poros.



Figura 12: Microscopia ótica das MQ no aumento de 80x, evidenciando a não presença de poros visíveis.

Nas MQ5 e MQ20, nota-se a presença de poros nas superfícies das membranas, e à medida que aumenta a quantidade de EAB, aumenta a quantidade de poros (Figura 13), corroborando com os estudos de [10].

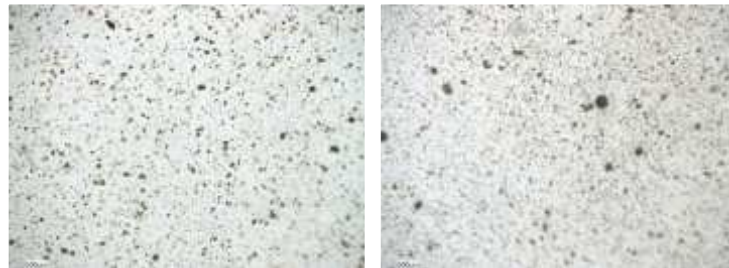


Figura 13: Microscopia ótica das MQ5 (a) e MQ20 (b) no aumento 80x, evidenciando que, à medida que a droga vegetal é incorporada, há um aumento na quantidade de poros.

3.1 Resultados da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na figura 14, pode-se observar a MEV da MQ, nos aumentos 260x, 500x e 1000x, constatando-se na mesma um aspecto liso, sem poros visíveis, plano, corroborando com os estudos de [10].

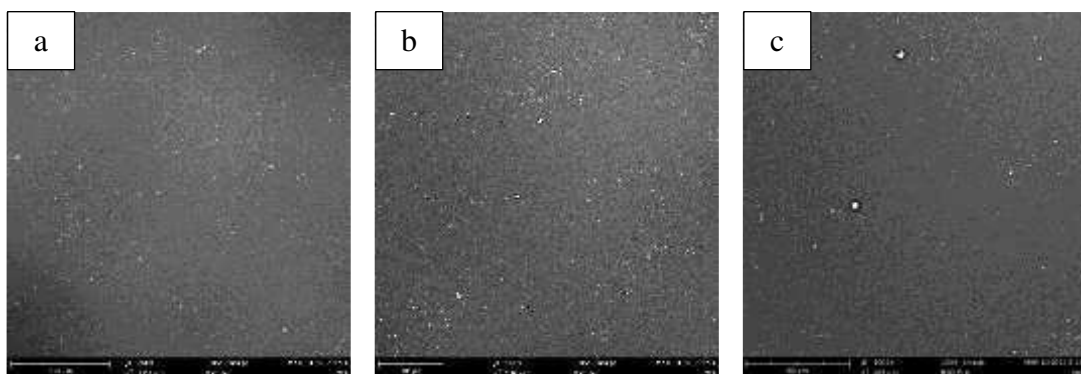


Figura 14: Caracterização pela MEV das MQ nos aumentos 260x (a), 500x (b) e 1000x (c) respectivamente.

Já na MEV da amostra da MQ5, pode-se observar que teve uma alteração na morfologia das membranas em relação à MQ, sendo bem visível a presença de poros e irregularidades (Figura 15).

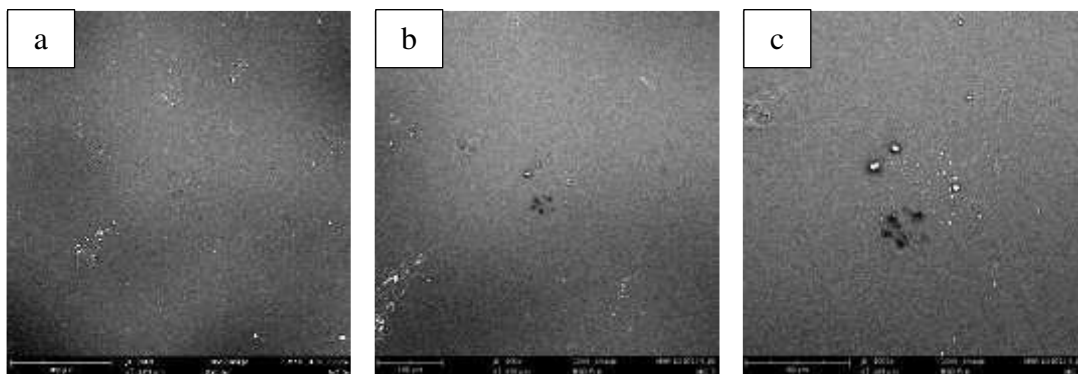


Figura 15: MEV das membranas de quitosana com a incorporação do EAB a 5% (MQ5), nos aumentos 260x, 500x e 1000x respectivamente.

Na análise de microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana com extrato alcóolico bruto na concentração de 20% (MQ20), observa-se maiores quantidades de poros e irregularidades em relação às MQ e MQ5 (Figura 16), corroborando com os estudos desenvolvidos por [10].

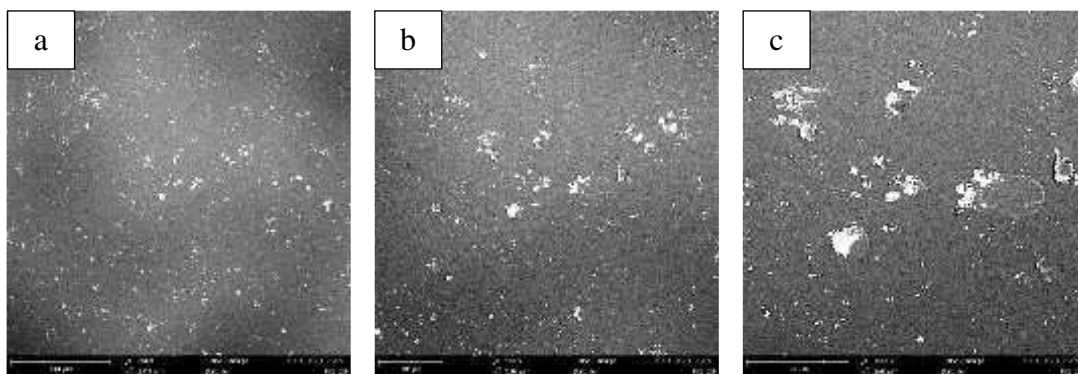


Figura 16: MEV das MQ20, nos aumentos 260x, 500x e 1000x evidenciando a grande quantidade de poros e irregularidades.

Portanto, através da MEV, foram confirmados os resultados da Microscopia Ótica e pode-se notar que à medida que aumenta a concentração do extrato alcóolico bruto, aumenta a quantidade de poros e irregularidades das membranas de quitosana. Este fato é muito importante para a liberação do fármaco, pois os poros permitem a entrada dos fluidos biológicos o que facilita a difusão dos fármacos para o meio (16).

3.4 Resultados do Teste de Tração

Os ensaios mecânicos de tração foram realizados com o objetivo de avaliar o módulo elástico, deformação e tensão das membranas de quitosana com e sem extrato alcóolico bruto.

Os resultados obtidos foram feitos através de três amostras de cada tipo de membrana de quitosana. Nas amostras de MQ, a deformação à tração ocorreu com uma média de 6,9% com média de carga de 10,5 N e com um esforço à tração em resistência de tração máxima de 27,9 Mpa (Figura 17).

Já as membranas com a adição de 5% do EAB, possuem uma carga de tensão máxima menor e uma deformação máxima similar à MQ. A média de carga de tensão foi 6,75N, e com esforço à tração máxima de 17,115 Mpa.

Todavia, as membranas com adição de 20% de extrato alcóolico bruto obtiveram uma média de carga de tração maior que MQ e MQ5, com 13,5 N e com um esforço à tração em resistência de tração máxima de 33,964 Mpa.

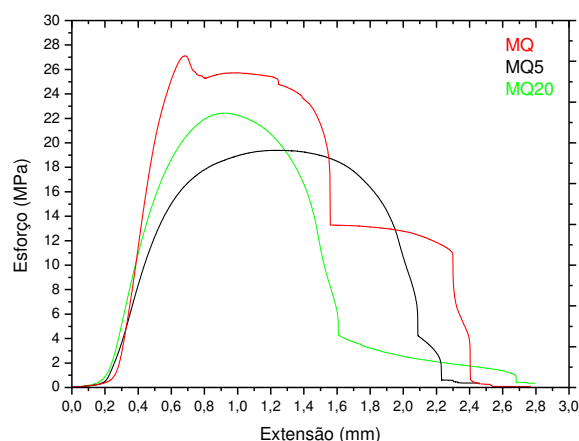


Figura 17: Esforço (Mpa) e a Extensão (mm) máximas das amostras de MQ, MQ5 e MQ20.

Além disso, analisando a tensão e deformação das amostras das membranas de quitosana com e sem a adição de EAB (Tabela 1), pode-se observar que a MQ apresentou uma maior tensão e uma maior deformação máxima em relação a MQ5 e MQ20, porém o módulo de elasticidade foi maior em MQ20.

Tabela 1: Módulo de elasticidade, deformação máxima e tensão das médias das amostras das membranas de quitosana com e sem extrato alcoólico bruto.

	MÓDULO DE ELASTICIDADE (MPA/MM)	DEFORMAÇÃO MÁXIMA (%)	TENSÃO (MPA)
MQ	8,594	6,943	20,884
MQ5	4,984	6,75	11,769
MQ20	10,351	5,442	19,698

Logo, pode-se concluir que a membrana de quitosana pura (MQ) possui uma maior resistência à tração longitudinal em relação às membranas com extrato vegetal.

3.4 Resultados do Ensaio de Citotoxicidade

Para as membranas serem usadas em sistemas biológicos, as mesmas devem ser, por segurança, não tóxicas e biocompatíveis. Os resultados do ensaio de citotoxicidade das MQ, MQ5 e MQ20 estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultado em percentagem (%) da viabilidade das MQ, MQ5 e MQ20 em sistemas biológicos a nível celular.

	% VIAB.
MQ	80
MQ5	77
MQ20	76

Fazendo a comparação do percentual de citotoxicidade das membranas com o valor mínimo determinado por Bispo [17], que é de 50%, e pela norma ISO 10993-5: 2009 que é de 70%, pode-se concluir que todas as membranas (MQ, MQ5 e MQ20) apresentaram-se viáveis para o uso em sistemas biológicos, uma vez que o percentual de viabilidade foi superior a 70%.

4. CONCLUSÕES

- Conclui-se que foi possível desenvolver membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de Extrato Alcoólico Bruto.
- Foi observado através da MO e MEV que as amostras apresentaram maior quantidade de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada.
- O grupo MQ apresentou uma maior resistência à tensão em relação aos demais grupos.
- Através do ensaio de Citotoxicidade evidenciou-se que todas as membranas são capazes de interagir com os sistemas biológicos.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] PIRES, A. L. R, BIERHALZ, A. C. K; MORAES, A. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e Mercado, *Química Nova*, São Paulo, v. 38, n. 7, pp. 957-971, Mai. 2015.
- [2] KUNIYOSHI, J. N. La Quitosana, *Revista de Química PUCP (Pontificia Universidad Católica del Perú)*, Lima, Peru, v. 26, n. 1-2, pp. 10-12, Ago. 2013.
- [3] LARANJEIRA, M. C. M, FÁVERE, V. T. Quitosana: Biopolímero Funcional com Potencial Industrial Biomédico, *Química Nova*, Florianópolis, v. 32, n. 3, pp. 672-678, Mar/Abr. 2009.
- [4] TAVARIA, F. K, et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*. Brasil, v. 29, n. 1, pp. 110-120, Mar. 2013.
- [5] VEIGA, I. G. *Produção e caracterização de membranas de quitosana associada com outros biopolímeros para liberação controlada de anti-inflamatórios*, Tese Dcs, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.
- [6] THEODORO, L.N. *Análise da biocompatibilidade e ação antimicrobiana da matriz de hidrogel associada ao extrato de Stryphnodendron barbatiman*. Tese Mcs, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual de São Paulo, São José dos Campos, 2017.
- [7] BHUSAN, M. et al. An analytical review of plants for anti-diabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action, *Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 1, pp. 29-45. 2010.
- [8] RIZVI, S, MISHRA, N. Traditional Indian Medicines Used for the Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*, v.2013, pp. 1-11, 2013.
- [9] FIRMINO, F. C, BINSFELD, P. C. A biodiversidade brasileira como fonte de medicamentos para o SUS. Goiás, PUC, <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br> > Acessado em janeiro de 2017.
- [10] LEMOS, H. P. J, LEMOS, A. L. A. Efetividade e segurança do vegetal *Cissus sicyoides* (“insulina vegetal”) como fitoterápico hipoglicemiante, *Revista Diagnóstico & Tratamento*, Santos, v. 19, pp. 129-131, Jul/Set. 2014.
- [11] ROSENDO, R. A. *Desenvolvimento e Caracterização de Scaffolds de Quitosana/ Cissus verticillata (L.)*. Tese Dcs, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2016.
- [12] ROSENDO, R. A. *Avaliação da eficácia da Cissus verticillata (L.), em portadores de diabetes melito tipo 2, através da concentração de glicose na saliva e no sangue*. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba/CCS, João Pessoa, 2009.
- [13] FOOK, M. V. L., *Desenvolvimento da técnica de deposição de hidroxiapatita na superfície de polietileno de ultra-peso molecular para aplicação como biomaterial*, Tese D.Sc, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
- [14] PINHEIRO, G. K., *Desenvolvimento de “scaffolds” a partir de compósitos contendo blendas poliméricas à base de quitosana para reconstituição tecidual*, Relatório apresentado ao Curso de Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2008.
- [15] HOLANDA, A. L., *Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização*. Tese D.Sc, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.
- [16] FÁVERE, V. T., LARANJEIRA, M.C. M. Quitosana: Biopolímero Funcional com Potencial Industrial Biomédico, *Quim. Nova*, v. 32, n. 3, pp.672-678, 2009.
- [17] BISPO, V. M. *Estudo do efeito da reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA*. Tese D.Sc, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Conclui-se que foi possível desenvolver membranas porosas de quitosana com diferentes concentrações de Extrato Alcoólico Bruto.
- Foi observado através da MO e MEV que as amostras apresentaram maior quantidade de poros à medida que a droga vegetal foi incorporada, ou seja, quanto maior a concentração de EAB, maior foi a quantidade de poros nas membranas.
- O grupo MQ apresentou uma maior resistência à tensão em relação aos demais grupos.
- Através do ensaio de Citotoxicidade evidenciou-se que todas as membranas são capazes de interagir com os sistemas biológicos.

ANEXO A - NORMAS DA REVISTA MATÉRIA

REVISTA MATÉRIA

ISSN 1517-7076 artigo xxxxx, pp.xxxx-xxxx, 2013

V.00 N.0

Descrição dos estilos MSWord usados na revista Matéria

Description of MSWord styles used in the journal Matéria

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

¹ Laboratório de Hidrogênio - Labh2 – PEMM/COPPE/UFRJ CP: 68505 – 21941-972, Rio de Janeiro, RJ

e-mail: materia@labh2.coppe.ufrj.br

² Endereço dos outros autores 2 e 3

e-mail: outro.autor2@outros.autores.com; outro.autor3@outros.autores.com

RESUMO

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

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

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

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

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

ABSTRACT

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

Keywords: A maximum of 05 (five) keywords.

2. INTRODUÇÃO

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

Utilizar preferencialmente como estrutura geral a seguinte sequência:

1. Introdução;
2. Materiais e Métodos;
3. Resultados;
4. Discussão;

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

7. MATERIAIS E MÉTODOS

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

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

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

2.1 Formatação

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

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

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

Tabela 1: Dimensões das páginas para todo o texto.

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

8. RESULTADOS

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

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

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

3.1 Modelos de formatação no MSWord

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

Tabela 2: Resumo dos formatos de cada estilo.

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

3.2 Figuras

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

REVISTA MATÉRIA

Figura 1: Logotipo da revista.

Para garantir uma boa legibilidade, as figuras que forem geradas como imagens deverão ser salvas em formato jpg., com resolução mínima de 300 dpi, formato mínimo de 1024 pixels pelo lado maior. Os originais devem ser enviados em anexo aos arquivos dos artigos para que possamos fazer eventuais acertos.

A figura deverá estar localizada e dimensionada no corpo do artigo.

9. DISCUSSÃO

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

4.1 Equação

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

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

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

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

10. CONCLUSÕES

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

11. AGRADECIMENTOS

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

12. BIBLIOGRAFIA

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

Para artigo com autor único:

“... IESAN [2] mostrou que ...” ou “... foi mostrado [2] que...”

Para artigo com dois autores:

“...IESAN e ABRAHAM [1] encontraram que ...” ou “... foi encontrado [1] ...”

Para artigo com mais de dois autores:

ABRAHAM *et al.* [1] calcularam ...” ou “... foi calculado [1] ...”

Para tema relativo a mais de um artigo:

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

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

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

7.1 Citação de livros

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

Exemplo:

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

7.2 Citação de artigos em periódicos

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

Exemplo:

[2] IESAN, D., "Existence theorems in the theory of mixtures", *Journal of Elasticity*, v. 42, n. 2, pp. 145-163, Feb. 1996.

7.3 Citação de relatórios de pesquisa

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

Exemplo:

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

7.4 Citação de artigos em anais

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

Exemplo:

[4] GURTIN, M.E., “On the nonlinear theory of elasticity”, In: *Proceedings of the International Symposium on Continuum Mechanics and Partial Differential Equations: Contemporary Developments in Continuum Mechanics and Partial Differential Equations*, pp. 237-253, Rio de Janeiro, Aug. 1977.

7.5 Citação de artigo em congresso sem publicação em anais

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

Exemplo:

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

7.6 Citação de artigo em livro (série)

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

Exemplo:

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

7.7 Citação de capítulo de livro

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

Exemplo:

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

7.8 Citação de tese

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

Exemplo:

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

7.9 Citação de referências de páginas na Internet

nome do(s) autor(es) em Maiúsculas e Minúsculas (Cab), quando houver

nome do website em letras maiúsculas (CA)
endereço eletrônico completo da informação citada
data de consulta

Exemplo:

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

7.10 Para informações adicionais, consultar as publicações citadas abaixo

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

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