UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ
INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA ELOISA MANO – IMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE POLÍMEROS

MARIA VERONICA FREITAS NASCIMENTO

MODIFICAÇÃO DE QUITOSANA COM POLI(SUCCINATO DE BUTILENO) VIA POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL

Rio de Janeiro
2017

MARIA VERONICA FREITAS NASCIMENTO

MODIFICAÇÃO DE QUITOSANA COM POLI(SUCCINATO DE BUTILENO) VIA POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientador: Prof. Fernando Gomes de Souza Junior
Coorientador: Prof. Fabrício Machado da Silva

Rio de Janeiro
2017

CIP - Catalogação na Publicação

N244m

Nascimento, Maria Veronica Freitas
MODIFICAÇÃO DE QUITOSANA COM POLI(SUCCINATO DE BUTILENO) VIA POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL / Maria Veronica Freitas Nascimento. -- Rio de Janeiro, 2017.
77 f.

Orientador: Fernando Gomes de Souza Junior.
Coorientador: Fabrício Machado da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2017.

1. Polímeros. 2. Biopolímeros. 3. Quitosana. 4. Poli(Succinato de Butileno) . 5. Polimerização interfacial. I. Souza Junior, Fernando Gomes de , orient. II. Silva, Fabrício Machado da , coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MARIA VERONICA FREITAS NASCIMENTO

MODIFICAÇÃO DE QUITOSANA COM POLI(SUCCINATO DE BUTILENO) VIA POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do grau de Mestre/Doutor em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Aprovado em: 23/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Orientador Prof Dr. Fernando Gomes de Souza Junior.
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Profª Dra Luciana Spinelli Ferreira
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr. Juarez Vicente
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Dr. Edson Rodrigo Fernandes
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dedico essa dissertação a Deus e a minha família, minha mãe Maria Amélia, meu pai Waltemyr, minhas irmãs Maria do Carmo e Priscila e aos meus sobrinhos Gabriel e Brayan.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por está presente em minha vida, por me mostrar de maneira simples que nunca estive só, que sempre esteve ao meu lado me guiando e protegendo. O caminho até aqui não foi fácil, só eu sei as lágrimas que derramei, muitas vezes as saudade de casa me desanima, porém todas as noites quando deito em minha cama sinto Seu amor por mim e tenho certeza que é esse amor que me sustenta.

Pais, a vocês que me ensinaram o sentido da vida, me ensinaram a lutar e persistir sem nunca deixar de acreditar em meus sonhos. Mesmo estando longe de casa sempre tive a certeza de poder contar com vocês, nossas ligações quase que diárias me confortam. Amo vocês!

Irmãs, lindas, como seria minha vida sem o amor de vocês? Difícil de imaginar. Irmã é presente divino, obrigada maninhas por todo companheirismo, atenção e amor.

Sobrinhos, agradeço por reforçarem em mim uma menina feliz, capaz de sorrir pelas coisas mais simples, por me ensinarem que a vida deve ser vivida sem peso. Tia madrinha ama demais vocês.

Professor Fernando, pela orientação e pelo carinho de sempre.

Wilians Douglas (Wil), obrigada por todo companheirismo, por ter sido mais que um amigo, pela paciência e carinho nos meus momentos. Obrigada por me ensinar sentimentos que eu até então desconhecia. Por ter ficado ao meu lado durante essa jornada. Meu amor por você permanece intocável.

Vera e Adson agradeço por todo carinho, por terem sido como pais para mim durante essa caminhada. Tenho certeza que sem a Família Barbosa da Silva teria sido muito mais difícil, vocês foram meu referencial de família e proteção durante os 2 anos de mestrado.

Amigos de Rural (Barbara, Lidiane e Aline). O que a rural une a vida não separa, sei que o ditado não é esse, mas tenho certeza que é esse que representa nossa amizade. Quantos momentos vividos com tanta intensidade agradeço à vocês por tornarem minha jornada mais alegre, mais família.

Amigas de republica (Sara, Paula L., Paula G e Luma) obrigada pela paciência diária, pelas conversas e por todo apoio durante essa jornada.

Amigos de LaBioS, em especial Thuanny, Fernanda Veloso, Vitor, Leticia e Diana sem vocês teria sido muito mais difícil.
Juarez Vicente obrigada por todo apoio durante minha caminhada ruralina.
Vivian Saez, obrigada por toda atenção e paciência.
A todos meus amigos de turma de mestrado, em especial a minha amiga de todas as horas Flora.
A minhas amigas de infância (Tayla e Debora) obrigada pela amizade, nem a distância nem o tempo podem destruir uma amizade firmada por Deus.
A minhas amigas de graduação (Thais F, Thais R, Tati, Karla, Gabi, Andreia, Rose, Raquel, Dani, Flávia...)
A meus amigos de LAAB (Carlos, Duda, Tainá, Lu, Lili, Jô, Filipe, Juh, Bruna, Luiza, Tayanne...)
A aluna de IC Thabata por ter paciência e não desistir de trabalhar comigo.

“Não ame pela beleza, pois um dia ela acaba. Não ame por admiração, pois um dia você se decepciona. Ame apenas, pois o tempo nunca pode acabar com um amor sem explicação.” (Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Este estudo tem como objetivo geral a modificação do biopolímero quitosana com o poli(succinato de butileno) (PBS) para obtenção de um copolímero quitosana-PBS, que permitirá seu uso como sistema de liberação do fármaco oxaliplatina, útil para o combate ao câncer colorretal. O câncer é a segunda doença com o maior índice de mortalidade no mundo, atrás apenas das doenças cardiovasculares. Trata-se de uma doença de alta complexidade e de difícil prevenção, uma vez que suas causas podem estar relacionadas a diversos fatores. Os tratamentos disponíveis atualmente possuem muitos efeitos colaterais, existindo com isso a necessidade de novos e melhores tratamentos para a doença. Dentre as novas técnicas pesquisadas destaca-se o uso de polímeros para liberação controlada de fármacos. Entre estes polímeros a quitosana e o poli(succinato de butileno) vêm ganhando destaque em aplicações biomédicas. A quitosana e o PBS são polímeros de grande destaque na área biomédica/farmacêutica devido às suas propriedades, tais como, biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade e mucoadesividade. A combinação dos polímeros tende a melhorar suas propriedades individuais. O presente trabalho apresenta a metodologia usada para a modificação da quitosana com o PBS. As amostras obtidas foram caracterizadas por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier, Análise Termogravimétrica, Difração de Raios X, entre outras. Os resultados obtidos permitiram provar a obtenção do copolímero e avaliar algumas de suas propriedades, tais como seu grau de cristalinidade e sua temperatura de degradação.

Palavras-chave: Quitosana, Poli(succinato de butileno), Modificação, Polimerização interfacial

ABSTRACT

The aim of this study was to modify the chitosan biopolymer with poly(butylene succinate) (PBS) to obtain a chitosan-PBS copolymer and capsule formation with the chitosan-PBS copolymer, which will allow its use as a system for the release of oxaliplatin, a useful drug in the treatment against colorectal cancer. Cancer is the second disease with the highest mortality rate in the world, behind only cardiovascular diseases. It is a disease of high complexity and difficult to prevent, since its causes may be related to several factors. Currently, the available treatments have many side effects, and there is a need for new and better treatments for this disease. Among the new techniques researched the use of polymers for drug release stands out. Among polymers, chitosan and poly(butylene succinate) have been gaining prominence in biomedical applications. Chitosan and PBS are a major polymer in the biomedical / pharmaceutical area due to their properties, such as, biodegradability, biocompatibility, toxicity and mucoadhesiveness. The combination of the polymers tends to have their individual properties. In the present work the methodology used for the characterization of pure chitosan, synthesis and characterization of PBS and the methodology used in the modification of chitosan with PBS is presented. With the use of characterization techniques, such as Fourier transform infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, X-ray diffraction, among others, it was possible to verify the obtaining of the copolymer and to evaluate some of its properties such as its degree of crystallinity and its degradation temperature.

Keywords: Chitosan, Poly (butylene succinate), Modification, Interfacial polymerization

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Processo de carcinogênese 21
Figura 2. Estrutura química oxaliplatina. 23
Figura 3. Desacetilação da quitina e obtenção da quitosana.....27
Figura 4. Bibliometria na plataforma Science Direct, busca por “Chitosan” 30
Figura 5. Estrutura química do PBS. 31
Figura 6. Esquema da síntese de PBS a partir de ácido succínico e 1,4-butanodiol.. 32
Figura 7. Bibliometria na plataforma Science Direct, busca por “poly(butylene succinate)”. 34
Figura 8. Diagrama das etapas da metodologia experimental. 36
Figura 9. Ilustração de um viscosímetro de Ostwald. 37
Figura 10. Sistema utilizado para a síntese do PBS 40
Figura 11. Diagrama de blocos da metodologia utilizada para a polimerização interfacial. 41
Figura 12. Gráfico da viscosidade intrínseca versus o aumento da concentração da solução de quitosana. 45
Figura 13. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da quitosana. 46
Figura 14. Curva de TGA da quitosana. 47
Figura 15. Difração de raios-X da quitosana. 48
Figura 16. Espectro FTIR do PBS. 49
Figura 17. Difração de raios X do PBS. 50
Figura 18. Curva de TGA do PBS. 51
Figura 19. Reação de formação da ligação uretânica entre o PBS e o TDI. 52
Figura 20. Espectro FTIR do PBS modificado com TDI. 53
Figura 21. Reação química PBS modificado + quitosana e formação do copolímero quitosana-PBS. 54
Figura 22. Etapa de enxertia via polimerização interfacial. 55
Figura 23. Imagem do copolímero quitosana-PBS seco. 55
Figura 24. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier copolímero quitosana-PBS. 57

Figura 25. Curva de TGA do PBS puro (azul), da Quitosana pura (preto) e do copolímero quitosana-PBS (vermelho)..... 57
Figura 26. Difratograma de raios x do copolímero quitosana-PBS..... 59
Figura 27. EDS da quitosana pura. 61
Figura 28. EDS do PBS puro..... 61
Figura 29. EDS do copolímero quitosana-PBS. 62
Figura 30. MEV da quitosana (A), PBS (B) e copolímero quitosana-PBS (C).. 63
Figura 31. EDS do copolímero na presença da Oxaliplatina..... 64
Figura 32. Mapeamento Copolímero na presença do fármaco. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sistemas a base de quitosana, métodos de preparo e fármacos investigados 29
Tabela 2. Análise viscosimétrica da quitosana. 44
Tabela 3. Porcentagem, números de meros de quitosana e relação quitosana/PBS. 53
Tabela 4. Principais absorções do copolímero e da quitosana. 56
Tabela 5. Valores Tonset e Tendset do copolímero, da quitosana e do PBS. . 58
Tabela 6. Grau de cristalinidade da quitosana, do PBS e do copolímero. 60
Tabela 7. Relação de inchamento do copolímero quitosana-PBS em diferentes solventes após 5 horas a 25 ° C. 63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

EDS - Espectroscopia de energia dispersiva por raios X

FDA **-** Food and Drug Administration

FTIR - Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

GD - grau de desacetilação

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

OMS – Organização Mundial da Saúde

OXL - Oxaliplatina

PBS - Poli(succinato de butileno)

PBS mod. - Poli(succinato de butileno) modificado com diisocianato de tolueno

TDI – diisocianato de tolueno

TGA - Análise termogravimétrica

XRD/ DRX - Difração de raios X

X_c – Cristalinidade

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Cálculo da viscosidade relativa. 37
Equação 2. Cálculo da viscosidade específica..... 38
Equação 3. Cálculo da viscosidade reduzida. 38
Equação 4. Cálculo da viscosidade intrínseca. 38
Equação 5. Equação de Mark-Houwink-Sakurada para o cálculo da viscosidade intrínseca..... 38
Equação 6. Cálculo do grau de desacetilação da quitosana. 39
Equação 7. Cálculo do grau de inchamento..... 42
Equação 8. Cálculo do grau de cristalinidade. 43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
2 OBJETIVOS 19
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19
2.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO 19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20
3.1 CÂNCER 20
3.1.1. Patogênese 20
3.1.2 Câncer Colorretal 22
3.1.3 Tratamento 23
3.2 POLÍMEROS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS 25
3.2.1 Biopolímeros 25
3.2.2 Quitosana 25
3.2.3 Poli(succinato de butileno) 31
4 MATERIAIS E MÉTODOS 34
4.1 MATERIAIS 34
4.1.1 Lista de equipamentos 34
4.2 METODOLOGIA 35
4.2.1 Determinação da massa molar viscosimétrica da quitosana 36
4.2.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana (%GD) 39
4.2.3 Síntese do poli(succinato de butileno) 39
4.2.4 Modificação PBS com diisocianato de tolueno (TDI) 40
4.2.5 Polimerização Interfacial 40
4.2.6 Obtenção do grau de inchamento do copolímero quitosana-PBS 42
4.2.7 Adição da oxaliplatina no copolímero quitosana-PBS 42
4.3. CARACTERIZAÇÃO 42
4.3.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 42
4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA) 43
4.3.3 Difração de raios-X (DRX) 43
4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 44

5.1 ANÁLISE VISCOSIMÉTRICA 44
5.2 CARACTERIZAÇÕES DA QUITOSANA 45
5.2.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier 45
5.2.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana (%GD) 46
5.2.3 Termogravimétrica da quitosana 47
5.2.4 Difração de raios-X da quitosana 48
5.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO PBS 49
5.3.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier 49
5.3.2 Difração de raios X 50
5.3.3 Termogravimétrica do PBS 50
5.4 MODIFICAÇÃO DO PBS COM TDI 51
5.5 POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL: QUITOSANA-PBS 53
5.5.1 Caracterização do copolímero obtido 56
6 CONCLUSÕES 66
7 SUGESTÕES 67
REFERÊNCIAS 68

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença cuja incidência e prevalência atinge proporções alarmantes, estabelecendo-se, hoje, como um problema mundial, sendo a segunda maior causa de mortes no mundo. Estima-se que por volta de 2030 ocorrerão 27 milhões de casos incidentes de câncer e 17 milhões de mortes. Com relação ao Brasil, a estimativa para o biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer e sendo responsável por mais de 100.000 mortes por ano (WHO, 2015). Trata-se de uma doença multicausal e de difícil tratamento (WHO, 2015). Entre as características do microambiente tumoral uma de relevância para o presente estudo é seu pH ácido, uma consequência da glicólise, processo de conversão da glicose em piruvato, que na ausência de oxigênio converte o piruvato em lactato, para produção de ATP (adenosina trifosfato). A alta taxa de ácido lático cria um ambiente ácido, o que beneficia a seleção de células mais agressivas e invasivas (WHO, 2015).

Os tratamentos mais comuns envolvem cirurgias, o uso de medicamentos e radiação ionizante, sendo comum a combinação de mais de uma técnica. Contudo o tratamento do câncer está quase sempre ligado a fortes efeitos colaterais, pois as técnicas atuais possuem baixa citoseletividade, ou seja, também prejudicam células saudáveis do paciente e esta característica ser torna um fator limitante de tratamento (SCHROEDER *et al*., 2011).

A busca por tratamentos mais eficientes contra o câncer vem sendo muito estudado. O presente estudo aborda o uso de polímeros (quitosana e poli(succinato de butileno) para a liberação controlada da oxaliplatina, fármaco útil no tratamento do câncer colorretal.

A quitosana é um biopolímero natural, de baixo custo, biocompatível, conhecida como um biomaterial devido as suas propriedades de biodegrabilidade, não-toxicidade e bioatividade (SHUKLA, Sudheesh K. *et al*, 2013). Devido a presença de grupos amino em sua estrutura química a quitosana é insolúvel a pH neutro e alcalino, porém é solúvel a pH ácido. Sua estrutura macromolecular possibilita diversas modificações químicas (SHUKLA,

Sudheesh K. *et al*, 2013; LARANJEIRA, Mauro, 2009; VIVEK, R. *et al*, 2013; ELGADIR, M. Abd *et al*, 2014; AZHAR, Fahimeh Farshi, 2014).

Por sua vez, o PBS é um poliéster alifático, sintetizado a partir da policondensação do ácido succínico com o 1,4-butanodiol. Ele foi descoberto em 1990 e desenvolvido e comercializado pela *Showa High Polymer* (Japão) com o nome de Bionolle. O PBS é um termoplástico semicristalino com ponto de fusão cristalina na faixa de 90 a 120°C e temperatura de transição vítrea entre -45 a -10°C (Vroman, 2009).

Ambos polímeros são não tóxicos, biocompatíveis e biodegradáveis, possuindo potencial para serem aplicados na liberação de fármacos.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é a modificação do biopolímero quitosana com o poli(succinato de butileno) através de uma polimerização interfacial para a obtenção de um copolímero quitosana-PBS, útil para a liberação de oxaliplatina.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para isso, alguns objetivos específicos devem ser atingidos:

1. Caracterização da quitosana pura.
2. Síntese e modificação do PBS com TDI
3. Caracterização do copolímero.
4. Inserir a oxaliplatina no copolímero

2.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação estrutura-se em seis capítulos além da bibliografia consultada. O primeiro capítulo introduz brevemente um panorama a respeito do câncer e o do crescente uso de polímeros na área biomédica. No segundo capítulo são apresentados os objetivos almejados no presente estudo.

No terceiro capítulo é feita uma revisão bibliográfica dos principais tópicos relacionados ao trabalho. No quarto capítulo é feita a relação dos materiais utilizados e a descrição das metodologias utilizadas para determinação da massa molar viscosimétrica, na síntese do PBS e na modificação da quitosana com PBS, além das técnicas de caracterização empregadas. No quinto capítulo são apresentados e discutidos os resultados das caracterizações. No sexto capítulo constam as conclusões do trabalho embasando-se nos resultados obtidos. No sétimo capítulo são feitas sugestões para trabalhos posteriores.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CÂNCER

É chamado de câncer um conjunto de mais de 200 doenças que tem por característica a multiplicação descontrolada de células anômalas. Há uma grande variedade nos tipos de câncer, decorrentes da grande variedade de tecidos no corpo (ROSA, *et al,* 2015).

3.1.1. Patogênese

Nosso organismo é composto por células que se reproduzem por meio de um processo chamado divisão celular. Em condições normais, esse processo é ordenado e controlado, sendo também responsável pela formação, crescimento e regeneração dos tecidos do corpo. Contudo, há situações, nas quais estas células sofrem um processo chamado carcinogênese e assumem características diferentes das células normais (ROSA, *et al,* 2015; WHO, 2015).

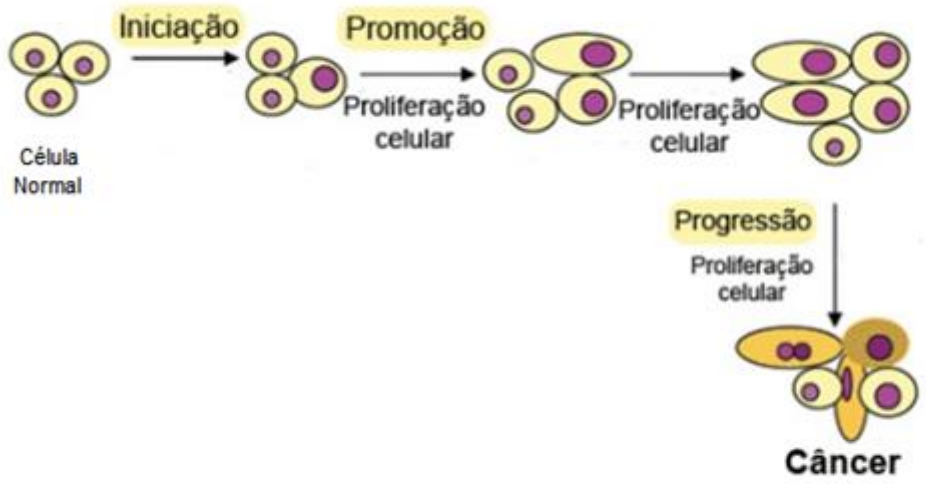
O processo de carcinogênese, normalmente ocorre lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e se torne um tumor visível. É um processo lento e complexo caracterizado por inúmeras alterações genéticas que favorecem a neoplasia, sendo dividida em diferentes fases denominadas de iniciação, promoção, progressão (WHO, 2015).

A fase iniciação da carcinogênese é caracterizada pela exposição da célula normal aos carcinógenos que podem ser carcinogênicos físicos, tais como radiação ultravioleta e ionizante, substâncias químicas cancerígenas, tais como amianto, componentes do fumo do tabaco, aflatoxina (um contaminante alimentar) e arsénio (um contaminante da água potável) e cancerígenos biológicos, tais como infecções de certos vírus, bactérias ou parasitas (WHO, 2015).

A fase seguinte é a promoção, onde existe proliferação dos clones celulares e acúmulo de novas alterações gênicas. A fase de progressão se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas, de tal forma, que nesse estágio o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença. (ROSA, *et*

al, 2015; WHO, 2015). A Figura 1 mostra uma ilustração do processo de carcinogênese.

Figura 1. Processo de carcinogênese



Fonte: WHO (2015, p. 2)

O microambiente tumoral possui propriedades que o diferencia dos tecidos normais, tais como a diversidade celular e de citocinas, que permitem que o tumor tenha autossuficiência em seu desenvolvimento. Isto é propiciado pelas interações entre células geneticamente alteradas, células do sistema imune, fibroblastos, células endoteliais, citocinas produzidas por essas células ou provenientes da periferia através dos novos vasos (WEIS, *et al.,* 2011). Devido a sua singularidade, o microambiente tumoral vem sendo estudado para melhor compreensão do desenvolvimento tumoral e para desenvolvimento de novas terapias contra o câncer (ROSA, *et al*, 2015).

O câncer é responsável por aproximadamente 20% de todas as mortes que ocorrem em países economicamente desenvolvidos e 10% nos países considerados de baixa renda. O crescimento na incidência de câncer deve principalmente ao aumento da idade populacional e à maior exposição a fatores de risco como o tabagismo, alcoolismo, dietas nutricionalmente pobres, obesidade, sedentarismo, infecções e poluição do ar. O tabagismo é o fator de risco mais importante para o câncer, causando cerca de 20% das mortes por câncer global e cerca de 70% das mortes por câncer de pulmão. Em muitos

países de baixa renda, até 20% das mortes por câncer são devidas à infecção pelo VHB e HPV (Petersen, 2009).

3.1.2 Câncer Colorretal

O câncer colorretal é um dos mais comuns no mundo, sendo que metástase pode ser desenvolvida por metade dos pacientes e o prognóstico é pobre. O câncer de cólon e reto é considerado uma doença do “estilo de vida”, assim a incidência é maior em países com hábito alimentar rico em consumo de carnes vermelhas e carnes processadas, pouca ingestão de frutas, legumes e verduras, alta prevalência de obesidade e sobrepeso, inatividade física, consumo de álcool e tabagismo. Estudos apontam que o consumo de alimentos ricos em fibras, como frutas, hortaliças, cereais integrais, feijões e sementes, assim como a prática regular de atividade física são considerados fatores contra a doença. Tanto na incidência quanto na mortalidade, observa-se aumento nas taxas com o avanço da idade (WHO, 2015).

Dentre os principais sintomas do câncer colorretal estão: sangramento retal, anemia, mudança no hábito intestinal (diarreia ou prisão de ventre), perda de peso e dor abdominal. O diagnóstico é realizado por meio da biopsia durante a colonoscopia e o estadiamento é realizado por meio do exame físico, das tomografias de tórax, abdome e pelve e dosagem do antígeno carcinoembrionário (Sociedade Brasileira de Cancerologia, 2011).

O tratamento do câncer colorretal, de um modo geral, depende do estadiamento clínico do tumor no momento do diagnóstico, podendo ser tratamento cirúrgico associado ou não à quimioterapia (André *et al*., 2004). O tratamento quimioterápico, mesmo quando instituído com intuito paliativo, tem demonstrado um aumento na sobrevida dos pacientes e melhora da qualidade de vida dos mesmos (André *et al*., 2004; Sociedade Brasileira de Cancerologia, 2011).

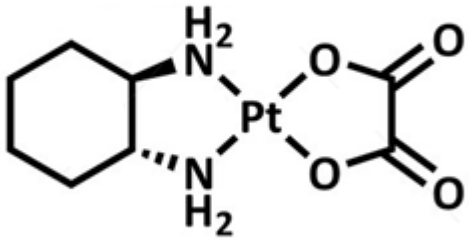
Dentre os protocolos clínicos existentes para o tratamento deste tipo de câncer, alguns incluem o uso da oxaliplatina como monoterapia ou em associação (FOLFOX, XELOX, CAPOX, FLOX) (André *et al*., 2004).

A oxaliplatina pertence a uma nova classe de sais da platina, na qual o átomo central de platina é envolvido por um oxalato e um 1,2-

diaminociclohexano (*dach*) em posição *trans*. A OXL é um análogo da platina diaminocicloexano de terceira geração com significante atividade no câncer colorretal, comumente utilizado em combinação com o 5-FU e LV. Seu mecanismo de ação consiste na formação do complexo diamina-platina que reage com água e interage com o DNA celular, resultando em ligações inter e intracadeias tendo como consequência a desnaturação local da cadeia de DNA (De Gramont et al., 2000; André et al., 2004) A cinética de ligação da oxaliplatina com o DNA é rápida, ocorrendo no máximo em 15 minutos.

O fator dose-limitante da oxaliplatina é a neurotoxicidade que é cumulativa e normalmente reversível. Dentre os efeitos tóxicos mais comuns durante o tratamento estão a mielossupressão, náuseas, vômitos, nefrotoxicidade e neuropatias periféricas, a toxicidade neurossensorial, disestesia desencadeada pelo frio e parestesia sem dor foram alguns dos sintomas mais observados. Além dos sintomas citados, diarreia está entre os efeitos agudos. Dessa forma, encontrar alternativas que auxiliem no manejo e prevenção dos efeitos tóxicos e adversos causados por essa substância, sem alterar sua efetividade, contribuem para a melhora na qualidade de vida dos pacientes e no tratamento como um todo (AVISA, 2009). A Figura 2 mostra a estrutura química da oxaliplatina.

Figura 2. Estrutura química oxaliplatina



Fonte: Anvisa, 2009.

3.1.3 Tratamento

O tratamento do câncer pode ser feito através de cirurgia, imunoterapia, radioterapia, quimioterapia ou transplante de medula óssea. O tratamento possui como objetivo a curar da doença ou o prolongamento da vida do paciente, melhorando sua qualidade de vida. Alguns dos tipos de câncer mais

comuns, como câncer de mama, de colo uterino, bucal e colorretal têm maiores taxas de cura quando detectados precocemente e tratados de acordo com as práticas recomendadas (Devita, V.T, *et al*., 2005).

Cerca de 90% dos tratamentos incluem terapias combinadas e a técnica mais amplamente usada é a quimioterapia. Este tratamento consiste na administração de quimioterápicos, que constituem um grupo de aproximadamente 300 drogas que atuam ao nível celular para impedir o crescimento das células mutantes. As primeiras observações de agentes quimioterápicos ocorreram em meados de 1940, com mostardas nitrogenadas. Porém, apenas na década de 1960 compostos de platina foram descobertos, como a carboplatina e oxaliplatina, estes sendo usados até hoje. (HARBECK, 2012; SCHROEDER *et al***.,** 2011).

No entanto a quimioterapia apresenta diversos efeitos colaterais ao paciente. Entre os principais problemas da quimioterapia destaca-se a alta toxicidade sistêmica, pois tais moléculas não possuem ação seletiva sobre células tumorais e a não seletividade obriga a aplicação de altas dosagens e concentrações, promovendo diversos efeitos colaterais ao paciente (SCHROEDER *et al***.,** 2011).

Novas formas de terapias vem sendo estudadas e desenvolvidas na busca de melhorar a eficácia dos tratamentos e diminuir os efeitos colaterais. Neste contexto, vários estudos têm se baseado em tratamentos com menos efeitos colaterais. A exemplo disso, temos as terapias nutricionais que utilizam a administração concomitante de nutrientes antioxidantes [vitaminas A (retinol), C (ácido ascórbico) e E (β-tocoferol)] e drogas antineoplásicas, uma vez que as interações entre os quimioterápicos e as vitaminas antioxidantes promovem a potencialização do mecanismo de ação do fármaco, resultando em diminuição do tamanho do tumor com produção de menores efeitos colaterais, melhoria da qualidade de vida dos pacientes oncológicos e maior tempo de sobrevida (DOS SANTOS, 2001).

Há décadas, diferentes sistemas poliméricos são estudados para a liberação controlada de fármacos e proteínas, sendo que diversos polímeros já são liberados para serem utilizados como excipientes na rotina farmacêutica em diversas funções, dentre elas agentes de liberação controlada, emulsificantes, estabilizantes, agentes de suspensão, etc.

3.2 POLÍMEROS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

3.2.1 Biopolímeros

O termo biopolímero se refere aos polímeros que ocorrem naturalmente ou a materiais que são derivados de monômeros de base biológica. A maior parte dos biopolímeros possui como propriedade a biodegradabilidade (SONG, *et al*, 2009).

A biodegradação é o processo no qual ocorre modificação química ou física da estrutura, causada pela ação de microrganismo, sob condições adequadas de temperatura, umidade, luz, oxigênio, nutrientes orgânicos e minerais adequados, sem gerar resíduo tóxico ou prejudicial ao meio ambiente (RHIM, Jong-Whan, 2013).

Um polímero produzido a partir de fontes renováveis e que possui a propriedade de biodegradação apresenta diversas aplicações, uma vez que esses podem resolver problemas associados aos polímeros petroquímicos, visto que a obtenção dos polímeros petroquímicos é poluidora, além da geração de resíduos poluentes. Assim, os biopolímeros são geralmente considerados uma alternativa aos polímeros petroquímicos, devido à matéria-prima renovável utilizada para produzi-los e sua biodegradabilidade (SOUZA Jr, F.G., Oliveira, G.E, 2015).

Na área biomédica, uma característica que permite com que vários dos biopolímeros sejam altamente utilizados é sua biocompatibilidade, ou seja, a capacidade do material de ser bem tolerado pelo organismo, não interferindo nas funções normais do corpo (LIM, Hui-Peng, 2014). Neste cenário, um biopolímero de crescente estudo é a quitosana.

3.2.2 Quitosana

A quitosana é um biopolímero natural, de baixo custo, biocompatível, conhecida como um biomaterial devido as suas propriedades de biodegrabilidade, não-toxicidade e bioatividade (SHUKLA, Sudheesh K. *et al*, 2013).

A descoberta da quitosana data do século XIX. No entanto, a importância deste biopolímero tem crescido significativamente nas últimas

décadas. O aumento da disponibilidade dos produtos comerciais, junto a grande variedade de formas e possíveis modificações químicas e físicas da quitosana, representa uma grande oportunidade de estudo para a comunidade científica e industrial (CARREIRA, A. S. *et al*, 2010).

Assim, a quitosana e os sistemas contendo este biopolímero têm sido exaustivamente estudados com respeito a suas origens, estruturas e propriedades físico-químicas com ênfase para a caracterização funcional e de seus derivados (LARANJEIRA, Mauro, 2009).

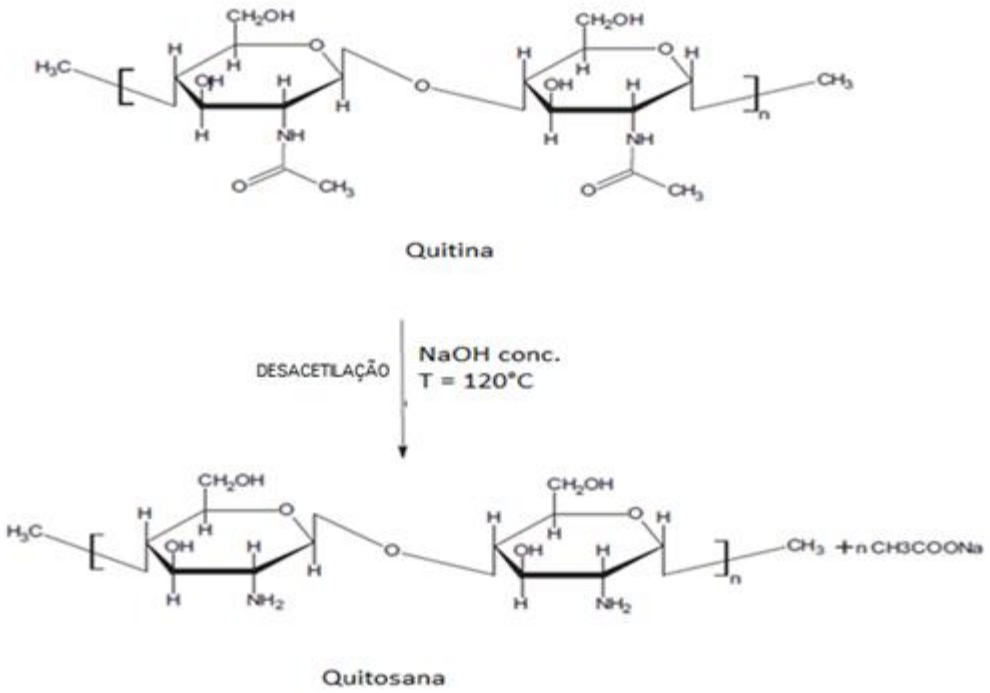
3.2.2.1 Obtenção da quitosana

A quitosana é obtida pela N-desacetilação da quitina. A quitina é o segundo polissacarídeo natural mais abundante, depois da celulose. Ocorre de fontes naturais, como os exoesqueletos de insetos, artrópodes, cascas de crustáceos, lagostas, camarões e caranguejos, podendo também ser encontrada em alguns microrganismos, leveduras e fungos (ILIUM, Lisbeth, 1998; SILVA, Raimundo Lopes da., 2012).

A produção de quitosana via desacetilação da quitina, ocorre em meio básico geralmente usa-se uma solução de hidróxido de sódio concentrado, sob aquecimento (aproximadamente 120 °C), durante aproximadamente um período de 3 horas. Esse processo envolve a remoção dos grupos acetil da cadeia de quitina, resultando em grupos amino livres (NH_2) (ELGADIR, M. Abd *et al*, 2014).

Apesar da quitina e da quitosana serem distintas, o grau de desacetilação determinará a forma do biopolímero predominante, de modo que produtos com grau de desacetilação maiores que 40% são considerados como sendo quitosana. O grau de desacetilação da quitosana em produtos comerciais geralmente é alto, na uma faixa de 70 a 95% (AGNIHOTRI, S. A, 2004; KUMAR, Majeti NV Ravi, 2000; SILVA, Raimundo Lopes da., 2012). A Figura 3 mostra o esquema de desatilação da quitina e obtenção da quitosana.

Figura 3. Desatilação da quitina e obtenção da quitosana.



FONTE: KUMAR, Majeti NV Ravi (2000, p. 12)

3.2.2.2 Propriedades físicas e químicas da quitosana

A quitosana é um copolímero linear com unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamida-2-desoxi-D-glicose, unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1-4). Devido ao seu arranjo estrutural, possui estrutura semicristalina e rígida, uma vez que é possível a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares. Em sua estrutura há um grupo amino primário ($-NH_2$) e dois grupos hidroxilas livres (SILVA, Raimundo Lopes da., 2012; JIA, Ruixiu *et al*. 2016).

As propriedades físico-químicas da quitosana dependem principalmente de seu grau de desacetilação. O que influencia na solubilidade da quitosana. Quanto maior o número dos grupos amino, maior é a repulsão eletrostática entre as cadeias e, consequentemente, maior é a solvatação em água. Assim, a quitosana possui campo de aplicação muito mais amplo que a quitina, devido à sua melhor solubilidade em água e solventes orgânicos (ELGADIR, *et al*. 2014; JIA, *et al*.; SHUKLA, *et al*, 2013).

Devido à presença dos grupos reativos em sua estrutura química (-NH_2 e -OH), diversas modificações através de reações químicas, tais como sulfonação, amidação, são possíveis (SHUKLA, *et al*, 2013; LARANJEIRA, 2009).

A estrutura química da quitosana permite também seu preparo em diferentes formas, tais como cápsulas, micropartículas, pós, flocos, micro-esferas, nanopartículas, membranas, esponjas, fibras e fibras ocas, filmes e gel (LARANJEIRA, 2009). Além disso, os nanomateriais à base de quitosana muitas vezes apresentam propriedades físico-químicas superiores as da quitosana pura, tais como a elevada área de superfície, porosidade, melhor condutividade e foto-luminescência, bem como o aumento propriedades mecânicas (SHUKLA *et al*, 2013).

3.2.2.3 Aplicações Quitosana

Devido as suas propriedades químico-físicas e biológicas, a quitosana tem uma gama muito ampla de aplicações. Ela é usada para produção de biossensores (WARNER, 2016), em tratamento de água, (SHUKLA *et al*., 2013), na indústria de cosméticos (LEWANDOWSKA, 2015), na indústria de alimentos (CHANG *et al.*, 2015) e na agricultura (JIA *et al*., 2016).

A quitosana possui grande destaque nas aplicações biomédicas e farmacêuticas, devido a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, mucoadesiva, não toxicidade, por ser não imunogênica, não cancerígena e por apresentar propriedades antibacterianas. Esta última é devida aos seus grupos amínicos que, uma vez em contato com os fluidos fisiológicos, provavelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos, resultando na aglutinação das células microbianas e na consequente inibição do crescimento, além de propriedades terapêuticas no tratamento de feridas e no alívio de dor (AZHAR, 2014; ELGADIR, *et al*., 2014; PATRULEA, *al*., 2015; VIVEK, *et al*., 2013). A quitosana também é amplamente empregada na Engenharia de Tecidos, como suturas cirúrgicas e ligaduras biodegradáveis, além de ser usada no tratamento de úlceras e queimaduras, acelerando a cicatrização devida à sua capacidade de ativar os macrófagos que quando ativados pelos oligômeros da quitosana, liberam interleucina-1, que estimula a

proliferação de fibroblastos e influencia a estrutura do colágeno. Ela é também usada em materiais ortopédicos e de odontologia, além de ter sido testada em lentes de contato (SAO PEDRO, *et al*., 2009; CARREIRA, *et al*., 2010). Entretanto, seu grande destaque de aplicação na área biomédica é na liberação de fármacos (AGNIHOTR, 2000).

A quitosana possui atividades antiácidas e antiúlcera que impedem ou diminuem a irritação causada por um determinado fármaco ao estômago. Devido todas as propriedades já citadas fazem da quitosana um interessante biopolímero para formulações de liberação de fármacos (KUMAR, 2000).

SIAFAKA e colaboradores (2015) pesquisaram a liberação ocular de derivados de quitosana como carreadores de fármacos, devido à suas propriedades de mucoadesão. Um estudo feito por SARVAIYA e colaboradores, também em 2015, mostra a quitosana como um material apropriado para a produção de nanopartículas de liberação de fármaco no tratamento anti-Alzheimer.

Em outro trabalho, Vivek e colaboradores (2013) estudaram uma nova rota de administração do tamoxifeno baseado em nanopartículas de quitosana, para o tratamento de câncer de mama. Para o tratamento de câncer de pâncreas, David e colaboradores (2015) desenvolveram nanopartículas de quitosana carregadas com a combinação de dois fármacos (quercetina e 5-fluorouracil).

Em 2000, AGNIHOTR e colaboradores, em um estudo muito interessante, mostraram aproximadamente 200 fármacos, que podem ser liberados por sistemas baseados em quitosana. Além disso, apresentaram o método de preparo de diversos sistemas de liberação, como cápsulas, microesferas, micropartículas, nanopartículas, filmes ou mesmo géis. A Tabela 1 apresenta esses sistemas de liberação de fármacos à base de quitosana preparadas por métodos diferentes para diferentes tipos de fármaco.

Tabela 1. Sistemas a base de quitosana, métodos de preparo e fármacos investigados

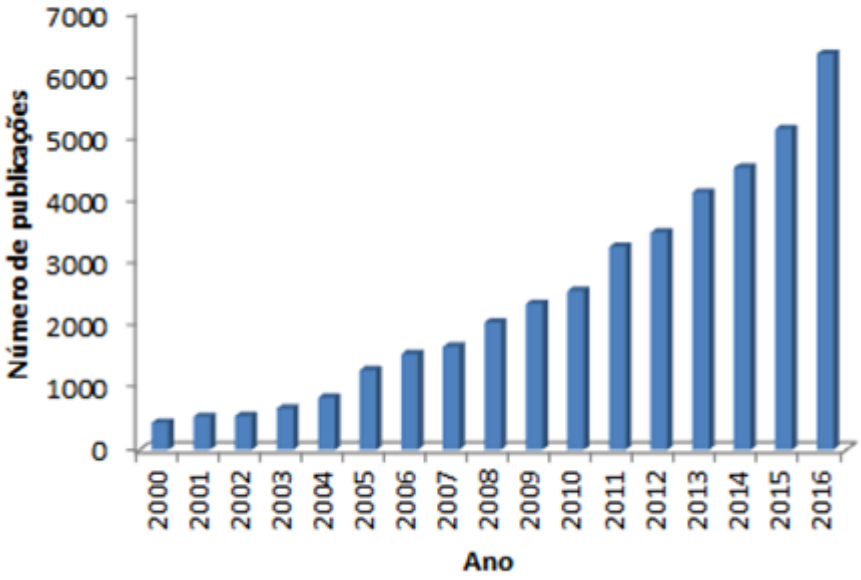
Tipo de sistema	Método de preparação	Fármaco
Cápsulas	Invólucro da cápsula	Insulina, ácido 5-aminossalicílico
Microesferas /	Emulsão /	Teofilina, cisplatina, pentazocina, fenobarbital,

micropartículas	reticulação	teofilina, insulina, 5-fluorouracil, o diclofenaco de sódio, aspirina,progesterona
Microesferas / micropartículas	Coacervação / precipitação	Prednisolona, interleucina-2
Microesferas / micropartículas	*Spray-drying*	Cimetidina, famotidina, nizatidina, a vitamina D-2, diclofenaco de sódio,
Microesferas / micropartículas	Gelificação iônica	Felodipine
Nanopartículas	Emulsão / coalescência	Ácido gadopentético
Nanopartículas	Coacervação / precipitação	Doxorrubicina
Nanopartículas	Gelificação iônica	Insulina, ricina
Nanopartículas	Método micelar reverso	Doxorrubicina
Filmes	Solução	Dinitrato de isosorbida, gluconato de clorexidina, testosterona, progesterona
Gel	Reticulação	Aspirina, cafeína, 5-fluorouracil

Fonte: adaptado de AGNIHOTR (2000, p. 10)

A figura 4 apresenta a bibliometria obtida na plataforma Science Direct, usando como busca “Chitosan” do ano 2000 até o ano de 2016.

Figura 4. Bibliometria na plataforma Science Direct, busca por “Chitosan”



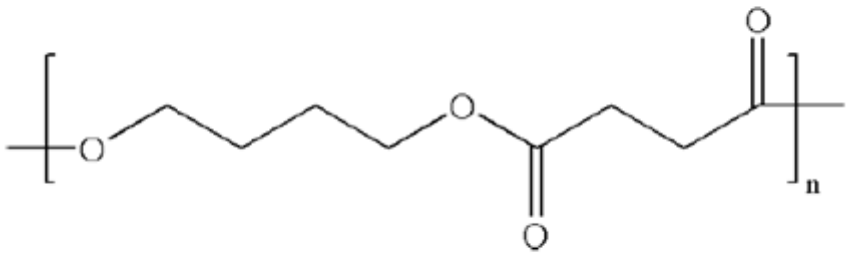
Fonte: Elaborado pelo autor.

A combinação do biopolímero quitosana e do poli(succinato de butileno) (PBS) pode ser vista como uma estratégia eficaz para melhorar o desempenho de ambos os biomateriais.

3.2.3 Poli(succinato de butileno)

O PBS é um poliéster alifático, sintetizado a partir da policondensação do ácido succínico (AS) com o 1,4-butanodiol (BD) (Vroman, 2009). A estrutura química do PBS é mostrada na Figura 5.

Figura 5. Estrutura química do PBS.



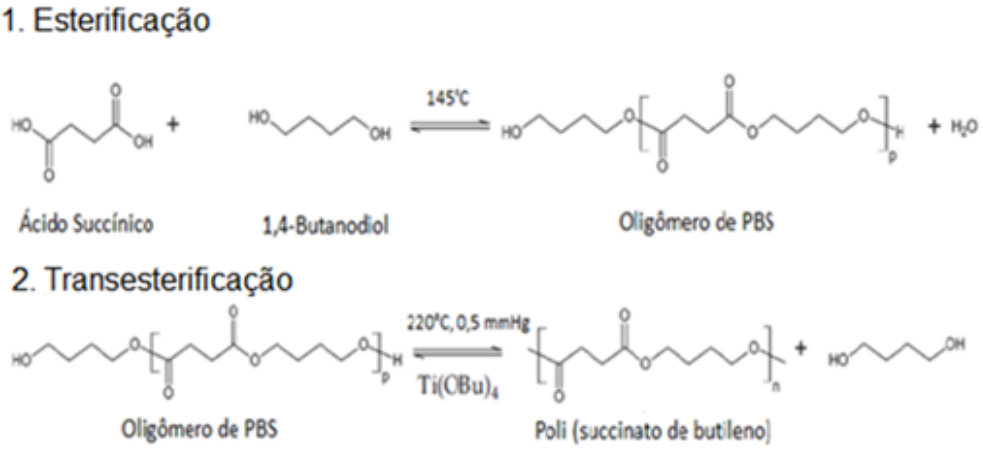
Fonte: Vroman, (2009, p. 4).

3.2.3.1 Obtenção do PBS

O ácido succínico tem um grande mercado potencial sendo um dos principais bio-intemediários químicos produzidos a partir de carboidratos, tais como: sacarose, glucose, maltose ou frutose, usando o microrganismo *Anaerobiospirillum succiniciproducens*. (ANDRADE *et al.,* 2010). Já o 1,4-butanodiol, pode ser obtido a partir da hidrogenação do ácido succínico. Há, portanto, a possibilidade de obter um polímero a partir de fontes totalmente renováveis. A policondensação é uma reação de equilíbrio (ver Figura 6), em que a água, produzida como sub-produto, deve ser continuamente removida para a obtenção de altas massas molares. Para que a água seja retirada com eficiência, pode-se aplicar vácuo e/ou borbulhar nitrogênio no meio reacional. A temperatura também constitui fator importante para a obtenção de altas

conversões, contribuindo para o aumento da velocidade da reação (JACQUEL *et al.*, 2011).

Figura 6. Esquema da síntese de PBS a partir de ácido succínico e 1,4-butanodiol.



Fonte: JACQUEL (2011, p. 7).

3.2.1.2 Aplicações do PBS

O poli(succinato de butileno) tem sido cada vez mais alvo de pesquisas (Figura 6), tem ganho destaque tanto por ser uma alternativa renovável e biodegradável aos polímeros de fontes petroquímicas, quanto em aplicações biomédicas e farmacêuticas por se tratar de um polímero bioabsorvível, enquanto novas rotas de síntese tem diminuindo o custo associado ao processo de produção e consequentemente seu preço (JACQUEL *et al*, 2011).

Apresenta boas propriedades térmicas e mecânicas comparadas com as observadas em *commodities* poliméricos tradicionalmente utilizados na indústria, como o polietileno e o polipropileno (CHEN *et al.,* 2010). Além disso, devido à excelente processabilidade do PBS, ele pode ser processado com equipamentos convencionais, permite que seja sendo transformado em fibras têxteis, multifilamentos e até produtos moldados por injeção.

Essa versatilidade permite a aplicação do PBS em diversas frentes, que incluem a produção de materiais biomédicos, filmes agrícolas, embalagem, produtos espumados, materiais para a indústria automobilística, dentre outros. Não há dúvidas de que o campo de trabalho do PBS se amplia cada vez mais.

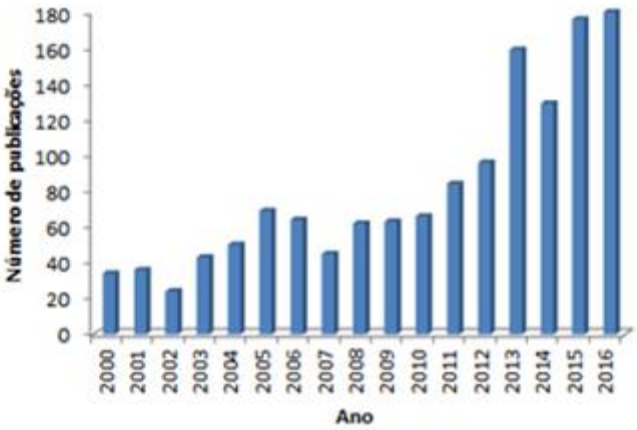
Por tudo o que foi dito, o PBS é um dos polímeros biodegradáveis que mais se destacam comercialmente devido a suas propriedades que lhe conferem um elevado potencial de aplicação, ajustável de acordo com o objetivo final do artefato (LIM *et al*., 2008).

Na área biomédica/farmacêutica o primeiro trabalho utilizando PBS foi publicado por Hariraksapitak em 2008, que sintetizou e utilizou o PBS como um *scaffold* poroso na liberação de ipriflavona, fármaco utilizado na prevenção e tratamento da osteoporose atuando como um acelerador da atividade osteoblástica, para regeneração de tecido ósseo. Os *scaffolds* carregados com o fármaco foram sintetizados por *casting*. O PBS modificado com diisocianato, um extensor de cadeia, foi dissolvido em clorofórmio a 50 °C. Posteriormente, a solução foi resfriada a temperatura ambiente, momento em que foi adicionada a ipriflavona na solução. A solução/suspensão pastosa foi então adicionada em placas de Petri para secagem. Os estudos demonstraram que o *scaffold* não apresentou citotoxicidade em células pré-osteoblásticas derivadas de camundongos calvaria (MC3T3-E1) sendo portanto um material biocompatível.

Em 2011, Brunner avaliou a liberação da albumina e do ácido retinóico, a partir de micropartículas de PBS obtidas pelo método de evaporação de solvente. Obteve-se alta eficiência de encapsulamento do fármaco, já que o fármaco se solubiliza facilmente na solução polimérica. Os estudos de liberação mostraram um perfil de liberação com taxa uniforme.

A Figura 7 mostra bibliometria na plataforma Science Direct, busca por “poly(butylene succinate)” durante os últimos 16 anos.

Figura 7. Bibliometria na plataforma Science Direct, busca por "poly(butylene succinate)".



Fonte: Elaborado pelo autor.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

- ✓ Quitosana comercial
- ✓ Ácido acético glacial
- ✓ Ácido Succínico P.A. ACS (99,0%) – VETEC
- ✓ 1,4 Butanodiol P.S. (99,3%) – VETEC
- ✓ Ácido Sulfúrico P.A. (95 – 99%) – VETEC
- ✓ Catalisador: Tetrabutoxititânio (Ti(OBu)4) – SIGMA - ALDRICH
- ✓ Clorofórmio P.A. (99,8%) – VETEC
- ✓ Álcool etílico
- ✓ Graxa de silicone (para alto vácuo) – VETEC
- ✓ Banho de silicone

4.1.1 Lista de equipamentos

- ✓ Placa de aquecimento com agitação eletromagnética (FISATOM modelo 753A);
- ✓ Bomba Prismatec modelo 131;

- ✓ Placa de aquecimento IKA modelo C-MAG HS7;
- ✓ Viscosímetro *Ubbelohde 0C;*
- ✓ Espectrômetro com transformada de Fourier Perkin-Elmer 1720X;
- ✓ Microscópio da marca Hitachi modelo Tm3030Plus – Centro de Tecnologia Mineral;
- ✓ Analisador termogravimétrico TA Instruments TGA Q500 - V6.7 Build 203.

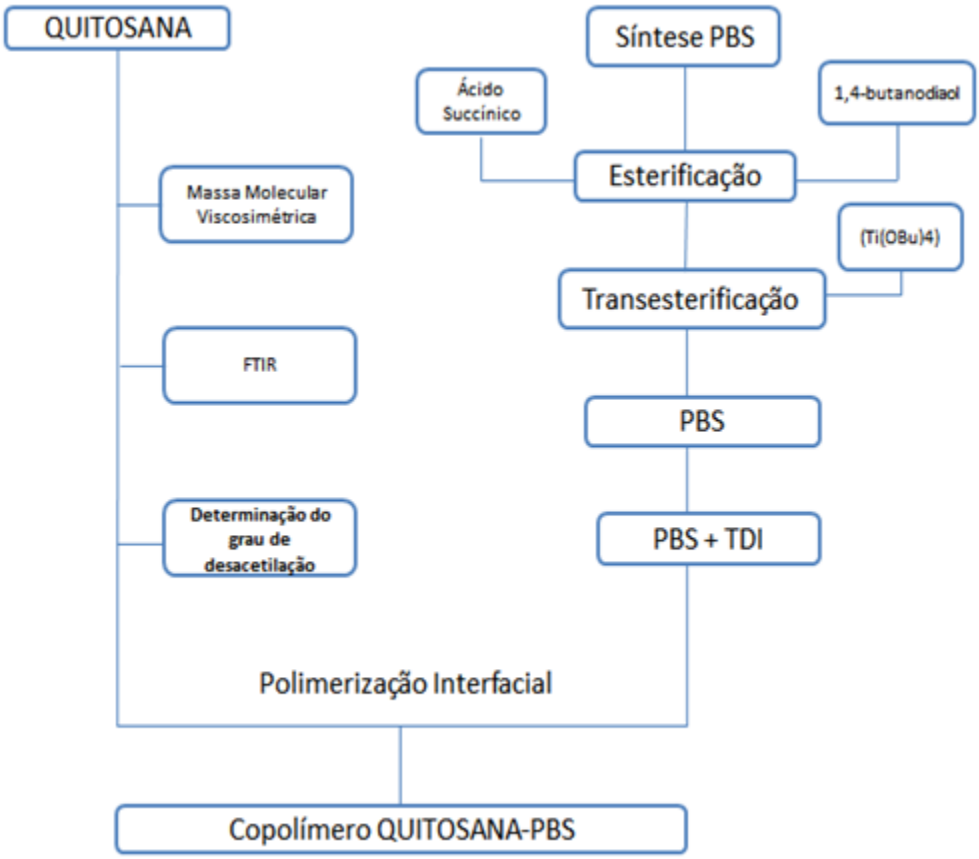
4.2 METODOLOGIA

O trabalho experimental desta pesquisa foi dividido em 8 etapas:

1. Determinação da massa molar viscosimétrica da quitosana;
2. Determinação do grau de desacetilação da quitosana (%GD);
3. Síntese do poli(succinato de butileno): esterificação e transesterificação;
4. Modificação do PBS com TDI;
5. Polimerização Interfacial: Quitosana-PBS;
6. Caracterização do material obtido;
7. Obtenção do grau de inchamento do copolímero quitosana-PBS;
8. Adição da oxaliplatina ao copolímero.

A Figura 8 mostra um diagrama de blocos, que representa as etapas utilizadas nessa metodologia. Os produtos obtidos em cada etapa foram caracterizados por diferentes técnicas, que serão detalhadas adiante.

Figura 8. Diagrama das etapas da metodologia experimental.

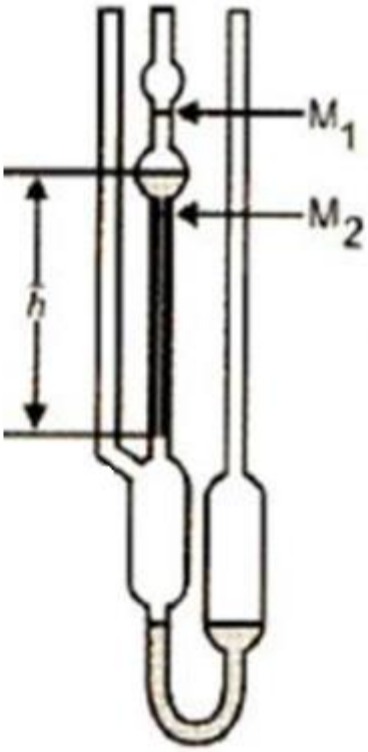


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.1 Determinação da massa molar viscosimétrica da quitosana

A determinação da viscosidade intrínseca foi feita usando um viscosímetro de Ostwald. Inicialmente foi preparado uma solução mãe de 0,2g/100mL em solução ácida (uso de ácido acético glacial) (pH 5), a partir da solução mãe foram preparadas as demais soluções obtendo-se diferentes concentrações (0,1; 0,05; 0,025 e 0,01 g/mL). Foi medido o tempo que cada solução levava para percorrer a diferença de altura dos dois níveis do viscosímetro ("M_2 – M_1"). Para garantir a reprodutibilidade das medidas foi usado exatamente o mesmo volume de solução para todas as medidas (25 mL). Foi também medido o tempo de escoamento da solução ácida. O experimento foi realizado sob temperatura controlada de 25±1 °C, com auxílio de um banho termoestabilizado. A Figura 9 é uma ilustração do viscosímetro Ostwald.

Figura 9. Ilustração de um viscosímetro de Ostwald.



Fonte: Elaborado pelo autor

Com o uso de uma bomba a vácuo Prismatec e com o capilar mais fino tampado, foi feita a sucção da solução até acima do nível M_1. O tempo "t" que a solução leva para escoar por um percurso de determinado comprimento é proporcional à viscosidade específica, assim como à viscosidade reduzida.
Utilizando o tempo de escoamento das diferentes concentrações de soluções de quitosana e do solvente através do capilar do viscosímetro calculou-se viscosidade relativa, Equação (1).

Equação 1. **Cálculo da viscosidade relativa.**

$$N_{rel} = t/t_0$$

Onde N_{rel} é a viscosidade relativa, t é igual ao tempo de escoamento da solução de quitosana e t_0 é o tempo de escoamento do solvente.

A viscosidade especifica foi determinada utilizando-se a Equação (2):

Equação 2. Cálculo da viscosidade específica.

$$N_{sp} = N_{rel} - 1$$

Onde N_{sp} é a viscosidade especifica

Para calcular a viscosidade reduzida utilizou-se a Equação (3) e a viscosidade intrínseca foi obtida com o uso da Equação (4):

Equação 3. Cálculo da viscosidade reduzida.

$$N_{red} = N_{sp}/c$$

Onde N_{red} é a viscosidade reduzida e c é a concentração da solução de quitosana.

Equação 4. Cálculo da viscosidade intrínseca.

$$[N] = \left| N_{sp}/c \right|_{c \to 0}$$

Onde $[N]$ é a viscosidade intrínseca.

A massa molar viscosimétrica média (M_v) da quitosana foi calculada a partir do valor da viscosidade intrínseca usando-se a equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 5).

Equação 5. Equação de Mark-Houwink-Sakurada para o cálculo da viscosidade intrínseca.

$$[N] = K.\ M_v^{\alpha}$$

Onde os parâmetros K e α são constantes empíricas que dependem da temperatura e da natureza da interação polímero/solvente, sendo obtidos na literatura, e M é a massa molar viscosimétrica média do polímero.

4.2.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana (%GD)

O grau de desacetilação mede a quantidade de monômeros desacetilados na cadeia de quitosana. A importância dessa determinação consiste no fato de muitas das propriedades físicas e químicas apresentadas pela quitosana estarem relacionadas diretamente com o grau de desacetilação.

A quitosana é obtida por meio da desacetilação da quitina, na qual o grupo funcional aceto amino da molécula é hidrolisado gerando grupamento amino característico. Embora a quitosana seja um polímero derivado da quitina, para que esses sejam considerados polímeros distintos, a determinação do grau de desacetilação é um importante fator que determinará a estrutura do polímero predominante, sendo considerado o polímero quitosana quando o valor obtido for superior a 50% (Lima, 2014).

O grau de desacetilação da quitosana foi obtido pela análise do espectro de FTIR da quitosana, a partir dos picos 1320 e 1420 cm^{-1} utilizando-se a equação (6).

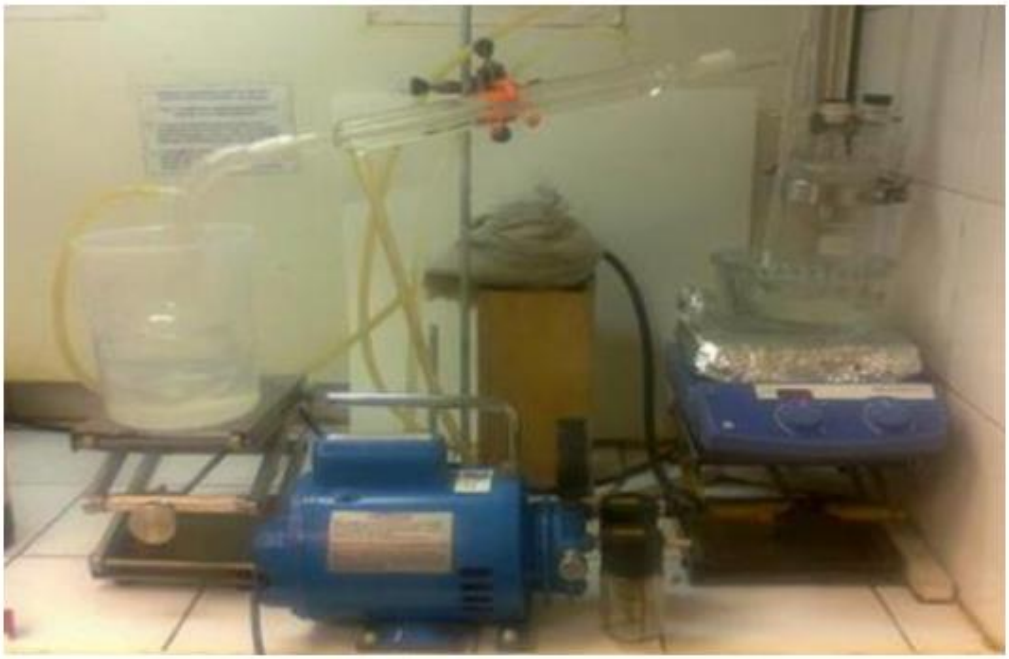
Equação 6. Cálculo do grau de desacetilação da quitosana.

$$\%GD = 100 - \frac{(A_{1320} / A_{1420}) - 0,3822}{0,03133}$$

4.2.3 Síntese do poli(succinato de butileno)

Utilizou-se quantidades equimolares de 1,4-butanodiol (27mL) e ácido succínico (35,9g) e 0,1 mL de ácido sulfúrico. Um sistema foi montado utilizando uma placa de aquecimento, sob vácuo e fluxo de nitrogênio. Na saída do condensador colocou-se um balão sob banho de gelo e o *trap* resfriado utilizando nitrogênio liquido. Após aquecimento em temperatura de 135 ºC por 6 horas, foi adicionado no meio reacional o catalisador tetrabutoxititânio ($Ti(OBu)_4$) 0,1% e a temperatura foi elevada gradualmente à 200 ºC, mantendo-se o sistema à esta temperatura por 12 horas. A Figura 10 mostra o sistema utilizado durante a síntese.

Figura 10. Sistema utilizado para a síntese do PBS.



Fonte: Laboratório de Biopolímeros e Sensores (2016).

Os produtos sintetizados foram dissolvidos em clorofórmio e, em seguida, precipitados em excesso de etanol em um banho de gelo, buscando obter o produto mais puro possível. O precipitado foi lavado com etanol e seco em vácuo à temperatura ambiente durante 24 horas.

4.2.4 Modificação PBS com diisocianato de tolueno (TDI)

Primeiramente foi dissolvido 1g de PBS em 100 mL de clorofórmio, em seguida foi adicionado 0,02 g de TDI. A solução de PBS com TDI foi agitada com uso de um agitador magnético por 10 minutos e deixada em repouso durante 24 horas.

4.2.5 Polimerização Interfacial

Foram estudadas 3 condições modificação da quitosana com PBS. Primeiramente foi estudado a modificação de 1,0% de meros de quitosana com PBS, sendo adicionado 100 mL da solução de quitosana (0,76g/100mL) sobre 47,61 (1g/100mL) mL da solução de PBS modificado com TDI (condição 1).

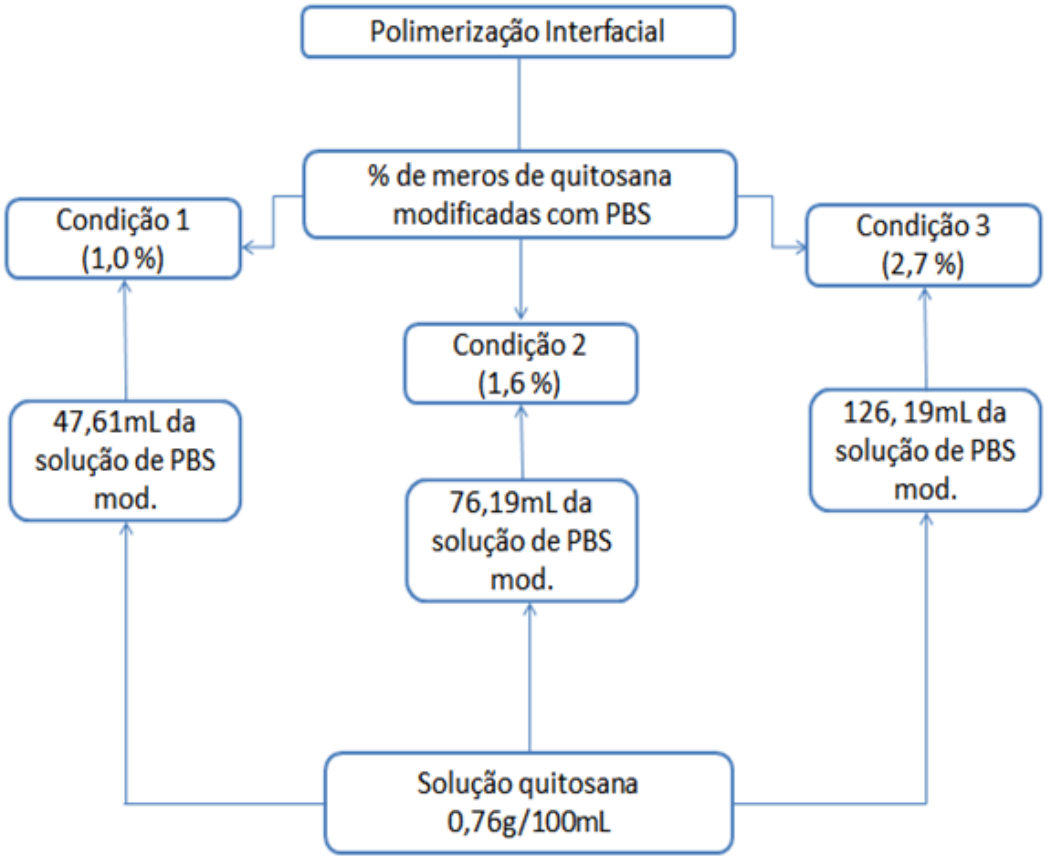
As demais modificações foram feitas mantendo o mesmo volume da solução de quitosana 0,76g/100 mL e variando o volume da solução de PBS

modificado com TDI. Na condição de modificação de 1,6 % de meros de quitosana foram adicionados 76,20 mL da solução de PBS modificado (condição2), na condição de 2,7 %foram adicionados 126,20 mL da solução de PBS modificado (condição 3).

Após a adição da solução de quitosana sobre a solução de PBS ambos sistemas foram mantidos abertos sob agitação magnética constante. Obtendo-se a formação do copolímero quitosana-PBS em diferentes tempos de reação.

Em todas as condições foi obtido produto, posteriormente secos e caracterizados por FTIR, objetivando a observação de bandas características dos polímeros e o sucesso da modificação da quitosana com PBS. Contudo somente o produto obtido na condição 2 foi levado para análise de TGA e DRX, uma vez que nessa condição obteve-se maior quantidade de produto, além de uma reação mais rápida. A Figura 11 mostra um diagrama de blocos, que representa as etapas utilizadas para polimerização interfacial.

Figura 11. Diagrama de blocos da metodologia utilizada para a polimerização interfacial



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.6 Obtenção do grau de inchamento do copolímero quitosana-PBS

As partículas do copolímero quitosana-PBS foram imersas em 3 solventes a 25 ° C durante 5 h. E a cinética de inchamento foi avaliada. Os solventes utilizados foram: solução ácida (uso de ácido acético glacial) (pH 5),clorofórmio e água purificada. O grau de inchamento foi calculado utilizando a equação (7):

Equação 7. Cálculo do grau de inchamento.

$$Sr\,\% = 100\,x\,\frac{Ws - Wd}{Wd}$$

Onde Sr% é a porcentagem de taxa de inchamento, Ws é o massa do estado inchado e Wd é o massa no estado seco.

4.2.7 Adição da oxaliplatina no copolímero quitosana-PBS

Foi preparado um solução de oxaliplatina em água obtendo uma solução com concentração de 2,5 mg/mL. Em seguida foi adicionado o copolímero a solução de oxaliplatina. O copolímero foi mantido na solução durante 5 horas, sem agitação.

4.3 CARACTERIZAÇÃO

As técnicas de caracterização empregadas, assim como os equipamentos utilizados, são descritos nesta seção.

4.3.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras dos polímeros quitosana e PBS, do PBS modificado com TDI e dos copolímeros quitosana-PBS foram analisados por FTIR, a fim de observar a presença de bandas características e a modificação dos polímeros. A análise foi feita no espectrômetro com transformada de Fourier Perkin-Elmer 1720X. A faixa analisada foi de 4000 a 400 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}, em atmosfera inerte de nitrogênio.

4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA)

As amostras dos polímeros quitosana e PBS e do copolímero quitosana-PBS foram analisadas por termogravimetria pelo método de rampa de aquecimento em equipamento TA Instruments TGA Q500 - V6.7 Build 203, em atmosfera inerte de nitrogênio (gás de purga – 40 $mL.min^{-1}$) e na faixa de temperaturas de 30 ºC e 700 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.3.3 Difração de raios-X (DRX)

A amostra de quitosana, PBS e o copolímero quitosana-PBS foram analisados por difração de Raios-X utilizando difratômetro Rigaku, modelo Miniflex, em ângulo 2θ, variando de 2° a 90° pelo método FT (tempo fixo), com passo angular de 0,05° por segundo. As amostras foram utilizadas sem tratamento prévio em temperatura ambiente, usando um equipamento ajustado com diferença de potencial de 30kV no tubo e corrente elétrica de 15 mA. A radiação utilizada foi de CuKα = 1,5418 Å.

Através dos difratograma obtido foi possível determinar o grau de cristalinidade da quitosana, do PBS e do copolímero quitosana-PBS. O porcentual de cristalinidade das amostras foi obtido pelo método de ajuste dos picos dos difratograma de raios x, através do software estatístico Fityk® versão 0.9.3. Foi utilizado o modelo matemático de Levenberg-Marquardt para o ajuste das gaussianas em cada difratograma como descrito na Equação 8.

Equação 8. Cálculo do grau de cristalinidade.

$$Xc(\%) = \frac{I_c}{(I_c + I_a)} \text{ x } 100$$

Onde, *Xc* é o grau de cristalinidade, *Ic* o somatório das áreas dos picos cristalinos e *Ia* à área do halo amorfo.

4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram submetidas ao ensaio de microscopia eletrônica de varredura amostras de quitosana, PBS e do copolímero quitosana-PBS visando a

observação da morfologia. As amostras foram analisadas sob uma voltagem de aceleração de 20 kV com detectores de elétrons secundários e retroespalhados. Sendo utilizado recobrimento de ouro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os principais resultados obtidos ao longo dessa pesquisa e a discussão dos mesmos.

5.1 ANÁLISE VISCOSIMÉTRICA

O resultado da análise de viscosimetria é mostrado na Tabela 2. Sendo possível de observar a variação no tempo de escoamento das soluções com diferentes concentrações utilizadas e o resultado dos cálculos da viscosidade relativa, viscosidade específica, viscosidade reduzida.

Tabela 2. Análise viscosimétrica da quitosana.

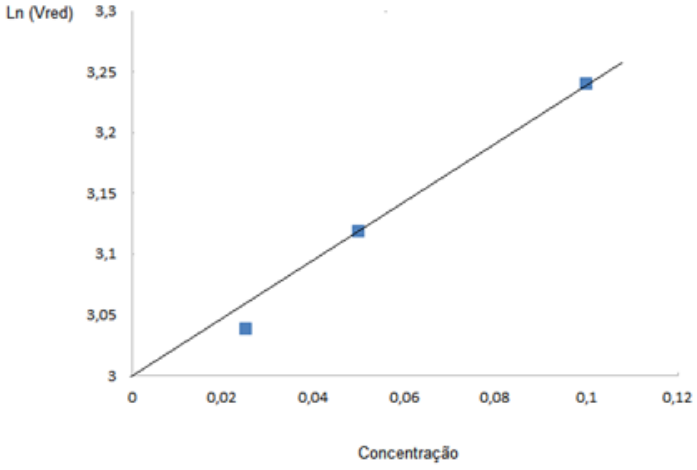
Amostra	Concentração (g/mL)	Tempo de análise (s)	Viscosidade relativa	Viscosidade especifica	Viscosidade reduzida
Solução ácida	-	92	1,0	0	-
Quitosana	0,01	114	1,2	0,2391	23,9130
Quitosana	0,025	140	1,5	0,5217	20,8695
Quitosana	0,05	196	2,1	1,1304	22,6086
Quitosana	0,1	327	3,6	2,5543	25,5434

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 12 apresenta o gráfico da viscosidade intrínseca versus o aumento da concentração da solução de quitosana.

Para cálculo da massa molar média viscosimétrica foram usadas às concentrações 0,025; 0,05 e 0,1. A concentração 0,01 foi descartada. Substituindo $k = 1{,}8 \times 10^{-3}$ e $\alpha = 0{,}93$ (WESKA et al., 2007) na equação de Mark-Houwink- Sakurada, a massa molar viscosimétrica da quitosana resultante é de 406 KDa, o que representa a presença aproximadamente de 2520 meros na cadeia de quitosana.

Figura 12. Gráfico da viscosidade intrínseca versus o aumento da concentração da solução de quitosana.



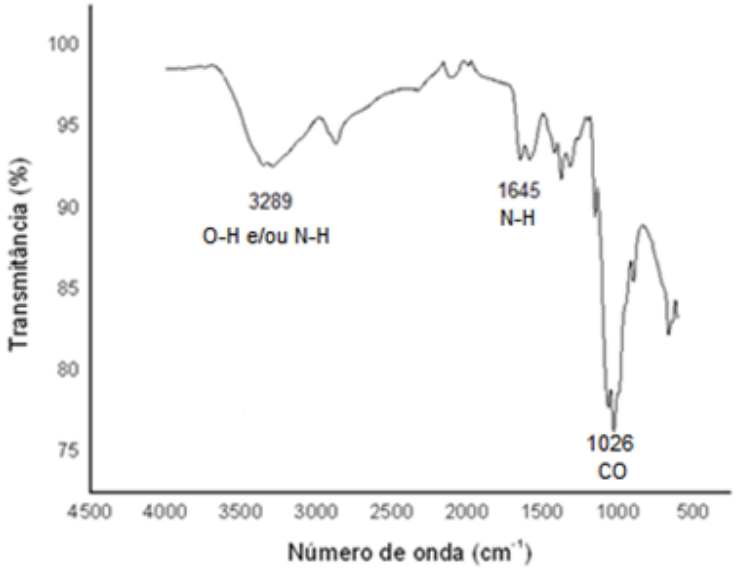
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 CARACTERIZAÇÕES DA QUITOSANA

5.2.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

As amostras foram analisadas pelo FTIR a fim de verificar e confirmar as bandas características da quitosana. A Figura 13 mostra o espectro da quitosana obtido através da análise de FTIR.

Figura 13. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da quitosana.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro de infravermelho da quitosana mostra uma banda em 3289 cm $^{-1}$ atribuída às vibrações de estiramentos dos grupos funcionais O-H e/ou N-H. A banda centrada a 2869 cm^{-1} é atribuída à deformação axial C-H alifático. Além destas, é possível observar bandas em aproximadamente 1026 cm $^{-1}$ relacionadas ao estiramento vibracional C-O do álcool primário. Já as bandas a 1645 cm^{-1} está relacionada ao modo de vibração por estiramento da ligação C=O cm^{-1} de amida (DE SOUZA COSTA, 2008).

5.2.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana (%GD)

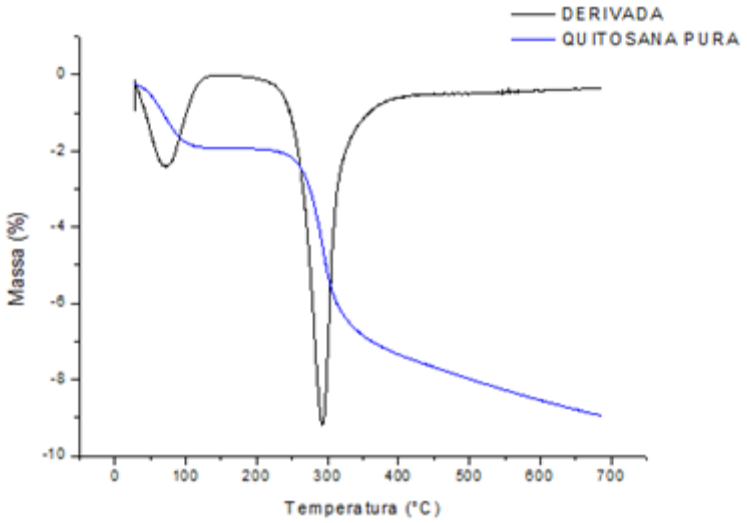
Neste estudo o grau de desacetilação foi aferido por meio da técnica de espectroscopia de infravermelho. A utilização dessa técnica se justifica pela facilidade, precisão e rapidez na obtenção dos resultados.

A porcentagem de grupos amino livres (%GD) foi calculada conforme descrito no item 4.1.1, considerando-se os picos 1320 e 1420 cm^{-1} referentes ao anel glicosamino obtidos no espectro de FTIR que mostram a conversão das unidades Nacetilglicosamina em grupos amino. Onde %T à 1320 cm^{-1} é 92,59 e %T à 1420 cm^{-1} é 93,37. Assim o grau de desacetilação obtido por este método foi de 80,54 %.

5.2.3 Termogravimétrica da quitosana

A análise termogravimétrica (TGA) é uma das análises térmicas mais usadas para a caracterização de para sistemas poliméricos. O TGA permite avaliar as alterações ocorridas na massa das substâncias, a faixa de temperatura a qual as mesmas adquirem estabilidade em relação a sua composição química, a temperatura em que começam a se decompor além do monitoramento de outras reações como oxidação, combustão e desidratação (CANEVAROLO, 2004). A Figura 14 mostra o resultado obtido pela analise termogravimétrica da quitosana.

Figura 14. Curva de TGA da quitosana.



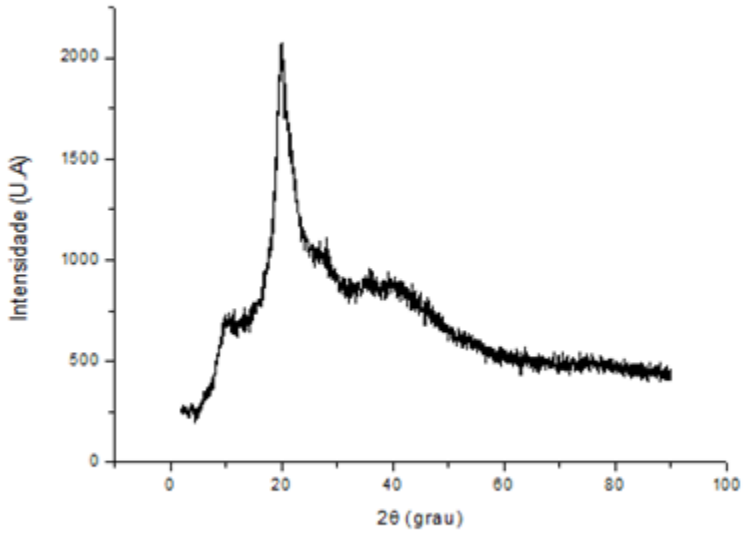
Fonte: Elaborado pelo autor.

Através do termograma obtido verifica-se que a quitosana apresenta dois estágios de perda de massa. O primeiro estágio acontece no intervalo de 43ºC a 98ºC, utilizando a derivada da TG verifica-se que a perda de massa máxima nesse intervalo é por volta 70°C, esse primeiro estágio pode se referente à perda de água residual. O segundo intervalo de perda de massa observado ocorre de 266ºC a 307ºC, utilizando a derivada da TGA verifica-se que a perda de massa máxima nesse intervalo é em aproximadamente 298ºC, referente à degradação da quitosana.

5.2.4 Difração de raios-X da quitosana

A Figura 15 mostra o difratograma da quitosana pura. Neste difratograma, encontram-se dois picos, um de maior intensidade em 2θ = 19,78º e 2θ = 12,9°. Estes picos evidenciam a presença da fase cristalina da quitosana.

Figura 15. Difração de raios-X da quitosana.



Fonte: Elaborado pelo autor

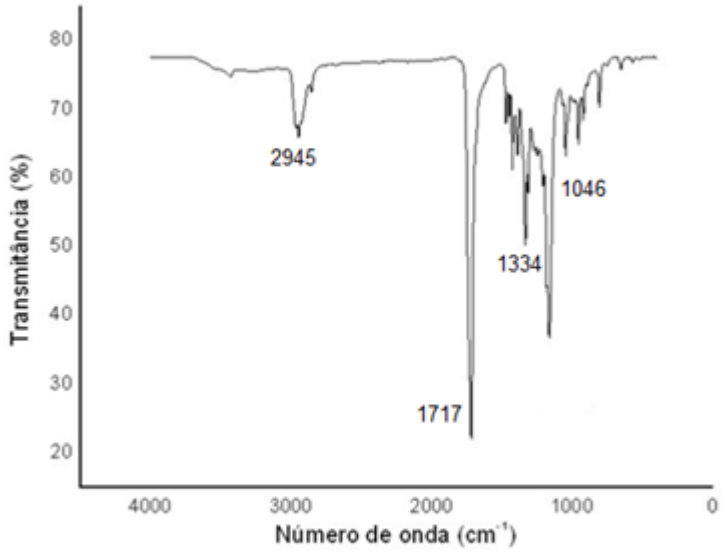
Aplicando-se a Eq. 8 neste estudo, podemos afirmar que a quitosana apresentou um grau de cristalinidade igual a 42%. A quitosana possui um perfil semicristalino devido às fortes interações intra e intermoleculares, fruto das ligações de hidrogênio entre os grupamentos amino e hidroxila, fornecendo certa organização à estrutura cristalina da quitosana (Silva M. C. *et al*., 2015).

5.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO PBS

5.3.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

O espectro FTIR do PBS obtido é mostrado na Figura 16.

Figura 16. Espectro FTIR do PBS.



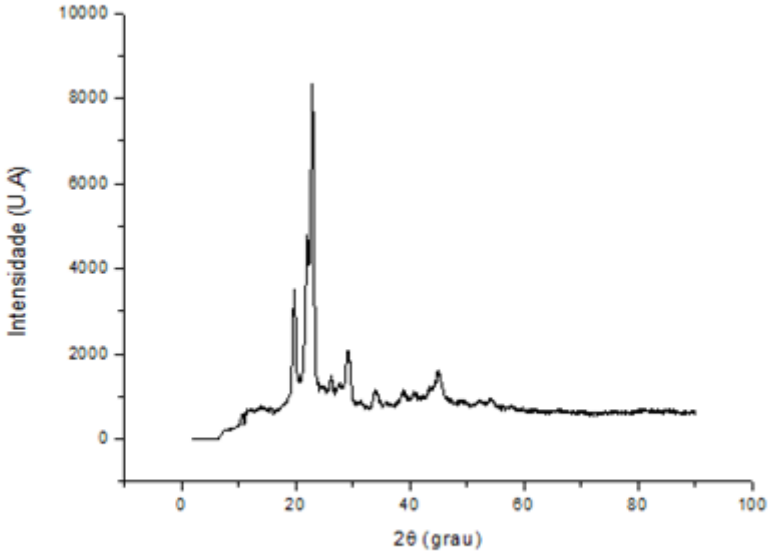
Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro apresenta bandas entre 4000 e 650 cm^{-1}. A banda de transmitância próximo à 1046 cm^{-1} corresponde ao alongamento das ligações O–C–C do PBS. A banda em 1264 cm^{-1} representa o estiramento –C–O–C–, do grupamento éster do PBS. As bandas de transmitância características do PBS em torno de 1334 e 2945 cm^{-1} se devem às deformações axiais simétricas e assimétricas de deformação dos grupamentos $–CH_2–$ na cadeia principal do polímero. A banda próxima a 1717 cm^{-1} refere-se ao alongamento da carbonila C=O (CHEN *et al.,* 2010).

5.3.2 Difração de raios X

O difratograma do PBS é mostrado na Figura 17, este apresenta os sinais característicos de sua estrutura cristalina monoclínica, em valores de 2θ de 19,79º; 21,93º; 22,68º; 28,98º e 45,00º. Os resultados encontrados estão de acordo com a literatura (FERREIRA, et al., 2014). O PBS apresentou um grau de cristalinidade igual 64%, sendo um polímero semicristalino.

Figura 17. Difração de raios X do PBS.

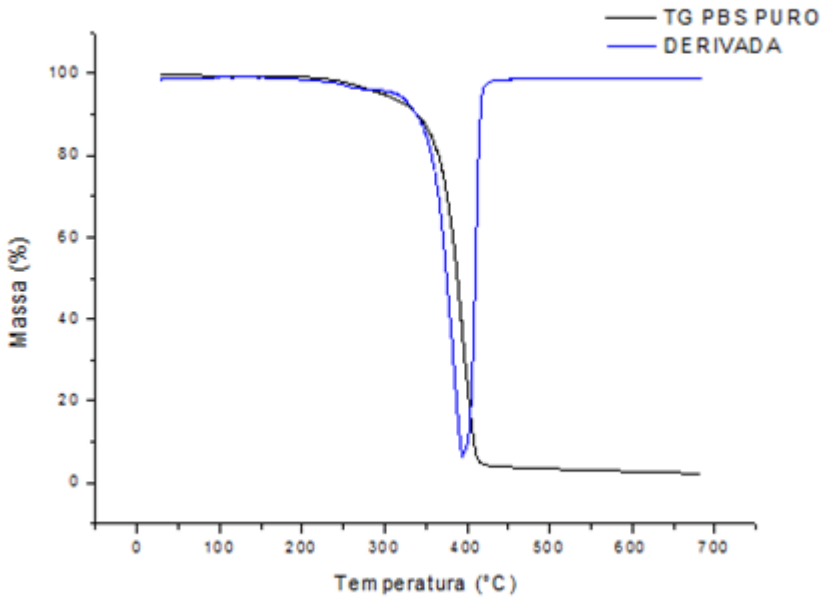


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.3 Termogravimétrica do PBS

A análise termogravimétrica do PBS puro gerou uma curva de perda de massa, mostrada na Figura 18.

Figura 18. Curva de TGA do PBS.



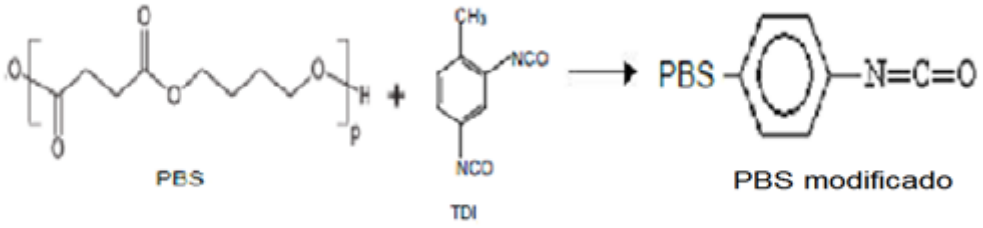
Fonte: Elaborado pelo autor.

Através da curva de TGA pode-se verificar que o processo de degradação do PBS começa em 361 ºC e se estende até aproximadamente 414ºC. Na Figura 18 é possível observar também a derivada da analise de TGA, sendo possível observar que na temperatura de 380ºC ocorreu a maior perda de massa.

5.4 MODIFICAÇÃO DO PBS COM TDI

A Figura 19 mostra a reação química entre o PBS e o TDI e a formação da ligação uretânica. Ligação responsável pela ligação entre quitosana e o PBS.

Figura 19. Reação de formação da ligação uretânica entre o PBS e o TDI.

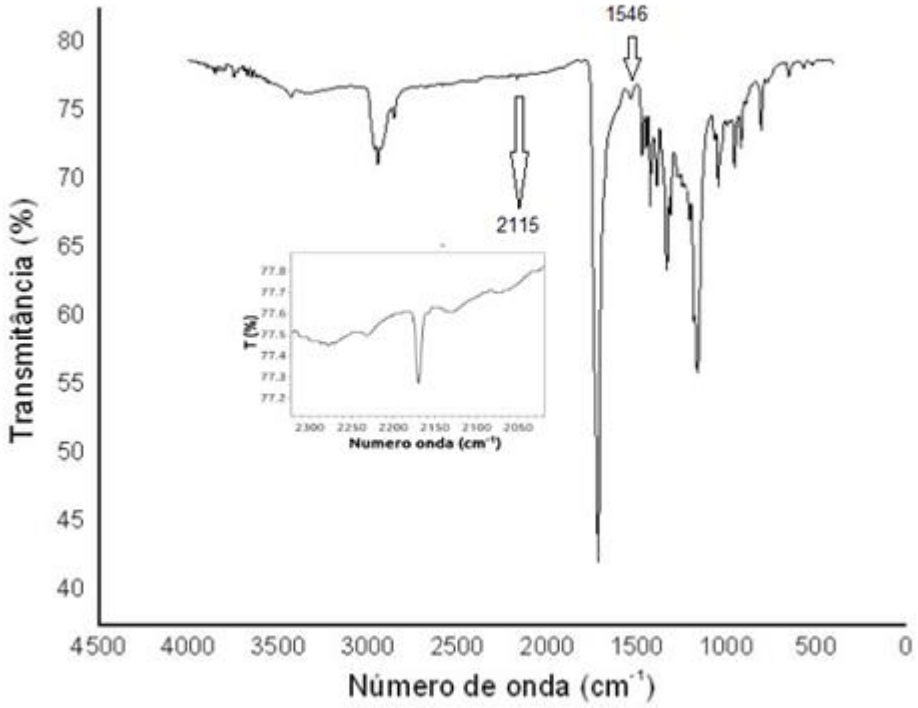


Fonte: Elaborado pelo autor.

No espectro de FTIR do PBS modificado com TDI é possível observar as bandas características do PBS (2945; 1715; 1335 e 1046 cm^{-1}). Sendo possível observar também uma banda 1546 cm^{-1} associada com a deformação da ligação N–H, referente à ligação uretano. Confirmando a modificação do PBS com o TDI (OLIVEIRA, 2008).

A banda característica do grupo NCO livre residual em torno de 2115 cm^{-1} é encontrada no espectro, confirmando a modificação do PBS com TDI (OLIVEIRA, 2008). A presença do grupamento NCO livre é fundamental para o enxerto da quitosana com o PBS modificado. A Figura 20 apresenta o espectro de FTIR obtido para o PBS modificado com TDI.

Figura 20. Espectro FTIR do PBS modificado com TDI.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL: QUITOSANA-PBS

A modificação da quitosana com PBS foi estudada usando 3 condições distintas. A Tabela 3 apresenta a porcentagem e o número de meros de quitosana que se pretendeu modificar em cada condição, além de mostrar à relação quitosana/PBS em cada condição.

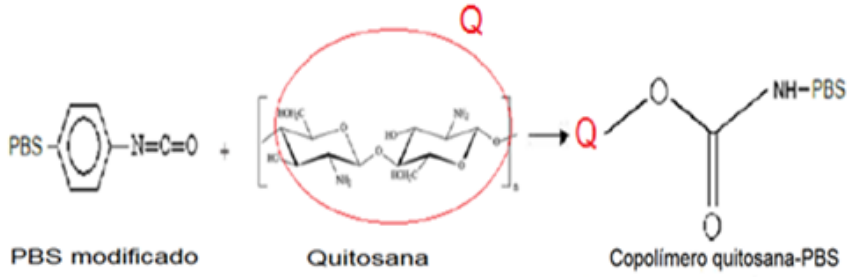
Tabela 3. Porcentagem, números de meros de quitosana e relação quitosana/PBS.

Condições	Meros modificados (%)	Números de meros modificados	Mw do PBS	Relação Quitosana/ PBS
(1)	1,0	25	10000	1,61
(2)	1,6	40	10000	1,01
(3)	2,7	67	10000	0,61

Fonte: Elaborado pelo autor

A reação química entre a quitosana e o PBS modificado é mostrada na Figura 21.

Figura 21. Reação química PBS modificado + quitosana e formação do copolímero quitosana-PBS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As modificações de 1,0% e 2,7% (condição 1 e 3) de meros de quitosana demandaram aproximadamente 24 horas de reação e obteve-se pouco massa de produto. Sendo então utilizado apenas a condição 2 (1,6 % meros de quitosana) para caracterização do copolímero obtido.

A Figura 22 mostra a etapa de enxertia via polimerização interfacial (condição 2). No início da polimerização (tempo 0), ainda não é observado à formação de filme, existindo somente a interface de contato entre a solução de quitosana e a solução de PBS. Após iniciar a reação observa-se a formação de um filme na interface das soluções e com apenas 10 minutos de reação é possível observar a formação do sistema Quitosana-PBS. A Figura 23 mostra a imagem do copolímero seco, sendo possível observar que não ocorreu mudança de cor.

Figura 22. Etapa de enxertia via polimerização interfacial.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23. Imagem do copolímero quitosana-PBS seco.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.1 Caracterização do copolímero obtido

5.5.1.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

O copolímero, a quitosana e o PBS, foram caracterizados por espectroscopia de absorção no infravermelho. Os principais picos característicos de cada amostra estão listados na Tabela 4.

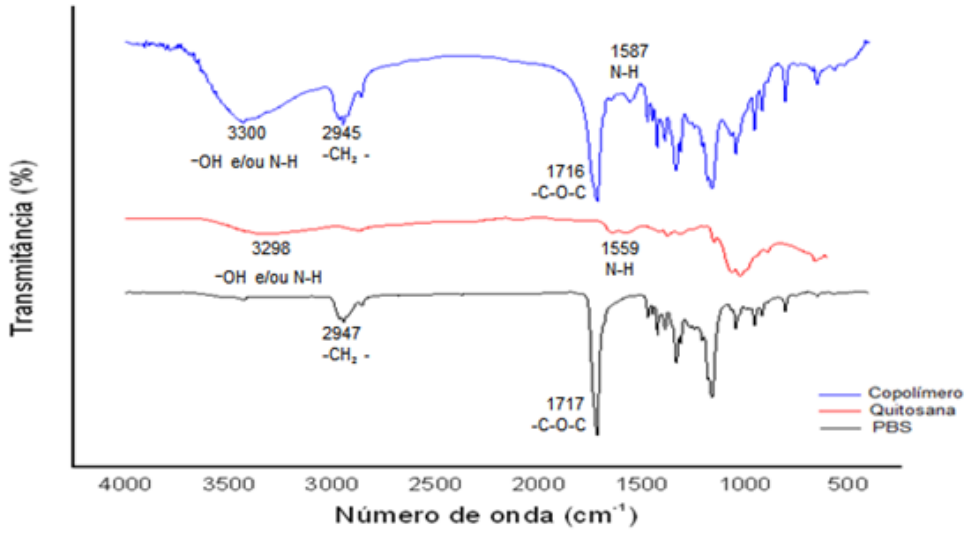
Tabela 4. Principais absorções do copolímero e da quitosana.

Número de onda (cm^{-1})			**Atribuições**
Quitosana	PBS	Copolímero	
3289	-	3300	Estiramento das ligações-OH e/ou N-H presentes na cadeia de quitosana
-	2945	2947	Deformação axial $-CH_2$ - cadeia de PBS
-	1717	1716	Estiramento das ligações –C-O-C- no grupo éster de PBS
1587	1559	-	Deformação da ligação N-H
1645	-	1648	Estiramento da ligação C=O
-	1334	1335	Deformação axial $-CH_2-$ cadeia de PBS

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nos espectros FTIR do copolímero e do PBS observam-se também bandas na região de 1044 cm^{-1} relacionadas ás vibrações de alongamento das ligações O-C-C do PBS (BEZERRA, 2015; FERREIRA, 2014). A Figura 24 mostra o espectro do copolímero e de seus polímeros de partida.

Figura 24. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier copolímero quitosana-PBS.



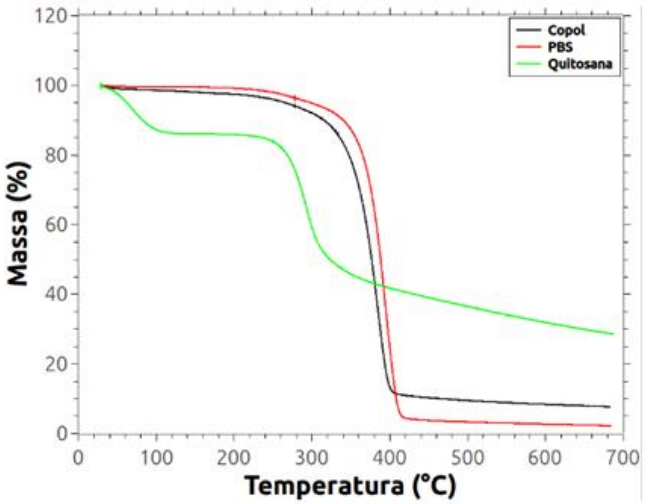
Fonte: Elaborado pelo autor.

O resultado de FTIR do copolímero é um indicativo da enxertia, comprovando a existência da formação do copolímero.

5.5.1.2 Análise Termogravimétrica do Copolímero

A Figura 25 contém a curva TGA e a derivada do mesmo do copolímero quitosana-PBS.

Figura 25. Curva de TGA do PBS puro (vermelho), da Quitosana pura (verde) e do copolímero quitosana-PBS (perto).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Com auxílio das curvas de TGA das amostras analisadas, foi calculado T*onset* e *Tendset* das amostras. A Tabela 5 mostra os resultados obtidos.

Tabela 5. Valores Tonset e Tendset do copolímero, da quitosana e do PBS.

Amostras	**T*onset* (ºC)**		**T*endset* (ºC)**	
	1ª	2ª	1ª	2ª
Quitosana	43	266	98	307
PBS	361		414	
Copolímero	48	345	172	390

Fonte: Elaborado pelo autor

Para a quitosana observa-se dois estágios, assim como para o copolímero, já para a amostra de PBS observa-se apenas um estagio. A temperatura do primeiro estágio de perda de massa do copolímero está bem próxima ao primeiro estágio de perda de massa da quitosana, amplos relacionados à perda de água residual.

O PBS é o polímero de maior estabilidade térmica, quando comparado a quitosana e ao copolímero, possuindo maior T*onset*. Em relação ao copolímero observa-se que o PBS auxiliou no aumento da estabilidade térmica, fazendo com que o copolímero tenha T*onset* maior do que a da quitosana pura. O segundo estágio de perda de massa do copolímero ocorre em T*onset* de 345ºC estando no intervalo da degradação da quitosana pura e do PBS puro, reforçando a presença de ambos os polímeros no material.

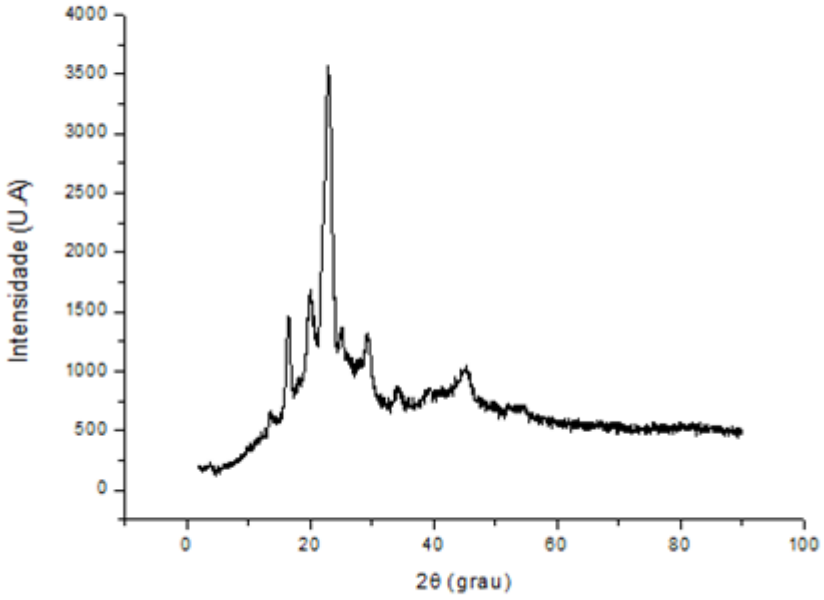
Quando se compara o resíduo gerado pela análise de TGA, verifica-se que o resíduo de PBS foi 2,21%, o de quitosana foi de 28,57% e o do copolímero de 7,70%. A análise do resíduo permitiu inferir que o copolímero contém 21% de quitosana.

5.5.1.3 Difração de raios X do copolímero quitosana-PBS

Estudos de DRX foram realizados para a quitosana e para o PBS, e para o copolímero quitosana-PBS, a fim de compreender a influência do PBS na quitosana.

O difratograma do copolímero quitosana-PBS é mostrado na Figura 26, observando-se sinais característicos de sua estrutura cristalina, em valores de 2θ de 16,5º; 20,4º; 22,9º; 25,2 º; 29,36 º e 45,11º.

Figura 26. Difratograma de raios x do copolímero quitosana-PBS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Levando em consideração os resultados obtidos nos Difratograma de raios X da quitosana pura e do PBS puro, pode-se observar que ocorreu um aumento de picos cristalinos do copolímero em relação aos polímeros puros. Sendo observado também um aumento no número de picos de difração, além do descolamento de alguns sinais característicos dos polímeros decorrente da enxertia.

Com relação à intensidade dos picos é possível observar que ocorreu um aumento de intensidade em comparação ao resultado obtido da quitosana pura, contudo quando comparado ao do PBS puro há uma diminuição. Estando de acordo com o resultado esperado, visto que o copolímero possui tanto quitosana como o PBS em sua estrutura química.

A Tabela 6 mostra os valores do grau de cristalinidade da quitosana, do PBS e do copolímero quitosana-PBS.

Tabela 6. Grau de cristalinidade da quitosana, do PBS e do copolímero.

	% X_c
Quitosana	41,82
PBS	64,63
Copolímero	65,82

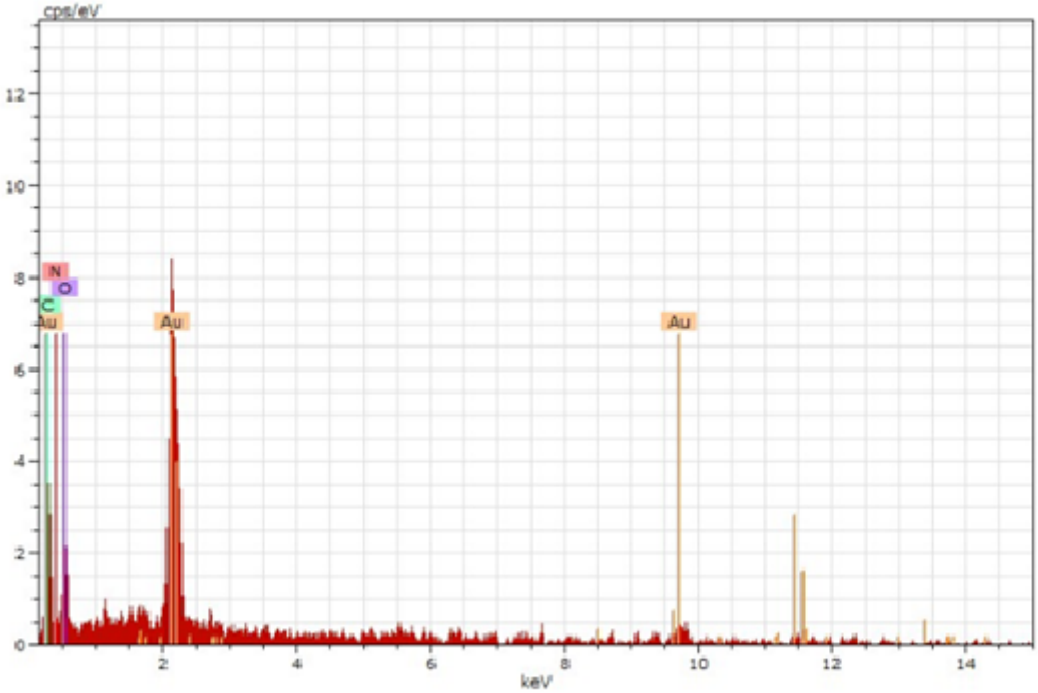
Fonte: Elaborado pelo autor

O aumento da cristalinidade em relação a quitosana pura ocorre devido a reação de enxertia, o que aumenta organização química do material.

5.5.1.4 Espectroscopia de energia dispersiva por raios X

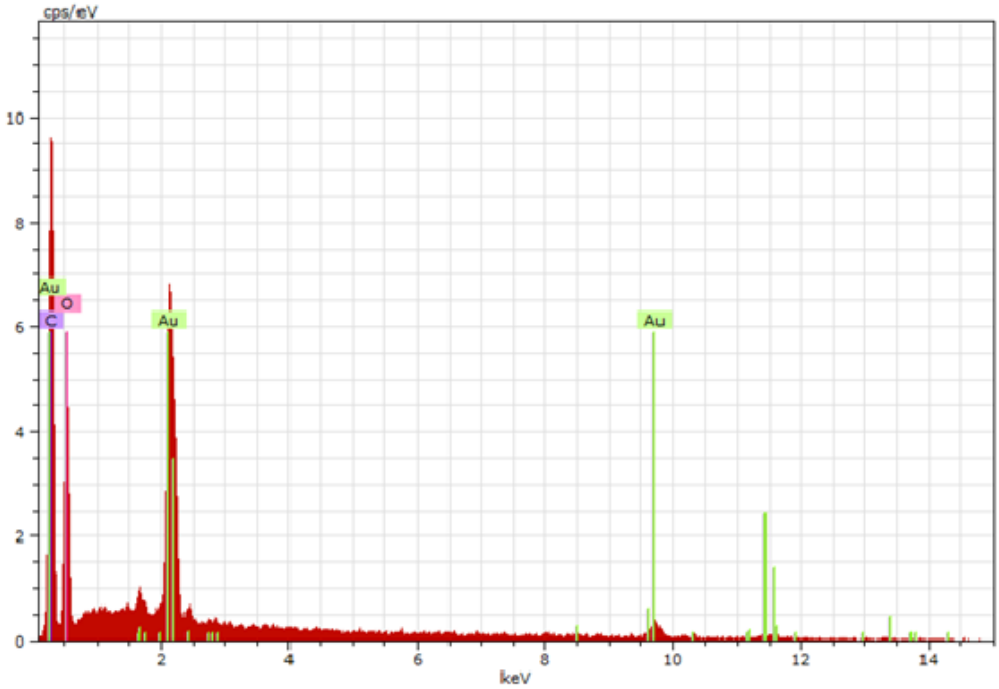
A análise de Espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS) foi feita com objetivo de observar os átomos constituintes dos polímeros utilizados, e os átomos constituintes do copolímero formado, a fim de observar se realmente ocorreu a reação de modificação. Como resultado do EDS pode se observar a presença de nitrogênio na amostra de quitosana e na presença do copolímero quitosana-PBS, o que confirma a presença da quitosana no copolímero já os demais átomos (C e O) são átomos presentas tanto na amostra de quitosana com na amostra de PBS. A presença de carbono e ouro se deve ao método de análise, que utiliza recobrimento com ouro e uma fita de carbono para a fixação da amostra.

Figura 27. EDS da quitosana pura.



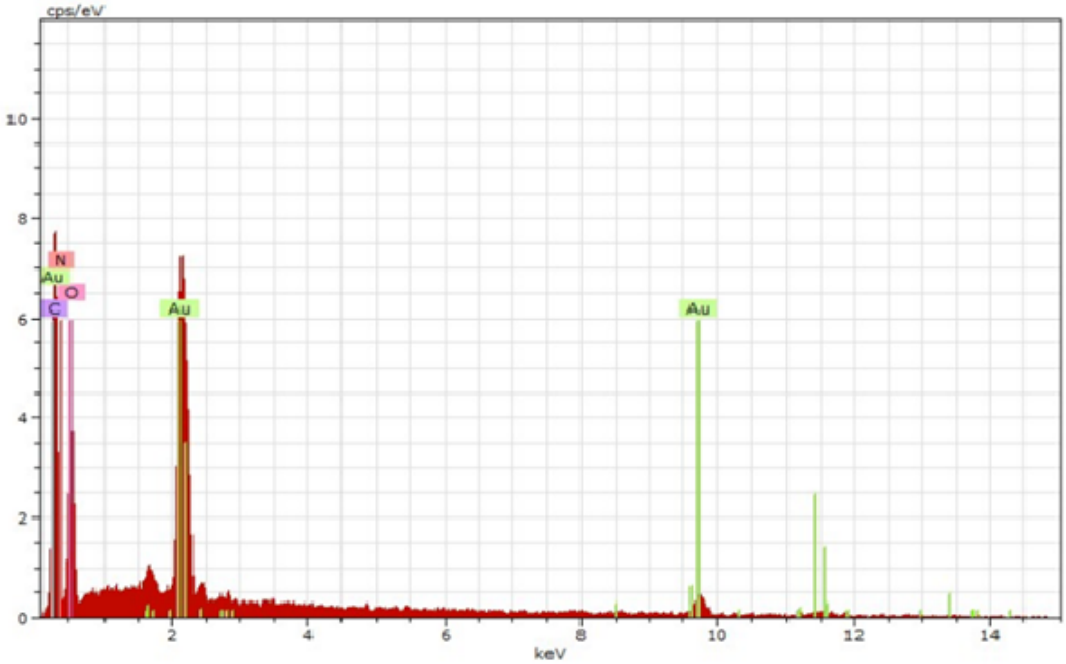
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28. EDS do PBS puro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 29. EDS do copolímero quitosana-PBS.



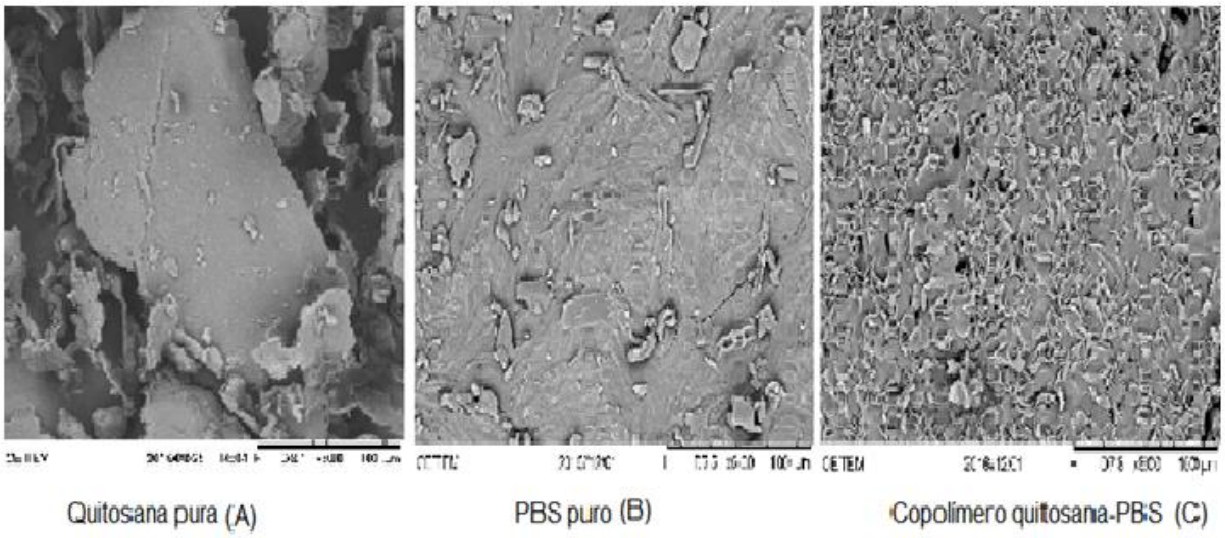
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.1.5 Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 30 mostra as microscopias eletrônicas de varredura da quitosana pura, do PBS e do copolímero. Sendo possível observar mudança na superfície do copolímero em relação aos polímeros de partida, ocorrendo a formação de uma superfície mais porosa.

A formação da superfície porosa pode está relacionada à interação química entre os polímeros, uma vez que não é observada apenas a sobreposição dos polímeros de partida, e sim a formação de um novo sistema.

Figura 30. MEV da quitosana (A), PBS (B) e copolímero quitosana-PBS (C).



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.1.6 Grau de inchamento do copolímero quitosana-PBS

Como o copolímero quitosana-PBS não se dissolve em solventes, este material pode ser classificado como termofixo. Assim, o grau de inchamento do copolímero foi medido em 3 solventes com diferentes polaridades: água deionizada, clorofórmio e solução ácida (pH 5) . A proporção de inchamento nos solventes é diferente, tal como possível observar na Tabela 5.

Tabela 7. Relação de inchamento do copolímero quitosana-PBS em diferentes solventes após 5 horas a 25 ° C.

Solvente	Grau de inchamento (%)
Água	207,66
Clorofórmio	4,46
Solução ácida (pH 5)	170,66

Fonte: Elaborado pelo autor.

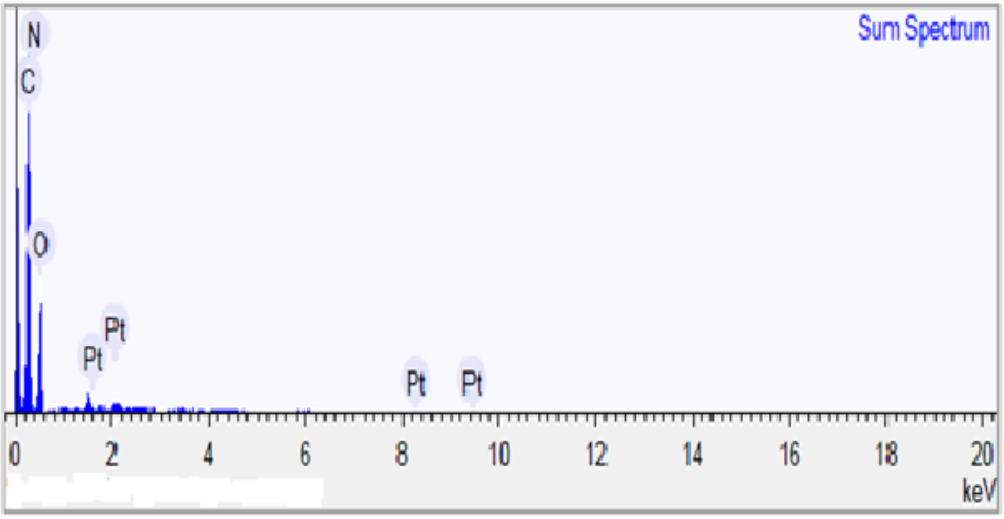
Os resultados apresentados na Tabela 3 permitem inferir que o material é hidrofílico, uma vez que apresenta maior afinidade com a água e com a solução aquosa do que com o solvente orgânico. O copolímero teve maior grau

de inchamento na água, mostrando-se capaz de absorver fármacos solúveis em soluções aquosas, como é o caso da oxaliplatina.

5.5.1.7 Adição do fármaco copolímero quitosana-PBS

Para confirmação da presença de oxaliplatina no copolímero foi realizado EDS e o mapeamento dos elementos químicos presentes na amostra, a Figura 31 mostra o resultado obtido no EDS. Pode-se observar a presença dos átomos de platina presentes na amostra. A presença de platina é devido a absorção do fármaco no copolímero, visto que somente o fármaco contém platina.

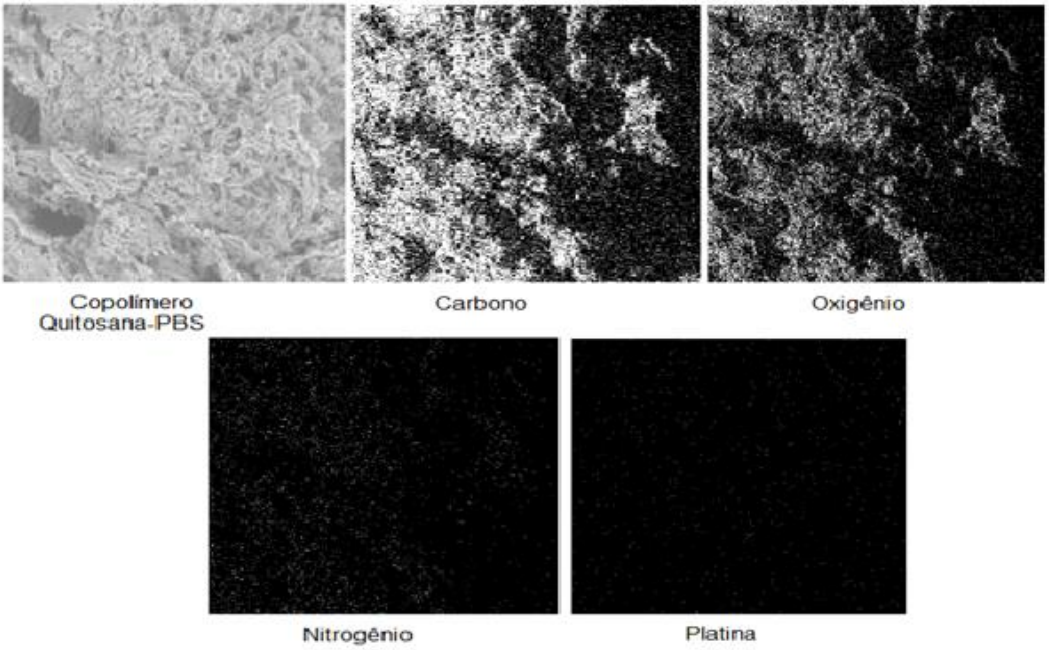
Figura 31. EDS do copolímero na presença da Oxaliplatina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 32 pode-se observar o resultado do mapeamento do copolímero na presença da oxaliplatina. Sendo possível verificar que realmente existe platina no copolímero e que sua distribuição esta bem homogênea, o que caracteriza que a técnica de inchamento utilizada para adicionar o fármaco no copolímero é bastante eficiente, tanto em sua simplicidade tanto na maneira que o fármaco fica distribuído na amostra.

Figura 32. Mapeamento Copolímero na presença do fármaco.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÕES

Com o presente trabalho foi possível concluir o sucesso da modificação da quitosana com o PBS via polimerização interfacial. Durante a pesquisa foi estudado três condições de modificação da quitosana, variando a relação quitosana/PBS e a porcentagem de meros de quitosana modificados, sendo a segunda condição estudada (1,6 % meros de quitosana modificados) a que apresentou melhor resultado.

A presença de PBS no copolímero auxilia o aumento da cristalinidade do material, o que pode aumentar a organização estrutural do material obtido com relação aos polímeros puros. O aumento da resistência química pode tornar possível o uso do copolímero em diferentes sistemas e diferentes pH.

Através do estudo do grau de inchamento do copolímero foi possível concluir que o copolímero quitosana-PBS é um copolímero hidrofílico, possuindo maior afinidade com meio aquoso, quando comparado ao sistema hidrofóbico. Sendo possível realizar o encapsulamento do fármaco através do inchamento do copolímero, uma vez que a oxaliplatina é um fármaco de relativa solubilidade em água.

Assim copolímero de quitosana-PBS tem potencial para conseguir encapsular uma imensa variedade de fármacos e outros ativos, por conta de sua estrutura hidrofílica. Aliado a isso, suas boas propriedades térmicas e mecânicas, aliado ao fato de ser tratar de um biopolímero (quitosana) e um polímero verde (PBS), tornam este copolímero uma boa alternativa para a indústria química de forma geral.

7 Sugestões

- Estudar variações de concentração e de tempo na adição da oxaliplatina ao copolímero;
- Realizar o teste de liberação do fármaco em pH ácido;
- Estudar outras relações Quitosana/PBS;
- Utilizar outras técnicas de caracterização de compósitos como: GPC, RMN e DSC.

REFERÊNCIAS

AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recentadvancesonchitosan-basedmicro-andnanoparticles in drugdelivery. **Journal of controlled release**,[S.l.], v. 100, n. 1, p. 5-28, 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365904003803>. Acesso em: 28 nov. 2016.

ANDRADE, F. D; GONZALES, T; ALEGRE, R.M; DUARTE, E. R. Redes neurais artificiais aplicadas para o estudo da produção de ácido succínico via processo fermentativo**. Evidência**, [S.l.], v. 10, n. 1-2, p. 27-42, 2010. Disponível em: <http://editora.unoesc.edu.br/index.php/evidencia/article/view/1072>. Acesso em: 20 nov. 2016.

ANDRÉ T, B. C.; MOUNEDJ B. L.; NAVARRO M.; TABERNERO J.; HICKISH T. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treat ment for colon cancer**. New Engineering Medicine,** [S.l.], v. 350, n. 23, p. 2343-51, 2004. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa032709#t=article>. Acesso em 27 nov. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. **Bulário.** 2009. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[26393-1-0].PDF>. Acesso em: 05 jan. 2017.

AZHAR, F. F.; OLAD, A**.** A study on sustained release formulations for oral delivery of 5-fluorouracil based on alginate–chitosan/montmorillonite nanocomposite systems. **Applied Clay Science**, [S.l.],v. 101, n.5, p. 288-296, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169131714003354>. Acesso em: 19 set. 2016.

BEZERRA, A. M. **Prospecção quantitativa e qualitativa de uma nova fonte renovável de quitosana.** 2015. p.116 Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9135/tde-25022016-111721/en.php>. Acesso em: 12 out. 2016.

BRUNNER, C. T. Performance of biodegradable microcapsules of poly(butylene succinate), poly(butylene succinate-co-adipate) and poly(butyleneterephthalate-co-adipate) as drug encapsulation systems. **Colloids and Surfaces B:** Biointerfaces,[S.l.], v. 84, n.1, p.498–507, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776511000671>. Acesso em: 19 nov. 2016.

CANEVAROLO JÚNIOR, Sebastião V. **Técnicas de caracterização de polímeros.** São Paulo: Artliber Editora, 2004.

CARNEIRO, M. L.; NUNES, E. S.; PEIXOTO, R. C.; OLIVEIRA, R. G.; LOURENÇO, L. H.; SILVA, I. C.; SIMIONI, A. R.; Free Rhodium (II) Citrate and Rhodium (II) Citrate Magnetic Carriers as Potential Strategies for Breast Cancer Therapy. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 9, n.1, p. 11, 2011. Disponível em: <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-3155-9-11>. Acesso em: 15 jan. 2017.

CARREIRA, A. S. Temperature and pH responsive polymers based on chitosan: applications and new graft copolymerization strategies based on living radical polymerization. **Carbohydrate Polymers**,[S.l] v. 80, n. 3, p. 618-630, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710000093>. Acesso em: 02 set. 2016.

CHANG, S. H**.** pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. **Carbohydrate polymers**, [S.l] v.134, n.1, p.74-81, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715007018>. Acesso em: 09 set. 2016.

CHEN, C. H.; PENG, J. S; CHEN, M; LU, H.Y; TSAI, C. J; YANG, C.S. Synthesis and characterization of poly(butylenes succinate) and its copolyesters containing minor amounts of propylene succinate. **Colloid & Polymer Science**, [S.I.], v.288, n.7, p.731–738, 2010. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.29035/full>. Acesso em: 12 dez. 2016.

DEVITA, V.T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S.A. Cancer : principles and practice of oncology. Philadelphia, **PA: Lippincott Williams & Wilkins**. [S.l.],v.1, n.18, p.1487, 2005. Disponível em:< https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=fqwbhYXK-hUC&oi=fnd&pg=PT58&dq=DEVITA,+V.T.,+Hellman,+S.+and+Rosenberg,+S.A.+(2005)+Cancer+:+principles+and+practice+of+oncology.+Philadelphia,+PA:+Lippincott+Williams+%26+Wilkins.+Vol.+1.+1487p&ots=sb7HT3AeKT&sig=-A3EZMw-nzYvVJ8ptFZcllzQtD8#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 08 dez. 2016.

GRAMONT A.; FIGER A.; SEYMOUR M.; HOMERIN M.; HMISSI A.; CASSIDY J. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. **Clinic Oncology**.[S.l], v.18,n. 7, p. 2938–47, 2004. Disponível em: <http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2000.18.16.2938>. Acesso em: 06 nov. 2016.

SOUZA C. E.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido**. Quimica Nova**, [S.l.],v.31, n.9, p.1460-1466, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Ezequiel_Costa-Junior/publication/228953151_Preparacao_e_Caracterizacao_de_Blendas_de_QuitosanaPoli_Alcool_Vinilico_Reticuladas_Quimicamente_com_Glutaraldeido_para_Aplicacao_em_Engenharia_de/links/5427fa520cf26120b7b513c3/Preparacao-e-Caracterizacao-de-Blendas-de-Quitosana-Poli-Alcool-Vinilico-Reticuladas-Quimicamente-com-Glutaraldeido-para-Aplicacao-em-Engenharia-de.pdf>. Acesso em: 05 set. 2016.

DODI, G. Core–shell magnetic chitosan particles functionalized by grafting: synthesis and characterization. **Chemical Engineering Journal**, [S.l],v. 203, n.12, p. 130-141, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894712008637>. Acesso em: 10 jan. 2017.

SANTOS, H. S.; SOUZA, W.M.C. A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico oncológico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S.l.], v.47, n.13, p.303-08, 2001. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/rbc/n_47/v03/pdf/artigo7.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2016.

ELGADIR, M. A.. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: **A review.Journal of Food and Drug Analysis**, [S.l.], v. 23, n.4, p619-629, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949814001410>. Acesso em: 01 set. 2016.

FERREIRA, L. P. Preparo de Nanocompósitos de Poli (Succinato de Butileno)(PBS) e Argila Motmorilonita Organofílica via Polimerização In Situ**. Polímero,** [S.l.], v.24, n.5, p.604-611, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/po/2014nahead/aop_polimeros_1662.pdf>. Acesso em: 02 set. 2016.

HARBECK, N. Breast cancer: increasing therapy options for HER2-positive early breast cancer. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 66–66, 2012. Disponível em: <https://www.nature.com/nrclinonc/journal/v9/n1/full/nrclinonc.2011.193.html>. Acesso em: 04 set. 2016.

HARIRAKSAPITAK, P. Effectual drug-releasing porous scaffolds from 1,6-diisocyanatohexane-extended poly(1,4-butylene succinate) for bone tissue regeneration**. Polymer,** [S.l.], v. 49, n. 10, p.2678–2685, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386108003145>. Acesso em: 07 dez. 2016.

ILIUM, L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipiente. **Pharmaceutical research**, [S.l.], v. 15, n. 9, p. 1326-1331, 1998. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1011929016601?LI=true. Acesso em: 06 out. 2016.

JACQUEL, N; FREYERMOUTH, F; FENOUILLOT, F; ROUSSEAU, A; PASCAULT, J.P; FUERTES, P; SAINT-LOUP, R. Synthesis and Properties of Poly(butylene succinate): Efficiency of Different Transesterification Catalysts. **Journal of Polymer Science**, [S.I.], v. 49, n.1, p. 5301–5312, 2011. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pola.25009/full>. Acesso em: 22 nov. 2016.

JIA, R. Pyridine-grafted chitosan derivative as an antifungal agent. **Food chemistry,** [S.l.], v. 196, n.5, p. 381-387, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615013965>. Acesso em: 16 dez. 2016.

KERCH, G. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review**. Trends in Food Science & Technology**,[S.l], v. 46, n. 2, p. 159-166, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224415002356>. Acesso em: 16 dez. 2016.

KUMAR, M.; Ravi, N.V. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and functional polymers**,[S.l.], v. 46, n. 1, p. 1-27, 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381514800000389>. Acesso em: 17 dez. 2016.

LARANJEIRA, M.; FÁVERE, V.T. Chitosan: functional byopolymer with biomedical industrial potential. **Química Nova**,[S.l.], v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000300011&script=sci_arttext>. Acesso em: 12 jan. 2016.

LEWANDOWSKA, K.; SIONKOWSKA, A.; GRABSKA, S. Chitosan blends containing hyaluronic acid and collagen. Compatibility behaviour. **Journal of Molecular Liquids**, [S.l.], v. 212,n.1, p. 879-884, 2015. Disponivel em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732215304463>. Acesso em: 08 nov. 2016.

LIMA, L. A. **Nanopartículas de quitosana/tripolifosfato de sódio obtidas via gelatinização iônica para a nanoencapsulação de quercetina**, 2014, p.67**.** Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências dos Materiais, Universidade de Brasília, 2014. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/handle/10482/17210>. Acesso em: 02 nov. 2016.

LIM, H. P.; TEY, B. T.; CHAN, E.S. Particle designs for the stabilization and controlled-delivery of protein drugs by biopolymers: A case study on insulin. **Journal of Controlled Release**, [S.l], v. 186, n. 2, p. 11-21, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365914002752>. Acesso em: 17 out. 2016.

LIM, S.K.; JANG, S.G.; LEE, S.I.; LEE, K.H.; CHIN, I.J. Preparation and Characterization of Biodegradable Poly(butylene succinate)(PBS) Foams. **Macromolecular Research**, [S.I.], v. 16, n. 3, p. 218-223, 2008. Disponivel em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie402499t>. Acesso em:15 set. 2016.

OLIVEIRA, V.M.S. **Síntese e caracterização de dispersões aquosas de poliuretan.** 2008, n.110, Dissertação (Mestrado).Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2008. Disponível em: <http://repositorio.pucrs.br/dspace/handle/10923/3358>. Acesso em: 12 jan. 2017.

PATRULEA, V. Chitosan as a starting material for wound healing applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S.l.], v. 97, n.3, p. 417-426, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641115003367>. Acesso em: 10 set. 2016.

PETERSEN P. Oral cancer prevention and control – The approach of the World Health Organization. **Oral Oncology**,[S.l.], v. 45, n. 4, p. 454-460, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837508001760>. Acesso em: 5 out. 2016.

RHIM, J.W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 38, n. 10, p. 1629-1652, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007967001300049X>. Acesso em: 2 out. 2016.

ROSA, I A. **Efeito da administração sistêmica de nanotubo de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) sobre a resposta imune no microambiente tumoral em camundongos portadores de carcinoma pulmonar de Lewis**. 2015, p. 90. Dissertação (Mestrado), Programa de PósGraduação em Engenharia Elétrica da Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação da Universidade Estadual de Campinas, 2015. Disponível em: <http://www.reposip.unicamp.br/handle/REPOSIP/259962>. Acesso em: 10 set. 2016.

SÃO P. A. S. Chitosan: An option for development of essential oil delivery systems for oral cavity care. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 76, n. 4, p. 501-508, 2009. Diponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861708005766>. Acesso em: 23 set. 2016.

SARVAIYA, J.; AGRAWAL, Y. K. Chitosan as a suitable nanocarrier material for anti-Alzheimer drug delivery. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 72, n. 8, p. 454-465, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014005960>. Acesso em: 21 set. 2016.

SCHROEDER, A. Treating metastatic cancer with nanotechnology. **Nature Reviews Cancer**, [S.l.], v. 12, n. 1, p. 39–50, 23, 2011. Disponível em: <https://search.proquest.com/openview/4dd665fe178fa3c5a245df1e34c797ba/1?pq-origsite=gscholar&cbl=27578>. Acesso em: 10 jan. 2017.

SHUKLA, S. K. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 59, n.7, p. 46-58, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813013002262>. Acesso em: 15 out. 2016.

SIAFAKA, P.I. Chitosan derivatives as effective nanocarriers for ocular release of timolol drug. **International journal of pharmaceutics**,[S.l.], v. 495, n. 1, p. 249-264, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517315301952>. Acesso em: 29 out. 2016.

SILVA, M. C.; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, [S.l.], v.1, n.1, p.10, 2015. Disponível em: <http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/view/441/335>. Acesso em: 30 out. 2016.

SILVA, R. L. **Sistemas de liberação controlada de quitosana contendo antigeno capsular Vi de SalmonellaTyphi**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, 2012.. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/5625>. Acesso em: 21 jan. 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CANCEROLOGIA. *C*âncer de Cólon. **Tratamento Quimioterápico. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar**. 2011. Disponível em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/ans/ diretrizes/cancer_de_colon: tratamento_quimioterapico.pdf>. Acesso em 15 de novembro de 2016.

SONG, J. H. et al. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. Philosophical Transactions of the Royal Society B: **Biological Sciences**, [S.l.], v. 364, n. 1526, p. 2127-2139, 2009. Disponível em: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/364/1526/2127.short>. Acesso em: 11 nov. 2016.

SOUZA JÚNIOR, F.G., OLIVEIRA, G.E. **Bioresinas**. Novas Edições Acadêmicas, Saarbrucken: Germany, 2015. 192 p.

VIVEK, R. pH-responsive drug delivery of chitosan nanoparticles as Tamoxifen carriers for effective anti-tumor activity in breast cancer cells.Colloids and Surfaces B**: Biointerfaces**,[S.l.], v. 111, n.1, p. 117-123, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776513003287>. Acesso em: 10 nov. 2016.

VROMAN, I.; TIGHZERT, L. Biodegradable polymers. **Materials,** [S.l.], v.2, n.12,p. 307-344, 2009.
Disponível em: <http://www.mdpi.com/1996-1944/2/2/307/htm>. Acesso em: 18 jan. 2017.

WARNER, J.; ANDREESCU, S. An acetylcholinesterase (AChE) biosensor with enhanced solvent resistance based on chitosan for the detection of pesticides. **Talanta**, [S.l.], v. 146, n.8,p. 279-284, 2016. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914015302502. Acesso em: 15 set. 2017.

WEIS, S. M.; CHERESH, D. A. Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets. **Nature Medicne**, [S.l.],v.17,n.11, p.1359:1370, 2011. Disponível em:
<https://www.nature.com/nm/journal/v17/n11/full/nm.2537.html>. Acesso em: 28 nov. 2016.

WESKA, R. F. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering,** [S.l.],v. 80 n.1, p. 749-753, 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877406001609 . Acessado em: 22 nov. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Media centre**: Cancer. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> Acesso em: 23 nov. 2016.