

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA – CÂMPUS ARARAQUARA**

VICTOR HUGO DE OLIVEIRA CAVALCANTI

**MEMBRANAS DE QUITOSANA COM ALGINATO MODIFICADO VISANDO A
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SULFADIAZINA DE PRATA PARA APLICAÇÃO
EM REGENERAÇÃO TECIDUAL**

**ARARAQUARA
2023**

VICTOR HUGO DE OLIVEIRA CAVALCANTI

**MEMBRANAS DE QUITOSANA COM ALGINATO MODIFICADO VISANDO A
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SULFADIAZINA DE PRATA PARA APLICAÇÃO
EM REGENERAÇÃO TECIDUAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharelado em Química.

Orientador: Prof. ° Dr. ° Rodrigo Fernando Costa Marques

ARARAQUARA
2023

VICTOR HUGO DE OLIVEIRA CAVALCANTI

**MEMBRANAS DE QUITOSANA COM ALGINATO MODIFICADO VISANDO A
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SULFADIAZINA DE PRATA PARA APLICAÇÃO
EM REGENERAÇÃO TECIDUAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de apresentado ao Instituto de química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como requisito para a obtenção do título de Bacharelado em Química.

Araraquara, 09 de janeiro de 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

Prof. Dr. Fernando Lucas Primo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara

Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

Dedico este trabalho em memória de
minha mãe. “te amo, inté”

AGRADECIMENTOS

À minha “irmã”, Coicoi – Tatiana, por me ver como um filho e me incomodar como uma irmã, por sempre me cuidar, apoiar, incentivar, acreditar em mim e ser meu maior exemplo de vida.

Ao meu “cupaidrinho”, Deh – Anderson, por sempre estar presente, além de ser meu grande apoio, principalmente, nos momentos mais tristes sempre sabendo como me fazer rir.

Ao meu pai, José Ricardo, por sempre se preocupar e incentivar o desenvolvimento dos meus estudos.

Ao meu melhor amigo, Wagner, pela nossa amizade que sobrevive à distância e ao tempo, obrigado pelo suporte, tempo juntos, por me aturar e compartilhar tudo de importante dessa vida: angústias, alegrias, derrotas e vitórias.

À minha namorada, Laura, por me incentivar e ser compreensiva e carinhosa, principalmente durante a execução deste trabalho, sendo meu maior apoio. Pela amizade e por todos os dias me motivando a ser a melhor versão de mim.

À Rafaela e Natalia da Bicho Grilo, que se não fosse pelo Barney, eu não teria a possibilidade de conhecer essas mulheres de corações maravilhosos, obrigado pelos trabalhos, loucuras e oportunidades desde 2018.

Ao meu orientador, Jataí – Rodrigo Marques, pela oportunidade desta pesquisa, pelo incentivo, disponibilidade e amizade.

Ao meu não oficial coorientador, Pelé – Rodolfo, pela supervisão, conselhos e orientação, sempre torcerei pelo seu sucesso, você será um professor incrível.

Aos membros de 2022 do grupo de pesquisa LMMC, pelas conversas, surtos e risadas.

Ao Instituto de Química e aos professores, não só pelos ensinamentos de química, mas por todas as oportunidades que me fizeram ser mais humano.

Aos técnicos e funcionários do IQ, pela dedicação, trabalho e zelo com o instituto.

Por fim, quero agradecer a todos os meus amigos, Giulia, Welington, Marcio, Marcos, Aléxia, Aline e Nicolas com quem divido todos os meus momentos, à república Quebra Tudo por me acolher em Araraquara e aos colegas que contribuíram no decorrer dessa jornada.

RESUMO

Sabe-se que um dos problemas de saúde pública no Brasil é a ocorrência de feridas agudas e crônicas, como úlceras e queimaduras, que, devido ao seu processo cicatricial complexo, oneram gastos ao SUS e implicam condições desfavoráveis a vida da população. A utilização de tratamentos convencionais nem sempre dão resultados esperados. Sendo assim, atualmente há diversos estudos sobre tratamentos avançados com o uso de biopolímeros que provaram ser eficazes, devido sua biocompatibilidade, biodegradação e fácil acesso, além de serem de baixo custo. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver e caracterizar um complexo obtido via base de Schiff dos biopolímero quitosana e alginato modificado para utilização tópica no tratamento de úlceras e queimadura com a intenção de ser um sistema de liberação do fármaco sulfadiazina de prata. O desenvolvimento e estudo deste trabalho foi dividido em três partes sendo a caracterização da quitosana e de suas membranas em presença e ausência de surfactantes; a verificação e quantificação da derivatização do alginato e a caracterização da reticulação do complexo quitosana-alginato oxidado via base de Schiff em meio ácido, PBS e básico. Através dos métodos de condutimetria e SEC foi possível determinar parâmetros da quitosana como seu grau de desacetilação e massa molecular. As imagens MEV das membranas demonstram os melhores resultados com adição do surfactante Tween[®]80 que apresentou maior porosidade e homogeneidade. O alginato derivatizado por periodato de sódio foi caracterizado pela presença de uma banda em seu espectro no FTIR em 1736 cm^{-1} indicando a formação de aldeídos na estrutura, sua quantificação foi realizada por potenciometria a qual apontou valores de oxidação dentro dos parâmetros da literatura. Por fim, a formação do complexo quitosana-alginato oxidado foi visualizada pelo consumo da banda do grupo aldeído do alginato modificado no FTIR e pela formação de banda em 1624 cm^{-1} atribuída à ligação imina, sendo o PBS o melhor meio para tal junção. Deste modo, a membrana desenvolvida e estudada neste trabalho, apresentou propriedades promissoras para uso tópico em tratamento de feridas.

Palavras-chave: feridas crônicas; biopolímeros; base de Schiff; hidrogel; sistema de liberação.

ABSTRACT

It is known that one of the public health problems in Brazil is the occurrence of acute and chronic wounds, such as ulcers and burns, which, due to their complex cicatrization process, encumber expenses to the public health care system and implicate in unfavourable life conditions to the population. The usage of conventional treatments doesn't always provide the expected results. Thus, there are currently several studies on advanced treatments using biopolymers, which have been proven to be effective due to their biocompatibility, biodegradation and easy access, besides of having a low cost. The present paper has as goal to develop and characterize a Schiff base complex of the biopolymers chitosan and modified alginate for topic use in ulcers and burns treatment with the intention of being a delivery system for the medicament silver sulfadiazine. The development of this work was divided in three parts: the characterization of chitosan and of its membranes in the presence and absence of surfactants; the verification and quantification of the alginate derivatization and characterization and reticulation of a chitosan-modified alginate Schiff base complex in acid, PBS and basic conditions. Through the conductimetric and SEC methods it was possible to determine parameters of the chitosan, as its deacetylation degree and molecular mass. The MEV images present the best results with the addition of the Tween[®]80 surfactant, which showed increased porosity and homogeneity. The alginate derived with sodium periodate was characterized by the presence of a band in its FTIR spectrum in 1736 cm^{-1} , indicating the formation of aldehydes in its structure, its quantification was accomplished through potentiometry, which pointed out oxidation values conforming to the literature parameters. Lastly, the chitosan-oxidized alginate complex formation was visualized in the FTIR through the consumption of the band in the modified alginate aldehyde group and by the band formation in 1624 cm^{-1} attributed to the imine bond, with PBS being the best condition for said bond. Hence, the developed and studied membrane has shown promising properties for topic use in the treatment of wounds.

Keywords: chronic wounds; biopolymers, schiff Base; hydrogel, delivery system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da pele	15
Figura 2 – Classificação de queimaduras	17
Figura 3 – Processo de cicatrização (a – Fase inflamatória, b – Fase de proliferação e c – Fase de remodelação.)	18
Figura 4 – Estrutura química quitina e quitosana	19
Figura 5 – Estrutura dos monômeros e blocos do polímero alginato	21
Figura 6 – Mecanismo de oxidação do alginato via periodato de sódio	22
Figura 7 – Reticulação física e química do Alginato Oxidado com Quitosana.....	23
Figura 8 – Mecanismo de reação genérica de bases de Schiff	23
Figura 9 – Comparação de sistemas de liberação (A) de fármaco em relação aos métodos convencionais (B).....	24
Figura 10 – Esquema representativo de intumescimento de hidrogel para formulações de liberação de drogas usando hidrogéis sensíveis a pH. As reticulações estão representadas por X- e o ativo pela esfera azul.	25
Figura 11 – Molécula sulfadiazina de prata (Ag-SD).	26
Figura 12 – Membranas de Quitosana com Pluronic [®] F-68 (A), Quitosana (B), e Quitosana com Tween [®] 80 (C) em placas de petri de diâmetro interno de 4,5cm.....	29
Figura 13 – Titulação condutimétrica da quitosana (CS).....	32
Figura 14 – Cromatografia por exclusão de tamanho da quitosana (CS).....	33
Figura 15 – Espectroscopia na região do infravermelho para a quitosana (CS)	34
Figura 16 – Imagens MEV das membranas de Quitosana com Pluronic [®] F-68 (A), Quitosana (B), e Quitosana com Tween [®] 80 (C)	35
Figura 17 – Espectroscopia na região do infravermelho para a alginato (SA) e alginato oxidado (OSA).....	37
Figura 18 – Curva Potenciométrica referente ao OSA.....	37
Figura 19 – Espectro na região do infravermelho para verificação da Base de Schiff entre CS e OSA	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag-SD – sulfadiazina de prata

CS – quitosana

DNA – ácido desoxirribonucleico

D₂O – água deuterada

FTIR – infravermelho com transformada de Fourier

GD – grau de desacetilação

HCl – ácido clorídrico

MMQ – método dos mínimos quadrados SA – alginato de sódio

M_w – massa molecular médio em peso

NaIO₄ – meta periodato de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

OSA – alginato de sódio oxidado

PBS – tampão fosfato

pH – potencial hidrogeniônico

RMN – ressonância magnética nuclear

SEC – cromatografia por exclusão de tamanho

UV-Vis – ultravioleta visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1. PELE	13
2.1.1. Morfologia	13
2.1.1.1. Epiderme	13
2.1.1.2. Derme	14
2.1.1.3. Hipoderme	15
2.1.2. Feridas	15
2.1.2.1. Úlceras.....	16
2.1.2.2. Queimaduras.....	16
2.1.3. Cicatrização	17
2.1.4. Curativos	18
2.2. BIOPOLÍMEROS	18
2.2.1. Quitosana	19
2.2.2. Alginato	20
2.2.2.1. Derivatização do Alginato por Periodato	22
2.2.3. Base de Schiff para junção Quitosana e Alginato	23
2.3. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO	24
2.4. SULFADIAZINA DE PRATA.....	25
3. OBJETIVOS	26
3.1. GERAL	26
3.2. ESPECÍFICOS	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1. MATERIAIS	27
4.2. MÉTODOS	27
4.2.1. Grau de Desacetilação (GD) da quitosana por condutometria	27

4.2.2.	Cromatografia por exclusão de tamanho.....	28
4.2.3.	Preparo das membranas de quitosana	28
4.2.3.1.	Microscopia eletrônica varredura (MEV) das membranas	29
4.2.4.	Derivatização do alginato por periodato	30
4.2.4.1.	Determinação do grau de oxidação por potenciometria	30
4.2.5.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1.	QUITOSANA	32
5.1.1.	Condutimetria.....	32
5.1.2.	Cromatografia por exclusão de tamanho (SEC)	33
5.1.3.	Análise no FTIR.....	34
5.2.	MEMBRANAS DE QUITOSANA	35
5.2.1.	Análise por MEV	35
5.3.	DERIVATIZAÇÃO DO ALGINATO.....	36
5.3.1.	Análise no FTIR.....	36
5.3.2.	Potenciometria	37
5.4.	BASE DE SCHIFF QUITOSANA/OSA	38
5.4.1.	Análise no FTIR.....	38
6.	CONCLUSÃO	39
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

Um dos problemas de saúde pública no Brasil é a ocorrência de feridas agudas e crônicas que implicam gastos ao SUS (Sistema Único de Saúde) além de prejudicar a qualidade de vida da população devido à alta incidência, tipos e condutas dos tratamentos disponíveis (SÃO PAULO. Secretaria Municipal de Saúde, 2021; BRASIL. Ministério da Saúde, 2002).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Queimaduras, através de um estudo epidemiológico realizado por meio de uma revisão de literatura e coleta de dados do DATASUS (Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde), dos anos de 2010 a 2020 ocorreram aproximadamente 280 mil casos de internações por queimadura e corrosões, com um gasto equivalente a 450 milhões de reais ao sistema de saúde público. Sendo que anualmente ocorrem mais de um milhão de casos (VIEIRA et al., 2021).

Segundo Monteiro et al. 2021, entre 2014 e 2019, foram relatados aproximadamente 330 mil incidentes à assistência de saúde, sendo cerca de 60 mil casos de úlceras sobre pressão, em que 6.058 foram classificados como estágio 3 – perda total da espessura tecidual, em que tecido adiposo subcutâneo pode ser visível, mas não estão expostos os ossos, tendões ou músculos – e 1.868 estágio 4 – perda total tecidual com exposição. Em 2022 as lesões por pressão ocuparam a segunda posição de frequência nas notificações de incidentes à saúde (ANVISA, 2022).

Em um estudo longitudinal realizado em um município de médio porte no interior de Minas Gerais, foram calculados os gastos de tratamentos convencionais e avançados de lesões cutâneas. Ficou evidenciado que os gastos por tratamentos avançados foram sete vezes menores do que os convencionais, além de diminuir o tempo de cicatrização dos pacientes, permitindo um retorno breve e seguro às suas atividades (CORTEZ et al., 2019).

Destes tratamentos avançados de lesões, os de úlceras e queimaduras terão destaque. As úlceras são lesões abertas com perda de fluidos, causando desintegração e necrose conforme o avanço do seu estágio (PAI et al., 2016). As queimaduras são lesões que envolvem perda tecidual por transferência de energia por diversas causas, podendo ser classificadas em queimaduras de primeiro, segundo, terceiro e quarto grau de acordo com as dimensões, profundidade e camada do organismo atingida (JESCHKE et al., 2020).

Os tratamentos para estes tipos de feridas têm sido à base de curativos esterilizados e curativos teciduais, além da utilização de cremes com atividades antimicrobianas. Apesar de realizarem a função de evitar o contato de possíveis agentes externos, o uso desses

procedimentos não é ideal, uma vez que esses não fornecem condições controladas de umidade, pH e trocas gasosas necessárias para o processo de cicatrização. No caso dos cremes, aqueles que contém íons metálicos, quando em contato direto com a ferida, podem causar alergias, irritações e com uso excessivo podem-se desenvolver bactérias resistentes, dificultando a cicatrização e prolongando seu tempo, desta forma uma das alternativas para os tratamentos tradicionais é a utilização de curativos a base de membranas, hidrogéis a base de biopolímeros, como sistema de liberação (NOGUEIRA et al, 2022).

Os biopolímeros são polímeros encontrados na natureza como celulose, amido, alginato e quitina, os quais são abundantes, têm preços acessíveis, apresentam propriedades físico-químicas vantajosas, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis. Sendo assim, espera-se que a utilização de complexos de alginato e quitosana seja promissora em sistemas de liberação controlada de fármacos. Além das características elencadas, o alginato e a quitosana são homeostáticos e bacteriostáticos naturais que proporcionam um ambiente estimulante e favorável para as etapas de cicatrização, além de bloquear terminações nervosas, reduzindo a dor (PAUL; SHARMAN, 2004; CHABALA; CUARTAS; LÓPEZ, 2017).

Sendo a quitosana e o alginato polietrólitos que possuem grupos amino e carboxila, e que o alginato possui diversos métodos de reticulação para a sua preparação como hidrogel. (LEE e MOONEY, 2013), através de sua derivatização é possível alterar seus grupos funcionais a fim de promover a reticulação do complexo quitosana-alginato via base de Schiff e assim modificando suas propriedades físico-químicas e biológicas (LI et al. 2013).

Diante disso, neste trabalho são apresentados o desenvolvimento e caracterização de um curativo para uso tópico no tratamento de úlceras e queimaduras, composto por uma membrana de quitosana com alginato modificado com intenção de ser um sistema liberação do fármaco sulfadiazina de prata.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano, podendo representar até 20% da massa total, com uma área variando de 1,5 a 2 m². Ela reveste a superfície corporal e pode ser considerada como um dos primeiros mecanismos de defesa do organismo, desempenhando papéis importantes na proteção contra agressões mecânicas, tóxicas e microbiológicas, além de atuar como filtro de radiações, interface transmissora de informações sensoriais e ser uma via de excreção, têm como principal função atuar como reguladora da homeostase corporal. Quanto à sua morfologia, a pele está dividida em três camadas diferentes, a epiderme, derme e hipoderme, que, em relação aos seus funcionamentos, estão todas relacionadas (CESTARI, 2012; JUNQUEIRA, 2018; PAWLINA, 2021).

2.1.1. Morfologia

2.1.1.1. Epiderme

A epiderme é a camada externa, composta de um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado – várias camadas de células achatadas justapostas –, avascular com sua espessura de valor variável dependendo do local observado, sendo mais espessa em regiões como a palma da mão, a planta do pé e em algumas articulações com valores de até 5 mm; e mais fina nas demais regiões, como pálpebras, parte superior das costas etc., com valores de até 1,0 mm. A sua composição é dada por células especializadas, como melanócitos, células de Langerhans, células de Merkel e queratinócitos, desta forma, sua estratificação é dada em camadas, sendo elas, da mais profunda à mais superficial: basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (BRASIL. Ministério da Saúde, 2002; JUNQUEIRA, 2018; PAWLINA 2021).

A camada basal, localizada na junção dermo-epidérmica, contém células-tronco, denominadas de queratinócitos, originadas pela divisão mitótica. À medida que se aproximam da superfície da epiderme, tornam-se achatadas e passam a produzir e acumular dentro de si quantidades crescentes de queratina, se modificando progressivamente e contribuindo para a formação das camadas seguintes até a formação da córnea. As demais camadas apresentam funções diferentes em relação ao achatamento e queratinização da célula. Na camada espinhosa as células são maiores que na camada basal e apresentam prolongamentos

ou espinhos que estão justapostos devido aos desmosomas, conferindo à pele resistência mecânica. Na camada granulosa os queratinócitos estão em conformações de polígonos achatados e contêm grânulos de querato-hialina, que têm como função condensar os tonofilamentos necessários na formação da camada córnea. Além disso, essa camada apresenta grânulos lamelares com bicamadas lipídicas que formam uma barreira contra penetração de substâncias e tornam a pele impermeável à água, consequentemente evitando a desidratação do organismo. O estrato lúcido, identificado somente em pele espessa, apresenta processo de queratinização avançado, onde as células não apresentam mais núcleo e são eosinofílicas, conferindo à pele proteção contra agentes microbiológicos. O estrato córneo é a camada mais superficial da pele, com espessura variável que consiste em células anucleadas e preenchidas com filamentos de queratina que correspondem ao fim da diferenciação celular epidérmica, conferindo de fato a resistência mecânica, elasticidade e impermeabilidade da pele. Este processo de maturação ou de renovação da epiderme é de aproximadamente 30 dias, dependendo da faixa etária e localidade do indivíduo (CESTARI, 2012; JUNQUEIRA, 2018; BERNARDO, SANTOS e SILVA, 2019; PAWLINA 2021).

2.1.1.2. Derme

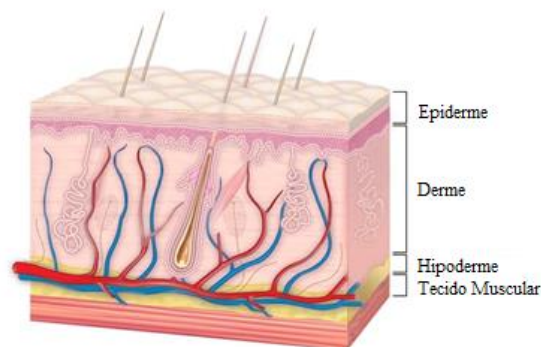
A derme é um tecido conjuntivo, denso e irregular, com espessura de até 3mm. Localizada sob a epiderme, unindo-a com a hipoderme, fornece sustentação e nutrição à epiderme. Constituída principalmente por colágeno, a derme apresenta diversas células especializadas, elastina, proteoglicanos, fibras proteicas e de reticulina, vasos sanguíneos e linfáticos, terminações nervosas, órgãos sensoriais, folicos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, conferindo variadas funções fisiológicas e patológicas à pele (JUNQUEIRA, 2018; BERNARDO, SANTOS e SILVA, 2019).

Sua divisão é dada por duas camadas, a papilar – superficial – e a reticular – profunda. A camada papilar acompanha a camada basal, sendo constituída por tecido conjuntivo frouxo, altamente vascularizado. Possui fibrilas de colágeno delgadas que prendem a derme à epiderme e tem função de favorecer nutrientes. A camada reticular ocupa aproximadamente 80% da derme, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, que contém fibrilas espessas de colágeno e tem função de fornecer os nutrientes e oxigenação para a pele (CESTARI, 2012; JUNQUEIRA, 2018; PAWLINA, 2021).

2.1.1.3. Hipoderme

A hipoderme é a camada mais profunda da pele, também denominada de tela subcutânea. Mantém a pele com a fáscia muscular dos órgãos subjacentes de maneira branda, permitindo o deslizamento da primeira. Constituída por adipócitos, células especializadas no armazenamento de gordura, sua espessura depende das condições de nutrição e da localidade do organismo, atua como armazenador energético, protetor contra choques mecânicos, isolante térmico e modelador da superfície corporal. A Figura 1 apresenta a estrutura da pele em relação às suas divisões (CESTARI, 2012; JUNQUEIRA, 2018; PAWLINA, 2021).

Figura 1 – Estrutura da pele



Fonte: Adaptado para o português de Health Library: Skin. Cleveland Clinic, 2021. Disponível em: <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/10978-skin>. Acesso em 12/11/2022

2.1.2. Feridas

Constitui-se uma ferida quando ocorre uma descontinuidade na integridade da pele provocada por traumas ou alterações patológicas, podendo estas serem classificadas em feridas agudas ou crônicas (MASSON-MEYERS et al., 2020). A primeira, advinda de cirurgias, traumas por objetos, queimaduras etc., é de curta duração, respondendo de forma contínua ao processo de cicatrização do próprio organismo e cicatrizando sem complicações quando submetida a tratamentos. Já a segunda é de longa duração e não responde de forma adequada no processo de cicatrização do organismo tampouco a tratamentos, geralmente estando associadas a doenças que interferem ou retardam o processo de cicatrização - como diabetes, úlceras de pressão e úlceras arteriais ou venosas. Uma ferida aguda pode, porém, se tornar crônica em casos de infecção e quando não há uma limpeza, hidratação e oxigenação adequadas durante a cicatrização (BRASIL 2002, Ministério da Saúde; DANTAS, TORRES e DANTAS, 2011; MACHADO et al., 2017).

2.1.2.1. Úlceras

As úlceras são lesões abertas com perda de fluidos, causando desintegração e necrose conforme o avanço do seu estágio (PAI et al. 2016). Os tipos existentes de úlceras de pele com classificação crônica são arteriais, venosas, hipertensivas, neurotróficas e de pressão.

A úlcera arterial é uma lesão originada por falta de circulação sanguínea, têm tendência de ser necrótica, multifocal e que proporciona dor independentemente do tamanho e formato da lesão. A úlcera venosa, advinda de estase venosa, insuficiência do retorno sanguíneo ao coração, ocorre frequentemente na região acima do tornozelo apresentando formato irregular, desconforto, dores moderadas e se desenvolve na maior parte dos casos em varizes e eczemas (BERSUSA e LAGES, 2008).

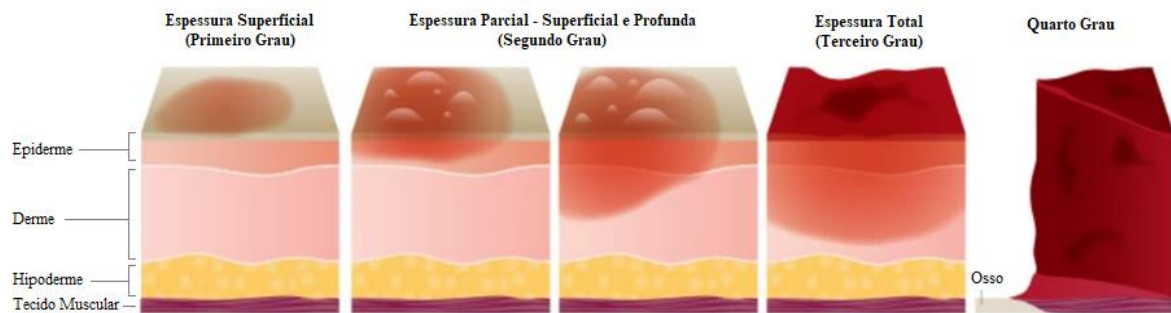
As hipertensivas, denominadas de úlceras de Martorell, estão associadas à hipertensão arterial sistêmica, geram dor desproporcional ao seu tamanho e com intensidade severa. Ocorrem principalmente nos membros inferiores, sendo multifocais e com tendência a ser necróticas. (PONTES, MACIEIRA e SOUSA, 2017). Já as neurotróficas são causadas por neuropatia periférica, perda da sensibilidade protetora, facilitando a ocorrência de lesões cutâneas nas regiões de alta pressão plantar – devido à sua patologia, a ausência de dor é característica aos seus portadores. Por fim, as úlceras de pressão são geradas por pressão contínua e prolongada em proeminências ósseas podendo ser superficiais ou profundas, levando à morte celular, podendo ocorrer com ou sem presença de dor. As prevenções e os tratamentos dependem de cada tipo de úlcera citada. Entretanto, em todos os casos, se faz necessário o uso de curativos para evitar o avanço do quadro clínico do portador da úlcera (BRASIL. Ministério da Saúde, 2002).

2.1.2.2. Queimaduras

As queimaduras são lesões que envolvem perda tecidual por transferência de energia causadas por atrito, calor, fontes elétricas, frio, produtos químicos e radiação. O tratamento leva em consideração a causa e sua classificação (Figura 2) de acordo com as dimensões, profundidade e camada do organismo atingida. Queimaduras de primeiro grau afetam apenas a parte mais superficial da epiderme, gerando dor e sem consequências estéticas; as de segundo grau são divididas em espessura parcial superficial e profunda, sendo a primeira dolorosa, exsudativa e podendo deixar cicatriz quando não tratada, enquanto a segunda proporciona menos dor em razão da destruição parcial dos receptores sensoriais, sendo secas e

deixando cicatrizes; as de terceiro grau são de espessura total, atingindo a região da derme, não são dolorosas pois ocorre a destruição total das terminações nervosas e dependem de processos cirúrgicos e de tratamentos contra infecções; nas de quarto grau, por fim onde ocorre danos em tecidos musculares e ósseos, perdendo parte da área queimada. É importante ressaltar que independente do grau da queimadura se faz necessário o uso de curativos tópicos antimicrobianos (EVERS, BHAVSAR e MAILÄNDER, 2010; JESCHKE et al., 2020).

Figura 2 – Classificação de queimaduras



Fonte: Adaptado para o português de JESCHKE et al., (2020)

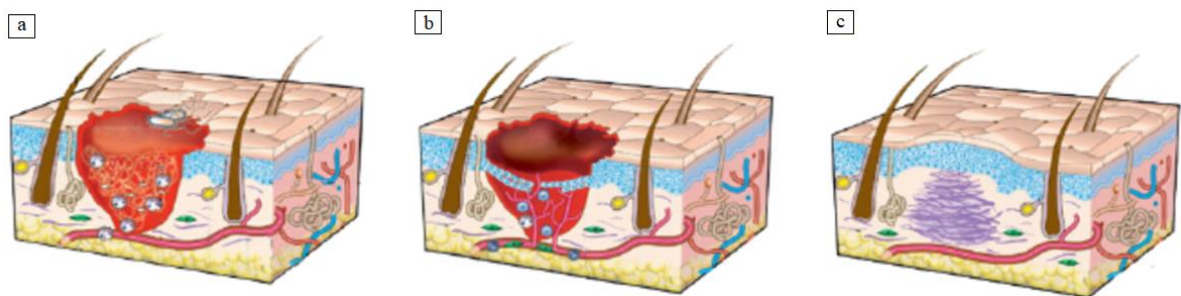
2.1.3. Cicatrização

O processo de cicatrização de feridas (Figura 3) é complexo e ocorre por uma série de ordens contínuas e dinâmicas, envolvendo eventos celulares e interações moleculares a fim de garantir a restauração tecidual. Esse processo varia de acordo com o organismo, tipo de lesão, doenças crônicas e tratamentos utilizados. Atualmente a cicatrização é dividida em três fases - inflamatória, proliferação ou granulação e remodelação ou maturação - porém estas na maior parte dos casos se sobrepõem e ocorrem simultaneamente (BROUGHTON, JANIS e ATTINGER, 2006).

A fase inflamatória ocorre após a lesão, caracterizando-se pela modificação da temperatura local, rubor em volta da região afetada, liberação de exsudato, dor e possibilidade de desenvolvimento de edema. Nesta fase ocorre a limitação da lesão, onde há a ativação do sistema de coagulação e liberação de mediadores químicos e fisiológicos para a hemostasia e formação de matriz celular provisória para dar suporte para a cicatrização tecidual. A fase de proliferação ou granulação consiste em três etapas. Começando pela granulação, em que ocorre formação de um novo tecido vascularizado com proliferação e migração de fibroblastos, células responsáveis pela produção de colágeno, que promove resistência à úlcera para evitar rompimentos. Em seguida, ocorre a epitelização, com a multiplicação das

células epiteliais na região das bordas, e, por fim, a contração, na qual se reduz o tamanho da úlcera. Por último dá-se a fase de remodelação ou maturação, em que há diminuição da densidade celular e vascularização, e ocorre uma nova deposição de colágeno organizado em relação ao colágeno produzido da fase anterior. Este processo garante, através de seu alinhamento, resistência do tecido e diminuição da espessura da cicatriz. Esta fase tem seu início logo depois da contração e pode durar meses (TAZIMA, VICENTE e MORIYA, 2008).

Figura 3 – Processo de cicatrização (a – Fase inflamatória, b – Fase de proliferação e c – Fase de remodelação.)



Fonte: Adaptado de Entenda as fases do processo de cicatrização. Vuelo Pharma, 2017. Disponível em: <https://www.vuelopharma.com/entenda-as-fases-do-processo-de-cicatrizacao>. Acesso em 18/11/2022

2.1.4. Curativos

Como o processo de cicatrização é influenciado por fatores relacionados aos tipos de ferida anteriormente citados, as características do indivíduo tais quais idade, nutrição, doenças crônicas e ao tratamento e prevenção utilizados, os curativos são um conjunto de cuidados que proporcionam segurança e conforto ao indivíduo favorecendo o processo de cicatrização. Um curativo para ser eficaz deve atender o máximo de critérios ideais possíveis, sendo a remoção do exsudato, a manutenção da umidade na interface curativo/ferida, possibilidade de trocas gasosas, auxílio na hemostasia, no controle de pH e na temperatura, fornecimento de proteção contra traumas mecânicos e agentes microbiológicos, alívio da dor e remoção sem causar traumas locais (BRASIL. Ministério da Saúde, 2002; CHABY, SENET, VANEAU, et al. 2007).

2.2. BIOPOLÍMEROS

Os biopolímeros ou polímeros naturais são polímeros produzidos por seres vivos ou advindos de matérias-primas de fontes renováveis, por exemplo polissacarídeos, peptídeos, DNA e RNA, sendo seus monômeros açúcares, aminoácidos e nucleotídeos, respectivamente.

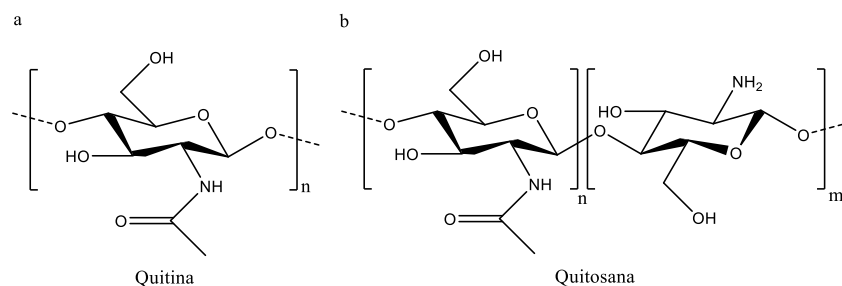
Constituem o foco deste trabalho os polissacarídeos, polímeros de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas, formadas pela condensação entre os grupos hidroxilas presentes em cada unidade monomérica com saída de uma molécula de água. As ligações são indicadas pelo número do átomo de carbono ligante e por sua estereoisomeria (VAN DER MAAREL, 2007). Dentre os polissacarídeos existentes, terão destaque o alginato de sódio e a quitosana, devido às suas propriedades físico-químicas e por apresentarem alta biocompatibilidade, ausência de toxicidade, biodegradabilidade, facilidade para a formação de membranas e géis devido a dissolução em água e em soluções ácidas diluídas, e baixo custo, tornando-os materiais promissores para o uso tópico no tratamento de feridas como agentes de liberação de fármaco (HARDING, DAVIS, DEACON e FIEBRIG, 1999; PENG et al, 2022).

2.2.1. Quitosana

A quitosana (CS) é um polissacarídeo linear, catiônico, sendo derivada da quitina – segundo polissacarídeo mais abundante depois da celulose, extraído através dos exoesqueletos de crustáceos e insetos e da parede celular de fungos e leveduras.

Sua estrutura química (Figura 4b), é constituída pela ligação glicosídica entre os copolímeros N-acetil glicosamina, $\beta(1,4)$ -2-acetamido-2-deoxy-D-glicose, relativo à quitina (Figura 4a), e D-glicosamina, $\beta(1,4)$ -2-amido-2-deoxy-D-glicose, relativo à quitina que foi submetida à uma hidrólise, também denominada de desacetilação – remoção dos grupos acetil da estrutura em meio altamente alcalino (Figura 4b bloco m), têm composições distintas dependendo do grau de desacetilação (GD) – proporção entre os copolímeros. Ainda em sua estrutura é possível evidenciar a presença dos grupos funcionais característicos tais como álcoois primários e secundários, acetamida e o grupo amino diferencial em relação a quitina que permite alterações físicas e químicas para diversas aplicações (RINAUDO 2006).

Figura 4 – Estrutura química quitina e quitosana



Fonte: Próprio Autor

Amostras de quitina, quando atingem grau de desacetilação maior que 50% começam a apresentar solubilidade em soluções levemente ácidas sendo denominadas de quitosana. Isso ocorre devido à protonação dos grupos funcionais aminos oriundos das quitinas desacetiladas, o que leva à conversão do polissacarídeo em um polieletrólito apresentando condutividade em meio ácido. A solubilidade da quitosana está relacionada à quantidade destes grupos protonados, que por sua vez acabam gerando maior repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas, ocasionando um aumento no volume hidrodinâmico da estrutura. Desta forma, quanto maior o grau de desacetilação do biopolímero, maior sua solubilidade em soluções aquosas ligeiramente ácidas (GARCIA, HIRDES, INOUE e SANTOS, 2020).

A quitosana é determinada pelo seu GD e pela sua massa molar viscosimétrica (M_v), pois estes parâmetros permitem apresentar características importantes, principalmente para a aplicação na área da saúde, tais quais: baixa toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, elevada resistência mecânica, baixa imunogenicidade, bioadesão, grupamentos reativos, carregador de substâncias hidrofílicas e capacidade de formar géis, membranas e fibras (YOUNES e RINAUDO, 2015).

Através de técnicas de secagem e com adição de surfactantes hidrofílicos, não iônicos e biocompatíveis, como Tween 80 e Pluronic F68, é possível modelar a microestrutura das membranas poliméricas de quitosana a fim de se obter poros para atender os demais requisitos de um curativo ideal, uma vez que o próprio biopolímero é promissor em boa parte dos requisitos pelas características abordadas no parágrafo anterior (GEORGE et al.2022; RINAUDO 2006).

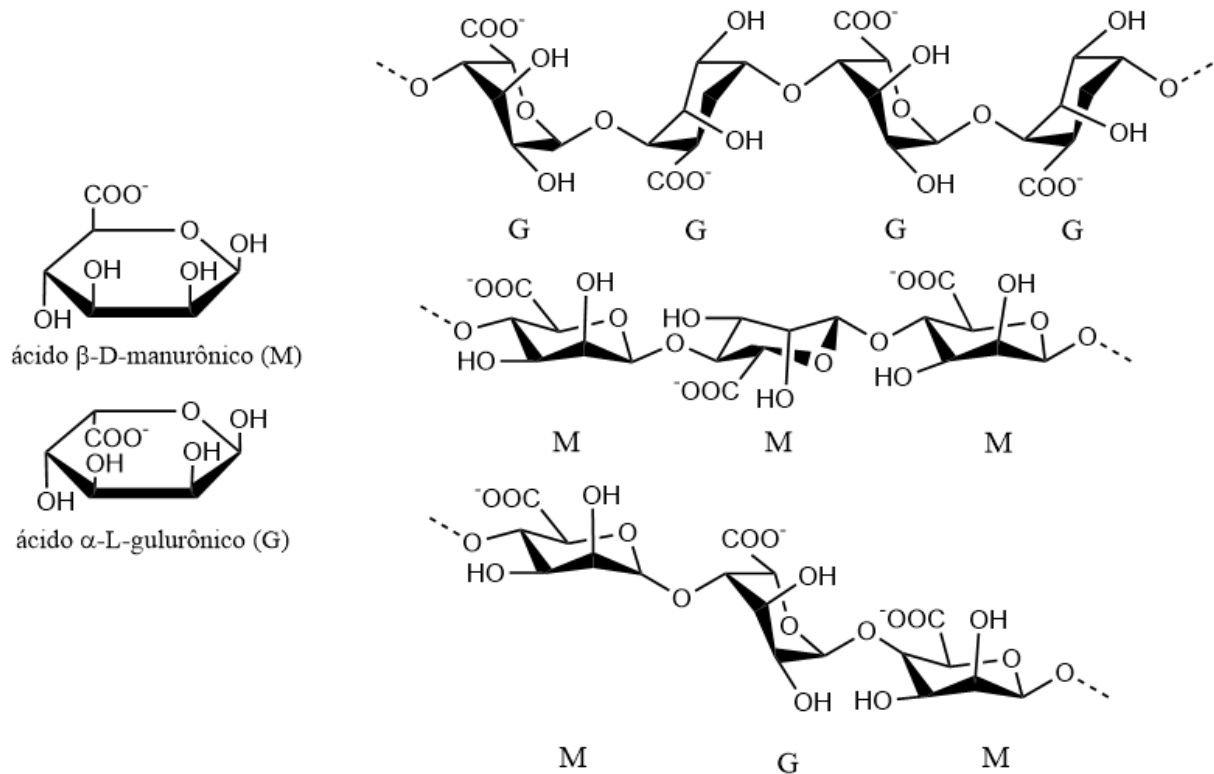
2.2.2. Alginato

O alginato é um polímero linear, aniônico e natural, obtido pela extração de algas através de tratamento com solução alcalina ou pela biossíntese bacteriana. Em ambas as vias, o extrato é filtrado e é adicionado cloreto de sódio para reter o polímero em sua forma de sal, alginato de sódio (SA). (QIN, 2007).

Em relação à sua estrutura, o alginato é um copolímero por sequência de blocos, constituído pelos monômeros ácidos α -L-gulurônicos (G) e β -D-manurônico (M) com ligação glicosídica entre os carbonos (1,4). Esses blocos estão dispostos em resíduos G consecutivos, resíduos M consecutivos e resíduo G e M alternados, a configuração do biopolímero depende da fonte de sua extração, dos teores de G e M e do comprimento de cada bloco, gerando dessa forma diversos tipos de alginato. A Figura 5 representa as estruturas dos monômeros, das

ligações entre eles e dos possíveis blocos da macromolécula (LEE e MOONEY, 2012; YANG, XIE e HE, 2011).

Figura 5 – Estrutura dos monômeros e blocos do polímero alginato



Fonte: Próprio Autor

Características apresentadas pelo alginato, como biocompatibilidade, hidroflicidade, biodegradabilidade em condições fisiológicas normais e de baixa toxicidade, estão relacionadas à proporção M/G e à sua distribuição ao longo da cadeia. Sendo assim, sua aplicabilidade é ampla, principalmente na área da saúde, devido sua capacidade de formar hidrogéis, esferas, fibras ou membranas (RINAUDO, 2014).

No que diz respeito aos hidrogéis – polímeros reticulados em redes tridimensionais capazes de reter grande quantidade de água ou fluido biológico em seu estado intumescido, são classificados pela sua natureza e pela sua reticulação, sendo a primeira dividida em origem natural, sintética ou combinação de ambas e a segunda pela via realizada podendo ser uma via química, através de ligações covalentes, ou físicas, por interações eletrostáticas. (ENAS, 2015). Os hidrogéis são sensíveis às condições ambientes, respondendo a estímulos físicos e químicos como mudança de temperatura, luz, pH, força iônica e solventes, sendo utilizado amplamente como sistemas de liberação (YANG e SUO, 2018; ENAS, 2015).

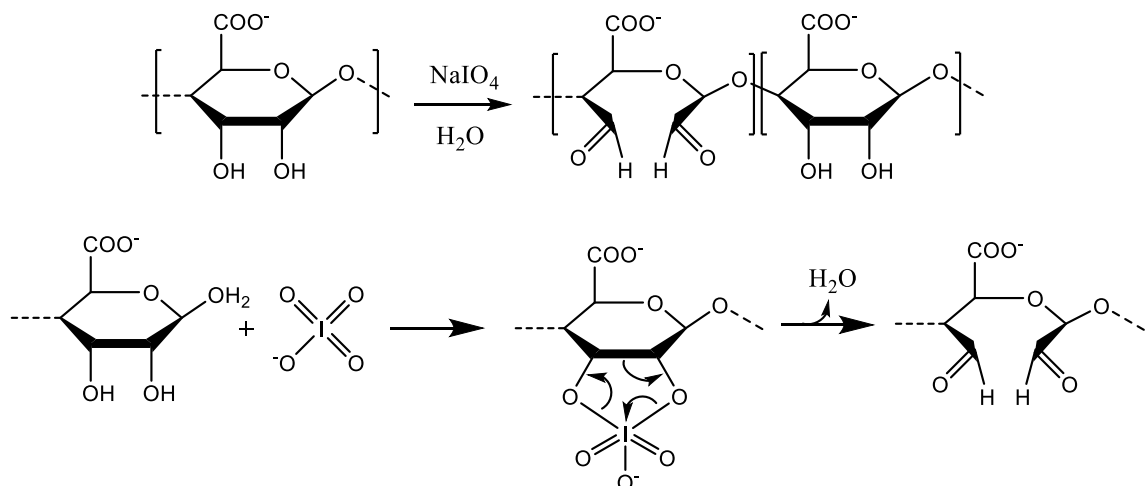
Os hidrogéis de alginato podem ser obtidos pela gelificação ionotrópica por cátions bivalentes, entretanto esse tipo de reticulação possui estabilidade limitada em processos fisiológicos normais (LEE e MOONEY, 2012). Desta forma, neste trabalho optou-se pela reticulação covalente, através da oxidação do alginato por periodato de sódio, afim de promover a junção com a quitosana por bases de Schiff, obtendo um material mecanicamente mais resistente e com controle mais rígido quanto sua degradação como sistema de liberação.

2.2.2.1. Derivatização do Alginato por Periodato

Os grupos funcionais hidroxilas e carboxilas encontrados ao longo da estrutura do alginato permitem modificações funcionais por meio de reações de amidação, esterificação, oxidação e sulfatação (EMAMI, EHSANI, ZANDI e FOUDAZI, 2018).

A derivatização oxidativa do alginato por periodato leva à obtenção do alginato oxidado (OSA) representado pela (Figura 6). Ela ocorre nas hidroxilas nas posições C2 e C3 das unidades urônicas, gerando dialdeídos e conseqüentemente diminuindo a resistência da cadeia polimérica, tornando o alginato mais reativo e mais rápido em relação à sua degradação quando utilizado como suporte para liberação controlada de fármacos (GOMEZ, RINAUDO e VILLAR, 2007).

Figura 6 – Mecanismo de oxidação do alginato via periodato de sódio



Fonte: Próprio Autor

Através desta oxidação, o alginato além de manter sua via de reticulação por cátions bivalentes com seus grupos carboxilatos formando géis físicos, pode através dos grupos aldeídos formados reticular-se via base de Schiff em presença de grupos aminas, como os da

quitosana, gerando géis químicos. Ambas as vias são representadas na Figura 7 (YANG, XIE e HE, 2011; EMAMI, EHSANI, ZANDI e FOUDAZI, 2018).

Figura 7 – Reticulação física e química do Alginato Oxidado com Quitosana

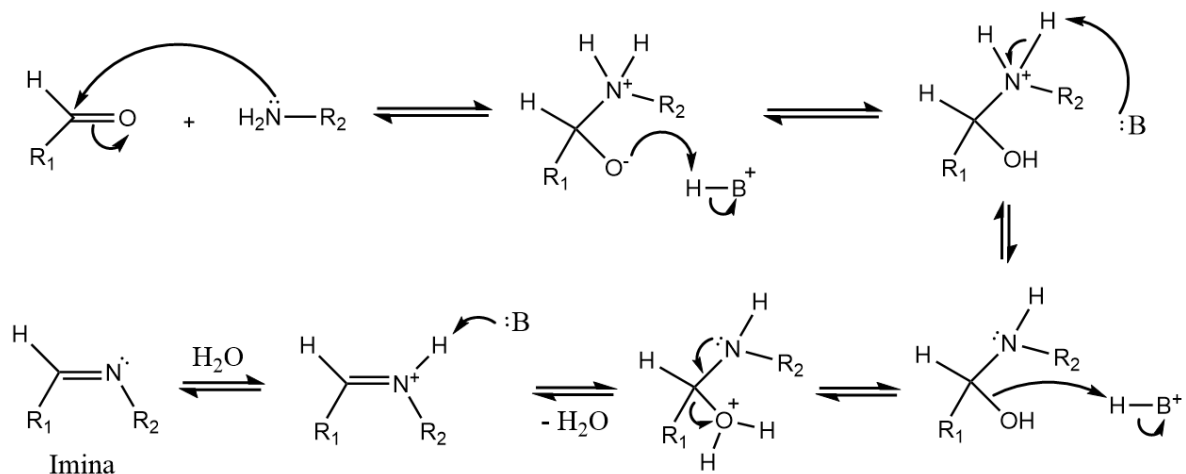


Fonte: Adaptado do esquema de LAWRIE et al, (2007).

2.2.3. Base de Schiff para junção Quitosana e Alginato

A reação de base de Schiff (Figura 8) ocorre entre compostos carbonílicos altamente eletrofílicos, como cetonas ou aldeídos, e com aminas primárias fortemente nucleofílicas, formado o grupo funcional imina com liberação de uma molécula de água. Esse grupo funcional apresenta atividades biológicas como antibacterianas e antifúngicas (SILVA et al., 2011).

Figura 8 – Mecanismo de reação genérica de bases de Schiff



Fonte: Próprio Autor

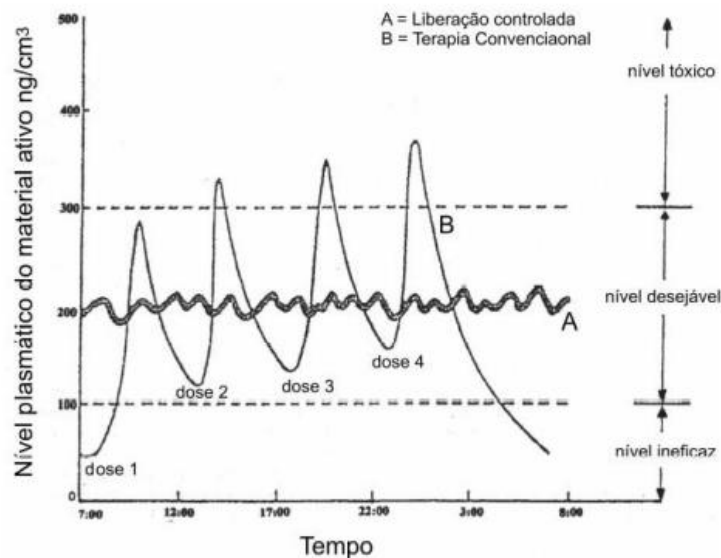
Devido ao fato das estruturas dos polímeros CS e OSA apresentarem os grupos funcionais para a reação apresentada no parágrafo anterior, a reticulação covalente apresentada na Figura 7 pode ser verificada no mecanismo da Figura 8. Deste modo a junção

para a formação do complexo polieletrólítico abordado neste trabalho do polímero catiônico CS e do polímero aniônico OSA ocorreu via base de Schiff em meio ácido, básico e PBS.

2.3. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO

Um sistema de liberação de fármacos tem como função prolongar o tempo e manter a concentração da liberação do fármaco dentro da janela terapêutica, respondendo diretamente aos estímulos fisiológicos em relação à área danificada, como pH, luz, força iônica, estímulos magnéticos e temperatura. Esses fatores podem induzir, mediante sua variação, a degradação dos biopolímeros, os quais, quando com o fármaco incorporado, irão liberá-lo de forma controlada, se mantendo na zona terapêutica que o processo de cicatrização necessita, diferente dos métodos convencionais de administração de fármacos que dependem de doses para retomar os picos máximos de absorção para obter uma média efetiva (FIGUEIREDO, DIAS e ARRUDA, 2008; SWARBRICK, 2007.). A Figura 9 representa graficamente uma comparação da concentração do fármaco entre métodos convencionais e sistemas de liberação.

Figura 9 – Comparação de sistemas de liberação (A) de fármaco em relação aos métodos convencionais (B)



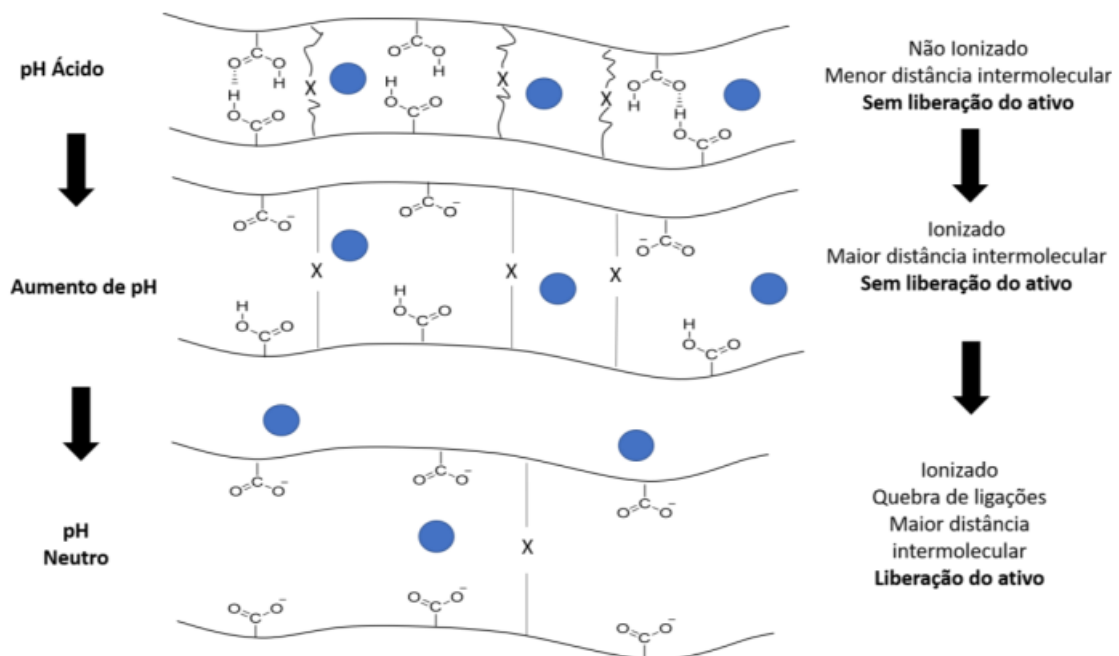
Fonte: Graham, (1978)

O sistema de liberação proposto neste trabalho ocorre por polímeros sensíveis a variação do pH, devido aos grupos funcionais em sua cadeia como grupos ácidos, carboxilas, e grupos básicos, aminas. Estes grupos podem ser protonados ou desprotonados, alterando sua

capacidade de interação com outras moléculas como fármacos (CACURO e WALDMAN, (2018).

De acordo com Gethin (2007), o pH atua ativamente no processo de cicatrização e no ambiente das feridas, sendo que uma ferida aguda ou crônica avança de um pH alcalino para neutro e em seguida para ácido durante a cicatrização. Considerando este processo e a sensibilidade dos polímeros ao pH (Figura 10), os materiais desenvolvidos neste trabalho tornam-se promissores para sua utilização como curativos tópicos.

Figura 10 – Esquema representativo de intumescimento de hidrogel para formulações de liberação de drogas usando hidrogéis sensíveis a pH. As reticulações estão representadas por -X- e o ativo pela esfera azul.



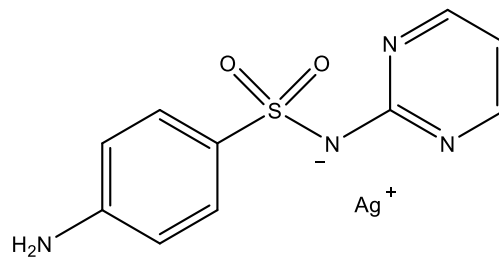
Fonte: Adaptado de CACURO e WALDMAN, (2018).

2.4. SULFADIAZINA DE PRATA

O fármaco sulfadiazina de prata Ag-SD (Figura 11) é um agente cicatrizante e antimicrobiano para tratamento de feridas, queimaduras, úlceras e infecções cutâneas. O seu princípio ativo se dá tanto pela prata em sua forma solúvel Ag⁺ como pela sulfadiazina, atingindo tanto o DNA microbiano como as estruturas físicas, desta forma impedindo a replicação bacteriana e enfraquecendo as bactérias já existentes no local. (FULLER, 2009)

O fármaco, entretanto, possui curta duração, sendo necessárias reaplicações durante o tratamento, o que pode ocasionar em usos indiscriminados, cortes da zona terapêutica do medicamento e possivelmente aumentar a resistência das bactérias. (MOSER et al., 2013)

Figura 11 – Molécula sulfadiazina de prata (Ag-SD).



Fonte: Próprio Autor

O uso do fármaco, como abordado no parágrafo anterior, pode ocasionar efeitos indesejáveis durante o processo de cicatrização. Desta forma, outros tratamentos, como o sistema de liberação via hidrogel abordado no tópico anterior, visa a manter a atividade antimicrobiana sem excesso de fármaco para as demais células danificadas.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Desenvolver membranas biocompatíveis de hidrogel à base de quitosana e alginato, proporcionando através de suas características estruturais e físico-químicas um sistema de incorporação e liberação do fármaco sulfadiazina de prata para ser utilizado de forma tópica em tratamentos de feridas crônicas e agudas.

3.2. ESPECÍFICOS

- Obter membranas de quitosana com presença e ausência de surfactantes;
- Derivatizar alginato com periodato de sódio;
- Preparar hidrogel quitosana-alginato via base de Schiff em meio ácido, básico e PBS;
- Comparar as membranas obtidas em relação ao curativo ideal proposto pela literatura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Os reagentes utilizados para o procedimento de preparo das membranas foram: Quitosana (CS) fornecida pela área de Inorgânica do Departamento de Analítica, Físico-Química e Inorgânica do IQAr/UNESP; Ácido acético glacial P.A (Êxodo Científica) para solubilização da Quitosana; Pluronic[®]F-68 (Sigma-Aldrich) e Tween[®]80 (Sigma-Aldrich) utilizados como surfactantes para comparação da formação de poros das membranas em presença e ausência destes.

Para o procedimento do hidrogel os materiais utilizados foram: Alginato de sódio (SA) (Êxodo Científica); Água Mili-Q, obtida pelo sistema Direct-Q 3UV, utilizado para solubilização do polímero; Meta Periodato de Sódio (Êxodo Científica) como agente oxidante; Mono-etilenoglicol P.A (Neon) para encerrar o processo de derivatização realizado; Membrana de dialise de celulose de 33mm (Sigma-Aldrich) e água deionizada para o processo de dialise do hidrogel.

Os demais reagentes utilizados para os métodos de caracterização e junção Quitosana-Alginato Oxidado foram: Ácido Clorídrico 37% P.A (Neon); Hidróxido de Sódio em Lentilhas (Mallinckrodt Chemicals); Acetato de sódio cristalino (Merck); Cloridrato de Hidroxilamina ACS (Merck) e Tampão fosfato PBS pH 7,4 (Sigma-Aldrich) sendo este utilizado somente no processo de junção Quitosana-Alginato Oxidado.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Grau de Desacetilação (GD) da quitosana por condutometria

O Grau de desacetilação permite determinar a quantidade de grupos aminos ao longo da cadeia polimérica, de acordo com o procedimento descrito por Raymond et al., 1993, a utilização de titulações condutimétricas – substituição de íons com condutividades diferentes, se torna promissora para essa caracterização por ser eficiente e de baixo custo em relação a técnicas como RMN H¹, UV-Vis e FTIR utilizada em outros relatos pela literatura (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012).

Com base nesse método, para o processo de titulação, realizado em triplicata, 0,025g de quitosana foram dissolvidos em 5mL de HCl (0,1M) com adição de 10mL de água

deionizada, totalizando em 15mL o volume da solução, após 24h em constante agitação, foi realizada a titulação condutometria com o titulante NaOH (0,09905M) previamente padronizado.

A titulação foi conduzida em temperatura ambiente sob agitação lenta e constante, as variações de condutividade foram medidas em adições de 0,2mL de titulante, os dados coletados foram utilizados para a construção da curva de titulação de condutância $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ por adição de volume de NaOH. O cálculo do grau de desacetilação foi obtido pela Equação 1 descrita por Inoue et al., (2020).

$$GD = \frac{16,1 * \Delta V * C * 10^{-3}}{m}$$

Equação 1

Onde, ΔV é o volume de NaOH consumido, em mL; C é a concentração da solução titulante, em $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; m é a massa de CS, em gramas; 16,1 é a fração molar da quitosana.

4.2.2. Cromatografia por exclusão de tamanho

A massa molecular média (M_w) da quitosana foi determinado em um cromatógrafo por exclusão de tamanho (SEC) da Malvern Instruments, modelo VISCOTEK GPC/max com os detectores de índice de refração da Malvern Instruments, modelo Viscotek RImax e de UV/Vis marca Knauer, modelo UVD 2.1s acoplados, os dados foram obtidos pelo software OMINISEC.

Foi preparado uma solução de 3mg/mL de quitosana em água e filtrada em membrana de 0,4 μm . Para a realização da análise foram utilizadas três colunas cromatográficas de água da marca Shodex, modelo SB-806 HQ, o fluxo de injeção de tampão acetato pH 4,5 foi ajustado para razão de 0,6 mL/min e a temperatura durante a detecção foi mantida em 55°C. A curva de calibração foi obtida através de mix de padrões de PEO poli(óxido de etileno), com massa moleculares compreendidas entre 492000 e 195 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

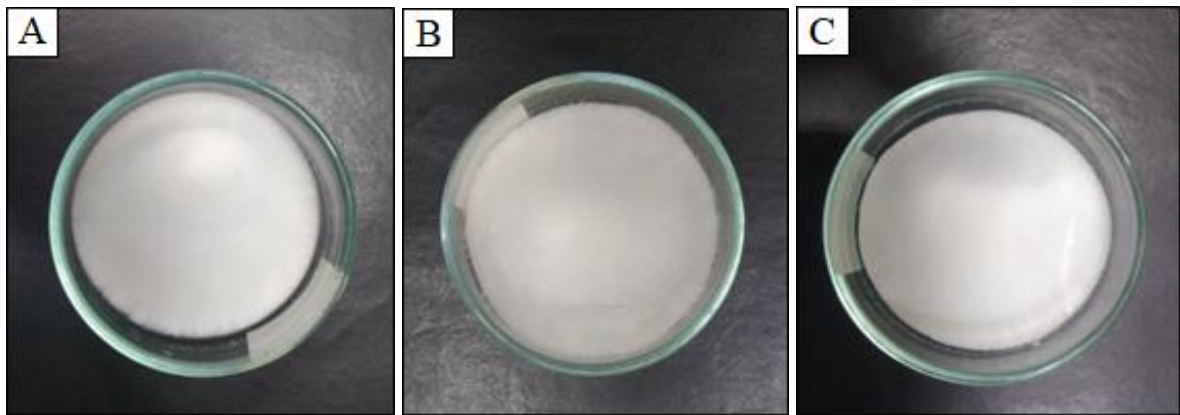
4.2.3. Preparo das membranas de quitosana

As membranas de Quitosana (Figura 12) foram sintetizadas baseado na estrutura proposta por Bellini et al. 2012, desta forma, o polímero foi solubilizado em presença e

ausência de surfactantes. Inicialmente foi preparada uma solução de Ch 1% (m/m) em ácido acético 2% (v/v), totalizando 30mL de solução com 0,3 gramas de Ch, sobre constante agitação por 24h em temperatura ambiente. Em seguida a solução de Ch foi dividida em três alíquotas de 10mL para a adição dos surfactantes, Tween[®]80 e Pluronic[®]F-68 (0.75%, m/m) sob agitação por 30min;

As soluções preparadas na ausência e na presença dos surfactantes foram dispostas em placas de petri com diâmetro interno de 4,5cm medido por um paquímetro. Em seguida foram desgaseificadas por uma bomba a vácuo, para eliminação de bolhas de ar no material, posteriormente foram congeladas por 24h e liofilizadas por 48h para a formação das membranas.

Figura 12 – Membranas de Quitosana com Pluronic[®]F-68 (A), Quitosana (B), e Quitosana com Tween[®]80 (C) em placas de petri de diâmetro interno de 4,5cm.



Fonte: Próprio Autor.

4.2.3.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das membranas

Para os ensaios de microscopia eletrônica de varredura (MEV) as membranas liofilizadas de Quitosana com Pluronic[®]F-68, Quitosana e Quitosana com Tween[®] 80 foram cortados com um bisturi. As amostras foram colocadas perpendicularmente em relação ao corte no suporte com fita de carbono e em seguida recobertas com ouro afim de torná-las condutivas. A captura das imagens ocorreu no microscópio eletrônico de varredura de alta resolução de emissão de campo (MEV-FEG), marca JOEL, modelo JSM-7500F.

4.2.4. Derivatização do alginato por periodato

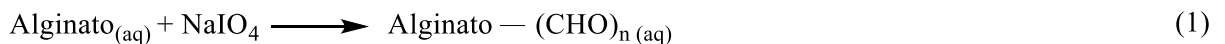
Para o processo de derivatização do alginato por NaIO₄ foi utilizada a metodologia descrita por Emami et al. (2018). Foi preparada uma solução aquosa de 20g/L de alginato de sódio, volume total de solução 25mL, mantida em agitação por 24h para solubilização do polissacarídeo. Para a derivatização, a proporção utilizada de metaperiodato de sódio (NaIO₄) para unidade de repetição de alginato foi de 2,5 mol.% equivalente à 5,3472g em agitação constante por 24h no escuro à temperatura ambiente. Em seguida, para encerrar a oxidação, foi adicionado 1,5ml de mono-etilenoglicol por 30min sob agitação. A solução resultante foi dialisada por uma membrana de celulose com poros de 14kDa em água deionizada com trocas consecutivas por três dias, em seguida a solução resultante foi congelada e liofilizada.

4.2.4.1. Determinação do grau de oxidação por potenciometria

O grau de oxidação é a porcentagem de unidades monossacarídicas oxidadas, neste caso do alginato, sendo determinado pelo teor de aldeídos formados pela derivatização com NaIO₄. Desta forma, foi realizado o método de titulação potenciométrica descrita por Yan et al (2014), o procedimento foi realizado em triplicata.

Uma massa de 0,010g de OSA foi dissolvida em 15mL de Cloridato de Hidroxilamina (0,1M), a solução formada foi agitada por rolamento em baixa velocidade por 24h, para garantir o intumescimento e preservar a estrutura do polissacarídeo, em seguida a solução foi titulada em adições de 0,5ml do titulante NaOH (0,09234M) padronizado.

As equações químicas envolvidas no processo de oxidação do alginato (1), formação de oxima liberando HCl (2) e neutralização do HCl liberado (3) estão apresentadas abaixo.



A equação 2 foi utilizada para calcular o grau de oxidação (YAN et al., 2014):

$$\text{Grau de oxidação} = \frac{198,11 * \Delta V * C * 10^{-3}}{2 m}$$

Onde, ΔV é o volume de NaOH consumido, em mL; C é a concentração da solução titulante, em mol.L⁻¹; m é a massa de OSA, em gramas; 198,11 é a massa molar da unidade urônica, em g.mol⁻¹.

4.2.5. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR é amplamente utilizada para caracterização de polímeros, identificando grupos específicos e possíveis interações entre eles. Neste trabalho, esta técnica foi utilizada para confirmar a oxidação do alginato, caracterizar a quitosana e as bases de Schiff entre CS e OSA, a técnica FTIR foi realizada na região média, entre 500 e 4000cm⁻¹, com resolução de 4cm⁻¹ e 32 scans. Os espectros de transmitância foram obtidos através de um espectrofotômetro da Perkin Elmer, modelo Frontier com acessório de ATR.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

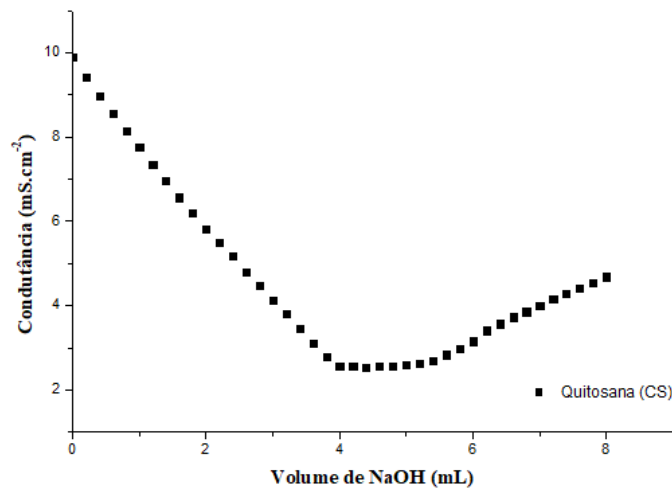
5.1. QUITOSANA

A quitosana (CS) foi caracterizada através das análises: condutimétrica, SEC e espectroscopia no FTIR, com o objetivo de determinar seus parâmetros, sendo estes o grau de desacetilação, M_w , e sua estrutura para comparação posterior à formação das bases de Schiff.

5.1.1. Condutimetria

A titulação condutimétrica da amostra de quitosana pode ser observada através da Figura 13, onde podem ser observados três regiões de inclinações, sendo a primeira região com ponto de inflexão (V_1) representando a neutralização do ácido presente na solução, a segunda região com ponto de inflexão (V_2) referente à neutralização dos grupos aminos protonados da quitosana e por último o excesso de solução do titulante utilizado após o ponto de equivalência (RAYMOND; MORIN; MARCHESSAULT, 1993).

Figura 13 – Titulação condutimétrica da quitosana (CS)



Fonte: Próprio Autor.

Utilizando o método dos mínimos quadrados (MMQ) foi possível obter as equações de reta referente as regiões obtidas durante a titulação, representados na Tabela 1. Pela relação as equações de reta, $Y_1 = Y_2$ obtém-se o X correspondente a V_1 e relacionando $Y_2 = Y_3$ obtém o X referente a V_2 (RAYMOND; MORIN; MARCHESSAULT, 1993; RINAUDO, 2006).

Tabela 1 – Equações de reta das regiões obtidas na curva condutimétrica.

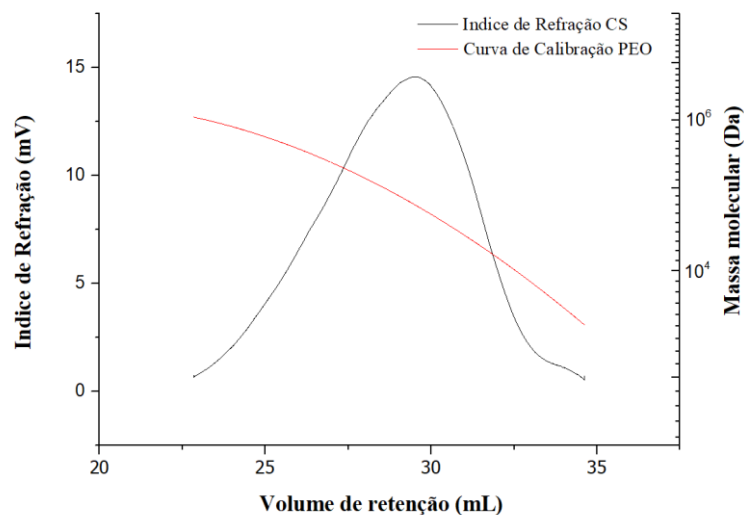
Quitosana (CS)	Equação de Reta	R ²
Região 1	$y_1 = -1,850 x + 9,662$	0,9974
Região 2	$y_2 = 0,039 x + 2,395$	0,3808
Região 3	$y_3 = 0,737 x - 1,461$	0,9941

Fonte: Próprio Autor.

Os valores de V_1 e V_2 foram respectivamente 3,85mL e 5,23mL, a diferença entre esses valores representa o consumo de titulante para neutralizar os grupos aminos protonados da quitosana (ΔV), que conforme com a Equação 1 foi possível determinar o valor de GD da quitosana, sendo o resultado obtido igual a 87,89% sendo considerado como elevado grau de desacetilação, que pelos estudos de Kumar et al. 2005, quitosanas com altos valores de GD apresentam altos níveis antifúngicos.

5.1.2. Cromatografia por exclusão de tamanho (SEC)

A massa molar (M_w) da quitosana foi determinada em função do volume de eluição pela técnica SEC. O tratamento dos dados representado na figura 14, foi realizado pelo mesmo software de obtenção da análise. Utilizando a curva de calibração do PEO e sendo o volume de retenção da quitosana igual a 29,55mL, o valor obtido pela análise para o M_w foi de 154.321 Da, esse valor é considerado como de baixo peso molecular para a quitosana (MANO e MENDES, 2004).

Figura 14 – Cromatografia por exclusão de tamanho da quitosana (CS)

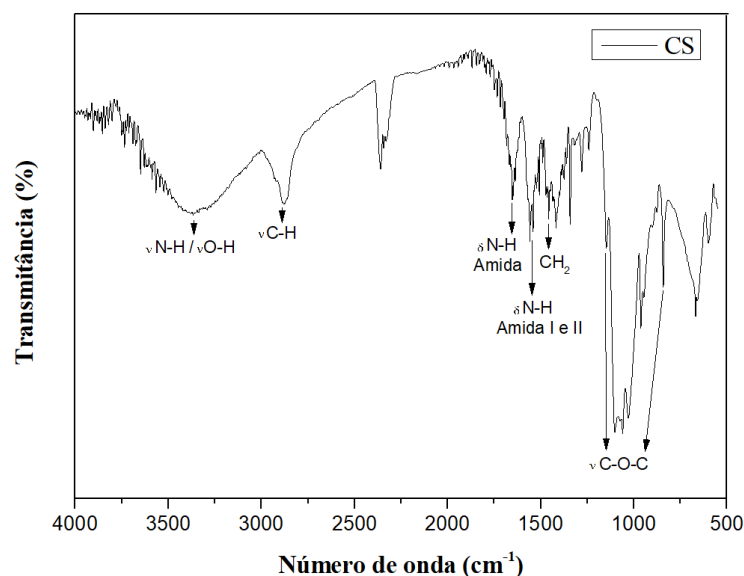
Fonte: Próprio Autor.

Em estudos realizados por Zhu e Zheng em 2003, relatam que o aumento de M_w da quitosana aumenta sua atividade antimicrobiana para as Gram-negativas, sendo para estas, inibição de 100% ao uso de quitosanas de médio peso molecular enquanto para as Gram-positivas o efeito de inibição ocorre acima de 40kDa. Além deste parâmetro foi possível determinar o M_n que pela curva é igual à 40.813 Da, através da razão de M_w e M_n obtém-se o valor de polidispersão que, neste caso, equivale a 3,78 sendo assim uma distribuição heterogênea das cadeias poliméricas da quitosana (MANO e MENDES, 2004).

5.1.3. Análise no FTIR

A Figura 15 apresenta o espectro na região do infravermelho para a quitosana. As bandas identificadas foram: Banda larga entre 3500 e 3200 cm^{-1} referente às vibrações dos grupos hidroxilas e estiramentos N-H (CHOO et al., 2016); em 2928 cm^{-1} e 2888 cm^{-1} são atribuídas para as vibrações assimétricas e simétricas dos estiramentos C-H respectivamente (PAWLAK e MUCHA, 2003); bandas características da quitosana em 1653 cm^{-1} referente à vibração do grupo carbonila da amida, em 1559 cm^{-1} estiramento do grupo amida e 1539 cm^{-1} associado ao dobramento de N-H das amidas (LAWRIE et al., 2007); em 1419 cm^{-1} e 1367 cm^{-1} apresentam dobramento de CH_2 devido a deformação angular dos C-H e de deformação simétrica do CH_3 (PAWLAK e MUCHA, 2003); 1055 cm^{-1} atribuído ao estiramento da amida C-O (CHOO et al., 2016); e 1146 cm^{-1} e 840 cm^{-1} referente a ligação glicosídica -C-O-C e grupo CH_3COH que estão relacionadas à estrutura da sacarina (LAWRIE et al., 2007).

Figura 15 – Espectroscopia na região do infravermelho para a quitosana (CS)



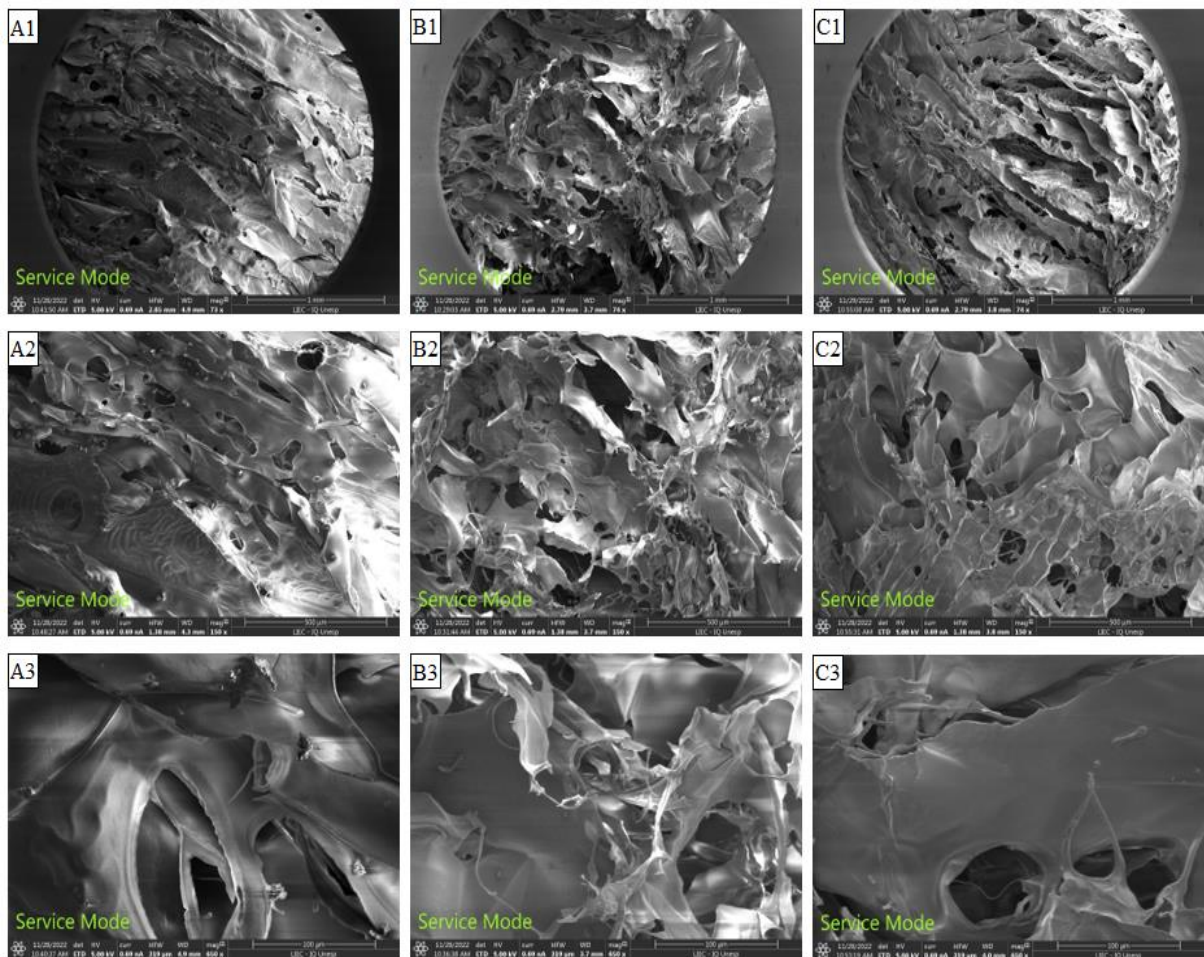
Fonte: Próprio Autor.

5.2. MEMBRANAS DE QUITOSANA

5.2.1. Análise por MEV

A Figura 16 apresenta as micrografias das membranas de Quitosana com Pluronic[®]F-68 (A), Quitosana (B) e Quitosana com Tween[®]80 (C), em magnitudes x75 (1) com imagens de 1mm, x150 (2) equivalente a 500 μ m e x650 com resolução de 100 μ m.

Figura 16 – Imagens MEV das membranas de Quitosana com Pluronic[®]F-68 (A), Quitosana (B), e Quitosana com Tween[®]80 (C)



Fonte: Próprio Autor.

As membranas de quitosana de acordo com a Figura 16, apresentaram configuração diferente em comparação aos relatos da literatura (RINAUDO, 2006; VÁZQUEZ, 2015) podendo ser justificado pela dispersão heterogênea do material e pelo método de síntese.

O efeito dos surfactantes na porosidade e homogeneidade da estrutura pode ser verificado, principalmente pelo Tween[®]80 devido ao tamanho de suas moléculas em comparação ao Pluronic[®]F68 serem menores, permitindo maior porosidade aparente nas membranas (BUENO e MORAES, 2011).

Apesar dos efeitos estruturais dos surfactantes, vale ressaltar que as propriedades biológicas têm um impacto considerável uma vez que estes surfactantes podem continuar como resíduos na membrana, ambos surfactantes são biocompatíveis, principalmente o Pluronic[®]F68 (RODEHEAVER et al., 1980)

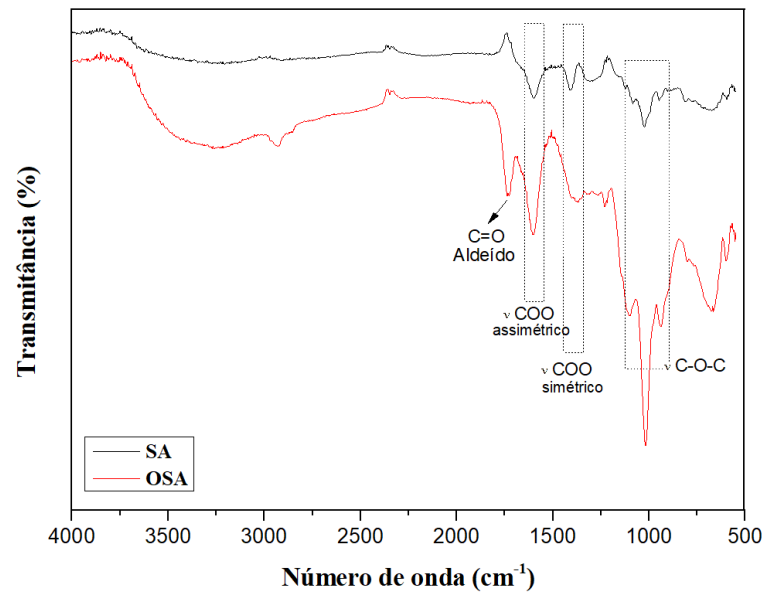
5.3. DERIVATIZAÇÃO DO ALGINATO

Os métodos que foram utilizados para comprovar e quantificar a modificação realizada na estrutura do alginato (SA) pelo NaIO₄ obtendo como produto o OSA foram FTIR e potenciometria respectivamente.

5.3.1. Análise no FTIR

A figura 17 apresenta os espectros na região do infravermelho para o alginato (SA) e para o alginato oxidado (OSA). As bandas identificadas em um sistema de comparação entre as estruturas foram: 1600 cm⁻¹ e 1405 cm⁻¹, características do alginato, são referentes à assimetria e simetria do estiramento dos grupos carboxila respectivamente (MUHAMMAD et al, 2020), continuam presentes na estrutura do OSA, sendo assim a oxidação via NaIO₄ não aconteceu nos grupos carboxilas; em 1102 cm⁻¹ e 805 cm⁻¹ atribuídas ao estiramento simétrico do grupo éter cíclico C-O-C, quando no OSA apresentam maior intensidade devido ao rompimento intramolecular das sacarinas (JEJURIKAR et al., 2012); Por fim, a formação de uma banda em 1736 cm⁻¹ no OSA em relação ao SA indicando a presença de grupos aldeídos na estrutura derivatizada (MAITI et al., 2009; JEJURIKAR et al., 2012 e MUHAMMAD et al., 2020).

Figura 17 – Espectroscopia na região do infravermelho para a alginato (SA) e alginato oxidado (OSA)

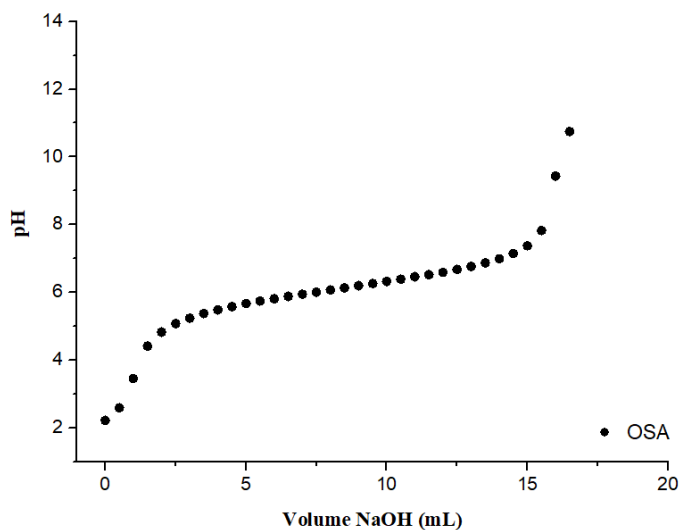


Fonte: Próprio Autor.

5.3.2. Potenciometria

Foi utilizado a titulação com cloridrato de hidroxilamina para determinar o grau de oxidação do alginato. O cloridrato de hidroxilamina reage com os grupos aldeídos previstos pela derivatização, liberando ácido clorídrico no meio da solução de forma proporcional aos grupos aldeídos existentes na estrutura, desta forma através da titulação potenciométrica com NaOH obteve-se a curva potenciométrica da Figura 18 (YAN et al., 2014).

Figura 18 – Curva Potenciométrica referente ao OSA



Fonte: Próprio Autor.

Pelo MMQ da curva obteve-se as equações de reta que, quando igualadas no eixo do pH, obtém-se o valor do ponto de inflexão, correspondente ao volume de base consumida, utilizado na Equação 2 (GOMEZ, RINAUDO e VILLAR, 2007). A Tabela 2 apresenta as equações, volume e grau de oxidação obtidos pelo método.

Tabela 2 – Equações, volume e grau de oxidação do OSA

Equação de Reta	R²	V_{NaOH} (mL)	Grau de oxidação (%)
$y_1 = 0,15771 x + 4,73138$	0,9805	15,27	13,97
$y_2 = 3,22 x - 42,3567$	0,9926		

Fonte: Próprio Autor.

O grau de oxidação obtido está relativamente próximo aos dados propostos no trabalho de Jeon et al, 2012. A variação do valor pode ser consequência de fatores como alta massa molar e concentração do alginato evitando a reação com o periodato e formação de grupos hemiacetais intramolecular e intermolecular através de hidroxilas vicinais e carbonos do grupo aldeído. Para melhorar o grau de oxidação da síntese, propostas como adição de sais para diminuir a força iônica ou adição de uma etapa de redução com NaBH₄ são propostas pela literatura (EMAMI et al., 2018; GOMEZ, RINAUDO e VILLAR, 2007).

5.4. BASE DE SCHIFF QUITOSANA/OSA

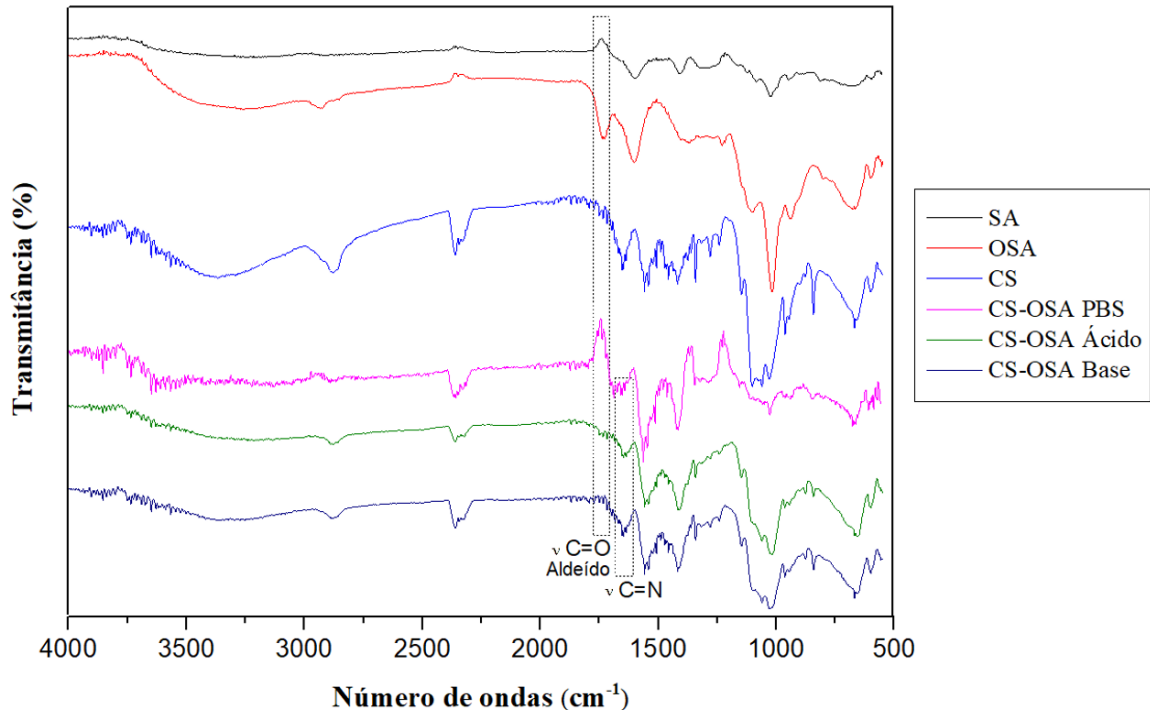
Dentro da proposta deste trabalho para a formação de um curativo tópico a base de biopolímeros inteligentes, a reticulação via base de Schiff entre quitosana e alginato oxidado se faz necessária e pode ser verificada pela espectroscopia FTIR.

5.4.1. Análise no FTIR

O espectro apresentado na Figura 19, reúne as análises FTIR do SA, OSA e CS, discutidos anteriormente, além de apresentar junções CS-OSA em meio PBS pH = 7,4, ácido pH = 3 e básico pH = 10. Em relação as bandas no infravermelho o OSA apresenta grupos aldeídos representados em 1736 cm⁻¹ o quais foram suprimidos após reticulação com a CS enquanto em 1624 cm⁻¹ apresenta formação de estiramento C=N atribuído à formação das imidas, bases de Schiff (CHEN et al., 2021). Em todos os meios foi possível observar tal formação, em destaque o meio em PBS, que de acordo com os estudos de Chen et al., 2021,

Yan et al., 2022 e Antony, Arun, Manickam, 2019, apresenta melhores condições para os biopolímeros em questão devido aos valores de pka dos grupos envolvidos na reação.

Figura 19 – Espectro na região do infravermelho para verificação da Base de Schiff entre CS e OSA



Fonte: Próprio Autor.

6. CONCLUSÃO

A quantificação dos parâmetros da quitosana e da modificação do alginato por técnicas analíticas demonstraram eficiência em relação ao tempo de análise, reprodutibilidade e exequibilidade. Os parâmetros obtidos permitiram pelos dados da literatura uma relação sólida das propriedades dos biopolímeros utilizados quanto as necessidades do processo de cicatrização da pele.

As imagens obtidas por MEV para as membranas de quitosana com a ausência e presença de surfactantes permitiram observar a estrutura ao longo das membranas em relação a porosidade do material, apresentando condições promissoras para os fatores de absorção de fluídos do processo cicatricial de feridas e de trocas com o ambiente externo.

A partir dos espectros FTIR foi possível verificar a formação das bases de Schiff pela modificação do alginato com a quitosana, indicando uma reticulação covalente, a qual mudou as propriedades físico-químicas e biológica da membrana.

A membrana de CS-OSA apresenta condições e características que incentivam a continuidade de seu estudo para a aplicação como curativo de uso tópico. Como perspectivas para continuidade deste trabalho deve ser considerado os seguintes itens:

- Ao alginato estudo da massa molar média M_w em relação ao grau de oxidação;
- Estudo da viscosidade intrínseca da quitosana;
- Micrografia MEV da membrana CS-OSA;
- Ensaio mecânico: análise da troca gasosa, intumescimento e tensão-deformação da membrana CS-OSA;
- Estudo da incorporação e liberação do fármaco sulfadiazina de prata *in vitro*;
- Teste de biocompatibilidade e citotoxicidade;
- Investigar método de esterilização adequado para a membrana proposta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONY, R.; ARUN, T.; MANICKAM S. T. D., A review on applications of chitosan-based Schiff bases, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 615-633, ISSN 0141-8130, May, 2019.

BELLINI, M. Z. et al. Comparison of the properties of compacted and porous lamellar chitosan-xanthan membranes as dressings and scaffolds for the treatment of skin lesions. **Journal of Applied Polymer Science**. Hoboken: Wiley-blackwell, v. 125, p. E421-E431, Set. 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/6495>>.

BERSUSA A. A. S.; LAGES, J. S. Integridade da pele prejudicada: identificando e diferenciando uma úlcera arterial e uma venosa. **Ciência, Cuidado e Saúde**. v 3(1), p 081-092. Out, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Núcleos de Segurança do Paciente. **Relatórios Eventos Adversos dos Estados** [Internet]. Brasília, DF(BR): Anvisa; [acesso 2022 Nov. 05]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/>, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual de condutas /para úlceras neurotróficas e traumáticas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. - Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BROUGHTON, G., 2nd; JANIS, J., E.; ATTINGER, C., E. Wound healing: an overview. **Plast Reconstr Surg**. v 117 (7 Suppl):1e-S-32e-S. doi:10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9 Jun, 2006.

BERNARDO, A. F. C.; SANTOS, K.; SILVA, D. P. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. **Revista Saúde em foco**, v. 1, n. 11, p. 1221-33, 2019.

BUENO Z., C.; MORAES M., Â. Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: Effect of different surfactants on biomaterial properties. **Journal of Applied. Polymer. Science**, v. 122: p. 624-631. Oct, 2011.

CACURO, T. A.; WALDMAN, W. Alginate and Its Use as pH-sensitive Polymer/ Alginato e Seu Uso Como Polímero Sensível a pH. **Revista Virtual de Química**. v. 10, n. 5, p 1607-1617. Out, 2018.

CESTARI, Silmara da Costa Pereira. **Dermatologia Pediátrica** - 1.ed - Rio de Janeiro: Atheneu, 2012.

CHABALA, L. F. G.; CUARTAS, C. E. E.; LÓPEZ, M. E. L. Release behavior and antibacterial activity of chitosan/alginate blends with aloe vera and silver nanoparticles. **Marine Drugs**. v. 15(10) p. 328. Oct, 2017.

CHABY G, SENET P, VANEAU M, et al. Dressings for Acute and Chronic Wounds: A Systematic Review. **Arch Dermatol**, v. 143(10), p. 1297–1304. Oct, 2007.

CHEN F.; MENG T.; DONGMING Z; et al, Preparation and characterization of oxidized alginate covalently cross-linked galactosylated chitosan scaffold for liver tissue engineering, **Materials Science and Engineering C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems** v. 32, n. 2, p. 310-320, 2012

CHOO, K. et al. Preparation and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Chitosan Composite Films Reinforced with Cellulose Nanofiber. **Materials**, v. 9, n. 8, p. 644, Jul. 2016.

CORTEZ D.N; MORAES J.T; FERREIRA I.R; SILVA E.L; LANZA F.M. Custos do tratamento de lesões cutâneas na Atenção Primária à Saúde. **ESTIMA, Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 17, e2419. Feb. 2020

CZECHOWSKA-BISKUP, R.; JAROSIŃSKA, D.; ROKITA, B.; ULAŃSKI, P.; ROSIAK, J. Determination of degree of deacetylation of chitosan - Comparison of methods. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives**, v. 5, p. 20. Jan, 2012.

DANTAS, D. V.; TORRES, G. V.; DANTAS, R. A. N. Assistência aos portadores de feridas: caracterização dos protocolos existentes no Brasil. **Ciência, Cuidado & Saúde**, v. 10(2), p. 366-372. Jun, 2011.

EMAMI Z.; EHSANI M.; ZANDI M.; FOUDAZI R. Controlling alginate oxidation conditions for making alginate-gelatin hydrogels, **Carbohydrate Polymers**, v. 198, p. 509-517, ISSN 0144-8617, Oct, 2018.

ENAS M. A, Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p. 105-121, ISSN 2090-1232, Jul, 2018.

EVERS, L.H.; BHAVSAR, D; MAILÄNDER, P. The biology of burn injury. **Experimental Dermatology**, 19: v. 19, n. 9, p. 777-783. Sep, 2010.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 361–375, Set, 2008.

FULLER F. W., The Side Effects of Silver Sulfadiazine, **Journal of Burn Care & Research**, v. 30, n. 3, p. 464–470, Jun, 2009.

GRAHAM N. B. Polymeric inserts and implants for the controlled release of drugs. **British Polymer Journal**, v. 10, n. 4, p. 260-66. Dec, 1978.

GARCIA, I. A., HIRDES, A. R., INOUE, M. D., & SANTOS, A. J. R. W. A. Avaliação de métodos titulométricos para determinação do grau de desacetilação em quitosana/ Evaluation of titrimetric methods for determination of deacetylation's degree in chitosan. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 4066–4084. Jan, 2020.

GETHIN G. The significance of surface pH in chronic wounds. **Wounds UK**, v. 3, p. 52–6. Sep. 2007.

RODEHEAVER, G. T., KURTZ, L., KIRCHER, B. J., EDLICH, R. F PLURONIC F-68: A PROMISING new skin wound cleanser, **Annals of Emergency Medicine**, v. 9, n. 11, p. 572-576, ISSN 0196-0644, 1980.

GOMEZ, C.G., RINAUDO, M., VILLAR, M. A., Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives, **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 3, p. 296-304, ISSN 0144-8617, 2007.

INOUE, M. D.; GARCIA, I. A., HIRDES, A. R.; DOS SANTOS, A. J. R. W. A. Avaliação de métodos titulométricos para determinação do grau de desacetilação em quitosana/Evaluation of titrimetric methods for determination of deacetylation's degree in chitosan. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p.4066-4084. ISSN 2525-8761. Jan 2020.

JESCHKE, M. G., VAN BAAR, M. E., CHOUDHRY, M. A., CHUNG, K. K., GIBRAN, N. S., & LOGSETTY, S. Burn injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 11. Feb. 2020.

JUNQUEIRA, LUIZ CARLOS UCHOA, **Histologia básica: texto e atlas** / L. C. Junqueira, José Carneiro; autorcoordenador Paulo Abrahamsohn. – 13. ed. - [Reimpr.]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KUMAR, A. B. V.; VARADARAJ, M.C.; LALITHA, R.; RUDRAPATNAM, N. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* **Biochemical Journal**, v. 391, pp. 167-175, 2005

LAWRIE, G.; KEEN, I.; DREW, B.; CHANDLER-TEMPLE, A.; RINTOUL, L.; FREDERICKS, P.; GRØNDAHL, L. Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. :2533-2541. Jun, 2007.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1 , p.106-126. Jan, 2012

LI, L.; WANG, L.; SHAO Y.; et al. Drug release characteristics from chitosan–alginate matrix tablets based on the theory of self-assembled film, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 450, n. 1–2, p. 197-207, ISSN 0378-5173, Jun, 2013.

MACHADO, F. S., COSTA, A. E. K. DA, PISSAIA, L. F., BESCHORNER, C. E., & MORESCHI, C. Perspectiva do enfermeiro frente à assistência no tratamento de feridas em ambiente hospitalar. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 3, p. 134-139. Jul, 2017.

MAITI S, SINGHA K, RAY S, DEY P, SA B. Adipic acid dihydrazide treated partially oxidized alginate beads for sustained oral delivery of flurbiprofen. **Pharmaceutical Development Technology**, v. 14, n. 5, p. 461-470. 2009.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a Polímeros**. 2. ed. São Paulo, Editora Edgard Bluncher, 2004.

MASSON-MEYERS, D. S., ANDRADE, T. A. M., CAETANO, G. F., GUIMARAES, F. R., LEITE, M. N., LEITE, S. N., & FRADE, M. A. C. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 101, n. 1–2, p. 21–37. Feb, 2020.

MONTEIRO, D. S.; BORGES, E. L.; SPIRA, J. A. O.; GARCIA, T. F.; MATOS, S. S. Incidência de lesões de pele, risco e características clínicas de pacientes críticos. **Texto e Contexto Enfermagem** v. 30, 2021.

MOSER, H., RODRIGUES PEREIRA, R.; LOPES PEREIRA, M. J.; MAURÍCIO, C.; LOPES, J.; RUA, P.; BARBOSA, R. Evolução dos curativos de prata no tratamento de queimaduras de espessura parcial Evolution of silver dressings in the treatment of partial thickness burns. **In Rev Bras Queimaduras**. v. 12, n. 2. 2013.

MUHAMMAD M, WILLEMS C, RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ J, GALLEGO-FERRER G, GROTH T. **Synthesis and Characterization of Oxidized Polysaccharides for In Situ Forming Hydrogels**. *Biomolecules*. v. 10, n. 8, p. 1185. Aug, 2020.

NOGUEIRA, B. L., DA SILVA, M. L. R. P., DA CRUZ, S. H., DE ALMEIDA, A. C. C., & DE BITTENCOURT, R. A. Os curativos a base de prata e sua eficácia em queimaduras: uma revisão integrativa / Silver-based dressings and their effectiveness in burns: an integrative review. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 8535–8556. 2022

JEON O.; ALT D. S.; AHMED S. M.; ALSBERG E. The effect of oxidation on the degradation of photocrosslinkable alginate hydrogels, **Biomaterials**, v. 33, n. 13, p. 3503-3514, ISSN 0142-9612, May, 2012

PAI, M. Y. B.; TOMA, J. T.; RAMPIM, D. B.; IMAMURA, M.; BATTISTELLA, L. R. Benefits of extracorporeal shockwave in the treatment of skin ulcers: a literature review. **Acta Fisiátrica**, v. 23, n. 1, Jan, 2016.

PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review. **Trends in Biomaterials and Artificial Organs**. v. 18, n. 1, Jan, 2004

PAWLAK A.; MUCHA M, Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends, **Thermochimica Acta**, v. 396, n. 1–2, p. 153-166, ISSN 0040-6031, 2003.

PAWLINA, WOJCIECH. **Ross histologia texto e atlas: correlações com biologia celular e molecular** /Wojciech Pawlina, Michael H. Ross; revisão técnica Telma Maria Tenório Zorn. - 8. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021

PONTES, A. A. N., MACIEIRA N. F. DE A., SOUSA R. J., Úlcera de Martorell: análise epidemiológica e clínica em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2. **RSC online**, v. 6, n. 2, p. 5- 15. Ago, 2017

QIN, Y. Alginate fibres: an overview of the production processes and applications in wound management. **Polymer International**, v. 57, n. 2, p. 171-180. May, 2007

RINAUDO, M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632. Jul, 2006

RINAUDO, M. Biomaterials based on a natural polysaccharide: alginate. **TIP, Ciudad de México**, v. 17, n. 1, p. 92-96, Jun, 2014.

RODEHEAVER, G. T. et al., Pluronic F-68: A promising new skin wound cleanser, **Annals of Emergency Medicine**, v. 9, n. 11, p.572-576, ISSN 0196-0644, 1980.

SÃO PAULO, Secretaria Municipal de Saúde. **Manual de Padronização de Curativos**. Jan 2021.

SILVA, C. M.; et al. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities, **Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 1, p. 1-8, ISSN 2090-1232. Jan, 2011.

SWARBRICK, J. **Encyclopedia of pharmaceutical technology** – Volume 1. 3. ed. Boca Raton (FL): CRC Press, 2007

STEPHEN E. HARDING; S.S. BOB DAVIS; MATTHEW P. DEACON; IMMO FIEBRIG Biopolymer Mucoadhesives, **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 16, n. 1, p. 41-86, 1999.

TAZIMA M. F. G. S., VICENTE Y. A. M. V. A., MORIYA T. Biologia da ferida e cicatrização **Medicina (Ribeirão Preto)**. v. 41, n. 3, p. 259-64, 2008;.

VÁZQUEZ, M. R.; et al., Chitosan and Its Potential Use as a Scaffold for Tissue Engineering in Regenerative Medicine, **BioMed Research International**, vol. 2015, Article ID 821279, p. 15, Oct, 2015.

VIEIRA, V. L. M.; et al., A média de permanência hospitalar por queimaduras e sua relação com as despesas hospitalares no brasil: uma análise epidemiológica da última década. **Sociedade Brasileira de Queimaduras**, v. 20, 2021.

PENG, W.; et al. Recent progress of collagen, chitosan, alginate and other hydrogels in skin repair and wound dressing applications, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 208, p. 400-408, ISSN 0141-8130, May, 2022

YAN, Y.; GUAN, S.; WANG, S.; JIANQIANG, X.; CHANGKAI S.; Synthesis and characterization of protocatechuic acid grafted carboxymethyl chitosan with oxidized sodium alginate hydrogel through the Schiff's base reaction, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 222, Part B, p. 2581-2593, ISSN 0141-8130, Dec. 2022.

YAN, S.; WANG, T.; FENG, L.; ZHU, J.; ZHANG, K.; CHEN, X.; CUI, L.; YIN, J. Injectable in situ self-cross-linking hydrogels based on poly(L-glutamic acid) and alginate for cartilage tissue engineering. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 12, p. 4495-4508, Nov, 2014.

YANG, C. E SUO Z., Hydrogel ionotronics. **Nature Reviews Materials**, v. 3, p. 125-142. 2018.

YANG, J. S.; XIE, Y. J; HE, W. Research progress on chemical modification of alginate: A review, **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 33-39, ISSN 0144-8617, Oct, 2011

YOUNES I, RINAUDO M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Mar Drugs**. v.2, n. 13(3), p.1133-74. Mar, 2015.

ZHENG, L. Y.; ZHU, J.F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrates and Polymers**., v.54, n. 4, p.527-530, 2003.